ผลของปุ๋ยไนโตรเจนละลายช้าร่วมกับเชื้อ *Bacillus subtilis* ต่อการเจริญเติบโตและการยับยั้งการเกิดโรคทางดินในกล้ามะเขือเทศ

The Effect of Slow - Release Nitrogen Fertilizer with *Bacillus subtilis* on Growth and Inhibition of Soil Borne Disease in Tomato Seedling

นริศรา จำปา[1] ธงชัย มาลา[2] ศุภชัย อำคา[3] และกนกกร สินมา[4*]

Naritsara Champa[1], Thongchai Mala[2], Suphachai Amkha[3] and Kanokkorn Sinma[4*]

บทคัดย่อ

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของปุ๋ยไนโตรเจนละลายช้า (11-48-0) ชนิดเคลือบด้วย *Bacillus subtilis* (BS) ต่อการเจริญเติบโตและการยับยั้งการเกิดโรคทางดินในกล้ามะเขือเทศ ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *B. subtilis* ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคโคนเน่าจาก *Sclerotium rolfsii* และ *Rhizoctonia solani* ในห้องปฏิบัติการ โดยตรวจวัดการเจริญของเชื้อราโรคพืช เทียบกับตำรับควบคุมเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน *B. subtilis* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *S. rolfsii* และ *R. solani* ได้ 56.33 และ 63.33 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อเทียบกับตำรับควบคุม การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของปุ๋ยไนโตรเจนละลายช้าเคลือบด้วย BS ต่อการเจริญเติบโตและการยับยั้งการเกิดโรคโคนเน่าในกล้ามะเขือเทศ วางแผนแบบสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 12 ซ้ำ และ 6 ตำรับการทดลอง ซึ่งผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าตำรับควบคุมและตำรับที่ใส่ปุ๋ยเคลือบด้วย BS ต้นมะเขือเทศมีความสูง น้ำหนักสดต้น รากและความยาวรากสูงกว่าในตำรับที่ใส่เชื้อ *S. rolfsii* และเชื้อ *R. solani* ร่วมด้วย โดยการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนละลายช้าเคลือบด้วย BS มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมโรคโคนเน่าที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *S. rolfsii* และเชื้อ *R. solani* ในมะเขือเทศในระยะกล้า

คำสำคัญ: ปุ๋ยไนโตรเจนละลายช้า *Bacillus subtilis Sclerotium rolfsii Rhizoctonia solani* มะเขือเทศ

Abstract

The purpose of this study was to investigate the efficiency of slow-release nitrogen (N) fertilizer (11-48-0) with *Bacillus subtilis* (BS) on growth and inhibition of soil borne disease in tomato. This study was divided into two experiments. Experiment 1, effect of slow-release N fertilizer with BS was inhibited of rotten stem of tomato caused by *Sclerotium rolfsii*

[1] นิสิตปริญญาโท สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการจัดการดิน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

[2] รศ.ดร., ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

[3] ผศ.ดร., ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

[4] อ.ดร., ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

[1] Master Student, Major of Soil Science and Management Technology, Kasetsart University, Nakhon Pathom, 73140

[2] Assoc. Prof. Dr., Department of Soil Science, Faculty of Agriculture at KamphaengSaen, Kasetsart University, Nakhon Pathom, 73140

[3] Asst. Prof. Dr., Department of Soil Science, Faculty of Agriculture at KamphaengSaen, Kasetsart University, Nakhon Pathom, 73140

[4] Dr., Department of Soil Science, Kasetsart University, Faculty of Agriculture at KamphaengSaen, Nakhon Pathom, 73140

[*] Corresponding author: Tel.: 0343514893. E-mail address: fagrkks@ku.ac.th

and *Rhizoctonia solani* in laboratory. The data collection inhibited of disease percentage on 7 day. The results shown that the slow-release N fertilizer with BS could be inhibited mycelial growth and over grew the colony of *S. rolfsii* and *R.solani* were 56.33 and 63.33 percent, respectively. Experiment 2, effect of slow-release N fertilizer with BS was enhanced growth and inhibited of rotten stem in tomato seedling. The experimental design used Completely Randomized Design (CRD) with 12 replications and 6 treatments. The results showed that non- fertilizer (control) and fertilizer+BS application treatments gave the plant height, plant weight, root weight and root length higher than *S. rolfsii* and *R. solani* application treatments. By the time, applying slow-release nitrogen (N) fertilizer with BS reduced the percentage of *S. rolfsii* and *R. solani* infected in tomato seedlings.

Keywords: Slow-Released Fertilizer, *Bacillus subtilis, Sclerotium rolfsii, Rhizoctonia solani*, Tomato

บทนำ

มะเขือเทศ (Tomato: *Lycopersicon esculentum* Mill, วงศ์ Solanaceae) เป็นพืชที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย การควบคุมโรคทั้งในระยะกล้าจนกระทั่งเก็บเกี่ยวเป็นปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพและปริมาณผลผลิตมะเขือเทศโดยแหล่งปลูกที่สำคัญของประเทศไทยอยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ รองลงมาได้แก่ภาคเหนือ โดยมีพื้นที่ปลูกมะเขือเทศทั่วประเทศประมาณ 34,903 ไร่ ในปี 2558 [1] และมีมูลค่าการส่งออก 281.05 ล้านบาท [2] ปัจจุบันโรคโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อราทางดินนั้นเป็นโรคที่มีความสำคัญอย่างมาก ซึ่งสามารถสร้างความเสียหายในทุกระยะการเติบโตของมะเขือเทศ ตั้งแต่เริ่มเพาะกล้าไปจนระยะให้ผลผลิต พืชที่แสดงอาการเน่าคอดิน คือโคนต้นเน่าช้ำ ต้นกล้าหักพับและแห้งตายอย่างรวดเร็ว [3] เชื้อราสาเหตุโรคที่สำคัญคือ *S. rolfsii* และ *R. solani* ซึ่งแพร่ระบาดก่อให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตอย่างมาก [4] การระบาดของโรคในพืชวงศ์ Solanaceae ซึ่งส่วนใหญ่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ และอุตสาหกรรมพืชของประเทศไทย เช่นพริกและมะเขือเทศ เป็นต้น

ปัจจุบันพบว่าการให้ปุ๋ยอย่างเหมาะสมร่วมกับจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการควบคุมโรคด้วยและช่วยส่งเสริมการต้านทานโรคแก่พืช โดยปุ๋ยละลายช้าเป็นปุ๋ยที่สามารถปลดปล่อยธาตุอาหารออกมาทีละน้อย อย่างสม่ำเสมอและต่อเนื่องเป็นเวลานาน อีกทั้งยังสามารถการลดการสูญเสียธาตุอาหาร ลดอาการไหม้ของต้นกล้า ลดค่าใช้จ่ายด้านของแรงงานและช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช [5] เมื่อใช้ร่วมกับ *B. subtilis* ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของราก่อโรคจะสามารถส่งเสริมการเจริญและควบคุมโรคได้ไปพร้อมๆกัน การวิจัยนี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของปุ๋ยละลายช้าชนิดเคลือบด้วย *B. subtilis* ต่อการเจริญเติบโตของมะเขือเทศและการยับยั้งโรคเน่าคอดินที่เกิดจาก *S. rofsii* และ *R. solani* ในระยะกล้า เพื่อการผลิตพืชอย่างมีประสิทธิภาพ และช่วยลดอัตราการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช

วัสดุอุปกรณ์ และวิธีดำเนินการ

1. การศึกษาประสิทธิภาพผลของเชื้อ *B. subtilis* ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *S. rolfsii* และ *R. solani*

แยกเชื้อ *B. subtilis* จากปุ๋ยไนโตรเจนละลายช้า (Compo Expert Germany) ด้วยอาหาร Nutrient Glucose Agar (NGA) จนได้เชื้อบริสุทธิ์และทดสอบด้วยวิธี Dual Culture ใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่ปราศจากเชื้อ แตะโคโลนีเดี่ยวของ *B. subtilis* อายุ 24-48 ชั่วโมงที่เจริญบนอาหาร NGA ขีดเป็นแนวตรงยาว 3 เซนติเมตรลงอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จนเชื้อเจริญเต็มที่หลังจากนั้นเพาะเชื้อ *S. rolfsii* และ *R. solani* อายุ 7 วัน โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.7 มิลลิเมตร เจาะชิ้นวุ้นบริเวณปลายเส้นใย (Hyphal Tip Growth) ย้ายลงวางบนอาหาร PDA ที่ได้เพาะเชื้อแบคทีเรียลงไปก่อนแล้ว โดยให้ตำแหน่งการวางเชื้อมีระยะห่างกัน 6 เซนติเมตร บ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิห้อง ทำการทดลองจำนวน 4 ตำรับการทดลอง ตำรับการทดลองละ 5 ซ้ำดังนี้

ตำรับที่ 1 เชื้อรา *S. rolfsii* เพียงชนิดเดียว (ตำรับควบคุม)

ตำรับที่ 2 เชื้อรา *R. solani* เพียงชนิดเดียว (ตำรับควบคุม)

ตำรับที่ 3 เชื้อ *B. subtilis* ร่วมกับเชื้อรา *S. rolfsii*

ตำรับที่ 4 เชื้อ *B. subtilis* ร่วมกับเชื้อรา *R. solani*

ตรวจวัดการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยวัดรัศมีของเส้นใยราจากจุดกลางชิ้นวุ้นไปในแนวตั้งฉากกับขีดโคโลนีของเชื้อแบคทีเรีย หลังบ่มเชื้อครบ 7 วัน คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (Percent Inhibition of Radial Growth) ของเชื้อราสาเหตุโรค เปรียบเทียบกับการเจริญในชุดควบคุมที่ไม่มีการเพาะเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ดังนี้

$$\text{การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา} = \left(\frac{R_1 - R_2}{R_1} \right) \times 100$$

เมื่อ R_1 คือ ค่าเฉลี่ยของรัศมีของเส้นใยเชื้อราในจานเลี้ยงเชื้อในตำรับควบคุม

R_2 คือ ค่าเฉลี่ยของรัศมีของเส้นใยเชื้อราในจานเลี้ยงเชื้อในตำรับการทดลอง

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของปุ๋ยไนโตรเจนละลายช้าชนิดเคลือบด้วยจุลินทรีย์ *B. subtilis* ต่อการเจริญเติบโตและการยับยั้งการเกิดโรคโคนเน่าในกล้ามะเขือเทศ

วางแผนทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) ทั้งหมด 6 ตำรับการทดลอง ตำรับการทดลองละ 12 ซ้ำ ซึ่งมีตำรับการทดลอง ดังนี้

ตำรับที่ 1 ตำรับควบคุม ไม่ใส่ปุ๋ย

ตำรับที่ 2 ปุ๋ยไนโตรเจนละลายช้าเคลือบด้วย BS อัตรา 0.03 กรัม/กระถาง

ตำรับที่ 3 เชื้อ *S. rolfsii* อัตรา 0.5 กรัม/กระถาง เพียงอย่างเดียว

ตำรับที่ 4 ปุ๋ยไนโตรเจนละลายช้าเคลือบด้วย BS อัตรา 0.03 กรัม/กระถาง และ เชื้อ *S. rolfsii* อัตรา 0.5 กรัม/กระถาง

ตำรับที่ 5 เชื้อ *R. solani* อัตรา 0.5 กรัม/กระถาง เพียงอย่างเดียว

ตำรับที่ 6 ปุ๋ยไนโตรเจนละลายช้าเคลือบด้วย BS อัตรา 0.03 กรัม/กระถาง และ เชื้อ *R. solani* อัตรา 0.5 กรัม/กระถาง

ฆ่าเชื้อผิวเมล็ดมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 4 ตามวิธีของ Murashige และ Skoog [6] โดยล้างผิวเมล็ดด้วย 95% เอทานอล เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง แช่ 1% Hypochloride เป็นเวลา 20 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง แช่เมล็ดไว้ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 1 คืน จากนั้นจึงนำมาแช่ใน1 % Hypochloride 5 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ใช้กระดาษทิชชู่นึ่งฆ่าเชื้อซับให้แห้งและนำไปเพาะต่อไป เตรียมกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 นิ้ว โดยใช้วัสดุปลูก (พีทมอส) ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที โดยใส่ปุ๋ยไนโตรเจนละลายช้าเคลือบด้วย BS อัตรา 0.03 กรัม/กระถาง

เตรียมหัวเชื้อราโดยปรับปรุงจาก [7] ดังนี้ ต้มเมล็ดข้าวฟ่างในน้ำเดือด เป็นเวลานานประมาณ 20-30 นาที หรือเมล็ดข้าวฟ่างเริ่มปริแตกเล็กน้อย ผึ่งเมล็ดข้าวฟ่างบนตะแกรงเพื่อกำจัดน้ำส่วนเกินออก จากนั้นบรรจุในถุงพลาสติก ขนาด 12x18 นิ้ว ปริมาณ 50 กรัม/ถุง แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น เพาะเชื้อรา *S. rolfsii* และ *R. solani* อายุ 3-4 วัน โดยใช้ cork borer เจาะชิ้นวุ้นบริเวณปลายเส้นใย (Hyphal Tip Growth) ย้ายลงไปในถุงข้าวฟ่างที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน ก่อนจะนำไปใช้ผึ่งให้แห้งในที่ร่มและเก็บเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปใช้

การใส่เชื้อ *S. rolfsii* และ *R. solani* ที่เจริญบนเมล็ดข้าวฟ่างที่เตรียมโดยดัดแปลงจากวิธีของสมภพ [8] ในอัตรา 0.5 กรัม/กระถาง เมื่อกล้าอายุ 21 วัน โดยใส่เชื้อที่ความลึกประมาณ 1-2 เซนติเมตร และอย่าให้ติดโคนต้นกล้า กลบเล็กน้อย บันทึกผลเมื่อต้นกล้าอายุ 35 วัน หลังเพาะเมล็ดวัดความสูงของต้นกล้า โดยวัดจากโคนต้นขึ้นมา 1 เซนติเมตร จนถึงส่วนข้อบนสุดของต้นกล้า [8] น้ำหนักสดของส่วนเหนือดิน น้ำหนักสดรากและนำมาวัดความยาวราก การเกิดโรคโดยตรวจนับจำนวนต้นกล้าที่รอดชีวิตในแต่ละตำรับการทดลอง หลังจากใส่เชื้อรา *S. rolfsii* และ *R. solani* เป็นเวลา 14 วัน และคำนวณเปอร์เซ็นต์ต้นรอดชีวิต ดังสมการ

$$\text{การคำนวณเปอร์เซ็นต์ต้นรอดตาย} = \frac{\text{จำนวนต้นที่รอดชีวิต x 100}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}}$$

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) เพื่อหาค่า P-value หากข้อมูลแสดงความแตกต่างที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ 99 เปอร์เซ็นต์ และเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลตามวิธีการของ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

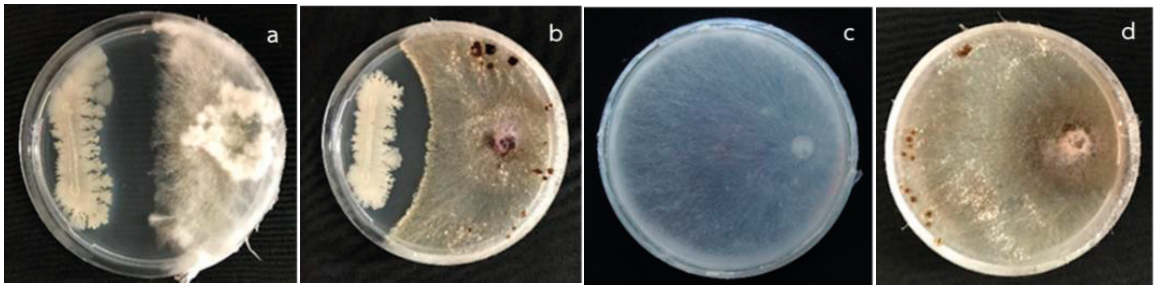
ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

1. การศึกษาประสิทธิภาพผลของเชื้อ *B. subtilis* ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *S. rolfsii* และ *R. solani*

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ *B. subtilis* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *S. rolfsii* และ *R. solani* บนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน (ภาพที่ 1) พบว่า *B. subtilis* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของราก่อโรคทั้ง 2 ชนิด โดยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *S. rolfsii* และ *R. solani* ในตำรับที่ 3 และ 4 คือ 56.33 และ 63.33 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อเทียบกับตำรับที่ 1 และ 2 ซึ่งเป็นตำรับควบคุมที่มีเชื้อราเจริญเพียงชนิดเดียว (ตารางที่ 1) ซึ่งสอดคล้องกับวรรณวิไลและจิระเดช [9] ที่ได้คัดเลือกแบคทีเรียที่ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Alternaria brasicicola* โดยมีกลไกการยับยั้ง 2 รูปแบบ คือการสร้างปฏิชีวนะสารออกมายับยั้งการเจริญทำให้เกิดบริเวณยับยั้งและของแบคทีเรียการเจริญอย่างรวดเร็วทำให้เชื้อ *A. brassicicola* เจริญได้น้อยไม่สามารถแข่งขันได้ ทั้งยังพบว่าการใช้เชื้อ *Bacillus* sp. BB165 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มของเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง [10-11] อีกทั้ง *Bacillus* sp. BPR7 สามารถผลิตสารยับยั้งจุลินทรีย์ เช่น Laminarinase, Cellulase, HCN และ Siderophore ได้ เป็นต้น

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพผลของเชื้อ *B. subtilis* ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *S. rolfsii* และ *R. solani* ในสภาพห้องปฏิบัติการ

ตำรับการทดลอง	7 วันหลังจากใส่เชื้อราสาเหตุโรคการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา (%)
1	0.00
2	0.00
3	56.33 ± 6.35
4	63.33 ± 8.50

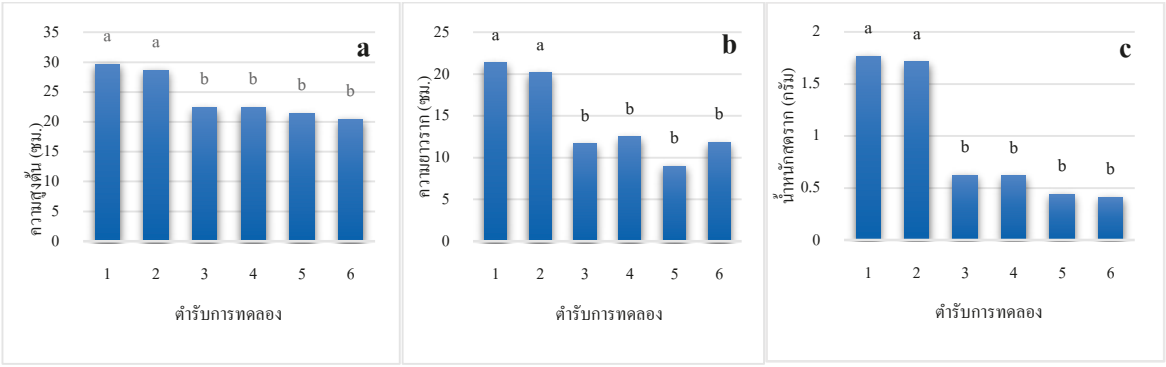


ภาพที่ 1 การยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคโคนเน่า *S. rolfsii* (a) และ *R. solani* (b) เมื่อเพาะเลี้ยงร่วมกับ *B. subtilis* ด้วยวิธี Dual culture บนอาหาร PDA เปรียบเทียบการเจริญในตำรับควบคุมที่มี *S. rolfsii* (c) และ *R. solani* (d) เจริญเพียงอย่างเดียว (เชื้อรา *S. rolfsii* และ *R. solani* อยู่ทางขวามือ และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์อยู่ทางซ้ายมือ)

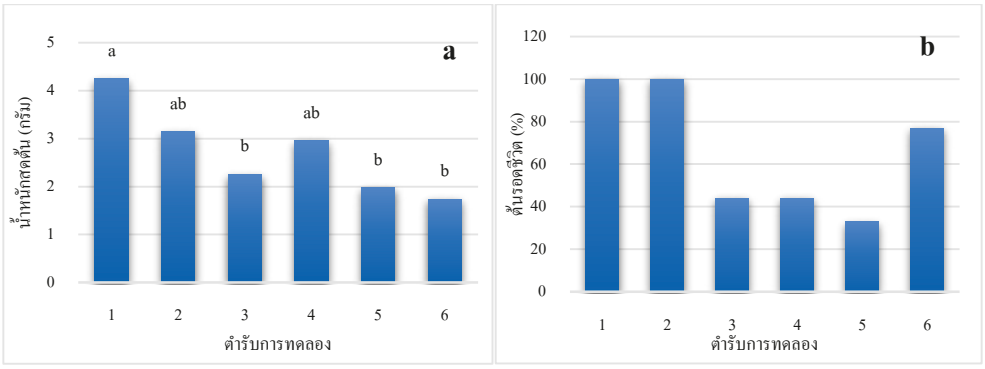
2. ผลของปุ๋ยไนโตรเจนละลายช้าร่วมกับเชื้อ *B. Subtilis* ต่อการเจริญเติบโต และยับยั้งการเกิดโรคโคนเน่าในกล้ามะเขือเทศ

จากผลการทดลองเบื้องต้นในระดับห้องปฏิบัติการพบว่า *B. subtilis* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของราก่อโรคทั้ง 2 ชนิด จึงได้ทดลองศึกษาผลของปุ๋ยชนิดนี้ในกล้ามะเขือเทศ โดยใส่ปุ๋ยไนโตรเจนละลายช้าเคลือบด้วย BS อัตรา 0.03 กรัม/กระถาง พบว่ามีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าด้านความสูงต้น ความยาวราก และน้ำหนักสดรากของกล้ามะเขือเทศมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99% (ภาพที่ 2) คือมีค่าสูงที่สุดในตำรับที่ 1 และ 2 ที่ไม่มีการใส่เชื้อราก่อโรคดังแสดงใน ภาพที่ 2 a b และ c มีความสูงต้น ความยาวราก และน้ำหนักสดรากสูงกว่าในตำรับที่ใส่เชื้อรา *S. rolfsii* และ *R. solani* ร่วมกับปุ๋ยไนโตรเจนละลายช้าที่เคลือบด้วย BS ส่วนในตำรับที่ 3 4 5 และ 6 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และน้ำหนักสดต้นนั้นมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% มีค่าสูงที่สุดในตำรับที่ 1 ดังแสดงในภาพที่ 3a ส่วนในตำรับที่ 3 และ 4 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญคือในตำรับที่ 4 ที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนละลายช้าที่เคลือบด้วย BS สามารถให้น้ำหนักสดต้นที่สูงกว่าในตำรับที่มีการใส่เชื้อโรคเพียงอย่างเดียว สอดคล้องกับรายงานของสุวรรณี [12] ที่รายงานว่าจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Plant Growth Promoting Rhizobacteria; PGPR) เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในดินบริเวณรอบรากพืช (Rhizosphere) และช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช ซึ่ง [13-14] ได้ศึกษาผลของการใช้ *B. subtilis* ที่แยกได้จากชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวขาวดอกมะลิ 105 และปทุมธานี 1 และ *B. subtilis* สายพันธุ์ TU-Orga1 ที่แยกจากดินบริเวณรอบรากข้าวผสมกับเชื้อปฏิปักษ์ ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวและประสิทธิภาพในการควบคุมโรค พบว่า ความยาวราก ความยาวลำต้น น้ำหนักแห้งของข้าว ความสูงต้น จำนวนต้น การแตกกอ จำนวนเมล็ดต่อรวง และผลผลิตเพิ่มขึ้นอีกด้วย นอกจากนั้นยังมีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ Glucanase ที่สามารถย่อยสลาย Glucans และ Chitinase ที่ย่อยผนังเซลล์ของเชื้อราได้ [15]

นอกจากนี้ยังพบว่า เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของกล้ามะเขือเทศในตำรับการทดลองที่ 1 และ 2 มีต้นรอดตาย 100% ซึ่งสูงกว่าในตำรับการทดลองที่ 3 4 และ 5 ซึ่งมีจำนวนต้นรอดตายระหว่าง 30-59% ตำรับที่ 6 มีจำนวนต้นรอดตาย 77% เมื่อเทียบกับตำรับควบคุมดังแสดงใน ภาพที่ 3 – b แสดงให้ว่าปุ๋ยไนโตรเจนละลายช้าเคลือบด้วย BS มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อ *R. solani* ได้โดยทำให้ต้นกล้ามะเขือเทศมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตที่สูงกว่าในตำรับอื่นที่ใส่เชื้อราก่อโรค ซึ่ง [16] พบว่า *B. subtilis* ซึ่งมีคุณสมบัติในการสร้างสารปฏิชีวนะได้หลายชนิด หรือมีกลไกต่างๆ ที่ขัดขวางกลไกที่ก่อให้เกิดความรุนแรงในการเกิดโรค และเนื่องจากเชื้อ *S. rolfsii* สามารถสร้าง oxalic acid [17] น้ำย่อยพวก pectin acid และ cellulolytic enzyme ออกมาย่อยเซลล์พืช [18] ทำให้เนื้อเยื่อที่บริเวณรอบโคนต้นและรากถูกย่อยสลายอย่างรวดเร็ว เนื่องจากอาการเหี่ยวหรือตาย ถ้ามีความชื้นสูงในบริเวณแผล มักจะพบเส้นใยสีขาวเจริญอยู่ ต่อมาเกิดการสร้างเม็ดสเคลอโรเทียมที่มีทรงกลม สีขาว และต่อมาจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลในที่สุด [19-20]



ภาพที่ 2 ความสูงของต้นกล้า (a) ความยาวราก (b) น้ำหนักสดราก (c) ในต้นกล้ามะเขือเทศ



ภาพที่ 3 น้ำหนักสดต้น (a) และเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นกล้า (b) ในต้นกล้ามะเขือเทศ

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาผลของปุ๋ยไนโตรเจนละลายช้าเคลือบด้วย BS ต่อการเจริญเติบโตและยับยั้งการเกิดโรคทางดินในกล้ามะเขือเทศ ในสภาพห้องปฏิบัติการพบว่า *B. subtilis* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. rolfsii* และ *R. solani* ได้ 56.33 และ 63.33% และการทดลองในระยะต้นกล้าพบว่าในตำรับการทดลองที่ปุ๋ยไนโตรเจนละลายช้าเคลือบด้วย BS แต่ไม่ได้ใส่เชื้อ *S. rolfsii* และ *R. solani* มีผลทำให้ต้นกล้ามะเขือเทศมีความสูง ความยาวราก น้ำหนักสดต้นและรากมากกว่าในตำรับที่ใส่เชื้อราใส่เชื้อรา *S. rolfsii* และ *R. solani* โดยการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนละลายช้าเคลือบด้วย BS มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมโรคโคนเน่าที่มีสาเหตุมาจาก *R. solani* ในมะเขือเทศในระยะกล้า โดยทำให้ต้นกล้ามีอัตราการรอดชีวิตสูง

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน และทุนสนับสนุนจากบริษัท สหายเคมีภัณฑ์ จำกัด และบริษัท Compo Expert Germany

เอกสารอ้างอิง

[1] สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร. (2558). **เนื้อที่เพาะปลูก เนื้อที่เก็บเกี่ยว ผลผลิต และผลผลิตต่อไร่ พันธุ์โรงงานและบริโภค ปี 2556-2558**. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (ออนไลน์). http://www.oae.go.th/ewt_news.php?nid=13577

[2] กรมศุลกากร. (2557). **สถิติการนำเข้า-ส่งออก**. สืบค้นเมื่อ 24 มีนาคม 2557, จาก http://www.customs.go.th/Statistic/Statisticindex.jsp.

[3] ศศิธร วุฒิวณิชย์. (2549). **โรคของผักและการควบคุมโรค**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

[4] นันทิยา รู้บุญ. (2541). **การปรับปรุงสารเสริมที่ใช้ผสมผงเชื้อรา *Trichoderma harzianum* เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมโรคโคนเน่าของพริกซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii***. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. นครปฐม: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

[5] Amkha, S., Sakamoto, A., Tachibana, M. and Inubuchi, K. (2009). "Controlled mineralizing acetaldehyde condensation urea (CM-CDU) fertilizer can reduce nitrate leaching and N_2O emission from an Andisols with continuous cropped Komatsuna (*Brassica napa* L.)", **Soil Science and Plant Nutrition**. 42, 351-367. Doi: 10.1111-j.1747-0747-0765.2009.00418.x

[6] Murashige, T. and F. Skoog. (1962). "A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassay with Tobacco Culture", **Journal of Plant Physiology**. 15, 473-497.

[7] จิระเดช แจ่มสว่าง และวรรณวิไล อินทนู. (2542). "การใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาควบคุมโรคพืช", ใน **เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการ ฉบับที่ 2 โครงการเกษตรกู้ชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์**. นครปฐม: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

[8] สมภพ พานทอง. (2556). **การพัฒนาวัสดุเพาะกล้าที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้า และวัสดุปลูกที่มีประสิทธิภาพควบคุมโรคโคนเน่าของมะเขือเทศ ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii***. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

[9] วรรณวิไล อินทนู และจิระเดช แจ่มสว่าง. (2545)."การคัดเลือกและการใช้จุลินทรีย์ที่แยกได้จากผิวพืชในการควบคุมเชื้อรา *Alternaria brasicicola* สาเหตุโรคใบจุดของคะน้า", ใน **การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 40**. 4-7 กุมภาพันธ์ 2545, กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

[10] ประคอง เย็นจิตต์. (2547). **การคัดเลือกและการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ในระยะก่อนและหลังเก็บเกี่ยว**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

[11] Glick B.R. (1995). "The enhancement of plant growth by free-living bacteria", **Canadian Journal of Microbiology**. 41, 109-117.

[12] สุวรรณี แทนธานี. (2555) "จุลินทรีย์เทคโนโลยีชีวภาพเพื่อการปรับปรุงบำรุงดิน", **วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ,** 60(190), 36-39.

[13] อนุเทพ ภาสุระ. (2558). "การใช้ชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ *Bacillus subtilis* ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวที่ปลูกในสภาวะดินเค็มจากน้ำทะเล", ใน **รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ ประจำปี งบประมาณ 2557**. สำนักบริหารโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ : สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา.

[14] จตุพร บุณณดากุล และดุสิต อธินุวัฒน์. (2555). "ประสิทธิภาพของเชื้อปฏิปักษ์ผสมสายพันธุ์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตข้าวอินทรีย์และควบคุมโรค", **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**. 1(3), 189-196.

[15] นิตยา สุขทวี. (2549**). การโคลนยีนไคติเนสจากเชื้อ *Bacillus* spp. ที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคพืช**. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

[16] จิระเดช แจ่มสว่าง. (2549). **การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี**. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ นครปฐม.

[17] Punja. Z.K. (1985). "The biology ecology, and control of *Sclerotium rolfsii*", **Annual Review of Phytopathology**. 23, 97-127.

[18] กานต์ คำทรัพย์. (2543). "การควบคุมโรคโคนเน่าของมะเขือเทศด้วยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์", ใน **รายงานวิชาการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคโดยชีววิธี (Biological Control of Plant Pathogens)**. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

[19] เฉลิมลาภ ช่วยประสิทธิ์ จินตนา ชนะ สมศิริ แสงโชติ พงศ์พันธุ์ เธียรหิรัญ ศุภชัย บุปผพงศ์ และภัทรธรา จินตนทิพยวรรณ. (2525). **โรคของธัญพืชเมืองหนาว**. สำนักงานเกษตรและสหกรณ์ภาคเหนือ: เชียงใหม่.

[20] Agrios, G.N. (1978). **Plant Pathology**. Acedemic Press, New York.