การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชีวภาพอัดเม็ดจากราเอนโดไฟท์ *Trichoderma phayaoense* (L1 I3) เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคใบไหม้ในข้าว

เดชจรูญ เรืองฤทธิ์

วิทยานิพนธ์เสนอมหาวิทยาลัยพะเยา เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร
พฤษภาคม 2567

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยพะเยา

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชีวภาพอัดเม็ดจากราเอนโดไฟท์ *Trichoderma phayaoense* (L1 I3) เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคใบไหม้ในข้าว

เดชจรูญ เรืองฤทธิ์

วิทยานิพนธ์เสนอมหาวิทยาลัยพะเยา เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร
พฤษภาคม 2567
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยพะเยา

DEVELOPMENT OF BIO-PRODUCTS PELLET FROM THE ENDOPHYTIC FUNGUS (*TRICHODERMA PHAYAOENSE*: L1 I3) FOR PROMOTING PLANT GROWTH AND THE BIOCONTROL BLAST DISEASE OF RICE

DECHJAROON REUNGRIT

A Thesis Submitted to University of Phayao

in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Master of Science Degree in Agricultural Science

May 2024

Copyright 2024 by University of Phayao

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชีวภาพอัดเม็ดจากราเอนโดไฟท์

Trichoderma phayaoense (L1 I3) เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโต

และควบคุมโรคใบไหม้ในข้าว

ของ เดชจรูญ เรืองฤทธิ์

ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร

ของมหาวิทยาลัยพะเยา

..... ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

(ดร. นครินทร์ สุวรรณราช)

..... ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิพรพรรณ์ เนื่องเม็ก)

..... กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วาสนา พิทักษ์พล)

..... คณบดีคณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิพรพรรณ์ เนื่องเม็ก)

เรื่อง: การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชีวภาพอัดเม็ดจากราเอนโดไฟท์ *Trichoderma phayaoense* (L1 I3) เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคใบไหม้ในข้าว

ผู้วิจัย: เดชจรูญ เรืองฤทธิ์, วิทยานิพนธ์: วท.ม. (วิทยาศาสตร์การเกษตร), มหาวิทยาลัยพะเยา, 2566

อาจารย์ที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิพรพรรณ์ เนื่องเม็ก อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วาสนา พิทักษ์พล

คำสำคัญ: ผลิตภัณฑ์ชีวภาพ, ราไตรโคเดอร์มา, ข้าว

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและพัฒนาผลิตภัณฑ์ชีวภาพอัดเม็ดจากรา *Trichoderma phayaoense* (L1 I3) ต่อการเจริญเติบโตและควบคุมโรคใบไหม้ในข้าวในระดับโรงเรือน โดยศึกษาศักยภาพในการผลิตเอนไซม์ย่อยเซลล์ราสาเหตุโรคพืช พบว่า รา *T. phayaoense* (L1 I3) มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ไคติเนส เอนไซม์ เซลลูเลส โปรติเอส และ ไฟเตส มีค่า HC value เท่ากับ 0.67, 0.45, 0.40 และ 0.40 ตามลำดับ ในขณะที่การทดสอบประสิทธิภาพของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในการยับยั้งราสาเหตุโรคใบไหม้ด้วยวิธี dual culture พบว่าสามารถยับยั้งราก่อโรคใบไหม้ ไอโซเลท PY02 ได้มากที่สุดที่ 86.25 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการอยู่รอดของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ต่อการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราและสารเคมีทางการเกษตรในห้องปฏิบัติการ พบว่าสามารถอยู่รอดในสารป้องกันกำจัดเชื้อรา เมทาแลกซิล แต่ไม่ทนต่อสารคาร์เบนดาซิม ในขณะที่การศึกษาศักยภาพการกระตุ้นการงอกเมล็ดพันธุ์ข้าวในห้องปฏิบัติการ พบว่าสารแขวนลอยสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ความเข้มข้น 1.0 x 10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีผลต่อจำนวนการงอกของเมล็ด ความสูงต้น และความยาวรากมากที่สุด ส่วนการศึกษาผลรา *T. phayaoense* (L1I3) ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคใบไหม้ในข้าว พบว่าข้าวที่ใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพที่ใส่สารแขวนลอยสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่ความเข้มข้น 1.0 x 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร สามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว ได้แก่ จำนวนต้น ความสูงต้น และความยาวราก ในข้าวทั้ง 3 พันธุ์ ได้แก่ สังหยดพัทลุง สันป่าตอง และขาวดอกมะลิ 105 ที่อายุ 30, 60 และ 90 วัน อีกทั้งมีความสูงต้น จำนวนต้นต่อกอ จำนวนรวงต่อกอ เมล็ดดีต่อรวง เมล็ดลีบต่อรวง เมล็ดทั้งหมดต่อรวง น้ำหนักเมล็ดดีต่อกอ น้ำหนักเมล็ดลีบต่อกอ เมล็ดทั้งหมดต่อกอ อัตราการติดเมล็ด และผลผลิต เท่ากับ 153.47 เซนติเมตร, 19.25 ต้น, 18.58 รวง, 123.00 เมล็ด, 29.08 เมล็ด, 3.77 กรัม, 52.52 กรัม, 3.94 กรัม, 56.46 กรัม, 80.85 เปอร์เซ็นต์ และ 504.23 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ส่วนการควบคุมโรคใบไหม้และใบไหม้คอรวงในข้าว พบว่ากรรมวิธีที่ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *T. phayaoense* (L1 I3) แบบชนิดอัดเม็ดและการฉีดพ่นทางใบ พบว่ามีคะแนนการเกิดโรคที่ 2.25 คะแนน ส่วนการทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการควบคุมโรคใบไหม้ในข้าวในระดับแปลงเกษตรกร พบว่ากรรมวิธีที่ใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพมีคุณภาพทางกายภาพของผลผลิต คุณภาพทางเคมีของเมล็ด ดีกว่ากรรมวิธีที่ไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพ

Title: DEVELOPMENT OF BIO-PRODUCTS PELLET FROM THE ENDOPHYTIC FUNGUS (*TRICHODERMA PHAYAOENSE*: L1 I3) FOR PROMOTING PLANT GROWTH AND THE BIOCONTROL BLAST DISEASE OF RICE

Author: Dechjaroon Reungrit, Thesis: M.Sc. (Agricultural Science), University of Phayao, 2023

Advisor: Assistant Professor Dr. Wipornpan Nuangmek Co-advisor Assistant Professor Dr.Wasna Pithakpol

Keywords: Bio product, Trichoderma phayaoense, rice

ABSTRACT

The objective of this research is to study and develop a bio-product from *Trichoderma phayaoense* (L1 I3) on growth and control of rice blast disease at the greenhouse. By studying the potential to produce enzymes to digest the cells of plant disease fungi, it was found that *T. phayaoense* (L1 I3) has the ability to produce four types of enzymes: chitinase, cellulase, protease, and phytase, have HC value 0.67, 0.45, 0.40 and 0.40, respectively. While testing the efficiency of *T. phayaoense* (L1 I3) for inhibiting the fungus causing rice blast using the dual culture method, it was found that it was able to inhibit the fungus causing rice blast isolate PY02, the most at 86.25 percent. As for the survival of *T. phayaoense* (L1 I3) against the use of fungicides and agricultural chemicals in the laboratory. It was found to be able to survive in the fungicide metalaxyl but was not resistant to carbendazim. While studying the potential of stimulating rice seed germination in the laboratory. It was found that spore suspension of *T. phayaoense* (L1 I3) with concentration of 1.0 x 10^4 spores per milliliter showed greatest effect on the number of seed germinations, plant height, and root length. The test effect of *T. phayaoense* (L1I3) on promoting growth and controlling rice blast disease of rice. It was found that rice treated with the biological product contained a spore's suspension of *T. phayaoense* (L1 I3) at a concentration of 1.0 x 10^8 spores per milliliter could promote the growth of rice, including the number of plants, plant height and root length in all the rice varieties: Sang yod Phatthalung, San Pa Tong and Khao Dok Mali 105 at 30, 60 and 90 days of age. It also has plant height, plant/hill, panicle/hill, filled grain/panicle, unfilled grain/panicle, grain/panicle, filled seed yield weight, filled grain/hill, unfilled grain/hill, grain/hill, seed setting rate and yield were 153.47 centimeters, 19.25 plants, 18.58 ears, 123.00 seeds, 29.08 seeds, 3.77 grams, 52.52 grams, 3.94 grams, 56.46 grams, 80.85 percent, and 504.23 kilograms per rai, respectively. For the testing of growth promotion and control of rice blast disease at the farmer plot level. It was found that the process of applying the biofertilizer product had the physical quality of yield and seed chemical quality better than the method that does not add biological fertilizer products.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิพรพรรณ์ เนื่องเม็ก ประธานคณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์เป็นอย่างยิ่งที่กรุณาให้โอกาส ให้ความรู้ แนะนำ คำปรึกษา ให้ความช่วยเหลือต่าง ๆ ตลอดการศึกษา และชี้แนะแนวทางในการทำวิทยานิพนธ์ ตลอดจนการตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ และให้คำแนะนำในการเขียนวิทยานิพนธ์เล่มนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วาสนา พิทักษ์พล กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รวมถึงรองศาสตราจารย์ ดร.มนัส ทิตย์วรรณ และ ดร.นครินทร์ สุวรรณราช กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำปรึกษา ตรวจสอบ และคำแนะนำในการแก้ไขวิทยานิพนธ์เล่มนี้ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณคณาจารย์สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การเกษตรทุกท่านที่ให้ความรู้ และคำปรึกษา และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ นักวิจัย และพี่ ๆ ห้องปฏิบัติการของคณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติทุกท่านที่ให้คำแนะนำเทคนิคการใช้เครื่องมือและสารเคมี ตลอดจนอำนวยความสะดวกเป็นอย่างดีในการใช้วัสดุและอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ

ขอขอบคุณเพื่อนทุกคน หรือบุคคลเกี่ยวข้องทุกท่านที่ไม่ได้กล่าวถึงที่มีส่วนช่วยเหลือในการทำวิจัยครั้งนี้จนลุล่วงสำเร็จผ่านไปด้วยดี

สุดท้ายนี้วิทยานิพนธ์เล่มนี้คงเป็นประโยชน์แก่ผู้ที่สนใจ ความดีและประโยชน์ที่พึงมี ขอมอบให้แด่บิดา มารดา ครูอาจารย์ และผู้มีพระคุณแก่ข้าพเจ้าทุกท่าน หากแต่มีข้อผิดพลาดประการใด ข้าพเจ้า ขออภัยไว้ ณ โอกาสนี้ด้วย

เดชจรูญ เรืองฤทธิ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ฎ

สารบัญภาพ ..... ฑ

บทที่ 1 บทนำ 1

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

วัตถุประสงค์ของการวิจัย 3

ขอบเขตของการวิจัย 3

ประโยชน์ที่จะได้รับจากการวิจัย 3

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4

ข้าว (Rice) 4

โรคพืช 5

โรคใบไหม้ (Rice Blast Disease) 6

ความต้านทานที่พืชถูกเหนี่ยวนำให้สร้างขึ้น (induced resistance) 7

กลไกการตอบสนองของพืชต่อการเข้าทำลายของจุลินทรีย์ก่อโรค 8

ราเอนโดไฟท์ 9

ราไตรโคเดอร์มา (*Trichoderma* sp.) 10

ราไตรโคเดอร์มาต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว 11

เอกสารที่เกี่ยวข้อง 11

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 17
วิธีดำเนินการวิจัย 17
การเตรียมรา *Trichoderma phayaoense* (L1 I3) 17
แผนการศึกษาที่ 1 การศึกษาประสิทธิภาพของวัสดุเพาะขยายและสูตรสำเร็จ 17
การทดลองที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพของวัสดุเพาะขยายรา *T. phayaoense* (L1 I3) ... 17
การทดลองที่ 2 การศึกษาสูตรสำเร็จ และการทดสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์ชีวภาพ 18
2.1 การทดสอบความหนาแน่น 18
2.2 การทดสอบความเป็นกรด – ด่าง (pH) 18
2.3 ค่าการเหนี่ยวนำไฟฟ้า 18
2.4 การละลายน้ำ 19
2.5 ค่าความชื้น 19
การทดลองที่ 3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์จากรา *T. phayaoense* (L1 I3) 19
3.1 การทำผลิตภัณฑ์จากรา *T. phayaoense* (L1 I3) 19
3.2 การทดสอบสภาวะที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษา และอัตราการมีชีวิตรอดรา *T. phayaoense* (L1 I3) ของสูตรสำเร็จ 20
แผนการศึกษาที่ 2 การศึกษาประสิทธิภาพของรา *T. phayaoense* (L1 I3) 20
การทดลองที่ 1 การทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์ย่อยเซลล์ราสาเหตุโรค 20
การทดลองที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในการยับยั้งราสาเหตุโรคใบไหม้ในระดับห้องปฏิบัติการ 21
การทดลองที่ 3 การทดสอบการอยู่รอดของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ต่อการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราและสารเคมีทางการเกษตรในระดับห้องปฏิบัติการ 22
การทดลองที่ 4 การทดสอบความเข้มข้นของสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ต่อการกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวในห้องปฏิบัติการ 23
แผนการศึกษาที่ 3 การประเมินประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ชีวภาพ 23

การทดลองที่ 1 การทดสอบความเข้มข้นของสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ในผลิตภัณฑ์ชีวภาพต่อการเจริญเติบโตของข้าวในระดับโรงเรือน....24
การทดลองที่ 2 การทดสอบผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการควบคุมโรคใบไหม้ในข้าวในระดับโรงเรือน 25
การทดลองที่ 3 การทดสอบผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการควบคุมโรคใบไหม้ในข้าวระดับแปลงเกษตรกร....26
การบันทึกผล....27
1) การบันทึกการเกิดโรค....27
ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบไหม้ 27
ความรุนแรงในการเกิดโรคใบไหม้....27
ความรุนแรงในการเกิดโรคใบไหม้คอรวง 28
2) การวิเคราะห์ผล 29
ทางกายภาพ....29
ทางเคมี 30
บทที่ 4 ผลการศึกษา....31
แผนการศึกษาที่ 1 การศึกษาประสิทธิภาพของวัสดุเพาะขยายและสูตรสำเร็จ 31
การทดลองที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพของวัสดุเพาะขยายรา *T. phayaoense* (L1 I3)....31
การทดลองที่ 2 การศึกษาสูตรสำเร็จ และการทดสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์ชีวภาพ....34
การทดลองที่ 3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์จากรา *T. phayaoense* (L1 I3)....35
แผนการทดลองที่ 2 การศึกษาประสิทธิภาพของรา *T. phayaoense* (L1 I3)....36
การทดลองที่ 1 การทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์ย่อยเซลล์ราสาเหตุโรค....36
การทดลองที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในการยับยั้งราสาเหตุโรคใบไหม้ในระดับห้องปฏิบัติการ....37

การทดลองที่ 3 การทดสอบการอยู่รอดของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ต่อการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราและสารเคมีทางการเกษตรในระดับห้องปฏิบัติการ 41
การทดลองที่ 4 การทดสอบความเข้มข้นของสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ต่อการกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวในห้องปฏิบัติการ 44
แผนการศึกษาที่ 3 การประเมินประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ชีวภาพ 59
การทดลองที่ 1 การทดสอบความเข้มข้นของสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ในผลิตภัณฑ์ชีวภาพต่อการเจริญเติบโตของข้าวในระดับโรงเรือน 59
การทดลองที่ 2 การทดสอบผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการควบคุมโรคใบไหม้ในข้าวในระดับโรงเรือน 66
การทดลองที่ 3 การทดสอบผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการควบคุมโรคใบไหม้ในข้าวระดับแปลงเกษตรกร 69
บทที่ 5 บทสรุป 77
สรุปผลการวิจัย 77
แผนการศึกษาที่ 1 การศึกษาประสิทธิภาพของวัสดุเพาะขยายและสูตรสำเร็จ 77
แผนการศึกษาที่ 2 การศึกษาประสิทธิภาพของรา *T. Phayaoense* (L1 I3) 77
แผนการศึกษาที่ 3 การประเมินประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ชีวภาพ 79
อภิปรายผลการวิจัย 81
แผนการศึกษาที่ 1 การศึกษาประสิทธิภาพของวัสดุเพาะขยายและสูตรสำเร็จ 81
แผนการศึกษาที่ 2 การศึกษาประสิทธิภาพของรา *T. phayaoense* (L1 I3) 83
แผนการศึกษาที่ 3 การประเมินประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ชีวภาพ 87
ข้อเสนอแนะ 93
บรรณานุกรม 94
ภาคผนวก 105
ภาคผนวก ก การเตรียมสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ 106
ภาคผนวก ข วิธีวิเคราะห์คุณสมบัติผลิตภัณฑ์ชีวภาพ 106

ภาคผนวก ค วิธีวิเคราะห์ผลทางเคมีในเมล็ดข้าว 107
ภาคผนวก ง วิธีวิเคราะห์ผลทางเคมีในฟางข้าว 110
ประวัติผู้วิจัย 113

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 1 ความรุนแรงในการเกิดโรคใบไหม้ 28

ตาราง 2 ความรุนแรงในการเกิดโรคใบไหม้คอรวง 29

ตาราง 3 ความเข้มข้นของรา T. phayaoense (L1 I3) ในการทดสอบประสิทธิภาพของวัสดุเพาะขยาย....32

ตาราง 4 คุณภาพของผลิตภัณฑ์ชีวภาพ 34

ตาราง 5 อัตราการมีชีวิตของรอดของรา T. phayaoense (L113) ในผลิตภัณฑ์แบบอัดเม็ดที่เก็บรักษานาน 6 เดือน....35

ตาราง 6 ความสามารถของรา T. phayaoense (L1 I3) ในการผลิตเอนไซม์ไคติเนส เซลลูเลส โปรติเอส ไฟเตสบนอาหารแข็ง 36

ตาราง 7 ผลของรา T. phayaoense (L1 I3) ในการยับยั้งราสาเหตุโรคใบไหม้ด้วยวิธี Dual culture 39

ตาราง 8 การเจริญของเส้นใยของรา T. phayaoense (L1 I3) เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งที่ผสมสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช 42

ตาราง 9 ผลความเข้มข้นสปอร์ของรา T. phayaoense (L1 I3) ต่อการงอกของเมล็ด ระยะเวลาการงอก ความสูงต้น และความยาวราก ในเมล็ดข้าวจำนวน 20 พันธุ์....45

ตาราง 10 การเจริญเติบโตของข้าวที่ทดสอบโดยใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพรา T. phayaoense (L1 I3) ในระดับโรงเรือน ที่อายุ 30 วัน....60

ตาราง 11 การเจริญเติบโตของข้าวที่ทดสอบโดยใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพรา T. phayaoense (L1 I3) ในระดับโรงเรือน ที่อายุ 60 วัน 61

ตาราง 12 การเจริญเติบโตของข้าวที่ทดสอบโดยใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพรา T. phayaoense (L1 I3) ในระดับโรงเรือน ที่อายุ 90 วัน 62

ตาราง 13 คุณภาพผลผลิตในระดับโรงเรือน 67

ตาราง 14 คะแนนการเกิดโรคใบไหม้ในระดับโรงเรือน....68

ตาราง 15 คุณภาพทางกายภาพผลผลิตในระดับแปลงเกษตรกร 71
ตาราง 16 คะแนนการเกิดโรคใบไหม้และใบไหม้คอรวง 73
ตาราง 17 เปอร์เซ็นต์การควบคุมโรคใบไหม้และใบไหม้คอรวง 73
ตาราง 18 คุณภาพทางเคมีของเมล็ด 75
ตาราง 19 คุณภาพทางเคมีฟางข้าว 76

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพ 1 ราก่อโรคใบไหม้ Pyricularia oryzae 6

ภาพ 2 ลักษะบาดแผลหรืออาการของโรคใบไหม้ 7

ภาพ 3 ลักษณะของวัสดุเพาะขยายสำหรับทำสูตรสำเร็จ 33

ภาพ 4 ลักษณะของเม็ดปุ๋ยชีวภาพหลังการขึ้นรูปเป็นเม็ด 34

ภาพ 5 การทดสอบการสร้างเอนไซม์บนอาหารแข็ง 37

ภาพ 6 ราสาเหตุโรคใบไหม้ของข้าว 38

ภาพ 7 การยับยั้งราสาเหตุโรคใบไหม้ของรา T. phayaoense (L1 I3) ด้วยวิธี Dual culture 40

ภาพ 8 การเจริญของเส้นใยของรา T. phayaoense (L1 I3) เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งที่ผสมสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช นาน 7 วัน 43

ภาพ 9 การงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวเมื่อแช่ในสารแขวนลอยสปอร์รา T. phayaoense (L1 I3) ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน 51

ภาพ 10 ความสูงต้นและความยาวที่อายุ 7 วัน หลังการแช่ในสารแขวนลอยสปอร์รา T. phayaoense (L1 I3) ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน 55

ภาพ 11 ลักษณะของต้นข้าวที่อายุ 30 วัน 63

ภาพ 12 ลักษณะของต้นข้าวที่อายุ 60 วัน 64

ภาพ 13 ลักษณะของต้นข้าวที่อายุ 90 วัน 65

ภาพ 14 ความสูงต้นข้าวในโรงเรือน 68

ภาพ 15 การเกิดโรคใบไหม้ในโรงเรือน 69

ภาพ 16 ความสูงต้นข้าวในแปลงนาทดสอบ 72

ภาพ 17 ลักษณะรวงข้าวในแปลงนาทดสอบ 72

ภาพ 18 ลักษณะแผลการเกิดโรคใบไหม้ในแปลงนาทดสอบ 74

ภาพ 19 แผลการเกิดโรคใบไหม้คอรวงในแปลงนาทดสอบ 75

มหาวิทยาลัยพะเยา
UNIVERSITY OF PHAYAO

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ข้าว (Rice; *Oryza sativa*) เป็นพืชที่สำคัญชนิดหนึ่งของโลก มีประชากรมากกว่า 50% ของโลกที่บริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก (Khush, 2005; Latif et al., 2011) สำหรับประเทศไทยนั้น ในปี พ.ศ 2566 มีพื้นที่เพาะปลูกข้าวประมาณ 68,722,388 ไร่ และมีการส่งออกเป็นอันดับต้น ๆ ของโลก โดยมีการส่งออกข้าว 8.7 ล้านตัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2566) แม้ว่าจะผู้ส่งออกสินค้าข้าวเป็นอันดับต้นของโลก แต่ผลผลิตเฉลี่ยข้าวของประเทศไทยยังอยู่ในเกณฑ์ต่ำ โดยสาเหตุสำคัญเนื่องมาจากการลดลงของพื้นที่เพาะปลูกข้าว ปัญหาจากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม เช่น น้ำท่วม ความแห้งแล้ง เป็นต้น การจัดการการเพาะปลูกที่ไม่เหมาะสม เช่น การขาดแคลนระบบชลประทานที่ดี ดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ การใช้สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตต่ำหรือขาดแคลนเมล็ดพันธุ์ที่ดี การแข่งขันพื้นที่กับพืชชนิดอื่น และสาเหตุสำคัญที่มาจากปัญหาโรคและแมลงศัตรูข้าว ราสาเหตุของโรคในข้าวมีสาเหตุที่เกิดจากรา แบคทีเรีย ไวรัส ไฟโตพลาสมา และไส้เดือนฝอย รวมถึงแมลงที่เป็นพาหนะนำโรค เช่น เพลี้ย และจั๊กแตน เป็นต้น โดยเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้จะส่งผลทำให้ข้าวแสดงอาการผิดปกติได้ชัดเจนที่ใบ ลำต้น กาบใบ รวงและเมล็ด โรคข้าวที่ส่งผลต่อผลผลิตข้าวมากที่สุด คือโรคใบไหม้หรือใบไหม้คอรวง (*Pyricularia oryzae*) และโรคขอบใบแห้ง (*Xanthomonas oryzae*) (สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว, 2550) อีกทั้งพื้นที่การปลูกข้าวส่วนใหญ่ในประเทศยังนิยมปลูกข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่มีความอ่อนแอต่อโรคใบไหม้และขอบใบแห้ง ทำให้การจัดการแก้ปัญหาของเกษตรกรจึงมีต้นทุนที่สูงขึ้น

ในต่างประเทศมีการนำราไตรโคเดอร์มา เช่น *Trichoderma harzianum, T. viride* เป็นต้น มาผลิตเป็นการค้ามากมาย ส่วนประเทศไทยก็มีการวิจัยที่ใช้ราไตรโคเดอร์มาเพื่อควบคุมโรคพืช โดยการศึกษาในทางการค้ามีหลายรูปแบบ เช่น ผลิตภัณฑ์จากราไตรโคเดอร์มาในแบบผง เพื่อใช้ควบคุมราเมล็ดผักกาด (*Sclerotium rolfsii*) ของมะเขือเทศ เป็นต้น การผลิตไตรโคเดอร์มาแบบผงในเชิงพาณิชย์ พบว่าสามารถนำมาพัฒนาและผลิตได้หากพิจารณาที่ต้นทุนการผลิต ผลผลิต และกำไรที่ได้ ผลิตภัณฑ์ทางการค้าฟังไจ คิวเลอร์ (Fungi-Killer) ซึ่งใช้รา *T. harzianum* ในรูปแบบผงเป็นสารกำจัดโรคพืชที่เกิดจากรา *Phytophthora* sp. และ *Fusarium* sp. ผลิตภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาเอกซ์ ซึ่งเป็นสารที่ช่วยป้องกัน

โรครากเน่า โคนเน่า ลำต้นไหม้ในหน่อไม้ฝรั่ง และพืชอีกหลายชนิด เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีผลิตภัณฑ์ คอร์พมาสเตอร์ ที่ใช้ราไตรโคเดอร์มาสำหรับฉีดพ่น และคลุกผสม เพื่อใช้ควบคุมโรครากเน่า โคนเน่า และโรคพืชที่เกิดจารา *Phytophthora* sp. โรคก้านเน่ายุบตายในพืชตระกูลแตงที่เกิดจากรา *Pythium* spp. และ *Fusarium* spp. (สุมาลี, 2536; จิระเดช และคณะ, 2554) โดยราไตรโคเดอร์มาเป็นราที่พบได้ทั่ว ๆ ไปทั้งในดิน เศษซากพืช ซากสัตว์ อินทรียวัตถุ และบริเวณระบบรากพืช (Harman, Howell, Viterbo, Chet, and Lorito, 2004; Tang, Yang, and Ryder, 2001; Vinale et al., 2006)

ราไตรโคเดอร์มาหลายชนิดได้พัฒนาขึ้นเพื่อป้องกันและควบคุมโรคพืช โดยมีกลไกหลายอย่าง ได้แก่ antibiosis, parasitism และ Inducing host-plant resistance เป็นต้น โดยรา *Trichoderma phayaoense* เป็นราเอนโดไฟท์ที่มีความสัมพันธ์กับพืชอาศัยแบบ Symbiosis มีการค้นพบสารออกฤทธิ์ที่น่าสนใจ ซึ่งสามารถนำไปใช้ทั้งทางด้านอุตสาหกรรมและเกษตรกรรม การพัฒนาสารควบคุมทางชีวภาพเป็นการเลือกใช้จุลินทรีย์ที่เหมาะสม จะต้องทำการคัดเลือก เตรียม บ่ม และวิธีการเก็บรักษา และควบคุมคุณภาพสารเหล่านี้ให้แข็งแรงอย่างเหมาะสม การใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์เหล่านี้จะเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมากกว่าการใช้สารเคมีในการกำจัดเชื้อรา และจุลินทรีย์เหล่านี้จะทำให้ปุ๋ยที่อยู่บริเวณรากพืชมีความเป็นประโยชน์เพิ่มมากขึ้น รวมถึงวัสดุที่ได้มาจากสิ่งมีชีวิตและแหล่งที่มาของเชื้อจุลินทรีย์ จะมีบทบาทสำคัญในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชตลอดจนถึงความแข็งแรงของพืชการผลิตและการปรับปรุงความอุดมสมบูรณ์ของดิน ราไตรโคเดอร์มาหลายชนิดได้พัฒนาขึ้นเพื่อป้องกันและควบคุมโรคพืช เนื่องจากการใช้สารเคมีต่าง ๆ ทั้งสารกำจัดโรค และสารกำจัดแมลง โดยผลจากการใช้สารเคมีส่งผลให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม และสุขภาพของเกษตรกรหรือผู้บริโภค เนื่องจากการตกค้างของสารเคมี ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากราเอนโดไฟท์ชนิดใหม่ (New species) จากการใช้ประโยชน์จากความสามารถของรา *T. phayaoense* ในรูปแบบของผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพเพื่อควบคุมโรคใบไหม้ในข้าวและช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว ซึ่งจะเป็นการลดต้นทุนการผลิตข้าว และพัฒนาให้ข้าวปลอดภัยและมีคุณภาพดีต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ชีวภาพอัดเม็ดจากรา *Trichoderma phayaoense* (L1 I3) และผลของผลิตภัณฑ์ต่อการเจริญเติบโตและควบคุมโรคใบไหม้ในข้าวในระดับโรงเรือน และแปลงเกษตรกร

2. เพื่อศึกษาผลของรา *Trichoderma phayaoense* (L1 I3) ในการผลิตเอนไซม์ การควบคุมราสาเหตุโรค และการทนต่อสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในระดับห้องปฏิบัติการ

ขอบเขตของการวิจัย

1. พัฒนาและทดสอบผลของผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากรา *T. phayaoense* (L1 I3) และทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวและควบคุมโรคใบไหม้ในข้าวในระดับโรงเรือนและแปลงเกษตรกร

2. ทดสอบความสามารถของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในการผลิตเอนไซม์ การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้ การอยู่รอดต่อการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราและสารเคมีทางการเกษตร และการทดสอบการกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวในระดับห้องปฏิบัติการ

ประโยชน์ที่จะได้รับจากการวิจัย

1. สามารถพัฒนาผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวและควบคุมโรคใบไหม้ในข้าว

2. ได้องค์ความรู้ใหม่ในการใช้วัสดุสำหรับการพัฒนาสูตรที่มีราคาถูก และเหมาะสมต่อการผลิตผลิตภัณฑ์ชีวภาพ รวมถึงวิธีการที่เหมาะสมในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ชีวภาพเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคของพืช

3. ได้ผลประสิทธิภาพของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ต่อการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้ การใช้รวมกันกับสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา หรือสารเคมีทางการเกษตร และการกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าว

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ข้าว (Rice)

ข้าว (rice) มีชื่อวิทยาศาสตร์ ว่า *Oryza sativa* เป็นพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ จัดอยู่ในวงศ์ Poaceae เป็นพืชปีเดียวที่มีความสูงประมาณ 30–130 เซนติเมตร แล้วแต่สายพันธุ์ หรืออาจมีความสูงได้ถึง 5 เมตร ในพันธุ์ข้าวขึ้นน้ำ ซึ่งสามารถเจริญเติบโตในสภาพน้ำท่วม โดยข้าวจะมีระบบรากเป็นแบบรากฝอย และมีรากพิเศษเจริญออกมาจากส่วนโคนของลำต้นแล้วหยั่งลงไปในดิน การเจริญของลำต้นเป็นแบบแตกเป็นกอ ลำต้นแต่ละลำมีข้อและปล้องชัดเจน จำนวนข้อของลำต้นขึ้นกับพันธุ์และฤดูกาลในการเติบโต แต่ละข้อมีหนึ่งใบอาจมีกิ่งสั้นหรือรากพิเศษเจริญออกมาจากข้อของลำต้น ส่วนปล้องที่บริเวณโคนลำต้นมักเป็นปล้องสั้นและยืดยาวมากขึ้นเมื่อเจริญไปทางส่วนปลายลำต้น การเรียงใบเป็นแบบสลับ โดยเรียงเป็นสองแถวทางด้านข้างของลำต้น มีกาบใบหุ้มลำต้นซ้อนขึ้นไปเรื่อย ๆ จนปกคลุมส่วนปล้องของลำต้นไว้มิดชิด ลิ้นใบมีลักษณะเป็นแผ่นรูปสามเหลี่ยม ยาวประมาณ 1–1.5 เซนติเมตร มักแยกออกจากกัน ซึ่งจะพบเขี้ยวใบมีลักษณะเป็นเส้นหรือฟันเลื่อยยาว เกิดขึ้นที่โคนของแผ่นใบ โดยที่แผ่นใบนั้นจะยาวประมาณ 24–60 เซนติเมตร กว้างประมาณ 0.6–2.2 เซนติเมตร แผ่นใบเรียบจนถึงมีขนกระจายทั่วแผ่นใบ ซึ่งมักมีขนเล็ก คล้ายหนามที่ขอบของแผ่นใบ ช่อดอกเป็นแบบช่อแยกแขนง ยาวประมาณ 9–40 เซนติเมตร ประกอบด้วยช่อดอกย่อย 50–500 ช่อ ทั้งนี้ขึ้นกับพันธุ์แต่ละช่อดอกย่อยที่อยู่ส่วนปลายสุดของช่อดอกจะประกอบด้วยดอกย่อยเพียง 1 ดอก มีกาบช่อย่อยขนาดเล็ก 2 กาบ ยาวประมาณ 6–10 เซนติเมตร ห่อหุ้มทางด้านล่างของช่อดอกย่อย โดยในแต่ละดอกย่อยจะประกอบไปด้วยกาบล่าง (Lemma) รูปเรือ ซึ่งอาจมีหาง (awn) ยาวถึง 15 เซนติเมตร และกาบบน (palea) ซึ่งมีหางสั้น มีเกสรเพศผู้ 6 อัน มีรังไข่ 1 อัน ส่วนปลายของเกสรเพศเมียแยกออกเป็น 2 แฉก และมีขนเป็นพู่ ดอกบานจากปลายช่อดอกลงสู่โคนช่อดอก ที่นิยมเรียกว่า รวง เป็นพืชผสมตัวเอง ผลผลิตของข้าวหรือเมล็ดข้าว (caryopsis หรือ grain) มีขนาด รูปร่าง และสีสันแตกต่างกันตามสายพันธุ์ ผลยาวประมาณ 5–7.5 มิลลิเมตร กว้างประมาณ 2 – 3.5 มิลลิเมตร รูปร่างมักเป็นรูปทรงคล้ายรูปไข่ รูปรี หรือทรงกระบอก สีของกาบบนและกาบล่างหรือที่เรียกว่า แกลบ ซึ่งห่อหุ้มผลนั้นพบว่ามีตั้งแต่สีเหลืองปนขาว จนถึงน้ำตาลและน้ำตาลดำ (ชาญ, 2536; Vergara and De Datta, 1996)

โรคพืช

โรคพืช หมายถึง ความผิดปกติที่พืชแสดงออก สาเหตุของโรคอาจจะเกิดจากสิ่งมีชีวิตหรือไม่มีชีวิต อาจจะเกิดขึ้นจากสาเหตุเดี่ยว หรือเกิดร่วมกันก็ได้ สิ่งมีชีวิตที่ทำให้เกิดโรคเรียกว่า เชื้อโรค เชื้อสาเหตุของโรคข้าวอาจเกิดจาก เชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส ไฟโตพลาสมา และไส้เดือนฝอย จุลินทรีย์เหล่านี้สามารถทำให้ข้าวแสดงอาการผิดปกติได้ชัดเจนที่ใบ ลำต้น กาบใบ รวงและเมล็ด ลักษณะอาการของโรคอาจทำให้ต้นเตี้ยแคระแกรน ใบมีสีผิดปกติ เช่น เหลือง หรือด่างซีด ตายเป็นจุด ตามเนื้อเยื่อเช่นใบจุดใบขีด หรือใบแห้ง มีอาการเหี่ยวเนื่องจากการอุดตันของท่อน้ำท่ออาหารส่วนของพืชผิดปกติ เช่นโรคดอกกระถิน โรครากปุ่ม ฯลฯ โรคพืชเกิดขึ้นได้เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม ต้นพืช อ่อนแอ และเชื้อโรคมีความรุนแรง (กรมวิชาการเกษตร, 2559)

การแพร่ระบาดของโรคเกิดได้เมื่อเชื้อสาเหตุของโรคเพิ่มมากขึ้นในสภาพนิเวศของพืช นอกจากนี้การเขตกรรมก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่เอื้อต่อการเกิดโรครุนแรง เช่น การระบาดของโรคไหม้จะรุนแรงในสภาพข้าวไร่มากกว่าข้าวนาสวน และหากใส่ปุ๋ยไนโตรเจนสูงจะทำให้เป็นโรครุนแรงยิ่งขึ้น การระบาดของโรคอาจจะมีปัจจัยของสิ่งมีชีวิตเข้ามาเกี่ยวข้อง เช่น การระบาดของโรคใบหงิกจะเพิ่มตามปริมาณแมลงพาหะเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยตัวเต็มวัยจะมีความสามารถในการถ่ายทอดโรคได้สูงกว่าตัวอ่อน การแพร่ระบาดมักเป็นไปในทิศทางเดียวกับการอพยพของแมลง (กรมวิชาการเกษตร, 2559)

โรคข้าวที่ระบาดจะทำลายต้นข้าวจนเสียหายนั้น เกิดจากเชื้อโรคหลายชนิด เช่น รา แบคทีเรีย และเชื้อไวรัส นอกจากนี้ ไส้เดือนฝอยซึ่งมีขนาดเล็กมากจนมองด้วยตาเปล่าไม่เห็น ก็สามารถทำให้ต้นข้าวเกิดเป็นโรคได้ด้วย เพราะฉะนั้น โรคข้าวที่สำคัญจำแนกได้ดังนี้ โรคที่เกิดจากรา เช่น โรคไหม้ โรคถอดฝักดาบ โรคใบจุดสีน้ำตาล โรคดอกกระถิน ส่วนโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย เช่น โรคขอบใบแห้ง โรคใบขีดโปร่งแสง ขณะที่โรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส เช่น โรคใบสีส้ม โรคใบสีแสด โรคเหลืองเตี้ย โรคเขียวเตี้ย และโรคจู๋ แต่โรคที่สำคัญที่จะกล่าวถึง คือโรคใบไหม้ (rice blast disease) ที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก เพราะเป็นโรคที่มีความรุนแรงมากในพื้นที่การผลิตข้าว (กรมวิชาการเกษตร, 2559)

โรคใบไหม้ (Rice Blast Disease)

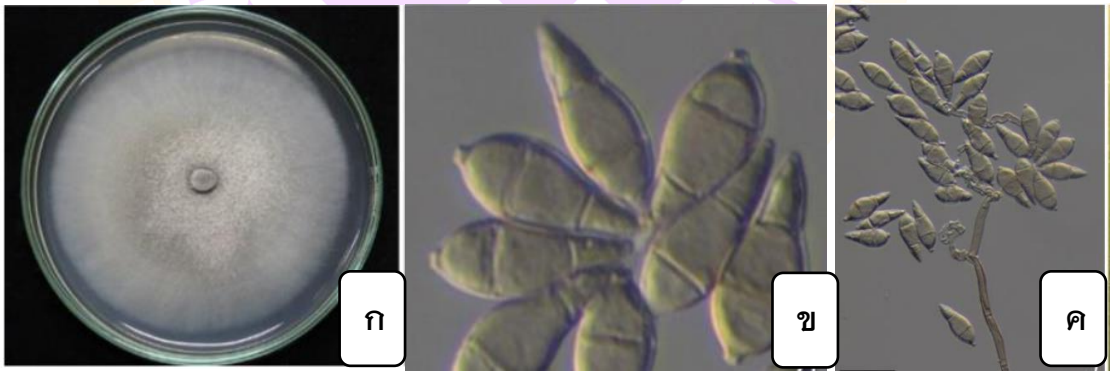
โรคใบไหม้ (rice blast disease) ในข้าวมีสาเหตุมาจากรา *Pyricularia oryzae* **(ภาพ 1)** พบส่วนใหญ่ในแทบทุกภาคของประเทศไทย โดยอาการของโรคตั้งแต่ระยะต้นกล้าไปจนถึงระยะคอรวง ดังต่อไปนี้

ระยะกล้า ใบจะมีแผลจุดสีน้ำตาลคล้ายรูปตา มีสีเทาอยู่ตรงกลางแผล ความกว้างของแผลประมาณ 2–5 มิลลิเมตร และความยาวประมาณ 10–15 มิลลิเมตร แผลสามารถขยายลุกลามและกระจายทั่วบริเวณใบ ถ้าโรครุนแรงกล้าข้าวจะแห้งจนฟุบตาย มีอาการคล้ายถูกไฟไหม้

ระยะแตกกอ อาการพบได้ที่ใบ ข้อต่อของใบ และข้อต่อของลำต้น ขนาดแผลจะใหญ่กว่าที่พบในระยะกล้า แผลลุกลามติดต่อกันได้ที่บริเวณข้อต่อ ใบจะมีลักษณะแผลซ้ำสีน้ำตาลดำ และมักหลุดจากกาบใบเสมอ **(ภาพ 2ก)**

ระยะคอรวง (ระยะออกรวง) ถ้าข้าวเพิ่งจะเริ่มให้รวงเมื่อถูกราเข้าทำลาย เมล็ดจะลีบหมด แต่ถ้าเป็นโรคตอนรวงข้าวแก่ใกล้เก็บเกี่ยว จะปรากฏรอยแผลซ้ำสีน้ำตาลที่บริเวณคอรวง (เรียกว่าโรคไหม้คอรวง) **(ภาพ 2ข)** ทำให้เปราะหักง่าย รวงข้าวร่วงหล่นเสียหายมาก

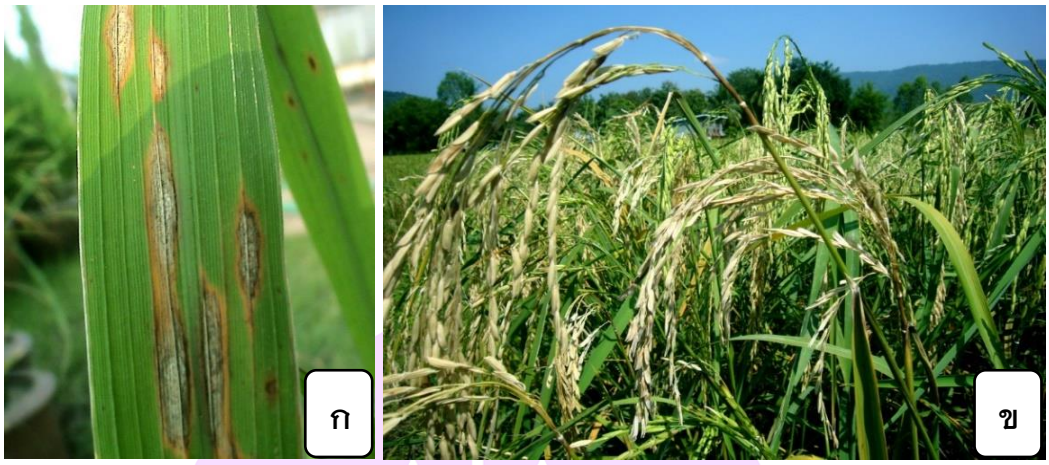
นอกจากนี้การแพร่ระบาดของโรค จะพบในแปลงที่ต้นข้าวหนาแน่น ทำให้อับลม ถ้าใส่ปุ๋ยสูงและมีสภาพแห้งในตอนกลางวันและชื้นจัดในตอนกลางคืน มีน้ำค้างยาวนานถึงตอนสาย ถ้าอากาศค่อนข้างเย็น อุณหภูมิประมาณ 22–25 องศาเซลเซียล ลมแรงจะช่วยให้โรคแพร่กระจายได้ดี (กรมวิชาการเกษตร, 2559)



ภาพ 1 ราก่อโรคใบไหม้ Pyricularia oryzae

หมายเหตุ: (ก = ลักษะโคโลนี ข = ลักษะโคนีเดีย และ ค = ลักษณะ conidiophore)

ที่มา: modify (Kunyosying, To-Anun and Cheewangkoon, 2018)



ภาพ 2 ลักษะบาดแผลหรืออาการของโรคใบไหม้

หมายเหตุ: (ก = โรคใบไหม้ และ ข = ใบไหม้คอรวง)

ที่มา: สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว (2559)

ความต้านทานที่พืชถูกเหนี่ยวนำให้สร้างขึ้น (induced resistance)

เป็นลักษณะความต้านทานที่พืชถูกกระตุ้นให้สร้างขึ้นมาเพื่อป้องกันตัวเองภายหลังเชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลาย ความต้านทานที่พืชถูกเหนี่ยวนำให้สร้างขึ้นนี้มีกลไกที่คล้ายกับกลไกที่เกิดขึ้นในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหรือ basal resistance ที่ทำงานโดยโมเลกุลของพืชที่ทำหน้าที่เป็นตัวตอบสนองการกระตุ้น (pattern recognition receptor; PRR) สามารถตรวจจับโมเลกุลจากเชื้อสาเหตุโรค (pathogen–associated molecular pattern; PAMP) อาทิเช่น โปรตีนแฟลกเจลลิน (flagellin) องค์ประกอบของผนังเซลล์ของแบคทีเรีย (lipopolysaccharide) หรือองค์ประกอบของผนังเซลล์รา (chitin) ความต้านทานลักษณะนี้มีชื่อเรียกเฉพาะว่า PAMP–triggered immunity หรือ PTI (Thomma, Nürnberger and Joosten, 2011) การรับรู้ของพืชส่งผลให้เกิดการตอบสนองในแบบต่าง ๆ ทั้งในลักษณะเพื่อป้องกันพืชและเพื่อกำจัดเชื้อสาเหตุที่เข้าทำลายพืช โดยพืชสังเคราะห์สารบางชนิดให้มีปริมาณเพิ่มขึ้นและเพียงพอที่จะกำจัดเชื้อสาเหตุโรคได้ทันเวลาภายหลังจากถูกเชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลาย เช่น การสังเคราะห์และสะสม b–glucan เชื่อมต่อกันเป็นโพลิเมอร์ด้วยพันธะ b–1, 3–glucan ซึ่งเรียกว่าแคลโลส (callose) พอกที่ผนังเซลล์ของราที่แทงผ่านเข้าสู่เซลล์ (papillae) เพื่อยับยั้งการบุกรุกของราภายในเซลล์พืช (Lucas, 1998) การสังเคราะห์สารไฟโตอเล็กซิน (phytoalexin) ที่เป็นสารประกอบในกลุ่มฟีนอลิก เทอร์ปีนอยด์ และอาลิพาติกส์ที่มีคุณสมบัติเป็นพิษต่อจุลินทรีย์โดยทั่วไป จึงมีผลในทางยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคที่เข้าทำลายพืชได้ (Buchanan, Gruissem and Jones, 2015)

กลไกการตอบสนองของพืชต่อการเข้าทำลายของจุลินทรีย์ก่อโรค

พืชสามารถตอบสนองต่อเชื้อโรคโดยมีกลไกการป้องกันตนเองจากเชื้อโรคได้ 2 ทาง ได้แก่ กลไกการป้องกันตนเองทางโครงสร้างของพืช (structural defenses) และทางชีวเคมี (biochemical defenses) ดังนี้

1) ทางโครงสร้างของพืช (structural defenses) เป็นลักษณะของสิ่งกีดขวางตามธรรมชาติ (physical barriers) ที่จะป้องกันไม่ให้เชื้อผ่านเข้าสู่พืชได้อย่างง่ายดาย เกิดขึ้นได้ทั้งก่อนและหลังการติดเชื้อโครงสร้างที่มีก่อนการติดเชื้อ ได้แก่ การมีแว็กซ์ที่เคลือบผิวของพืชไว้ ซึ่งจะป้องกันการเกาะติดของน้ำที่จะเป็นแหล่งสะสมของเชื้อได้ การมีชั้นคิวติเคิลที่หนาจะช่วยให้พืชทนต่อการถูกเชื้อเจาะได้ นอกจากนี้ขนาด ตำแหน่งที่อยู่และรูปร่างของปากใบมีความสำคัญต่อเชื้อที่สามารถทำให้พืชติดโรคผ่านทางปากใบ รวมทั้งความหนาของผนังเซลล์ที่จะป้องกันการงอกของสปอร์ของราซึ่งจะเป็นเกราะป้องกันของพืชทางโครงสร้างอีกชั้นหนึ่ง นอกจากนี้ยังมีโครงสร้างที่เกิดขึ้นหลังจากการติดเชื้อ ซึ่งจะมีการผลิตขึ้นหลังจากพืชถูกกระตุ้นด้วยเชื้อโรค เนื่องจากเชื้อโรคหลายชนิดจะมีการปล่อยสารเคมีที่ไม่จำเพาะ (non–specific elicitors) (การผลิตสารพิษ) แล้วสารเคมีดังกล่าวนี้จะถูกพืชจดจำและทำให้มีการส่งสัญญาณเพื่อให้เกิดระบบการป้องกันตนเองขึ้น ตัวอย่างโครงสร้างที่เกิดขึ้นหลังจากการติดเชื้อ ได้แก่ การมีผนังเซลล์หนาขึ้นจากการผลิตเซลลูโลสเพิ่มขึ้น ทำให้พืชมีความทนทานต่อการแพร่กระจายของเชื้อมากขึ้น รวมทั้งการสะสมแคลโลสบริเวณผนังเซลล์ชั้นในของพืช เชื้อโรคจึงไม่สามารถแทรกตัวเข้ามาภายในเซลล์ การสร้าง cork layers หรือเซลล์ที่เจริญเป็นชั้น ๆ สามารถยับยั้งการบุกรุกของเชื้อและป้องกันการแพร่ระจายของเชื้อได้ การปริแตกของเนื้อเยื่อ (abscission regions) เพื่อป้องกันการกระจายเป็นวงกว้างของเชื้อ การสะสมยางเหนียว (gums) ทำให้เชื้อโรคบางชนิดหยุดการเจริญเติบโตและตายไปในที่สุด รวมทั้งการเกิด hypersensitive cell death ซึ่งเป็นการตอบสนองโดยการตายอย่างรวดเร็วของพืชบริเวณที่ติดเชื้อทำให้เชื้อไม่สามารถแพร่กระจายไปยังเซลล์และเนื้อเยื่อข้างเดียงได้ โดยจะสังเกตเห็นเป็นรอยไหม้สีน้ำตาลอย่างชัดเจน (ยุรฉัตร, 2554)

2) ทางชีวเคมี (biochemical defenses) แม้ว่าพืชจะมีการป้องกันตัวเองทางโครงสร้างแล้วแต่เชื้อโรคก็ยังเข้าไปในพืชได้ อย่างไรก็ตามพืชยังมีการป้องกันทางชีวเคมีอีกทางหนึ่งนั่นคือการผลิตสารที่มีความเป็นพิษต่อเชื้อและยับยั้งไม่ให้เชื้อแพร่กระจายลุกลามในต้นพืชได้ การป้องกันทางชีวเคมีสามารถเกิดขึ้นได้ทั้งก่อนและหลังการติดเชื้อเช่นเดียวกับการป้องกันทางโครงสร้าง (Agrios, 2005) สารเคมีที่พืชผลิตขึ้นก่อนการติดเชื้อ เช่น ในมะเขือเทศและบีทรูทจะมีการผลิตสารหลั่งที่เป็นพิษต่อเชื้อโรค (fungitoxic exudates) ซึ่งจะสามารถยับยั้ง

การงอกของชูโอสปอร์ของเชื้อโรคได้หรือในพืชบางชนิดจะมีการผลิต phytoanticipins ก่อนที่พืชจะมีการติดเชื้อ รวมทั้งยังผลิตสารประกอบฟีนอลิกต่าง ๆ ด้วย หรือในบางกรณีสารที่พืชหลั่งออกมาเป็นปกติอยู่แล้วก็อาจมีความเป็นพิษต่อเชื้อโรคได้เช่นเดียวกัน เช่น ไดอีน (dienes) เป็นสารประกอบที่คล้ายกรดไขมันชนิดหนึ่งจะมีการผลิตในปริมาณสูงในเซลล์ของใบและผลอ่อนแล้วทำให้ใบและผลอ่อนนั้นมีความต้านทานต่อเชื้อมากกว่าเซลล์ที่แก่กว่า (Agrios, 2005) ส่วนสารเคมีที่พืชผลิตขึ้นภายหลังจากการติดเชื้อ เช่น ไฟโตอเล็กซิน (phytoalexins) ซึ่งเป็นสารปฏิชีวนะที่เป็นพิษต่อเชื้อก่อโรค ในยางพารามีการศึกษากลไกการตอบสนองต่อเชื้อเป็นครั้งแรก โดย Tan and Low (1976) พบการเกิดสารเรืองแสงภายใต้แสง UV ในเนื้อเยื่อใบภายใต้การตอบสนองต่อรา *Colletotrichum gloeosponoides* สารประกอบดังกล่าวยังถูกชักนำให้มีการผลิตขึ้นในยางพาราหลังจากติดเชื้อ *Microcyclus ulei* ด้วยและพบว่าสารเรืองแสงดังกล่าว คือ hydroxycoumarin ให้ชื่อว่า สคอพอลิติน (scopoletin) (Giesemann, Lieberei and Biehl, 1986) ซึ่งเป็นไฟโอเล็กซินชนิดหนึ่ง นอกจากนี้ยังมีการเกิด hypersensitive cell death ซึ่งเป็นปฏิกิริยาของกลไกป้องกันโรคที่สำคัญมากที่สุดแบบหนึ่ง ในทางชีวเคมีการเกิด hypersensitive cell death จะมีการปล่อยสารพิษที่จะทำให้เนื้อเยื่อบริเวณที่ติดเชื้อตายอย่างรวดเร็ว ซึ่งทำให้เชื้อตายลงเช่นเดียวกัน นอกจากนี้ยังมีการปล่อยสารยับยั้งการเจริญของเชื้อ (antimicrobial substance) เช่น pathogenesis related proteins (PRS) เพื่อป้องกันการแพร่ขยายเป็นวงกว้างของเชื้ออีกด้วย (ยุรฉัตร, 2554)

ราเอนโดไฟท์

เอนโดไฟท์ คือราหรือแบคทีเรียที่ช่วงเวลาหนึ่งหรือตลอดทั้งช่วงชีวิตจะอาศัยอยู่ในพืชโดยไม่ทำให้พืชแสดงอาการเป็นโรค (Wilson, 2000) ความสัมพันธ์ที่เชื้ออยู่กับพืชมีได้ตั้งแต่การอาศัยอยู่ร่วมกันแบบ Symbiosis จนถึงการเป็นเชื้อราก่อโรค ในกรณีของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็น Symbiotic อาจมีการค้นพบสารประกอบอินทรีย์ที่เป็นสารชนิดใหม่ และไม่ค่อยมีมากที่จะเกิดขึ้นจากความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อและพืชอาศัยที่สนับสนุนกันและกันอยู่ ซึ่งในขณะเดียวกันอาจมีการค้นพบสารออกฤทธิ์ที่ใหม่และน่าสนใจที่จะนำไปใช้ทางด้านการแพทย์ อุตสาหกรรม และเกษตรกรรม ประโยชน์บางอย่างของสารออกฤทธิ์ที่รู้จักกันดีในตอนนี้คือ สารต่อต้านมะเร็ง สารต่อต้านเชื้อรา สารต่อต้านแบคทีเรีย สารฆ่าแมลง และสารยับยั้งภูมิคุ้มกัน (Strobel, 2002) ปัจจุบันมีความเชื่อว่ารา endophytes มีแนวโน้มที่จะผลิตสารออกฤทธิ์ชนิดใหม่หลายชนิด (Bills and Polishook, 1992; Brunner and Petrini, 1992; Fisher, Anson and Petrini, 1984; Tejesvi, Kini, Prakash, Subbiah and Shetty, 2007) และมีงานวิจัยที่แสดงให้เห็นว่าพืชสมุนไพรบางชนิดมีเชื้อราอาศัยอยู่ร่วม ซึ่งราที่แยกได้จากภายในต้นสมุนไพรนั้นผลิต

สารออกฤทธิ์ชนิดเดียวกันกับพืช ตัวอย่างเช่น ราที่เจริญอยู่ในต้น Yew ซึ่งผลิตสาร Taxol เช่นเดียวกับพืช (Pulici et al., 1996; Stierle, Strobel and Stierle, 1993) ซึ่งมีการคาดการณ์ว่าสารที่ออกฤทธิ์ที่สร้างขึ้นโดยสมุนไพร อาจจะถูกสร้างขึ้นโดยราที่อาศัยในพืชสมุนไพรนั้นด้วย การได้มาซึ่งราชนิดใหม่ก็คาดหวังว่าจะเป็นแหล่งของสารใหม่ที่มีประโยชน์ที่จะใช้ศึกษาต่อไปได้ ทั้งนี้การศึกษาราไตรโครเดอร์มาเพื่ออุตสาหกรรมการเกษตรก็เป็นราที่น่าสนใจสำหรับการผลิตชีวภัณฑ์เพื่อใช้ส่งเสริมการเจริญเติบโตและการยับยั้งราสาเหตุโรคในพืช

ราไตรโคเดอร์มา (*Trichoderma* sp.)

เป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มีประโยชน์ จัดเป็น Soil saprophyte และเป็น Mycoparasite โดยใช้เส้นใยขดเป็นวงรอบเส้นใยราสาเหตุโรคพืช จากนั้นเข้าเจริญในเส้นใยของราสาเหตุโรคพืชได้โดยการย่อยผนังเซลล์ แล้วใช้อาหารจากราสาเหตุโรคพืช ราไตรโคเดอร์มาจะเจริญได้ดีในดินที่มีความชื้น แต่ไม่แฉะ สามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์จากดินธรรมชาติได้ง่าย ขยายพันธุ์โดยการสร้างสปอร์ ราไตรโคเดอร์มาเป็นราที่พบได้ทั่วไปในดินเศษซากพืช ซากสัตว์ อินทรียวัตถุ และบริเวณระบบรากของพืช (Vinale et al., 2006) สามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงราได้หลายชนิด และมีการเจริญเติบโตเร็วผลิตสปอร์ได้มาก ราชนิดนี้มีหลายสายพันธุ์ มีการรายงานมากกว่า 30 ชนิด (Tang et al., 2001) บางสายพันธุ์มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพืช และบางสายพันธุ์สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ (เกษม, 2551) โดยประโยชน์ของราไตรโคเดอร์มามีหลายอย่าง ดังต่อไปนี้

1. ช่วยยับยั้งและทำลายการงอกของสปอร์ แข่งขันการใช้อาหารเพื่อการเจริญของเส้นใยเชื้อโรคพืช รบกวนกิจกรรมต่าง ๆ ของเชื้อโรคทำให้ความรุนแรงลดลง

2. ช่วยลดปริมาณเชื้อโรคพืช ทำลายเส้นใยของราสาเหตุโรคพืชโดยการพันรัดและแทงทำลายโครงสร้างที่เชื้อโรคสร้างขึ้นสำหรับการขยายพันธุ์ ทำลายโครงสร้างที่เชื้อโรคพืชสร้างขึ้นเพื่ออยู่ข้ามฤดูกาล

3. ช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตของพืช ราไตรโคเดอร์มาป้องกันระบบรากพืชจากการเข้าทำลายของราสาเหตุโรคพืช สามารถทำให้ระบบรากพืชสมบูรณ์แข็งแรง ราไตรโคเดอร์มาผลิตสารเร่งการเจริญเติบโตของพืชได้ ราไตรโคเดอร์มาช่วยให้เมล็ดงอกและเจริญเติบโตดี

4. ช่วยเพิ่มความต้านทานโรคของพืช กระตุ้นให้เกิดความต้านทานโรคขึ้นภายในพืช พืชที่มีระบบรากดี เจริญเติบโตดี แข็งแรง จึงต้านทานโรคได้ดีขึ้น

ราไตรโคเดอร์มาต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว

ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของต้นข้าวขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม โดยเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาของต้นข้าว การทำให้ลักษณะทางสรีรวิทยาของต้นข้าวดีขึ้นเป็นสิ่งที่ร้องการ เนื่องจากมีความสำคัญต่อการเกษตรต่อความสำเร็จของผลผลิตข้าว (Li et al., 2012; Makino, 2011) การทำงานของรา *Trichoderma* sp. มีส่วนช่วยในการเพิ่มการเจริญเติบโตและการกระจายตัวของราก ถือเป็นปัจจัยหลักในการสังเคราะห์แสงเป็นเวลานานและความชะลอตัวในต้นข้าว (Mishra and Salokhe, 2011) อีกทั้งความสูงต้น (Chowdappa, Kumar, Lakshmi and Upreti, 2013) การดูดซึมสารอาหาร (Saba et al., 2012) การละลายโพสแทสเซียมและ Siderophore (Neumann and Laing, 2006) นอกจากนี้รา *Trichoderma* sp. ยังมีศักยภาพในการย่อยสลายเซลลูโลส (Jiang, Geng, He and Li, 2011) ซึ่งการย่อยสลายเซลลูโลสอาจจะปล่อยไนโตรเจนจำนวนมากในบริเวณรากของต้นข้าว ช่วยในการดูดซึมไนโตรเจนจำนวนมาก และจะมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับอัตราสังเคราะห์แสง ทั้งนี้ปากใบยังมีบทบาทสำคัญในการสังเคราะห์แสง เพราะน้ำและคาร์บอนไดออกไซด์เกี่ยวข้องเป็นอย่างมากในกระบวนการสังเคราะห์แสง ก่อนจะไหลผ่านเข้าสู่เซลล์ Mesophyll และ Chloroplast ซึ่งกลไกนี้ Harman et al., (2004) ระบุว่าการใช้ประโยชน์จากรา *Trichoderma* sp. จะสามารถหาอาหารเพิ่มขึ้นได้ด้วยการละลายและขับแร่ธาตุจากกระบวนการเผาผลาญที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ จะเพิ่มประสิทธิภาพของการทำงานทางสรีรวิทยาของข้าว

เอกสารที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาของ สายทอง แก้วฉาย, (2555) ศึกษาราไตรโคเดอร์มา (*Trichoderma* sp.) เป็นราปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมราสาเหตุโรคพืช และสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตให้แก่พืช โดยราไตรโคเดอร์มาที่สามารถควบคุราสาเหตุโรคพืชมีหลายสายพันธุ์ เช่น *T. harzianum*, *T. viride* และ *T. virens* และยังสามารถควบคุมราสาเหตุโรคพืชหลายชนิด เช่น *Phytophthora* sp., *Pythium* sp., *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* sp., *Sclerotium rolfsii*, *Alternaria* sp., *Colletotrichum* sp., *Sclerotinia sclerotiorum* และ *Botrytis cinerea* กลไกการควบคุมโรคของราไตรโคเดอร์มามีหลายกลไกที่สำคัญ เช่น การสร้างสารปฏิชีวนะการแข่งขัน การเป็นปรสิต และการชักนำให้เกิดความต้านทาน ในปัจจุบันมีการผลิตราไตรโคเดอร์มาเพื่อควบคุมโรคพืช และผลิตเพื่อจำหน่ายทางการค้าอย่างกว้างขวาง

การศึกษาของ ธิติ ทองคำงาม และคณะ (2556) ศึกษาการประเมินความสามารถในการเป็นราปฏิปักษ์ในห้องปฏิบัติการของรา *Trichoderma* sp. ต่อการยับยั้งรา *Fusarium*

oxysporum f. sp. *lactucae* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคเหี่ยวในผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ โดยผลการศึกษาประสิทธิภาพในการเป็นราปฏิปักษ์ของรา *Trichoderma* sp. 14 ไอโซเลท ด้วยวิธีการ dual culture test พบว่ารา *Trichoderma* sp. ทุกไอโซเลทที่นำมาทดสอบมีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* (F 221-R และ F 422-G) ได้ ซึ่งจะเห็นได้เด่นชัดที่สุดจำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท T515-1, T515-2 และ T515-3 โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 53.4-73.1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งวิธี Volatile metabolite test พบว่ารา *Trichoderma* sp. ทุกไอโซเลทที่นำมาทดสอบสามารถสร้างสารระเหยได้ แต่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งค่อนข้างต่ำอยู่ในช่วง 25.2-44.8 เปอร์เซ็นต์ และวิธี Detached leaf assay พบว่ารา *Trichoderma* sp. มีศักยภาพและคุณสมบัติในการลดความรุนแรงของโรคบนใบของผักสลัดที่เกิดจากเชื้อสาเหตุโรค 3 ชนิด คือรา *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* จำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท F114-B, F221-R และ F422-G รา *Curvularia* sp. และรา *Alternaria* sp. ได้ 50-80 เปอร์เซ็นต์

การศึกษาของ วิพรพรรณ์ เนื่องเม็ก และคณะ (2557) ศึกษาผลของรา *Trichoderma* sp. ต่อการเจริญเติบโต และการควบคุมโรคของแคนตาลูปในแปลง โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ที่มีทั้งหมด 2 กรรมวิธี ได้แก่ การปลูกแคนตาลูปที่รองก้นหลุมด้วยรา *Trichoderma* sp. และการปลูกแคนตาลูปที่ไม่ใส่รา *Trichoderma* sp. รองก้นหลุมก่อนปลูก พบว่า ต้นแคนตาลูปที่ใส่รา *Trichoderma* sp. รองก้นหลุมก่อนปลูก มีการเจริญเติบโตทางลำต้นมากที่สุด โดยมีความสูงและจำนวนข้อเท่ากับ 143.07 เซนติเมตร และ 27.90 ข้อ ตามลำดับ ส่วนผลการเกิดโรค พบว่าในแปลงที่ใส่ราไตรโคเดอร์มาไม่พบการเกิดโรคราน้ำค้างและโรคเหี่ยว ในขณะที่แปลงที่ไม่ใส่เชื้อไตรโคเดอร์มาพบการเกิดราน้ำค้าง และโรคเหี่ยวร้อยละ 26.70 และร้อยละ 80.00 ตามลำดับ

การศึกษาของ ครองใจ โสมรักษ์ และ อังคณา เทียนกล้า (2559) ศึกษาประสิทธิภาพของราไตรโคเดอร์มาชนิดสดในการควบคุมโรคราสนิมขาวของผักบุ้ง โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์จำนวน 4 ทรีตเม้นท์ ๆ ละ 4 ซ้ำ ได้แก่ ทรีตเม้นท์ที่ 1 คลุกเมล็ดผักบุ้งด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มาก่อนปลูก ทรีตเม้นท์ที่ 2 หว่านปุ๋ยหมักผสมราไตรโคเดอร์มาก่อนปลูก ทรีตเม้นท์ที่ 3 พ่นราไตรโคเดอร์มาก่อนปลูก และทรีตเม้นท์ที่ 4 ไม่ใช้ราไตรโคเดอร์มา (ชุดควบคุม) ผลการทดลองพบว่า การใช้ราไตรโคเดอร์มาชนิดสดสามารถควบคุมโรคราสนิมขาวในผักบุ้งได้ โดยพบร้อยละการเกิด โรคราสนิมขาว ร้อยละ 5.00 ในแปลงที่ปลูกโดยการใส่ปุ๋ยหมักผสมราไตรโคเดอร์มาก่อนปลูก ส่วนแปลงที่ไม่ใช้ราไตรโคเดอร์มา (ชุดควบคุม) พบร้อยละการเกิดโรคราสนิมขาวมากที่สุด คือร้อยละ 16.25

และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ นอกจากนี้การใช้ราไตรโคเดอร์มาทุกวิธีมีผลต่อความสูงและผลผลิตของผักบุ้ง เมื่อครบ 35 วันหลังปลูก พบว่าการพ่นราไตรโคเดอร์มาช่วยให้ต้นผักบุ้งมีความสูงที่สุด คือ 31.9 เซนติเมตร โดยผักบุ้งที่ใช้ราไตรโคเดอร์มาให้ผลผลิตระหว่าง 2.47–2.67 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ส่วนทรีตเม้นต์ที่ไม่ใช้ราไตรโคเดอร์มาให้ผลผลิตเพียง 2.37 กิโลกรัมต่อตารางเมตร

การศึกษาของ ปุญญิศา ชารีรักษ์ และคณะ (2559) ศึกษาประสิทธิภาพของรา *Trichoderma* sp. ที่แยกได้จากเส้นใยเห็ดนางฟ้า ในการควบคุมรา *Sclerotium rolfsii* Sacc. สาเหตุโรคโคนเน่าขาวของถั่วลิสง เปรียบเทียบกับสารฆ่ารา carboxin และ PCNB (pentachloro nitrobenzene) โดยทดสอบการยับยั้งการเจริญของเส้นใยในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Dual culture และทดสอบการควบคุมโรคโคนเน่าขาวในถั่วลิสง โดยทดสอบในกระถาง ผลการทดสอบในห้องปฏิบัติการพบว่ารา *Trichoderma* sp. มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *S. rolfsii* ได้ดีที่สุดคือ 56.55 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ carboxin และ PCNB โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 35.88 และ14.33 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ การทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคโคนเน่าขาวในกระถาง พบว่า PCNB และ *Trichoderma* sp. มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคโคนเน่าขาวได้ดีที่สุด รองลงมาคือ carboxin โดยมีเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคของถั่วลิสงเท่ากับ 30, 40 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การศึกษาของ ประภาษ กาวิชา และคณะ, (2563) ศึกษาการพัฒนาชีวภัณฑ์ราไตรโคเดอร์มาชนิดเม็ด เพื่อยืดอายุการเก็บของราไตรโคเดอร์มา และใช้ควบคุมรา *Fusarium oxysoprum* f. sp. *lycopersici* (Fol) มี 3 ปัจจัย ได้แก่ สูตรห่อหุ้มอุณหภูมิในการเก็บและระยะเวลาเก็บ แต่ละสูตรมีโคนิเดียของรา *Trichoderma* sp. และ sodium alginate เท่ากัน แต่มีความเข้มข้นของ glycerol และแป้งมันสำปะหลังต่างกัน เก็บชีวภัณฑ์ที่อุณหภูมิห้อง และ 4 องศาเซสเซียล เก็บรักษา 1–9 เดือน ผลการศึกษาพบว่ารา *Trichoderma* sp. ในชีวภัณฑ์แต่ละสูตรมีชีวิตรอดและระยะเวลาเก็บต่างกัน การเก็บที่ 4 องศาเซสเซียล ทำให้รามีชีวิตรอดสูงกว่าการเก็บที่อุณหภูมิห้อง โดยสารชีวภัณฑ์สูตร F1 (sodium alginate 0.88%+glycerol 1.5%) เหมาะสมต่อการเก็บที่อุณหภูมิห้องจะมีจำนวนโคนิเดียที่มีชีวิตสูงที่สุดและคงที่ นาน 5 เดือน ส่วนการเก็บที่ 4 องศาเซสเซียล จะพบว่า สูตร F3 (sodium alginate 0.88%+tapioca starch 1.5%), F4 (sodium alginate 0.88%+glycerol 1.5%+tapioca starch 1.5%), F5 (sodium alginate 0.88%+glycerol 1.5%+tapioca starch 3.7%) และ F6 (sodium alginate 0.88%) มีจำนวนโคนิเดียที่มีชีวิตสูงที่สุดและคงที่นาน 9 เดือน ราที่มีชีวิตรอดในชีวภัณฑ์แต่ละสูตรยังคงความสามารถในการควบคุมการเจริญของรา *F. oxysoprum* f.sp. *lycopersici*

การศึกษาของ Doni, Isahak, Che Mohd Zain and Wan Yusoff, (2014) ทำการศึกษาราไตรโคเดอร์มาที่เป็นประโยชน์ต่อกลไกของพืชเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโต ในการศึกษาประสิทธิภาพของรา *Trichoderma* sp. จำนวน 7 ไอโซเลทเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโต และสรีรวิทยาในข้าว การทดลองแบบสุ่มแบบสภาพโรงเรือน พบว่ารา *Trichoderma* sp. ไอโซเลทที่ผ่านการทดสอบ สามารถเพิ่มประสิทธิภาพของข้าวได้หลายกระบวนการสรีรวิทยา ซึ่งรวมถึงอัตราการสังเคราะห์แสง การเปิดปิดของปากใบ การคายน้ำ ความเข้มข้นของ CO_2 และประสิทธิภาพในการใช้น้ำ ราไตรโคเดอร์มายังสามารถเพิ่มองค์ประกอบในการเจริญเติบโตของข้าวได้ เช่น ความสูงต้น จำนวนใบ จำนวนหน่อความยาวรากและน้ำหนัก รา *Trichoderma* sp. SL2 ที่ปลูกลงในต้นข้าว แสดงอัตราการสังเคราะห์แสงที่สูงขึ้น (8.66 μmolCO2 m^{-2} s^{-1}) ความเข้มข้นของ CO2 (336.97 ppm) ประสิทธิภาพในการใช้น้ำ (1.15 μmoCO_2 / mmoH_2O) ความสูงต้น (70.47 เซนติเมตร) จำนวนหน่อ 12 ต้น ความยาวราก (22.5 cm) และน้ำหนักสด (15.21 กรัม) เมื่อเปรียบเทียบกับทรีทเม้นท์อื่น ๆ ที่ทดสอบโดยรา *Trichoderma* sp. สายพันธุ์อื่น สรุปได้ว่าราสามารถใช้เป็นประโยชน์ที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต และศักยภาพในการปลูกของข้าว

การศึกษาของ Aravindan, Yadav and Sharma, (2016) ทำการศึกษาประสิทธิภาพของรา *Trichoderma* spp. ต่อโรคใบไหม้ที่เกิดจากรา *Magnaporthe oryzae* ในกรรมวิธีที่แตกต่างกัน ทดสอบโรคใบไหม้ในข้าว 4 สายพันธุ์ ได้แก่ Swarna, IR – 64, Samba Mahsuri และ Sahbhagi Dhan ภายใต้สภาพข้าวในที่สูงที่ Almora และ Hazaribag ซึ่งราไตรโคเดอร์มาไอโซเลท Th–3 ที่ทดสอบกับข้าวพันธุ์ Samba Mahsuri (57%) แสดงเปอร์เซ็นต์ความสูงของพืชสูงสุด ตามมาด้วยไอโซเลท Tv–12 ที่ทดสอบกับข้าวพันธุ์ Samba Mahsuri (44%) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มความยาวของราก (51–93%), จำนวนใบทั้งหมด (6–60%), จำนวนก่อ (3–41%), ช่อ (4–39%), ความยาวใบธง (2–30%) และความยาวของช่อ (5–32%) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ทั้งนี้เมล็ดพันธุ์ที่ได้รับราไตรโคเดอร์มาจะมีความรุนแรงของโรคต่ำ เมื่อเทียบกับเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้รับราไตรโคเดอร์มา

การศึกษาของ Gava and Pinto, (2016) ได้ทำการศึกษาการประเมินความสามารถของรา *Trichoderma* Sp. ต่อการควบคุมโรคเหี่ยวของเมล่อนในแปลงปฏิบัติการ โดยการทดสอบครั้งแรกได้ทำการประเมินการใช้รา *T. harzianum* LCB47, *T. viride* LCB48, *T. koningii* LCB49 และ *T. polysporum* LCB50 ต่อการควบคุมโรคเหี่ยวที่อยู่ในดินตามธรรมชาติ โดยกรรมวิธีที่ใช้รา *T. polysporum* LCB50 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวสูงที่สุด (44.85%) และให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น 43% ส่วนในการทดสอบครั้งที่สองที่ใช้รา *T. polysporum* LCB50 ได้นำใช้ใน

กระบวนการเพาะเมล็ดและทำซ้ำอีกครั้งหลังปลูก 15 วัน โดยใช้น้ำหมัก 2 อัตราส่วนคือ 25 mL pL^{-1} (LC25) และ 50 mL pL^{-1} (LC50) ให้พืชเป็นรายสัปดาห์ตามกระบวนการปลูกพืช การทดสอบนี้ใช้รา *T. polysporum* LCB50 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวได้ (32.20%) และให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น ในกรรมวิธีที่ใช้รา *T. polysporum* LCB50, (LC50) ซึ่งในเชิงการค้าสามารถเพิ่มผลผลิตได้ถึง 100% จากผลที่ได้ การใช้รา *T. polysporum* LCB50, (LC50) และอินทรียวัตถุต่าง ๆ สามารถนำไปใช้ในการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวได้

การศึกษาของ Kulmitra et al., (2017) ทำการศึกษาราเอนโดไฟท์ที่แตกต่างกัน 5 สายพันธุ์ ได้แก่รา *Trichoderma viride, T. harzianum, T. virens, Pseudomonas fluorescens* และ *Bacillus subtilis* ประเมินเปรียบเทียบกับราก่อโรคใบไหม้ *Pyricularia oryzae* โดยวิธี dual culture ที่เวลา 4 และ 8 วัน หลังการเพาะเลี้ยง พบว่าราเอนโดไฟท์ทั้ง 5 สายพันธุ์ มีการยับยั้งการเจริญของราก่อโรคสูงที่สุด คือรา *T. virens* ที่ร้อยละ 67 และร้อยละ 70 หลังจากการบ่มที่ 4และ 8 วัน ตามลำดับ โดยมีค่าเฉลี่ยร้อยละ 68.5 รองลงมาคือรา *T. viride* ที่มีการยับยั้งการเจริญเติบโตที่ร้อยละ 61 และ 63 ตามลำดับ โดยมีค่าเฉลี่ยร้อยละ 62 ส่วนรา *P. fluorescens* ไม่แสดงการยับยั้งการเจริญของเส้นใยต่อรา *P. oryzae* เนื่องจากเชื้อก่อโรคจะเติบโตได้ดีกว่า

การศึกษาของ Jambhulkar et al., (2018) ทำการศึกษาศักยภาพการควบคุมทางชีวภาพในหลอดทดลอง โดยใช้รา *T. harzianum* สายพันธุ์ Th 3, *P. fluorescens* สายพันธุ์ RRb 11 และสารกำจัดราคาร์เบนดาซิมต่อราสาเหตุโรคใบไหม้ (*Magnaporthe oryzae*) และโรคขอบใบแห้ง (*Xanthomonas oryzae* pv.) การใช้รา*T. harzianum* Th3 และ *P. fluorescens* RRb11 ร่วมกันจะช่วยลดความรุนแรงของโรคใบไหม้ร่วมกันได้ 69.5% เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ใช้เชื้อเอนโดไฟท์ ซึ่งมีปัจจัยการทำงานร่วมกัน (synergy factor; SF) ที่ 1.29 ส่วนรา *P. fluorescens* RRb 11 เพียงอย่างเดียว และการใช้ร่วมกับรา *T. harzianum* Th 3 และการใช้ผสมกันระหว่างรา *T. harzianum* Th3 กับ คาร์เบนดาซิม (SF = 0.71 และ 0.45 ตามลำดับ) ทั้งนี้การใช้รา *T. harzianum* Th 3 และรา *P. fluorescens* RRb11 ร่วมกัน ยังช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตและผลผลิตของต้นข้าว

การศึกษาของ Dethoup, Klaram, Pankaew and Jantasorn, (2022) ทำการศึกษาสารชีวภัณฑ์ในการควบคุมโรคพืช โดยใช้รา *Trichoderma* sp., *Talaromyces* sp. และ *Bacillus* sp. ต่อสารกำจัดเชื้อรา 27 ชนิด ในอัตราที่แนะนำ และครึ่งหนึ่งของอัตราที่แนะนำ และสารสกัดหยาบจากพืช 10 ชนิด ที่อัตรา 10 และ 50 gL^{-1} โดยผลการวิจัย พบว่าราชนิดเดียวกันมีความ

อ่อนไหวต่อกันหรือเข้ากันได้กับสารกำจัดราแต่ละชนิดในลักษณะเดียวกัน ซึ่งรา *T. harzianum* แสดงความต้านทานสูงสุดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมกับสารฆ่ารา ตามด้วยรา *T. asperellum*, *T. hamatum*, *T. reesei*, *T. viride*, *Talaromyces flavus* และ *T. Tratensis* ตามลำดับ ส่วนสารฆ่าเชื้อรา ได้แก่ Carbendazim, prochloraz, propiconazole, tebuconazole, fluopyram + tebuconazole, tebuconazole + trifloxystrobin, thiophanate methyl และ triforine ที่ทำการทดสอบทั้งสองอัตรา พบว่ารา *Trichoderma* sp. สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยรา *Talaromyces* sp. ได้ 100% ในขณะเดียวกันเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* สามารถเจริญได้กับสารฆ่าราและสารสกัดจากพืชดิบมากกว่าสายพันธุ์ *B. subtilis* อีกทั้งสารสกัดจาก *Syzygium aromaticum* และ *Piper betle* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ได้ทั้งหมดอย่างสมบูรณ์ ในขณะที่สารต้านทั้งหมดที่ทำการทดสอบการเจริญเติบโตตามปกติในสารสกัด รา *P. longum* ที่ 50 g L^{-1} นอกจากนี้ ผลการวิจัยพบว่าราไตรโคเดอร์มา มีผลเสียต่อการงอกและการเจริญเติบโตของกล้าข้าว และยับยั้งการงอกของข้าวได้มากถึง 80% เมื่อนำไปเพาะเมล็ดที่ 10^6 สปอร์ต่อกรัม

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมรา *Trichoderma phayaoense* (L1 I3)

นำรา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่แยกได้จากพืชสมุนไพรต้นสาบเสือที่ได้จากห้องปฏิบัติการสาขาเกษตรศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา โดยนำเชื้อออกจาก Stoke culture มาเลี้ยงบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 7 – 14 วัน สังเกตการเจริญของเส้นใย และสปอร์รา

แผนการศึกษาที่ 1 การศึกษาประสิทธิภาพของวัสดุเพาะขยายและสูตรสำเร็จ

การทดลองที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพของวัสดุเพาะขยายรา *T. phayaoense* (L1 I3)

ศึกษาประสิทธิภาพของวัสดุเพาะขยายรา *T. phayaoense* (L1 I3) โดยใช้วัสดุเพาะขยายจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ เวอร์มิคูไลท์ รำข้าว ข้าวหัก และข้าวฟ่าง โดยศึกษาร่วมกับวัสดุประสาน โดยใช้วัสดุเพาะขยายจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ เคโอลิน (ดินขาวลำปาง) และไดอะตอมมาเซียส (ดินเบา) ปริมาณ 50: 50 กรัม บรรจุลงในขวดแก้ว ขนาด 16 ออนซ์ (เพื่อศึกษาการเจริญร่วมกับวัสดุประสาน) นำไปนึ่งฆ่าเชื้อแล้วนำมาผสมกับสารแขวนลอยโคนีเดีย (conidia suspension) ของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ความเข้มข้น 1.0 x 10^8 โคนีเดียต่อมิลลิลิตร ในอัตราส่วนวัสดุเพาะขยาย 50 กรัมต่อสารละลาย 30 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ให้มีความชื้น 8 เปอร์เซ็นต์ นาน 7 วัน ทำการนับจำนวนโคนีเดียของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ด้วยวิธี 10 – fold dilution plate method โดยการเจือจางความเข้มข้น 8 ระดับคือ 10^{-1} – 10^{-8} จากนั้นนำความเข้มข้นที่ 10^{-8} ไปละเลงให้ทั่วผิวหน้าอาหาร potato dextrose agar (PDA) ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ บ่มนาน 5 วัน จากนั้นนับจำนวนโคโลนีเชื้อจุลินทรีย์บนอาหาร และคำนวณปริมาณของเชื้อในวัสดุเพาะขยายเชื้อราตามสูตร CFU / ml และนำข้อมูลที่ได้มาทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติ จากนั้นทำการคัดเลือกวัสดุเพาะขยายเชื้อราที่เหมาะสมที่สุด ได้แก่ ราคา ปริมาณความเข้มข้นของเชื้อ เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป โดยวางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD (4 x 2) จำนวนทั้งหมด 8 กรรมวิธี ๆ ละ 5 ซ้ำ ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 เวอร์มิคูไลท์ + เคโอลิน (ดินขาวลำปาง)

กรรมวิธีที่ 2 รำข้าว + เคโอลิน (ดินขาวลำปาง)

กรรมวิธีที่ 3 ข้าวหัก + เคโอลิน (ดินขาวลำปาง)

กรรมวิธีที่ 4 ข้าวฟ่าง + เคโอลิน (ดินขาวลำปาง)

กรรมวิธีที่ 5 เวอร์มิคูไลท์ + ไดอะตอมมาเซียส (ดินเบา)

กรรมวิธีที่ 6 รำข้าว + ไดอะตอมมาเซียส (ดินเบา)

กรรมวิธีที่ 7 ข้าวหัก + ไดอะตอมมาเซียส (ดินเบา)

กรรมวิธีที่ 8 ข้าวฟ่าง + ไดอะตอมมาเซียส (ดินเบา)

การทดลองที่ 2 การศึกษาสูตรสำเร็จ และการทดสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์ชีวภาพ

นำวัสดุเพาะขยายเวอร์มิคูไลท์ และรำข้าว ผสมกับวัสดุประสานเคโอลิน (ดินขาวลำปาง) และไดอะตอมมาเซียส (ดินเบา) นำมาทดสอบสูตรสำเร็จ โดยผสมในอัตราส่วน 2.5: 2.5: 5 (วัสดุเพาะขยาย: วัสดุเพาะขยาย: วัสดุประสาน) ผสมให้เข้ากัน (ถ้าวัสดุมีความชื้นให้นำไปอบให้แห้งก่อน และยังไม่ผสมโคนีเดียรา *T. phayaoense* (L1 I3) นำไปปั๊มเมล็ดด้วยใช้เครื่องตอกเม็ดอัตโนมัติ ยี่ห้อ TABLET PRESS MACHINERY รุ่น ZP–17D จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปทดสอบคุณภาพของสูตรสำเร็จของปุ๋ยชีวภาพ ได้แก่ ความหนาแน่น ความเป็นกรด – ด่าง (pH) การเหนี่ยวนำไฟฟ้า การละลายน้ำ และความชื้น คัดเลือกสูตรสำเร็จที่มีความเหมาะสมไปใช้การศึกษาต่อไป วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) จำนวน 2 กรรมวิธี ๆ ละ 10 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 เวอร์มิคูไลท์ + รำข้าว + เคโอลิน (ดินขาวลำปาง)

กรรมวิธีที่ 2 เวอร์มิคูไลท์ + รำข้าว + ไดอะตอมมาเซียส (ดินเบา)

2.1 การทดสอบความหนาแน่น

วัดขนาดของเม็ดด้วยใช้เครื่อง Digital caliper Vernier gauge ขนาด 0 – 150 มิลลิเมตร และทำการชั่งน้ำหนักต่อเม็ด ทำอย่างละ 5 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ย

2.2 การทดสอบความเป็นกรด – ด่าง (pH)

เตรียมสารสะลายของวัสดุเพาะขยายที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ วัดค่า pH ด้วยใช้เครื่อง pH meter วัดตัวอย่างละ 5 ครั้ง และหาค่าเฉลี่ยแต่ละสูตร

2.3 ค่าการเหนี่ยวนำไฟฟ้า

วัดค่าการเหนี่ยวนำไฟฟ้า โดยใช้เครื่องวัด EC Meter ทำตัวอย่างละ 5 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ย

2.4 การละลายน้ำ

นำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสูตรสำเร็จมาละลายน้ำแล้ววัดค่าการละลาย อัตรา 1 กรัมต่อนำกลั่น 9 มิลลิลิตร โดยทำการบันทึกเป็นเวลาที่ใช้ในการละลาย ทำตัวอย่างล่ะ 5 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ย

2.5 ค่าความชื้น

ชั่งตัวอย่างที่ยังไม่บดจำนวน 5 กรัม ใส่ขวดชั่งสาร (Weighing bottle) บันทึกน้ำหนักนำตัวอย่างไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมงหรือจนน้ำหนักคงที่ โดยพิจารณาการเปลี่ยนแปลงจากทศนิยมตำแหน่งที่ 2 นำตัวอย่างออกมาใส่โถดูดความชื้นทิ้งไว้ให้เย็น แล้ววชั่งน้ำหนัก แล้วคำนวณความชื้นโดยสูตร (กรมวิชาการเกษตร, 2552) โดยทำตัวอย่างละ 5 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ย

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{(\text{น้ำหนักก่อนอบ} - \text{น้ำหนักหลังอบ})}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} \times 100$$

การทดลองที่ 3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์จากรา *T. phayaoense* (L1 I3)

3.1 การทำผลิตภัณฑ์จากรา *T. phayaoense* (L1 I3)

ทำการผสมตามสูตรสำเร็จของผลิตภัณฑ์ชีวภาพที่ได้ โดยนำวัสดุ (เวอร์มิคูไลท์ + รำข้าว + เคโอลิน (ดินขาวลำปาง)) แต่ละชนิดบรรจุในถุงพลาสติก นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ระหว่างนั้นทำการเตรียมสารแขวนลอยโคนีเดีย (conidia suspension) ของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ความเข้มข้น 1.0×10^8 โคนีเดียต่อมิลลิลิตร เพื่อนำไปผสมในวัสดุเพาะขยายของสูตรสำเร็จ ในอัตราส่วน 100 กรัม ต่อสารแขวนลอยโคนีเดีย 60 มิลลิลิตร เมื่อผสมเข้ากันแล้ว จะนำไปอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง หรือจนกว่าให้แห้ง (ไม่ควรเกิน 48 ชั่วโมง) แล้วนำไปปั๊มขึ้นรูป (แบบเม็ด) โดยใช้เครื่องตอกเม็ดแบบอัตโนมัติ นำผลิตภัณฑ์ชีวภาพที่ได้บรรจุในขวดแก้วขนาด 4 ออนซ์ จำนวน 5 ขวด ๆ ล่ะ 20 กรัม แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 8 (± 2), 30 และ 40 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาการประเมินผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาต่อไป

3.2 การทดสอบสภาวะที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษา และอัตราการมีชีวิตรอดรา *T. phayaoense* (L1 I3) ของสูตรสำเร็จ

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์จากรา *T. phayaoense* (L1 I3) หลังการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่างๆ ได้แก่อุณหภูมิที่ 8(± 2), 30 และ 40 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการสุ่มตรวจนับจำนวนโคนีเดียของรา *T. phayaoense* (L1 I3) เริ่มต้น (ก่อนบ่ม) และในทุกๆ 1 เดือน เป็นระยะเวลาเวลา 6 เดือน ของปริมาณสปอร์เริ่มต้น เพื่อตรวจสอบอายุการเก็บรักษาและความอยู่รอดของราในผลิตภัณฑ์ชีวภาพ ซึ่งจะตรวจสอบการมีชีวิตของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในผลิตภัณฑ์ โดยใช้วิธี Dilution spread plate วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) จำนวนทั้งหมด 3 กรรมวิธี ๆ ละ 3 ซ้ำ ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8 (±2) องศาเซลเซียส

กรรมวิธีที่ 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

กรรมวิธีที่ 3 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

นำผลิตภัณฑ์จากรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในแต่ละรูปแบบ มาทำการตรวจการมีชีวิตรอด โดยวิธี Dilution spread plate โดยการสุ่มชั่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์จากรา *T. phayaoense* (L1 I3) ปริมาณ 1 กรัม ละลายลงในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 9 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางจนได้ความเข้มข้น 1: 1,000,000 หรือ 1.0×10^6 แล้วดูดตัวอย่างเชื้อที่ 2 ระดับความเข้มข้นสุดท้ายคือ 10^5 และ 10^6 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และทำการ spread plate ให้ทั่วจานแล้วนำไปบ่มไว้ในตู้ Incubator ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เข้มข้นละ 3 ซ้ำ บ่มเชื้อเป็นเวลา 1 วัน นับจำนวนโคโลนีเชื้อจุลินทรีย์บนอาหารในแต่ละความเจือจาง และคำนวณปริมาณเชื้อในอาหารแต่ละสูตร ตามคำแนะนำของ จารุณี เกษรพิกุล (2558)

แผนการศึกษาที่ 2 การศึกษาประสิทธิภาพของรา *T. phayaoense* (L1 I3)

การทดลองที่ 1 การทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์ย่อยเซลล์ราสาเหตุโรค

ศึกษาความสามารถในการผลิตเอนไซม์ย่อยเซลล์เชื้อราสาเหตุโรคพืช ได้แก่ เอนไซม์ไคติเนส (chitinase) เซลลูเลส (cellulase) โปรติเอส (protease) และ เอนไซม์ไฟเตส (phytase) ตามวิธีการของ สุวิตา (2549) โดยเลี้ยงรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในอาหาร Potato Dextrose Broth (PDB) บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน จากนั้นกรองเส้นใยออกด้วยกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 แล้วนำ culture filtrate มาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที จากนั้นนำส่วนน้ำใส (supernatant) ปริมาตร

100 ไมโครลิตร มาตรวจสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์ต่าง ๆ โดยการหยอดลงในอาหารทดสอบที่ถูกเจาะชิ้นวุ้นอาหารด้วย corkborer ขนาด 8 มล. อาหารทดสอบได้แก่ PDA ที่ผสม 2.4% colloidal chitin ค่า pH 6.0 (สำหรับ chitinase), 1% gelatin (สำหรับ protease), 0.5% phytase (สำหรับ phytase) และ 4% carboxymethylcellulose sodium salt (สำหรับ cellulase) และให้ส่วนน้ำใสจากอาหารปลอดเชื้อเป็นชุดควบคุม ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ หลังบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน ประเมินกิจกรรมโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสทั้ง 2 ด้าน และคำนวณค่า hydrolysis capacity (HC value) (George, Ahmad and Rao, 2001)

$$\text{การคำนวณ hydrolysis capacity (HC value)} = \frac{\text{ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)}}{\text{ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (มิลลิเมตร)}}$$

การทดลองที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในการยับยั้งราสาเหตุโรคใบไหม้ในระดับห้องปฏิบัติการ

1) คัดแยกเชื้อสาเหตุโรคไหม้ ได้จากข้าวในพื้นที่เกิดโรคใน 4 พื้นที่ ได้แก่ บ้านบัว และบ้านแม่กาไร่ ตำบลแม่กา บ้านแม่นาเรือ ตำบลแม่นาเรือ อำเภอเมืองพะเยา จังหวัดพะเยา และแปลงทดสอบพันธุ์ข้าว เศรษฐกิจพอเพียงฯ คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา ทำการแยกเชื้อก่อโรคใบไหม้โดยวิธี moist chamber technique บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน เมื่อราสร้างส่วนสร้างสปอร์ (fruiting body) ทำการเขี่ยส่วนที่เกิดมาเลี้ยงบนอาหาร PDA ทำให้เชื้อบริสุทธิ์ และบ่งบอกชนิดของเชื้อโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

2) ทดสอบประสิทธิภาพของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในการยับยั้งราสาเหตุโรคใบไหม้ โดยทดสอบด้วยใช้วิธี Dual culture plate method ทำการเลี้ยงรา *T. phayaoense* (L1 I3) และราสาเหตุโรคใบไหม้ในข้าวบนอาหาร PDA บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นทดสอบโดยการนำชิ้นส่วนของเชื้อราทั้ง 2 มาวางบนอาหาร PDA วางห่างกัน 5 เซนติเมตร และห่างจากขอบจานอาหาร 0.5 เซนติเมตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน บันทึกผลการทดลอง โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของราทดสอบเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งเป็นจานอาหารทดสอบที่ไม่ได้วางรา *T. phayaoense* (L1 I3) คำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งจากสูตร (ปวีณา, 2554) ทำการทดลอง 5 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ย

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค = [(R1 – R2) / R1] x 100

เมื่อ R1 = รัศมีโคโลนีของราก่อโรคในจานชุดควบคุม
R2 = รัศมีโคโลนีของราก่อโรคในจานชุดทดลอง

การทดลองที่ 3 การทดสอบการอยู่รอดของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ต่อการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราและสารเคมีทางการเกษตรในระดับห้องปฏิบัติการ

การทดสอบประสิทธิภาพการอยู่รอดจากใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราจำนวนทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ คาร์เบนดาซิม แมนโคเซป เมทาแลกซิล และคาร์ซูกาไมซิน สารกำจัดวัชพืช ได้แก่ ไกรโฟรเซต และสารควบคุมวัชพืช ได้แก่ อะลาร์คลอ ทำการเตรียมอาหารทดสอบโดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA จากนั้นนำมาผสมกับสารเคมีแต่ละชนิดที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน 3 ระดับ ได้แก่ ความเข้มข้นครึ่งหนึ่งของฉลากแนะนำ (half dose) ความเข้มข้นที่ฉลากแนะนำ (normal dose) และความเข้มข้น 2 เท่าที่ฉลากแนะนำ (over dose) (คำนวณความเข้มข้นของสารจากปริมาณเนื้อสารสำคัญของสารป้องกันกำจัดเชื้อราแต่ละชนิดต่อปริมาณน้ำที่ใช้ผสม) จากนั้นใช้ corkborer ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อบริเวณปลายเส้นใยของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่เจริญอยู่บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน ใช้เข็มเขี่ยนำมาวางไว้ตรงกลางจานอาหารทดสอบแต่ละชนิด โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ไม่ผสมกับสารเคมีเป็นชุดควบคุม (วิพรพรรณ์ และวรวุฒิ, 2560) นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วัน บันทึกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของราเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตเทียบกับชุดควบคุม โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design: CRD) จำนวน 19 กรรมวิธี ๆ ละ 5 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม
กรรมวิธีที่ 2 สารป้องกันกำจัดเชื้อรา คาร์เบนดาซิม แบบ half dose
กรรมวิธีที่ 3 สารป้องกันกำจัดเชื้อรา คาร์เบนดาซิม แบบ normal dose
กรรมวิธีที่ 4 สารป้องกันกำจัดเชื้อรา คาร์เบนดาซิม แบบ over dose
กรรมวิธีที่ 5 สารป้องกันกำจัดเชื้อรา แมนโคเซป แบบ half dose
กรรมวิธีที่ 6 สารป้องกันกำจัดเชื้อรา แมนโคเซป แบบ normal dose
กรรมวิธีที่ 7 สารป้องกันกำจัดเชื้อรา แมนโคเซป แบบ over dose
กรรมวิธีที่ 8 สารป้องกันกำจัดเชื้อรา เมทาแลกซิล แบบ half dose
กรรมวิธีที่ 9 สารป้องกันกำจัดเชื้อรา เมทาแลกซิล แบบ normal dose
กรรมวิธีที่ 10 สารป้องกันกำจัดเชื้อรา เมทาแลกซิล แบบ over dose

กรรมวิธีที่ 11 สารป้องกันกำจัดเชื้อรา คาร์ซูกาไมซิน แบบ half dose
กรรมวิธีที่ 12 สารป้องกันกำจัดเชื้อรา คาร์ซูกาไมซิน แบบ normal dose
กรรมวิธีที่ 13 สารป้องกันกำจัดเชื้อรา คาร์ซูกาไมซิน แบบ over dose
กรรมวิธีที่ 14 สารกำจัดวัชพืช ไกรโฟรเซต แบบ half dose
กรรมวิธีที่ 15 สารกำจัดวัชพืช ไกรโฟรเซต แบบ normal dose
กรรมวิธีที่ 16 สารกำจัดวัชพืช ไกรโฟรเซต แบบ over dose
กรรมวิธีที่ 17 สารควบคุมวัชพืช อะลาร์คลอ แบบ half dose
กรรมวิธีที่ 18 สารควบคุมวัชพืช อะลาร์คลอ แบบ normal dose
กรรมวิธีที่ 19 สารควบคุมวัชพืช อะลาร์คลอ แบบ over dose

การทดลองที่ 4 การทดสอบความเข้มข้นของสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ต่อการกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวในห้องปฏิบัติการ

การทดสอบการกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวทั้ง 20 พันธุ์ ได้แก่ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 หางยี 71 กข. 6 กข. 10 กข. 14 กข. 22 กข. 41 กข. 47 กข. 61 กข. 81 กข. 85 กข. 87 ชัยนาท 1 น่าน 59 สันป่าตอง 1 สังข์หยดพัทลุง หอมนาคา งาช้างขาว ไก่น้อยลาย และไก่น้อยขาว นำเมล็ดพันธุ์ข้าวมาผ่านการฆ่าเชื้อพื้นผิวด้วยใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5% (NaOCl) เป็นเวลา 5 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 3 ครั้ง ซับด้วยกระดาษที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ และทำให้แห้งในอากาศที่ปลอดเชื้อ ระหว่างนั้นทำการเตรียมสารแขวนสปอร์ที่ระดับความเข้มข้น 1.0×10^2, 1.0×10^4, 1.0×10^6 และ 1.0×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร แช่เมล็ดที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วในสารแขวนลอยสปอร์ที่เตรียมไว้ตามลำดับ แล้วเคลือบเมล็ดที่แช่ด้วยสารคาร์บอกซิเมทิลเซลลูโลสหรือซีเอ็มซี (carboxymethyl cellulose; CMC) และทำให้แห้งเป็นเวลา 2 ชั่วโมงในที่ปลอดเชื้อ โดย CMC จะทำหน้าที่เป็นกาวและช่วยในการเคลือบสปอร์บนผิวเมล็ด เมล็ดที่ทดสอบจะเก็บไว้ในห้องที่ 28–30 องศาเซลเซียส ให้มีความชื้นสัมพัทธ์ 98% เก็บผลอัตราการงอกทุก 24 ชั่วโมง จำนวนเมล็ดที่งอกในวันที่ 3 ของการทดสอบ และเก็บผลความสูงต้น และความยาวรากในวันที่ 7 วันของการทดสอบ

แผนการศึกษาที่ 3 การประเมินประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ชีวภาพ

โดยการทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคใบไหม้ในข้าว เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพจากรา *T. phayaoense* (L1 I3) จะเลือกใช้ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (KDML 105) เป็นพันธุ์ทดสอบ เนื่องจากมีความอ่อนแอต่อโรคใบไหม้ และเป็นพันธุ์ข้าวที่นิยมปลูกในทุกภูมิภาคของประเทศไทย

การเตรียมผลิตภัณฑ์ชีวภาพของรา *T. phayaoense* (L1 I3) โดยนำส่วนผสม (ส่วนผสมที่ปั่นละเอียดเรียบร้อยแล้ว) ได้แก่ รำข้าว เวอร์มิคูไลฟ์ และดินขาวลำปาง อัตราส่วน 2.5 ต่อ 2.5 ต่อ 5 นำส่วนผสมทั้งหมดผสมเข้าด้วยกัน จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อจำนวน 2 รอบในเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเตรียมสารแขวนลอยของสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่ระดับความเข้มข้น 1.0×10^4 และ 1.0×10^8 โคนีเดียต่อมิลลิลิตร และนำไปผสมเข้ากับผลิตภัณฑ์ชีวภาพอัตรา 60 มิลลิลิตรต่อส่วนผสม 100 กรัม จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 40–45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน หรือจนกว่าจะแห้ง นำส่วนผสมที่แห้งไปปั่นละเอียดอีกครั้ง เพื่อนำอัดเม็ดโดยใช้เครื่องอัดเม็ดยาขนาด 18 สาก เก็บผลิตภัณฑ์ไว้ในขวด 6 ออนซ์ เก็บไว้ในที่อุณหภูมิห้องหรือตู้บ่มเชื้อ 30 องศาเซลเซียส

การทดลองที่ 1 การทดสอบความเข้มข้นของสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ในผลิตภัณฑ์ชีวภาพต่อการเจริญเติบโตของข้าวในระดับโรงเรือน

นำผลิตภัณฑ์ชีวภาพมาผสมกับสารแขวนลอยสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่ระดับความเข้มข้น 1.0×10^4 และ 1.0×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร จะทำการเตรียมต้นกล้าโดยใช้ข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง สันป่าตอง 1 และข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ทำการเพาะเมล็ดด้วยการนำมาแช่น้ำในจานพลาสติกเป็นเวลาประมาณ 48 ชั่วโมง เมื่อเมล็ดเริ่มงอกให้เทน้ำออก แล้วเปลี่ยนน้ำในจานเพาะทุกวันจนกว่าต้นข้าวจะมีอายุ ประมาณ 7 วัน (Aye et al., 2007) เมื่อข้าวให้ได้อายุ 2 สัปดาห์จะนำมาลงปลูกในกระบอกอะคิลิก (รูปทรงกระบอกมีความสูง 1.5 เมตร) โดยใช้ดินที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ซึ่งการปลูกจะนำผลิตภัณฑ์ชีวภาพอัดเม็ดใส่ลงในกระบอกละ 1 กรัมต่อดิน 1,000 กรัม เพื่อรองก้นหลุมก่อนปลูก จากนั้นเมื่อต้นข้าวอายุได้ 14, 45 และ 75 วัน หลังการย้ายปลูก จะทำการใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพอีกครั้งในอัตรา 1 กรัมตอดิน 1,000 กรัม ตามลำดับ ทำการเก็บผลการศึกษาเมื่อข้าวมีอายุ 30, 60 และ 90 วัน ตามลำดับ โดยเก็บผลจำนวนต้นต่อกอ ความสูงต้น และความยาวราก โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) จำนวนทั้งหมด 9 กรรมวิธี ๆ ละ 3 ซ้ำ ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 ข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง ไม่ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *T. phayaoense* (L1 I3)

กรรมวิธีที่ 2 ข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *T. phayaoense* (L1 I3) ชนิดแบบอัดเม็ด ระดับความเข้มข้น 1.0×10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 3 ข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *T. phayaoense* (L1 I3) ชนิดแบบอัดเม็ด ระดับความเข้มข้น 1.0×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 4 ข้าวพันธุ์สันป่าตอง 1 ไม่ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *T. phayaoense* (L1 I3)

กรรมวิธีที่ 5 ข้าวพันธุ์สันป่าตอง 1 ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *T. phayaoense* (L1 I3) ชนิดแบบอัดเม็ด ระดับความเข้มข้น 1.0 x 10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 6 ข้าวพันธุ์สันป่าตอง 1 ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *T. phayaoense* (L1 I3) ชนิดแบบอัดเม็ด ระดับความเข้มข้น 1.0 x 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 7 ข้าวพันธุ์ ขาวดอกมะลิ 105 ไม่ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *T. phayaoense* (L1 I3)

กรรมวิธีที่ 8 ข้าวพันธุ์ ขาวดอกมะลิ 105 ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *T. phayaoense* (L1 I3) ชนิดแบบอัดเม็ด ระดับความเข้มข้น 1.0 x 10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 10 ข้าวพันธุ์ ขาวดอกมะลิ 105 ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *T. phayaoense* (L1 I3) ชนิดแบบอัดเม็ด ระดับความเข้มข้น 1.0 x 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

การทดลองที่ 2 การทดสอบผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการควบคุมโรคใบไหม้ในข้าวในระดับโรงเรือน

นำผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากรา *T. phayaoense* (L1 I3) มาทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวในระดับโรงเรือน เตรียมต้นกล้าข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 โดยเพาะเมล็ดด้วยการนำมาแช่น้ำในจานพลาสติกเป็นเวลาประมาณ 48 ชั่วโมง เมื่อเมล็ดเริ่มงอกให้เทน้ำออก แล้วเปลี่ยนน้ำในจานเพาะทุกวันจนกว่าต้นข้าวจะมีอายุ ประมาณ 7 วัน (Aye et al., 2007) เมื่อข้าวให้ได้อายุ 2 สัปดาห์จะนำมาลงปลูกในกระถางพลาสติก โดยใช้ดินที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ซึ่งการปลูกจะนำผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพอัดเม็ดใส่ลงในกระถาง กระถางละ 1 กรัมต่อดิน 1,000 กรัม จำนวน 2 ครั้ง ได้แก่ รองก้นหลุมก่อนปลูก และหลังจากย้ายปลูกนาน 7 วัน จากนั้นเมื่อต้นข้าวอายุได้ 21 วัน หลังการย้ายปลูก ทำการพ่นสารละลายผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากรา *T. phayaoense* (L1 I3) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อกระถาง (ละลายปุ๋ยชีวภาพในอัตรา 1: 500) และหลังจากนั้น 7 วัน ทำพ่นสปอร์แขวนลอยราสาเหตุก่อโรคใบไหม้ ในระดับความเข้มข้นของสปอร์ปริมาณที่ 1.0 x 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ในอัตรา 20 มิลลิลิตรตอกระถาง เก็บผลการศึกษาการเกิดโรค 7 วันหลังการพ่นสปอร์รก่อโรค ทำซ้ำเมื่อต้นข้าวมีอายุ 30, 60 และ 90 วัน ตามลำดับ การบันทึกผลให้สังเกตเกิดโรคใบไหม บนใบและต นข้าว (คอรวง) และบันทึกคะแนนการเกิดโรค ในทุกกรรมวิธีโดยเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ใส่เชื้อก่อโรค สารกำจัดเชื้อราทางการค้า + ปุ๋ยเคมี และผลิตภัณฑ์ทางการค้า (ดัดแปลงการทดลองจาก จิระเดช และคณะ, 2554) การบันทึกผลการเจริญเติบโตตามการวิเคราะห์ผลทางกายภาพ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) จำนวนทั้งหมด 5 กรรมวิธี ๆ ละ 10 ซ้ำ ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม

กรรมวิธีที่ 2 สารกำจัดเชื้อราทางการค้า + ปุ๋ยเคมี

กรรมวิธีที่ 3 ผลิตภัณฑ์ทางการค้า

กรรมวิธีที่ 4 ผลิตภัณฑ์จากรา *T. phayaoense* (L1 I3) แบบชนิดอัดเม็ด + การฉีดพ่นทางใบ

การทดลองที่ 3 การทดสอบผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการควบคุมโรคใบไหม้ในข้าวระดับแปลงเกษตรกร

เตรียมผลิตภัณฑ์ชีวภาพ จากนั้นนำผลิตภัณฑ์จากรา *T. phayaoense* (L1 I3) มาทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการควบคุมโรคใบไหม้ในข้าวในระดับแปลงเกษตรกร โดยทำการคัดเลือกพื้นที่แปลงปลูกที่เคยมีการระบาดของโรคใบไหม้ จากนั้นจะทำการเตรียมแปลงด้วยการไถดะจำนวน 2 ครั้งก่อนไถคราดเพื่อปรับพื้นที่แปลงนาให้มีความสม่ำเสมอกันตลอดทั้งแปลงพร้อมทั้งปล่อยน้ำเข้าแปลงเล็กน้อยเพื่อให้ดินในแปลงมีความชื้น การเตรียมแปลงหลังการไถพรวนจะทำการล้อมด้วยพลาสติกดำ เพื่อป้องกันการไหลเข้าและออกของน้ำ (ป้องกันการปนเปื้อนจากสารเคมี หรือผลิตภัณฑ์ชีวภาพที่มากับน้ำ) จากนั้นทำการเตรียมต้นกล้าปกติ และย้ายปลูกด้วยการปลักดำเมื่อต้นกล้าข้าวมีอายุ 2 สัปดาห์ แล้วใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในอัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ เมื่อต้นข้าวมีอายุครบ 30, 60 และ 75 วัน ให้ใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพอีกครั้งในอัตราเท่าเดิม ตามลำดับ ดูแลต้นข้าวตามปกติโดยใส่ปุ๋ยยูเรีย (46–0–0) ก่อนการใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพก่อนทุกครั้ง โดยใส่ก่อน 7 วัน เพื่อกระตุ้นการเกิดโรค และปรับสภาพของต้นข้าว ไม่มีการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อรา ซึ่งการทดลองจะทำการเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) จำนวนทั้งหมด 2 กรรมวิธี ๆ ละ 2 ซ้ำ ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุมไม่ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *T. phayaoense* (L1 I3)

กรรมวิธีที่ 2 ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *T. phayaoense* (L1 I3) ชนิดแบบอัดเม็ด

การบันทึกผล

1) การบันทึกการเกิดโรค

ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบไหม้

การตรวจสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ชีวภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคใบไหม้ของข้าว โดยทำกรอบไม้พื้นที่รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสที่มีขนาดความกว้าง x ความยาว เท่ากับ 1 x 1 เมตร และสุ่มพื้นที่ในแปลงปลูกข้าวทดลอง จากนั้นทำการนับจำนวนใบข้าวทั้งหมดและจำนวนใบข้าวที่แสดงอาการของโรคใบไหมที่ พบภายในกรอบไม้ก่อนนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพ โดยการเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพ โดยใช้สูตรการคำนวณประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรค

ประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรค = [(LC – LT) / LC] x 100%

เมื่อ LC คือค่าเฉลี่ยของจำนวนแผลโรคไหม้ที่ตรวจพบในกรรมวิธีควบคุม

LT คือค่าเฉลี่ยของจำนวนแผลโรคไหม้ที่ตรวจพบในกรรมวิธีทดสอบ

ซึ่งในการสุ่มตรวจสอบความรุนแรงของโรคในครั้งนี้ทำการสุ่มจำนวน 3 ครั้งต่อกรรมวิธี และทำการวัดผลหลังการใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพทุก ๆ 1 เดือน (ดัดแปลงการทดลองจาก จิระเดช และคณะ, 2554)

ความรุนแรงในการเกิดโรคใบไหม้

การเก็บผลความรุนแรงของโรคใบไหม้ (disease severity) โดยบันทึกเป็นพื้นที่ใบที่ถูกทำลาย ตามแบบมาตรฐานของสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (IRRI for Standard Evaluation System for Rice) (IRRI, 1996) โดยข้าวที่มีปฏิกิริยาต่อโรคใบไหม้ในระดับ 0 ถือว่ามีความต้านทานต่อโรคไหม้สูง (HR) ระดับ 1–2 มีความต้านทานต่อโรคใบไหม้ (R) ระดับ 3 ค่อนข้างต้านทาน (MR) ระดับ 4–6 ค่อนข้างอ่อนแอ (MS) ระดับ 7–8 อ่อนแอ (S) และระดับ 9 อ่อนแอมาก (HS) ซึ่งแบ่งปฏิกิริยาต่อโรคไหม้ **(ตาราง 1)** ดังนี้

ตาราง 1 ความรุนแรงในการเกิดโรคใบไหม้

คะแนน	ลักษณะอาการ
0	ใบข้าวมีลักษณะปกติ
1	ใบเป็นจุดสีน้ำตาลขนาดเล็ก
2	ใบเป็นจุดสีน้ำตาลขนาด 1–2 มิลลิเมตร มีปริมาณเล็กน้อย
3	ใบเป็นจุดสีน้ำตาลขนาด 1–2 มิลลิเมตร มีปริมาณมาก
4	แผลเป็นจุดช้ำรูปตามีปริมาณน้อยกว่า 4% ของพื้นที่ใบ
5	แผลเป็นจุดช้ำรูปตามีปริมาณ 4–10% ของพื้นที่ใบ
6	แผลเป็นจุดช้ำรูปตามีปริมาณ 11–25% ของพื้นที่ใบ
7	แผลเป็นจุดช้ำรูปตามีปริมาณ 26–50% ของพื้นที่ใบ
8	แผลเป็นจุดช้ำรูปตามีปริมาณ 51–75% ของพื้นที่ใบ
9	แผลเป็นจุดช้ำรูปตามีปริมาณมากกว่า 75% ของพื้นที่ใบและมีใบแห้งตายหลายใบ

ความรุนแรงในการเกิดโรคใบไหม้คอรวง

ความรุนแรงของเชื้อก่อโรคใบไหม้ในระยะออกรวง คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงตามแบบมาตรฐานของสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (IRRI for Standard Evaluation System for Rice) (IRRI, 1996) ดังนี้

$$\% \text{ ความรุนแรงของโรคไหม้ในระยะออกรวง} = \frac{(10\times N1) + (20\times N3) + (40\times N5) + (70\times N7) + (100\times N9)}{\text{จำนวนรวงข้าวทั้งหมดที่ประเมินความรุนแรง}}$$

เมื่อ N1 N3 N5 N7 และ N9 = จำนวนรวงข้าวที่แสดงระดับความรุนแรง 1 3 5 7 และ 9 ตามลำดับ **(ตาราง 2)**

ตาราง 2 ความรุนแรงในการเกิดโรคใบไหม้คอรวง

ค่าระดับคะแนน	ลักษณะอาการ
0	ไม่แสดงอาการของโรค
1	น้อยกว่า 5% ของรวงข้าวที่แสดงอาการโรคไหม้คอรวงอย่างสมบูรณ์ (มีแผลรอบคอรวงข้าวและเมล็ดลีบ)
3	5–10% ของรวงข้าวที่แสดงอาการโรคไหม้คอรวงอย่างสมบูรณ์
5	11–25% ของรวงข้าวที่แสดงอาการโรคไหม้คอรวงอย่างสมบูรณ์
7	26–50% ของรวงข้าวที่แสดงอาการโรคไหม้คอรวงอย่างสมบูรณ์
9	มากกว่า 50% ของรวงข้าวที่แสดงอาการโรคไหม้คอรวงอย่างสมบูรณ์

2) การวิเคราะห์ผล

ทางกายภาพ

บันทึกข้อมูลผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิต จำนวน 11 ลักษณะ ดังต่อไปนี้

(1) ความสูงต้น (เซนติเมตร) เมื่อข้าวสุกแก่เต็มที่ หรือก่อนการเก็บเกี่ยว ทำการสุ่มวัดความสูงของต้นข้าวในแต่ละแปลงย่อย ตั้งแต่โคนต้นจนถึงปลายรวง โดยสุ่มวัดจำนวน 10 กอต่อซ้ำต่อสายพันธุ์

(2) จำนวนต้นต่อกอ (ต้นต่อกอ) ทำการบันทึกการแตกกอจากการนับจำนวนหน่อ (Tillers) ต่อกอ โดยใช้การสุ่มนับจำนวน 10 กอต่อซ้ำต่อสายพันธุ์

(3) จำนวนรวงต่อกอ (รวงต่อกอ) ทำการสุ่มนับจำนวน 10 กอต่อซ้ำต่อสายพันธุ์

(4) จำนวนเมล็ดดีต่อรวง (เมล็ดต่อรวง) ทำการสุ่มเก็บรวงต่อกอ 10 รวง จากนั้นนำไปคัดแยกเมล็ดดีและเมล็ดลีบ แล้วนับจำนวนเมล็ดดี แล้วหาค่าเฉลี่ยต่อรวง

(5) จำนวนเมล็ดลีบต่อรวง (เมล็ดต่อรวง) ทำการสุ่มเก็บ 10 รวงต่อกอ จากนั้นนำไปคัดแยกเมล็ดดีและเมล็ดลีบ แล้วนับจำนวนเมล็ดลีบ แล้วหาค่าเฉลี่ยต่อรวง

(6) จำนวนเมล็ดทั้งหมดต่อรวง (กรัมต่อรวง) ทำการสุ่มเก็บ 10 รวงต่อกอ จากนั้นนำเมล็ดไปชั่งน้ำหนัก โดยใช้เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง

(7) น้ำหนักเมล็ดดีต่อกอ (กรัมต่อรวง) ทำการสุ่มเก็บเกี่ยวต้นจำนวน 10 กอต่อซ้ำต่อสายพันธุ์ จากนั้นนำไปแยกเมล็ดดีและเมล็ดลีบออกจากกัน แล้วนำเมล็ดดีมาชั่งน้ำหนักต่อกอ โดยใช้เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง

(8) น้ำหนักเมล็ดลีบต่อกอ (กรัมต่อรวง) ทำการสุ่มเก็บเกี่ยวต้นจำนวน 10 กอต่อซ้ำต่อสายพันธุ์ จากนั้นนำไปแยกและเมล็ดดีเมล็ดสีบออกจากกัน แล้วนำเมล็ดลีบมาชั่งน้ำหนักต่อกอ โดยใช้เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง

(9) จำนวนเมล็ดทั้งหมดต่อกอ (กรัมต่อกอ) ทำการสุ่มเก็บข้าวจำนวน 10 กอต่อหน่วยทดลอง จากนั้นนำเมล็ดไปชั่งน้ำหนัก โดยใช้เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง

(10) อัตราการติดเมล็ด (เปอร์เซ็นต์) ทำการลุ่มเก็บรวงจำนวน 5 รวงต่อหน่วยการทดลอง นับจำนวนเมล็ดดีและจำนวนเมล็ดลีบ แล้วนำไปคำนวณหาอัตราการติดเมล็ดจากสูตร

อัตราการติดเมล็ด = (จำนวนเมล็ดดี / จำนวนเมล็ดลีบ) x 100

(11) ผลผลิตต่อไร่ทั้งหมดต่อซ้ำ (กิโลกรัมต่อไร่) ทำการเก็บเกี่ยวจาก 4 แถวกลาง ยกเว้นขอบด้านข้าวของแต่ละ Pot จากนั้นเก็บผลผลิตรวมไว้ในถุง แล้วจึงนำไปอบหรือตากให้แห้ง

ทางเคมี

จะทำการวิเคราะห์ผลทางเคมีในเมล็ดข้าว และฟางข้าว

เมล็ดข้าว จะทำการวิเคราะห์ผล 4 รายการ ดังนี้

(1) Gamma–aminobutyric acid (GABA) โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ HPLC – RF (Khuhawar and Rajper, 2003)

(2) DPPH radical scavenging activity โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ DPPH (Dasgupta and De, 2004)

(3) 2–acetyl–1–pyrroline (2AP) ด้วยเทคนิค HS–GC (Sriseadka, Wongpornchai and Kitsawatpaiboon, 2006)

(4) วิตามินบี 1 (B1) ด้วยวิธีการทางสเปกโตโฟโตเมตริก (Liu, Zhang, Liu, Luo and Zheng, 2002)

(5) อไมโลส โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ โดยวัดจากคาการดูดกลืนแสง 620 นาโนเมตร (Juliano, 1971)

(6) เจลาติน โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ของ British Standards Institution, (1975)

ฟางข้าว จะทำการวิเคราะห์ผล 3 รายการ โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ของ Horwitz and Latimer, (2000) ดังนี้

(1) ปริมาณลิกนิน (Lignin)

(2) ปริมาณโฮโลเซลลูโลส (Holocellulose) (ปริมาณแอลฟาเซลลูโลส (Alpha–cellulose) และ ปริมาณเฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose))

(3) ปริมาณเถ้า (Ash Content)

บทที่ 4

ผลการศึกษา

แผนการศึกษาที่ 1 การศึกษาประสิทธิภาพของวัสดุเพาะขยายและสูตรสำเร็จ

การทดลองที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพของวัสดุเพาะขยายรา *T. phayaoense* (L1 I3)

จากการศึกษาประสิทธิภาพของของวัสดุเพาะขยายรา *T. phayaoense* (L1 I3) เพื่อทำสูตรสำเร็จของผลิตภัณฑ์ชีวภาพ พบว่า กรรมวิธีที่ 4 ข้าวฟ่าง + เคโอลิน (ดินขาวลำปาง) มีความเข้มข้นโคนีเดียของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในวัสดุเพาะที่ 8.67 x 10^9 CFU / ml หลังจากการบ่มนาน 7 วัน รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 2 รำข้าว + เคโอลิน (ดินขาวลำปาง) และกรรมวิธีที่ 8 ข้าวฟ่าง + ไดอะตอมมาเซียส (ดินเบา) มีความเข้มข้นโคนีเดียของราในวัสดุเพาะที่ 7.00 x 10^9 CFU / ml ตามลำดับ **(ตาราง 3 และภาพ 3)** นอกจากนี้ยังพบว่าในกรรมวิธีที่ 2 รำข้าว + เคโอลิน (ดินขาวลำปาง) และกรรมวิธีที่ 4 ข้าวฟ่าง + เคโอลิน (ดินขาวลำปาง) มีปริมาณความเข้มข้นโคนีเดียของรา *T. phayaoense* (L1 I3) เท่ากับ 7.00 x 10^9 และ 4.67 x 10^9 CFU / ml ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างจากกรมมวิธีที่ 4 แต่มีต้นทุนที่ถูกกว่า ดังนั้นจึงเลือกใช้กรรมวิธีที่ 2 รำข้าว + เคโอลิน (ดินขาวลำปาง) และกรรมวิธีที่ 4 เวอร์มิคูไลท์ + เคโอลิน (ดินขาวลำปาง) ไปศึกษาสูตรสำเร็จต่อ

ตาราง 3 ความเข้มข้นของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในการทดสอบประสิทธิภาพของวัสดุเพาะขยาย

กรรมวิธี	ความเข้มข้นของเชื้อ (CFU / ml)	ราคาวัสดุ
1. เวอร์มิคูไลท์ + เคโอลิน (ดินขาวลำปาง)	4.67 $\pm$ 0.6 x 10^9 bc	21 บาทต่อลิตร
2. รำข้าว + เคโอลิน (ดินขาวลำปาง)	7.00 $\pm$ 1.00 x 10^9 ab	10 บาทต่อกิโลกรัม
3. ข้าวหัก + เคโอลิน (ดินขาวลำปาง)	3.67 $\pm$ 1.15 x 10^9 c	17 บาทต่อกิโลกรัม
4. ข้าวฟ่าง + เคโอลิน (ดินขาวลำปาง)	8.67 $\pm$ 0.58 x 10^9 a	30 บาทต่อกิโลกรัม
5. เวอร์มิคูไลท์ + ไดอะตอมมาเซียส (ดินเบา)	3.67 $\pm$ 1.53 x 10^9 c	26 บาทต่อลิตร
6. รำข้าว + ไดอะตอมมาเซียส (ดินเบา)	4.67 $\pm$ 0.58 x 10^9 bc	15 บาทต่อกิโลกรัม
7. ข้าวหัก + ไดอะตอมมาเซียส (ดินเบา)	3.00 $\pm$ 1.00 x 10^9 c	23 บาทต่อกิโลกรัม
8. ข้าวฟ่าง + ไดอะตอมมาเซียส (ดินเบา)	7.00 $\pm$ 1.00 x 10^9 ab	35 บาทต่อกิโลกรัม
cv	18.50	
F-Test	**	

หมายเหตุ: ตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธี ทดสอบแบบพิสัยเชิงพหุดันแคน (Duncan's New Multiple Range Test: DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.01

ภาพ 3 ลักษณะของวัสดุเพาะขยายสำหรับทำสูตรสำเร็จ

หมายเหตุ: T1 = เวอร์มิคูไลท์ + เคโอลิน (ดินขาวลำปาง), T2 = รำข้าว + เคโอลิน (ดินขาวลำปาง), T3 = ข้าวหัก + เคโอลิน (ดินขาวลำปาง), T4 = ข้าวฟ่าง + เคโอลิน (ดินขาวลำปาง), T5 = เวอร์มิคูไลท์ + ไดอะตอมมาเซียส (ดินเบา), T6 = รำข้าว + ไดอะตอมมาเซียส (ดินเบา), T7 = ข้าวหัก + ไดอะตอมมาเซียส (ดินเบา) และ T8 = ข้าวฟ่าง + ไดอะตอมมาเซียส (ดินเบา)

การทดลองที่ 2 การศึกษาสูตรสำเร็จ และการทดสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์ชีวภาพ

การศึกษาคุณภาพของสูตรสำเร็จของผลิตภัณฑ์ชีวภาพ พบว่ากรรมวิธีที่ 1 การใช้เวอร์มิคูไลท์ + รำข้าว + เคโอลิน (ดินขาวลำปาง) มีค่าความหนาแน่น ขนาดเมล็ด (5.00 มิลลิเมตร) น้ำหนัก (0.50 กรัม) ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) (6.97) ค่าการนำไฟฟ้า (EC) (0.73 เดซิซีเมนต่อเมตร) ค่าการละลายน้ำ (25.42 วินาที) และค่าความชื้น (3.085 เปอร์เซ็นต์) ดีกว่ากรรมวิธีที่ 2 **(ตาราง 4 และภาพ 4)**

ตาราง 4 คุณภาพของผลิตภัณฑ์ชีวภาพ

กรรมวิธี	ความหนาแน่น		ค่า pH	ค่า EC (dS / m)	การละลายน้ำ (s)	ความชื้น (%)
	ขนาดเม็ด (มล.)	น้ำหนัก (ก.)				
1	5.00 ± 0.00	0.50 ± 0.02 a	6.97 ± 0.10 b	0.73 ± 0.04 a	25.42 ± 0.79 b	3.09 ± 0.43
2	4.95 ± 0.07	0.39 ± 0.02 b	7.95 ± 0.09 a	0.58 ± 0.03 b	28.53 ± 0.79 a	3.68 ± 0.42
cv	1.01	4.45	1.26	5.16	2.93	12.54
F-Test	ns	**	**	**	**	ns

หมายเหตุ: ตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธี ทดสอบแบบพิสัยเชิงพหุดันแคน (Duncan's New Multiple Range Test: DMRT) เพื่อใช้เพื่อระบุความแตกต่างที่ระดับนัยสำคัญ 0.01

ภาพ 4 ลักษณะของเม็ดปุ๋ยชีวภาพหลังการขึ้นรูปเป็นเม็ด

หมายเหตุ: [ก = กรรมวิธีที่ 1 เวอร์มิคูไลท์ + รำข้าว + เคโอลิน (ดินขาวลำปาง) และ ข = กรรมวิธีที่ 2 เวอร์มิคูไลท์ + รำข้าว + ไดอะตอมมาเซียส (ดินเบา)]

การทดลองที่ 3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์จากรา *T. phayaoense* (L1 I3)

การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์จากรา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่อุณหภูมิ 8 (± 2), 30 และ 40 องศาเซลเซียส นาน 6 เดือน พบว่าการมีชีวิตลดลงเมื่อเก็บรักษาไว้นานขึ้น โดยหลังจากเก็บรักษาไว้นาน 6 เดือน ผลิตภัณฑ์แบบอัดเม็ดที่อุณหภูมิ 8 (±2) องศาเซลเซียส มีอัตราชีวิตรอดของรา *T. phayooense* (L1 I3) มากที่สุด เฉลี่ยเท่ากับ 73.13 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีอัตราการชีวิตรอดของรา *T. phayaoense* (L1 I3) เฉลี่ยเท่ากับ 69.85 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีอัตราการรอดชีวิตน้อยที่สุด เฉลี่ยเท่ากับ 65.94 เปอร์เซ็นต์ **(ตาราง 5)**

ตาราง 5 อัตราการมีชีวิตของรอดของรา *T. phayaoense* (L113) ในผลิตภัณฑ์แบบอัดเม็ดที่เก็บรักษานาน 6 เดือน

อุณหภูมิ	อัตราการมีชีวิตรอด (%)					
	เดือน					
	1	2	3	4	5	6
8 ± 2	97.60 ± 1.33	92.09 ± 2.56 a	85.80 ± 2.78	82.59 ± 2.02 a	77.86 ± 2.05 a	73.13 ± 1.86 a
30	98.01 ± 0.82	90.10 ± 0.78 ab	85.54 ± 3.04	80.85 ± 2.66 a	74.81 ± 1.65 a	69.85 ± 1.68 a
40	97.08 ± 1.92	87.96 ± 1.55 b	81.25 ± 2.99	75.10 ± 2.90 b	70.85 ± 5.98 b	65.94 ± 1.91 b
cv	1.47	1.98	3.48	3.21	5.06	2.61
F-Test	ns	**	ns	**	**	**

หมายเหตุ: ตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธี ทดสอบแบบพิสัยเชิงพหุดันแคน (Duncan's New Multiple Range Test: DMRT) เพื่อใช้เพื่อระบุความแตกต่างที่ระดับนัยสำคัญ 0.01

แผนการทดลองที่ 2 การศึกษาประสิทธิภาพของรา *T. phayaoense* (L1 I3)

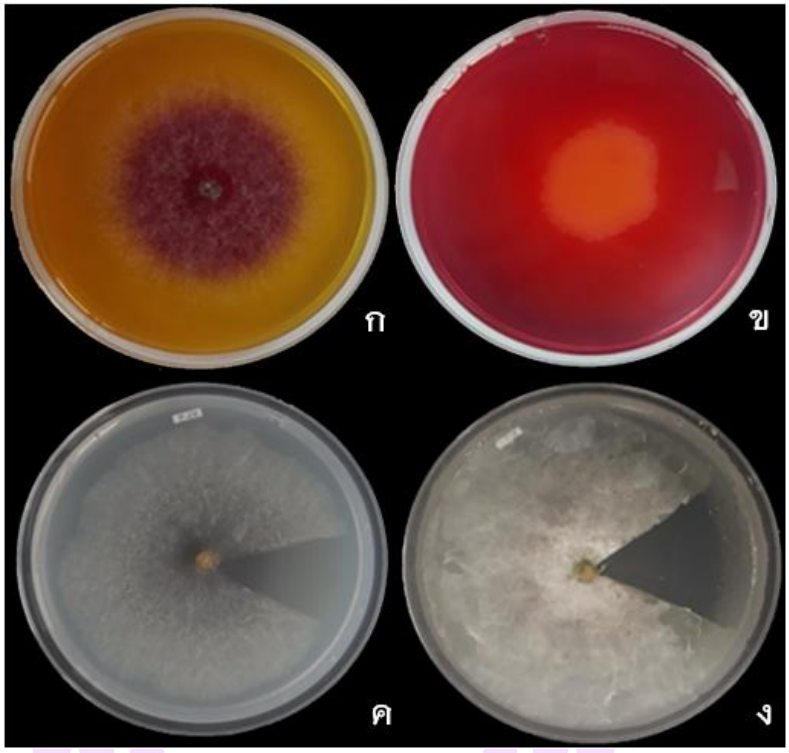
การทดลองที่ 1 การทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์ย่อยเซลล์ราสาเหตุโรค

การทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไคติเนส บนอาหาร colloidal chitin agar พบว่า รา *T. phayaoense* (L1 I3) สามารถผลิตเอนไซม์ไคติเนส โดยมีขนาดวงที่เปลี่ยนอาหาร colloidal chitin agar เป็นสีม่วงกว้าง 4.40 มิลลิเมตร และมีค่า HC value 0.67 **(ตาราง 6 และภาพ 5ก)** ในขณะที่ความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส บนอาหาร carboxyl methyl cellulose agar (CMC agar) มีขนาดวงใสกว้าง 2.73 มิลลิเมตร และมีค่า HC value 0.45 **(ตาราง 6 และภาพ 5ข)** ส่วนความสามารถในการผลิตเอนไซม์โปรติเอส บนอาหาร skim milk agar พบว่ามีขนาดวงใสกว้าง 2.67 มิลลิเมตร และมีค่า HC value 0.40 **(ตาราง 6 และภาพ 5ค)** และความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไฟเตส บนอาหาร calcium phytate agar มีขนาดวงใสกว้าง 2.33 มิลลิเมตร และมีค่า HC value 0.39 **(ตาราง 6 และภาพ 5ง)**

ตาราง 6 ความสามารถของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในการผลิตเอนไซม์ไคติเนส เซลลูเลส โปรติเอส ไฟเตสบนอาหารแข็ง

Enzyme	Colony (cm.)	Clear Zone (mm.)	HC value	positive
chitinase	6.53 ± 0.15	4.40 ± 0.10	0.67	+
cellulase	6.03 ± 0.40	2.73 ± 0.40	0.45	+
protease	6.70 ± 0.30	2.67 ± 0.15	0.40	+
phytate	5.97 ± 0.06	2.33 ± 0.31	0.39	+

หมายเหตุ: chitinase +, < 10–20 mm; ++, 21–40 mm; +++, 41–60 mm; ++++, > 60 mm
cellulase, Protease, phytate +, < 10 mm; ++, 10–20 mm; +++, 21–30 mm; ++++, > 30 mm

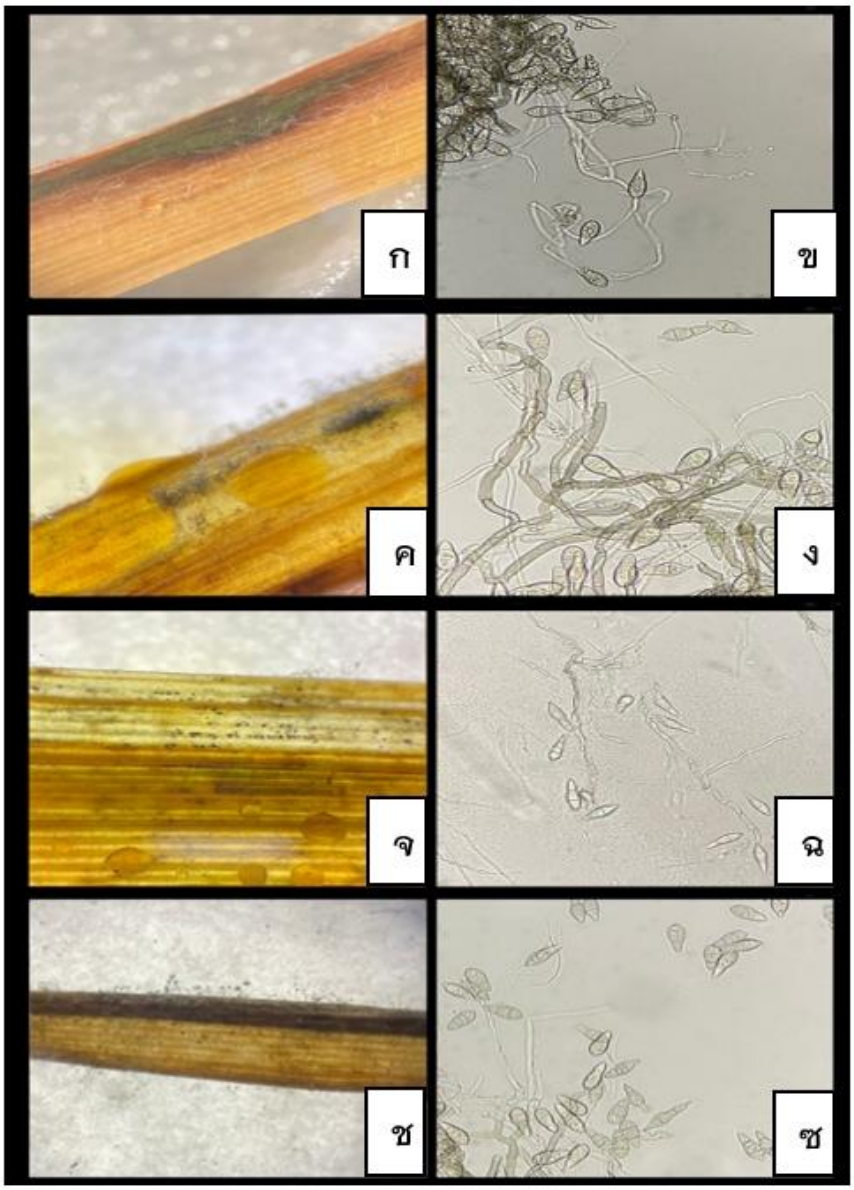


ภาพ 5 การทดสอบการสร้างเอนไซม์บนอาหารแข็ง

หมายเหตุ: (ก = การสร้างเอนไซม์ไคติเนสบนอาหาร colloidal chitin agar, ข = การสร้างเอนไซม์เซลลูเลสบนอาหาร carboxyl methyl cellulose, ค = การสร้างเอนไซม์โปรติเอสบนอาหาร skim milk agar และ ง = การสร้างเอนไซม์ไฟเตสบนอาหาร calcium phytate agar)

การทดลองที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในการยับยั้งราสาเหตุโรคใบไหม้ในระดับห้องปฏิบัติการ

จากการแยกเชื้อสาเหตุโรคใบไหม้ในข้าว โดยตรวจสอบสัณฐานวิทยา พบว่าสามารถแยกเชื้อสาเหตุโรคใบไหม้ในข้าวจากสถานที่ต่าง ๆ พบเชื้อจำนวน 4 ไอโซเลท ได้แก่ PY01, PY02, PY03 และ PY04 **(ภาพ 6)**



ภาพ 6 ราสาเหตุโรคใบไหม้ของข้าว

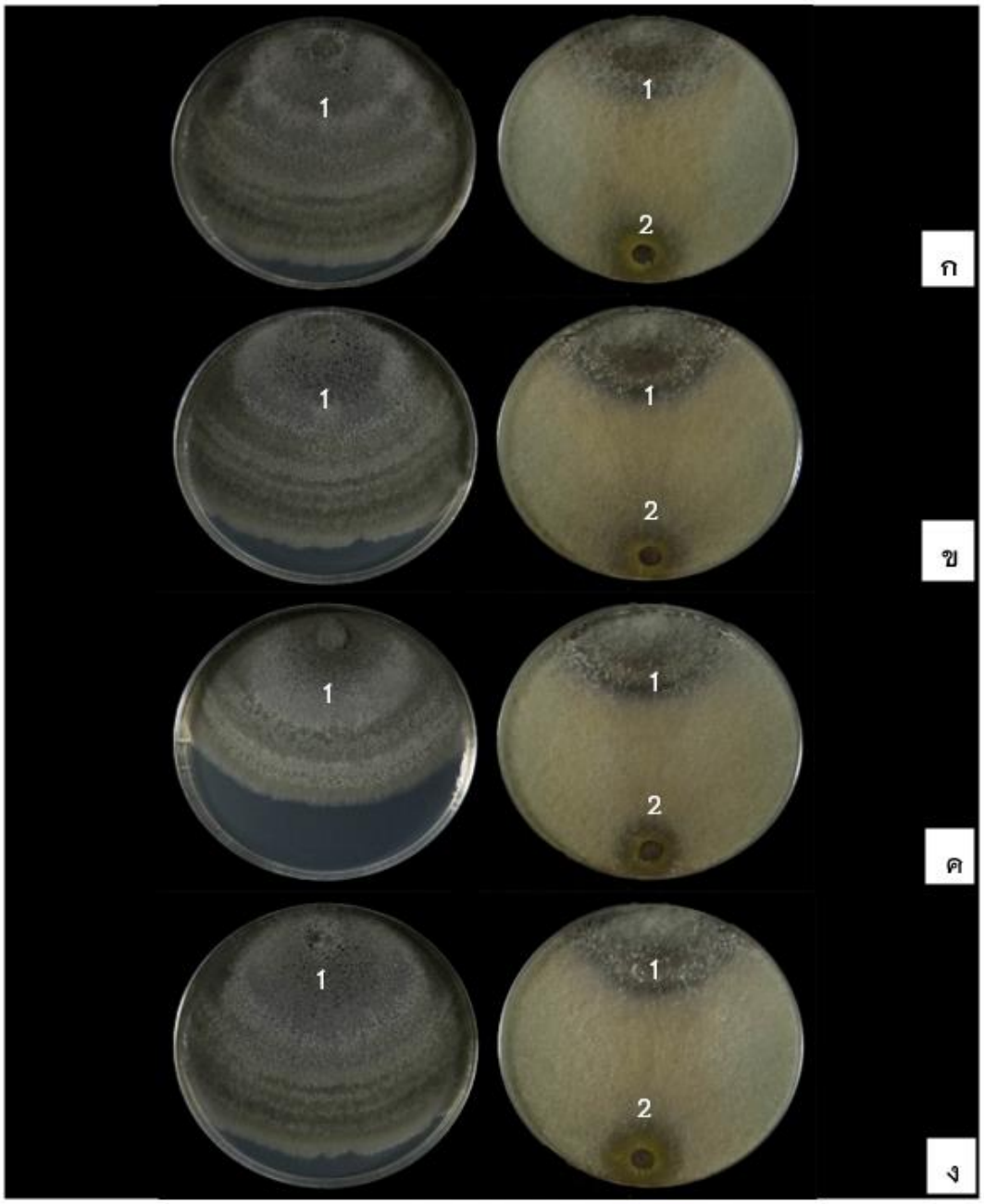
หมายเหตุ: (ก = แผลราสาเหตุโรคใบไหม้ไอโซเลท PY01, ข = สปอร์ราสาเหตุโรคใบไหม้ไอโซเลท PY1, ค = แผลราสาเหตุโรคใบไหม้ไอโซเลท PY02, ง = สปอร์ราสาเหตุโรคใบไหม้ไอโซเลท PY02, จ = แผลราสาเหตุโรคใบไหม้ไอโซเลท PY03, ฉ = สปอร์ราสาเหตุโรคใบไหม้ไอโซเลท PY03, ช = แผลราสาเหตุโรคใบไหม้ไอโซเลท PY04 และ ซ = สปอร์ราสาเหตุโรคใบไหม้ไอโซเลท PY04)

การทดสอบประสิทธิภาพของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในการยับยั้งราสาเหตุโรคใบไหม้ในข้าว ด้วยวิธี dual culture จากเชื้อสาเหตุโรคจำนวน 4 ไอโซเลท พบว่ารา *T. phayaoense* (L1 I3) สามารถยับยั้งเชื้อราก่อโรคใบไหม้ที่ไอโซเลท PY02 ได้มากที่สุดที่ 82.98 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ PY04 และ PY01 ที่ 80.97 และ 79.36 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนไอโซเลทที่ยับยั้งได้น้อยที่สุดคือ PY03 ที่ 65.50 เปอร์เซ็นต์ **(ตาราง 7 และภาพ 7)**

ตาราง 7 ผลของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในการยับยั้งราสาเหตุโรคใบไหม้ด้วยวิธี Dual culture

ไอโซเลท	การยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคใบไหม้ (%)
PY01	79.36 ± 2.23 a
PY02	82.98 ± 1.14 a
PY03	65.50 ± 2.62 b
PY04	80.97 ± 2.60 a
CV	2.89
F-Test	*

หมายเหตุ: ตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธี ทดสอบแบบพิสัยเชิงพหุดันแคน (Duncan's New Multiple Range Test: DMRT) เพื่อใช้เพื่อระบุความแตกต่างที่ระดับนัยสำคัญ 0.05



ภาพ 7 การยับยั้งราสาเหตุโรคใบไหม้ของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ด้วยวิธี Dual culture

หมายเหตุ: [ก = การยับยั้งราสาเหตุโรคใบไหม้ไอโซเลท PY01, ข = การยับยั้งราสาเหตุโรคใบไหม้ไอโซเลท PY02, ค = การยับยั้งราสาเหตุโรคใบไหม้ไอโซเลท PY03, ง = การยับยั้งราสาเหตุโรคใบไหม้ไอโซเลท PY04, 1 = ตำแหน่งของเชื้อสาเหตุโรคใบไหม้ และ 2 =ตำแหน่งของรา *T. phayaoense* (L1 I3)]

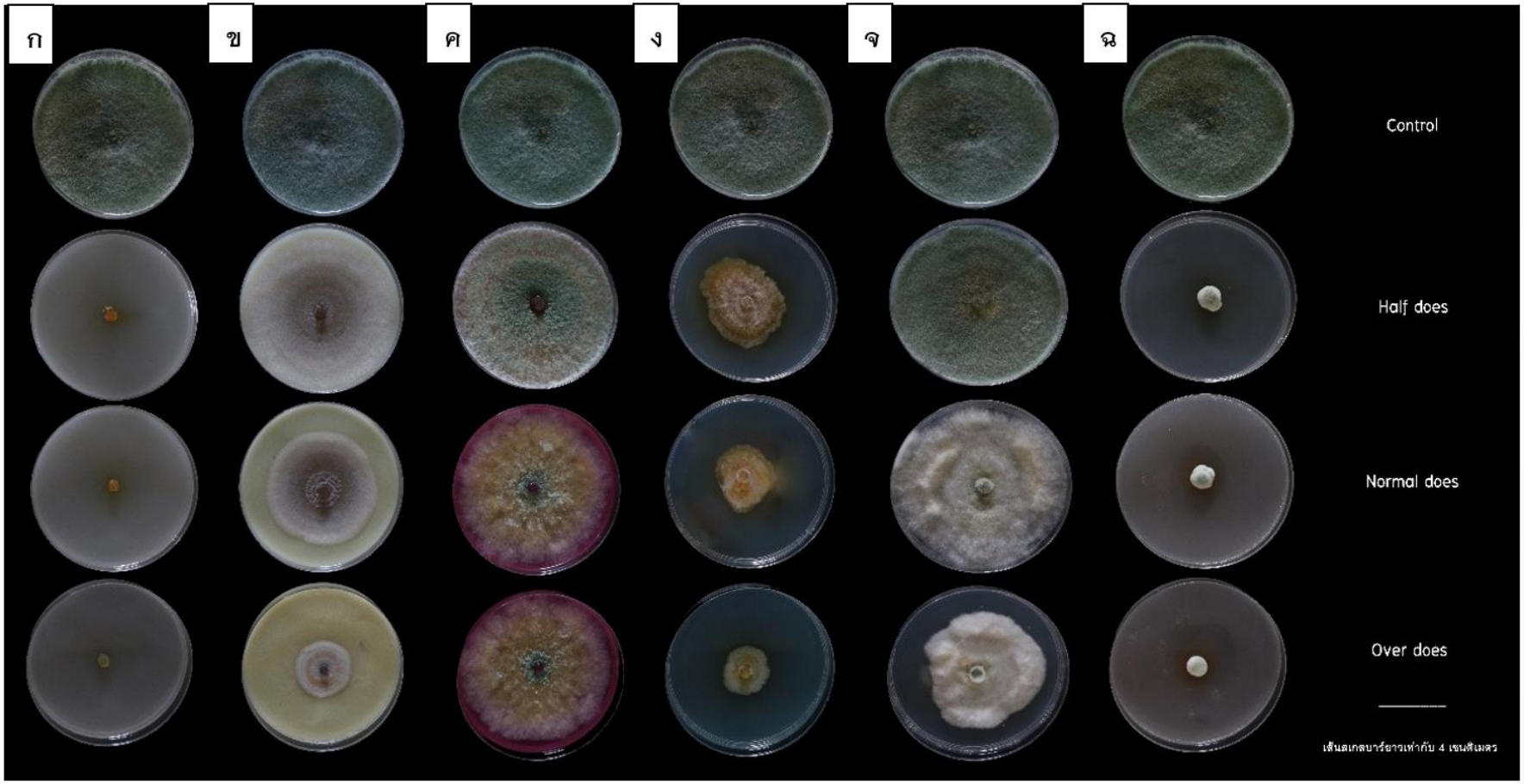
การทดลองที่ 3 การทดสอบการอยู่รอดของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ต่อการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราและสารเคมีทางการเกษตรในระดับห้องปฏิบัติการ

การทดสอบการอยู่รอดของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อจำนวนทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ คาร์เบนดาซิม แมนโคเซป เมทาแลกซิล และคาร์ซูกาไมซิน สารกำจัดวัชพืช ได้แก่ ไกรโฟรเซต และสารควบคุมวัชพืช ได้แก่ อะลาร์คลอ ที่ระดับความเข้มแตกต่างกัน พบว่ารา *T. phayaoense* (L1 I3) สามารถอยู่รอดในสารเคมี เมทาแลกซิล โดยมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดในอัตราความเข้มข้นแบบครึ่งหนึ่งของฉลากแนะนำ (half dose) ที่ 100 เปอร์เซ็นต์ แบบตามฉลากแนะนำ (normal dose) ที่ 96.5 เปอร์เซ็นต์ และแบบ 1 เท่าของฉลากแนะนำ (over dose) ที่ 91.5 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือสารเคมีไกรโฟรเซต (สารกำจัดวัชพืช) พบว่าสามารถอยู่รอดโดยมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดในอัตราความเข้มข้นแบบ half dose ที่ 100 เปอร์เซ็นต์ แบบ normal dose ที่ 96.5 เปอร์เซ็นต์ และแบบ over dose ที่ 78.0 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสารเคมีที่รา *T. phayaoense* (L1 I3) ไม่สามารถอยู่รอดได้ คือ คาร์เบนดาซิม ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดในอัตราความเข้มข้นแบบ Half dose เพียง 3.5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนอัตราความเข้มข้นแบบ normal dose และ over dose รา *T. phayaoense* (L1 I3) ไม่สามารถเจริญได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอด 0 เปอร์เซ็นต์ **(ตาราง 8 และภาพ 8)**

ตาราง 8 การเจริญของเส้นใยของรา *T. phayaoense* (L1 I3) เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งที่ผสมสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

สารเคมี	ความเข้มข้น	การเจริญของเส้นใย (%)
Carbendazim	half dose	3.5 ± 0.22 p
	normal dose	0.0 ± 0.0 q
	over dose	0.0 ± 0.0 q
Mancozeb	half dose	96.5 ± 1.05 c
	normal dose	64.0 ± 0.38 h
	over dose	33.0 ± 0.72 k
Metalaxyl	half dose	100.0 ± 0.0 a
	normal dose	96.5 ± 0.54 d
	over dose	91.5 ± 0.44 f
Kasugamycin	half dose	51.5 ± 0.57 i
	normal dose	37.5 ± 0.51 j
	over dose	26.0 ± 0.35 l
Glyphosate	half dose	100.0 ± 0.0 b
	normal dose	96.5 ± 0.58 e
	over dose	78.0 ± 0.46 g
Alachlor	half dose	10.0 ± 0.79 m
	normal dose	8.0 ± 0.43 n
	over dose	5.5 ± 0.35 o
F-test		**
CV (%)		1.00

หมายเหตุ: ตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธี ทดสอบแบบพิสัยเชิงพหุดันแคน (Duncan's New Multiple Range Test: DMRT) เพื่อใช้เพื่อระบุความแตกต่างที่ระดับนัยสำคัญ 0.01



ภาพ 8 การเจริญของเส้นใยของรา *T. phayaoense* (L1 I3) เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งที่ผสมสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช นาน 7 วัน

หมายเหตุ: (ก = คาร์เบนดาซิม, ข = แมนโคเซป, ค = เมทาแลกซิล, ง = คาร์ซูกาไมซิน, จ = ไกรโฟรเซต และ ฉ = อะลาร์คลอ)

การทดลองที่ 4 การทดสอบความเข้มข้นของสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ต่อการกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวในห้องปฏิบัติการ

การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมต่ออัตราการงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าว 20 พันธุ์ พบว่าเมื่อแช่เมล็ดพันธุ์ข้าวในสารแขวนลอยสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่ความเข้มข้น 1.0×10^2, 1.0×10^4, 1.0×10^6 และ 1.0×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีผลต่ออัตราการงอกของเมล็ดข้าวพันธุ์ทั้ง 20 พันธุ์ ได้แก่ ข้าวพันธุ์หอมมะลิ 105 หางยี 71 กข. 6 กข. 10 กข. 14 กข. 22 กข. 41 กข. 47 กข. 61 กข. 81 กข. 85 กข. 87 ชัยนาท 1 น่าน 59 สันป่าตอง 1 สังห์หยดพัทลุง หอมนาคา งาช้างขาว ไก่น้อยลาย และไก่น้อยขาว เมื่อเปรียบเทียบกรรมวิธีควบคุม ยกเว้นข้าวพันธุ์ กข.81 ที่ความเข้มข้น 1.0×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร และข้าวพันธุ์ กข. 14 กข. 41 และสังห์หยดพัทลุง ที่ความเข้มข้น 1.0×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีอัตราการงอกน้อยกว่ากรรมวิธีควบคุม โดยข้าวพันธุ์หางยี 71 กข. 10 กข. 14 กข. 41 กข. 47 กข. 85 กข. 87 น่าน 59 งาช้างขาว ไก่น้อยลาย และไก่น้อยขาว ที่แช่ในสารแขวนลอยสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่ความเข้มข้น 1.0×10^2 และ 1.0×10^4 มีอัตราการงอกมากที่สุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ และมากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (**ตาราง 9**)

อัตราเมล็ดที่งอกใน 3 วัน พบว่าเมล็ดพันธุ์ข้าวทั้ง 15 พันธุ์ ได้แก่ ข้าวพันธุ์หอมมะลิ 105 หางยี 71 กข. 6 กข. 10 กข. 61 กข. 81 กข. 85 กข. 87 ชัยนาท 1 น่าน 59 สันป่าตอง 1 สังห์หยดพัทลุง หอมนาคา ไก่น้อยลาย และไก่น้อยขาว ที่แช่ในสารแขวนลอยสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่ความเข้มข้น 1.0×10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีจำนวนเมล็ดที่งอกมากที่สุดในเวลาที่เท่ากันเท่ากับ 9.00, 10.00, 8.67, 8.67, 6.33, 8.00, 10.00, 8.33, 9.67, 7.00, 7.33, 3.67, 9.00 และ 9.67 เมล็ด ตามลำดับ ยกเว้นข้าว 4 พันธุ์ ได้แก่ กข. 14 กข. 41 กข. 47 และ งาช้างขาว แช่ในสารแขวนลอยสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่ความเข้มข้น 1.0×10^2 สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีจำนวนเมล็ดที่งอกมากที่สุดในเวลาที่เท่ากันเท่ากับ 9.00, 9.67, 9.00 และ 10.00 เมล็ด ตามลำดับ ส่วนข้าวพันธุ์ กข.22 มีจำนวนเมล็ดที่งอกในเวลาที่เท่ากันเท่ากับ 8.33 เมล็ด ที่ความเข้มข้น 1.0×10^6 และ 1.0×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีความแตกต่างกันในทางสถิติกับชุดควบคุม (**ตาราง 9 และภาพ 9**)

ความสูงของต้นอ่อน พบว่าความสูงของต้นอ่อนข้าว 3 พันธุ์ ได้แก่ ข้าวพันธุ์ กข. 47 สังห์หยดพัทลุง และงาช้างขาว ที่แช่เมล็ดในสารแขวนลอยสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่ความเข้มข้น 1.0×10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีความสูงของต้นอ่อนมากที่สุดเท่ากับ 4.26, 4.28 และ 4.27 เซนติเมตร ตามลำดับ ในขณะที่ความสูงของต้นอ่อนของข้าวพันธุ์ทั้ง 3 พันธุ์ที่แช่

เมล็ดในสารแขวนลอยสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่ความเข้มข้น 1.0 x 10^2 มีความสูงรองลงมาเท่ากับ 3.97, 4.10 และ 4.17 เซนติเมตร ตามลำดับ ทั้งนี้ยังพบว่าข้าวที่แช่เมล็ดในสารแขวนลอยสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่ความเข้มข้น 1.0 x 10^4 มีความสูงของต้นมากที่สุด จำนวน 13 พันธุ์ ได้แก่ ข้าวพันธุ์หอมมะลิ 105, หางยี 71, กข. 6, กข. 10, กข. 22, กข. 41, กข. 87, ชัยนาท 1, น่าน 59, สันป่าตอง 1, หอมนาคา, ไก่น้อยลาย และไก่น้อยขาว ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ **(ตาราง 9 และภาพ 10)**

ความยาวรากของต้นอ่อนข้าว พบว่าข้าว 3 พันธุ์ ได้แก่ ข้าวพันธุ์กข. 6 น่าน 59 และสันป่าตอง 1 ที่แช่เมล็ดในสารแขวนลอยสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่ความเข้มข้น 1.0 x 10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีความยาวรากของต้นอ่อนมากที่สุดเท่ากับ 4.09, 4.17 และ 4.24 เซนติเมตร ตามลำดับ ในขณะที่ข้าวพันธุ์ทั้ง 3 พันธุ์ ได้แก่ ข้าวพันธุ์ กข. 6 น่าน 59 และ สันป่าตอง 1 ที่แช่เมล็ดในสารแขวนลอยสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่ความเข้มข้น 1.0 x 10^2 มีความยาวรากของต้นอ่อนรองลงมาเท่ากับ 3.52, 3.81 และ 4.03 เซนติเมตร ตามลำดับ **(ตาราง 9 และภาพ 10)**

ตาราง 9 ผลความเข้มข้นสปอร์ของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ต่อการงอกของเมล็ด ระยะเวลาการงอก ความสูงต้น และความยาวราก ในเมล็ดข้าวจำนวน 20 พันธุ์

พันธุ์	ความเข้มข้นของสปอร์	การงอกของเมล็ด (%)	อัตราเมล็ดที่งอกใน 3 วัน (เมล็ด)	ความสูงต้น (ซม.)	ความยาวราก (ซม.)
หอมมะลิ 105	control	90.00 ± 0.00	7.00 ± 1.00 b	2.81 ± 0.03 c	3.42 ± 0.35 ab
	10^2	93.33 ± 11.15	9.00 ± 1.00 a	3.10 ± 0.03 ab	3.69 ± 0.15 a
	10^4	90.00 ± 0.00	9.00 ± 0.00 a	3.17 ± 0.13 a	3.70 ± 0.23 a
	10^6	90.00 ± 0.00	8.67 ± 0.58 ab	2.84 ± 0.12 bc	3.14 ± 0.06 bc
	10^8	90.00 ± 0.00	8.67 ± 0.58 ab	2.59 ± 0.14 c	2.80 ± 0.10 c
cv		5.70	8.63	3.57	6.09
F-test		ns	*	*	*

หางยี 71	control	90.00 ± 10.00 b	8.33 ± 0.58 c	1.78 ± 0.06 c	1.24 ± 0.08 c
	10^{2}	100.0 ± 0.00 a	10.00 ± 0.00 a	3.22 ± 0.33 b	1.68 ± 0.22 b
	10^{4}	100.0 ± 10.00 a	10.00 ± 0.00 a	3.40 ± 0.25 ab	2.21 ± 0.16 a
	10^{6}	96.67 ± 5.77 ab	9.33 ± 0.58 ab	3.85 ± 0.09 a	2.36 ± 0.08 a
	10^{8}	96.67 ± 5.77 ab	9.00 ± 0.00 bc	2.84 ± 0.27 b	1.73 ± 0.11 b
cv		5.97	3.91	7.58	7.56
F-test		*	*	*	*
กข. 6	control	70.00 ± 10.00 b	6.00 ± 1.00 b	2.21 ± 0.08 c	2.47 ± 0.22 c
	10^{2}	90.00 ± 0.00 a	8.67 ± 0.58 a	3.19 ± 0.21 b	3.52 ± 0.14 b
	10^{4}	90.00 ± 0.00 a	8.67 ± 0.58 a	3.78 ± 0.15 a	4.09 ± 0.28 a
	10^{6}	73.33 ± 5.77 b	6.33 ± 1.53 ab	2.64 ± 0.18 c	3.38 ± 0.10 b
	10^{8}	83.33 ± 5.77 ab	7.00 ± 1.00 ab	2.20 ± 0.32 c	2.74 ± 0.11 c
cv		7.10	13.64	7.19	5.72
F-test		*	*	*	*
กข. 10	control	83.33 ± 15.28 c	6.67 ± 2.08 c	1.54 ± 0.21 b	1.16 ± 0.04 b
	10^{2}	100.00 ± 0.00 a	8.67 ±1.15 a	2.37 ± 0.16 a	1.51 ± 0.15 a
	10^{4}	100.00 ± 0.00 a	8.67 ± 0.58 a	2.33 ± 0.12 a	1.49 ± 0.11 a
	10^{6}	90.00 ± 0.00 b	8.00 ± 0.00 ab	2.24 ± 0.51 ab	1.33 ± 0.11 ab
	10^{8}	90.00 ± 0.00 b	7.67 ± 0.58 b	2.20 ± 0.26 ab	1.31 ± 0.17 ab
cv		7.37	14.19	13.40	9.13
F-test		*	*	*	*
กข. 14	control	90.00 ± 0.00 b	7.67 ± 0.58 c	1.59 ± 0.30 b	1.37 ± 0.11 c
	10^{2}	100.00 ± 0.00 a	9.00 ± 1.00 a	2.44 ± 0.08 a	1.97 ± 0.12 a
	10^{4}	90.00 ± 0.00 b	8.67 ± 0.58 ab	2.12 ± 0.12 ab	1.95 ± 0.09 a
	10^{6}	90.00 ± 0.00 b	8.33 ± 0.58 b	2.08 ± 0.28 ab	1.63 ± 0.12 b
	10^{8}	86.67 ± 5.77 c	8.00 ± 1.00 bc	2.04 ± 0.22 ab	1.57 ± 0.06 bc
cv		2.83	9.30	10.56	5.94
F-test		*	*	*	*

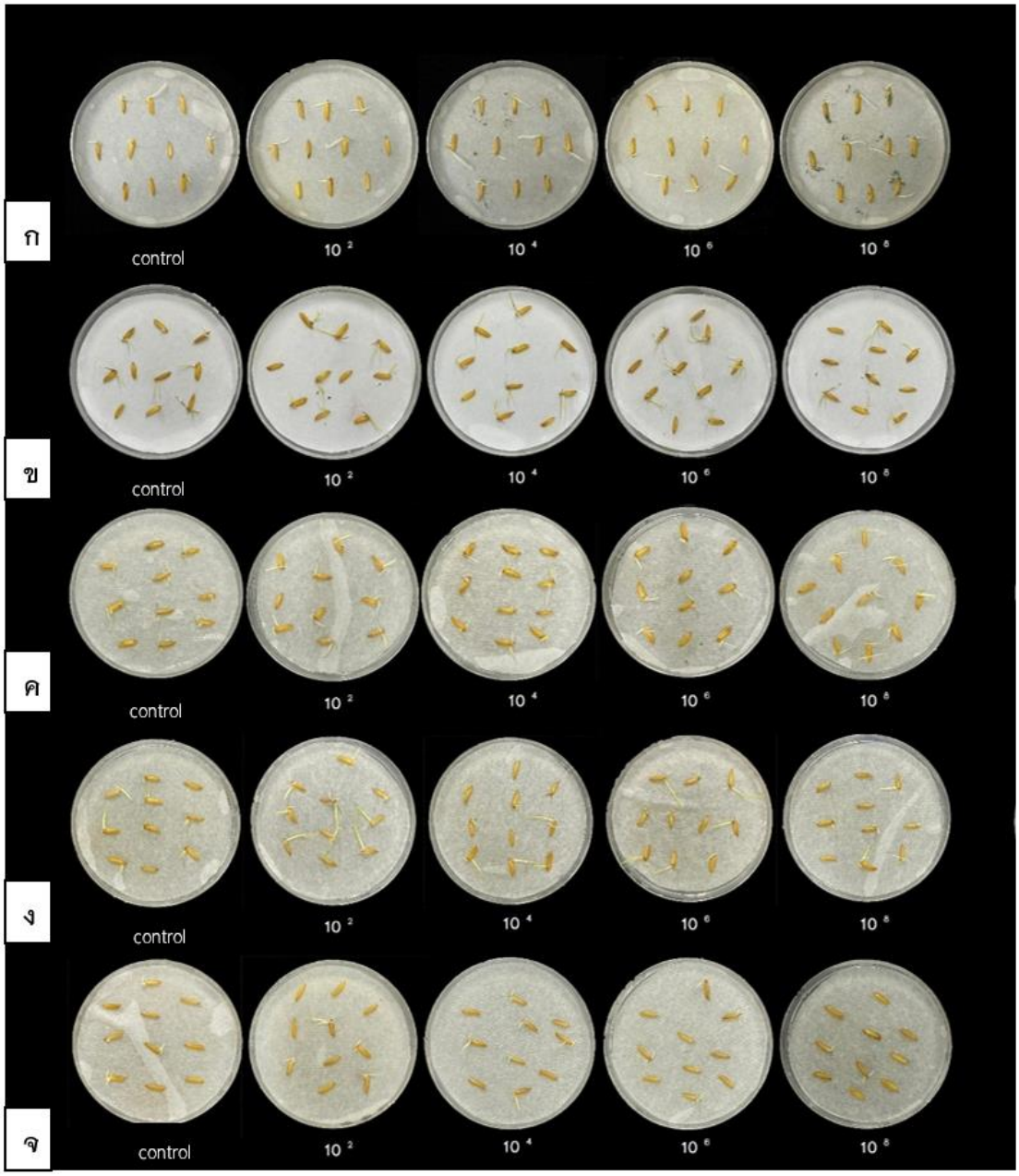
กข. 22	control	80.00 ± 0.00 c	7.00 ± 1.00 b	1.36 ± 0.08 ab	2.62 ± 0.05 ab
	10^{2}	93.33 ± 5.77 a	8.00 ± 1.73 ab	1.56 ± 0.08 ab	2.80 ± 0.16 a
	10^{4}	86.67 ± 5.77 ab	8.00 ± 0.58 ab	1.58 ± 0.13 a	2.76 ± 0.03 a
	10^{6}	86.67 ± 5.77 ab	8.33 ± 0.58 a	1.34 ± 0.08 b	2.04 ± 0.09 b
	10^{8}	90.00 ± 10.00 b	8.33 ± 0.00 a	1.39 ± 0.05 ab	1.81 ± 0.09 b
cv		7.24	12.18	6.06	4.00
F-test		*	*	*	*
กข. 41	control	96.67 ± 5.77 a	7.67 ± 2.52 c	2.90 ± 0.17 c	1.70 ± 0.20 c
	10^{2}	100.00 ± 0.00 a	9.67 ± 0.58 a	3.43 ± 0.16 ab	2.60 ± 0.14 a
	10^{4}	100.00 ± 0.00 a	8.67 ± 0.58 b	3.71 ± 0.18 a	2.61 ± 0.13 a
	10^{6}	96.67 ± 5.77 a	8.67 ± 0.58 b	3.17 ± 0.10 bc	2.20 ± 0.14 b
	10^{8}	80.00 ± 0.00 b	7.00 ± 1.00 c	2.99 ± 0.15 c	2.09 ± 0.14 bc
cv		3.86	15.49	4.79	6.76
F-test		*	*	*	*
กข. 47	control	60.00 ± 10.00 c	5.67 ± 1.15 b	1.95 ± 0.32 c	0.73 ± 0.15 b
	10^{2}	100.00 ± 0.00 a	9.00 ± 0.00 a	3.97 ± 0.22 a	1.05 ± 0.35 ab
	10^{4}	100.00 ± 0.00 a	8.33 ± 0.58 a	4.26 ± 0.17 a	1.45 ± 0.29 a
	10^{6}	83.33 ± 5.77 b	8.00 ± 1.00 a	3.40 ± 0.13 b	0.73 ± 0.32 b
	10^{8}	80.00 ± 0.00 b	7.67 ± 0.58 ab	3.06 ± 0.16 b	0.70 ± 0.09 b
cv		6.10	10.02	6.33	27.87
F-test		*	*	*	*
กข. 61	control	66.67 ± 5.77 c	3.00 ± 1.00 ab	1.12 ± 0.13 b	0.60 ± 0.16 b
	10^{2}	80.00 ± 0.00 ab	3.67 ± 1.15 ab	1.75 ± 0.07 a	0.85 ± 0.14 ab
	10^{4}	90.00 ± 0.00 a	5.67 ± 0.58 a	1.82 ± 0.07 a	1.02 ± 0.21 a
	10^{6}	83.33 ± 5.77 ab	3.33 ± 1.15 ab	2.04 ± 0.13 a	1.12 ± 0.11 a
	10^{8}	73.33 ± 5.77 bc	2.00 ± 1.73 b	1.64 ± 0.30 a	0.82 ± 0.07 ab
cv		5.68	33.49	9.87	16.72
F-test		*	*	*	*

กข. 81	control	50.00 ± 10.00 c	4.67 ± 0.58 ab	1.44 ± 0.05 d	0.88 ± 0.09 b
	10^{2}	63.33 ± 11.55 a	6.33 ± 1.15 a	2.46 ± 0.10 a	1.28 ± 0.07 a
	10^{4}	66.67 ± 5.77 a	6.33 ± 1.15 a	2.16 ± 0.09 ab	1.34 ± 0.09 a
	10^{6}	46.67 ± 5.77 c	4.00 ± 0.00 b	1.89 ± 0.11 ab	1.08 ± 0.12 ab
	10^{8}	56.67 ± 5.77 b	4.67 ± 0.58 ab	1.77 ± 0.19 c	1.01 ± 0.25 ab
cv		14.41	15.70	6.05	12.46
F-test		*	*	*	*
กข. 85	control	96.67 ± 5.77 a	5.00 ± 0.58 c	1.78 ± 0.15 c	0.51 ± 0.09 d
	10^{2}	100.00 ± 0.00 a	7.33 ± 0.58 a	2.98 ± 0.13 b	0.76 ± 0.07 c
	10^{4}	100.00 ± 0.00 a	8.00 ± 0.00 a	3.21 ± 0.16 ab	1.02 ± 0.13 ab
	10^{6}	100.00 ± 0.00 a	6.67 ± 1.15 b	3.59 ± 0.24 a	1.19 ± 0.07 a
	10^{8}	100.00 ± 0.00 a	6.67 ± 0.00 b	2.84 ± 0.09 b	0.79 ± 0.10 bc
cv		2.60	9.39	5.58	11.29
F-test		ns	*	*	*
กข. 87	control	90.00 ± 10.00 b	8.33 ± 1.53 b	2.20 ± 0.22 a	0.96 ± 0.46 b
	10^{2}	96.67 ± 5.77 a	9.67 ± 0.58 a	2.55 ± 0.14 a	2.20 ± 0.07 a
	10^{4}	100.00 ± 0.00 a	10.00 ± 0.00 a	2.74 ± 0.48 a	2.07 ± 0.04 a
	10^{6}	96.67 ± 5.77 a	9.67 ± 0.58 a	2.42 ± 0.12 a	1.62 ± 0.28 ab
	10^{8}	93.33 ± 5.77 a	9.00 ± 1.00 ab	2.28 ± 0.59 a	1.60 ± 0.31 ab
cv		6.63	9.58	14.91	16.66
F-test		*	*	*	*
ชัยนาท 1	control	73.33 ± 5.77 ab	6.33 ± 0.58 b	2.38 ± 0.23 b	2.93 ± 0.13 b
	10^{2}	86.67 ± 5.77 a	8.00 ± 1.00 ab	2.97 ± 0.05 a	3.73 ± 0.10 a
	10^{4}	83.33 ± 5.77 ab	8.33 ± 0.58 a	3.08 ± 0.08 a	3.82 ± 0.06 a
	10^{6}	73.33 ± 5.77 ab	7.33 ± 0.58 ab	2.57 ± 0.10 b	3.20 ± 0.13 b
	10^{8}	70.00 ± 0.00 b	6.67 ± 0.58 ab	2.27 ± 0.15 b	2.60 ± 0.15 c
cv		6.68	9.32	5.17	3.62
F-test		*	*	*	*

น่าน 59	control	83.33 ± 5.77 b	7.00 ± 1.00 b	2.28 ± 0.10 d	2.70 ± 0.08 d
	10^{2}	100.00 ± 0.00 a	9.00 ± 1.00 a	3.41 ± 0.17 ab	3.81 ± 0.11 b
	10^{4}	100.00 ± 0.00 a	9.67 ± 0.58 a	3.67 ± 0.12 a	4.17 ± 0.05 a
	10^{6}	100.00 ± 0.00 a	9.33 ± 0.58 a	3.15 ± 0.07 b	3.43 ± 0.08 c
	10^{8}	100.00 ± 0.00 a	9.00 ± 1.00 a	2.62 ± 0.06 c	2.61 ± 0.11 d
cv		2.67	9.73	3.73	2.69
F-test		*	*	*	*
สันป่าตอง 1	control	60.00 ± 0.00 c	5.00 ± 1.00 b	2.96 ± 0.18 bc	2.98 ± 0.21 c
	10^{2}	76.67 ± 5.77 ab	7.00 ± 0.00 a	3.48 ± 0.06 a	4.03 ± 0.05 ab
	10^{4}	73.33 ± 5.77 ab	7.00 ± 0.00 a	3.53 ± 0.05 a	4.24 ± 0.04 a
	10^{6}	70.00 ± 0.00 b	6.67 ± 0.58 a	3.12 ± 0.07 b	3.80 ± 0.06 b
	10^{8}	80.00 ± 0.00 a	6.33 ± 0.58 ab	2.82 ± 0.10 c	3.13 ± 0.15 c
cv		5.07	9.02	3.24	3.39
F-test		*	*	*	*
สังห์หยดพัทลุง	control	60.00 ± 10.0 bc	4.67 ± 1.15 b	2.87 ± 0.13 c	0.85 ± 0.15 d
	10^{2}	70.00 ± 10.0 ab	6.00 ± 1.00 ab	4.10 ± 0.11 a	1.67 ± 0.35 ab
	10^{4}	83.33 ± 11.55 a	7.33 ± 1.15 a	4.28 ± 0.09 a	1.83 ± 0.13 a
	10^{6}	66.67 ± 15.28ab	5.67 ± 2.31 ab	3.48 ± 0.44 b	1.26 ± 0.12 c
	10^{8}	46.67 ± 5.77 c	4.00 ± 1.00 b	3.15 ± 0.34 bc	1.43 ± 0.05 bc
cv		16.77	25.56	7.38	13.24
F-test		*	*	*	*
หอมนาคา	control	36.67 ± 5.77 c	2.67 ± 1.15 b	2.45 ± 0.18 ab	0.81 ± 0.10 b
	10^{2}	46.67 ± 5.77 ab	3.33 ± 0.58 a	2.70 ± 0.50 ab	1.44 ± 0.14 a
	10^{4}	53.33 ± 5.77 a	3.67 ± 0.58 a	2.91 ± 0.25 a	1.24 ± 0.11 a
	10^{6}	43.33 ± 5.77 bc	3.33 ± 0.58 a	2.50 ± 0.33 ab	0.98 ± 0.11 b
	10^{8}	40.00 ± 0.00 bc	3.00 ± 0.00 a	2.29 ± 0.15 b	0.97 ± 0.22 b
cv		11.74	21.35	11.97	13.11
F-test		*	*	*	*

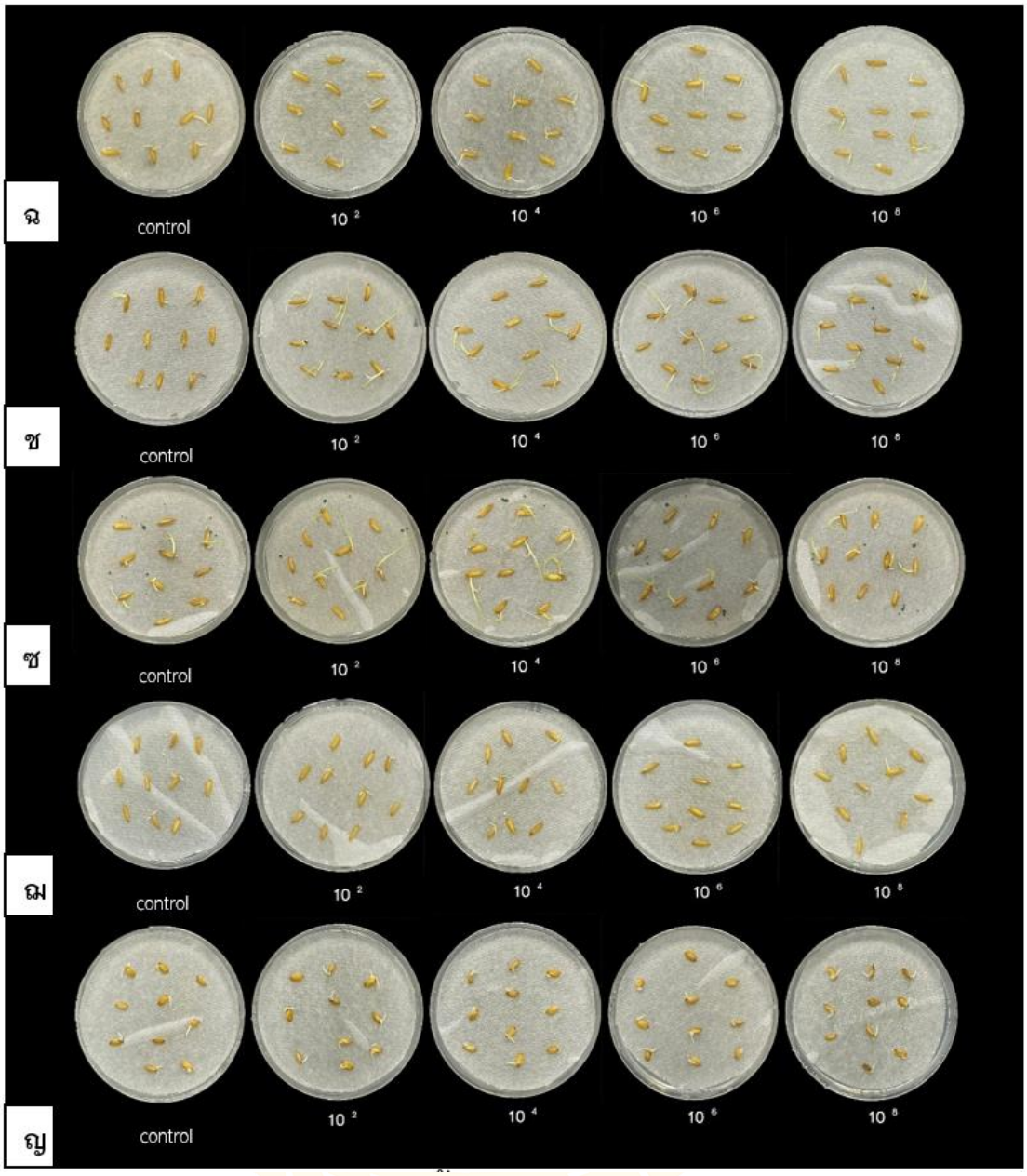
งาช้างขาว	control	93.33 ± 5.77 b	9.00 ± 0.00 b	1.44 ± 0.52 c	0.55 ± 0.23 b
	10^{2}	100.00 ± 0.00 a	10.00 ± 0.00 a	4.17 ± 0.29 a	2.00 ± 0.26 a
	10^{4}	100.00 ± 0.00 a	9.67 ± 0.58 a	4.27 ± 0.36 a	1.81 ± 0.25 a
	10^{6}	100.00 ± 0.00 a	9.33 ± 0.58 a	3.69 ± 0.16 ab	1.60 ± 0.16 a
	10^{8}	100.00 ± 0.00 a	9.00 ± 1.00 b	3.26 ± 0.13 b	0.89 ± 0.09 b
cv		2.62	6.14	9.65	14.98
F-test		*	*	*	*
ไก่น้อยลาย	control	86.67 ± 5.77 b	7.67 ± 0.58 c	2.47 ± 0.12 b	0.98 ± 0.12 b
	10^{2}	100.00 ± 0.00 a	9.00 ± 0.00 a	3.02 ± 0.20 a	1.44 ± 0.15 a
	10^{4}	100.00 ± 0.00 a	9.00 ± 0.00 a	3.10 ± 0.21 a	1.62 ± 0.13 a
	10^{6}	96.67 ± 5.77 ab	8.67 ± 0.58 ab	3.02 ± 0.14 a	1.47 ± 0.16 a
	10^{8}	96.67 ± 5.77 ab	8.00 ± 0.00 bc	2.86 ± 0.09 ab	1.38 ± 0.16 a
cv		4.66	4.31	5.47	10.38
F-test		*	*	*	*
ไก่น้อยขาว	control	86.67 ± 15.28 b	8.33 ± 1.53	2.80 ± 0.10 b	1.04 ± 0.23 b
	10^{2}	100.00 ± 0.00 a	9.00 ± 0.00	3.12 ± 0.19 b	1.31 ± 0.12 b
	10^{4}	100.00 ± 0.00 a	9.67 ± 0.58	3.66 ± 0.16 a	1.89 ± 0.17 a
	10^{6}	96.67 ± 5.77 a	8.67 ± 0.58	3.13 ± 0.16 a	1.25 ± 0.12 b
	10^{8}	93.33 ± 5.77 a	8.33 ± 0.58	3.01 ± 0.12 b	1.11 ± 0.17 b
cv		8.13	9.28	4.73	12.76
F-test		*	ns	*	*

หมายเหตุ: ตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธี ทดสอบแบบพิสัยเชิงพหุดันแคน (Duncan's New Multiple Range Test: DMRT) เพื่อใช้เพื่อระบุความแตกต่างที่ระดับนัยสำคัญ 0.05



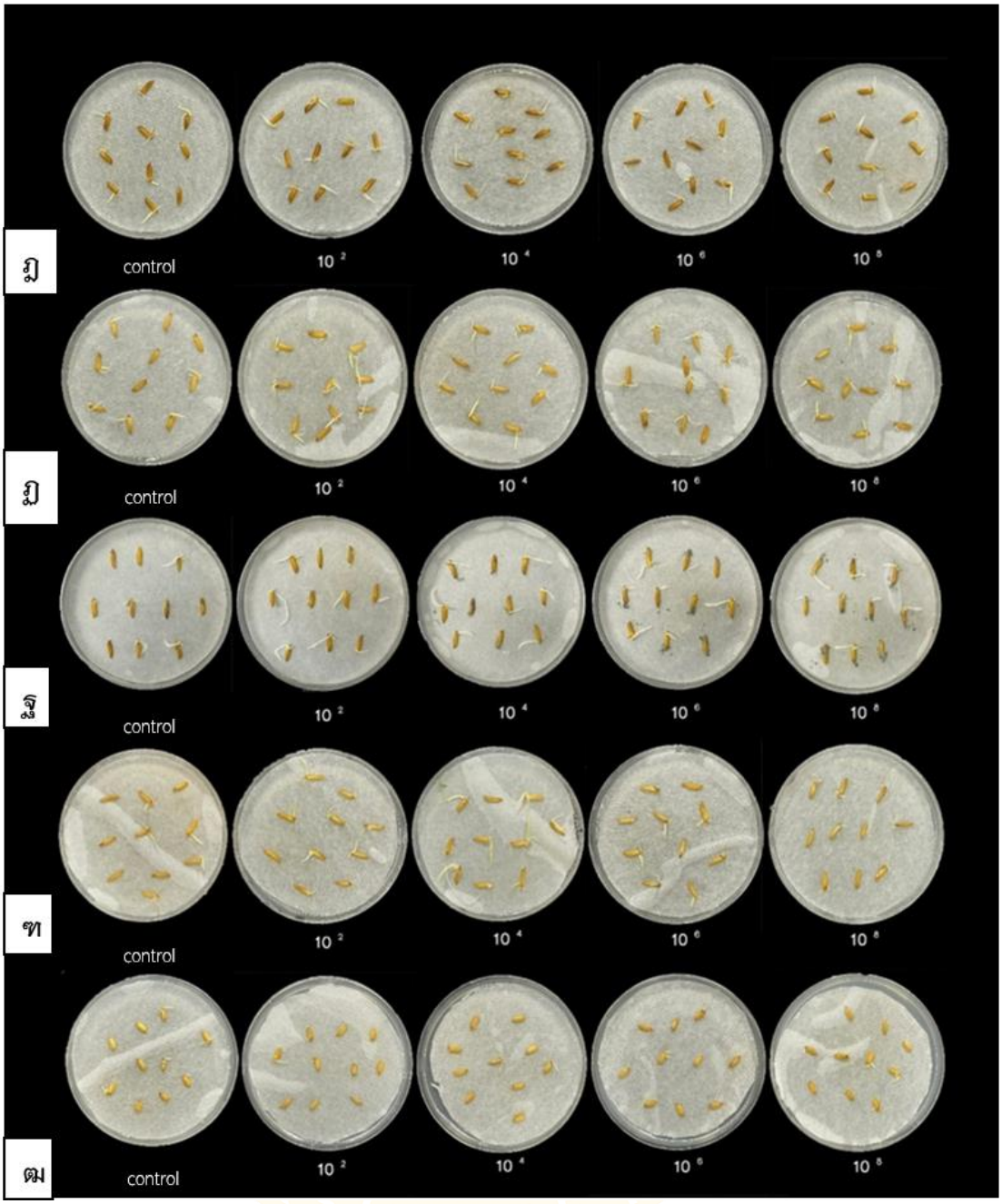
ภาพ 9 การงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวเมื่อแช่ในสารแขวนลอยสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน

หมายเหตุ: (ก = ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105, ข = ข้าวพันธุ์หางยี 71, ค = ข้าวพันธุ์กข. 6, ง = ข้าวพันธุ์กข. 10 และ จ = ข้าวพันธุ์กข. 14)



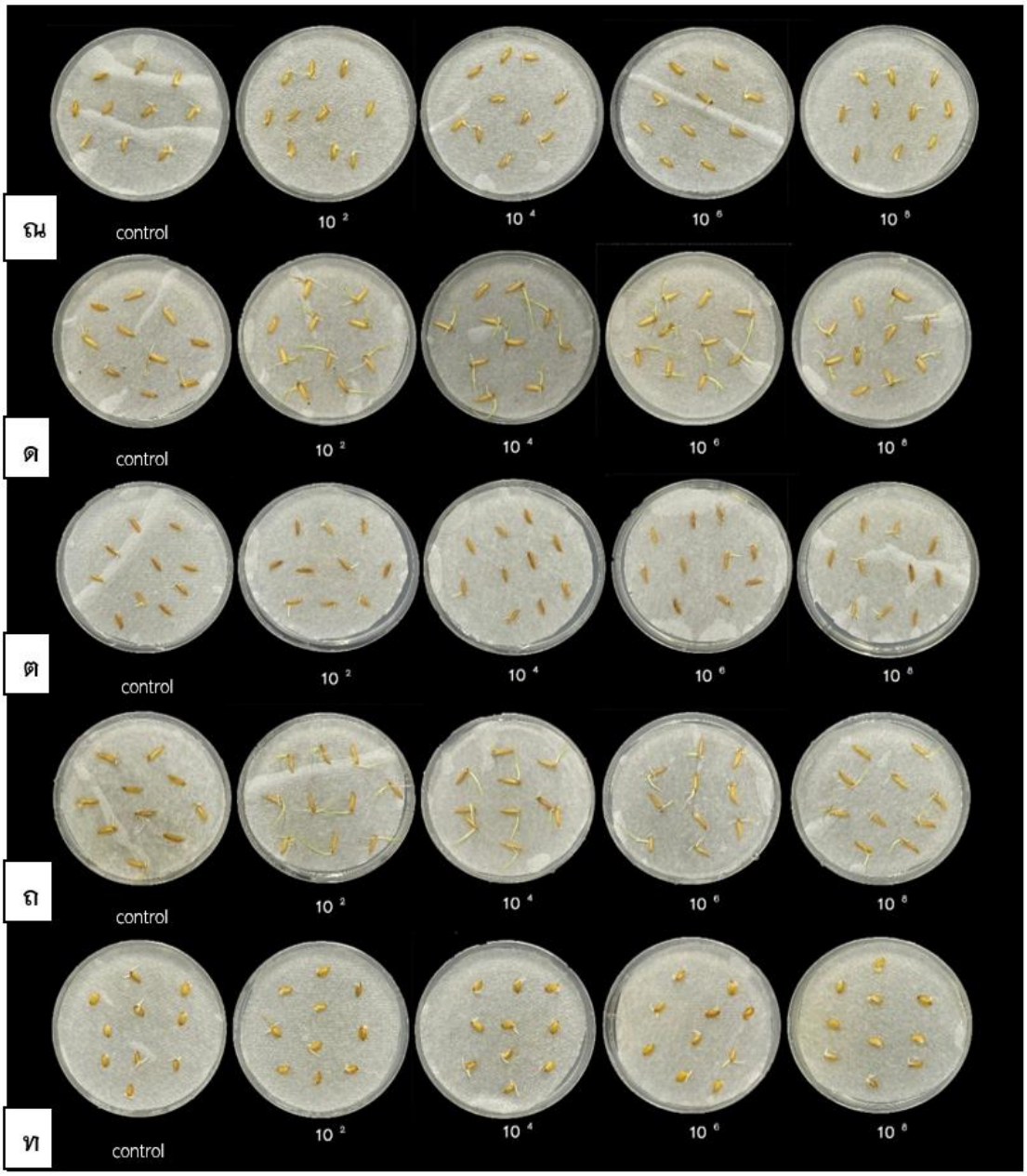
ภาพ 9 การงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวเมื่อแช่ในสารแขวนลอยสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน (ต่อ)

หมายเหตุ: (ฉ = ข้าวพันธุ์กข. 22, ช = ข้าวพันธุ์กข. 41, ซ = ข้าวพันธุ์กข. 47, ฌ = ข้าวพันธุ์กข. 61 และ ญ = ข้าวพันธุ์กข. 81)



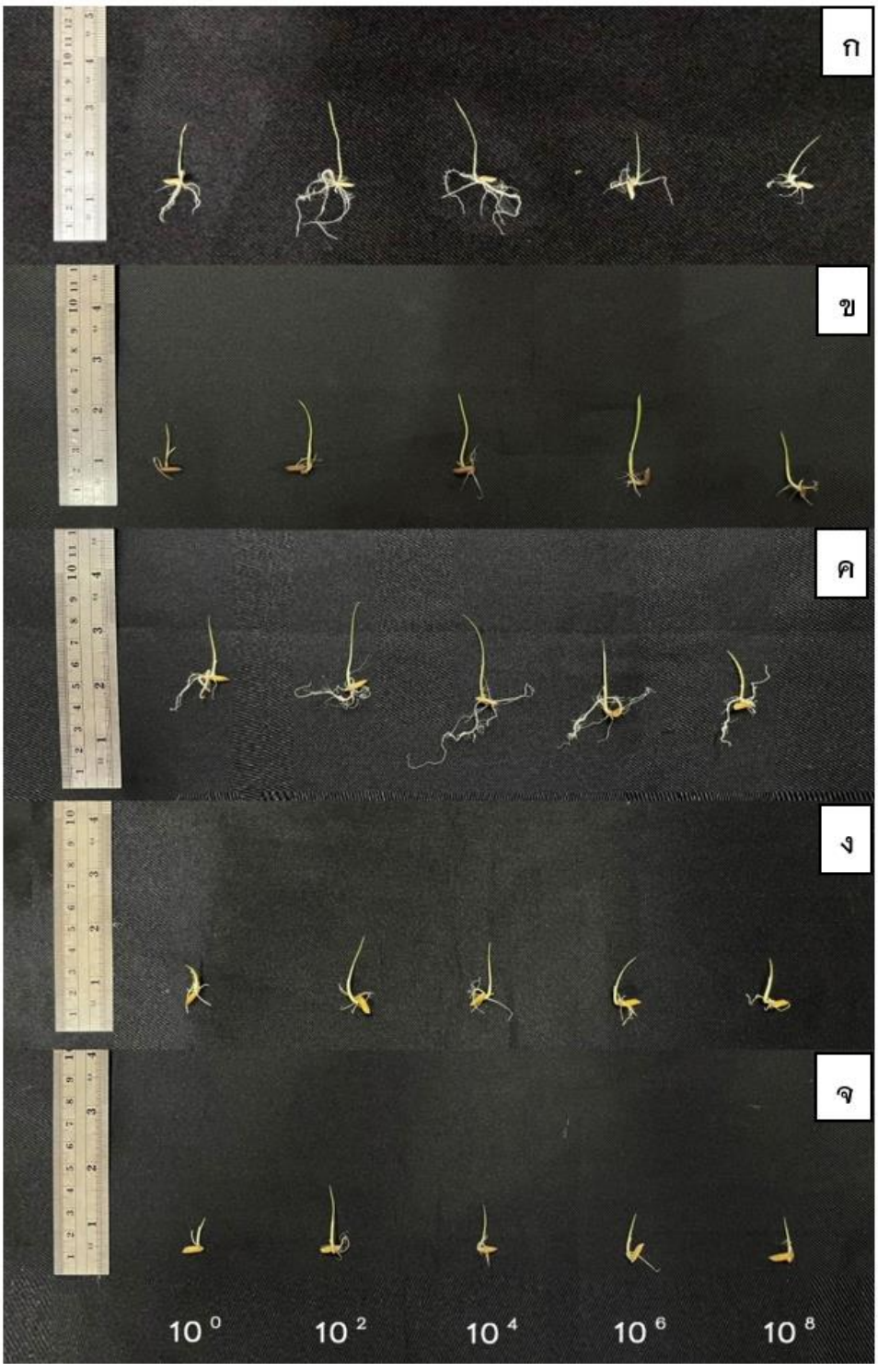
ภาพ 9 การงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวเมื่อแช่ในสารแขวนลอยสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน (ต่อ)

หมายเหตุ: (฿ = ข้าวพันธุ์กข. 85, ฿ = ข้าวพันธุ์กข. 87, ฿ = ข้าวพันธุ์ชัยนาท 1, ฿ = ข้าวพันธุ์น่าน 69 และ ฿ =ข้าวพันธุ์สันป่าตอง 1)



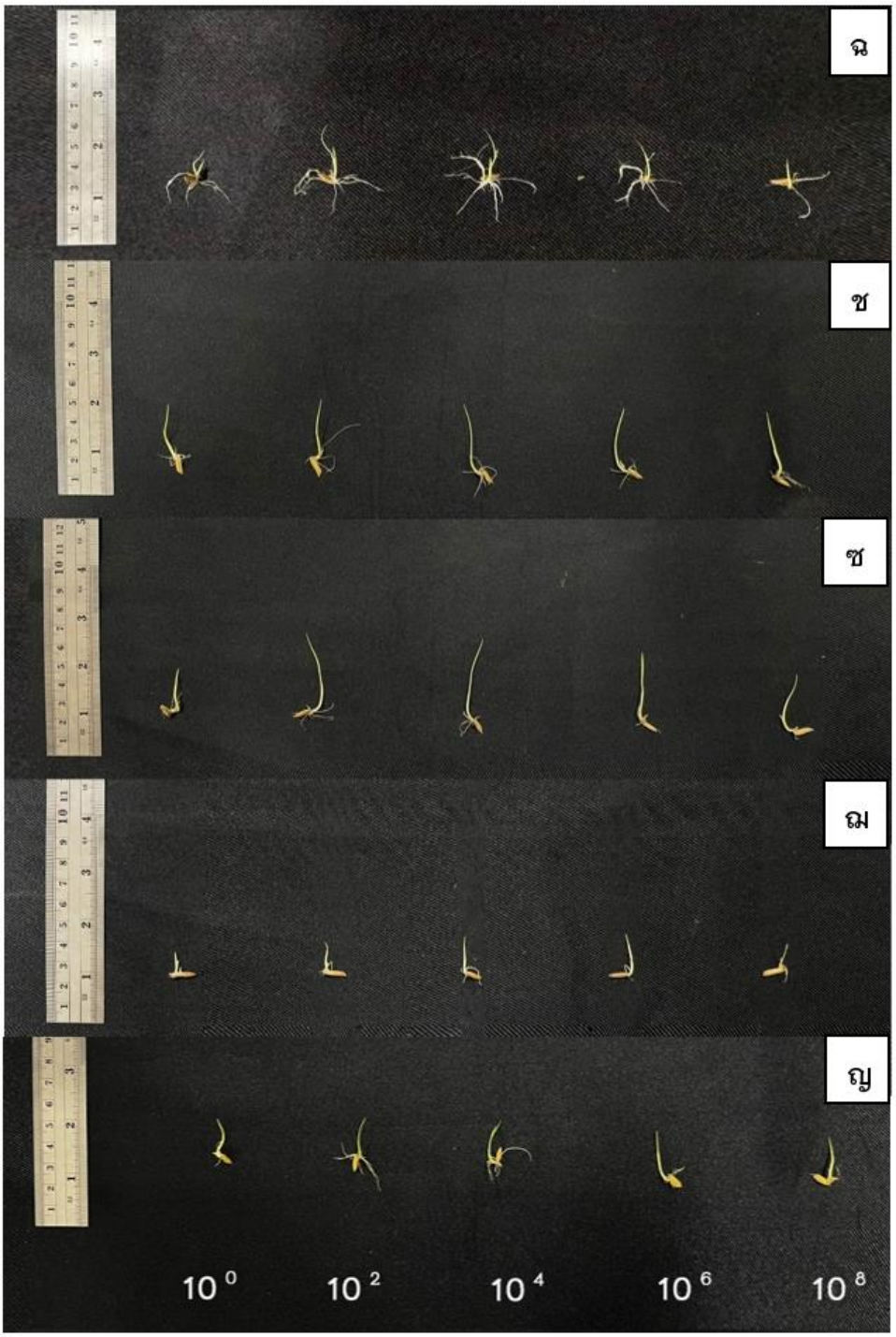
ภาพ 9 การงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวเมื่อแช่ในสารแขวนลอยสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน (ต่อ)

หมายเหตุ: (ณ = ข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง, ด = ข้าวพันธุ์หอมนาคา, ต = ข้าวพันธุ์งาช้างขาว, ถ = ข้าวพันธุ์ไก่น้อยลาย และ ท =ข้าวพันธุ์ไก่น้อยขาว)



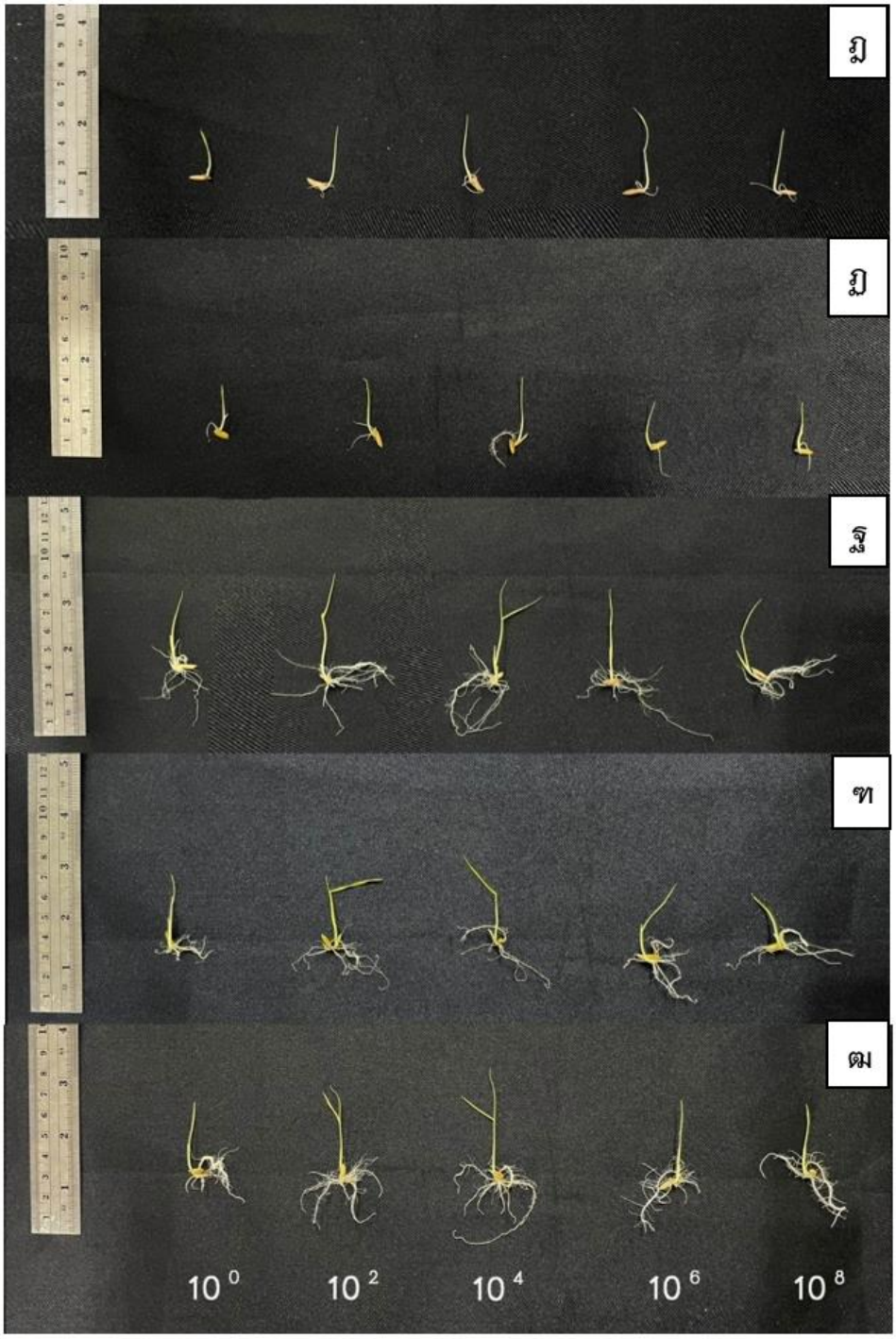
ภาพ 10 ความสูงต้นและความยาวที่อายุ 7 วัน หลังการแช่ในสารแขวนลอยสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน

หมายเหตุ: (ก = ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105, ข = ข้าวพันธุ์หางยี 71, ค = ข้าวพันธุ์กข. 6, ง = ข้าวพันธุ์กข. 10 และ จ = ข้าวพันธุ์กข. 14)



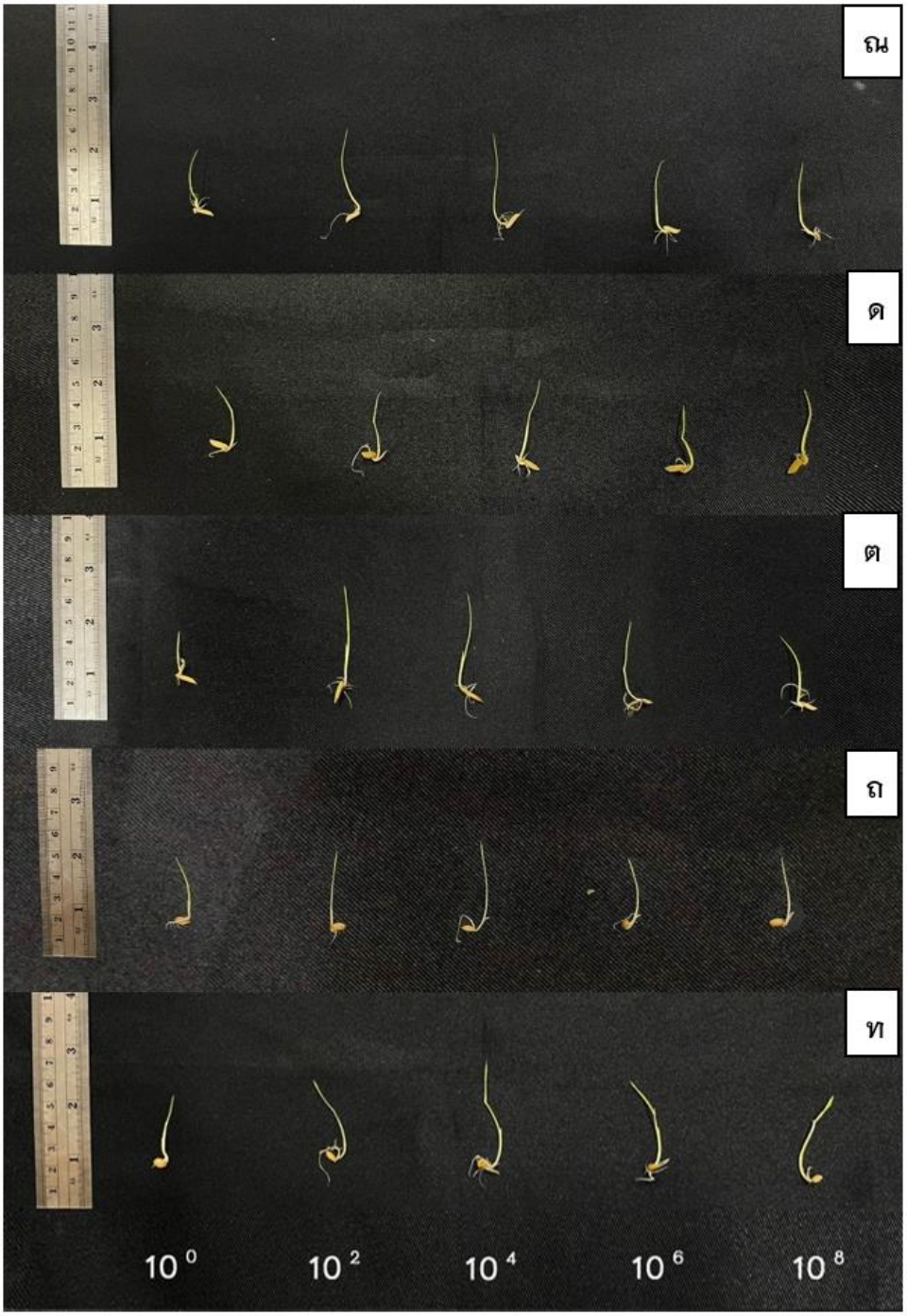
ภาพ 10 ความสูงต้นและความยาวที่อายุ 7 วัน หลังการแช่ในสารแขวนลอยสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน (ต่อ)

หมายเหตุ: (ฉ = ข้าวพันธุ์กข. 22, ช = ข้าวพันธุ์กข. 41, ซ = ข้าวพันธุ์กข. 47, ฌ = ข้าวพันธุ์กข. 61 และ ญ = ข้าวพันธุ์กข. 81)



ภาพ 10 ความสูงต้นและความยาวที่อายุ 7 วัน หลังการแช่ในสารแขวนลอยสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน (ต่อ)

หมายเหตุ: (ฎ = ข้าวพันธุ์กข. 85, ฏ = ข้าวพันธุ์กข. 87, ฐ = ข้าวพันธุ์ชัยนาท 1, ฑ = ข้าวพันธุ์น่าน 69 และ ฒ =ข้าวพันธุ์สันป่าตอง 1)



ภาพ 10 ความสูงต้นและความยาวที่อายุ 7 วัน หลังการแช่ในสารแขวนลอยสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน (ต่อ)

หมายเหตุ: (ณ = ข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง, ด = ข้าวพันธุ์หอมนาคา, ต = ข้าวพันธุ์งาช้างขาว, ถ = ข้าวพันธุ์ไก่น้อยลาย และ ท =ข้าวพันธุ์ไก่น้อยขาว)

แผนการศึกษาที่ 3 การประเมินประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ชีวภาพ

การทดลองที่ 1 การทดสอบความเข้มข้นของสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ในผลิตภัณฑ์ชีวภาพต่อการเจริญเติบโตของข้าวในระดับโรงเรือน

การทดสอบความเข้มข้นของสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ต่อการเจริญเติบโตของข้าวในระดับโรงเรือน พบว่าข้าวทั้ง 3 พันธุ์ ได้แก่ สังข์หยดพัทลุง สันป่าตอง และหอมมะลิ 105 ที่อายุ 30, 60 และ 90 วัน ที่ใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพที่ใส่สารแขวนลอยสปอร์ความเข้มข้น 1.0×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร สามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว โดยมีจำนวนต้น ความสูงต้น และความยาวราก มากกว่ากรรมวิธีที่ไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ และผลิตภัณฑ์ชีวภาพที่ระดับความเข้มข้น 1.0×10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

ข้าวที่มีอายุ 30 วัน ที่ใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพความเข้มข้น 1.0×10^8 พบว่าข้าวพันธุ์หอมมะลิ 105 มีจำนวนต้น ความสูงต้น และความยาวรากดีที่สุด เท่ากับ 6.00 ต้นต่อกอ 98.63 เซนติเมตร และ 19.23 เซนติเมตร ตามลำดับ รองลงมาคือข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง เท่ากับ 4.67 ต้นต่อกอ 67.37 เซนติเมตร และ 17.87 เซนติเมตร ตามลำดับ (**ตาราง 10 และภาพ 11**)

ข้าวที่มีอายุ 60 วัน ที่ใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพความเข้มข้น 1.0×10^8 พบว่าข้าวพันธุ์สันป่าตอง 1 มีจำนวนต้น เท่ากับ 66.33 ต้นต่อกอ และความยาวรากดีที่สุด 38.92 เซนติเมตร ส่วนข้าวพันธุ์หอมมะลิ 105 มีความสูงต้นดีที่สุด 138.30 เซนติเมตร รองลงมาคือข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุงมีจำนวนต้น และความสูงต้น 59.00 ต้นต่อกอ และ 112.10 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนความยาวราก คือข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ 33.03 เซนติเมตร (**ตาราง 11 และภาพ 12**)

ข้าวที่มีอายุ 90 วัน ที่ใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพที่ระดับความเข้มข้น 1.0×10^8 พบว่าข้าวพันธุ์หอมมะลิ 105 มีจำนวนต้น ความสูงต้น และความยาวรากดีที่สุด เท่ากับ 87.67 ต้นต่อกอ 154.93 เซนติเมตร และ 49.63 เซนติเมตร ตามลำดับ รองลงมาคือข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุงที่ 81.67 ต้นต่อกอ 128.20 เซนติเมตร และ 49.87 เซนติเมตร ตามลำดับ (**ตารางที่ 12 และภาพ 13**)

ตาราง 10 การเจริญเติบโตของข้าวที่ทดสอบโดยใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในระดับโรงเรือน ที่อายุ 30 วัน

พันธุ์	กรรมวิธี	จำนวนต้น	ความสูงต้น	ความยาวราก
สังข์หยดพัทลุง	ไม่ใส่	3.67± 2.08 bc	46.1 ± 2.71 ef	12.6 ± 1.51 c
	ใส่ 10^4	3.67 ± 1.15 bc	59.3 ± 4.22 cd	14.1 ± 1.57 bc
	ใส่ 10^8	4.67 ± 1.15 ab	67.37 ± 5.56 b	17.87 ± 0.60 ab
สันป่าตอง 1	ไม่ใส่	2.33 ± 0.58 c	43.03 ± 5.80 f	8.17 ± 1.27 d
	ใส่ 10^4	4.00 ± 1.00 bc	52.7 ± 3.85 de	14.57 ± 2.87 bc
	ใส่ 10^8	4.67 ± 0.58 ab	61.87 ± 6.27 bc	19.4 ± 3.90 a
หอมมะลิ 105	ไม่ใส่	3.67 ± 1.15 bc	51.43 ± 1.63 e	7.4 ± 2.11 d
	ใส่ 10^4	4.33 ± 0.58 ab	101.23 ± 4.32 a	14.87 ± 2.22 bc
	ใส่ 10^8	6.00 ± 1.00 a	98.63 ± 2.12 a	19.23 ± 2.21 a
Cv		27.30	6.72	15.61
F-test		*	*	*

หมายเหตุ: ตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธี ทดสอบแบบพิสัยเชิงพหุดันแคน (Duncan's New Multiple Range Test: DMRT) เพื่อใช้เพื่อระบุความแตกต่างที่มีนัยสำคัญ 0.05

ตาราง 11 การเจริญเติบโตของข้าวที่ทดสอบโดยใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในระดับโรงเรือน ที่อายุ 60 วัน

พันธุ์	กรรมวิธี	จำนวนต้น	ความสูงต้น	ความยาวราก
สังข์หยดพัทลุง	ไม่ใส่	33.33 ± 1.15 d	73.50 ± 1.99 f	18.13 ± 1.75 e
	ใส่ 10^4	48.33 ± 6.66 c	102.20 ± 4.77 de	26.23 ± 3.25 d
	ใส่ 10^8	59.00 ± 7.55 b	112.10 ± 5.26 c	32.27 ± 2.20 bc
สันป่าตอง 1	ไม่ใส่	15.33 ± 2.52 f	68.67 ± 4.18 f	23.87 ± 1.80 d
	ใส่ 10^4	56.33 ± 3.06 b	96.83 ± 5.10 e	33.25 ± 2.18 b
	ใส่ 10^8	66.33 ± 3.06 a	115.10 ± 6.52 c	38.92 ± 3.80 a
หอมมะลิ 105	ไม่ใส่	26.00 ± 2.65 e	110.33 ± 4.45 cd	28.10 ± 2.49 cd
	ใส่ 10^4	36.00 ± 3.00 d	124.10 ± 6.24 b	27.03 ± 3.41 d
	ใส่ 10^8	47.00 ± 2.65 c	138.30 ± 4.95 a	33.03 ± 2.60 b
Cv		9.50	4.77	9.31
F-test		*	*	*

หมายเหตุ: ตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธี ทดสอบแบบพิสัยเชิงพหุดันแคน (Duncan's New Multiple Range Test: DMRT) เพื่อใช้เพื่อระบุความแตกต่างที่มีนัยสำคัญ 0.05

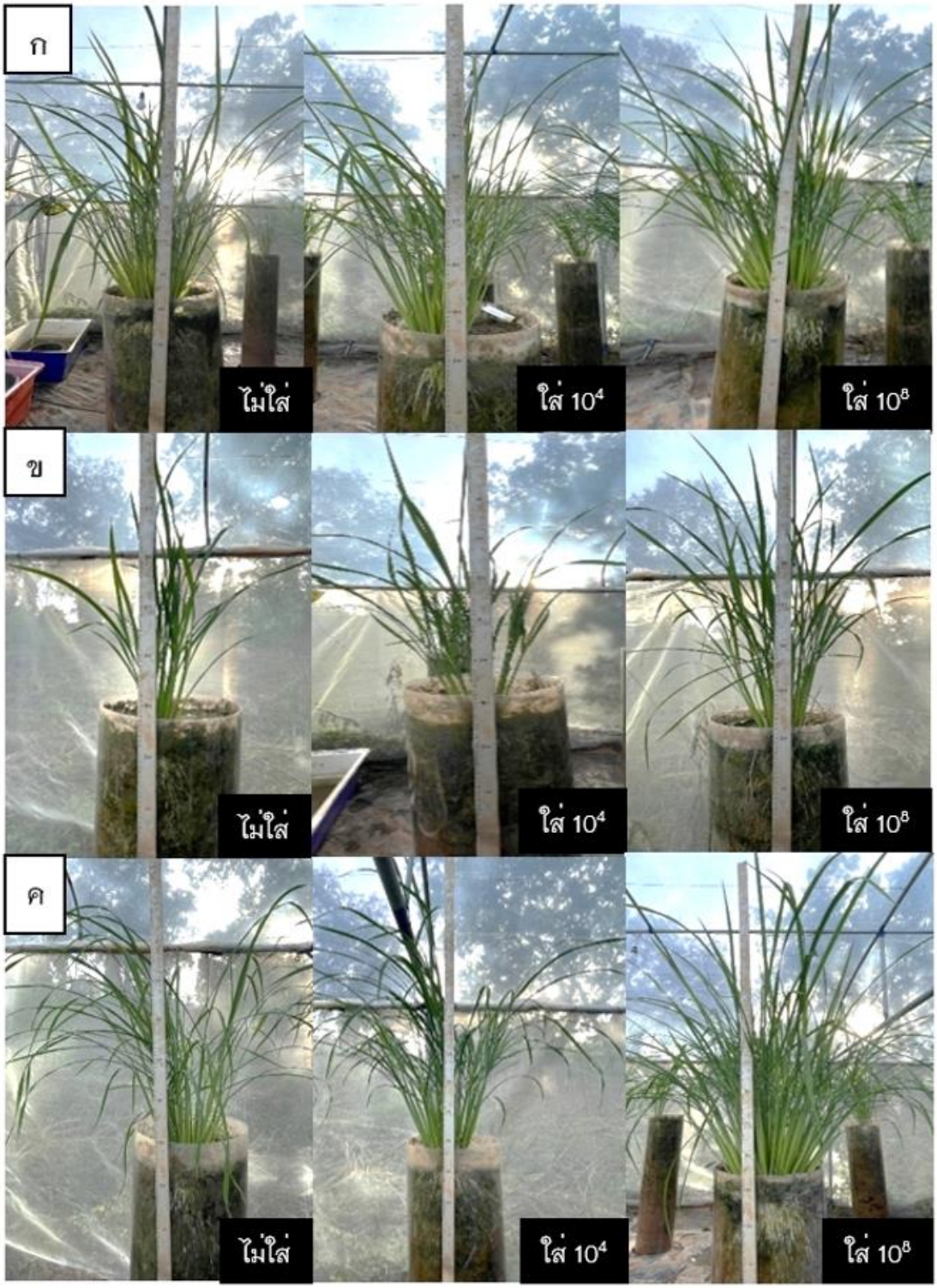
ตาราง 12 การเจริญเติบโตของข้าวที่ทดสอบโดยใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในระดับโรงเรือน ที่อายุ 90 วัน

พันธุ์	กรรมวิธี	จำนวนต้น	ความสูงต้น	ความยาวราก
สังข์หยดพัทลุง	ไม่ใส่	48.33 ± 2.52 d	102.87 ± 8.75 e	33.80 ± 4.19 de
	ใส่ 10^4	65.67 ± 5.69 c	117.50 ± 5.46 d	43.33 ± 3.04 bc
	ใส่ 10^8	81.67 ± 2.52 ab	128.20 ± 4.85 c	48.87 ± 4.67 ab
สันป่าตอง 1	ไม่ใส่	40.67 ± 3.21 e	89.77 ± 3.86 f	31.13 ± 3.04 e
	ใส่ 10^4	64.67 ± 4.93 c	103.00 ± 6.09e	37.17 ± 1.43 d
	ใส่ 10^8	80.00 ± 2.65 b	123.00 ± 4.13 cd	44.17 ± 4.65 abc
หอมมะลิ 105	ไม่ใส่	43.67 ± 3.51 de	118.33 ± 6.19 d	35.27 ± 2.78 de
	ใส่ 10^4	75.67 ± 3.51 b	144.83 ± 4.35 b	39.37 ± 3.97 cd
	ใส่ 10^8	87.67 ± 2.52 a	154.93 ± 4.57 a	49.63 ± 0.91 a
Cv		6.49	4.61	8.51
F-test		*	*	*

หมายเหตุ: ตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธี ทดสอบแบบพิสัยเชิงพหุดันแคน (Duncan's New Multiple Range Test: DMRT) เพื่อใช้เพื่อระบุความแตกต่างที่มีนัยสำคัญ 0.05

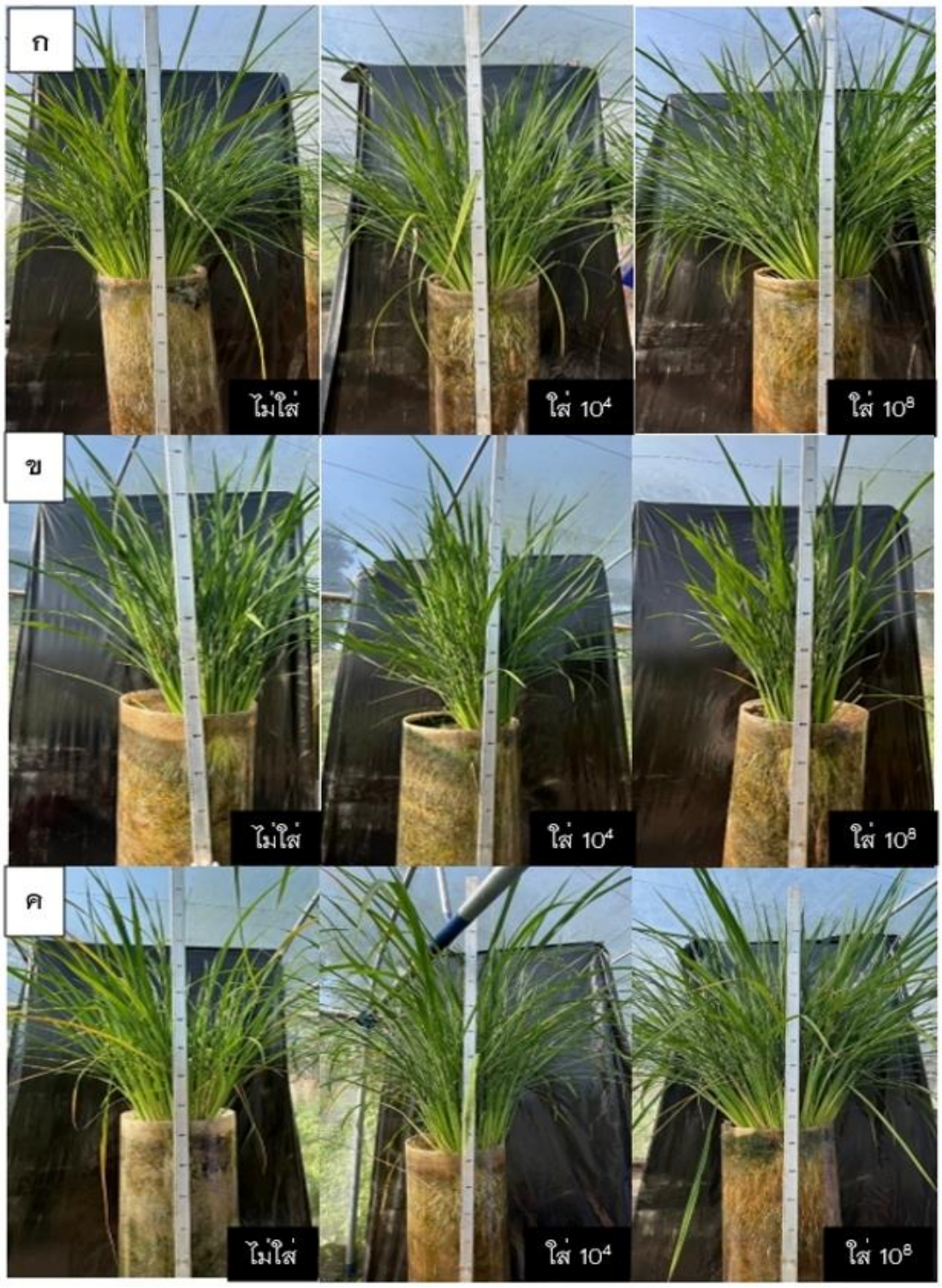
ภาพ 11 ลักษณะของต้นข้าวที่อายุ 30 วัน

หมายเหตุ: ก = ข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง ข = ข้าวพันธุ์สันป่าตอง 1 และ ค = ข้าวพันธุ์หอมมะลิ 105



ภาพ 12 ลักษณะของต้นข้าวที่อายุ 60 วัน

หมายเหตุ: ก = ข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง ข = ข้าวพันธุ์สันป่าตอง 1 และ ค = ข้าวพันธุ์หอมมะลิ 105



ภาพ 13 ลักษณะของต้นข้าวที่อายุ 90 วัน

หมายเหตุ: ก = ข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง ข = ข้าวพันธุ์สันป่าตอง 1 และ ค = ข้าวพันธุ์หอมมะลิ 105

การทดลองที่ 2 การทดสอบผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการควบคุมโรคใบไหม้ในข้าวในระดับโรงเรือน

จากการศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากรา *T. phayaoense* (L1 I3) ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตในข้าว โดยทดสอบคุณภาพทางกายภาพของต้นและผลผลิต พบว่า กรรมวิธีที่ 4 ที่ใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพมีความสูงต้น 153.47 เซนติเมตร และจำนวนต้นต่อกอ 19.25 ต้น ซึ่งมากกว่ากรรมวิธีควบคุม (ความสูง 136.54 เซนติเมตร และจำนวนต้นต่อกอ 6.17 ต้น) แต่น้อยกว่ากรรมวิธีที่ 2 ที่ใช้สารกำจัดเชื้อราทางการค้า + ปุ๋ยเคมี (ความสูง 159.58 เซนติเมตร และจำนวนต้นต่อกอ 21.09 ต้น) ส่วนคุณภาพผลผลิตทางกายภาพ พบว่ากรรมวิธีที่ 4 ที่ใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพ มีจำนวนรวงต่อกอ เมล็ดดีต่อรวง เมล็ดลีบต่อรวง เมล็ดทั้งหมดต่อรวง น้ำหนักเมล็ดดีต่อกอ น้ำหนักเมล็ดลีบต่อกอ เมล็ดทั้งหมดต่อกอ อัตราการติดเมล็ด และผลผลิต เท่ากับ 18.58 รวง, 123.00 เมล็ด, 29.08 เมล็ด, 3.77 กรัม, 52.52 กรัม, 3.94 กรัม, 56.46 กรัม, 80.85 เปอร์เซ็นต์ และ 504.23 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ซึ่งมากกว่ากรรมวิธีที่ 1 เท่ากับ 5.83 รวง, 63.25 เมล็ด, 21.67 เมล็ด, 1.94 กรัม, 10.23 กรัม, 1.01 กรัม, 11.24 กรัม, 74.51 เปอร์เซ็นต์ และ 98.19 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ แต่ยังน้อยกว่ากรรมวิธีที่ 2 ที่มีจำนวนรวงต่อกอ เมล็ดดีต่อรวง เมล็ดลีบต่อรวง เมล็ดทั้งหมดต่อรวง น้ำหนักเมล็ดดีต่อกอ น้ำหนักเมล็ดลีบต่อกอ เมล็ดทั้งหมดต่อกอ อัตราการติดเมล็ด และผลผลิต เท่ากับ 20.17 รวง, 130.92 เมล็ด, 31.67 เมล็ด, 4.45 กรัม, 60.03 กรัม, 4.59 กรัม, 64.62 กรัม, 80.56 เปอร์เซ็นต์ และ 576.31 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (**ตาราง 13 และภาพ 14**)

จากการศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพจากรา *T. phayaoense* (L1 I3) ต่อการควบคุมโรคใบไหม้และใบไหม้คอรวงในข้าว พบว่ากรรมวิธีที่ 2 มีคะแนนการเกิดโรคที่ 1.17 คะแนน น้อยกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่กรรมวิธีที่ 1 ที่มีคะแนนการเกิดโรค 5.58 คะแนน ส่วนกรรมวิธีที่ 4 ที่ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *T. phayaoense* (L1 I3) แบบชนิดอัดเม็ด + การฉีดพ่นทางใบ พบว่ามีคะแนนการเกิดโรค 2.25 คะแนน และไม่พบการเกิดโรคใบไหม้คอรวง (**ตาราง 14 และภาพ 15**)

ตาราง 13 คุณภาพผลผลิตในระดับโรงเรือน

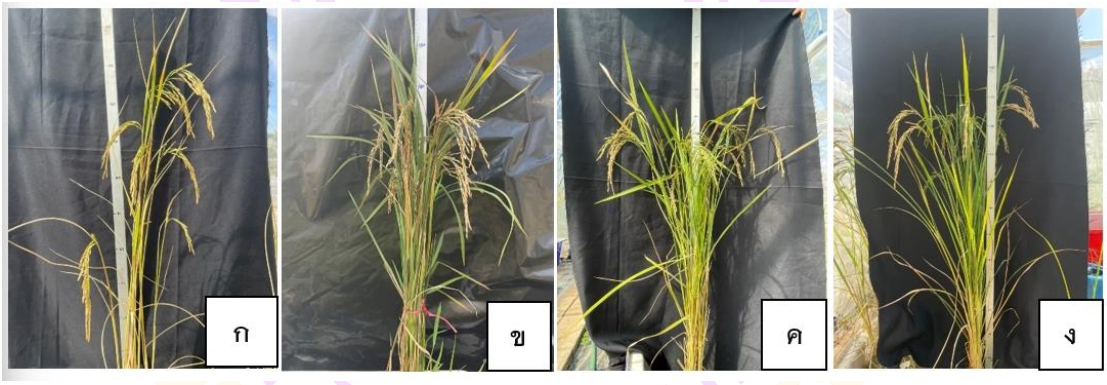
กรรมวิธี	ความสูงต้น	จำนวนต้นต่อก่อ (ต้นต่อก่อ)	จำนวนรวงต่อก่อ (รวงต่อก่อ)	จำนวนเมล็ดดีต่อรวง (เมล็ดต่อรวง)	จำนวนเมล็ดลีบต่อรวง (เมล็ดต่อรวง)	จำนวนเมล็ดทั้งหมดต่อรวง (กรัมต่อรวง)	น้ำหนักเมล็ดดีต่อก่อ (กรัมต่อรวง)	น้ำหนักเมล็ดลีบต่อก่อ (กรัมต่อรวง)	จำนวนเมล็ดทั้งหมดต่อก่อ (กรัมต่อก่อ)	อัตราการติดเมล็ด (%)	ผลผลิตต่อไร่ทั้งหมดต่อซ้ำ (กิโลกรัม ต่อไร่)
1	136.54 ± 0.70 d	6.17 ± 0.24 c	5.83 ± 0.00 b	63.25 ± 2.24 d	21.67 ± 1.41 c	1.94 ± 0.08 c	10.23 ± 0.32 d	1.01 ± 0.18 c	11.24 ± 0.14 d	74.51 ± 1.90 b	98.19 ± 3.05 d
2	159.58 ± 0.65 a	21.09 ± 0.12 a	20.17 ± 0.00 a	130.92 ± 3.42 a	31.67 ± 6.36 a	4.45 ± 0.15 a	60.03 ± 0.07 a	4.59 ± 1.07 a	64.62 ± 1.14 a	80.56 ± 3.56 a	576.31 ± 0.67 a
3	145.01 ± 1.17 c	16.84 ± 0.47 b	17.33 ± 0.24 ab	118.75 ± 0.59 c	26.00 ± 2.12 b	3.49 ± 0.08 b	47.15 ± 1.70 c	3.16 ± 0.28 b	50.31 ± 1.42 c	81.96 ±1.38 a	452.63 ± 16.31 c
4	153.47 ± 1.04 b	19.25 ± 0.35 ab	18.58 ± 0.12 ab	123.00 ± 0.94 b	29.08 ± 1.77 ab	3.77 ± 0.08 b	52.52 ± 1.40 b	3.94 ± 0.93 ab	56.46 ± 0.46 b	80.85 ± 1.06 a	504.23 ± 13.41 b
cv	2.53	23.75	24.29	3.45	13.87	10.90	11.09	35.05	10.11	5.20	2.62
F-Tast	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**

หมายเหตุ: ตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธี ทดสอบแบบพิสัยเชิงพหุดันแคน (Duncan's New Multiple Range Test: DMRT) เพื่อใช้เพื่อระบุความแตกต่างที่มีนัยสำคัญ 0.01

ตาราง 14 คะแนนการเกิดโรคใบไหม้ในระดับโรงเรือน

กรรมวิธี	คะแนนการเกิดโรคใบไหม้
1	5.58 ± 0.12 a
2	1.17 ± 0.00 c
3	2.58 ± 0.10 b
4	2.25 ± 0.12 bc
cv	44.10
F-Test	**

หมายเหตุ: ตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธี ทดสอบแบบพิสัยเชิงพหุดันแคน (Duncan's New Multiple Range Test: DMRT) เพื่อใช้เพื่อระบุความแตกต่างที่มีนัยสำคัญ 0.01



ภาพ 14 ความสูงต้นข้าวในโรงเรือน

หมายเหตุ: [ก = ต้นข้าวในกรรมวิธีควบคุม ข = ต้นข้าวในกรรมวิธีสารกำจัดที่ใส่เชื้อราทางการค้า + ปุ๋ยเคมี ค = ต้นข้าวในกรรมวิธีที่ใส่ผลิตภัณฑ์ทางการค้า และ ง = ต้นข้าวในกรรมวิธีที่ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *T. phayaoense* (L1 I3) แบบชนิดอัดเม็ด + การฉีดพ่นทางใบ]

ภาพ 15 การเกิดโรคใบไหม้ในโรงเรือน

หมายเหตุ: [ก = ต้นข้าวในกรรมวิธีควบคุม ข = ต้นข้าวในกรรมวิธีสารกำจัดที่ใส่เชื้อราทางการค้า + ปุ๋ยเคมี ค = ต้นข้าวในกรรมวิธีที่ใส่ผลิตภัณฑ์ทางการค้า และ ง = ต้นข้าวในกรรมวิธีที่ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *T. phayaoense* (L1 I3) แบบชนิดอัดเม็ด + การฉีดพ่นทางใบ]

การทดลองที่ 3 การทดสอบผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการควบคุมโรคใบไหม้ในข้าวระดับแปลงเกษตรกร

การศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากรา *T. phayaoense* (L1 I3) ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตในข้าว และบันทึกคุณภาพทางกายภาพของต้นและผลผลิต พบว่ากรรมวิธีที่ 2 ที่ใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพมีความสูงต้น (225.80 เซนติเมตร) และจำนวนต้นต่อกอ (20.30 ต้นต่อกอ) มากกว่ากรรมวิธีที่ไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพที่มีความสูง (219.80 เซนติเมตร) และจำนวนต้นต่อกอ (17.40 ต้น) แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ส่วนคุณภาพผลผลิตทางกายภาพ พบว่ากรรมวิธีที่ 2 มีจำนวนรวงต่อกอ เมล็ดดีต่อรวง เมล็ดลีบต่อรวง เมล็ดทั้งหมดต่อกอ อัตราการติดเมล็ด และผลผลิต มากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (177.20 เมล็ดต่อรวง, 25.80 เมล็ดต่อรวง, 47.65 กรัมต่อรวง, 451.93 กรัมต่อกอ, 87.42 เปอร์เซ็นต์ และ 475.60 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ในขณะที่จำนวนต้นต่อกอ (20.30 ต้นต่อกอ) จำนวนรวงต่อกอ (16.90 รวงต่อกอ) จำนวนเมล็ดทั้งหมดต่อรวง

(5.02 กรัมต่อรวง) น้ำหนักเมล็ดลีบต่อกอ (4.27 กรัมต่อรวง) มากกว่ากรรมวิธีที่ 1 แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ **(ตาราง 15 และภาพ 16 – 17)**

ผลการควบคุมโรคไหม้ พบว่า กรรมวิธีที่ 2 ที่ใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากรา *T. phayaoense* (L1 I3) มีคะแนนการเกิดโรคใบไหม้ที่อายุ 14, 30, 60 และ 90 วัน เท่ากับ 2.41, 2.00, 1.44 และ 1.22 คะแนน ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่ากรรมวิธีที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุมมีคะแนนการเกิดโรคใบไหม้ที่ 6.30, 5.33, 4.52 และ 4.04 คะแนน ตามลำดับ พบการเกิดโรคไหม้คอรวงเมื่อข้าวอายุ 90 วัน โดยกรรมวิธีที่ 2 มีคะแนนการเกิดโรค 6.63 คะแนน ซึ่งน้อยกว่ากรรมวิธีที่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (11.95 คะแนน) **(ตาราง 16 และภาพ 18)** เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรค พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การควบคุมโรคใบไหม้ที่อายุ 14, 30, 60 และ 90 วัน คือ 80.23, 72.05, 71.09 และ 72.34 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนโรคไหม้คอรวง (อายุ 90 วัน) ที่ 44.48 เปอร์เซ็นต์ **(ตาราง 17 และภาพ 19)**

การวิเคราะห์ผลคุณภาพทางเคมีของเมล็ด ได้แก่ Gamma aminobutyric acid (GABA) วิตามิน B1 ปริมาณสารหอม (2AP) และสารต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) พบว่ากรรมวิธีที่ 2 ที่ใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพมีปริมาณ GABA (161.33 มิลลิกรัมต่อกรัม) ปริมาณสารหอม (2AP) (8.25 µmol TE ต่อกรัม) และเจลลาติน (74.33 มิลลิเมตร) มากกว่ากรรมวิธีที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ วิตามิน B1 และสารต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) ไม่มีความแตกต่างกัน **(ตาราง 18)**

การวิเคราะห์ผลคุณภาพทางเคมีฟางข้าว ได้แก่ ลิกนิน ปริมาณเถ้า และโฮโลเซลลูโลส (แอลฟาเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส) พบว่ากรรมวิธีที่ 2 ที่ใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพมีปริมาณลิกนิน (15.00) และโฮโลเซลลูโลส (แอลฟาเซลลูโลส (34.01) และเฮมิเซลลูโลส (16.27)) เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้ง มากกว่ากรรมวิธีที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนปริมาณเถ้าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (กรรมวิธีที่ 1 เท่ากับ 14.67 และกรรมวิธีที่ 2 เท่ากับ 14.38) **(ตาราง 19)**

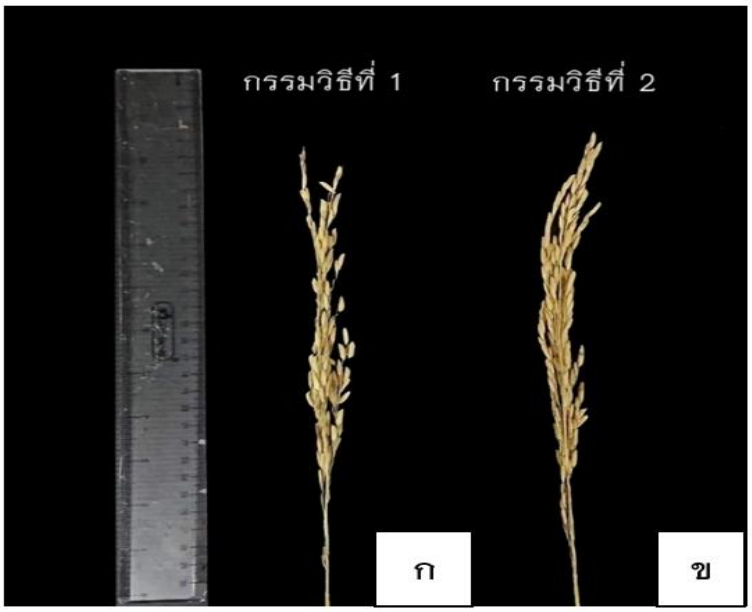
ตาราง 15 คุณภาพทางกายภาพผลผลิตในระดับแปลงเกษตรกร

กรรมวิธี	ความสูงต้น (cm)	จำนวนต้นต่อกอ (ต้นต่อกอ)	จำนวนรวงต่อกอ (รวงต่อกอ)	จำนวนเมล็ดดีต่อรวง (เมล็ดต่อรวง)	จำนวนเมล็ดลีบต่อรวง (เมล็ดต่อรวง)	จำนวนเมล็ดทั้งหมดต่อรวง (กรัมต่อรวง)	น้ำหนักเมล็ดดีต่อกอ (กรัมต่อรวง)	น้ำหนักเมล็ดลีบต่อกอ (กรัมต่อรวง)	จำนวนเมล็ดทั้งหมดต่อกอ (กรัมต่อกอ)	อัตราการติดเมล็ด (%)	ผลผลิตต่อไร่ทั้งหมดต่อซ้ำ (kg. ต่อไร่)
1	219.80 ± 6.21	17.40 ± 2.37	15.50 ± 2.27	161.80 ± 26.89 b	38.00 ± 9.92 a	4.39 ± 0.83	41.59 ± 7.20 b	3.63 ± 1.61	44.21 ± 7.81 b	81.70 ± 2.99 b	455.51 ± 4.21 b
2	225.80 ± 5.07	20.30 ± 3.27	16.90 ± 3.14	177.20 ± 17.94 a	25.80 ± 5.07 b	5.02 ± 0.54	47.65 ± 8.36 a	4.27 ± 1.96	51.93 ± 9.24 a	87.42 ± 2.27 a	475.60 ± 3.25 a
cv	2.55	15.13	16.93	13.48	24.70	14.80	17.49	45.40	17.61	3.14	0.81
T-Tast	ns	ns	ns	**	**	ns	**	ns	**	**	**

หมายเหตุ: ตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธี ทดสอบแบบพิสัยเชิงพหุดันแคน (Duncan's New Multiple Range Test: DMRT) เพื่อใช้เพื่อระบุความแตกต่างที่มีนัยสำคัญ 0.01

ภาพ 16 ความสูงต้นข้าวในแปลงนาทดสอบ

หมายเหตุ: (ก= ต้นข้าวในกรรมวิธีชุดควบคุม และ ข= ต้นข้าวในกรรมวิธีที่ใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพ)



ภาพ 17 ลักษณะรวงข้าวในแปลงนาทดสอบ

หมายเหตุ: (ก= ต้นข้าวในกรรมวิธีชุดควบคุม และ ข= ต้นข้าวในกรรมวิธีที่ใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพ)

ตาราง 16 คะแนนการเกิดโรคใบไหม้และใบไหม้คอรวง

อายุ (วัน) / กรรมวิธี	คะแนนการเกิดโรค				
	ใบไหม้				ใบไหม้คอรวง
	14	30	60	90	90
1	6.30±0.34 a	5.33±0.20 a	4.52±0.55 a	4.04±0.32 a	11.95±0.78 a
2	2.41±0.17 b	2.00±0.11 b	1.44±0.12 b	1.22+0.11 b	6.63±0.31 b
cv	6.22	4.34	13.29	9.04	6.38
F-test	*	*	*	*	*

หมายเหตุ: ตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธี ทดสอบแบบพิสัยเชิงพหุดันแคน (Duncan's New Multiple Range Test: DMRT) เพื่อใช้เพื่อระบุความแตกต่างที่มีนัยสำคัญ 0.05

ตาราง 17 เปอร์เซ็นต์การควบคุมโรคใบไหม้และใบไหม้คอรวง

อายุ (วัน)	การควบคุมโรค (%)	
	ใบไหม้	ใบไหม้คอรวง
14	80.23 ± 0.52	-
30	72.05 ± 1.63	-
60	71.09 ± 2.91	-
90	72.34 ± 1.93	44.48 ± 1.58

ภาพ 18 ลักษณะแผลการเกิดโรคใบไหม้ในแปลงนาทดสอบ

หมายเหตุ: (1 = กรรมวิธีที่ 1 ที่ไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพ 2 = กรรมวิธีที่ 2 ที่ใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพ ก = ลักษณะแผลบนใบข้าวอายุ 14 วัน ข = ลักษณะแผลบนใบข้าวอายุ 30 วัน ค = ลักษณะแผลบนใบข้าวอายุ 60 วัน และ ง = ลักษณะแผลบนใบข้าวอายุ 90 วัน)

ภาพ 19 แผลการเกิดโรคใบไหม้คอรวงในแปลงนาทดสอบ

หมายเหตุ: (ก= ต้นข้าวในกรรมวิธีที่ไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพ และ ข= ต้นข้าวในกรรมวิธีที่ใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพ)

ตาราง 18 คุณภาพทางเคมีของเมล็ด

กรรมวิธี	การวิเคราะห์					
	GABA (มิลลิกรัม / กรัม)	วิตามิน B1 (มิลลิกรัม / กรัม)	ปริมาณสารหอม (2AP) (ppm)	สารต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) (μmol TE / g)	อไมโลส (%)	เจลลาติน (มิลลิเมตร)
1	155.09±0.15 b	0.28±0.36	7.39±0.43 b	1.18±0.09	13.37±0.33	64.33±3.51 b
2	161.33±0.34 a	0.28±0.35	8.25±0.27 a	1.25±0.05	13.86±0.12	74.33±3.21 a
cv	0.17	12.64	4.62	5.99	1.81	4.86
F-test	*	ns	*	ns	ns	*

หมายเหตุ: ตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธี ทดสอบแบบพิสัยเชิงพหุดันแคน (Duncan's New Multiple Range Test: DMRT) เพื่อใช้เพื่อระบุความแตกต่างที่มีนัยสำคัญ 0.05

ตาราง 19 คุณภาพทางเคมีฟางข้าว

กรรมวิธี	ลิกนิน	ปริมาณเถ้า	โฮโลเซลลูโลส	
			แอลฟาเซลลูโลส	เฮมิเซลลูโลส
1	12.37 ± 0.15 b	14.67 ± 0.01 a	30.61 ± 0.21 b	15.51 ± 0.31 b
2	15.00 ± 0.32 a	14.38 ± 0.04 b	34.01 ± 0.61 a	16.27 ± 0.08 a
cv	1.79	0.2	1.41	1.4
F-test	*	ns	*	*

หมายเหตุ: 1) ผลแสดงค่าเปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้ง

2) ตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธี ทดสอบแบบพิสัยเชิงพหุดันแคน (Duncan's New Multiple Range Test: DMRT) เพื่อใช้เพื่อระบุความแตกต่างที่มีนัยสำคัญ 0.05

บทที่ 5

บทสรุป

สรุปผลการวิจัย

แผนการศึกษาที่ 1 การศึกษาประสิทธิภาพของวัสดุเพาะขยายและสูตรสำเร็จ

การทดลองที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพของวัสดุเพาะขยายรา *T. phayaoense* (L1 I3) เพื่อทำสูตรสำเร็จของปุ๋ยชีวภาพ พบว่ากรรมวิธีที่ 4 ข้าวฟ่าง + เคโอลิน (ดินขาวลำปาง) มีปริมาณความเข้มข้นของเชื้อ *T. phayaoense* (L1 I3) ในวัสดุเพาะที่ 8.67 x 10^9 CFU / ml หลังจากการบ่มเชื้อที่ 7 วันมากที่สุด แต่พบว่าในกรรมวิธีที่ 2 รำข้าว + เคโอลิน (ดินขาวลำปาง) มีปริมาณเชื้อไม่ต่างจากกรรมวิธีที่ 4 ข้าวฟ่าง + เคโอลิน (ดินขาวลำปาง) และยังมีต้นทุนที่ถูกกว่า จึงเลือกใช้กรรมวิธีที่ 2 แทน รองลงมาคือ เวอร์มิคูไลท์ + เคโอลิน (ดินขาวลำปาง) มีปริมาณความเข้มข้นของเชื้อในวัสดุเพาะที่ 7.00 x 10^9 และ 4.67 x 10^9 CFU / ml ตามลำดับ

การทดลองที่ 2 การทดสอบคุณภาพของสูตรสำเร็จของปุ๋ยชีวภาพ พบว่ากรรมวิธีที่ 1 ที่ใช้ เวอร์มิคูไลท์ + รำข้าว + เคโอลิน (ดินขาวลำปาง) มีค่าความหนาแน่นของขนาดเมล็ด (5.00 มิลลิเมตร) น้ำหนัก 0.50 กรัม ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 6.97 ค่าการนำไฟฟ้า (0.73 เดซิซีเมนต่อเมตร) ค่าการละลายน้ำ 25.42 วินาที และค่าความชื้น 3.09 เปอร์เซ็นต์ ต่อกรัม ดีที่สุด

การทดลองที่ 3 การทดสอบสภาวะที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษา และอัตราการมีชีวิตรอดรา *T. phayaoense* (L1 I3) ของสูตรสำเร็จที่อุณหภูมิ 8 (± 2), 30 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่าหลังจากเก็บรักษาได้ 6 เดือน อัตราการมีชีวิตลดลง โดยผลิตภัณฑ์แบบอัดเม็ดที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8 (±2) องศาเซลเซียส มีอัตราชีวิตรอดของรา *T. phayaoense* (L1 I3) มากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 73.13 เปอร์เซ็นต์

แผนการศึกษาที่ 2 การศึกษาประสิทธิภาพของรา *T. Phayaoense* (L1 I3)

การทดลองที่ 1 การทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์ย่อยเซลล์ราสาเหตุโรค ได้แก่ เอนไซม์ไคติเนส (chitinase) เซลลูเลส (cellulase) โปรติเอส (protease) และ เอนไซม์ไฟเตส (phytase) บนอาหารทดสอบ พบว่า รา *T. phayaoense* (L1 I3) มีความสามารถในการ

ผลิตเอนไซม์โคติเนส เอนไซม์เซลลูเลส โปรติเอส และ ไซม์ไฟเตส โดยมีขนาดวงบนอาหารที่ 6.74, 4.57, 3.99 และ 7.69 มิลลิเมตร ตามลำดับ

การทดลองที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในการยับยั้งราสาเหตุโรคใบไหม้ในระดับห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี dual culture พบว่า รา *T. phayaoense* (L1 I3) สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคใบไหม้ ไอโซเลท PY02 ได้มากที่สุดที่ 86.25 เปอร์เซ็นต์

การทดลองที่ 3 การทดสอบการอยู่รอดของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ต่อการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราและสารเคมีทางการเกษตรในระดับห้องปฏิบัติการ จำนวนทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ คาร์เบนดาซิม แมนโคเซป เมทาแลกซิล และคาร์ซูกาไมซิน สารกำจัดวัชพืช ได้แก่ ไกรโฟรเซต และสารควบคุมวัชพืช ได้แก่ อะลาร์คลอ ที่ระดับความเข้มแตกต่างกัน พบว่ารา *T. phayaoense* (L1 I3) สามารถอยู่รอดในสารป้องกันกำจัดเชื้อรา เมทาแลกซิล ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดในอัตราความเข้มข้นแบบครึ่งหนึ่งของฉลากแนะนำ (half dose) ที่ 100 เปอร์เซ็นต์ แบบตามฉลากแนะนำ (normal dose) ที่ 96.5 เปอร์เซ็นต์ และแบบหนึ่งเท่าของฉลากแนะนำ (over dose) ที่ 91.5 เปอร์เซ็นต์ โดยสารกำจัดวัชพืช ไกรโฟรเซต พบว่าสามารถอยู่รอดโดยมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดในอัตราความเข้มข้นแบบ half dose ที่ 100 เปอร์เซ็นต์ แบบ normal dose ที่ 96.5 เปอร์เซ็นต์ และแบบ over dose ที่ 78.0 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสารควบคุมวัชพืช อะลาร์คลอ มีอัตราการอยู่รอดในอัตราความเข้มข้นแบบ half dose เพียง 10 เปอร์เซ็นต์ แบบ normal dose ที่ 8 เปอร์เซ็นต์ และแบบ over dose ที่ 5.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การทดลองที่ 4 การทดสอบความเข้มข้นของสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ต่อการกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวในห้องปฏิบัติการ

การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมต่ออัตราการงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าว 20 พันธุ์หลังจากแช่เมล็ดในน้ำกลั่นและสารแขวนลอยสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่ความเข้มข้น 1.0×10^2, 1.0×10^4, 1.0×10^6 และ 1.0×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร พบว่าข้าวพันธุ์ที่มีอัตราการงอกมากที่สุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ ข้าวพันธุ์หางยี 71 กข. 10 กข. 14 กข. 41 กข. 47 กข. 85 กข. 87 น่าน 59 งาช้างขาว ไก่น้อยลาย และไก่น้อยขาว ที่แช่ในสารแขวนลอยสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่ความเข้มข้น 1.0×10^2 และ 1.0×10^4 ตามลำดับ

ผลต่อการงอกของเมล็ดหลังจากแช่เมล็ดพันธุ์ข้าวทั้ง 20 พันธุ์ ในน้ำกลั่นและสารแขวนลอยสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ทั้ง 4 ความเข้มข้น ที่ 3 วัน พบว่าเมล็ดพันธุ์ข้าว

ทั้ง 15 พันธุ์ ได้แก่ ข้าวพันธุ์หอมมะลิ 105 หางยี 71 กข. 6 กข. 10 กข. 61 กข. 81 กข. 85 กข. 87 ชัยนาท 1 น่าน 59 สันป่าตอง 1 สังห์หยดพัทลุง หอมนาคา ไก่น้อยลาย และไก่น้อยขาว ที่แช่ในสารแขวนลอยสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่ความเข้มข้น 1.0 x 10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีจำนวนเมล็ดที่งอกมากที่สุดในเวลาที่เท่ากันเท่ากับ 9.00, 10.00, 8.67, 8.67, กข. 47, 6.33, 8.00, 10.00, 8.33, 9.67, 7.00, 7.33, 3.67, 9.00 และ 9.67 เมล็ด ตามลำดับ

ความสูงของต้นอ่อน พบว่าความสูงของต้นอ่อนข้าว 3 พันธุ์ ได้แก่ ข้าวพันธุ์ กข. 47 สังห์หยดพัทลุง และงาช้างขาว ที่แช่เมล็ดในสารแขวนลอยสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่ความเข้มข้น 1.0 x 10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีความสูงของต้นอ่อนมากที่สุดเท่ากับ 4.26, 4.28 และ 4.27 เซนติเมตร ตามลำดับ

ความยาวรากของต้นอ่อนข้าว พบว่าความสูงของต้นอ่อนข้าว 3 พันธุ์ ได้แก่ ข้าวพันธุ์ กข. 6 น่าน 59 และสันป่าตอง 1 ที่แช่เมล็ดในสารแขวนลอยสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่ความเข้มข้น 1.0 x 10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีความยาวรากของต้นอ่อนมากที่สุดเท่ากับ 4.09, 4.17 และ 4.24 เซนติเมตร ตามลำดับ

แผนการศึกษาที่ 3 การประเมินประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ชีวภาพ

การทดลองที่ 1 การทดสอบความเข้มข้นของสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ในผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพต่อการเจริญเติบโตของข้าวในระดับโรงเรือน พบว่าผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพที่ใส่สารแขวนลอยที่ระดับความเข้มข้น 1 x 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร สามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว ได้แก่ จำนวนต้น ความสูงต้น และความยาวราก ในข้าวทั้ง 3 พันธุ์ ได้แก่ สังข์หยดพัทลุง สันป่าตอง และหอมมะลิ 105 ที่อายุ 30, 60 และ 90 วัน มากกว่ากรรมวิธีที่ไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพ และผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพที่ระดับความเข้มข้น 1 x 10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

การทดลองที่ 2 การทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการควบคุมโรคใบไหม้ในข้าวในระดับโรงเรือน พบว่าคุณภาพทางกายภาพของต้นในกรรมวิธีที่ 4 ที่ใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพมีความสูงต้น (153.47 เซนติเมตร) และจำนวนต้นต่อกอ (19.25 ต้น) มากกว่ากรรมวิธีควบคุม (ความสูง 136.54 เซนติเมตร และจำนวนต้นต่อกอ 6.17 ต้น) แต่น้อยกว่ากรรมวิธีที่ 2 ที่ใช้สารกำจัดเชื้อราทางการค้า + ปุ๋ยเคมี (ความสูง 159.58 เซนติเมตร และจำนวนต้นต่อกอ 21.09 ต้น)

คุณภาพทางกายภาพของผลผลิต พบว่ากรรมวิธีที่ 4 ที่ใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพมีจำนวนรวงต่อกอ เมล็ดดีต่อรวง เมล็ดลีบต่อรวง เมล็ดทั้งหมดต่อรวง น้ำหนักเมล็ดดีต่อกอ

น้ำหนักเมล็ดลีบต่อกอ เมล็ดทั้งหมดต่อกอ อัตราการติดเมล็ด และผลผลิต เท่ากับ 18.58 รวง, 123.00 เมล็ด, 29.08 เมล็ด, 3.77 กรัม, 52.52 กรัม, 3.94 กรัม, 56.46 กรัม, 80.85 เปอร์เซ็นต์ และ 504.23 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ซึ่งมากกว่ากรรมวิธีควบคุม เท่ากับ 5.83 รวง, 63.25 เมล็ด, 21.67 เมล็ด, 1.94 กรัม, 10.23 กรัม, 1.01 กรัม, 11.24 กรัม, 74.51 เปอร์เซ็นต์ และ 98.19 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ แต่ยังน้อยกว่ากรรมวิธีที่ 2 เท่ากับ 20.17 รวง, 130.92 เมล็ด, 31.67 เมล็ด, 4.45 กรัม, 60.03 กรัม, 4.59 กรัม, 64.62 กรัม, 80.56 เปอร์เซ็นต์ และ 576.31 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ

การควบคุมโรคใบไหม้และใบไหม้คอรวงในข้าว พบว่า กรรมวิธีที่ 4 ที่ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *T. phayaoense* (L1 I3) แบบชนิดอัดเม็ด + การฉีดพ่นทางใบ พบว่ามีคะแนนการเกิดโรค 2.25 คะแนน น้อยกว่ากรรมวิธีที่ 1 ที่มีคะแนนการเกิดโรค 5.58 คะแนน แต่มากกว่ากรรมวิธีที่ 2 มีคะแนนการเกิดโรคที่ 1.17 คะแนน และไม่พบการเกิดโรคใบไหม้คอรวง

การทดลองที่ 3 การทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการควบคุมโรคใบไหม้ในข้าวในระดับแปลงเกษตรกร พบว่าคุณภาพทางกายภาพของต้นในกรรมวิธีที่ 2 ที่ใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพมีความสูงต้น (225.80 เซนติเมตร) และจำนวนต้นต่อกอ (20.30 ต้นต่อกอ) มากกว่ากรรมวิธีที่ 1 ที่ไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพ

คุณภาพทางกายภาพของผลผลิต พบว่ากรรมวิธีที่ 2 มีจำนวนรวงต่อกอ เมล็ดดีต่อรวง เมล็ดลีบต่อรวง เมล็ดทั้งหมดต่อรวง น้ำหนักเมล็ดดีต่อกอ น้ำหนักเมล็ดลีบต่อกอ เมล็ดทั้งหมดต่อกอ อัตราการติดเมล็ด และผลผลิต เท่ากับ 16.90 รวงต่อกอ, 177.20 เมล็ดต่อรวง, 25.80 เมล็ดต่อรวง, 5.02 กรัมต่อรวง, 47.65 กรัมต่อรวง, 4.27 กรัมต่อรวง, 51.93 กรัมต่อกอ, 87.42 เปอร์เซ็นต์ และ 475.60 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ซึ่งมากกว่ากรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพ

คุณภาพทางเคมีของเมล็ด ได้แก่ Gamma aminobutyric acid (GABA) วิตามิน B1 ปริมาณสารหอม (2AP) และสารต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) พบว่ากรรมวิธีที่ 2 ที่ใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพมีปริมาณ GABA ปริมาณสารหอม และเจลลาตินมากกว่ากรรมวิธีที่ 1 ที่ไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพที่ 161.33 มิลลิกรัมต่อกรัม, 8.25 ppm และ 74.33 มิลลิเมตร ตามลำดับ

คุณภาพทางเคมีฟางข้าว ได้แก่ ลิกนิน ปริมาณเถ้า และโฮโลเซลลูโลส (แอลฟาเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส) พบว่ากรรมวิธีที่ 2 ที่ใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพมีปริมาณ

ลิกนิน และโฮโลเซลลูโลส (แอลฟาเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส) มากกว่ากรรมวิธีที่ 1 ที่ไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพที่ 15.00, 34.01 และ 16.27 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

การควบคุมโรคใบไหม้และใบไหม้คอรวงในข้าว พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การควบคุมโรคใบไหม้ที่อายุ 14, 30, 60 และ 90 วัน คือ 80.23, 72.05, 71.09 และ 72.34 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนโรคไหม้คอรวง (อายุ 90 วัน) ที่ 44.48 เปอร์เซ็นต์ และคะแนนการเกิดโรคใบไหม้ที่อายุ 14, 30, 60 และ 90 วัน พบว่ากรรมวิธีที่ 2 ที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพจากรา *T. phayaoense* (L1 I3) มีคะแนน 2.41, 2.00, 1.44 และ 1.22 คะแนน ตามลำดับ ซึ่งดีกว่ากรรมวิธีที่ 1 ที่ไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพ ส่วนโรคไหม้คอรวง (อายุ 90 วัน) พบว่ากรรมวิธีที่ 2 มีคะแนนการเกิดโรคที่ 6.63 คะแนน ต่างจากกรรมวิธีที่ 1 ที่ไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพ

อภิปรายผลการวิจัย

แผนการศึกษาที่ 1 การศึกษาประสิทธิภาพของวัสดุเพาะขยายและสูตรสำเร็จ

การทดลองที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพของวัสดุเพาะขยายรา *T. phayaoense* (L1 I3) เพื่อทำสูตรสำเร็จของปุ๋ยชีวภาพ และการทดลองที่ 2 การทดสอบคุณภาพของสูตรสำเร็จของปุ๋ยชีวภาพ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของวัสดุเพาะขยายรา *T. phayaoense* (L1 I3) เพื่อทำสูตรสำเร็จของปุ๋ยชีวภาพ และประเมินคุณภาพของสูตรสำเร็จของปุ๋ยชีวภาพ โดยทำการศึกษาวัสดุเพาะขยายจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ เวอร์มิคูไลท์ รำข้าว ข้าวหัก และข้าวฟ่าง โดยศึกษาร่วมกับวัสดุประสานเพาะขยาย โดยใช้วัสดุเพาะขยายจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ เคโอลิน (ดินขาวลำปาง) และไดอะตอมมาเซียส (ดินเบา) พบว่ากรรมวิธีที่ 4 ข้าวฟ่าง + เคโอลิน (ดินขาวลำปาง) มีปริมาณความเข้มข้นของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในวัสดุเพาะที่ 8.67×10^9 CFU / ml หลังจากการบ่มเชื้อที่ 7 วันมากที่สุด และยังพบว่าในกรรมวิธีที่ 2 รำข้าว + เคโอลิน (ดินขาวลำปาง) มีปริมาณเชื้อไม่ต่างจากกรรมวิธีที่ 4 ข้าวฟ่าง + เคโอลิน (ดินขาวลำปาง) และยังมีต้นทุนที่ถูกกว่า จึงเลือกใช้กรรมวิธีที่ 2 แทน รองลงมาคือ เวอร์มิคูไลท์ + เคโอลิน (ดินขาวลำปาง) มีปริมาณความเข้มข้นของเชื้อในวัสดุเพาะที่ 4.67×10^9 จึงนำไปศึกษาสูตรสำเร็จ ซึ่งสอดคล้องกับ สหัทยา สุขใหญ่, (2563) ได้การศึกษาโดยการนำเอาวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร และวัสดุที่ใช้เพาะปลูกทางด้านการเกษตร 9 ชนิด มาทดสอบเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากรา *T. phayaoense* (L1 I3) พบว่าเวอร์มิคูไลท์ผสมกับแป้งข้าวเหนียว และแกลบข้าวจ้าวผสมกับแป้งข้าวเหนียวมีคุณสมบัติเหมาะสม จากการศึกษาจะเห็นว่าผลอตภัณฑ์มีความคงรูปหรือขึ้นรูป (เม็ด) และผลิตภัณฑ์จะเสียสภาพ

ได้ยาก แต่การคงรูปที่สูงมากนั้นมีผลเกี่ยวเนื่องกับค่าความแข็งที่มากขึ้นตามอาจทำวัสดุที่มีค่าการละลายน้ำได้ไม่ดี (ใช้เวลานาน) และเมื่อผลิตภัณฑ์อยู่ในสภาพที่มีความชื้นน้อยจะส่งผลทำให้เส้นใยของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่อยู่ในวัสดุก็ไม่สามารถออกมาเจริญได้ ความเป็นประโยชน์ต่อพืชก็ลดลง ส่วนความเป็นกรด – ด่าง (PH) เท่ากับ 6.3 – 6.9 ซึ่งอยู่ระหว่างความเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อในวัสดุเพาะและพืช เนื่องจากค่า pH ที่เหมาะสมของพืชทั่วไปอยู่ในช่วง pH 5.5 – 6.5 (ดิเรก ทองอร่าม และอิทธิสุนทร นันทกิจ, 2544) และข้อมูลจากกรมการเกษตรรายงานว่ารา *Tichoderma harzionum* เจริญได้ดีในค่า pH ที่อยู่ระหว่าง 5.5 – 6.5 และยังสอดคล้องกับ กรมวิชาการเกษตร, (2552) เกณฑ์การขึ้นทะเบียนปุ๋ยอินทรีย์ทั้งชนิดเม็ดและผงว่าค่า pH ต้องอยู่ระหว่าง 5.5 – 8.5 ค่านำไฟฟ้าต้องไม่เกิน 10 ไม่เกิน 3.5 – 10 เดซิซีเมนส์ต่อเมตร และค่าความชื้นไม่เกินร้อยละ 30 ของน้ำหนัก และ Al–Taweil, Osman, Aidil, and Yussof, 2009; Nakkeeran, Fernando and Siddiqui, (2006) ได้รายงานว่าการพัฒนาหัวเชื้อหรือผลิตภัณฑ์ควรจะมีเกณฑ์ต่าง ๆ ได้แก่ อายุการเก็บรักษาที่ดีขึ้น ปลอดสารพิษ หรือการปนเปื้อน สามารถละลายได้ในน้ำซึ่งสามารถปล่อยจุลินทรีย์ได้ง่าย ทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่ดี คุ้มค่าและสามารถควบคุมได้โรคพืช และวัตถุดิบที่มีอยู่ที่พร้อมใช้งาน ทั้งนี้ยังพบปัญหาระหว่างการศึกษาในการขึ้นรูปเม็ดที่เกิดจากวัสดุ เนื่องจากก่อนการขึ้นรูปต้องเปลี่ยนวัสเพาะขยายที่อยู่ในรูปทั่วไปให้กลายเป็นผง ทำให้วัสดุมีไม่มีความละเอียดทำให้การขึ้นรูปในบางเม็ดไม่ขึ้นรูป และมีน้ำหนักเบา จึงได้ทำการทดสอบโดยใช้วัสดุประสาน (เคโอลิน หรือดินขาวลำปาง) พบว่าผลิตภัณฑ์มีความขึ้นรูปสวยงาม และมีน้ำหนักที่คงที่ ดังนั้นวัสดุที่เหมาะสมที่สุดในการทดสอบในงานวิจัยนี้ คือเวอร์มิคูไลท์ผสมกับรำข้าว โดยมีวัสดุประสานเป็นเคโอลินหรือดินขาวลำปาง

การทดลองที่ 3 การทดสอบสภาวะที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาและการมีชีวิตรอดผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพจากรา *T. phayaoense* (L1 I3)

จากการทดสอบสภาวะที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์และการมีชีวิตรอดของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพ เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ (8 ± 2, 30 และ 40) พบว่าอัตราการมีชีวิตของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพ มีการลดลงเมื่อเก็บรักษาไว้นานขึ้น โดยหลังจากเก็บรักษาได้ 6 เดือน ผลิตภัณฑ์ที่เก็บในอุณหภูมิ 8 ± 2 องศาเซลเซียส มีอัตราการมีชีวิตรอดมากที่สุด เฉลี่ยเท่ากับ 73.13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รองลงมาคือ การเก็บที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส การเก็บรักษาอุณหภูมิ ส่วนอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส อัตราการมีชีวิตรอดของรา *T. phayaoense* (L1 I3) น้อยที่สุด เมื่อเทียบกับการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในอุณหภูมิอื่น ๆ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ

สหัทยา สุขใหญ่ (2566) ได้ทำการศึกษาการมีชีวิตรอดของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในสูตรสำเร็จแบบอัดเม็ด และแบบผง ประกอบด้วยเวอร์มิคูไลท์และแป้งข้าวเหนียว พบว่าผลิตภัณฑ์ชีวภาพแบบอัดเม็ด และแบบผงที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 เดือน การมีชีวิตรอดของรา *T. phayaoense* (L1 I3) มีเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของรา *T. phayaoense* (L1 I3) มากที่สุด เฉลี่ยเท่ากับ 80.33 และ 75.48 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รองลงมาคือ 8 องศาเซลเซียส องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 75.39 และ 71.37 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาได้เพียง 8 เดือนเท่านั้น เฉลี่ยเท่ากับ 51.12 และ 39.97 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งจากการทดลองจะเห็นว่าเมื่อเปรียบเทียบงานวิจัยกับการศึกษาข้างต้นมีความแตกต่างกันของอัตราการอยู่รอดของการเก็บรักษา (6 เดือน และ 12 เดือน) อาจเนื่องจากผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพมีความแตกต่างกันของกรรมวิธี หรือสูตรสำเร็จ แต่ทั้งนี้เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของรา *T. phayaoense* (L13) ในผลิตภัณฑ์ชีวภาพหลังการเก็บรักษาในสภาวะอุณหภูมิที่ต่ำจะมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดมากกว่าการเก็บรักษาในสภาวะอุณหภูมิที่สูง อาจเป็นเพราะว่าในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งใช้ในการเก็บรักษาเชื้อเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสม จึงสามารถยืดระยะเวลาอายุการเก็บรักษาเชื้อในสูตรสำเร็จให้นานออกไป อีกทั้งการรายงานของ กรมวิชาการเกษตร (2564) รายงานการเก็บรักษาปุ๋ยชีวภาพว่าเนื่องด้วยประเทศไทยมีอุณหภูมิค่อนข้างสูง โดยเฉพาะในฤดูร้อน ดังนั้นการเก็บรักษาปุ๋ยชีวภาพจึงควรมีความระมัดระวัง ซึ่งวิธีการด้วยทั่วไปคือ การเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4–10 องศาเซลเซียส โดยห้ามเก็บในช่องเย็นจัด (Freeze) เด็ดขาด และเก็บไว้ในที่เย็น ๆ เช่น ในห้องน้ำที่มีอากาศถ่ายเทได้ดี ทั้งนี้การรักษาคุณภาพของปุ๋ยชีวภาพที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตที่ต้องการทั้งความชื้น และออกซิเจน ดังนั้นในการเก็บรักษาจึงต้องระวังไม่ให้กระทบความร้อน หรือแสงแดดโดยตรงที่จะทำให้จุลินทรีย์ลดปริมาณลงและเสื่อมคุณภาพได้

แผนการศึกษาที่ 2 การศึกษาประสิทธิภาพของรา *T. phayaoense* (L1 I3)

การทดลองที่ 1 การทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์ย่อยเซลล์เชื้อราสาเหตุโรคของรา *T. phayaoense* (L1 I3)

จากการทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์ ได้แก่ เอนไซม์ไคติเนส (chitinase) เซลลูเลส (cellulase) โปรติเอส (protease) และ เอนไซม์ไฟเตส (phytase) เพื่อย่อยเซลล์ราสาเหตุโรค พบว่ารา *T. phayaoense* (L1 I3) สามารถในการผลิตเอนไซม์ไคติเนส (chitinase) เซลลูเลส (cellulase) โปรติเอส (protease) และ เอนไซม์ไฟเตส (phytase) บนอาหารทดสอบ โดยมีขนาดวงบนอาหารที่ 6.74, 4.57, 3.99 และ 7.69 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับ อนันต์ วงเจริญ, (2557) ได้การศึกษานี้ทำการแยกราเอนโดไฟท์จากข้าวใน

พื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือได้ 232 ไอโซเลท สามารถยับยั้งราสาเหตุโรคข้าวได้ โดยมีประสิทธิภาพมากกว่า 75% ขึ้นไป นอกจากนี้พบว่าสามารถผลิตเอนไซม์ chitinase, protease และ cellulase และผลิตสารที่ส่งเสริมการเจริญ อีกทั้งการศึกษา โชษิตา อุบลสุข (2564) ได้ศึกษาการระบุชนิดของรา *Trichoderma* sp. และการคัดกรองสายพันธุ์ที่สร้างเอนไซม์ไคติเนสเบื้องต้น โดยคัดกรองสายพันธุ์ที่สร้างเอนไซม์ไคติเนส โดยทำการเก็บตัวอย่างดินบริเวณใต้ต้นไม้จาก 23 ตำแหน่งในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย มาแยกและระบุชนิดรา *Trichoderma* sp. จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมกับเทคนิคทางชีวโมเลกุล สามารถระบุชนิดของรา *Trichoderma* sp. ได้ 16 ชนิด จากการทดสอบการสร้างเอนไซม์ไคติเนส บนอาหาร chitinase detection medium พบว่ารา *Trichoderma* sp. ที่แยกได้ทุกไอโซเลทสามารถสร้างเอนไซม์ไคติเนสได้ ทั้งนี้จากการศึกษาจะเห็นได้ว่ารา *T. phayaoense* (L1 I3) สามารถสร้างวงใสรอบ ๆ โดยสังเกตจากการเกิดบนจานอาหารทดสอบ ดังนั้นราที่สามารถผลิตเอนไซม์ไคติเนส เซลลูเลส โปรติเอส และไฟเตสได้ จึงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ เนื่องจากเอนไซม์ไคติเนสมีสามารถย่อยไคตินที่เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ราสาเหตุโรคพืช ส่วนเอนไซม์เซลลูเลสจะย่อยสลายเซลลูโลสที่อยู่บนผนังเส้นใยของราก่อโรค

การทดลองที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในการยับยั้งราสาเหตุโรคใบไหม้ในระดับห้องปฏิบัติการ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในการยับยั้งราสาเหตุโรคใบไหม้ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยวิธี dual culture จำนวน 4 ไอโซเลท ได้แก่ PY01, PY02, PY03 และ PY04 พบว่ารา *T. phayaoense* (L1 I3) สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคใบไหม้ไอโซเลท PY02 ได้มากที่สุดที่ 86.25 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับ กัทลีวัลย์ สุขช่วย (2558) ได้ทำการศึกษาผลประสิทธิภาพของราไตรโคเดอร์มา จำนวน 34 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *Pyricularia grisea* สาเหตุโรคไหม้ของข้าวทั้ง 3 ไอโซเลท ในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่าภายหลังการทดสอบ 3 และ 6 วัน ราไตรโคเดอร์มา ทั้ง 34 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *P. grisea* ทั้ง 3 ไอโซเลทได้ โดยยับยั้งรา *P. grisea* (Py5) ได้ 10.53 – 42.11%, *P. grisea* (Py11) ได้ 15.38 – 51.28% และ *P. grisea* (Py13) ได้ 13.51 – 51.35% ภายหลังการทดสอบ 3 วัน ส่วนภายหลังการทดสอบ 6 วัน พบว่าราไตรโคเดอร์มาส่วนใหญ่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งรา *P. grisea* ทั้ง 3 ไอโซเลท ได้สูงขึ้น โดยสามารถยับยั้งการเจริญของรา *P. grisea* (Py 5, Py11 และ Py 13) ได้ 33.93 – 62.50, 32.08 – 69.81 และ 32.08 – 71.70% ตามลำดับ ทั้งนี้ Imran, Amanullah, Muhammad, Shah and Bari, (2020) ได้รายงานว่ารา *Trichoderma* spp. สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคพืช เช่น

Pythium arrhenomanes, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria tenuis* และ *Botrytis cinerea* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทั้งนี้จากการศึกษารา *T. phayaoense* (L1 I3) มีความสามารถในการยับยั้งราสาเหตุโรคใบไหม้ในลักษณะการแข่งขัน โดยสังเกตจากโคโลนีของราไตรโครเดอร์มาที่สามารถเจริญคลุมราทดสอบ และแสดงฤทธิ์ในการสร้างสารยับยั้ง (antibiosis) ร่วมด้วย โดยสามารถสร้างเอนไซม์ไคติเนส (chitinase) เซลลูเลส (cellulase) โปรติเอส (protease) และ เอนไซม์ไฟเตส (Phytase) ตามการทดสอบก่อนหน้า ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ อนันต์ วงเจริญ, (2557) ที่รายงานว่า *T. harzianum* GR03) มีกลไกการเป็นปรสิตต่อราสาเหตุโรค เกิดจากเชื้อปฏิปักษ์สร้างเอนไซม์ย่อยผนังเซลล์และองค์ประกอบภายในเซลล์ราได้ เช่น chitinase proteinase และ cellulase เป็นต้น

การทดลองที่ 3 การทดสอบการอยู่รอดของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ต่อการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราและสารเคมีทางการเกษตรในระดับห้องปฏิบัติการ

การทดสอบการเจริญของรา *T. phayaoense* (L1 I3) ในการทนทานต่อสารกำจัดศัตรูพืช พบว่ารา *T. phayaoense* (L1 I3) สามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อราทุกชนิดที่ทดสอบทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น ยกเว้นเพียงสารคาร์เบนดาซิมที่ไม่สามารถเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น ซึ่งสอดคล้องกับ กนกกร นาค้อน และคณะ (2561) ได้ศึกษาผลกระทบของสารเคมีกำจัดเชื้อราต่อรา *Trichoderma* spp. โดยใช้สาร metalaxyl, Benlate, carbendazim, thiophanate-methyl, iprodione และ prochloraz ด้วยวิธี poisoned food ในอัตราทดสอบตามฉลาก พบว่า *Trichoderma* spp. สามารถเจริญได้ในสารเคมี metalaxyl ที่ระดับความเข้มข้น 900 ppm ซึ่งมากกว่าอัตราที่แนะนำถึง 6 เท่า โดยโคโลนีถูกยับยั้งเพียงเล็กน้อย และ iprodione ความเข้มข้น 1200 ppm ซึ่งแสดงถึงความต้านทานของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่พบในสภาพธรรมชาติต่อสารกำจัดโรคพืช ทั้งนี้จะสังเกตเห็นว่าราไตรโคเดอร์มาสามารถเจริญได้ในสารเคมีเมทาแลกซิล เพราะว่าเป็นสารในกลุ่ม acylalanines มีคุณสมบัติเป็นสารดูดซึม มีกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์กรดนิวคลิอิก โดยขัดขวางการทำงานของเอนไซม์อาร์เอ็นเอ โพลีเมอเรส 1 (เกษตรสมบรณ์, 2565) ซึ่งแตกต่างจากสารเคมีคาเบนดาซิม เป็นสารชนิดดูดซึมในกลุ่ม Benzimidazole มีคุณสมบัติเป็นสารดูดซึม กลไกออกฤทธิ์รบกวนการขยายพันธุ์แบบ ไม่อาศัยเพศ และการแบ่งเซลล์ของรา การสร้างยับยั้งและการเจริญของเส้นใยรา เป็นสารที่มีฤทธิ์ป้องกันและกำจัดโรคอย่างกว้าง (พยอม, 2558) ลักษณะดังกล่าวคล้ายกับการทดลองของ Kraft and Papavizas, 1983; Sivparsad, Chiuraise, Laing and Morris, (2014) ที่ทดสอบรา

Trichoderma spp. กับ metalaxyl ทำให้ราสร้างสปอร์มากกว่าชุดควบคุม เนื่องจากสาร metalaxyl ออกฤทธิ์ได้ดีต่อกลุ่มรา oomycetes ได้แก่รา *Pythium* sp. และ *Phytophthora* sp.

รา *T. phayaoense* (L1 I3) สามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อทดสอบที่ผสมสารเมทาแลกซิล และสารไกลโฟรเซต [ความเข้มข้นครึ่งเท่าที่ฉลากแนะนำ (half dose) 100.0 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นที่ฉลากแนะนำ (normal dose) 96.5 เปอร์เซ็นต์ และความเข้มข้นสองเท่าที่ฉลากแนะนำ (over dose) 78.0 เปอร์เซ็นต์] แต่ไม่สามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อทดสอบที่มีสารควบคุมวัชพืช อะลาคลอร์ [ความเข้มข้นครึ่งเท่าที่ฉลากแนะนำ (half dose) 10.0 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นที่ฉลากแนะนำ (normal dose) 8.0 เปอร์เซ็นต์ และความเข้มข้นสองเท่าที่ฉลากแนะนำ (over dose) 5.5 เปอร์เซ็นต์] ซึ่งสอดคล้องกับวิไลลักษณ์ โคมพันธุ์ และคณะ (2563) ที่ได้ศึกษาผลของไกลโฟเซตต่อการเจริญของเส้นใย การงอกของสปอร์ และการสร้างกรดอินโดลอะซิติก (IAA) ของราเอนโดไฟท์ (*Colletotrichum gloeosporioides* และ *Corynespora cassiicola*) พบว่าความเข้มข้นของไกลโฟเซตที่เพิ่มขึ้นทำให้การเจริญของเส้นใย และสปอร์ของราทั้ง 2 ชนิด ลดลง เส้นใยของ *C. cassiicola* เจริญได้ที่ความเข้มข้น 20 และ 10 มิลลิโมลาร์ (92.32 และ 87.97 เปอร์เซ็นต์ของชุดควบคุม) และ *C. gloeosporioides* เจริญได้ที่ความเข้มข้น 30 และ 20 มิลลิโมลาร์ (77.80 และ 76.15 เปอร์เซ็นต์ ของชุดควบคุม) ส่วนการงอกของสปอร์ ราทั้ง 2 ชนิดงอกได้ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ (78.55 และ 63.67 เปอร์เซ็นต์ ของชุดควบคุม) เนื่องจากสารป้องกันและกำจัดเชื้อรามีผลทำให้การงอกของสปอร์และการเจริญของเส้นใยราลดลง โดยทำให้เกิดการกลายพันธุ์ หรือทำให้ราตายได้ โดยเฉพาะสารฆ่ารามีผลต่อการงอกของสปอร์และการเจริญของเส้นใยมากที่สุด รองลงมาเป็นสารกำจัดแมลง ส่วนสารกำจัดวัชพืชมีผลน้อยที่สุด ซึ่งต่างจากสารควบคุมวัชพืช (Rachappa, Lingappa and Patil, 2007) อีกทั้งการใช้ซ้ำหรือใช้เป็นระยะเวลานานอย่างต่อเนื่อง อาจทำให้เชื้อชนิดนั้นเกิดการดื้อยา และเกิดการเจริญของเชื้อขึ้นมาใหม่ได้ (ธรรมศักดิ์, 2543) และหากมีการใช้ซ้ำรวมกับราไตรโคเดอร์มาจะส่งผลให้ประสิทธิของราลดลง หรือทำให้ราไม่มีการเจริญต่อไปได้

การทดลองที่ 4 การทดสอบความเข้มข้นของสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ต่อการกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวในห้องปฏิบัติการ

การทดสอบความเข้มข้นของสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่ระดับความเข้มข้นของสารแขวนสปอร์ 1.0×10^2, 1.0×10^4, 1.0×10^6 และ 1.0×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ต่อการกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าว จำนวน 20 พันธุ์ ได้แก่ ข้าวพันธุ์หอมมะลิ 105

หางยี 71 กข. 6 กข. 10 กข. 14 กข. 22 กข. 41 กข. 47 กข. 61 กข. 81 กข. 85 กข. 87 ชัยนาท 1 น่าน 59 สันป่าตอง 1 สังห์หยดพัทลุง หอมนาคา งาช้างขาว ไก่น้อยลาย และไก่น้อยขาว โดยศึกษาผลอัตราการงอก ความสูงต้น และความยาวราก พบว่าข้าวที่แช่ในสารแขวนลอยสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่ความเข้มข้น 1.0 x 10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีจำนวนเมล็ดที่งอกมากที่สุดในเวลาที่เท่ากันเท่ากับ 9.00, 10.00, 8.67, 8.67, กข. 47, 6.33, 8.00, 10.00, 8.33, 9.67, 7.00, 7.33, 3.67, 9.00 และ 9.67 เมล็ด ตามลำดับ ส่วนความสูงของต้นอ่อน พบว่าความสูงของต้นอ่อนข้าว 3 พันธุ์ ได้แก่ ข้าวพันธุ์ กข. 47 สังห์หยดพัทลุง และงาช้างขาว ที่แช่เมล็ดในสารแขวนลอยสปอร์รา T. *phayaoense* (L1 I3) ที่ความเข้มข้น 1.0 x 10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีความสูงของต้นอ่อนมากที่สุดเท่ากับ 4.26, 4.28 และ 4.27 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนความยาวรากของต้นอ่อนข้าว พบว่าความสูงของต้นอ่อนข้าว 3 พันธุ์ ได้แก่ ข้าวพันธุ์ กข. 6 น่าน 59 และสันป่าตอง 1 ที่แช่เมล็ดในสารแขวนลอยสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่ความเข้มข้น 1.0 x 10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีความยาวรากของต้นอ่อนมากที่สุดเท่ากับ 4.09, 4.17 และ 4.24 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับ Dethoup et al., (2022) ได้การศึกษาผล ของรา *Trichoderma* spp. ต่อการเจริญเติบโตของข้าว พบว่ารา *Trichoderma* spp. มีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าว ซึ่งสามารถยับยั้งการงอกของข้าวได้ถึง 80% เมื่อนำเมล็ดข้าวมาแช่ที่สารแขวนลอยสปอร์ 1.0 x 10^6 สปอร์ต่อกรัม ทั้งนี้จากการศึกษาจะเห็นได้ว่ารา *T. phayaoense* (L1 I3) มีผลต่อการงอกของเมล็ด แต่เมื่อสังเกตุลงไปจะเห็นว่าเมื่อความเข้มข้นของสารแขวนลอยสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ที่ความเข้มข้น 1.0 x 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตรขึ้นไปจะส่งผลต่อการงอกของเมล็ดลดลง เนื่องจากข้าวมีส่วนประกอบของแป้ง หรือน้ำน้ำตาล ซึ่งเป็นแหล่งของคาร์บอนอาหารของเชื้อรา และข้าวมักถูกนำไปใช้ผลิตขยายราไตรโคเดอร์มา อีกทั้งการรายงานของ Anjum et al., (2020) ที่มีการรายงานว่าราไตรโคเดอร์มาในปริมาณที่เหมาะสมสามารถส่งผลเสียต่อการงอกของเมล็ด และไม่เพียงแต่ช่วยเพิ่มอัตราการงอกของเมล็ดเท่านั้น แต่ยังให้ความแข็งแรงให้กับต้นข้าวสาลี และปรับปรุงการเจริญเติบโตของยอด และรากได้ ซึ่งสามารถใช้ราไตรโคเดอร์มาแทนการใช้ปุ๋ยเคมีเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโต และป้องกันกำจัดโรคพืชในการเริ่มปลูกพืชได้

แผนการศึกษาที่ 3 การประเมินประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ชีวภาพ

การทดลองที่ 1 การทดสอบความเข้มข้นของสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ต่อการเจริญเติบโตของข้าวในระดับโรงเรือน

จากการทดสอบความเข้มข้นของสปอร์รา *T. phayaoense* (L1 I3) ในผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพต่อการเจริญเติบโตของข้าวในระดับโรงเรือนต่อข้าวจำนวน 3 พันธุ์ ได้แก่ สังข์หยดพัทลุง สันป่าตอง 1 และหอมมะลิ 105 ที่อายุ 30, 60 และ 90 วัน พบว่าผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพที่ใส่สารแขวนลอยที่ระดับความเข้มข้น 1.0 x 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร สามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว (จำนวนต้น ความสูงต้น และความยาวราก) มากกว่ากรรมวิธีที่ไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพ และผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพที่ระดับความเข้มข้น 1.0 x 10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งสอดคล้องกับ Doni et al., (2014) ได้การศึกษาพัฒนาหัวเชื้อของรา *Trichoderma* sp. SL2 ที่ใช้ในวัสดุที่แตกต่างกันเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นข้าว โดยใช้สารแขวนลอยของรา *Trichoderma* sp. SL2 ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 x 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ผสมกับชังข้าวโพดและชานอ้อย วัดผลการเจริญเติบโต ได้แก่ ความสูงของต้นกล้าข้าว ความยาวราก น้ำหนักสด จำนวนใบ และชีวมวล เปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่ารา *Trichoderma* sp. SL2 ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 x 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ผสมกับชั่งข้าวโพดสามารถเพิ่มความสูง ความยาวรากของต้นข้าว น้ำหนักสด และมวลชีวภาพอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับเชื้อรา *Trichoderma* sp. SL2 ที่ผสมกับชานอ้อยและชุดควบคุม จะเห็นได้ว่าสารแขวนลอยที่ระดับความเข้มข้น 1.0 x 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีผลมากกว่าสารแขวนลอยที่ระดับความเข้มข้น 1.0 x 10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เนื่องจากปริมาณความเข้มข้นของสปอร์ที่มีมากกว่า และรา *T. phayaoense* (L1 I3) เป็นจุลินทรีย์ซึ่งต้องอาศัยความชื้น และออกซิเจนในการเจริญ อาจส่งผลต่อปริมาณของเชื้อให้ลดลงจากความเข้มข้นสปอร์ก่อนหน้าได้ เช่น การผสมระหว่างสารแขวนลอยกับหัวเชื้อ อัตราการมีชีวิตรอด เป็นต้น เช่นเดียวกับการรายงานของ กัทลีวัลย์ และคณะ (2557) รายงานว่ารา *Trichoderma harzianum* H54 ที่มีชีวิตในดินทั้ง 4 ไอโซเลท มีปริมาณลดลงภายหลังการบ่ม 12 วัน และภายหลังการบ่ม 75 วัน สามารถอยู่รอดได้ 8% จากปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ใส่ลงไป ทำให้การมีชีวิตของรา *Trichoderma harzianum* H54 ภายหลังการบ่ม 35, 75 และ 130 วัน มีปริมาณลดลงเป็น 50, 20 และ 3% ของปริมาณเริ่มต้น (10^4 CFU / ดิน 1 กรัม) และปริมาณเชื้อดังกล่าวในดินลดลงต่ำกว่า 1,000 cfu ภายหลัง 130 วัน อีกทั้งการศึกษาของ อภิรัชต์ และคณะ (2556) ได้ทำการศึกษาความเข้มสปอร์แขวนลอยของรา *T. harzianum* ที่ความหนาแน่นของสปอร์ 1. x 10^5, 1.0 x 10^6 และ 1.0 x 10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร และกรรมวิธีการใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ในการควบคุมการเกิดโรคตายพรายในกล้วยน้ำว้า พบว่ารา *Trichoderma harzianum* ความหนาแน่นของสปอร์ 10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร สามารถควบคุมโรคตายพรายของกล้วยน้ำว้าที่มีสาเหตุจากรา *Fusarium oxysporum* f. sp. ในสภาพแปลงปลูกได้ดีกว่าความหนาแน่นของสปอร์อื่น ๆ

การทดลองที่ 2 การทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการควบคุมโรคใบไหม้ในข้าวในระดับโรงเรือน

จากการทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการควบคุมโรคใบไหม้ในข้าวในระดับโรงเรือน โดยทำการศึกษาคุณภาพทางกายภาพของต้น คุณภาพทางกายภาพของผลผลิต และการควบคุมโรคใบไหม้และใบไหม้คอรวงในข้าว พบว่าคุณภาพทางกายภาพของต้นในกรรมวิธีที่ 4 ที่ใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพมีความสูงต้น (153.47 เซนติเมตร) และจำนวนต้นต่อกอ (19.25 ต้น) มากกว่ากรรมวิธีควบคุม (ความสูง 136.54 เซนติเมตร และจำนวนต้นต่อกอ 6.17 ต้น) แต่น้อยกว่ากรรมวิธีที่ 2 ที่ใช้สารกำจัดเชื้อราทางการค้า + ปุ๋ยเคมี (ความสูง 159.58 เซนติเมตร และจำนวนต้นต่อกอ 21.09 ต้น) ส่วนคุณภาพทางกายภาพของผลผลิต พบว่ากรรมวิธีที่ 4 ที่ใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพ มีจำนวนรวงต่อกอ เมล็ดดีต่อรวง เมล็ดลีบต่อรวง เมล็ดทั้งหมดต่อรวง น้ำหนักเมล็ดดีต่อกอ น้ำหนักเมล็ดลีบต่อกอ เมล็ดทั้งหมดต่อกอ อัตราการติดเมล็ด และผลผลิต เท่ากับ 18.58 รวง, 123.00 เมล็ด, 29.08 เมล็ด, 3.77 กรัม, 52.52 กรัม, 3.94 กรัม, 56.46 กรัม, 80.85 เปอร์เซ็นต์ และ 504.23 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ซึ่งมากกว่ากรรมวิธีควบคุม เท่ากับ 5.83 รวง, 63.25 เมล็ด, 21.67 เมล็ด, 1.94 กรัม, 10.23 กรัม, 1.01 กรัม, 11.24 กรัม, 74.51 เปอร์เซ็นต์ และ 98.19 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ แต่ยังน้อยกว่ากรรมวิธีที่ 2 เท่ากับ 20.17 รวง, 130.92 เมล็ด, 31.67 เมล็ด, 4.45 กรัม, 60.03 กรัม, 4.59 กรัม, 64.62 กรัม, 80.56 เปอร์เซ็นต์ และ 576.31 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับ จิระเดช แจ่มสว่าง และวรรณวิไล อินทนู (2557) ได้การศึกษาประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาเพื่อลดต้นทุนและเพิ่มผลผลิตข้าว พบว่ารา *Trichoderma* spp. สามารถช่วยเพิ่มจำนวนผลผลิตรวมของข้าวได้อย่างแตกต่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรค ซึ่งจากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อรา *T. phayaoense* (L1 I3) มีกลไกที่สำคัญที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นข้าว ส่งผลให้ต้นข้าวจากการทดลองมีผลผลิตที่สูงมากยิ่งขึ้น เช่นเดียวกับการรายงานของ จิระเดช และคณะ (2548) ที่พบว่าเมล็ดข้าวที่ผ่านการแช่สารแขวนลอยสปอร์ของรา *T. harzianum* มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงกว่ากรรมวิธีควบคุม ทั้งยังสามารถส่งเสริมความยาวของรากข้าวได้เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม สำหรับกลไกที่สำคัญของเชื้อจุลินทรีย์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตของพืชมีหลายกลไกแต่กลไกที่สำคัญและได้รับการยอมรับกันอย่างกว้างขวาง คือกลไกการสร้างสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ที่มีหน้าที่ช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นพืช ซึ่งตัวอย่างของสารทุติยภูมิเหล่านี้ได้แก่ สาร pentyl pyrone, oxazole, indole acetic acid, gibberellic acid, cytokinin, siderophores

และสารที่มีหน้าที่ในการย่อยสลายธาตุอาหารพืชที่มีโครงสร้างซับซอนให้มาอยู่ในรูปที่ตนพืชสามารถนำมาใช้ประโยชนในการเจริญเติบโตได้ (Dey, Pal, Bhatt and Chauhan, 2004; Intana, 2003; ทักษิณ และคณะ, 2548; ศุภลักษณ, 2553)

โดยการควบคุมโรคใบไหม้และใบไหม้คอรวงในข้าว พบว่ากรรมวิธีที่ 4 ที่ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *T. phayaoense* (L1 I3) แบบชนิดอัดเม็ด + การฉีดพ่นทางใบ พบว่ามีคะแนนการเกิดโรค 2.25 คะแนน น้อยกว่ากรรมวิธีที่ 1 ที่มีคะแนนการเกิดโรค 5.58 คะแนน แต่มากกว่ากรรมวิธีที่ 2 มีคะแนนการเกิดโรคที่ 1.17 คะแนน และไม่พบการเกิดโรคใบไหม้คอรวง ซึ่งสอดคล้องกับ จิระเดช แจ่มสว่าง และวาริน อินทนา (2554) ได้การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรียปฏิปักษ์ ในระดับโรงเรือนจากผลการทดสอบเพื่อควบคุมโรคไหม้ของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ซึ่งทำการทดลองในระดับโรงเรือนพบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จำนวน 10 ไอโซเลท จากทั้งหมด 15 ไอโซเลท สามารถควบคุมโรคไหม้ได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม 1 (ไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ทำให้กรรมวิธีที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มีจำนวนแผลของโรคไหม้ที่ใบข้าวน้อยกว่าในกรรมวิธีควบคุมอย่างชัดเจน โดยเฉพาะเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในกลุ่มเชื้อราซึ่งได้แก่ ไอโซเลท F014, F034, F031 และ F009 มีประสิทธิภาพการควบคุมโรคไหม้ของข้าวในระดับสูงคือ 65.12, 60.47, 55.81 และ 51.16% ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีใช้สารเคมี carbendazim พบว่ามีประสิทธิภาพการควบคุมโรคไหม้ที่สูงที่สุดที่ระดับ 68.34 เปอร์เซ็นต์ จากการศึกษาชี้ให้เห็นอย่างชัดเจนว่ารา *T. phayaoense* (L1 I3) เป็นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพสูงมากในการควบคุมราสาเหตุของโรคข้าว เช่นเดียวกับการรายงานหลาย ๆ แห่งที่กล่าวว่ารา *Trichoderma* spp. สามารถใช้เพื่อควบคุมโรคต่าง ๆ ในข้าว เช่น ใช้ควบคุมโรคกาบใบเน่าของข้าวที่เกิดจากรา *S. Oryzae* โรคเมล็ดด่างของข้าวที่เกิดจากรา *Curvuraia lunata* (Yang, Wang, Wang, Chen and Zhou, 2009) โรคกาบใบแห้งของข้าวที่เกิดจากรา *R. solani* (Krishnamurthy et al., 1999) และโรคใบจุดสีน้ำตาลของข้าวที่เกิดจากรา *Bipolaris oryzae* (Abdel–Fattah, Shabana, Ismail and Rashad, 2007) เป็นต้น โดยกลไกที่สำคัญในการควบคุมโรคพืชของรา *Trichoderma* spp. พบว่ามีหลายกลไกไม่ว่าจะเป็นการแข่งขันกับเชื้อจุลินทรีย์อื่น ๆ (competition) เพื่อครอบครองปัจจัยในการเจริญ การสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiosis) การเป็นเชื้อจุลินทรีย์ปรสิตต่อเชื้อก่อโรค (parasitism) การส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth promoting) การครอบครองรากพืช (root colonization) และการชักนำให้พืชเกิดความต้านทานต่อเชื้อโรคพืช (induced resistance in plant)

การทดลองที่ 3 การทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการควบคุมโรคใบไหม้ในข้าวในระดับแปลงเกษตรกร

จากการทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการควบคุมโรคใบไหม้ในข้าวในระดับแปลงเกษตรกร โดยทำการคัดเลือกพื้นที่แปลงปลูกที่เคยมีการระบาดของโรคใบไหม้ ซึ่งการทดสอบจำนวนทั้งหมด 2 กรรมวิธี ได้แก่ ชุดควบคุมที่ไม่ใส่ผลิตภัณฑ์จากปุ๋ยชีวภาพเปรียบเทียบกับการใส่ผลิตภัณฑ์จากปุ๋ยชีวภาพ พบว่าคุณภาพทางกายภาพของต้นในกรรมวิธีที่ 2 ที่ใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพมีความสูงต้น (225.80 เซนติเมตร) และจำนวนต้นต่อกอ (20.30 ต้นต่อกอ) มากกว่ากรรมวิธีที่ 1 ที่ไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพ ซึ่งสอดคล้องกับจิระเดช แจ่มสว่าง และวาริน อินทนา (2554) ได้การศึกษาประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ในระดับแปลงทดลอง จากการทดสอบพบวา ทุกกรรมวิธีที่ใชชีวภัณฑรา *Trichoderma* sp. ชนิดเกล็ด (สายพันธุ F009, F014 และ F031) และเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ CB-Pin-01 (สายพันธุการคา) ได้น้ำหนักผลผลิตตอไรของข้าว (ความชื้น 14%) สูงกว่ากรรมวิธีควบคุมถึง 2.07-13.71 เปอร์เซ็นต์ ในขณะเดียวกันยังพบวา น้ำหนักเมล็ดต่อรวงของทุกกรรมวิธีที่ใชรา *Trichoderma* sp. มีน้ำหนักเมล็ดตอรวงสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการทดลองจะยิ่งชี้ให้เห็นว่ารา *T. phayaoense* (L1 I3) มีกลไกที่สำคัญที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของตนข้าว สงผลใหต้นข้าวจากการทดลองมีผลผลิตที่สูงมากยิ่งขึ้นเช่นเดียวกับการศึกษาก่อนหน้า โดยมีกลไกที่สำคัญในการสงเสริมการเจริญเติบโตของพืชเหลานี้คือการสร้างสารกระตุนการเจริญเติบโตของพืช เชน กลุ่มของออกซิน ได้แก indole-3-acetic acid (IAA) และสารที่คล้ายจิบเบอเรลลิน (Frankenberger Jr and Arshad, 1996) ทำให้พืชสามารถดูดซึมหรือนำธาตุอาหารไปใชได้ดีขึ้น) เช่นเดียวกับหลาย ๆ การรายงานที่กล่าวว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. สามารถสงเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้หลายชนิด เชน แตงกวา พริก มะเขือเทศข้าวโพดและข้าวสาลี เป็นตน (Harman, 2006)

ด้านคุณภาพทางกายภาพของผลผลิต พบว่ากรรมวิธีที่ 2 มีจำนวนรวงต่อกอ เมล็ดดีต่อรวง เมล็ดลีบต่อรวง เมล็ดทั้งหมดต่อรวง น้ำหนักเมล็ดดีต่อกอ น้ำหนักเมล็ดลีบต่อกอ เมล็ดทั้งหมดต่อกอ อัตราการติดเมล็ด และผลผลิต เท่ากับ 16.90 รวงต่อกอ, 177.20 เมล็ดต่อรวง, 25.80 เมล็ดต่อรวง, 5.02 กรัมต่อรวง, 47.65 กรัมต่อรวง, 4.27 กรัมต่อรวง, 51.93 กรัมต่อกอ, 87.42 เปอร์เซ็นต์ และ 475.60 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ซึ่งมากกว่ากรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพ และคุณภาพทางเคมีของเมล็ด ได้แก่ Gamma aminobutyric acid (GABA) วิตามิน B1 ปริมาณสารหอม (2AP) และสารต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) พบว่ากรรมวิธีที่ 2 ที่ใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพมีปริมาณ GABA ปริมาณสารหอม

และเจลลาตินมากกว่ากรรมวิธีที่ 1 ที่ไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพที่ 161.33 มิลลิกรัมต่อกรัม, 8.25 ppm และ 74.33 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนคุณภาพทางเคมีฟางข้าว ได้แก่ ลิกนิน ปริมาณเถ้า และโฮโลเซลลูโลส (แอลฟาเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส) พบว่ากรรมวิธีที่ 2 ที่ใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพมีปริมาณลิกนิน และโฮโลเซลลูโลส (แอลฟาเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส) มากกว่ากรรมวิธีที่ 1 ที่ไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพที่ 15.00, 34.01 และ 16.27 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับ ศศิพร และคณะ (2565) ได้การศึกษาผลของปริมาณฟอสเฟต และ IAA ของ *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. ต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 หลังผ่านวิธีการแช่ การทดลองมี 2 ระดับ คือ *Burkholderia* sp. และ Enterobacter sp. และปัจจัย B คือความเข้มข้นของแบคทีเรีย มี 3 ระดับ คือ 1.0×10^9, 1.0×10^8 และ 1.0×10^7 CFU / mL ผลการทดลองพบว่า แบคทีเรียทั้ง 2 สกุลมีคุณสมบัติผลิต IAA และสามารถละลายฟอสเฟตได้ ส่วนระดับความเข้มข้นของแบคทีเรียทั้ง 2 สกุลที่แตกต่างกันไม่ทำให้ความงอก ความแข็งแรง และการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวมีความแตกต่างกันเมื่อตรวจสอบทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพเรือนทดลอง จากการทดลองจะชี้ให้เห็นว่าสาร Indole-3-acetic acid: IAA มีความสามารถในการเพิ่มคุณภาพต้นข้าว และคุณภาพผลผลิตได้ เนื่องจาก *T. phayaoense* (L1 I3) สามารถผลิตสาร IAA ได้ นอกจากนี้ยังมีการรายงานของ Bader, Salerno, Covacevich and Consolo, (2020) ที่รายงานว่า *T. harzianum* ซึ่งมีความสามารถผลิต IAA และละลายฟอสเฟตได้ และยังมีความสามารถยับยั้งเชื้อราก่อโรคในพืชได้อีกด้วย

โดยการควบคุมโรคใบไหม้และใบไหม้คอรวงในข้าว พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การควบคุมโรคใบไหม้ที่อายุ 14, 30, 60 และ 90 วัน คือ 80.23, 72.05, 71.09 และ 72.34 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนโรคไหม้คอรวง (อายุ 90 วัน) ที่ 44.48 เปอร์เซ็นต์ และคะแนนการเกิดโรคใบไหม้ที่อายุ 14, 30, 60 และ 90 วัน พบว่ากรรมวิธีที่ 2 ที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพจากรา *T. phayaoense* (L1 I3) มีคะแนน 2.41, 2.00, 1.44 และ 1.22 คะแนน ตามลำดับ ซึ่งดีกว่ากรรมวิธีที่ 1 ที่ที่ไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพ ส่วนโรคไหม้คอรวง (อายุ 90 วัน) พบว่ากรรมวิธีที่ 2 มีคะแนนการเกิดโรคที่ 6.63 คะแนน ต่างจากกรรมวิธีที่ 1 ที่ไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพ ซึ่งสอดคล้องกับ จิระเดช แจ่มสว่าง และวาริน อินทนา (2554) ได้การศึกษาประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์และสารสกัดในการควบคุมโรคไหมและโรคกาบใบเนาของข้าวในสภาพแปลงปลูกข้าว พบวาทุกกรรมวิธีที่ใชชีวภัณฑ์หรือสารสกัดจากเชื้อจุลินทรียสามารถควบคุมโรคของข้าวได้ทั้งในสวนโรคไหมและโรคกาบใบเนาเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม แสดงใหเห็นวาทั้งชีวภัณฑ์และสารสกัดของรา *Trichoderma* spp. สามารถนำมาใชในการควบคุมโรคของข้าวใน

สภาพแปลงปลูกได้ เช่นเดียวกับในหลายรายงานที่กล่าววาประสบความสำเร็จในการควบคุมโรคพืชหลายชนิดเมื่อใชชีวภัณฑ์หรือสารสกัดจากรา *Trichoderma* spp. ไม่วาจะเป็นการควบคุมโรคพืชต่าง ๆ ที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria* spp., *Botryodiplodia* spp., *Colletotrichum* spp., *Corynespora* spp., *Curvularia* spp., *Fusarium* spp., *Helminthosporium* spp., *Lasiodiplodia* spp., *Macrophomina* spp., *Penicillium* spp., *Pestalotiopsis* spp., *Phoma* spp., *Phomopsis* spp., *Pseudocercospora* spp., *Phytophthora* spp., *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Sarocladium* spp., *Sclerotium* spp., *Stemphylium* spp., *Trichoconis* spp., *Ralstonia solanacearum* และ *Xanthomonas campestris* (จิระเดช, 2553) เมื่อพิจารณาในแต่ละกรรมวิธีจะเห็นได้ว่ารา *T. phayaoense* (L1 I3) ยิ่งมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบไหมหรือใบไหม้คอรวง และยังสามารถช่วยเพิ่มผลผลิตของข้าว ตลอดจนช่วยเพิ่มคุณภาพของผลผลิตข้าวได้ดี อีกทั้งการประยุกตใชผลิตภัณฑ์จะเป็นแนวทางที่มีประสิทธิภาพสูงและมีประโยชนอย่างมากตอการปลูกพืช ไม่วาจะเป็นการควบคุมโรคและการสงเสริมการเจริญเติบโตของพืช

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาวัสดุ เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ชีวภาพให้มีความหลากหลายมากขึ้นในอนาคต เพื่อใช้ทดแทนหากมีการขาดแคลนวัสดุในอนาคต

2. ในการส่งเสริมการเจริญเติบ และควบคุมรคใบไหม้ในข้าว ควรมีการส่งเสริมให้มีการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพให้มากขึ้น เพื่อลดต้นทุนการผลิต และปัญหาต่าง ๆ ทั้ง ปัญหาสุขภาพและสิ่งแวดล้อม

บรรณานุกรม

กนกกร นาค้อน ชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล และรัติยา พงศ์พิสุทธา. (2561). การตอบสนองต่อสารเคมีกำจัดโรคพืชของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้จากพื้นที่ปลูกทุเรียน จังหวัดจันทบุรี. การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 56: 39.

กรมวิชาการเกษตร. (2552). เกณฑ์การขึ้นทะเบียนปุ๋ยอินทรีย์ชนิดเม็ดและผง. กรมวิชาการเกษตร.กรมวิชาการเกษตร. (2559). โรคพืชและการป้องกันกำจัด. การอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร.

กรมวิชาการเกษตร. (2564). คู่มือปุ๋ยชีวภาพ. กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา, กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร, กรมวิชาการเกษตร.

กัทลีวัลย์ สุขช่วย สัญชัย พันธโชติ สุมาฬี พรหมรุกขชาติ. (2557). ศึกษาความอยู่รอดของเชื้อรา *Trichoderma* sp. และ *Phytophthora* sp. ในสภาพสวนส้มที่มีการจัดการต่างกัน 3 แบบ. สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร มหาวิทยาลัย,เทคโนโลยีราชมงคลล้านนา.

กัทลีวัลย์ สุขช่วย. (2558). การควบคุมโรคไหม้ของข้าวโดยชีววิธีด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มา. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา.

เกษตรสมบรณ์. (2565). สารป้องกันกำจัดโรคพืช เมทาแลกซิล. แหล่งข้อมูล: https://www.kasetsomboon.com/product/%E0%B9%80%E0%B8%A1%E0%B8%97%E0%B8%B2%E0%B9%81%E0%B8%A5%E0%B8%81%E0%B8%8B%E0%B8%B4%E0%B8%A5%E0%B8%8A%E0%B8%99%E0%B8%B4%E0%B8%94%E0%B8%94%E0%B8%B9%E0%B8%94%E0%B8%8B%E0%B8%B6%E0%B8%A1-%E0%B8%A2/. ค้นเมื่อ 25 กันยายน 2565.

เกษม สร้อยทอง. (2551). เทคโนโลยีการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี. พิมพ์ครั้งที่ 4. มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, กรุงเทพฯ. 213 หน้า.

ครองใจ โสมรักษ์ และ อังคณา เทียนกล่ำ. (2559). ประสิทธิภาพของเชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสดในการควบคุมโรคราสนิมขาวของผักบุ้งที่เกิดจากเชื้อรา *Albugo ipomoeaeaquaticae*. วารสารเกษตรพระวรุณ. (13)1, 26-33.

จิระเดช แจ่มสว่าง, วรรณวิไล อินทนู และสริตา ภาคพิเศษ. (2548). การใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* และ *Bacillus* spp. เพื่อเพิ่มผลผลิตของข้าวและลดโรคกาบใบแห้งและโรค

เมล็ดด่างของข้าว. เรื่องเต็มการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติครั้งที่ 7 (292 –304). เชียงใหม่: สมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย.

จิระเดช แจ่มสว่าง. 2553. ไตรโคเดอรมา: เชื้อราปฏิปักษ์ควบคุมโรคพืช. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรกำแพงแสน. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตรวิทยาเขตกำแพงแสน. 368 หนา.

จิระเดช แจ่มสว่าง และวาริน อินทนา (2554). การคัดเลือก พัฒนาเชื้ออจุลินทรียปฏิปกษ์และชีวภัณฑ์ของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคข้าวในการผลิตข้าวอินทรีย. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ สกว.

จิระเดช แจ่มสว่าง และวรรณวิไล อินทนู. (2557). ชีวภัณฑ์ไตรโคเดอร์มา: ลดต้นทุน เพิ่มผลผลิตพิชิตโรคข้าว. เกษตรอภิรมย์. 1 (2); 20 – 22.

จารุณี เกษรพิกุล. (2558). การประเมินด้านความปลอดภัยและประสิทธิภาพในการป้องกัน โรคของโปรไบโอติกที่พัฒนาขึ้นในรูปแบบแห้ง. สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร.

ชาญ มงคล. (2536). ข้าว. คุรุสภา, กรุงเทพฯ.

โชษิตา อุบลสุข. (2564). การระบุชนิดของรา *Trichoderma* species และการคัดกรองสายพันธุ์ที่สร้างเอนไซม์โคติเนสเบื้องต้น. วิทยานิพนธ์ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ดิเรก ทองอร่าม และอิทธิสุนทร นันทกิจ. (2544). เอกสารประกอบการบรรยายในการอบรมการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินเชิงธุรกิจในประเทศไทย. สาขาวิชาการส่งเสริมการเกษตรและสหกรณ์, มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช. ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบนเทคโนโลยีหระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ทักษิณ สุวรรณโน, วาริน อินทนา, มนตรี อิสรไกรศิล, ราตรี นิตยเดชพัฒน และจิระเดช แจ่มสวาง. (2548). เพิ่มการเจริญเติบโตของถั่วฝักยาวโดยใชทุติยภูมิบริสุทธิ์จากเชื้อรา *Trichoderma harzianum*. วารสารวิทยาศาสตรเกษตร (ฉบับพิเศษ), 36: 183 – 186.

ธรรมศักดิ์ สมมาตย์. (2543). สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช. พิมพ์ครั้งที่ 3. โรงพิมพ์ลินคอล์น, กรุงเทพ ฯ.

ธิติ ทองคำงาม, พรหมมาศ คูหากาญจน์ และ ถนิมนันต์ เจนอักษร. (2556.) ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* (F221–B) ในด้านส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช 6 ชนิดในระบบไฮโดรโปรนิกส์และลักษณะการเจริญของเชื้อราบนอาหาเลี้ยงเชื้อ. ในการประชุมสัมมนาทางวิชาการมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก ครั้งที่ 6, 46–51.

ประภาษ กาวิชา, วนารัตน์ นาติโน และวิไลวรรณ พัฒนาสันต์. (2563). การพัฒนาชีวภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาชนิดเม็ด เพื่อการควบคุมโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ปวีณา อุตะมะติง. (2554). ประสิทธิภาพการใช้เชื้อรา *Trichoderma virens* และแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกชี้ฟ้า. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา, ลำปาง. หน้า 30–34.

ปุญญิศา ชารีรักษ์, วราวุฒิ ทรงวาจา และชูแสง แพงวังทอง. (2559). ประสิทธิภาพของเชื้อราไตรโคเดอร์มาในการควบคุมโรคโคนเน่าขาวของถั่วลิสงที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* Sacc. การประชุมวิชาการระดับชาติ ราชมงคลสุรินทร์วิชาการ ครั้งที่ 8. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์, สุรินทร์.

พยอม โคเบลลี่. (2549). โรคขอบใบแห้งของข้าว (Bacterial leaf blight of rice). เอกสารประกอบการฝึกอบรมนักศึกษาฝึกงาน คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. วันที่ 20 มีนาคม – 10 พฤษภาคม 2549, ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี, อุบลราชธานี. 6 หน้า.

ยุรฉัตร ยอดโยธี. 2554. การชักนำการต้านทานโรคและการแสดงออกของยีน PR–1 ในยางพาราโดยใช้ตัวกระตุ้นชนิดต่าง ๆ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา. หน้า 8–10.

วิพรพรรณ์ เนื่องเม็ก, ประสิทธิ์ ผาผ่อง, และมนัส ทิตย์วรรณ. (2557). ผลของเชื้อราไตรโคเดอร์มาต่อการเจริญเติบโตและควบคุมโรคของแคนตาลูปในแปลงปลูก. แก่นเกษตร. 42(3), 680–685.

วิไลลักษณ์ โคมพันธุ์ วราภรณ์ ฉุยฉาย และนิสิต ชำนาญเพชร. (2563). ผลของไกลโฟเซตต่อการเจริญ การงอกของสปอร์ และการสร้างกรดอินโดลอะซิติกของราเอนโดไฟต์ที่คัดแยกจากรางจืด (*Thunbergia laurifolia* Linn.). วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก. 13(1): 102 – 110.

ศศิพร จอมคา, จักรพงษ์ กางโสภา และ จุฑามาศ อาจนาเสียว. (2565). ผลของปริมาณฟอสเฟต และ IAA ของ *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. ต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 หลังผ่านวิธีการแช่. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา. 27: 590 – 611.

ศุภลักษณ์ เศรษฐสกุลชัย. (2553). การคัดเลือกเชื้อจุลินทรียทองถิ่นเพื่อใชควบคุมโรคกาบใบเน่าของข้าวที่เกิดจากเชื้อรา *Sarocladium oryzae*. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ. 150 หน้า.

สหัทยา สุขใหญ่, นครินทร์ สวรรณราช และ วิพรพรรณ์ เนื่องเม็ก. (2563). การศึกษาวัสดุที่เหมาะสมเพื่อการพัฒนาชีวภัณฑ์จากเชื้อราเอนโดไฟท์ *Trichoderma* sp. (L3 I1). แก่นเกษตร, 48 (1): 331–336.

สหัทยา สุขใหญ่. (2566). การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชีวภาพราเอนโดไฟท์ (*Trichoderma phayaoense* L1I3) เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโต และควบคุมราก่อโรคของเมล่อน และคะน้า. วิทยานิพนธ์หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยพะเยา, พะเยา.

สายทอง แก้วฉาย. (2555). การใช้ไตรโคเดอร์มาในการควบคุมโรคพืช (Application of *Trichoderma* spp. for Plant Disease Control). วารสารมหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์ 4, 108–123.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. (2566). สถานการณ์การผลิตและการตลาดรายสัปดาห์. แหล่งข้อมูล: http://www.oae.go.th (1 สิงหาคม 2566).

สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว. (2550). โรคข้าวและการป้องกันกำจัด. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ. 74 หน้า.

สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว. (2555). องค์ความรู้เรื่องข้าว. กรมการข้าว. แหล่งข้อมูล: http://www.brrd.in.th/rkb/varieties (1 สิงหาคม 2562).

สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว. (2559). โรคไหม้ (Rice Blast Disease), โรคข้าว และการป้องกันกำจัด, องค์ความรู้เรื่องข้าว. กรมการข้าว. แหล่งที่มา: http://www.ricethailand.go.th/rkb3/title-index.php-file=content.php&id=112-1.htm (วันที่ค้นหา 23 มิถุนายน 2563)

สุมาลี สันติพลวุฒิ. (2536). การศึกษาความเป็นไปได้ในเชิงเศรษฐศาสตร์ในการใช้ผงเชื้อราไตรโคเดอร์มาในการควบคุมโรคราเมล็ดผักกาดของมะเขือเทศ. วารสาเกษตรศาสตร์ (สังคม) 14, 61–70.

สุวิตา แสไพศาล. (2549). เอนไซม์ย่อยสลายความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลำดับนิวคลีโอไทดในสวน ITS1–5.8S–ITS2 ของ rDNA และการโคลนยีนไคติเนสของเชื้อรา *Trichoderma* spp. วิทยานิพนธปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแกน.

อนันต์ วงเจริญ. (2557). การคัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟต์จากข้าว (*Oryza sativa* L.) ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งราสาเหตุโรคข้าว. แก่นเกษตร, 42(3): 385–396.

อภิรัชต์ สมฤทธิ์ ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรีสุณีรัตน์ สีมะเดื่อ. (2556). การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ในการควบคุมโรคตายพรายของกล้วยน้ำว้าที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. ในสภาพแปลงปลูก. รายงานผลงานวิจัยประจำปี ๒๕๕๖ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร.

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

Agrios, G. N. (2005). Plant pathology. Elsevier.

Al – Taweil H. I., Osman M. B., Aidil A. H., and Yussof W. M. W. (2009). Optimizing *Trichoderma viride* Cultivation in Submerged State Fermentation. **American Journal of Applied Sciences**, 6(7): 1277 – 1281.

Anjum, Z. A., S. Hayat, M. U. Ghazanfar, S. Ahmad, M. Adnan, and I. Hussian. (2020). Does seed priming with *Trichoderma* isolates have any impact on germination and seedling vigor of wheat. **International Journal of Botany Studies**. 5(2): 65–68.

Aravindan, S., Yadav M. K., and Sharma, P. (2016). Biological control of rice blast disease with *Trichoderma* spp. under upland rice System. **International Journal on Rice**, 53(2), 167–173.

Aye, S. S., Matsumoto, M., Kaku, H., and Goto, T. (2007). Evaluation of resistance in rice [*Oryza sativa*] plants to Myanmar isolates of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. **The Agriculture, Forestry and Fisheries Research Information Technology Center**.

British Standards Institution. (1975). Method for Sampling and Testing Gelatin (Physical and Chemical Method) Bristish Standard Institution.

Bader A. N., Salerno G. L., Covacevich F., and Consolo V. F. (2020). Native *Trichoderma harzianum* strains from Argentina produce indole–3 acetic acid and phosphorus solubilization, promote growth and control wilt disease on tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **Journal of King Saud University – Science**, 32 (1): 867 – 873.

Bills, G. F. and Polishook, J. D. (1992). Recovery of endophytic fungi from *Chamaecyparis thyroides*. **Sydowia**, 44, 1–12.

Brunner, F. and Petrini, O. (1992). Taxonomic studies of some *Xylaria* species and *xylariaceous* endophytes by isozyme electrophoresis. **Mycological Research**, 96, 723–733.

Buchanan, B. B., Gruissem, W. and Jones, R. L. (2000). Biochemistry and molecular biology of plants. ASPP press, Rockville.

Cho, K. M., Math, R. K., Hong, S. Y., Islam, S. M. A., Mandanna, D. K., Cho, J. J., Yun, M. G., Kim, J. M. and Yun, H. D. (2009). Iturin produced by *Bacillus pumilus* HY1 from Korean soybean sauce (kanjang) inhibit growth of aflatoxin producing fungi. **Food control**, 20: 402 – 406.

Chowdappa, P., Kumar, S. P. M., Lakshmi, M. J. and Upreti. K. K. (2013). Growth stimulation and induction of systemic resistance in tomato against early and late blight by *Bacillus subtilis* OTPB1 or *Trichoderma harzianum* OTPB3. **Biol Control**, 65, 109–117.

Dasgupta, N. and De, B. (2004). Antioxidant Activity of *Piper betle* L. Leaf Extract in Vitro. **Food Chemistry**, 88: 219–224.

Dethoup, T., Klaram, R., Pankaew, T., and Jantasorn, A. (2022). Impact of fungicides and plant extracts on biocontrol agents and side-effects of *Trichoderma* spp. on rice growth. **European Journal of Plant Pathology**, 164(4), 567–582.

Dey. R., Pal, K. K., Bhatt, D. M. and Chauhan, S. M. (2004). Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological Research**, 159: 371 – 394.

Doni, F., Isahak, A., Zain, C. R. C. M. and Yusoff, W. M. W. (2014). Physiological and growth response of rice plants (*Oryza sativa L.*) to *Trichoderma* spp. **Inoculants. AMB Express**, 2014, 4: 45.

Fisher, P. J., Anson, A. E. and Petrini, O. (1984). Antibiotic activity of some endophytic fungi from ericaceous plants. **Botanica Helvetica**, 94, 249–253.

Frankenberger, W. T. Jr. and Arshad, M. (1995). Phytohormones in soils: microbial production and function. USA: Marcel Dekker.

Fu, Y., Zheng-wei, L., Zhi-chun, W. and Yuan, C. (2008). Relationship between diurnal changes of net photosynthetic rate and influencing factors in rice under saline sodic stress. **Rice Science**, 15(2), 119–124.

Gava, C. A. T. and Pinto, J. M. (2016). Biocontrol of melon wilt caused by *Fusarium oxysporum* Schlect f. sp. melonis using seed treatment with *Trichoderma* spp. and liquid compost. **Biological Control**, 97, 13–20.

Giesemann, A., Biehland, B. and Lieberei, R. (1986). Identification of scopoletin as aphytoalexin of the rubber tree Hevea brasiliensis. **Journal Phytopathology**, 117, 373–376.

Gravel, V., Antoun, H. and Tweddell, R. J. (2007). Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with Pseudomonas putida or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). **Soil Biology and Biochemistry**, 39: 1968–1977.

George, S.P., Ahmad, A and Rao, M.B. (2001). Studies on carboxy methyl cellulose produced by an Alkalothermophilic actinomycete. **Bioresource Technology**, 77 (2), 171–175.

Harman, G. E. (2006). Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, 96: 190 – 194.

Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet I. and Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species – opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, 2, 43–56.

Horwitz, W., and Latimer, G. W. (2000). Official methods of analysis of AOAC International (Vol. 1, p. 17). Gaithersburg: AOAC international.

Hyakumachi, M. (1994). Plant growth promoting fungi from turgrass rhizosphere with potential for disease suspension. **Soil Microorganism**, 44: 53 – 68.

Imran A., M. Arif, Z. Shah and Bari A. (2020). Soil application of *Trichoderma* and peach (*Prunus persica* L.) residues possesses biocontrol potential for weeds and enhances growth and profitability of soybean (*Glycine max*). **Sarhad Journal of Agriculture**, 36: 10 – 20.

Intana, W. (2003). Selection and development of *Trichoderma* spp. for high glucanase, antifungal metabolites producing and plant growth promoting isolates for biological control of cucumber damping off caused by *Pythium* spp. **Ph.D. Dissertation**. Kasetsart University, Bangkok. 202 pp.

Intana, W., Yenjit, P., Suwanno, T., Sattasakulchai, S., Suwanno, M. and Chamswarng, C. (2008). Efficacy of antifungal metabolites of *Bacillus* spp. forcontrolling tomato damping off caused by *Pythium aphanidermatum*. **Walailak Journal of Science and Technology**, 5(1): 29 – 38.

IRRI. (1996). Standard Evaluation System for Rice. The International Rice Research Institute, Los Baños, Laguna, Philippines.

Jambhulkar, P. P., Sharma, P., Manokaran, R., Lakshman, D. K., Rokadia, P., and Jambhulkar, N. (2018). Assessing synergism of combined applications of *Trichoderma harzianum* and *Pseudomonas fluorescens* to control blast and bacterial leaf blight of rice. **European Journal of Plant Pathology**, 152, 747–757.

Jiang, X., Geng, A., He, N. and Li, Q. (2011). New Isolate of *Trichoderma viride* strain for enhanced cellulolytic enzyme complex production. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, 111, 121–127.

Juliano, B.O. (1971). A simplified assay for milled–rice amylose. **Journal of Cereal Science**. 16: 334–340.

Kaewchai, S., Soytong, K. and Hyde, K. D. (2009). Mycofungicides and fungal biofertilizers. **Fungal Diversity**, 38, 25–50.

Khuhawar, M.Y. and Rajper, A.D. (2003). Liquid chromatographic determination of gamma–aminobutyric acid in cerebrospinal fluid using 2–hydroxynaphthaldehyde as derivatizing Reagent. **Journal of Chromatography A**. 788: 413–418.

Khush, G. S. (2005). What it will take to Feed 5.0 billion Rice consumers in 2030. **Plant Molecular Biology**, 59, 1–6.

Kraft, J. M., and G. C. Papavizas. (1983). Use of host resistance, *Trichoderma* sp. and fungicides to control soilborne diseases and increase seed yields of peas. **Plant Disease**. 67: 1234 – 1237.

Krishnamurthy, J., Samiyappan, R., Vidhyasekaran, P., Nakkeeran, S., Rajeswari, E., Raja, J. A. J. and Balasubramanian, P. (1999). Efficacy of *Trichoderma chitinases* against *Rhizoctonia solani*, the rice sheath blight pathogen. **Journal of Biosciences**, 24: 207 – 213.

Kulmitra, A. K., Sahu, N., Kumar, V. B., S., Thejesha, A. G., Ghosh, A., and Gulnaz, Y. (2017). In vitro evaluation of bio–agents against *Pyricularia oryzae* (Cav.) causing rice blast disease. **Agricultural Science Digest – A Research Journal**, 37(3), 247–248.

Kunyosying, D., To–anun, C. and Cheewangkoon, R. (2018). Control of rice blast disease using antagonistic yeasts. Int. **Journal of Science and Agricultural Technology**, 14, 83 – 98.

Latif, M. A., Rahman, M. M., Kabir, M. S., Ali, M. A., Is–lam, M. T. and Rafii, M. Y. (2011). Genetic diversityanalyzed by quantitative traits among rice (*Oryza sativa* L.) genotypes resistant to blast disease. **African Journal of Microbiology Research**, 5, 4383 – 4391.

Li, X., Bu, N., Li, Y., Ma, L, Xin, S. and Zhang, L. (2012). Growth, photosynthesis and antioxidant responses of endophyte infected and non–infected rice under lead stress conditions. **Journal of Hazardous Materials**, 213, 55–61.

Liu S., Z. Zhang, Qin Liu, H. Luo, and Zheng, W. (2002). Spectrophotometric Determination of Vitamin B1 in a Pharmaceutical formulation using triphenylmethane acid dyes. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. 30; 685–694.

Lucas, J. B. (1998). Plant Pathology and Plant Pathogens, Blackwell Science. Oxford, UK.

Mishra, A. and Salokhe, V. M. (2011). Rice growth and physiological responses to SRI water management and implications for crop productivity. **Paddy Water Environ**, 9, 41 – 52.

Nakkeeran, S., Fernando, W. G. D. and Siddiqui, Z. A. (2005). Plant growth promoting rhizobacteria formulations and its scope in commercialization for the management of pests and diseases. In: PGPR: **biocontrol and biofertilization** (Siddiqui, ZA, ed.). Dordrecht, **Springer.** Netherlands, 257 – 296.

Neumann, B., & Laing, M. (2006). Trichoderma: an ally in the quest for soil system sustainability. Biological approaches to sustainable soil systems, 491–500.

Pulici, M., Sugawara, F., Koshino, H., Uzawa, J., Yoshida, S., Lobkovsky, E. and Clardy, J. (1996). Pestalotiopsins A and B: new caryophyllenes from an endophytic fungus of Taxus brevifolia. **The Journal of organic chemistry**, 61(6), 2122 – 2124.

Rachappa, V., S. Lingappa, and R. K. Patil. (2007). Effect of Agrochemicals on growth and sporulation of Metarhizium anisopliae. **Agricultural Science**. 20: 410 – 413.

Saba, H. D. V., Manisha, M., Prashant, K. S., Farham, H. and Tauseff, A. (2012). *Trichoderma* – a promising plant growth stimulator and Biocontrol agent. **Mycosphere**, 3(4), 524 – 531.

Shivanna, M. B., Meera, M. S. and Hyakumachi, M. (1996). Role of root colonization ability of plant growth promotion fungi in the suspension of take all and common root of wheat. **Crop Protection**, 15: 497 – 504.

Sivparsad, B. J., N. Chiuraise, M. D. Laing, and M. J. Morris. (2014). Negarive effect of three commonly used seed treatment chemicals on biocontrol fungus *Trichoderma harzianum*. **African Journal of Agicultural Research**. 9(33): 2588 – 2592.

Sriseadka, T., Wongpornchai, S. and Kitsawatpaiboon, P. (2006). Rapid method for quantitative analysis of the aroma impact compound. 2–Acetyl–1–Pyrroline. In fragrant rice using automated headspace gas chromatography. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 54: 8183–8189.

Stierle, A., Strobel, G., and Stierle, D. (1993). Taxol and taxane production by Taxomyces andreanae, an endophytic fungus of Pacific yew. **Science**, 260(5105), 214 – 216.

Strobel, G. A. (2002). Microbial gifts from rain forests1. **Canadian Journal of Plant Pathology**, 24(1), 14–20.

Tan, A. M. and Low, F. C. (1975). Phytoalexin production by *Hevea brasiliensis* inresponse to infection by *Colletotrichum gloeosporioides* and its effect on other. fungi. Proceeding of International Rubber Gonference. RRIM600. Kuala Lumpur Malaysia. 3, 217 – 227.

Tang, W., Yang, H. and Ryder, M. (2001). Research and Application of *Trichoderma* spp. In Biological Control of Plant Pathogens. In: Bio–Exploitation of Filamentous Fungi (eds. Pointing, S. B. and Hyde, K. D.), **Fungal Diversity Research Series**, 6, 403 – 435.

Tejesvi, M. V., Kini, K. R., Prakash, H. S., Ven, S. and Shetty, H. S. (2007). Genetic diversity and antifungal activity of species of Pestalotiopsis isolated as endophytes from medicinal plants. **Fungal Diversity**, 24, 37 – 54.

Thomma, B. P. H. J., Nurnberger, T. and Joosten, M. H. A. J. (2011). Of PAMPs and effectors: The blurred PTI–ETI dichotomy. **Plant Cell**, 23, 4 – 15.

Vergara, B. S., and De Datta, S. K. (1996). *Oryza sativa* L. Plant Resources of South–East Asia, 10, 106–115.

Vinale, F., Marra, R., Scala, F., Ghisalberti, E. L., Lorito, M. and Sivasithamparam, K. (2006). Major secondary metabolites produced by two commercial *Trichoderma* strains active against different phytopathogens. Letters in Applied Microbiology ISSN 0266 – 8254.

Wilson, D. (2000). Ecology of woody plant endophytes. In: Microbial Endophytes. Marel Dekker. pp. 389 – 420.

Yang, D., Wang, B., Wang, J., Chen, Y. and Zhou, M. (2009). Activity and efficacy of *Bacillus subtilis* strain NJ –18 against rice sheath blight. **Biological Control,** 51: 61 – 65.

ภาคผนวก

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก การเตรียมสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

Potato dextrose agar (PDA)

Potato dextrose broth	26.5	กรัม
Agar	20	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร
Chloramphenicol	0.05	กรัม

ต้มน้ำกลั่นปริมาตร 800 มิลลิลิตรให้เดือด จากนั้นเทส่วนประกอบต่าง ๆ ลง แล้วเติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วคนให้ส่วนประกอบของอาหารละลาย จากนั้นเทอาหารใส่ในขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 500 มิลลิลิตร ขวดละประมาณ 200 มิลลิลิตร ปิดจุกด้วยสำลี ปิดทับด้วยกระดาษ รัดด้วยยางรัด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

ภาคผนวก ข วิธีวิเคราะห์คุณสมบัติผลิตภัณฑ์ชีวภาพ

วิธีวิเคราะห์ค่าความหนาแน่น

วัดขนาดของผลิตภัณฑ์ด้วยใช้เครื่อง Digital caliper vernier gauge ขนาด 0 – 150 มิลลิเมตร ทำการชั่งน้ำหนักต่อเม็ด และบันทึกผล

วิธีวิเคราะห์ความเป็นกรดด่าง

ชั่งตัวอย่างปุ๋ย 10 กรัม ใส่ใน Beaker ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร (อัตราส่วนของปุ๋ยต่อน้ำ 1: 2) แล้วคนด้วยแท่งแก้ว ตั้งทิ้งครึ่งชั่วโมง ทำการวัดค่า pH ด้วยเครื่อง pH – meter โดยนำ Glass electrode จุ่มลงในสารละลายตัวอย่าง เขย่าเบา ๆ เมื่อตัวเลขที่แสดงนิ่ง อ่านค่า pH

วิธีวิเคราะห์ค่าการนำไฟฟ้า

ชั่งตัวอย่างปุ๋ยจำนวน 5 กรัม ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 125 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่านาน 30 นาที กรองผ่านกระดาษกรอง เบอร์ 1 ใส่ใน Beaker ขนาด 50 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้ไปวัดสภาพนำไฟฟ้าด้วย Conductivity meter ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และบันทึกข้อมูล

วิธีวิเคราะห์การละลายน้ำ

นำผลิตภัณฑ์ชีวภาพไปละลายน้ำแล้ววัดค่าการละลาย อัตรา 1 กรัมต่อน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร จับเวลาที่ใช้ในการทำละละลาย และบันทึกข้อมูล

วิธีวิเคราะห์ค่าความชื้น

ชั่งตัวอย่างที่ยังไม่บดจำนวน 5 กรัม ใส่ขวดชั่งสาร (Weighing bottle) บันทึกน้ำหนัก นำตัวอย่างไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมงหรือจนน้ำหนักคงที่ โดยพิจารณาการเปลี่ยนแปลงจากทศนิยมตำแหน่งที่ 2 นำตัวอย่างออกมาใส่โถดูดความชื้นทิ้งไว้ให้เย็น แล้ววชั่งน้ำหนัก แล้วคำนวณความชื้นโดยสูตร โดยทำตัวอย่างละ 5 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ย

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{(\text{น้ำหนักก่อนอบ} - \text{น้ำหนักหลังอบ})}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} \times 100$$

ภาคผนวก ค วิธีวิเคราะห์ผลทางเคมีในเมล็ดข้าว

วิธีวิเคราะห์ Gamma-aminobutyric acid (GABA)

การวิเคราะห์หาปริมาณ GABA โดยใชเครื่อง HPLC

วิธีการสกัด Crude oil

1. ขั้นตอนการสกัด
    1.1) ชั่งตัวอย่าง 1 กรัม ใสในหลอด 50 มิลลิลิตร
    1.2) เติม เมทานอล (ร้อยละ 70) 25 มิลลิลิตร
    1.3) Homogenize ประมาณ 2 นาที
    1.4) นำไป Centrifuge 10,000 rpm อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที
2. ขั้นตอนการทำ derivative มีขั้นตอนดังนี้
    1.5) ดูดตัวอย่างมา 200 ไมโครลิตร
    1.6) เติม Fmoc 200 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 90 วินาที
    1.7) เติม Cleavage reagent 120 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 3 นาที
    1.8) เติม Quenching reagent 200 ไมโครลิตร
3. นำไปฉีดโดย ตัวอย่างฉีด 10 ไมโครลิตรแสตนดาร์ด ฉีด 10 ไมโครลิตร

วิธีวิเคราะห์ DPPH radical scavenging activity

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เตรียมสารละลาย DPPH radical ในเมทานอลความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ และเตรียมสารตัวอย่างที่ความเข้มข้น 10,000 ppm ในเมทานอล จากนั้นเจือจางสารละลายตัวอย่างให้มีความเข้มข้นในช่วง 10 – 1000 ppm และเติม DPPH ลงไปในสารละลายแต่ละความเข้มข้นที่ได้เตรียมไว้ เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ในที่มืดประมาณ 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร (n=3) โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) และแอลฟาโทโคฟิรอล (α–tocopherol) จากนั้นทำการคำนวณ % radical scavenging และคำนวณหาค่า IC_{50} จากผลการทดลองที่ได้โดยคำนวณหา % radical scavenging จากสมการ % radical scavenging = $[1 - (A_{sample} / A_{contra})] \times 100$ เมื่อ A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างและ $A_{control}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสง

วิธีวิเคราะห์ 2 – acetyl – 1 – pyrroline (2AP)

ก่อนการวิเคราะห์จะทำการเตรียมขวดบรรจุตัวอย่าง (headspace vial) และ septum ชนิด PTFE / silicone ขนาดเดียวกับขนาดของขวดตัวอย่างพร้อมฝาอลูมิเนียม กอนใชควรนำไปอบความร้อนเพื่อไล่สิ่งเจือปนกอนบรรจุตัวอย่างเมล็ดข้าว โดยขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างสำหรับ HS – GC กรณีการวิเคราะห์ปริมาณซึ่งใช วิธีสารมาตรฐานภายในใช้ 2,4–dimethylpyridine เป็นสารมาตรฐานภายในที่ความเข้มข้น 500 ppm ในตัวทำละลาย 2–propanol

การวิเคราะห์เตรียมตัวอย่างเมล็ดข้าวที่เคลือบแต่ละสูตร บดให้ละเอียดด้วยเครื่องปน นำไปร่อนด้วยตะแกรงขนาด 45 mesh ชั่งน้ำหนักผงข้าว 2.00 กรัม เติมสารละลายของสารมาตรฐานภายใน 1 μL ปิด septum และฝาอลูมิเนียมโดยใช crimper อัดฝาให้ปิดสนิท นำเขาวางใน sample tray ของเครื่อง HS–GC

วิธีวิเคราะห์ วิตามินบี 1

วิเคราะห์ด้วยวิธีการทางสเปกโตโฟโตเมตริก นำเมล็ดข้าวประมาณ 0.5 กรัม มาบดให้ละเอียดและเติมน้ำกลั่น 15 มิลลิลิตร เพื่อสกัดวิตามินบี 1 จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 13,000 รอบต่อนาที (rpm) นำสารละลายส่วนใสไปใช้เพื่อหาปริมาณวิตามินบี 1 โดยเติม NH4Cl–NH3•H2O pH 7.7 ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร เติม 1% polyvinyl alcohol ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติม 0.5% โบรโมไธมอลบลูปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปหาค่าการดูดกลืนแสง

ด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 440 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณวิตามินบี 1 โดยการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ ไทอะมีน-ไฮโดรคลอไรด์ (thiamine hydrochloride, Sigma)

วิธีวิเคราะห์ อะไมโลส

การวิเคราะห์ปริมาณอไมโลส ทำการเตรียมตัวอย่าง ดังนี้

1. บดเมล็ดข้าวให้ละเอียดจนเป็นแป้งข้าว เมื่อได้แป้งข้าวแลวชั่งแป้งข้าว 20 มิลลิกรัม ใสหลอดเซ็นตริฟวก์ (centrifuge tube) ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมเอทธานอล 95% ปริมาตร 200ไมโครลิตร เขย่าเบา ๆ แลวเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซดเข้มข้น 1 โมลารปริมาตร 1.8 มิลลิลิตร เขย่าเบา ๆ เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ปดฝาหลอดแลวเขยาให สารละลายเขากัน ตั้งทิ้งไว 24 ชั่วโมง

2. การวิเคราะห์ตัวอย่าง นำสารละลายจากขอ 1 (จากที่ตั้งทิ้งไว 24ชั่วโมง) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใสลงในหลอดทดลองขนาดกลาง เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรประมาณ 10 มิลลิลิตร ลงไปก่อนแลวเติมกรดอะซิติก 1 โมลาร ปริมาตร 200 ไมโครลิตร และเติมสารละลายไอโอดีน 400 ไมโครลิตร จากนั้นจึงเติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เขย่าและตั้งทิ้งไว 20 นาที และทำเช่นเดียวกันนี้ แต่ไม่ใส่สารตัวอย่างเพื่อใชเป็นแบลงก (blank) วัดความเขมสีของสารละลาย โดยใชสเปกโทรโฟโตมิเตอรที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร เพื่อวัดจากคาการดูดกลืนแสง

3. การเตรียมสารละลายมาตรฐานอะไมโลสสำหรับสรางกราฟมาตรฐาน ชั่งอไมโลสบริสุทธิ์ 0.04 กรัม ใสขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมเอทธานอล 95% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าเบา ๆ ไม่ควรใหอะไมโลสเกาะผนังขวด เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซดเข้มข้น 1 โมลารปริมาตร 9 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขยาใหสารละลายเขากัน

วิธีวิเคราะห์ เจลาติน

วิธีวิเคราะห์จะทำการบดเมล็ดข้าว 8 – 10 เมล็ด โดยเครื่อง Wig L Bug Amalgamator นาน 1 นาที หรือบดด้วย cyclone sample mil ที่มีตะแกรงขนาด 0.40 มิลลิเมตร ชั่งแป้งที่บดได้ 100 $\pm$ 1 มิลลิกรัม (ที่ความชื้น 12%) ใส่ในหลอดแก้วจำนวน 2 ซ้ำ เติม 95% ethanol ที่ละลาย thymol blue 0.025 % ปริมาณ 0.20 มิลลิลิตร เติม 0.20 N KOH ปริมาณ 2.00 มิลลิลิตร ปั่นของเหลวในหลอดนาน 2 – 3 วินาที ด้วย test tube mixer เพื่อให้แป้งลอยตัว ต้ม

หลอดแก้วในน้ำเดือดพล่านทันที ปิดฝาหลอดด้วยลูกแก้ว ต้มนาน 8 นาที (ต้มทีละหลอดตามลำดับ ระวังระดับน้ำมิให้สูงเกินไป ให้น้ำแป้งในหลอดขึ้นสูงเพียง 2/3 ของหลอด) เมื่อครบ 8 นาที นำขึ้นจากน้ำเดือด ปั่นบน test tube mixer เพื่อให้น้ำแป้งเข้ากันทั่วถึง ทำให้แป้งเย็นโดยแช่หลอดทดลองในน้ำแข็งเย็นจัด นาน 20 นาที วางหลอดที่มีแป้งในแนวนอนบนกระดาบกราฟที่มีช่องเบ่งละเอียดถึง 1 มิลลิลิตร วางไว้นาน 30 นาที อ่านระยะทางที่เป้งสุกไหล ดังนี้

ระยะทางที่แป้งไหล (มิลลิเมตร) 25 – 40 ความคงตัวของแป้งสุก = แป้งแข็ง

ระยะทางที่แป้งไหล (มิลลิเมตร) 41 – 60 ความคงตัวของแป้งสุก = แป้งปานกลาง

ระยะทางที่แป้งไหล (มิลลิเมตร) 61 – 100 ความคงตัวของแป้งสุก = แป้งอ่อน

ภาคผนวก ง วิธีวิเคราะห์ผลทางเคมีในฟางข้าว

วิธีวิเคราะห์ ปริมาณลิกนิน (Lignin)

การวิเคราะห์

การวิเคราะห์หาปริมาณ lignin ทำโดยวิธี acid detergent จะต้องวิเคราะห์ acid detergent fiber ก่อน โดย detergent จะละลายเอาโปรตีนและสารอื่นที่ละลายได้ในกรด ซึ่งอาจจะรบกวนการวิเคราะห์ lignin ออกไป กากที่ได้จากการวิเคราะห์ acid detergent fiber จะเป็น lignocellulose เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งเมื่อนำมาต้มกับกรดกำมะถัน 42% cellulose จะละลายไป เหลือกากที่ประกอบด้วย lignin และเถ้าที่ไม่ละลายในกรด (acid insoluble ash) อย่างไรก็ดีในตัวอย่างที่มี cutin สูง ซึ่ง cutin จะถูกนับเป็นส่วนของ lignin ด้วยวิเคราะห์ ดังนี้

1) เตรียม acid detergent fiber ใน crucible จากนั้นเติมกรดซัลฟิวริก 72% ลงไปประมาณ
ครึ่งถ้วย คนไม่ให้เป็นก้อนด้วยแท่งแก้ว

2) วางถ้วยไว้ที่ อุณหภูมิ 20 – 23 องศาเซลเซียส หลังจาก 3 ชั่วโมง ใช้ปั๊มสุญญากาศที่ปั๊มกรดออกให้หมด ล้างตะกอนอีกครั้งด้วยกรดซัลฟิวริก 72% แล้วกรองอีกครั้ง จากนั้นล้างด้วยน้ำร้อน (85 – 95 องศาเซลเซียส) จนหมด

3) อบข้ามคืนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ชั่งเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นจนอุณหภูมิเหลือ 250 องศาเซลเซียส นำเข้าโถคูดความชื้น เมื่อเย็นแล้วชั่ง

วิธีคำนวณ

Lignin % on dry matter basic = [(wt of crucible and lignin – wt of crucible and ash) / wt of sample on dry matter basic] x100

วิธีวิเคราะห์ ปริมาณโฮโลเซลลูโลส (Holocellulose)

วิธีวิเคราะห์มีขั้นตอนการทดลอง ดังนี้

1) ชั่งน้ำหนักแห้งของตัวอย่างประมาณ 3 กรัม ใส่ลงในขวดก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร

2) เติมน้ำกลั่น 160 มิลลิลิตร และกรดอะซิติก 0.5 มิลลิลิตร และโซเดียมคลอไรต์ 1.5 กรัม ตามลำดับ ลงในขวดก้นกลมและทำการทดลองในตู้ควัน

3) นำขวดกันกลมไปตั้งใน water bath ที่มีอุณหภูมิประมาณ 70 – 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยเขย่าขวดอย่างสม่ำเสมอ

4) หลังจากครบ 1 ชั่วโมง เติมกรดอะซิติก 0.5 มิลลิลิตร ตามด้วย โซเดียมคลอไรต์ 1.5 กรัม ลงในสารละลายที่ยังร้อนอยู่แล้วเขย่าขวด

5) หลังจากครบ 2 ชั่วโมงและ 3 ชั่วโมง ให้ปฏิบัติตามข้อ 4 เมื่อครบชั่วโมง

6) นำขวดก้นกลมมาวางในอ่างน้ำแข็งจนกระทั่งสารละลายในขวดมีอุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส แล้วนำสารละลายมากรองผ่าน sinter glass crucible เบอร์ 3 ล้างด้วยน้ำเย็นและอะซีโตน หลังจากนั้นนำไปอบให้แห้งในเตาอบที่อุณหภูมิ 100 $\pm$ 5 องศาเซลเซียส หลังจากอบแล้วนำมาชั่งน้ำหนัก และเก็บตัวอย่างไว้วิเคราะห์หาปริมาณแอลฟาเซลลูโลสต่อไป

7) คำนวณหาปริมาณโฮโลเซลลูโลสจาก

เปอร์เซ็นต์โฮโลเซลลูโลส = (น้ำหนักแห้งของโฮโลเซลลูโลสหลังการอบ / นำหนักแห้งของตัวอย่าง) X 100

วิธีวิเคราะห์ ปริมาณเถ้า (Ash Content)

วิธีวิเคราะห์

1) ทำการเผาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 525 – 550 องศาเซลเซียส (เท่ากับอุณหภูมิที่ใช้เผาตัวอย่าง) นาน 30 นาที ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก (W1) และใส่ตัวอย่างในถ้วยกระเบื้องเคลือบชั่งให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 2 – 3 กรัม (W2)

2) นำไปเผาด้วยไฟอ่อนบนเตาไฟฟ้าหรือตะเกียงบุนเซน โดยเพิ่มความร้อนขึ้นทีละน้อย จนตัวอย่างไหม้เกรียมและเผาจนหมดควัน ในกรณีที่ตัวอย่างเป็นของเหลวหรือกึ่งแข็ง กึ่งเหลว ให้นำตัวอย่างไประเหยแห้งบนเครื่องอังน้ำก่อนนำไปเผาบนเตาไฟฟ้า

3) นำไปเผาต่อในเตาไฟฟ้า ที่อุณหภูมิ 525 –550 องศาเซลเซียส จนได้เถ้าสีขาว ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น ถ้าเถ้าไม่ขาว ให้นำเถ้าออกมาจากเตาเผา ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นแล้วหยดน้ำเล็กน้อยพอเปียกชุ่ม ระวังอย่าให้เถ้าฟุ้งหรือกระเด็น นำไประเหยให้แห้งบนเครื่องอังน้ำ

และทำซ้ำตามข้อ 2 จนได้เถ้าขาวและ ได้น้ำหนักคงที่ (น้ำหนักคงที่หมายความว่าผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 2 มิลลิกรัม) (W3)

วิธีคำนวณ

ปริมาณเถ้าทั้งหมดร้อยละของน้ำหนัก = (W3 –W1) / (W2 – W1) x 100

W1 = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบ (กรัม)

W3 = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบและเถ้า (กรัม)

W2 = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบและตัวอย่าง (กรัม)

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ–สกุล	นายเดชจรูญ เรืองฤทธิ์
วัน เดือน ปี เกิด	28 มกราคม 2539
สถานที่เกิด	เชียงราย
วุฒิการศึกษา	พ.ศ. 2561 วท. บ. (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยพะเยา, พะเยา
ที่อยู่ปัจจุบัน	37 หมู่ 9 บ้านป่ารวกใต้ ตำบล ธารทอง อำเภอ พาน จังหวัด เชียงราย รหัสไปรษณีย์ 57250
ผลงานตีพิมพ์	เดชจรูญ เรืองฤทธิ์ มนัส ทิตย์วรรณ และวิพรพรรณ์ เนื่องเม็ก. (2566). การประเมินผลของสารฆ่าเชื้อราและสารเคมีทางการเกษตรบางชนิดต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา Trichoderma phayaoense (L1 I3) ในระดับห้องปฏิบัติการ. แก่นเกษตร 48(1): 230 – 236. เดชจรูญ เรืองฤทธิ์ นครินทร์ สุวรรณราช และวิพรพรรณ์ เนื่องเม็ก. (2563). การคัดเลือกราเอนโดไฟท์และราจากดินเพื่อการย่อยสลายโพลิแลคติก แอซิค และโพลิเอททีลีน. แก่นเกษตร 48(1): 1203 – 1208.
รางวัลที่ได้รับ	–