



ผลของไนโตรเจนและแมงกานีสร่วมกับ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ SM1 ต่อ
Rigidoporus microporus สายพันธุ์ NK6 สาเหตุโรครากขาว
ของยางพารา (*Hevea brasiliensis*)

Effect of Nitrogen and Manganese with *Bacillus subtilis* SM1 Strain on
White Root Rot Disease (*Rigidoporus microporus* NK6 Strain)
of Para Rubber (*Hevea brasiliensis*)

อุบลวรรณ พลทวีชัย
Ubonwan Pholthaweetchai

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการทรัพยากรดิน
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Degree of Master of Science in Soil Resource Management
Prince of Songkla University

2564

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์



ผลของไนโตรเจนและแมงกานีสร่วมกับ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ SM1 ต่อ
Rigidoporus microporus สายพันธุ์ NK6 สาเหตุโรครากขาว
ของยางพารา (*Hevea brasiliensis*)

Effect of Nitrogen and Manganese with *Bacillus subtilis* SM1 Strain on
White Root Rot Disease (*Rigidoporus microporus* NK6 Strain)
of Para Rubber (*Hevea brasiliensis*)

อุบลวรรณ พลทวิชัย
Ubonwan Pholthaweechai

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการทรัพยากรดิน
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Degree of Master of Science in Soil Resource Management
Prince of Songkla University

2564

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของไนโตรเจนและแมงกานีสร่วมกับ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ SM1 ต่อ
Rigidoporus microporus สายพันธุ์ NK6 สาเหตุโรครากขาวของยางพารา
(Hevea brasiliensis)

ผู้เขียน นางสาวอุบลวรรณ ผลทวีชัย

สาขาวิชา การจัดการทรัพยากรดิน

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

คณะกรรมการสอบ

.....
 (รองศาสตราจารย์ ดร.อัจฉรา เฟื่องหนู)

.....ประธานกรรมการ
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ขวัญตา ขาวมี)

.....กรรมการ
 (รองศาสตราจารย์ ดร.อัจฉรา เฟื่องหนู)

.....กรรมการ
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุขุมภรณ์ แสงงาม)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
 ของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการทรัพยากรดิน

.....
 (ศาสตราจารย์ ดร.ดำรงศักดิ์ ฟ้างู๋สง)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ

(รองศาสตราจารย์ ดร.อัจฉรา เฟื่องหนู)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลงชื่อ

(นางสาวอุบลวรรณ ผลทวีชัย)

นักศึกษา

(4)

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และ
ไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ

(นางสาวอุบลวรรณ ผลทวีชัย)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์	ผลของไนโตรเจนและแมงกานีสร่วมกับ <i>Bacillus subtilis</i> สายพันธุ์ SM1 ต่อ <i>Rigidoporus microporus</i> สายพันธุ์ NK6 สาเหตุโรครากขาวของ ยางพารา (<i>Hevea brasiliensis</i>)
ผู้เขียน	นางสาวอุบลวรรณ ผลทวีชัย
สาขาวิชา	การจัดการทรัพยากรดิน
ปีการศึกษา	2563

บทคัดย่อ

ดินในภาคใต้ของประเทศไทยส่วนใหญ่เป็นดินที่มีพัฒนาการสูง จึงมีการสูญเสียธาตุอาหารได้ง่ายโดยเฉพาะธาตุไนโตรเจน และพื้นที่ส่วนใหญ่เป็นดินกรดทำให้แมงกานีสละลายออกมาเกินค่ามาตรฐาน รวมทั้งมีการใช้พื้นที่ปลูกยางพาราอย่างต่อเนื่องในพื้นที่เดิมและละเลยการใส่ปุ๋ย ทำให้ยางพาราได้รับธาตุอาหารไม่เพียงพอ อ่อนแอและเชื้อรา *Rigidoporus microporus* สาเหตุโรครากขาวเข้าทำลายได้ง่าย โดยแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* มีประสิทธิภาพควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ จึงศึกษาผลของไนโตรเจนและแมงกานีสร่วมกับแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ในการยับยั้งเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 และการใส่ปุ๋ยร่วมกับแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ในการควบคุมเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 สาเหตุของโรครากขาวยางพารา โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ประกอบไปด้วย 1) ทดสอบในห้องปฏิบัติการ มี 3 ปัจจัย คือ ไนโตรเจน $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$ 5 ระดับ, แมงกานีส (MnSO_4) 5 ระดับ และไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส 5 ระดับ 2) การใส่ปุ๋ย 2 แบบ ประกอบไปด้วย 8 ทริทเมนต์ คือ 1. ปุ๋ยสูตร 20-8-20 และ 2. ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน (ชุดควบคุม, *B. subtilis*, *R. microporus* และ *B. subtilis* + *R. microporus*)

ผลการศึกษา พบว่า สภาวะที่มีไนโตรเจน หรือแมงกานีส หรือไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 สามารถเจริญได้ โดยในสภาวะที่มีไนโตรเจน และไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีสที่ระดับต่างๆ ทำให้การเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ลดลง และสภาวะที่มีแมงกานีสมากกว่า 0.056 โมลาร์ ทำให้การเจริญของเส้นใยเชื้อราลดลง โดยสภาวะที่มีไนโตรเจน หรือแมงกานีส หรือไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีสร่วมกับแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ได้มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้เส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ผิดปกติ บิดเบี้ยว และปลายเส้นใยโป่งพอง อย่างไรก็ตามการใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินและปุ๋ยสูตร 20-8-20 ร่วมกับการใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 สามารถลดการเกิดโรครากขาวที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *R. microporus* สาย

พันธุ์ NK6 ในส่วนของเนื้อดินและรากได้ 42-100 เปอร์เซ็นต์ โดยการใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน ร่วมกับการใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ทำให้การเจริญเติบโตทางด้านความสูงเนื้อดิน เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น และการสะสมธาตุอาหารของต้นยางพาราเพิ่มขึ้น

การใช้ไนโตรเจนและแมงกานีสร่วมกับแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 สามารถยับยั้ง การเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ได้ รวมทั้งการใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน ร่วมกับแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 สามารถลดการเกิดโรครากขาวของยางพาราที่มีสาเหตุ จากเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ได้มากกว่า 97 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น ควรพัฒนาแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ให้อยู่ในรูปแบบชีวภัณฑ์เพื่อความสะดวกต่อการนำไปใช้

Thesis Title	Effect of Nitrogen and Manganese with <i>Bacillus subtilis</i> SM1 Strain on White Root Rot Disease (<i>Rigidoporus microporus</i> NK6 Strain) of Para Rubber (<i>Hevea brasiliensis</i>)
Author	Ms. Ubonwan Pholthaweechai
Major Program	Soil Resources Management
Academic Year	2020

ABSTRACT

The southern soils have high development with easy loss of nutrients, especially nitrogen. Most rubber planting areas are acidic soils. Consequently, there is a high solubility of manganese to dissolve beyond the standard. Currently, areas of rubber (*Hevea brasiliensis*) plantation have increased continuously and neglected proper fertilizers in accordance with the recommendations, cause white root disease of para rubber (*Rigidoporus microporus*). *Bacillus subtilis* has been reported as antagonistic to a variety of plant pathogens. The objective of this work was to study the effect of nitrogen and manganese with *Bacillus subtilis* SM1 strain for inhibiting *Rigidoporus microporus* NK6 strain and fertilization application with *B. subtilis* strain SM1 for control white root disease of para rubber (*Rigidoporus microporus* NK6 strain). The study consisted of two parts. Part 1: Test in the laboratory with 3 factors, nitrogen [(NH₄)₂SO₄], manganese (MnSO₄) and a combination of nitrogen and manganese at 5 levels. Part 2: The study investigated the effects of fertilizer with soil test and those which were fertilized with 20-8-20 (control, *B. subtilis*, *R. microporus* and *B. subtilis* + *R. microporus*).

The results of in the combination environment of nitrogen or manganese or nitrogen with manganese, still *B. subtilis* SM1 strain was able to grow indifferently at all concentration. The increasing of nitrogen levels or nitrogen combined with manganese results a decrease in growth of *R. microporus* NK6 strain mycelium. Manganese at a concentration more than 0.056 molar decreased the growth of mycelium. With nitrogen or manganese or nitrogen-manganese combination in various

concentrations was also inhibited the growth of *R. microporus* NK6 strain mycelium by more than 80 percent, such as rough mycelium, uneven fiber sizes, distorted growth and distend end of mycelium. Moreover, fertilizer with soil test and those which were fertilized with 20-8-20 and a combination of *B. subtilis* SM1 strain reduced the incidence of white root rot fungal disease 42-100 percent. Fertilizer application based on soil testing with *B. subtilis* SM1 strain increased shoot system and stem diameter for rubber.

Nitrogen and manganese with *B. subtilis* SM1 strain was also inhibited the growth of *R. microporus* NK6 strain mycelium. Fertilizer application based on soil testing with *B. subtilis* SM1 strain reduced the incidence of white root rot fungal disease by more than 97 percent. There should be further develop to be in formulation.

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.อัจฉรา เพ็งหนู อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลักเป็นอย่างยิ่ง ที่กรุณาชี้แนะแนวทางและให้คำปรึกษา จนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี รวมทั้งประสบการณ์ต่างๆ ในการทำงานทั้งในสถานศึกษาและนอกสถานศึกษา และขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ขวัญตา ขาวมี ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุขุมภรณ์ แสงงาม กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิจากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ รวมทั้งดร.ปฏิมาพร ปลอดภัย กรรมการสอบผู้ทรงคุณวุฒิ ที่คอยให้คำแนะนำและแก้ไขข้อบกพร่อง และทุ่มเทเอาใจใส่เพื่อให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ ทุนการศึกษาที่ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักงานปลัดกระทรวง กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม และทุนอุดหนุนงานวิจัยจากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.)

ขอขอบคุณสาขาวิชาสัตวกรรมการเกษตรและการจัดการ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และบุคคลที่เกี่ยวข้องทุกท่าน ที่คอยให้คำแนะนำ และช่วยเหลือจนวิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณครอบครัว พี่ น้อง และเพื่อนๆ ทุกคนที่คอยเป็นกำลังใจ และสนับสนุนในทุกๆ ด้าน

อุบลวรรณ ผลทวีชัย

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(10)
รายการตาราง	(11)
รายการภาพ	(12)
รายการตารางผนวก	(14)
รายการภาพผนวก	(16)
บทที่	
1. บทนำ	1
บทนำตั้งเรื่อง	1
ตรวจเอกสาร	2
วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	19
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการวิจัย	20
วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี	20
วิธีการทดลอง	23
3. ผลการทดลอง	31
4. วิเคราะห์ผลการทดลอง	58
5. สรุปผลและข้อเสนอแนะ	67
เอกสารอ้างอิง	68
ภาคผนวก	87
ประวัติผู้เขียน	97

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
1.1 ผลของการวิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุอาหารในดินปลูกยางพาราปี 2552 และปี 2559-2560	4
1.2 สมบัติทางเคมีของดินปลูกยางพาราภาคใต้ในตอนและที่ลุ่ม	5
1.3 การใส่ปุ๋ยต้นยางพาราก่อนเปิดกรีดในพื้นที่เขตปลูกยางเดิม-เขตปลูกยางใหม่	7
1.4 ระดับธาตุอาหารพืชในดินปลูกยางพารา	8
1.5 การใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินสำหรับยางพาราอายุ 6 เดือน	9
1.6 การใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินสำหรับยางพาราอายุ 12, 15 และ 18 เดือน	10
2.1 พารามิเตอร์และวิธีการที่ใช้ในการวิเคราะห์สมบัติของดิน	29
2.2 พารามิเตอร์และวิธีการที่ใช้ในการวิเคราะห์สมบัติของพืช	30
3.1 ผลของไนโตรเจนและแมงกานีสต่อการสร้างรัศมีเอนไซม์แลคเคสของเชื้อรา <i>R. microporus</i> สายพันธุ์ NK6	34
3.2 ผลของไนโตรเจนร่วมกับแบคทีเรีย <i>B. subtilis</i> สายพันธุ์ SM1 ต่อการเจริญของเชื้อรา <i>R. microporus</i> สายพันธุ์ NK6 ในดินผสมเป็นเวลา 11 วัน	43
3.3 ผลวิเคราะห์ดินก่อนการทดลอง	45
3.4 พีเอชและแคตไอออนที่แลกเปลี่ยนได้ของดินหลังสิ้นสุดการทดลอง	46
3.5 สมบัติทางเคมีของดินปลูกยางพาราหลังสิ้นสุดการทดลอง	47
3.6 ความสูงเหนือดิน และเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นของยางพาราหลังสิ้นสุดการทดลอง	49
3.7 น้ำหนักแห้งส่วนลำต้น ใบ และรากของต้นยางพาราหลังสิ้นสุดการทดลอง	49
3.8 ความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบยางพาราหลังสิ้นสุดการทดลอง	54
3.9 การดูดีใช้ธาตุอาหารหลักและรองของใบยางพาราหลังสิ้นสุดการทดลอง	55
3.10 การดูดีใช้จุลธาตุของใบยางพาราหลังสิ้นสุดการทดลอง	56
3.11 ความสามารถของแบคทีเรีย <i>B. subtilis</i> สายพันธุ์ SM1 ร่วมกับการใส่ปุ๋ยในการควบคุมเชื้อรา <i>R. microporus</i> สายพันธุ์ NK6 เชื้อสาเหตุโรครากขาวของยางพารา	57

รายการภาพ

ภาพที่	เนื้อหา	หน้า
3.1	การเจริญของเส้นใยเชื้อรา <i>R. microporus</i> สายพันธุ์ NK6 ในสภาวะที่มี A) ไนโตรเจน B) แมงกานีส และ C) ไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส	32
3.2	การเจริญของเส้นใยเชื้อรา <i>R. microporus</i> สายพันธุ์ NK6 บนอาหาร PDA เพิ่มธาตุอาหารที่ อายุ 7 วัน	33
3.3	ลักษณะทางจุลสัณฐานวิทยาของเส้นใยเชื้อรา <i>R. microporus</i> สายพันธุ์ NK6 บนอาหาร PDA เพิ่มธาตุอาหาร ที่อายุ 7 วัน ภาพจากกล้องจุลทรรศน์ชนิดแสงธรรมดา กำลังขยาย 100 เท่า	33
3.4	วงสีเอมไซม์แลคเคสของเชื้อรา <i>R. microporus</i> สายพันธุ์ NK6 เพิ่มธาตุอาหาร ที่อายุ 7 วัน	35
3.5	ประสิทธิภาพของแบคทีเรีย <i>B. subtilis</i> สายพันธุ์ SM1 ต่อการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา <i>R. microporus</i> สายพันธุ์ NK6 ในสภาวะที่มี A) ไนโตรเจน B) แมงกานีส และ C) ไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส ด้วยวิธี dual culture technique	36
3.6	ลักษณะของเส้นใยเชื้อรา <i>R. microporus</i> สายพันธุ์ NK6 ที่ทดสอบกับแบคทีเรีย <i>B. subtilis</i> สายพันธุ์ SM1 บนอาหาร PDA เพิ่มธาตุอาหาร ที่อายุ 7 วัน	37
3.7	ลักษณะทางจุลสัณฐานวิทยาของเส้นใยเชื้อรา <i>R. microporus</i> สายพันธุ์ NK6 ที่ทดสอบกับแบคทีเรีย <i>B. subtilis</i> สายพันธุ์ SM1 บนอาหาร PDA เพิ่มธาตุอาหาร ที่อายุ 7 วัน ภาพจากกล้องจุลทรรศน์ชนิดแสงธรรมดา กำลังขยาย 100 เท่า	37
3.8	ลักษณะของเส้นใยเชื้อรา <i>R. microporus</i> สายพันธุ์ NK6 ที่ทดสอบกับเซลล์ของแบคทีเรีย <i>B. subtilis</i> สายพันธุ์ SM1 ด้วยวิธี pour plate technique บนอาหาร PDA เพิ่มธาตุอาหาร ที่อายุ 7 วัน	38
3.9	ประสิทธิภาพของเซลล์ของแบคทีเรีย <i>B. subtilis</i> สายพันธุ์ SM1 ต่อการยับยั้งเจริญของเส้นใยเชื้อรา <i>R. microporus</i> สายพันธุ์ NK6 ในสภาวะที่มี A) ไนโตรเจน B) แมงกานีส และ C) ไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส ด้วยวิธี pour plate technique	39
3.10	ประสิทธิภาพของเซลล์ของแบคทีเรีย <i>B. subtilis</i> สายพันธุ์ SM1 ต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา <i>R. microporus</i> สายพันธุ์ NK6 ในสภาวะที่มี A) ไนโตรเจน B) แมงกานีส และ C) ไนโตรเจน ร่วมกับแมงกานีส ด้วยวิธี volatile extracellular metabolite	41

รายการภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
3.11 ลักษณะของเส้นใยเชื้อรา <i>R. microporus</i> สายพันธุ์ NK6 ที่ทดสอบกับเซลล์ของแบคทีเรีย <i>B. subtilis</i> สายพันธุ์ SM1 บนอาหาร PDA เพิ่มธาตุอาหารที่อายุ 7 วัน ด้วยวิธี volatile extracellular metabolite	42
3.12 การเจริญของเส้นใยเชื้อรา <i>R. microporus</i> สายพันธุ์ NK6 ในดินผสมธาตุอาหารตามความเข้มข้นต่างๆ หลังบรรจุดินในหลอดทดลองเป็นเวลา 11 วัน	44
3.13 การเจริญเติบโตของยางพาราหลังสิ้นสุดการทดลอง	50
3.14 ลักษณะของรากยางพาราหลังสิ้นสุดการทดลอง	51

รายการตารางผนวก

ตารางผนวกที่	หน้า
1. ปริมาณแบคทีเรีย <i>B. subtilis</i> สายพันธุ์ SM1 ในสภาวะที่มีไนโตรเจนและแมงกานีส	89
2. ผลของไนโตรเจนต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา <i>R. microporus</i> สายพันธุ์ NK6	90
3. ผลของแมงกานีสต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา <i>R. microporus</i> สายพันธุ์ NK6	90
4. ผลของไนโตรเจนและแมงกานีสต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา <i>R. microporus</i> สายพันธุ์ NK6	91
5. ผลของไนโตรเจนร่วมกับแบคทีเรีย <i>B. subtilis</i> สายพันธุ์ SM1 ต่อการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา <i>R. microporus</i> สายพันธุ์ NK6 โดยวัดบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) ด้วยวิธี dual culture technique	91
6. ผลของแมงกานีสร่วมกับแบคทีเรีย <i>B. subtilis</i> สายพันธุ์ SM1 ต่อการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา <i>R. microporus</i> สายพันธุ์ NK6 โดยวัดบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) ด้วยวิธี dual culture technique	92
7. ผลของไนโตรเจนและแมงกานีสร่วมกับแบคทีเรีย <i>B. subtilis</i> สายพันธุ์ SM1 ต่อการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา <i>R. microporus</i> สายพันธุ์ NK6 โดยวัดบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) ด้วยวิธี dual culture technique	92
8. ผลของไนโตรเจนร่วมกับเซลล์ของแบคทีเรีย <i>B. subtilis</i> สายพันธุ์ SM1 ต่อการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา <i>R. microporus</i> สายพันธุ์ NK6 ด้วยวิธี pour plate technique	93
9. ผลของแมงกานีสร่วมกับเซลล์ของแบคทีเรีย <i>B. subtilis</i> สายพันธุ์ SM1 ต่อการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา <i>R. microporus</i> สายพันธุ์ NK6 ด้วยวิธี pour plate technique	93
10. ผลของไนโตรเจนและแมงกานีสร่วมกับเซลล์ของแบคทีเรีย <i>B. subtilis</i> สายพันธุ์ SM1 ต่อการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา <i>R. microporus</i> สายพันธุ์ NK6 ด้วยวิธี pour plate technique	94
11. ผลของไนโตรเจนร่วมกับเซลล์ของแบคทีเรีย <i>B. subtilis</i> สายพันธุ์ SM1 ต่อการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา <i>R. microporus</i> สายพันธุ์ NK6 ด้วยวิธี volatile extracellular metabolite	94

รายการตารางผนวก (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
12. ผลของแมงกานีสร่วมกับเซลล์ของแบคทีเรีย <i>B. subtilis</i> สายพันธุ์ SM1 ต่อการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา <i>R. microporus</i> สายพันธุ์ NK6 ด้วยวิธี volatile extracellular metabolite	95
13. ผลของไนโตรเจนและแมงกานีสร่วมกับเซลล์ของแบคทีเรีย <i>B. subtilis</i> สายพันธุ์ SM1 ต่อการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา <i>R. microporus</i> สายพันธุ์ NK6 ด้วยวิธี volatile extracellular metabolite	95

รายการภาพผนวก

ภาพผนวกที่	หน้า
1. ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรีย <i>B. subtilis</i> สายพันธุ์ SM1 บนอาหาร PDA ที่เพิ่มไนโตรเจนและแมงกานีส	89
2. ผลของไนโตรเจนในรูปของยูเรียต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา <i>R. microsporus</i> สายพันธุ์ NK6	96
3. ผลของไนโตรเจนในรูปของยูเรียและแบคทีเรีย <i>B. subtilis</i> สายพันธุ์ SM1 ต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา <i>R. microsporus</i> สายพันธุ์ NK6	96

บทที่ 1

บทนำ

1. บทนำต้นเรื่อง

ยางพาราเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของภาคใต้ในประเทศไทย โดยที่ผ่านมาเกษตรกรมีการใช้พื้นที่ปลูกยางพาราอย่างต่อเนื่องซ้ำในพื้นที่เดิม อีกทั้งละเลยการใส่ปุ๋ยหรือไม่ใส่ตามคำแนะนำของสถาบันวิจัยยาง (Kungpisdan *et al.*, 2006) รวมทั้งดินของภาคใต้ในประเทศไทยเป็นดินที่มีพัฒนาการสูง ทำให้มีการสูญเสียธาตุอาหารได้ง่ายโดยเฉพาะธาตุไนโตรเจน และดินปลูกยางส่วนใหญ่มีสภาพกรดเนื่องจากสภาพภูมิอากาศเขตร้อนมีฝนตกชุก ทำให้แมงกานีสละลายออกมาเกินค่ามาตรฐาน (Siskawardani *et al.*, 2016) จากปัจจัยดังกล่าวส่งผลกระทบต่อต้นยางพาราอ่อนแอ ผลผลิตและการเจริญเติบโตของต้นยางพาราลดลง เป็นสาเหตุทำให้เชื้อโรคเข้าทำลายได้ง่าย โดยเฉพาะโรครากขาว

โรครากขาวของยางพาราสาเหตุจากเชื้อรา *Rigidoporus microporus* (Sw.) Overeem เป็นเชื้อราที่อาศัยอยู่ในดิน สามารถผลิตเอนไซม์แลคเคสเป็น extracellular enzymes ซึ่งเอนไซม์แลคเคสเป็นตัวบ่งชี้ถึงการเข้าทำลายรากยางพารา พบเอนไซม์แลคเคสในเนื้อเยื่อรากพืชที่ถูกย่อยสลายด้วยเชื้อรา *R. microporus* (Nandris *et al.*, 1987) ทำให้เนื้อเยื่อรากในส่วนของ lignified หนาเปื่อย (Geiger *et al.*, 1986) โดยการย่อยสลายลิกนินเกิดในสภาวะที่มีไนโตรเจนต่ำ ซึ่งจุลินทรีย์จะใช้ไนโตรเจนในการผลิตเอนโดสปอร์ โปรตีน เอนไซม์ การเจริญเติบโตทางด้านเส้นใย และใช้แมงกานีสในการผลิตเอนไซม์ ligninolytic ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์แลคเคส (laccase) แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (manganese peroxidase: MnP) และแมงกานีสอินดิเพนเดนท์เปอร์ออกซิเดส (manganeseindependent peroxidase: MIP) (Hatakka, *et al.*, 2003)

Bacillus spp. เป็นแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพที่ใช้ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ เช่น เชื้อรา *Rhizoctonia solani* โรคกาบใบแห้ง และเมล็ดต่างของข้าว (Kanjanamaneesathian *et al.*, 1998; Pengnoo *et al.*, 2000; Wiwattanapatapee *et al.*, 2004) และใบไหม้ของถั่วหรั่ง (Pengnoo *et al.*, 2006) เชื้อรา *Alternaria* spp. สาเหตุโรคใบจุดของผักกาดหอม (วานิด, 2552) โดยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. มีกลไกในการยับยั้งการเกิดโรคพืช คือ การแย่งอาหาร เป็นปรสิตร ชักน้ำให้เกิดความต้านทานโรค และสามารถผลิตสารปฏิชีวนะออกมา เช่น iturin, fengycin, surfactin, bacylomycin, macrolactin, bacillaene และ bacilysin (Rabbee *et al.*, 2019; Khedherab *et al.*, 2021) รวมไปถึงสามารถผลิตเอนไซม์ β -1,3-glucanase, chitinase และ cellulase (Singh *et al.*, 2008; Taechapoempol *et al.*, 2011) เป็นต้น ทั้งนี้ไนโตรเจนและแมงกานีส เป็นส่วนหนึ่งที่

สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตสารปฏิชีวนะ เช่น สังเคราะห์กลูตามีน (Mhatre *et al.*, 2016) ผลิตเอนไซม์ยูรีเอส (Kim *et al.*, 2005) ผลิต 2,3-butanediol (Tian *et al.*, 2016) สร้างเอนโดสปอร์และโปรตีน (Stockton and Wyss, 1946; Helmann, 2014) อีกทั้ง polyhydroxyalkanoate (PHA) และ poly-3-hydroxybutyrate (PHB) (Atakav, 2021) ดังนั้นจึงได้ศึกษาผลของการใช้ไนโตรเจนและแมงกานีสร่วมกับแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ต่อการยับยั้งเชื้อรา *R. microsporus* สายพันธุ์ NK6 และการใส่ปุ๋ยร่วมกับแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ต่อการควบคุมเชื้อรา *R. microsporus* สายพันธุ์ NK6 สาเหตุโรครากขาวของยางพารา

2. การตรวจเอกสาร

2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ยางพารา

ยางพารา (*Hevea brasiliensis*) เป็นพืชใบเลี้ยงคู่ เป็นใบประกอบแบบนิ้วมือจัดเรียงสลับกัน ก้านใบยาว มีราก 2 ชนิด คือ รากแก้วและรากแขนง โดยรากแก้วมีความยาวประมาณ 1.5-2.0 เมตร รากแขนงแผ่ได้ถึง 10 เมตร เมื่อโตเต็มที่มีความสูงประมาณ 25-30 เมตร ลำต้นมีเปลือกสีเทา การเก็บเกี่ยวผลผลิตจากต้นยางพารา ได้จากการกรีดตัดส่วนของท่อน้ำยาง (laticiferous) ในเปลือกยาง ซึ่งระยะเวลาในการไหลกับความเข้มข้นของน้ำยางขึ้นอยู่กับพันธุ์สภาพแวดล้อมและการดูแลรักษาต้นยาง โดยทั่วไปยางพาราเป็นไม้ยืนต้นขนาดใหญ่สามารถเจริญเติบโตได้ดีบนพื้นที่ที่มีความสูงจากระดับน้ำทะเล 400-500 เมตร มีความลาดเอียงของพื้นที่ไม่เกิน 15 องศา เนื้อดินเป็นดินร่วน ดินร่วนเหนียว หรือร่วนเหนียวปนทราย หน้าดินลึกไม่น้อยกว่า 1 เมตร ดินมีความอุดมสมบูรณ์ระดับปานกลาง มีการระบายน้ำและอากาศดี กรณีเป็นที่ลุ่มควรมีการยกร่องหรือพูนโคนเพื่อช่วยในการถ่ายเทอากาศ ระดับน้ำใต้ดินลึกกว่า 1 เมตร พีเอช 4.0-5.5 ปริมาณน้ำฝน 2,000-3,000 มิลลิเมตรต่อปี และมีวันเฉลี่ยฝนตกต่อปี 170-200 วัน ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยตลอดปีไม่น้อยกว่า 65 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิเฉลี่ยตลอดปีไม่ต่ำกว่า 24-27 องศาเซลเซียส เพราะอุณหภูมิต่ำชะลอการเจริญเติบโตของเส้นรอบวงและลดการผลิตน้ำยางพารา แต่อย่างไรก็ตามในบางพื้นที่ของภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ก็สามารถปลูกยางพาราได้แม้ว่ามีปริมาณน้ำฝนน้อย (วันเพ็ญ, 2559)

การจัดพฤกษศาสตร์จึงได้จัดอนุกรมวิธานของต้นยางพารา ดังนี้

Kingdom Plantae

Kingdom Tracheobionta

Division Magnoliophyta

Class Magnoliopsida

Subclass Rosidae

Order Euphorbiales

Family Euphorbiaceae

Genus *Hevea*

Species *Hevea brasiliensis*

ราก (root) เป็นส่วนที่สำคัญที่ทำหน้าที่เกาะยึดพื้นดินและหาอาหารในขณะที่เริ่มงอกใหม่ ๆ มีส่วน radicle งอกออกมาเจริญต่อเป็นรากแก้ว มีขนาดใหญ่และหยั่งลึกลงไปใต้ดิน ทำหน้าที่ยึดเกาะกับพื้นดิน ส่วนรากแขนงแตกออกมารอบๆ รากแก้ว ทำหน้าที่ดูดซึมน้ำและธาตุอาหาร เพื่อไปเลี้ยงส่วนต่างๆ ของลำต้น

ลำต้น (stem) เป็นบริเวณที่เก็บเกี่ยวผลผลิตในรูปของน้ำยางสด ลำต้นที่เจริญเติบโตจากต้นกล้าโดยตรง มีลักษณะเป็นรูปกรวย โดยส่วนโคนเหนือดินมีขนาดใหญ่กว่า และค่อยๆ เรียวไปสู่ปลายหรือกิ่งก้านสาขาแรก ส่วนลำต้นที่เกิดจากการติดตาลำต้นจะมีลักษณะเป็นรูปทรงกระบอก ส่วนโคนและปลายหรือตั้งแต่ส่วนโคนจนถึงกิ่งก้านสาขาชั้นแรกมีขนาดไม่แตกต่างกันมาก

ใบ (leaf) เป็นใบประกอบ ประกอบไปด้วย ใบย่อย 3 ใบ ตรีงอยู่บนก้านใบ ใบประกอบแบบนี้มีมือ (palmate) ลักษณะของใบจะแตกต่างกันไปตามพันธุ์

กิ่งก้าน (branch) ประกอบไปด้วยกิ่งขนาดใหญ่ ซึ่งเป็นส่วนที่เจริญต่อเนื่องจากลำต้น 2-3 กิ่ง เป็นกิ่งหลัก ส่วนกิ่งที่แตกออกมาจากกิ่งหลัก คือ กิ่งรอง

ดอก (flower) มีลักษณะเป็นช่อดอกแบบ compound raceme หรือ panicle ดอกตัวผู้และตัวเมียแยกกันอยู่บนช่อดอกดอกเดียวกัน ดอกตัวเมียมีขนาดใหญ่กว่าดอกตัวผู้และตั้งอยู่ปลายสุดของช่อดอก ในหนึ่งช่อจะมีดอกตัวผู้มากกว่าดอกตัวเมีย

ผลและเมล็ด (fruit and seed) เมล็ดเป็นส่วนที่เกิดอยู่ในผลหรือฝักที่เกิดจาก ovary เดียว ที่มี carpel มากกว่า 2 carpel และ endocarp เมื่อเมล็ดเจริญเต็มที่ สามารถแยกได้เป็น 3 ส่วน คือ เปลือก ทำหน้าที่ป้องกันเมล็ดประกอบไปด้วย เปลือกแข็งและเปลือกอ่อน ซึ่งเอนโดสเปิร์มมีลักษณะเป็นสีขาวอยู่ภายในเปลือกอ่อนทำหน้าที่สะสมอาหารในระยะแรกของการเจริญเติบโต และต้นอ่อน (ภัทรฯ, 2555)

2.1.1 สถานะดินปลูกยางพาราในภาคใต้

ดินในภาคใต้ส่วนใหญ่มีสภาพเป็นกรด เนื่องจากภาคใต้มีฝนตกชุก ดังนั้นกระบวนการสลายตัวผุพัง (weathering process) ของวัตถุดิบกำเนิดดินจึงเกิดขึ้น และมีการชะล้างสูงทำให้แร่ธาตุในดินสลายตัวและแปรสภาพเป็นแร่ดินเหนียวจำพวกเคโอลิไนท์ (kaolinite) ซึ่งมีธาตุอาหารพืชน้อย ดินในภาคใต้ 67.28 เปอร์เซ็นต์ เป็นดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ และเป็นดินที่มีความอุดมสมบูรณ์สูง 0.63 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นพื้นที่ปลูกยางพาราในภาคใต้ส่วนใหญ่เป็นพื้นที่ที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ โดยเฉพาะไนโตรเจนจะถูกยึดไว้ในดิน หรือเปลี่ยนเป็นรูปที่พืชไม่สามารถใช้ประโยชน์ได้ รวมทั้งสูญหายไปโดยการชะละลาย หรือสูญหายไปในอากาศ (ยงยุทธ และคณะ, 2551)

ภรภัทร และคณะ 2562 ได้ทำการสำรวจสวนยางและเก็บตัวอย่างดินเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหารในพื้นที่จังหวัดชุมพร สุราษฎร์ธานี และนครศรีธรรมราช จำนวน 43 สวน และในปี 2559-2560 ได้ทำการเก็บตัวอย่างดินปลูกยางของพื้นที่ภาคใต้จำนวน 7 จังหวัด ได้แก่ ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร ระนอง พังงา กระบี่ ตรัง และสุราษฎร์ธานี รวมทั้งสิ้น 110 ตัวอย่าง กล่าวว่า ในปี 2552 อินทรีย์วัตถุ ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม อยู่ในระดับต่ำ ส่วนในปี 2559-2560 อินทรีย์วัตถุ ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม แมงกานีส เหล็ก ทองแดง และสังกะสี อยู่ในระดับต่ำ สำหรับกำมะถันอยู่ในระดับปานกลาง ดังนิตาราง (ตารางที่ 1.1)

ตารางที่ 1.1 ผลของการวิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุอาหารในดินปลูกยางพารา ปี 2552 และ ปี 2559-2560

ธาตุอาหาร	สถานะธาตุอาหารในดิน	
	ปี 2552	ปี 2559-2560
อินทรีย์วัตถุ (%)	สวนยาง 30 เปอร์เซ็นต์ อยู่ในระดับ ต่ำ	สวนยาง 15 เปอร์เซ็นต์ อยู่ในระดับ ต่ำ
ไนโตรเจน (%)	-	-
ฟอสฟอรัส (%)	สวนยาง 100 เปอร์เซ็นต์ อยู่ในระดับ ต่ำ	สวนยาง 83 เปอร์เซ็นต์ อยู่ในระดับ ต่ำ
โพแทสเซียม (%)	สวนยาง 100 เปอร์เซ็นต์ อยู่ในระดับ ต่ำ	สวนยาง 100 เปอร์เซ็นต์ อยู่ในระดับ ต่ำ
แคลเซียม (%)	สวนยาง 30 เปอร์เซ็นต์ อยู่ในระดับ ต่ำ	สวนยาง 31 เปอร์เซ็นต์ อยู่ในระดับ ต่ำ
แมกนีเซียม (%)	สวนยาง 72 เปอร์เซ็นต์ อยู่ในระดับ ต่ำ	สวนยาง 64 เปอร์เซ็นต์ อยู่ในระดับ ต่ำ
กำมะถัน (mg kg ⁻¹)	สวนยาง 100 เปอร์เซ็นต์ อยู่ในระดับ สูง	สวนยาง 100 เปอร์เซ็นต์ อยู่ในระดับ เหมาะสม
แมงกานีส (mg kg ⁻¹)	-	สวนยาง 79 เปอร์เซ็นต์ อยู่ในระดับ ต่ำ
เหล็ก (mg kg ⁻¹)	-	สวนยาง 15 เปอร์เซ็นต์ อยู่ในระดับ ต่ำ
ทองแดง (mg kg ⁻¹)	-	สวนยาง 85 เปอร์เซ็นต์ อยู่ในระดับ ต่ำ
สังกะสี (mg kg ⁻¹)	-	สวนยาง 93 เปอร์เซ็นต์ อยู่ในระดับ ต่ำ

หมายเหตุ: เปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานของดินปลูกยางพารา (สถาบันวิจัยยาง, 2548)

จักรกฤษณ์ และคณะ (2556) ได้ทำการเก็บดินที่ระดับความลึก 0-30 และ 30-60 เซนติเมตร ในระยะก่อนเปิดกรีด 4 ปี ที่ปลูกในที่ดอนและที่ลุ่ม จากอำเภอลองหอยโข่ง นาทวี และ รัตภูมิ จังหวัดสงขลา อำเภอละ 30 แปลง พบว่า ที่ระดับ 0-30 เซนติเมตร ดินที่ดอน-ลุ่ม อินทรีย์วัตถุ ไนโตรเจนทั้งหมดในดิน ความเป็นประโยชน์ฟอสฟอรัส โพแทสเซียมและแมกนีเซียมที่สกัดได้ อยู่ในระดับต่ำ-ปานกลาง ยกเว้นแคลเซียมที่สกัดได้ อยู่ในระดับปานกลาง-สูง สำหรับดินที่ระดับ 30-60 เซนติเมตร ดินที่ดอน-ลุ่ม อินทรีย์วัตถุ ไนโตรเจนทั้งหมดในดิน ความเป็นประโยชน์ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และแมกนีเซียมที่สกัดได้อยู่ในระดับต่ำ ยกเว้นแคลเซียมที่สกัดในดินที่ดอนอยู่ในระดับสูง ดังตาราง (ตารางที่ 1.2)

ตารางที่ 1.2 สมบัติทางเคมีของดินปลูกยางพาราภาคใต้ในที่ดอนและที่ลุ่ม

ธาตุอาหาร	สถานะธาตุอาหารในดิน				ระดับที่เหมาะสมของ ธาตุอาหารในดินที่ ปลูกยางพารา
	ระดับ 0-30 ซม.		ระดับ 30-60 ซม.		
	ที่ดอน	ที่ลุ่ม	ที่ดอน	ที่ลุ่ม	
อินทรีย์วัตถุ (g kg^{-1})	9-12	10-13	4-5	3-4	10-25
ไนโตรเจนทั้งหมดในดิน (g kg^{-1})	0.47-0.63	0.63-0.79	0.36-0.34	0.34-0.43	1.1-2.5
ความเป็นประโยชน์ ฟอสฟอรัส (mg kg^{-1})	9-15	8-15	3-4	3-4	11-30
โพแทสเซียมที่สกัดได้ (mg kg^{-1})	29-40	31-40	18-27	17-26	40-60
แคลเซียมที่สกัดได้ (mg kg^{-1})	44-84	127-201	32-83	93-151	>60
แมกนีเซียมที่สกัดได้ (mg kg^{-1})	9-20	19-35	7-14	17-30	>36

หมายเหตุ: เปรียบเทียบกับระดับที่เหมาะสมของธาตุอาหารในดินที่ปลูกยางพารา (นุชนารถ, 2554)

2.1.2 การใช้ปุ๋ยในสวนยางพารา

การจัดการปุ๋ยเป็นสิ่งจำเป็นต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของต้นยางพารา จากการสำรวจสวนยางในปี 2552-2562 พบว่า สวนยางส่วนใหญ่ละเลยการใส่ปุ๋ยให้กับต้นยาง ทำให้ธาตุอาหารที่ต้นยางได้รับจึงไม่เพียงพอกับความต้องการ ในที่สุดปริมาณธาตุอาหารในดินก็ลดลงจนไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของต้นยาง ส่งผลให้แสดงอาการขาดธาตุอาหาร ไม่แข็งแรง อ่อนแอต่อโรค ส่งผลกระทบต่อผลผลิตทำให้ผลผลิตลดลง จนกระทั่งไม่สามารถเก็บผลผลิตได้ (ภรภัทร, 2563)

จากการศึกษาของ Yogaratnam และ De Mel (1985) กล่าวว่า การใช้ปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมกับยางพาราก่อนเปิดกรีด ทำให้ความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบยางพาราเพิ่มขึ้น ซึ่งปุ๋ยไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียมซัลเฟต ทำให้ความสูงและเส้นรอบวงลำต้นของต้นยางพาราเพิ่มขึ้น (Dissanayake and Mitherasena, 1986) เช่นเดียวกับ การศึกษาของ Adekunle และ Auda (2016) พบว่า อัตราปุ๋ยมีผลต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราก เช่น ความยาวราก เส้นผ่านศูนย์กลาง พื้นที่ผิว ปริมาตรรากและอัตราส่วนรากต่อยอด โดยความยาวของรากเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราปุ๋ยเพิ่มขึ้น อีกทั้ง Yogaratnam และ Karunaratne (1972) ทดสอบการตอบสนองของปุ๋ยในต้นกล้ายางพาราที่ปลูกในสภาพโรงเรือน พบว่า การใส่ปุ๋ยบ่อยครั้งในปริมาณน้อยๆ ให้ผลไม่แตกต่างกับการใส่ปุ๋ยบ่อยครั้งในปริมาณที่มากขึ้น

1. การใช้ปุ๋ยยางพาราก่อนเปิดกรีด

สถาบันวิจัยยาง (2547) กล่าวว่า เขตภาคใต้หรือเขตปลูกยางเดิมในประเทศไทย ปุ๋ยเคมีที่แนะนำให้ใช้ช่วงก่อนเปิดกรีดในเขตปลูกยางเก่าดินร่วนเหนียว-ดินร่วนทราย คือ ปุ๋ยผสมสูตร 20-8-20 และเขตปลูกยางใหม่ดินร่วนเหนียวสูตร 20-10-12 โดยจากการศึกษาของ ปราโมทย์ และ คณะ (2560) พบว่า การใส่ปุ๋ยตามคำแนะนำสูตร 20-10-12 อัตรา 400 กรัม/ต้น/ปี ทำให้เส้นรอบวงของลำต้นยางพาราอายุ 4.5 ปี ต่ำกว่าการใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน โดยการใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน ร่วมกับการให้น้ำทำให้เส้นรอบวงเหนือรอยซ่าง ความหนาของเปลือก และน้ำหนักสดของยางเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับ สิทธิชัย (2556) รายงานว่าการใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินทำให้เส้นรอบวงลำต้นเพิ่มขึ้นเฉลี่ยต่อเดือนสูงกว่าการใส่ปุ๋ยตามคำแนะนำสูตร 20-8-20 อัตรา 130 กรัม/ต้น/ปี ในแปลงปลูกยางพาราอายุ 12 เดือน

เนื่องจากดินปลูกยางพาราในแต่ละพื้นที่มีสมบัติทางเคมีแตกต่างกัน เพื่อความสะดวกในการแนะนำและการนำไปใช้ จึงทดสอบการใช้ปุ๋ย 3 สูตร ในชุดดินที่เป็นตัวแทน ได้แก่ 1. ปุ๋ยสูตร 20-8-20 (ก่อนเปิดกรีดเขตปลูกยางเดิม) 2. ปุ๋ยสูตร 20-10-12 (ก่อนเปิดกรีดเขตปลูกยางใหม่) (ตารางที่ 1.3) และ 3. ปุ๋ยสูตร 30-5-18 เหมาะสำหรับยางพาราหลังเปิดกรีด โดยปุ๋ยสูตร 30-5-18 ใช้ได้กรณีผสมปุ๋ยใช้เองเพราะการขอขึ้นทะเบียนปุ๋ยเคมีสูตรสำเร็จเพื่อจำหน่ายจำเป็นต้องผลิตเป็นสูตร 29-5-18 ซึ่งมีอัตราการใช้ 1 กิโลกรัม/ต้น/ปี แบ่งใส่ปีละ 2 ครั้ง ครั้งแรกใส่ในต้นฤดูฝน หลังจากผลัดใบ ใส่ประมาณเดือนเมษายน-พฤษภาคม ครั้งที่สอง ใส่ประมาณเดือนสิงหาคม-กันยายน โดยวิธีโรยปุ๋ยระหว่างแถวห่างจากโคนต้นประมาณ 3 เมตร หรือบริเวณกึ่งกลางระหว่างแถว การใส่ปุ๋ยยางพาราก่อนเปิดกรีด (สถาบันวิจัยยาง, 2547)

ตารางที่ 1.3 การใส่ปุ๋ยต้นยางพาราก่อนเปิดกรีดในพื้นที่เขตปลูกยางเดิม-เขตปลูกยางใหม่

อายุต้นยาง (เดือน)	พื้นที่เขตปลูกยางเดิม		พื้นที่เขตปลูกยางใหม่	
	อัตราปุ๋ยสูตร 20-8-20 (กรัม/ต้น)		อัตราปุ๋ยสูตร 20-10-12 (กรัม/ต้น)	อัตราปุ๋ยสูตร 20-10-17 (กรัม/ต้น)
	ดินร่วนเหนียว	ดินร่วนทราย	ดินร่วนเหนียว	ดินร่วนทราย
2	70	100	60	70
5	100	140	80	110
11	130	170	100	120
14	150	200	110	130
16	150	210	120	130
23	150	210	180	140
28	230	320	180	210
36	230	320	180	210
40	240	330	180	210
48	240	330	200	280
52	260	360	200	280
60	260	360	200	280
64	270	370	200	330
72	270	370	200	330

ที่มา: นุชนารถ, (2554)

2. การใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน

ในการปลูกยางพาราเกษตรกรรมมีการจัดการสวนยางพาราที่แตกต่างกัน เช่น ปริมาณอินทรีย์วัตถุ พีเอช การใส่ปูน ใส่ปุ๋ย และการให้น้ำ ดังนั้น จึงต้องมีการจัดการธาตุอาหารให้เหมาะสมกับพื้นที่ โดยการนำข้อมูลชนิดของดินและผลการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในดินของแต่ละแปลงเปรียบเทียบกับค่าวิกฤต ซึ่งเป็นระดับธาตุอาหารที่เพียงพอของธาตุอาหารหลัก ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม (ตารางที่ 1.4) จึงสามารถแนะนำการใช้ปุ๋ยและปริมาณที่ใส่ให้ใกล้เคียงกับความต้องการของยางพาราที่ปลูกในดินเฉพาะแปลง (ตารางที่ 1.5 และ 1.6)

ตารางที่ 1.4 ระดับธาตุอาหารพืชในดินปลูกยางพารา

สมบัติของดิน	ค่าวิเคราะห์		
	ต่ำ	ปานกลาง	สูง
อินทรีย์คาร์บอน (%)	<0.5	0.5-1.5	>1.5
อินทรีย์วัตถุ (%)	<1.0	1.0-2.5	>2.5
ไนโตรเจน (%)	<0.11	0.11-0.25	>0.25
ฟอสฟอรัส (mg kg)	<11	11-30	>30
โพแทสเซียม (mg kg ⁻¹)	<40	40-60	>60
แคลเซียม (mg kg ⁻¹)	<60	>60	-
แมกนีเซียม (mg kg ⁻¹)	<36	>36	-
เหล็ก (mg kg ⁻¹)	<30	30-35	>35
แมงกานีส (mg kg ⁻¹)	<2	2-4	>4
สังกะสี (mg kg ⁻¹)	<0.4	0.4-0.6	>0.6
ทองแดง (mg kg ⁻¹)	<0.8	0.8-1.0	>1.0

ที่มา: นุชนารถ, (2554)

ตารางที่ 1.5 การใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินสำหรับยางพาราอายุ 6 เดือน

แบบ	ค่าวิเคราะห์ดิน			ปุ๋ยที่ผสมใช้ (กิโลกรัม/ไร่/ครั้ง)			อัตราปุ๋ยที่ใส่ (กรัม/ต้น/ครั้ง)
	ไนโตรเจน	ฟอสฟอรัส	โพแทสเซียม	สูตร 46-0-0	สูตร 18-46-0	สูตร 0-0-60	
1	ต่ำ	ต่ำ	ต่ำ	6.0	2	3.8	155
2	ต่ำ	ต่ำ	ปานกลาง	6.0	2	3.2	150
3	ต่ำ	ต่ำ	สูง	6.0	2	2.6	140
4	ต่ำ	ปานกลาง	ต่ำ	6.0	1.8	3.8	155
5	ต่ำ	ปานกลาง	ปานกลาง	6.0	1.8	3.2	145
6	ต่ำ	ปานกลาง	สูง	6.0	1.8	2.6	140
7	ต่ำ	สูง	ต่ำ	6.0	1.5	3.8	150
8	ต่ำ	สูง	ปานกลาง	6.0	1.5	3.2	140
9	ต่ำ	สูง	สูง	6.0	1.5	2.6	135
10	ปานกลาง	ต่ำ	ต่ำ	4.8	2	3.8	140
11	ปานกลาง	ต่ำ	ปานกลาง	4.8	2	3.2	135
12	ปานกลาง	ต่ำ	สูง	4.8	2	2.6	125
13	ปานกลาง	ปานกลาง	ต่ำ	4.8	1.8	3.8	140
14	ปานกลาง	ปานกลาง	ปานกลาง	4.8	1.8	3.2	130
15	ปานกลาง	ปานกลาง	สูง	4.8	1.8	2.6	120
16	ปานกลาง	สูง	ต่ำ	4.8	1.5	3.8	135
17	ปานกลาง	สูง	ปานกลาง	4.8	1.5	3.2	125
18	ปานกลาง	สูง	สูง	4.8	1.5	2.6	120
19	สูง	ต่ำ	ต่ำ	3.3	2	3.8	120
20	สูง	ต่ำ	ปานกลาง	3.3	2	3.2	115
21	สูง	ต่ำ	สูง	3.3	2	2.6	105
22	สูง	ปานกลาง	ต่ำ	3.3	1.8	3.8	120
23	สูง	ปานกลาง	ปานกลาง	3.3	1.8	3.2	110
24	สูง	ปานกลาง	สูง	3.3	1.8	2.6	100
25	สูง	สูง	ต่ำ	3.3	1.5	3.8	115
26	สูง	สูง	ปานกลาง	3.3	1.5	3.2	105
27	สูง	สูง	สูง	3.3	1.5	2.6	100

ที่มา: นุชนารถ (2554)

หมายเหตุ: คำนวณจากต้นยาง 76 ต้น/ไร่

ตารางที่ 1.6 การใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินสำหรับยางพาราอายุ 12, 15 และ 18 เดือน

แบบ	ค่าวิเคราะห์ดิน			ปุ๋ยที่ผสมใช้ (กก./ไร่/ครั้ง)			อัตราปุ๋ยที่ใส่ (กรัม/ต้น/ครั้ง)
	ไนโตรเจน	ฟอสฟอรัส	โพแทสเซียม	สูตร 46-0-0	สูตร 18-46-0	สูตร 0-0-60	
1	ต่ำ	ต่ำ	ต่ำ	7.8	2.8	4.8	200
2	ต่ำ	ต่ำ	ปานกลาง	7.8	2.8	4	195
3	ต่ำ	ต่ำ	สูง	7.8	2.8	3.4	185
4	ต่ำ	ปานกลาง	ต่ำ	7.8	2.3	4.8	200
5	ต่ำ	ปานกลาง	ปานกลาง	7.8	2.3	4	185
6	ต่ำ	ปานกลาง	สูง	7.8	2.3	3.4	180
7	ต่ำ	สูง	ต่ำ	7.8	1.8	4.8	190
8	ต่ำ	สูง	ปานกลาง	7.8	1.8	4	180
9	ต่ำ	สูง	สูง	7.8	1.8	3.4	170
10	ปานกลาง	ต่ำ	ต่ำ	6.0	2.8	4.8	180
11	ปานกลาง	ต่ำ	ปานกลาง	6.0	2.8	4	170
12	ปานกลาง	ต่ำ	สูง	6.0	2.8	3.4	160
13	ปานกลาง	ปานกลาง	ต่ำ	6.0	2.3	4.8	175
14	ปานกลาง	ปานกลาง	ปานกลาง	6.0	2.3	4	165
15	ปานกลาง	ปานกลาง	สูง	6.0	2.3	3.4	155
16	ปานกลาง	สูง	ต่ำ	6.0	1.8	4.8	165
17	ปานกลาง	สูง	ปานกลาง	6.0	1.8	4	155
18	ปานกลาง	สูง	สูง	6.0	1.8	3.4	150
19	สูง	ต่ำ	ต่ำ	4.2	2.8	4.8	155
20	สูง	ต่ำ	ปานกลาง	4.2	2.8	4	145
21	สูง	ต่ำ	สูง	4.2	2.8	3.4	140
22	สูง	ปานกลาง	ต่ำ	4.2	2.3	4.8	150
23	สูง	ปานกลาง	ปานกลาง	4.2	2.3	4	140
24	สูง	ปานกลาง	สูง	4.2	2.3	3.4	130
25	สูง	สูง	ต่ำ	4.2	1.8	4.8	145
26	สูง	สูง	ปานกลาง	4.2	1.8	4	135
27	สูง	สูง	สูง	4.2	1.8	3.4	125

ที่มา: นุชนารถ (2554)

หมายเหตุ: คำนวณจากต้นยาง 76 ต้น/ไร่

2.2 ไนโตรเจน

ไนโตรเจน (nitrogen) พืชดูดมาใช้ในรูปไอออน คือ ไนเตรตไอออน (NO_3^-) และ แอมโมเนียมไอออน (NH_4^+) ซึ่งภายในดินมีสารประกอบไนโตรเจนอยู่ 2 ส่วน คือ สารอินทรีย์ และเกลือชนิดต่างๆ อันเป็นสารอินทรีย์ที่ละลายน้ำได้ง่ายและแตกตัวเป็นไอออน ไนโตรเจนส่วนที่เป็นเกลือซึ่งละลายง่ายมีน้อย อินทรีย์วัตถุจึงเป็นแหล่งไนโตรเจนอีกแหล่งหนึ่งที่สำคัญของพืช อย่างไรก็ตาม ดินที่ใช้ปลูกพืชโดยทั่วไปมักมีอินทรีย์วัตถุต่ำ และการสลายตัวเพื่อปลดปล่อยไนโตรเจนจากอินทรีย์วัตถุอยู่ข้างช้า ดังนั้นทำให้ต้องมีการใส่ปุ๋ยเพื่อชดเชย (ยงยุทธ, 2558)

ปริมาณไนโตรเจนสามารถสูญเสียไปได้ง่าย 2 ประการ คือ 1. พืชดูดไปใช้ และติดไปกับผลผลิตที่เก็บเกี่ยว 2. สูญหายไปจากดินโดยการชะล้าง (leaching) การกร่อน เมื่อมีน้ำส่วนเกินไหลผ่านชั้นดิน หรือผิวหน้าดิน น้ำดังกล่าวชะธาตุอาหารในสารละลายดินไปด้วย หรือกลายเป็นแก๊ส การสูญเสียไนโตรเจนจากดินในรูปของแก๊ส ได้แก่ ไนตรัสออกไซด์ (N_2O) ไนตริกออกไซด์ (NO) และไนโตรเจน (N_2) ซึ่งเป็นกระบวนการดีไนตริฟิเคชัน (denitrification) เมื่อดินขาดออกซิเจนหรือดินในสภาพน้ำขัง และแอมโมเนียซึ่งเกิดจากการสลายตัวของแอมโมเนียมไอออน (NH_4^+) และยูเรีย ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) เกิดจากการแตกตัวของแอมโมเนียมไอออน หรือการไฮโดรไลต์ของยูเรีย มักเกิดกับปุ๋ยที่หวานบนผิวดิน และเกิดมากกับดินที่มีพีเอชสูงกว่า 7.5 หรือในดินเนื้อปูน (ยงยุทธ และคณะ, 2551)

2.2.1 บทบาทของไนโตรเจนต่อการเจริญเติบโตของยางพารา

ไนโตรเจนมีความสำคัญกับพืชทุกระยะการเติบโตตั้งแต่การงอกของเมล็ด ออกดอก ผล น้ำยาง และเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของราก เช่น รากพิเศษ การแตกแขนง การเจริญเติบโตของขนราก การตอบสนองต่อความถ่วงของราก และการเชื่อมสัมพันธ์กับแบคทีเรียบริเวณรากที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth promoting rhizobacteria: PGPR) (Yu *et al.*, 2014) ซึ่งไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบของกรดอะมิโน และโปรตีน คลอโรฟิลล์ กรดนิวคลีอิก นิวคลีโอไทด์ เอนไซม์ และฮอร์โมนบางชนิด (เวท และนุชนารถ, 2524) อีกทั้งไนโตรเจนเป็นตัวกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ เช่น เอนไซม์อินเวอร์เทส (invertase) เอนไซม์ฟอสโฟฟรุกโทโคไคเนส (phosphofructokinase) และเอนไซม์ไพรูเวสไคเนส (pyruvate kinase) (Jacob *et al.*, 1989) โดยทั่วไปพืชต้องการไนโตรเจนอยู่ระหว่าง 2-5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งแตกต่างกันตามชนิดของพืชและระยะการเจริญเติบโต เมื่อพืชได้รับธาตุไนโตรเจนต่ำ ทำให้มีการเจริญเติบโตน้อยลงแสดงอาการขาดธาตุปรกาศที่ใบแก่ เนื่องจากไนโตรเจนถูกเคลื่อนย้ายจากใบแก่ไปเลี้ยงเนื้อเยื่อที่กำลังพัฒนาทำให้ใบแก่แสดงอาการใบเหลือง ในทางตรงกันข้าม หากพืชได้รับไนโตรเจนมากส่งผลทำให้การเจริญเติบโตส่วนลำต้นมากขึ้น แต่การเจริญเติบโตในส่วนของรากลดลง (Hirano *et al.*, 2005) ในยางพาราที่ขาดหรือได้รับไนโตรเจนไม่เพียงพอต่อความต้องการ ทำให้การสร้างโปรตีนและคลอโรฟิลล์ลดลง ใบแก่ของยางพาราแสดงอาการใบเหลือง ขนาด

ใบเล็ก ต้นแคระแกรน สีผิวของเปลือกลำต้นกร้าน แข็งกว่าปกติ และการสร้างท่อน้ำยางลดลง ทำให้ต้นยางที่เปิดกรีดให้น้ำยางน้อย

2.2.2 ไนโตรเจนกับการเกิดโรค

โรคพืชในวงศ์ Solanaceae ได้แก่ *Fusarium wilt*, *Alternaria early blight*, *Pseudomonas solanacearum wilt*, *Sclerotium rolfsii* และ *Pythium damping off* มีการกระจายตัวของโรคเพิ่มขึ้นเมื่อเจริญอยู่ในสภาวะที่มีไนโตรเจนต่ำ (Agrios, 2005) ในทางตรงกันข้ามหากพืชได้รับไนโตรเจนมากเกินไปทำให้พืชเกิดโรคได้ง่ายขึ้นเช่นเดียวกัน (Colbach *et al.*, 1996; Agrios, 1997)

จากการศึกษาของ Hoffland และคณะ (2000) พบว่า ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของไนโตรเจนมากกว่า 1.60 มิลลิโมลาร์ ในสารละลายธาตุอาหารที่ปลูกต้นมะเขือเทศไม่ส่งผลกระทบต่ออัตราการกระจายของเชื้อ *F. oxysporum* แต่ทำให้เชื้อ *P. syringae* มีการกระจายตัวเช่นเดียวกับ ในสภาวะที่มีสารละลายธาตุอาหารไนโตรเจนความเข้มข้น 2.50 มิลลิโมลาร์ สามารถลดการเกิดโรคใบจุดของต้นมะกอกที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *F. oleagineum* ได้สูงถึง 87.70 เปอร์เซ็นต์ (Roca *et al.*, 2016) นอกจากนี้ Abuley และคณะ (2019) รายงานว่า มันฝรั่งที่ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนเพิ่มโอกาสเกิดโรคใบไหม้เข้าทำลายได้ง่าย รวมถึงวิธีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนมีผลต่อการเกิดโรคใบไหม้ของมันฝรั่งในช่วงแรกของการลงปลูก หากมีการแบ่งใส่ปุ๋ยไนโตรเจนทำให้มันฝรั่งมีปริมาณธาตุไนโตรเจนสูงอย่างต่อเนื่อง ซึ่งพบการระบาดของโรคใบไหม้น้อยกว่าการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนเพียงครั้งเดียวก่อนปลูก

2.3 แมงกานีส

แมงกานีสในผิวโลกส่วนมากอยู่ในรูปของแร่ อันเป็นสารประกอบแมงกานีสออกไซด์ ซัลไฟด์ คาร์บอเนตและซิลิเกต แร่ที่สำคัญได้แก่ แร่ไพโรลูไซต์ และแมงกาไนต์ ตลอดจนแมงกานีสออกไซด์ในสารละลายดินและแมงกานีสที่แลกเปลี่ยนได้ที่ผิวคอลลอยด์ดิน รูปที่พืชดูดมาใช้ คือ Mn^{2+} โดยความเข้มข้นของแมงกานีสในสารละลายดินแตกต่างกันตามชนิดดิน เช่น ดินไร้เป็นดินต่างมีแมงกานีสในสารละลายดินต่ำกว่า 0.10 ไมโครโมลาร์ แต่ดินน้ำขังอาจสูงกว่า 400 ไมโครโมลาร์ ขณะที่ความเข้มข้นของแมงกานีสในสารละลายดินที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของพืชอยู่ในช่วง 0.01-50 ไมโครโมลาร์ รวมทั้งผลจากการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุของจุลินทรีย์ในดินให้สาร คีเลตซึ่งจับกับแมงกานีสได้เป็นสารเชิงซ้อนมีสภาพเป็นกรด ทำให้ยับยั้งกิจกรรมการออกซิไดซ์แมงกานีสของจุลินทรีย์ในดิน ส่งผลให้การละลายของแมงกานีสในดินเพิ่มขึ้น โดยปกติการออกซิไดซ์แมงกานีสของจุลินทรีย์ในดินมีมากเมื่อดินมีสภาพเป็นกลาง-ด่าง (ยงยุทธ, 2558)

2.3.1 บทบาทของแมงกานีสต่อการเจริญเติบโตของพืช

แมงกานีสมีบทบาทต่อการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ จิลเบอเรลิน และแคโรทีนอยด์ เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์ กระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ใน shikimic pathway มีความเชื่อมโยงกับการสังเคราะห์กรดอะมิโนแอโรแมติก (aromatic amino acids) โดยเกี่ยวข้องกับฮอร์โมนพืช เช่น ควบคุมกิจกรรมของ (indole acetic acid: IAA) กล่าวคือ เมื่อพืชได้รับ IAA มากเกินไปทำให้ระดับ IAA ในเนื้อเยื่อพืชลดลง ในสภาพดังกล่าวแมงกานีสสามารถทำลายสารยับยั้ง IAA oxidation ทำให้ลดการพัฒนาส่วนประกอบต่างๆ ของพืช นอกจากนี้แมงกานีสมีผลต่อการสังเคราะห์โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และลิพิด รวมถึงการพัฒนาเซลล์พืชในระยะการเจริญพันธุ์ (ยงยุทธ, 2552) แต่หากพืชได้รับแมงกานีสมากเกินไปเกินความต้องการ ก็ทำให้การเจริญเติบโตของพืชลดลงได้เช่นกัน โดย Namsi และคณะ (2007) ทำการทดลองปลูกอินทผลัมในดินที่มีปริมาณแมงกานีสต่ำกว่า 3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทำให้ต้นอินทผลัมแสดงอาการใบเปราะ (maladies des feuilles cassantes: MFC) อีกทั้งจากการศึกษาของ สายใจ และคณะ (2563) พบว่า เมื่อยางพาราพันธุ์ RRIM 600 ได้รับแมงกานีส 15 และ 30 มิลลิโมลาร์ ทำให้ความสูงของต้นยางพาราเท่ากับ 21.93 และ 22.10 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างกับแมงกานีส 0 มิลลิโมลาร์ ประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ อีกทั้งทำให้การสะสมแมงกานีสในส่วนลำต้น ใบ ราก และรากแขนงเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะรากแขนงมีการสะสมแมงกานีส คือ 31 และ 130 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อความเข้มข้นของแมงกานีสเพิ่มขึ้น มีผลทำให้ความเข้มข้นของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมงกานีสลดลง

2.3.2 แมงกานีสกับการเกิดโรค

แมงกานีสเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช ถ้ามีในปริมาณที่น้อยหรือมากเกินไปเกินความต้องการของพืชก็จะส่งผลทำให้พืชแสดงอาการผิดปกติ และทำให้ความสามารถในการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุของโรคพืชง่ายขึ้น จากการศึกษาของ Yao และคณะ (2012) พบว่า ความเข้มข้นแมงกานีสของใบอ่อนที่น้อยกว่า 2,500 ไมโครกรัม สามารถเพิ่มความต้านทานของเชื้อรา *Alternaria* sp. สาเหตุโรคราแป้งในต้นองุ่นได้ โดยทำให้การแพร่กระจายของเชื้อราสาเหตุโรคลดลง แต่การใช้แมงกานีสในปริมาณดังกล่าวไม่สามารถป้องกันและควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Alternaria* sp. ได้ในระยะยาว เช่นเดียวกับ Gea และคณะ (2005) ทดสอบโดยการเพิ่มความเข้มข้นของแมงกานีส 0.0009 และ 0.0018 โมลาร์ ในอาหาร PDA ที่มีส่วนผสมสารสกัดมอลต์ต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Verticillium fungicola* โดยสามารถยับยั้งได้สูงถึง 80 และ 82 เปอร์เซ็นต์

ทั้งนี้การฉีดพ่นสารฆ่าเชื้อราที่มีส่วนผสมของแมงกานีสซัลเฟตสามารถช่วยรักษาและป้องกันการเกิดโรคราแป้งในแตงกวาได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Eskandari *et al.*, 2018) โดยการใช้

แมงกานีสทำให้เพิ่มความต้านทานต่อระบบในเนื้อเยื่อพืช (systemic acquired resistance: SAR) และความเข้มข้นของแมงกานีสในใบพืชช่วยเพิ่มความเข้มข้นของกรดซาลิไซลิกและโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ ethylene และ jasmonic acid มีผลทำให้เพิ่มความต้านทานในการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืช (Reuveni *et al.*, 1996; Yao *et al.*, 2012)

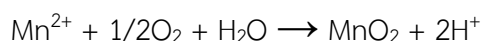
2.4 ความสำคัญของไนโตรเจนและแมงกานีสต่อจุลินทรีย์

2.4.1 ความสำคัญของไนโตรเจนต่อจุลินทรีย์

ไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบของโปรตีนซึ่งพบได้ในเซลล์ของจุลินทรีย์ ตั้งแต่ส่วนของผนังเซลล์ (cell wall) ซึ่งมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ เช่น เปปทิโดไกลแคน (peptidoglycan) หรือ มูริน (murrin) ที่มีส่วนช่วยให้เซลล์ของแบคทีเรียสามารถทนต่อสภาพแวดล้อม หรือ ไคติน (chitin) ที่ผนังเซลล์ของเชื้อราซึ่งมีส่วนประกอบของไนโตรเจนเช่นกัน และในส่วนของเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) มีส่วนประกอบของโปรตีนและไกลโคโปรตีน (glycoprotein) แทรกอยู่มีหน้าที่เป็นรหัสสัญญาณที่ทำให้เซลล์ต่างๆ จดจำกันได้และสามารถติดต่อระหว่างกันได้อย่างจำเพาะเจาะจง ส่วนของเหลวภายในเซลล์ก็มีองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่มีความจำเป็นต่อการทำงานของเซลล์ ทั้งนี้ นิวคลีโอออยด์ (nucleoid) เป็นส่วนสำคัญในการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ ซึ่งจะมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบของสายนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) ทั้ง 2 สาย นั่นก็คือ ดีเอ็นเอ (deoxyribonucleic acid: DNA) ดังนั้นเห็นได้ว่าไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์

2.4.2 ความสำคัญของแมงกานีสต่อจุลินทรีย์

แมงกานีสมีความสำคัญกับจุลินทรีย์ ซึ่งใช้แมงกานีสในการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) ในการแบ่งตัวของเซลล์ จุลินทรีย์สามารถหมุนเวียนแมงกานีสโดยการรีดิวซ์ (Mn^{2+}) และออกซิไดส์ (Mn^{4+}) ซึ่งขึ้นอยู่กับพีเอช และค่า redox potential การรีดิวซ์ Mn^{2+} มีความคงตัวในสภาวะที่มีพีเอชต่ำกว่า 5.5 หรือ ถ้าพีเอชสูงกว่านี้ต้องอยู่ในสภาวะไร้ออกซิเจน โดยจุลินทรีย์สามารถเปลี่ยนรูปแมงกานีส Mn^{2+} ไปเป็น MnO_2 ได้ดังสมการ



แบคทีเรียที่สามารถออกซิไดส์ Mn^{2+} ในสภาวะไร้ออกซิเจนได้ ได้แก่ *Gallionella*, *Metallogenium*, *Sphaerotilus*, *Leptothrix*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, และ *Arthrobacter* มีแบคทีเรียหลายกลุ่มที่สามารถรีดิวซ์ Mn^{4+} ให้เป็น Mn^{2+} ซึ่งเป็นการเพิ่มการละลาย

และการเคลื่อนที่ของแมงกานีส ตัวอย่างเช่น *Shewanella putrefaciens* ซึ่งใช้ MnO_2 เป็นตัวรับอิเล็กตรอน (Atlas *et al.*, 1998)

เชื้อราจะใช้แมงกานีสในการผลิตเอนไซม์กลุ่ม ligninolytic เป็นเอนไซม์ย่อยสลายลิกนิน (lignin) ประกอบด้วย แลคเคส (laccase) แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (manganeseperoxidase: MnP) และ แมงกานีสอินดิเพนเดนท์เปอร์ออกซิเดส (manganeseindependentperoxidase: MIP) โดยเฉพาะเอนไซม์แลคเคสเป็นเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายเนื้อไม้ได้ เอนไซม์ในกลุ่มนี้จัดเป็นเอนไซม์ที่ผลิตและหลั่งออกมาภายนอกเซลล์ (extracellular enzymes) โดยแต่ละตัวจะมีกลไกในการเกิดปฏิกิริยาแตกต่างกัน ซึ่งสามารถจำแนกเอนไซม์กลุ่มดังกล่าวได้ 3 กลุ่มใหญ่ๆ ได้แก่ lignin modifying enzymes, auxiliary enzymes และ feedback type enzymes (Leonowicz *et al.*, 1999)

2.5 โรครากขาวของยางพารา

2.5.1 เชื้อราสาเหตุและการเข้าทำลาย

โรครากขาวเกิดจากเชื้อรา *Rigidoporus microporus* (Sw.) Overeem เป็นเชื้อราจำพวกเห็ด (basidiomycetes) อาศัยอยู่ภายในดิน มีเส้นใยเป็นแบบ monomitic ผนังบาง มีเส้นกั้น (septa) ไม่มี clamps connection เส้นใยมีสีขาว สปอร์มีรูปร่างกึ่งกลมจนถึงกลม (sub-globose to globose) ผิวเรียบขนาด $3.5-4.5 \times 3.5-4$ ไมโครเมตร (Hood, 2006) สามารถผลิตสปอร์จำนวนมากที่รู้ด้านล่างของดอกเห็ด โดยเส้นใยของเชื้อราสามารถเจริญเข้าทำลายได้บริเวณรากพืชและจะเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยแหล่งของเชื้อราสาเหตุโรค คือ เศษซากพืช รากพืช และตอไม้เก่า โรครากขาวจะแพร่จากต้นยางพาราต้นหนึ่งไปยังอีกต้นหนึ่งภายในแถวเดียวกันมากกว่าระหว่างแถว เนื่องจากระยะปลูกระหว่างต้นชิดกว่าระยะปลูกระหว่างแถว ซึ่งการกรีดยางเดินตามแนวแถวของต้นยางพาราทำให้มีการแพร่เชื้อระหว่างต้นได้ง่าย โดยโรคนี้มีความรุนแรงในพื้นที่ที่มีการปลูกยางชำที่เดิมมากกว่าพื้นที่บุกเบิกใหม่และระบาดรุนแรงทำให้ต้นยางตายเป็นบริเวณกว้าง

การเข้าทำลายของเชื้อรา *R. microporus* เกิดจากไรโซมอर्फของเชื้อราเจริญอยู่บนผิวรากภายนอก (ectotrophic growth habit) เมื่อไม่มีอาหารจากภายนอก เชื้อราเข้าทำลายเซลล์รากพืช โดยเปลี่ยนรูปร่างเป็นเส้นใยที่มีผนังบางเพื่อทำให้ง่ายต่อการเข้าสู่เนื้อเยื่อพืช (infectious hyphae) (เสมอใจ, 2555) เชื้อรา *R. microporus* สามารถผลิตเอนไซม์ในกลุ่ม ligninolytic ซึ่งประกอบไปด้วย แลคเคส แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส แมงกานีสอินดิเพนเดนท์เปอร์ออกซิเดส และ ลิกนินเปอร์ออกซิเดส โดยเฉพาะเอนไซม์แลคเคสซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ถึงความรุนแรงในการเข้าทำลายของโรครากขาว สามารถพบได้ในเชื้อราชั้นสูง เช่น *Ascomycetes*, *Deuteromycetes* และ *Basidiomycetes* ทั้งนี้แลคเคสย่อยสลายลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสที่ผนังเซลล์รากพืช ทำให้

ความสามารถในการดูดน้ำและธาตุอาหารของต้นยางพาราลดลง ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืชลดลง อาการที่ปรากฏ คือ ใบมีขนาดเล็ก สีของใบเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ทรงพุ่มมีขนาดเล็ก และค่อยๆ ยืนต้นตาย เมื่อสังเกตลักษณะของรากพบเส้นใยสีขาวเจริญแนบกับราก แต่เนื่องจากรากฝังอยู่ใต้ดินสังเกตได้ยาก ข้อบ่งชี้อีกอย่าง คือ สามารถมองเห็นลักษณะเส้นใย หรือดอกเห็ดสีน้ำตาลอมส้มได้ที่ฐานของลำต้น

2.5.2 การป้องกันกำจัดโรครากขาว

การป้องกันและควบคุมโรครากขาว โดยกำจัดแหล่งต้นตอที่มาของเชื้อสาเหตุโรคเป็นสิ่งที่ดี แต่การกำจัดต้นตอของเชื้อสาเหตุโรคก็เป็นเรื่องที่ทำได้ยากสำหรับเกษตรกรรายย่อย เนื่องจากมีค่าใช้จ่ายที่สูง โดยทำให้เกษตรกรหันมานิยมใช้สารเคมีในการป้องกันโรคเพราะมีความสะดวก ได้แก่ ไซโปรโคนาโซล (cyproconazole), ไอโพรไดโอน (iprodione), ฟอสฟอรัสแอซิด (phosphoric acid), วาลิดามัยซิน (validamycin), คาร์เบนดาซิม (carbendazim), ไตรเดอมอร์ฟ (tridemorph) และอีทาบอกแซม (etaboxam) เป็นต้น สารเคมีดังกล่าวอาจจะได้ผลในระยะแรกที่พืชเริ่มติดเชื้อ แต่เมื่อใช้ปริมาณมากก็เป็นสาเหตุให้เชื้อสาเหตุโรคเกิดความต้านทานต่อสารเคมี จากการศึกษาของ อารมณ และคณะ (2554) ทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีป้องกันและกำจัดเชื้อรา *R. lignosus* โรครากขาวของยางพารา คือ ไอโพรไดโอน, วาลิดามัยซิน, คาร์เบนดาซิม, ฟอสฟอรัสแอซิด และอีทาบอกแซม โดยวิธี poisoned food technique พบว่า สารเคมีดังกล่าวที่ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. lignosus* ได้อยู่ในช่วง 50-60 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้นหลังจากปลูกเชื้อ *R. lignosus* ได้ 5 วัน การใช้ฟอสฟอริก แอซิด ที่ความเข้มข้นมากขึ้น 10,000-50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. lignosus* ได้สูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ แต่หลังจากปลูกเชื้อรา 7 วัน ขึ้นไป ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราลดลงเหลือ 98 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นการควบคุมโรคพืชโดยใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ จึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่ช่วยลดการใช้สารเคมี โดยจุลินทรีย์จะสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiotic) ที่สามารถยับยั้งหรือลดการเพิ่มจำนวนของเชื้อสาเหตุของโรคพืชได้ จากการศึกษา Nakaew และคณะ (2015) ได้ทดสอบการใช้ *Streptomyces* sp. (TM32) และสารเคมี metalaxyl (RFM) อัตรา 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อ 1 กิโลกรัมของดิน กับต้นยางพาราพันธุ์ RRIM 600 ในระยะอนุบาล 8-10 เดือน โดยลดอัตราการเข้าทำลายของเชื้อรา *Rigidoporus* sp. ได้ 60 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รวมไปถึงจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Aspergillus niger* (SN72), *Chaetomium bostrychodes* (BN08), *Ch. cupreum* (RY202), *Trichoderma hamatum* (STN07) และ *T. harzianum* (STN01) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *R. microporus* ได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ (Kaewchai และ Soyong, 2010) เช่นเดียวกับ สุภาภรณ์ และมารีนา (2557) ได้ศึกษาประสิทธิภาพ

ของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. จำนวน 11 สายพันธุ์ พบว่า *Trichoderma* spp. ทุกสายพันธุ์สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. lignosus* ได้อยู่ในช่วง 13.33-72 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ Damiri และคณะ (2019) พบว่าเชื้อรา *P. fluorescens* ที่แยกได้จากดินบริเวณรากของต้นขมิ้น สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* ได้ 88.91 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทดสอบภายในห้องปฏิบัติการ รวมทั้ง ปฎิมาพร (2556) พบว่า ทดสอบการใช้เชื้อรา *Streptomyces griseus* subsp. *formicus* ในการยับยั้งเชื้อรา *R. microporus* จำนวน 50 สายพันธุ์ โดยทุกสายพันธุ์สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* ได้อยู่ในช่วง 74.29-95.71 เปอร์เซ็นต์ เมื่อตรวจดูลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุดังกล่าว พบว่า เส้นใยเชื้อราเจริญผิดปกติ การแตกแขนงของเส้นใยลดลง ปลายเส้นใยไม่เจริญต่อ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งรูปร่างมีความสมบูรณ์

2.6 *Bacillus subtilis*

2.6.1 ลักษณะทั่วไปและความสำคัญของ *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่างเป็นท่อนทรงกระบอก (rod shaped) มีขนาด 0.5-2.5 x 1.2-10 หรือ 0.3-2.2 x 0.7-1.2 ไมโครเมตร (ดวงพร, 2537) มีผนังเซลล์ที่แข็งแรง ซึ่งประกอบไปด้วย peptidoglycan เป็นโพลิเมอร์ของน้ำตาลและกรดอะมิโน peptidoglycan ที่พบในแบคทีเรียดังกล่าว เรียกว่า มูริน (Schaechter, 2006) โดย *B. subtilis* เคลื่อนที่ได้ด้วย แฟลกเจลลา สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน ใช้เวลาในการเจริญเติบโตประมาณ 24-48 ชั่วโมง ลักษณะโคโลนีที่เลี้ยงอาหารเลี้ยงเชื้อที่เป็นอาหารแข็งสร้างโคโลนีผิวด้าน (dull) หรือผิวย่น (wrinkled) เป็นสีครีมหรือน้ำตาลอ่อน มีความทนต่ออุณหภูมิช่วงกว้างตั้งแต่ -5 ถึง 80 องศาเซลเซียส สามารถสร้างเอนโดสปอร์ (endospore) ซึ่งทำให้ *B. subtilis* สามารถมีชีวิตรอดได้ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น สภาพที่ขาดสารอาหาร ความร้อน สารเคมี รังสียูวี และความแห้งแล้ง (Ashlee *et al.*, 2008) นอกจากนี้ *B. subtilis* ยังสร้างสารปฏิชีวนะได้หลายชนิด เช่น bacillomycin, iturin A B C, mycosubtilin, subtilin, fengymycin, oxydifficidin และ cobacillin เป็นต้น สารเหล่านี้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ *B. subtilis* ยังสามารถสร้างเอนไซม์ที่สำคัญได้แก่ β -1,3-glucanase และ chitinase ที่สามารถย่อยผนังเซลล์ของเชื้อราได้ (Singh *et al.*, 2008) รวมไปถึง *B. subtilis* มีบทบาทในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth promoting rhizobacteria) เช่น ถั่วเหลือง อ้อย และพริก (รัชฎาวรรณ และคณะ, 2548; ชลิตา และนัฐพร, 2550; Ahmed *et al.*, 2003)

2.6.2 กลไกการยับยั้งของ *Bacillus subtilis* มี 4 ลักษณะดังนี้

2.6.2.1 การแข่งขัน (competition) *B. subtilis* สามารถเจริญเติบโตได้ดีกว่าเชื้อสาเหตุโรคพืช โดยไปแย่งปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโต ส่งผลให้เชื้อสาเหตุโรคไม่สามารถ

เจริญเติบโตและลดโอกาสที่ก่อโรคให้กับพืชได้ เช่น แบคทีเรียปฏิปักษ์มีความสามารถในการหาอาหารได้ดีกว่า ทำให้มีการเจริญเติบโตครอบครองพื้นที่ได้เร็ว ส่งผลทำให้เชื้อโรคไม่สามารถแข่งขัน และทำให้การเข้าทำลายของโรคน้อยขึ้น อีกทั้ง *B. subtilis* สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้หลากหลาย และสามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มของ bacillaene เช่น linear polyketide หรือ nonribosomal peptide (Bautista *et al.*, 2014) ซึ่งจะมีผลไปเพิ่มประสิทธิภาพในการแข่งขันให้กับ *B. subtilis* ในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชได้

2.6.2.2 การทำลายชีวิต (antibiosis) สารปฏิชีวนะที่ *Bacillus* spp. ผลิตออกมา เช่น subtilin, bacitracin, bacillin, fengycin, surfactin, polyketides และ bacillomycin เป็นต้น (Stein, 2005) โดยจะมีแบคทีเรียในกลุ่มของ *Bacillus* spp. หลายชนิดที่สามารถผลิตสารปฏิชีวนะ เช่น *B. amyloliquefaciens* (QST 713) สามารถผลิต bacitracin (Anastassiadou, 2011) และ *B. velezensis* สามารถผลิต surfactin, bacillomycin-D, fengycin และ bacillibactin และ polyketides (เช่น macrolactin, bacillaene และ difficidin) (Rabbee *et al.*, 2019) นอกจากนี้พบว่าเชื้อ *Streptomyces* spp. สามารถสร้างเอนไซม์ β -1 glucanase, 3-glucanase, 4-glucanase และ chitinase (พรพรรณ, 2550) รวมทั้งสามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้ เช่น tetracyclines (Hansen *et al.*, 2001) hygromycin (Uyeda *et al.*, 2001) และ bafilomycin (Frandsberg *et al.*, 2000) เป็นต้น

Pengnoo และคณะ (2006) พบว่า *B. subtilis* (TRV 9-5-2) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใย *Rhizoctonia solani* สาเหตุโรคใบไหม้ของถั่วหรั่ง เช่นเดียวกับ *Bacillus* spp. สามารถสร้างสารปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. solani* และ *V. dahlia* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Abbas *et al.*, 2006) รวมไปถึง *B. amyloliquefaciens* (BLB369), *B. subtilis* (BLB277) และ *Paenibacillus polymyxa* (BLB267) สามารถผลิต iturin, surfactin, fengycin, fusaricidin และ polymyxin ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. graminearum* ในต้นข้าวสาลี (Kolsi *et al.*, 2016) *B. amyloliquefaciens* (JDF3) และ *B. subtilis* (RSS-1) สามารถยับยั้งเชื้อ *P. sojae* สาเหตุของโรคเหี่ยวในถั่วเหลืองได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยจะยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใย การงอกของสปอร์ และการเคลื่อนที่ของไซโทสปอร์ที่เคลื่อนที่ได้ (Liu *et al.*, 2019)

จากการศึกษาของ Manna และ Kim (2018) พบว่า *B. megaterium* (KU143) *Microbacterium testaceum* (KU313) และ *P. protegens* (AS15) สามารถผลิตสารระเหยออกมาเพื่อยับยั้งการงอกของสปอร์และการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *A. candidus*, *A. fumigatus*, *P. fellutanum* และ *P. islandicum* ที่เจริญบนเมล็ดข้าวได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยเมื่อทำการวิเคราะห์ GC-MS พบว่า KU143 และ AS15 สามารถผลิต 5-methyl-2-phenyl-1H-indole ทั้งนี้

(KU143) สามารถผลิต 2-butyl 1-octanal, dimethyl disulfide, 2-isopropyl-5-methyl-1-heptanol และ (AS15) ที่ผลิต 4-trifluoroacetoxyhexadecane

2.6.2.3 การเป็นปรสิต (parasite) *B. subtilis* สามารถย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อราสาเหตุโรค โดยเอนไซม์หลักที่ทำหน้าที่ในการย่อย คือ β -1 glucanase, 3-glucanase, 4-glucanase และ chitinase ซึ่งจะย่อยสลาย chitin เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์เชื้อรา ส่งผลทำให้เชื้อราสาเหตุอ่อนแอและตาย หรือการเข้าทำลายภายในตัวอ่อนของสิ่งมีชีวิตที่ก่อโรคของแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* จากการศึกษาของ Kotze และคณะ (2005) พบว่า แบคทีเรีย *B. Thuringiensis* มีผลต่อการเจริญของของไส้เดือนฝอย *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis* และ *Ostertagia circumcincta* เนื่องจากแบคทีเรีย *B. Thuringiensis* ดังกล่าวอาจจะสร้างเอนไซม์บางชนิดที่ไปมีผลต่อการพัฒนาของไส้เดือนฝอยในระยะแรก ส่งผลให้ประชากรของไส้เดือนฝอยลดลง เช่นเดียวกับ *B. thuringiensis* (CR-371) สามารถลดการสร้างไข่ของไส้เดือนฝอยบริเวณรากของต้นรากมะเขือเทศได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Elsharkawy *et al.*, 2015)

2.6.2.4 การชักนำให้เกิดความต้านทานโรค (induced resistance) แบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถชักนำ หรือกระตุ้นให้พืชสร้างความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อโรคได้ จากงานวิจัย อภาพร และเกวลิน (2020) พบว่า การใช้ *Actinomyces* spp. (EA) สามารถชักนำให้ต้นสตอเบอร์รี่เกิดความต้านทานต่อเชื้อ *Phytophthora cactorum* สาเหตุโรครากเน่าได้ เช่นเดียวกับการใช้แบคทีเรีย *B. cereus* สามารถชักนำให้ต้นมะเขือเทศเกิดความต้านทานต่อเชื้อรา *P. syringae* pv, *Ralstonia solanacearum* และ *Phytophthora capsici* Leon สาเหตุของโรคเหี่ยว และโรครากปมที่เกิดจาก *Meloidogyne incognita* ได้ อีกทั้ง Wang และคณะ (2014) ทดสอบประสิทธิผลของสารชีวภัณฑ์ *B. cereus* (AR156) ในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Colletotrichum acutatum* ของผลโลควอท (loquat) โดยสามารถลดขนาดแผลและความรุนแรงในการเกิดโรค ซึ่งจะไปเพิ่มกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl ในผลโลควอททำให้เกิดความต้านทานต่อเชื้อรา *C. acutatum*

3. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1) ศึกษาผลของไนโตรเจนและแมงกานีสร่วมกับแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ SM1 ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Rigidoporus microporus* สายพันธุ์ NK6 สาเหตุโรครากขาวของยางพาราภายในห้องปฏิบัติการ

2) ศึกษาผลของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ร่วมกับการใส่ปุ๋ยต่อการควบคุมเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 สาเหตุโรครากขาวของยางพาราภายในสภาพโรงเรือนทดลอง

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

1. วัสดุและสารเคมี

1.1 วัสดุอุปกรณ์ทางการเกษตร

1.1.1 พลั่วสนาม

1.1.2 จอบ

1.1.3 ซ่อนปลูก

1.1.4 บัวรดน้ำ

1.1.5 เมล็ดยางพาราพันธุ์พื้นเมือง

1.1.6 ถุงพลาสติก 9x18 นิ้ว

1.1.7 ปุ๋ยสูตร 20-8-20, 48-0-0, 18-46-0 และ 0-0-60

1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

1.2.1 nutrient agar (NA)

1.2.2 potato dextrose agar (PDA)

1.2.3 potato dextrose broth (PDB)

1.3 สารเคมี

1.3.1 กรดซัลฟิวริก (sulphuric acid: 98% w/w H_2SO_4)1.3.2 กรดไนตริก (nitric acid: 65% w/w HNO_3)1.3.2 กรดบอริก (boric acid: H_3BO_3)

1.3.3 กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid: HCl)

1.3.4 กรดซาลิไซลิก (salicylic acid)

1.3.5 กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid: $C_6H_8O_6$)1.3.6 กรดเพอร์คลอริก (perchloric acid: 70% w/w $HClO_4$)1.3.7 กรดอะซิติก (glacial acetic acid: 99.5 % CH_3COOH)

1.3.8 ไตรเอทิลีนไทรเอมีนเพนทาอะซิติกแอซิด

(diethylenetriaminepentaacetic acid: $C_4H_{23}N_3O_{10}$)1.3.9 ไทรเอทานอลามีน (triethanolamine: $C_6H_{15}NO_3$ หรือ TEA)

- 1.3.10 แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต (calcium chloride dihydrate)
- 1.3.11 สารละลายมาตรฐานแมงกานีส (standard manganese: 1,000 mg L⁻¹)
- 1.3.12 สารละลายมาตรฐานทองแดง (standard copper: 1,000 mg L⁻¹)
- 1.3.13 สารละลายมาตรฐานแคลเซียม (standard calcium: 1,000 mg L⁻¹)
- 1.3.14 สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียม (standard potassium: 1,000 mg L⁻¹)
- 1.3.15 สารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส (standard phosphorus: 1,000 mg L⁻¹)
- 1.3.16 สารละลายมาตรฐานแมกนีเซียม (standard magnesium: 1,000 mg L⁻¹)
- 1.3.17 สารละลายมาตรฐานเหล็ก (standard iron: 1,000 mg L⁻¹)
- 1.3.18 สารละลายมาตรฐานสังกะสี (standard zinc: 1,000 mg L⁻¹)
- 1.3.19 สารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมไนโตรเจน
- 1.3.20 สทรอนเทียมคลอไรด์ (strontium chloride: SrCl₂·6H₂O)
- 1.3.21 น้ำยาสกัดเบรย์ทู (bray ll reagent)
- 1.3.22 สารผสมเร่งปฏิกิริยา (catalyst mixture)
- 1.3.23 อินดิเคเตอร์ผสม (mixed indicator)
- 1.3.24 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
- 1.3.25 โพแทสเซียมไดโครเมต (K₂Cr₂O₇)
- 1.3.26 เฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตเฮกซาไฮเดรต (Fe (NH₄)₂ (SO₄)₂ 6H₂O)
- 1.3.27 เฟอร์โรอินดิเคเตอร์ (feroin indicator)
- 1.3.28 สารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส (standard phosphorus)
- 1.3.29 แอมโมเนียมอะซิเตต (NH₄OAc)
- 1.3.30 แอมโมเนียมซัลเฟต (NH₄SO₄)
- 1.3.31 แมงกานีสซัลเฟต (MnSO₄)
- 1.2.32 Guaiacol 15% (v/v)

2. อุปกรณ์ และเครื่องมือวิทยาศาสตร์

- 2.1 ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow cabinet)
- 2.2 ตู้บ่มเชื้อ (incubator)
- 2.3 ตู้อบเครื่องแก้ว (hot air oven)
- 2.4 ตู้เพิ่มความดันไอน้ำ (autoclave)
- 2.5 เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge)
- 2.6 เครื่องเขย่าผสม (vortex mixture)

- 2.7 เครื่องชั่งไฟฟ้าละเอียด (analytical balance) 0.01, 0.001 และ 0.0001 กรัม
- 2.8 เครื่องกลั่นไนโตรเจน (nitrogen distillation apparatus)
- 2.9 เครื่องอะตอมมิคแอบซอร์พชันสเปกโทรมิเตอร์ (atomic absorption spectrophotometer)
- 2.10 เครื่องวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (visible spectrophotometer)
- 2.11 ไมโครเวฟ (microwave)
- 2.12 ไมโครปิเปต (micropipette) ปริมาตร 0.1, 1, 5 และ 10 ไมโครลิตร
- 2.13 ตะเกียงแอลกอฮอล์
- 2.14 เข็มเย็บเย็บ (needle and Loop)
- 2.15 แท่งแก้วตัวแอล (L-shape glass rod)
- 2.16 เตาย่อยตัวอย่าง (digestion block)
- 2.14 หลอดย่อยตัวอย่าง (kjeldahl tube) ขนาด 20 และ 100 มิลลิลิตร
- 2.15 ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask) ขนาด 25, 50 และ 125 มิลลิลิตร
- 2.16 บิวเรตต์ (burette) ขนาด 50 มิลลิลิตร
- 2.17 ดิสเพนเซอร์ (dispenser) ขนาด 5, 10 และ 20 มิลลิลิตร
- 2.18 กระจกตวง (measuring cylinder) ขนาด 20, 50 และ 100 มิลลิลิตร
- 2.19 ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 50, 100, 200, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร
- 2.20 หลอดเหวี่ยง (centrifuge Tube) ขนาด 50 มิลลิลิตร
- 2.21 ขวดแก้วดูแรน (duran Bottle) ขนาด 400 และ 100 มิลลิลิตร
- 2.22 กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (light microscope)
- 2.23 แผ่นสไลด์ (slide)
- 2.24 เครื่องเจาะหลุม (cork borer) ขนาด 0.5 เซนติเมตร
- 2.25 จานเพาะเชื้อ (petri dish) เส้นผ่านศูนย์กลาง (4.5 เซนติเมตร)
- 2.26 หลอดทดลอง (test tube) ขนาด 20x150 มิลลิเมตร

3. วิธีการทำการทดลอง

3.1 เชื้อรา *Rigidoporus microporus* สายพันธุ์ NK6 และแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ SM1

เชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ได้รับความอนุเคราะห์จากโครงการวิจัยของการจัดการดินและแบคทีเรียประยุกต์ต่อการควบคุมโรครากขาวของยางพารา และห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาของดิน คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

3.2 การเตรียมสารละลาย

ไนโตรเจนรูปแอมโมเนียมซัลเฟต $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$ ความเข้มข้น 5 ระดับ 0, 0.421, 0.842, 1.263 และ 1.684 โมลาร์

แมงกานีสซัลเฟต (MnSO_4) ความเข้มข้น 5 ระดับ 0, 0.014, 0.028, 0.042 และ 0.056 โมลาร์

ไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส ความเข้มข้น 5 ระดับ N 0 + Mn 0, N 0.421 + Mn 0.014, N 0.842 + Mn 0.028, N 1.263 + Mn 0.042 และ N 1.684 + Mn 0.056 โมลาร์

3.3 การเตรียมเซลล์ (fresh cells) ของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ SM1

เลี้ยงแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 บนอาหาร potato dextrose agar (PDA) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นใช้หัวเข็มเย็บเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ประมาณ 2 ลูบ ลงในขวดลูกผสมฟู่ที่บรรจุอาหาร potato dextrose broth (PDB) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และนำไปเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบ/นาที เป็นเวลา 7 วัน ปั่นเหวี่ยง 9000 รอบ/นาที เป็นเวลา 30 นาที เพื่อแยกให้ได้ส่วนเซลล์

3.4 การเจริญของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ SM1

นำ fresh cells ทดสอบการเจริญของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ด้วยวิธี dilution spread plate บนอาหาร PDA ที่มีไนโตรเจน แมงกานีส และไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส ระดับต่างๆ (ข้อ 3.2) ทำการทดลอง 4 ซ้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 28-32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกผลโดยตรวจนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ที่เจริญบนผิวอาหารดังกล่าว

3.5 การเจริญของเชื้อรา *Rigidoporus microporus* สายพันธุ์ NK6

เจาะชิ้นส่วนเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 โดยใช้เครื่องเจาะรู (cork borer) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร วางบนอาหาร PDA ที่มีไนโตรเจน แมงกานีส และไนโตรเจน ร่วมกับแมงกานีสระดับต่างๆ (ข้อ 3.2) ทำการทดลอง 4 ซ้ำ บ่มเชื้อราที่อุณหภูมิห้อง 28-32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน (จนกว่าเส้นใยเชื้อราของชุดควบคุม 0 โมลาร์ เจริญเต็มผิวหน้าอาหาร) บันทึกผลการทดลองโดยวัดความยาวของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 และตัดปลายเส้นใยเชื้อราเพื่อศึกษาลักษณะของเส้นใยเชื้อราด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดแสงธรรมดา

3.6 การผลิตวงสีเอนไซม์แลคเคสของเชื้อรา *Rigidoporus microporus* สายพันธุ์ NK6

เติม Guaiacol 15 เปอร์เซ็นต์ (v/v) 1 มิลลิลิตร ต่ออาหาร PDA 1 ลิตร ที่มีไนโตรเจน แมงกานีส และไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีสระดับต่างๆ (ข้อ 3.2) หลังจากนั้นใช้ cork borer เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะชิ้นส่วนเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 นำไปวางบนจานเพาะเชื้อ (เส้นผ่านศูนย์กลาง 4.5 เซนติเมตร) ที่บรรจุอาหาร PDA ที่เตรียมไว้ข้างต้น ทำการทดลอง 4 ซ้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 28-32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน (จนกว่าเส้นใยเชื้อราของชุดควบคุม 0 โมลาร์ เจริญเต็มผิวหน้าอาหาร) บันทึกผลโดยวัดรัศมีวงสีเอนไซม์แลคเคสที่เชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 สร้างขึ้นบนผิวหน้าอาหาร

3.7 ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ SM1 ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rigidoporus microporus* สายพันธุ์ NK6

3.7.1 ผลของไนโตรเจนและแมงกานีสต่อความสามารถของ *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6

นำแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ด้วยวิธี dual culture technique (Skidmore and Dickinson, 1976) บนอาหาร PDA ที่มีไนโตรเจน แมงกานีส และไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีสระดับต่างๆ (ข้อ 3.2) โดยนำเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 เลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นเจาะชิ้นส่วนที่มีเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 โดยเครื่องเจาะรู (cork borer) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร จากนั้นวางบนจานเพาะเชื้อบรรจุอาหาร PDA ที่มีไนโตรเจน แมงกานีส และไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีสระดับต่างๆ (ข้อ 3.2) โดยให้ห่างจากขอบจานเพาะเชื้อ 2 เซนติเมตร และฝังตรงข้ามปลูกแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ความยาว 4 เซนติเมตร ให้ห่างจากจุดกึ่งกลางของเชื้อรา 5 เซนติเมตร ทำการทดลอง 4 ซ้ำ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 28-32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน (จนกว่าเส้นใยเชื้อราของชุดควบคุม 0 โมลาร์ เจริญเต็มผิวหน้าอาหาร)

บันทึกผลการทดลองโดยวัดความกว้างของบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) ระหว่างโคโลนีของเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 และแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 หลังจากนั้นตัดปลายเส้นใยของเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 บริเวณที่ถูกยับยั้งด้วยแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 เพื่อศึกษาลักษณะของเส้นใยเชื้อราด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดแสงธรรมดา

3.8 ทดสอบประสิทธิภาพเซลล์ของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ SM1 ในการยับยั้งเชื้อรา *Rigidoporus microporus* สายพันธุ์ NK6

3.8.1 pour plate technique

ผสมเซลล์ของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ต่ออาหาร PDA 1 ลิตร ที่มีไนโตรเจน แมงกานีส และไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีสที่ระดับต่างๆ (ข้อ 3.2) เทลงในจานเพาะเชื้อ (เส้นผ่านศูนย์กลาง 4.5 เซนติเมตร) หลังจากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะขึ้นรู้นเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 วางตรงกลางบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร PDA ดังกล่าว ทำการทดลอง 4 ซ้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 28-32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน (จนกว่าเส้นใยเชื้อราของชุดควบคุม 0 โมลาร์ เจริญเต็มผิวหน้าอาหาร) บันทึกผลโดยวัดความยาวของเส้นใยเชื้อรา และคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (percent inhibition of radial growth: PIRG) ตามวิธีของ Morton and Stroube, (1955)

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (percent inhibition of radial growth: PIRG) คำนวณได้ดังนี้

$$\text{PIRG} = \frac{(R1-R2)}{R1} \times 100$$

เมื่อ R1 = ความยาวของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคในชุดควบคุม
R2 = ความยาวของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคในชุดทดสอบ

3.8.2 volatile extracellular metabolite (Dennis and Webster, 1991)

จานเพาะเชื้อที่ 1 (อาหาร PDA ที่มีไนโตรเจน แมงกานีส หรือไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส ข้อ 3.2) หยดเซลล์ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อ (เส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร) จากนั้นใช้แท่งแก้วตัวแอลเกลีย fresh cells ให้ทั่วบริเวณผิวหน้าอาหาร

งานเพาะเชื้อที่ 2 (อาหาร PDA) ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะชิ้นส่วนเชื้อรา *R. microsporus* สายพันธุ์ NK6 วางตรงกลางบนงานเพาะเชื้อที่มีอาหาร PDA ให้บริเวณผิวหน้าเชื้อราสัมผัสกับอาหาร PDA

หลังจากนั้นนำงานเพาะเชื้อ 1 ประกอบ 2 โดยให้งานเพาะเชื้อที่ 1 อยู่ด้านล่าง และพันด้วยพาราฟิล์ม ทำการทดลอง 4 ซ้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 28-32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน (จนกว่าเส้นใยเชื้อราของชุดควบคุม 0 โมลาร์ เจริญเต็มผิวหน้าอาหาร) บันทึกผลโดยวัดความยาวของเส้นใยเชื้อราและคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (percent inhibition of radial growth: PIRG)

3.8.3 ดินผสม

บรรจุอาหาร PDA ในหลอดทดลอง (20x150 มิลลิเมตร) ปริมาตร 3 มิลลิตร ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะชิ้นส่วนเชื้อรา *R. microsporus* สายพันธุ์ NK6 วางบนอาหาร PDA ดังกล่าว และบ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 28-32 องศาเซลเซียส จนกว่าเส้นใยเชื้อรา *R. microsporus* สายพันธุ์ NK6 เจริญเต็มผิวหน้าอาหาร PDA ในหลอดทดลอง

นำดินผสมกับขี้เลื่อย (9:1) หนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นเพิ่มไนโตรเจน แมงกานีส และไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีสที่ระดับต่างๆ (ข้อ 3.2) และ เซลล์ของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ให้มีความชื้นในดินประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำดินที่เตรียมไว้ น้ำหนัก 20 กรัม บรรจุในหลอดทดลองที่เลี้ยงเชื้อเตรียมไว้ให้มีความสูง 10 เซนติเมตร ปิดปากหลอดด้วยจุกสำลีและกระดาษอะลูมิเนียม ทำการทดลอง 4 ซ้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 28-32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 11 วัน (จนกว่าเส้นใยเชื้อรา *R. microsporus* สายพันธุ์ NK6 ในชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมธาตุและแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 เจริญปกคลุมคูดินในหลอดทดลอง) บันทึกผลโดยวัดการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microsporus* สายพันธุ์ NK6

3.9 ประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ SM1 ร่วมกับการใส่ปุ๋ยในการควบคุมเชื้อรา *Rigidoporus microsporus* สายพันธุ์ NK6 สาเหตุโรครากขาวของยางพารา

3.9.1 การเตรียมเชื้อรา *R. microsporus* สายพันธุ์ NK6

นำเมล็ดข้าวฟ่างมาล้างให้สะอาด ต้มให้เมล็ดแตกเพียงเล็กน้อย และนำไปผสมกับขี้เลื่อย (อัตราส่วน 3:1) หลังจากนั้นบรรจุใส่ขวดแก้วขวดละ 150 กรัม ปิดปากขวดด้วยจุกสำลีและกระดาษอะลูมิเนียม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นปลูกเชื้อรา *R. microsporus* สายพันธุ์ NK6 ใส่ไว้ในขวดแก้วดังกล่าว บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน หรือจนกว่าเชื้อราเจริญปกคลุมส่วนผสมในขวด หลังจากนั้นนำไปทดสอบขั้นต่อไป

3.9.2 การเตรียมต้นยางพารา

ร่อนดินผ่านตะแกรงขนาด 2 เซนติเมตร แบ่งเป็น 2 ส่วน 1) วิเคราะห์สมบัติ สมบัติทางเคมีของดินก่อนการทดลองได้ผลดังนี้ ไนโตรเจนทั้งหมดต่ำ (0.30 g kg^{-1}) ฟอสฟอรัสที่เป็น ประโยชน์ต่ำ (9.61 g kg^{-1}) โพแทสเซียมที่สกัดได้ต่ำ ($0.03 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$) และแมงกานีสที่สกัดได้สูง (4.22 mg kg^{-1}) 2) เพาะเมล็ดยางพาราพันธุ์พื้นเมืองโดยบรรจุดินในถุงพลาสติกดำขนาด 9×18 นิ้ว (10 กิโลกรัม) นำไปทดสอบโดยการใส่ปุ๋ย 2 แบบ 1) ปุ๋ยสูตร 20-8-20 อัตรา 130 กรัม/ต้น/ปี (N 26.0 : P_2O_5 10.40 : K_2O 26.0 กรัม) และ 2) ใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน อัตรา 155 กรัม/ต้น/ปี (N 40.98 : P_2O_5 12.80 : K_2O 29.95 กรัม) มีการให้น้ำ 3 วันต่อครั้ง เมื่อครบเวลา 1 ปี นำมาทดสอบขั้น ต่อไป ต้นยางพาราที่ได้รับการคัดเลือกนำมาทดสอบภายในสภาพโรงเรือนทดลอง และวางแผนการ ทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design: CRD) จำนวน 8 ทรีทเมนต์ ทรีทเมนต์ ละ 6 ซ้ำ รวมจำนวนทั้งหมด 48 ถูๆ ทำการทดสอบเป็นเวลา 6 เดือน ประกอบไปด้วย

- ทรีทเมนต์ 1 ชุดควบคุม ปุ๋ยสูตร 20-8-20
- ทรีทเมนต์ 2 ปุ๋ยสูตร 20-8-20 + แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1
- ทรีทเมนต์ 3 ปุ๋ยสูตร 20-8-20 + เชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6
- ทรีทเมนต์ 4 ปุ๋ยสูตร 20-8-20 + แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 + เชื้อรา *R. microporus*
- ทรีทเมนต์ 5 ชุดควบคุม ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน
- ทรีทเมนต์ 6 ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน + แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1
- ทรีทเมนต์ 7 ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน + เชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6
- ทรีทเมนต์ 8 ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน + แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 + เชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6

ในเดือนแรกปลูกเชื้อ *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ที่เตรียมไว้ (ข้อ 3.7.1) 1 ขวด/ต้น โดยการขุดดินในถุงปลูกบริเวณรอบโคนต้นยางให้ลึกประมาณ 10-15 เซนติเมตร และกลบ ดินปิดให้สนิท หลังจากปลูกเชื้อราเชื้อ *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 1 เดือน ให้นำเซลล์ของ แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^8 cfu/ml ราดบนดินในอัตรา 20 มิลลิลิตรต่อต้น บันทึกผลการเจริญเติบโต ได้แก่ ความสูงเหนือดิน เส้นรอบวง น้ำหนักแห้ง (ลำต้น ใบ และราก) คำนวณเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงการเกิดโรคและลดการเกิดโรคส่วนเหนือดิน และรากของ ยางพารา

ประเมินระดับความรุนแรงของโรค โดยให้ระดับคะแนนความรุนแรงของการเกิดโรค
ที่ประเมินด้วยสายตาสวนเหนือดินของยางพาราหลังสิ้นสุดการทดลองที่ 6 เดือน (ดัดแปลงจาก
Wattanasirakorn และคณะ 2012)

- ระดับที่ 0 = 0 เปอร์เซ็นต์ ต้นสมบูรณ์ไม่แสดงอาการของโรค
- ระดับที่ 1 = 1-25 เปอร์เซ็นต์ ปลายใบเป็นสีเหลือง
- ระดับที่ 2 = 26-50 เปอร์เซ็นต์ ใบเริ่มมีขนาดเล็ก ปลายใบมีรอยไหม้
- ระดับที่ 3 = 51-75 เปอร์เซ็นต์ ใบมีขนาดเล็ก ปลายใบไหม้ 10 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ใบ
- ระดับที่ 4 = 75-100 เปอร์เซ็นต์ ใบเป็นสีเหลืองร่วง ปลายใบไหม้มากกว่า 30
เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ใบ

ประเมินระดับความรุนแรงของโรคโดยให้ระดับคะแนนความรุนแรงของการเกิดโรคที่
ประเมินด้วยสายตาสวนของรากยางพารา หลังสิ้นสุดการทดลองที่ 6 เดือน

- ระดับที่ 0 = 0 เปอร์เซ็นต์ ระบบรากสมบูรณ์ไม่แสดงอาการของโรค
- ระดับที่ 1 = 1-25 เปอร์เซ็นต์ รากฝอยและรากแก้วเริ่มเป็นจุดสีน้ำตาลปลายราก
- ระดับที่ 2 = 26-50 เปอร์เซ็นต์ รากฝอยเป็นสีน้ำตาล รากแก้วเป็นสีน้ำตาลเข้มประมาณ 25-
50 เปอร์เซ็นต์ ของความยาวรากทั้งหมด
- ระดับที่ 3 = 51-75 เปอร์เซ็นต์ รากฝอยเปื่อยและขาด รากแก้วเป็นสีน้ำตาลเข้มประมาณ 60-
80 เปอร์เซ็นต์ ของความยาวรากทั้งหมด
- ระดับที่ 4 = 76-100 เปอร์เซ็นต์ รากฝอยถูกทำลายเกือบหมด รากแก้วเป็นสีน้ำตาลเข้ม
มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ผิวรากเปื่อยยุ่ย เมื่อปีบรากจะนิ่มและเอามือดึงรากผิว
และเนื้อรากหลุดออกมา

หลังจากนั้นนำข้อมูลที่ได้จากการประเมินมาคำนวณหาดัชนีการเกิดโรค และเปอร์เซ็นต์ลดการเกิดโรคโดยใช้สูตร ดังนี้

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค} = \left(\frac{\text{ผลรวมการเป็นโรคแต่ละระดับ}}{\text{จำนวนต้น} \times \text{ระดับการเกิดโรคสูงสุด}} \right) \times 100$$

$$\text{เปอร์เซ็นต์ลดการเกิดโรค} = 100 - \left(\frac{\text{ความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีทดสอบ}}{\text{ความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีควบคุม}} \right) \times 100$$

วิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี (Duncan's new multiple range test; DMRT) พร้อมทั้งวิเคราะห์สมบัติบางประการของธาตุอาหารในดินและใบยางพาราหลังสิ้นสุดการทดลอง (ตารางที่ 2.1 และ 2.2)

ตารางที่ 2.1 พารามิเตอร์และวิธีการที่ใช้ในการวิเคราะห์สมบัติของดิน

Parameter	Analysis
pH	pH meter ดิน:น้ำ (1:5)
Total N (g kg ⁻¹)	Kjeldahl method
Available P (mg kg ⁻¹)	Bray II, Molybdenum blue method
Exchangeable Ca (cmol _c kg ⁻¹)	NH ₄ OAc pH7 Atomic Absorption Spectrophotometer
Exchangeable Mg (cmol _c kg ⁻¹)	NH ₄ OAc pH7 Atomic Absorption Spectrophotometer
Exchangeable K (cmol _c kg ⁻¹)	NH ₄ OAc pH7 Flame photometer
Exchangeable Fe Mn Zn Cu (mg kg ⁻¹)	DTPA (C ₁₄ H ₂₃ N ₃ O ₁₀) Atomic Absorption Spectrophotometer

ตารางที่ 2.2 พารามิเตอร์และวิธีการที่ใช้ในการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของใบยางพารา

Parameter	Analysis
Total N (g kg^{-1})	Kjeldahl method
Total P (g kg^{-1})	Yellow molybdovanadophosphoric acid method (Barton, 1948)
Total K (g kg^{-1})	Flame photometer
Total Ca (g kg^{-1})	Atomic Absorption Spectrophotometer
Total Mg (g kg^{-1})	
Total Fe (mg kg^{-1})	
Total Mn (mg kg^{-1})	
Total Zn (mg kg^{-1})	
Total Cu (mg kg^{-1})	

บทที่ 3

ผลการทดลอง

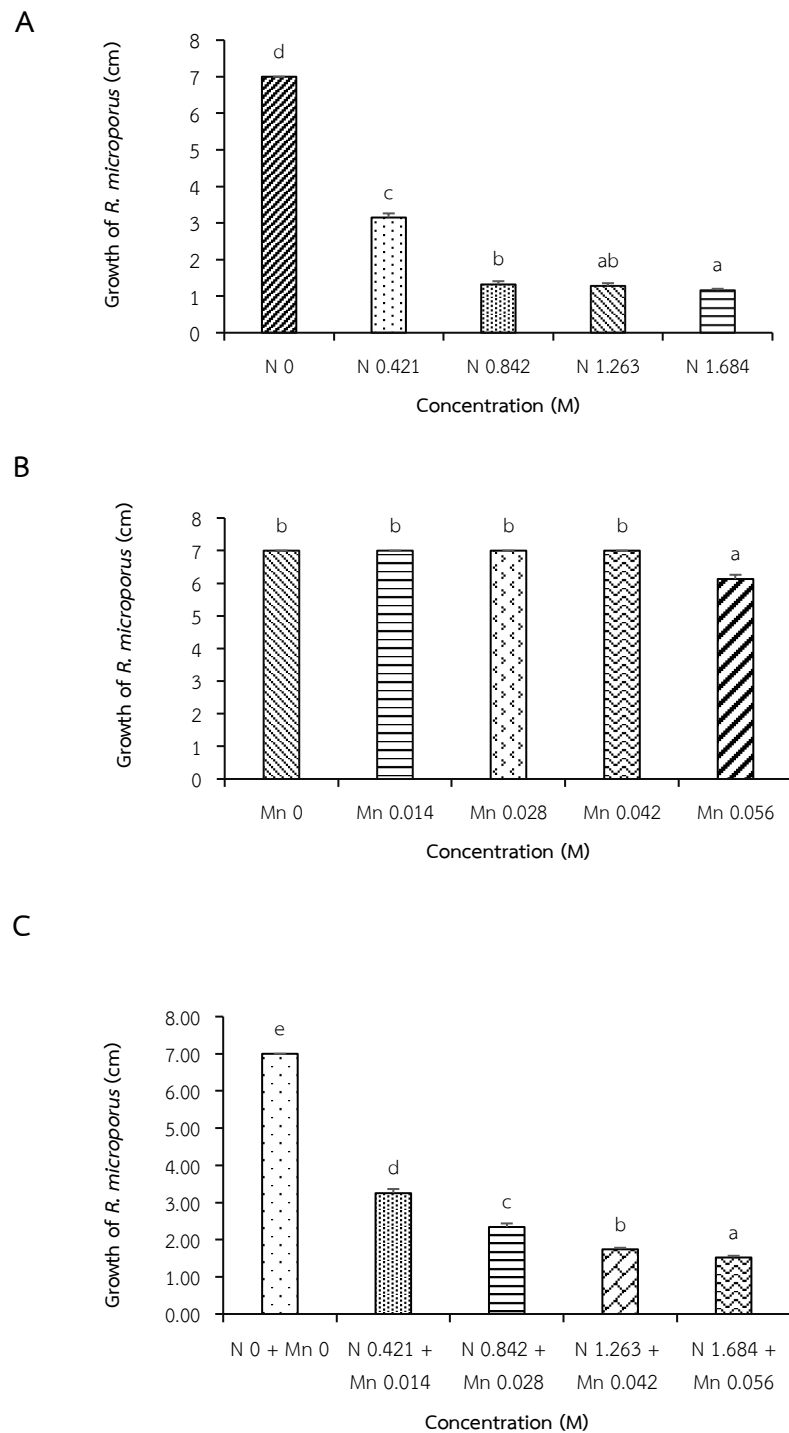
1. ผลของไนโตรเจนและแมงกานีสร่วมกับแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ SM1 ต่อเชื้อรา *Rigidoporus microporus* สายพันธุ์ NK6 สาเหตุโรครากขาวของยางพารา

1.1 ผลของไนโตรเจนและแมงกานีสต่อการเจริญของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ สายพันธุ์ SM1

นำเซลล์ของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ตรวจนับปริมาณแบคทีเรีย ทดสอบด้วยวิธี dilution spread plate บนอาหาร PDA ที่เพิ่มไนโตรเจน หรือแมงกานีส หรือไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส พบว่า ปริมาณของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 สามารถเจริญได้อยู่ในช่วง $7.03-7.43 \times 10^{11}$ cfu/ml ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ตารางภาคผนวกที่ 1)

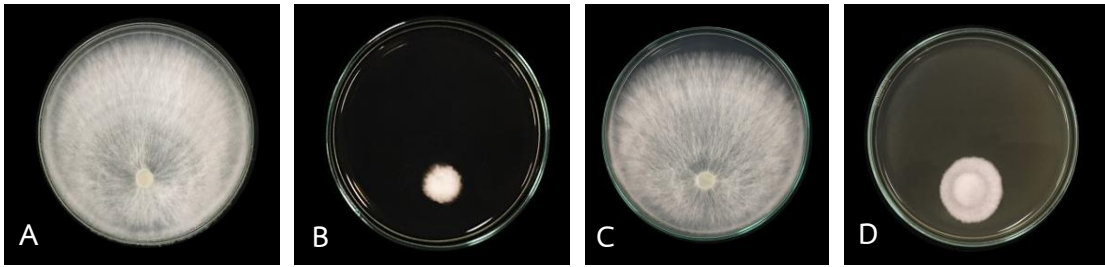
1.2 ผลของไนโตรเจนและแมงกานีสต่อการเจริญของเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6

การเจริญของเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ในสถานะที่มีความเข้มข้นของไนโตรเจนในระดับที่สูงขึ้นทำให้การเจริญของเส้นใยเชื้อราลดลง โดยเฉพาะไนโตรเจน 1.263 และ 1.684 โมลาร์ สามารถวัดการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ 1.28 และ 1.16 เซนติเมตร ตามลำดับ แตกต่างทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม 0 โมลาร์ ขณะที่แมงกานีส 0.014, 0.028 และ 0.042 โมลาร์ มีผลทำให้เส้นใยเชื้อราเจริญได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่การเจริญของเส้นใยเชื้อราลดลงเมื่อมีแมงกานีส 0.056 โมลาร์ สามารถวัดการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ 6.13 เซนติเมตร แตกต่างทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับแมงกานีสที่ระดับต่างๆ ในสถานะที่มีไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีสทำให้เส้นใยของเชื้อราเจริญได้ต่ำกว่า 3.25 เซนติเมตร และมีความแตกต่างทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยไนโตรเจน 1.684 และ 0.056 โมลาร์ สามารถวัดการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ 1.52 เซนติเมตร (ภาพที่ 3.1) โดยเมื่อนำเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ในสถานะที่เพิ่มไนโตรเจน แมงกานีส และไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดแสงธรรมดากำลังขยาย 100 เท่า พบว่า เส้นใยของเชื้อรามีลักษณะผิดปกติโดยเส้นใยเชื้อราค่อนข้างหยาบ ขนาดไม่สม่ำเสมอ และการเจริญของเส้นใยบิดเบี้ยวผิดปกติ ในขณะที่ชุดควบคุม 0 โมลาร์ เส้นใยเชื้อราสามารถเจริญงอกยาวเป็นปกติ (ภาพที่ 3.2 และ 3.3)



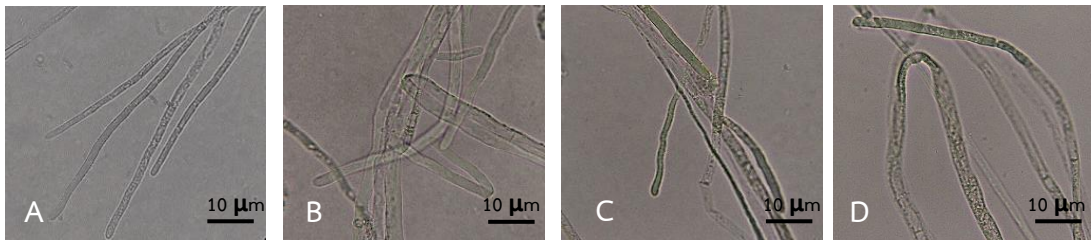
ภาพที่ 3.1 การเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ในสถานะที่มี A) ไนโตรเจน B) แมงกานีส และ C) ไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส

หมายเหตุ: แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจำนวน 4 ซ้ำ; อักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อทดสอบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 3.2 การเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 บนอาหาร PDA เพิ่มธาตุอาหารที่อายุ 7 วัน

- A) ชุดควบคุมไม่มีการเพิ่มธาตุอาหาร 0 โมลาร์
- B) ไนโตรเจน 1.684 โมลาร์
- C) แมงกานีส 0.056 โมลาร์
- D) ไนโตรเจน 1.684 ร่วมกับแมงกานีส 0.056 โมลาร์



ภาพที่ 3.3 ลักษณะทางจุลสัณฐานวิทยาของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 บนอาหาร PDA เพิ่มธาตุอาหาร ที่อายุ 7 วัน ภาพจากกล้องจุลทรรศน์ชนิดแสงธรรมดา กำลังขยาย 100 เท่า

- A) ชุดควบคุมไม่มีการเพิ่มธาตุอาหาร 0 โมลาร์
- B) ไนโตรเจน 1.684 โมลาร์
- C) แมงกานีส 0.056 โมลาร์
- D) ไนโตรเจน 1.684 ร่วมกับแมงกานีส 0.056 โมลาร์

2. ผลของไนโตรเจนและแมงกานีสต่อการสร้างวงสีเอนไซม์แลคเคสของเชื้อรา

Rigidoporus microporus สายพันธุ์ NK6

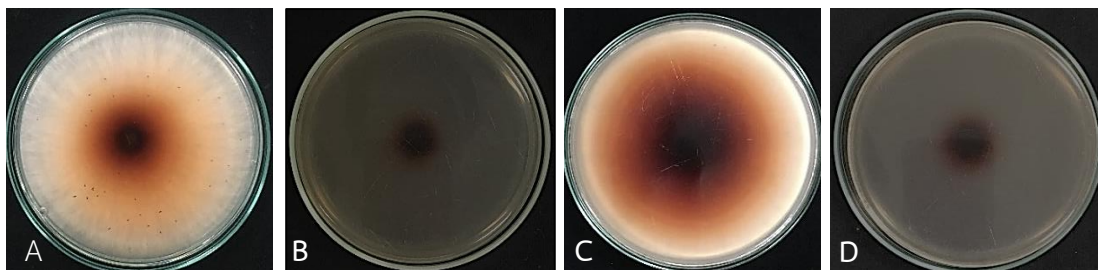
เชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ในสถานะที่ไม่มีการเพิ่มไนโตรเจน หรือแมงกานีส หรือไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส สามารถสร้างวงสีเอนไซม์แลคเคสอยู่ในระดับปานกลาง (3.60 เซนติเมตร) เช่นเดียวกับในสถานะที่มีแมงกานีส 0.014 และ 0.028 โมลาร์ (4.00 เซนติเมตร) โดยในสถานะที่มีแมงกานีสมากกว่า 0.042 โมลาร์ ทำให้เชื้อราสามารถสร้างวงสีเอนไซม์แลคเคสได้เพิ่มขึ้น และแมงกานีสที่ระดับ 0.056 โมลาร์ ทำให้เชื้อราสามารถสร้างวงสีเอนไซม์แลคเคสได้อยู่ในระดับสูง (4.27 เซนติเมตร) แต่ความสามารถของเชื้อราในการสร้างวงสีเอนไซม์แลคเคสลดลงเมื่ออยู่ในสถานะที่มีไนโตรเจน และไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส โดยเชื้อราสามารถสร้างวงสีเอนไซม์แลคเคสอยู่ในระดับต่ำ (0.06-3.47 เซนติเมตร) ในขณะที่ ไนโตรเจนที่ระดับความเข้มข้น 1.684 โมลาร์ เชื้อราสร้างวงสีเอนไซม์แลคเคสได้ต่ำสุด (0.60) เซนติเมตร (ตารางที่ 3.1) (ภาพที่ 3.4)

ตารางที่ 3.1 ผลของไนโตรเจนและแมงกานีสต่อการสร้างรัศมีเอนไซม์แลคเคสของเชื้อรา

R. microporus สายพันธุ์ NK6

Concentration (M)	The radius of laccase enzymes by <i>R. microporus</i> (cm)		
	< 3.50	3.51-4.00	> 4.01
	low	moderate	high
control 0	-	3.60	-
N 0.421	1.57	-	-
N 0.842	1.63	-	-
N 1.263	0.63	-	-
N 1.684	0.60	-	-
Mn 0.014	-	4.00	-
Mn 0.028	-	4.00	-
Mn 0.042	-	-	4.03
Mn 0.056	-	-	4.27
N 0.421 + Mn 0.014	3.47	-	-
N 0.842 + Mn 0.028	1.57	-	-
N 1.263 + Mn 0.042	1.60	-	-
N 1.684 + Mn 0.056	0.87	-	-

หมายเหตุ: control 0 = ไม่มีการเพิ่มธาตุอาหาร

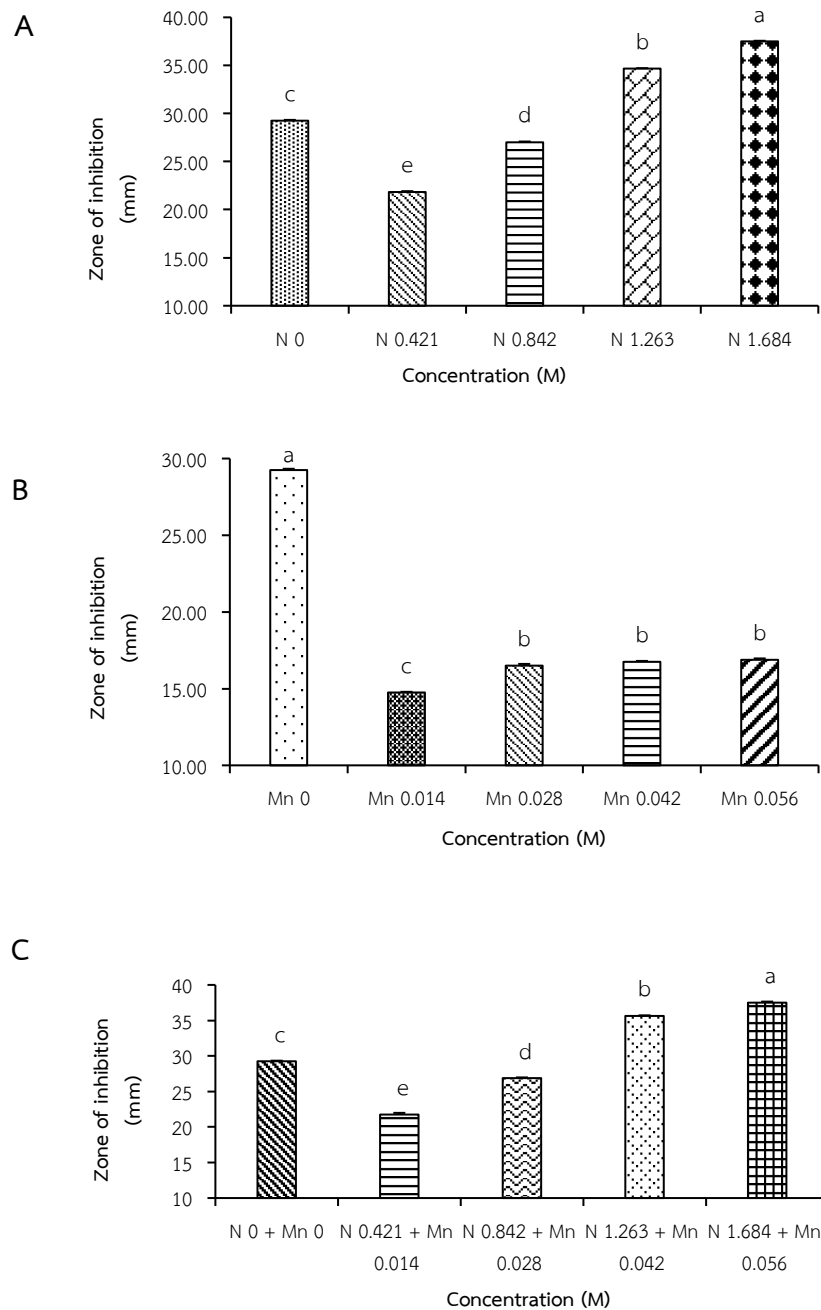


ภาพที่ 3.4 วงสีเอนไซม์แลคเคสของเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 เพิ่มธาตุอาหาร ที่อายุ 7 วัน

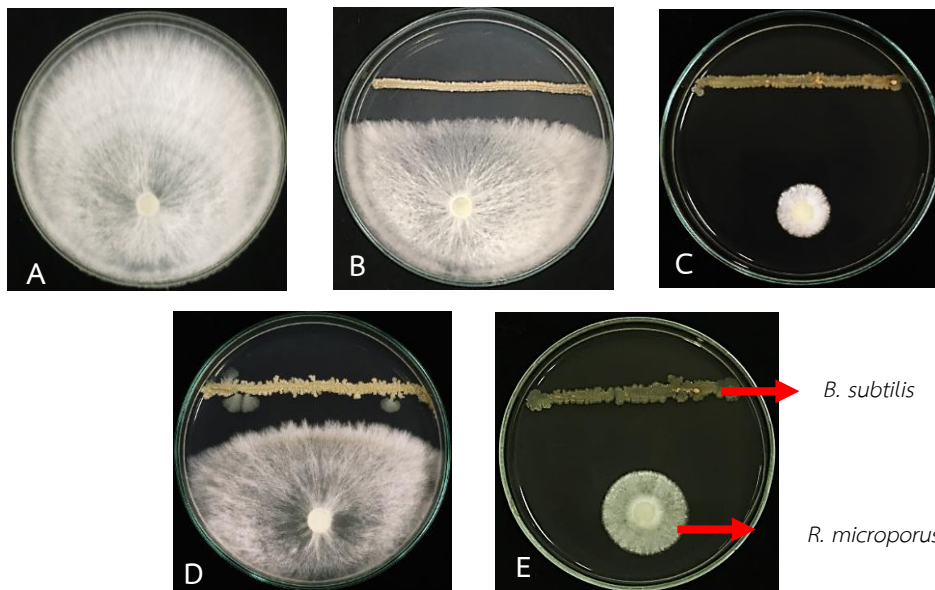
- A) ชุดควบคุมไม่มีการเพิ่มธาตุอาหาร 0 โมลาร์
- B) ไนโตรเจน 1.684 โมลาร์
- C) แมงกานีส 0.056 โมลาร์
- D) ไนโตรเจน 1.684 ร่วมกับแมงกานีส 0.056 โมลาร์

3. ผลของไนโตรเจนและแมงกานีสร่วมกับแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ SM1 ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Rigidoporus microporus* สายพันธุ์ NK6

สภาวะที่ไม่มีการเพิ่มไนโตรเจน หรือแมงกานีส หรือไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 โดยวัดความกว้างของบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) ได้ 29.25 มิลลิเมตร ซึ่งในสภาวะที่มีไนโตรเจน 0.421, 0.842, 1.263 และ 1.684 โมลาร์ สามารถวัดความกว้างของบริเวณยับยั้งระหว่างแบคทีเรียกับเชื้อราได้ 21.83-37.50 มิลลิเมตร โดยไนโตรเจน 1.684 โมลาร์ มีขนาดบริเวณยับยั้งกว้างที่สุด คือ 37.50 มิลลิเมตร แตกต่างทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับไนโตรเจนที่ระดับต่างๆ (ภาพที่ 3.5A) แต่ในสภาวะที่มีแมงกานีส 0.028, 0.042 และ 0.056 โมลาร์ แบคทีเรียสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราโดยวัดความกว้างของบริเวณยับยั้งได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) (ภาพที่ 3.5B) ในสภาวะที่มีไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส แบคทีเรียสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราโดยวัดความกว้างของบริเวณยับยั้งได้อยู่ในช่วง 21.75-37.50 มิลลิเมตร และแตกต่างทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม 0 โมลาร์ (ภาพที่ 3.5C) โดยเมื่อนำเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ที่ทดสอบกับแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ในสภาวะที่มีไนโตรเจน แมงกานีส และไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดแสงธรรมดาพบว่า เส้นใยของเชื้อราค่อนข้างหยาบ มีลักษณะผิดปกติ ขนาดของเส้นใยไม่สม่ำเสมอ การเจริญบิดเบี้ยวผิดปกติ และบริเวณปลายเส้นใยโป่งพอง (ภาพที่ 3.6 และ 3.7)



ภาพที่ 3.5 ประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ต่อการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ในสถานะที่มี A) ไนโตรเจน B) แมงกานีส และ C) ไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส ด้วยวิธี dual culture technique
 หมายเหตุ: แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจำนวน 4 ซ้ำ; อักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อทดสอบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 3.6 ลักษณะของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ที่ทดสอบกับแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 บนอาหาร PDA เพิ่มธาตุอาหาร ที่อายุ 7 วัน

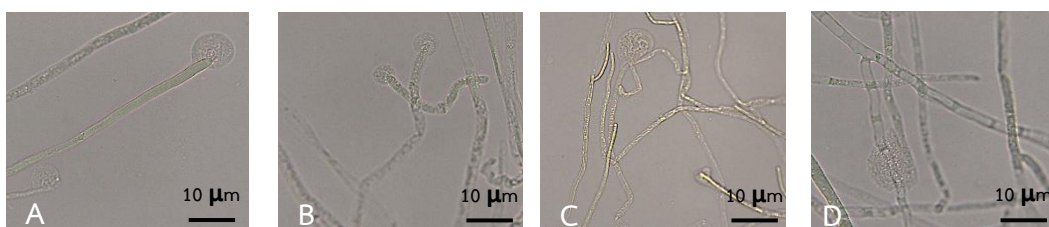
A) เชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6

B) ชุดควบคุมไม่มีการเพิ่มธาตุอาหาร 0 โมลาร์

C) ไนโตรเจน 1.684 โมลาร์

D) แมงกานีส 0.056 โมลาร์

E) ไนโตรเจน 1.684 ร่วมกับแมงกานีส 0.056 โมลาร์



ภาพที่ 3.7 ลักษณะทางจุลทรรศน์วิทยาของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ที่ทดสอบกับแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 บนอาหาร PDA เพิ่มธาตุอาหาร ที่อายุ 7 วัน ภาพจากกล้องจุลทรรศน์ชนิดแสงธรรมดา กำลังขยาย 100 เท่า

A) เชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6

B) ไนโตรเจน 1.684 โมลาร์

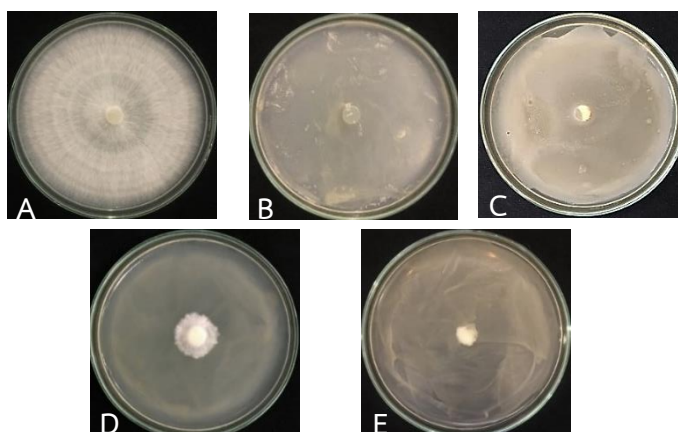
C) แมงกานีส 0.056 โมลาร์

D) ไนโตรเจน 1.684 ร่วมกับแมงกานีส 0.056 โมลาร์

4. ผลของไนโตรเจนและแมงกานีสร่วมกับเซลล์ของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ SM1 ต่อการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *Rigidoporus microporus* สายพันธุ์ NK6

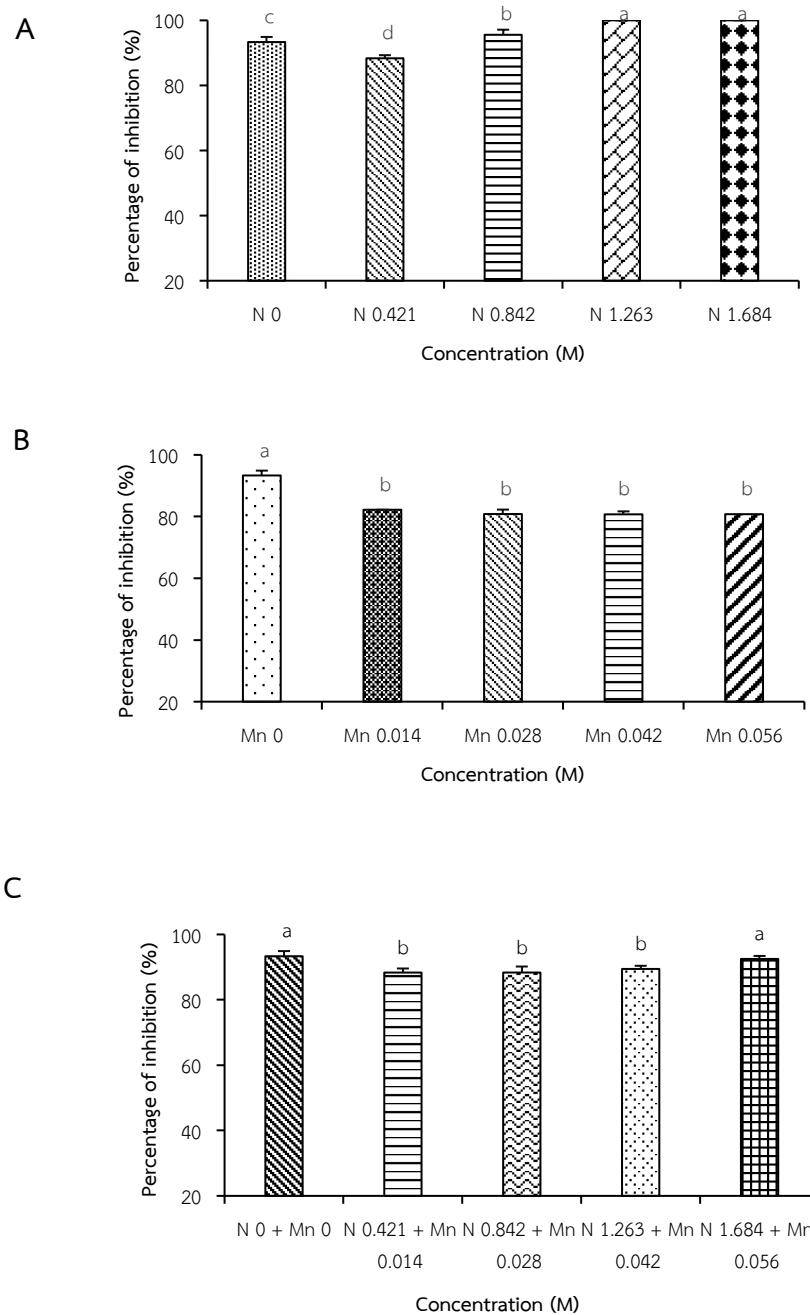
4.1 วิธี pour plate technique

ประสิทธิภาพเซลล์ของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ในสภาวะที่มีไนโตรเจน หรือแมงกานีส หรือไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ โดยระดับไนโตรเจน 1.263 และ 1.684 โมลาร์ แบคทีเรียสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้สูงสุด คือ 100 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 3.9A) อีกทั้ง สภาวะที่มีแมงกานีส 0.014-0.056 โมลาร์ แบคทีเรียสามารถการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ 80.78-82.22 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) (ภาพที่ 3.9B) ขณะที่สภาวะที่มีไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส แบคทีเรียสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ 88-92.50 เปอร์เซ็นต์ โดยระดับไนโตรเจน 1.684 ร่วมกับแมงกานีส 0.056 โมลาร์ แบคทีเรียสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้สูงสุด คือ 92.50 เปอร์เซ็นต์ และไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมไม่มีการเพิ่มธาตุอาหาร 0 โมลาร์ ซึ่งแบคทีเรียสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ 93.33 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 3.8 และ 3.9C)



ภาพที่ 3.8 เส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ทดสอบกับเซลล์ของแบคทีเรีย *B. subtilis*

- สายพันธุ์ SM1 ด้วยวิธี pour plate technique ในสภาวะที่เพิ่มธาตุอาหาร ที่อายุ 7 วัน
- A) เชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6
 - B) ชุดควบคุมไม่มีการเพิ่มธาตุอาหาร 0 โมลาร์ + แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1
 - C) ไนโตรเจน 1.684 โมลาร์ + แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1
 - D) แมงกานีส 0.056 โมลาร์ + แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM
 - E) ไนโตรเจน 1.684 ร่วมกับแมงกานีส 0.056 โมลาร์ + แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1



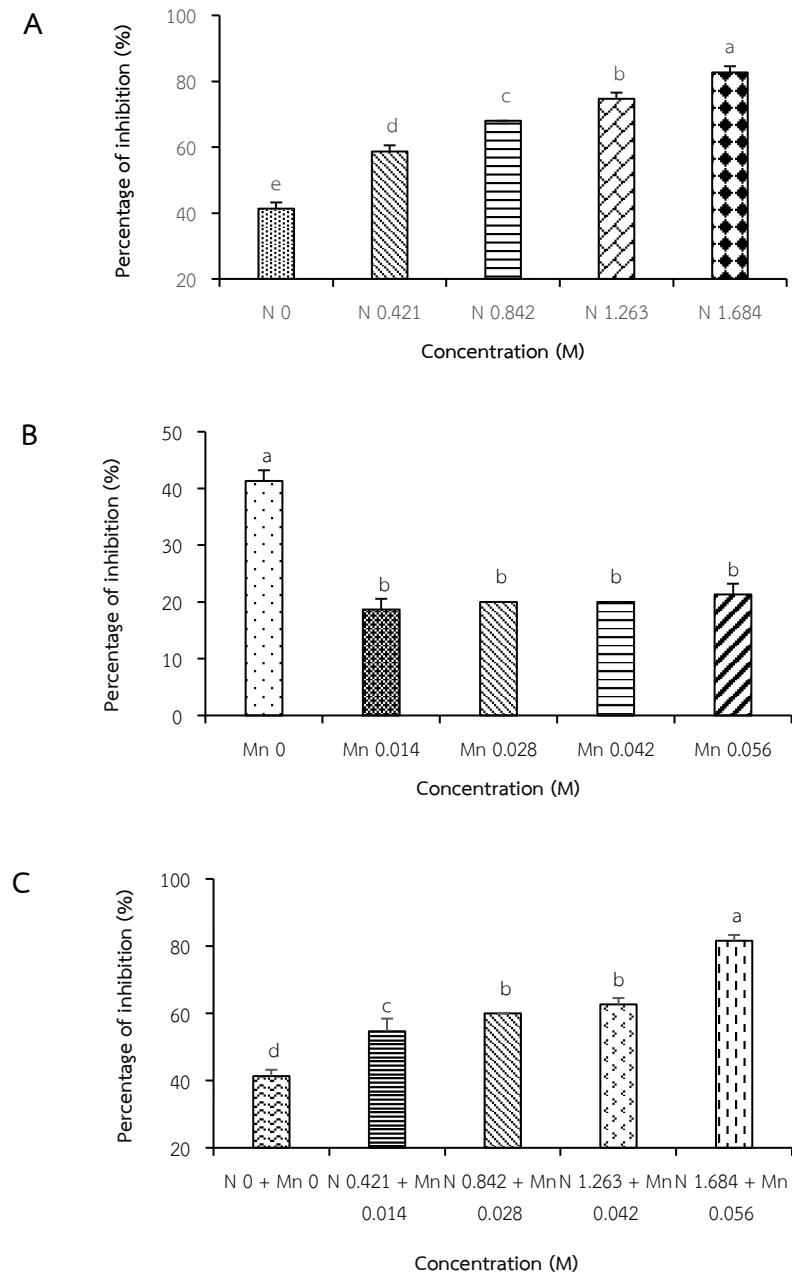
ภาพที่ 3.9 ประสิทธิภาพเซลล์ของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ในสถานะที่มี A) ไนโตรเจน B) แมงกานีส และ C) ไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส ด้วยวิธี pour plate technique
 หมายเหตุ: แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจำนวน 4 ซ้ำ; อักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อทดสอบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4.2 วิธี volatile extracellular metabolite

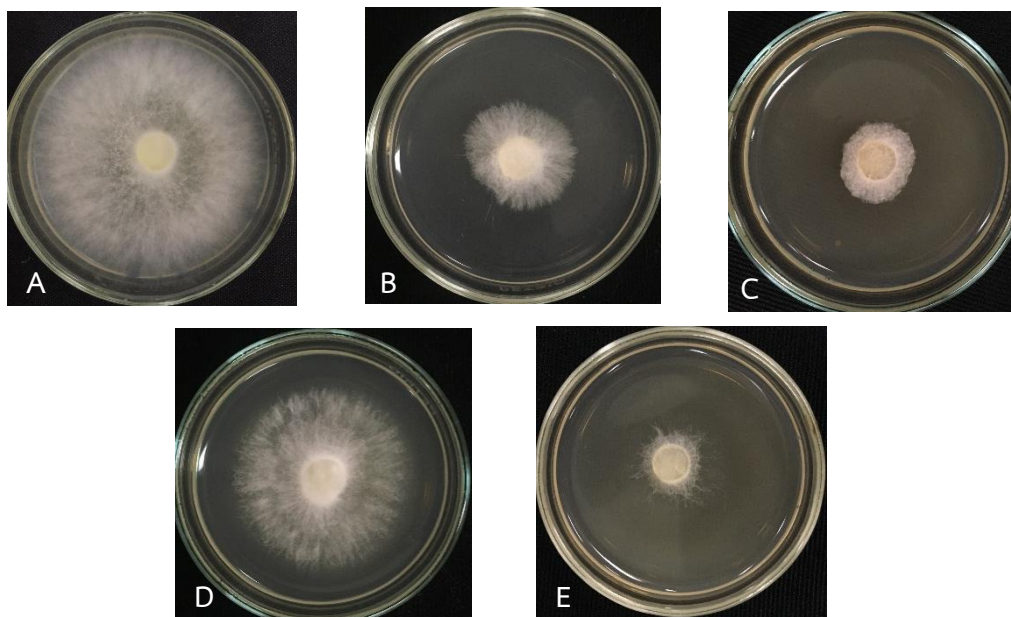
แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ในสถานะที่ไม่มีการเพิ่มไนโตรเจน หรือแมงกานีส หรือไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส สามารถผลิตสารระเหยในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ได้ 41.33 เปอร์เซ็นต์ ในสถานะที่มีไนโตรเจน แมงกานีส และไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส แบคทีเรียสามารถผลิตสารระเหยในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ในสถานะที่มีไนโตรเจน สามารถผลิตสารระเหยในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ 58.67-82.67 เปอร์เซ็นต์ โดยระดับไนโตรเจน 1.684 โมลาร์ แบคทีเรียสามารถผลิตสารระเหยในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้สูงสุด คือ 82.67 เปอร์เซ็นต์ และแตกต่างทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับไนโตรเจนที่ระดับต่างๆ (ภาพที่ 3.10A) สถานะที่มีแมงกานีส แบคทีเรียสามารถผลิตสารระเหยในการยับยั้งเส้นใยเชื้อราได้ 18.67-21.33 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) (ภาพที่ 3.10B) ขณะที่ในสถานะที่มีไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีสแบคทีเรียสามารถผลิตสารระเหยในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ โดยไนโตรเจน 1.684 และแมงกานีส 0.056 โมลาร์ สามารถผลิตสารระเหยในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้สูงสุด คือ 81.60 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับไนโตรเจนและแมงกานีสที่ระดับต่างๆ (ภาพที่ 3.10C และ 3.11)

4.3 ดินผสม

แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ในดินผสมที่ไม่มีการเพิ่มไนโตรเจน หรือแมงกานีส หรือไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส วันที่ 11 สามารถวัดการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ได้ 0.69 เซนติเมตร แตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมเชื้อราที่สามารถวัดการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ 9.80 เซนติเมตร โดยแบคทีเรียในดินผสมที่มีไนโตรเจน หรือแมงกานีส หรือไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส วันที่ 11 สามารถวัดการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้น้อยกว่า 0.73 เซนติเมตร โดยระดับไนโตรเจน 1.684 โมลาร์ และแมงกานีส 0.014 และ 0.056 โมลาร์ การเจริญของเส้นใยเชื้อราหยุดชะงักในวันที่ 7 ซึ่งสามารถวัดการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ 0.49, 0.63 และ 0.63 เซนติเมตร ตามลำดับ ในขณะที่ แบคทีเรียในดินผสมที่มีไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส ทำให้การเจริญของเส้นใยเชื้อราหยุดชะงักในวันที่ 5 และ 7 โดยระดับไนโตรเจน 1.684 ร่วมกับแมงกานีส 0.056 โมลาร์ การเจริญของเส้นใยเชื้อราหยุดการเจริญเติบโตตั้งแต่วันที่ 3 สามารถวัดการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ 0.43 เซนติเมตร และแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับแบคทีเรียในดินผสมที่ไม่มีการเพิ่มไนโตรเจน หรือแมงกานีส หรือไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส (ตารางที่ 3.2) (ภาพที่ 3.12)



ภาพที่ 3.10 ประสิทธิภาพเซลล์ของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ในสภาวะที่มี A) ไนโตรเจน B) แมงกานีส และ C) ไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส ด้วยวิธี volatile extracellular metabolite
 หมายเหตุ: แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจำนวน 4 ซ้ำ; อักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อทดสอบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



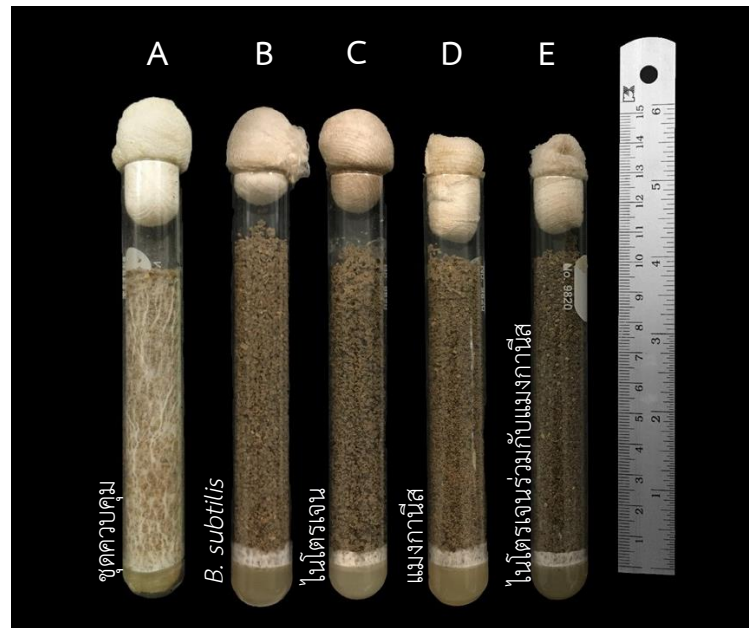
ภาพที่ 3.11 ลักษณะของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ที่ทดสอบกับเซลล์ของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 บนอาหาร PDA เพิ่มธาตุอาหาร ที่อายุ 7 วัน ด้วยวิธี volatile extracellular metabolite

- A) ชุดควบคุม
- B) ชุดควบคุมไม่มีการเพิ่มธาตุอาหาร 0 โมลาร์ + แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1
- C) ไนโตรเจน 1.684 โมลาร์ + แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1
- D) แมงกานีส 0.056 โมลาร์ + แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1
- E) ไนโตรเจน 1.684 ร่วมกับแมงกานีส 0.056 โมลาร์ + แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1

ตารางที่ 3.2 ผลของไนโตรเจนและแมงกานีสร่วมกับแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ต่อการเจริญของเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ในดินผสมเป็นเวลา 11 วัน

Treatment	Growth of <i>R. microporus</i> (cm)				
	3 day	5 day	7 day	9 day	11 day
<i>R. microporus</i>	1.00 ± 0.00h	1.33 ± 0.04d	2.53 ± 0.04d	4.48 ± 0.04e	9.80 ± 0.14f
<i>B. subtilis</i>	0.58 ± 0.04g	0.60 ± 0.00c	0.64 ± 0.04c	0.68 ± 0.03cd	0.69 ± 0.06de
Nitrogen (M)					
0.421	0.55 ± 0.05fg	0.60 ± 0.10c	0.63 ± 0.08c	0.65 ± 0.11cd	0.65 ± 0.11c-e
0.842	0.53 ± 0.05c-e	0.53 ± 0.05a-c	0.57 ± 0.09bc	0.60 ± 0.08bc	0.60 ± 0.08a-d
1.263	0.43 ± 0.05c-e	0.57 ± 0.05bc	0.57 ± 0.09bc	0.60 ± 0.08bc	0.62 ± 0.08b-e
1.684	0.43 ± 0.04c-e	0.48 ± 0.04ab	0.49 ± 0.02ab	0.49 ± 0.02ab	0.49 ± 0.04a-c
Manganese (M)					
0.014	0.47 ± 0.05d-f	0.50 ± 0.00a-c	0.63 ± 0.09c	0.63 ± 0.09cd	0.63 ± 0.09b-e
0.028	0.47 ± 0.05d-f	0.57 ± 0.05bc	0.67 ± 0.05c	0.67 ± 0.05cd	0.70 ± 0.08de
0.042	0.50 ± 0.05e-g	0.60 ± 0.00c	0.67 ± 0.05c	0.73 ± 0.05d	0.73 ± 0.05e
0.056	0.43 ± 0.05c-e	0.53 ± 0.05a-c	0.63 ± 0.05c	0.63 ± 0.05cd	0.63 ± 0.05b-e
Nitrogen x Manganese (M)					
N 0.421 +					
Mn 0.014	0.33 ± 0.05ab	0.47 ± 0.05ab	0.47 ± 0.05ab	0.50 ± 0.00ab	0.53 ± 0.05a-d
N 0.842 +					
Mn 0.028	0.40 ± 0.00b-d	0.43 ± 0.05a	0.43 ± 0.05a	0.43 ± 0.05a	0.47 ± 0.05ab
N 1.263 +					
Mn 0.042	0.35 ± 0.05ab	0.45 ± 0.05a	0.45 ± 0.05ab	0.45 ± 0.05a	0.48 ± 0.04a-c
N 1.684 +					
Mn 0.056	0.30 ± 0.00a	0.43 ± 0.05a	0.43 ± 0.05a	0.43 ± 0.05a	0.43 ± 0.05a
F-Test	*	*	*	*	*
C.V. (%)	9.26	9.49	10.12	8.27	8.03

หมายเหตุ: แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจำนวน 4 ซ้ำ; อักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ * = มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อทดสอบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 3.12 การเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ในดินผสมธาตุอาหารตามความเข้มข้นต่างๆ หลังบรรจุดินในหลอดทดลองเป็นเวลา 11 วัน

A) ชุดควบคุมไม่มีการเพิ่มธาตุอาหาร 0 โมลาร์

B) ชุดควบคุมไม่มีการเพิ่มธาตุอาหาร 0 โมลาร์ + แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1

C) ไนโตรเจน 1.684 โมลาร์ + แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1

D) แมงกานีส 0.056 โมลาร์ + แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1

E) ไนโตรเจน 1.684 ร่วมกับแมงกานีส 0.056 โมลาร์ + แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1

5. ประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ SM1 ร่วมกับการใส่ปุ๋ยต่อการควบคุมเชื้อรา *Rigidoporus microporus* สายพันธุ์ NK6 เชื้อสาเหตุโรครากขาวของยางพาราในสภาพโรงเรือนทดลอง

5.1 ผลวิเคราะห์ดินก่อนการทดลอง

ดินก่อนการทดลองพีเอชเป็นกรดปานกลาง ไนโตรเจนทั้งหมด (Total N) ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Avai. P) โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (Exch. K) แคลเซียมและแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (Exch. Ca และ Mg) และทองแดงที่สกัดได้ (Extr. Cu) อยู่ในระดับต่ำ แมงกานีสที่สกัดได้ (Extr. Mn) เหล็กที่สกัดได้ (Extr. Fe) และสังกะสีที่สกัดได้ (Extr. Zn) อยู่ในระดับสูง (ตารางที่ 3.3)

ตารางที่ 3.3 ผลวิเคราะห์ดินก่อนการทดลอง

Parameter	Value
pH (1:5)	5.45
Total N (g kg ⁻¹)	0.29
Avai. P (mg kg ⁻¹)	9.61
Exch. K (cmol _c kg ⁻¹)	0.03
Exch. Ca (cmol _c kg ⁻¹)	0.28
Exch. Mg (cmol _c kg ⁻¹)	0.11
Extr. Mn (mg kg ⁻¹)	4.22
Extr. Fe (mg kg ⁻¹)	54.34
Extr. Cu (mg kg ⁻¹)	0.37
Extr. Zn (mg kg ⁻¹)	1.00

หมายเหตุ: เปรียบเทียบกับระดับธาตุอาหารพืชในดินปลูกยางพารา (นุชนารถ, 2554)

5.1 ผลวิเคราะห์ดินหลังสิ้นสุดการทดลอง

เมื่อเก็บตัวอย่างดินหลังสิ้นสุดการทดลองการใส่ปุ๋ยสูตร 20-8-20 และปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน พบว่า ค่าพีเอชและค่าการนำไฟฟ้าอยู่ในช่วง 4.68-5.55 และ 0.62-0.46 dS m⁻¹ ตามลำดับ ซึ่งเมื่อใส่ปุ๋ยสูตร 20-8-20 และใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินร่วมกับแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ทำให้พีเอชลดลง แตกต่างทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมของการใส่ปุ๋ยสูตร 20-8-20 และปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน (ตารางที่ 3.4) การใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินทำให้

ไนโตรเจนทั้งหมดในดิน ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และเหล็กที่สกัดได้เพิ่มขึ้น คือ 0.93, 17.29 และ 65.99 g kg⁻¹ ตามลำดับ (เพิ่มขึ้น 50, 24 และ 12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) แตกต่างกันอย่างสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมปุ๋ยสูตร 20-8-20 คือ 0.38, 13.01 และ 57.93 g kg⁻¹ ตามลำดับ แต่การใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินทำให้โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ แมงกานีสและสังกะสีที่สกัดได้ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับ การใส่ปุ๋ยสูตร 20-8-20 ขณะที่การใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินร่วมกับใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ทำให้ไนโตรเจนทั้งหมดในดิน ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ โพแทสเซียม เหล็ก แมงกานีส และสังกะสีที่สกัดได้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ปุ๋ยสูตร 20-8-20 ร่วมกับการใช้แบคทีเรีย (ตารางที่ 3.5)

ตารางที่ 3.4 ค่าพีเอช และค่าการนำไฟฟ้าของดินหลังสิ้นสุดการทดลอง

Treatment		pH (soil:water 1:5)	EC (soil:water 1:5) (dS m ⁻¹)
20-8-20 fertilizer	control	5.54 ± 0.07a	0.46 ± 0.07cd
	<i>Bacillus</i> sp.	5.09 ± 0.18b	0.52 ± 0.03c
	<i>R. microporus</i>	5.38 ± 0.08a	0.40 ± 0.05d
	<i>Bacillus</i> sp. + <i>R. microporus</i>	5.55 ± 0.11a	0.42 ± 0.03d
Fertilizer application based	control	5.53 ± 0.20a	0.62 ± 0.02b
	<i>Bacillus</i> sp.	4.68 ± 0.31c	0.68 ± 0.08ab
	<i>R. microporus</i>	4.70 ± 0.23c	0.71 ± 0.04a
	<i>Bacillus</i> sp. + <i>R. microporus</i>	4.90 ± 0.09bc	0.68 ± 0.50ab
F-test		*	*
C.V. (%)		3.77	10.05

หมายเหตุ: แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจำนวน 4 ซ้ำ; อักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มี

ความแตกต่างทางสถิติ * = มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อทดสอบด้วยวิธี F-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 3.5 สมบัติทางเคมีของดินปลูกยางพาราหลังสิ้นสุดการทดลอง

Treatment		Total N	Avai. P	Exch. K	Exch. Ca	Exch. Mg	Extr. Fe	Extr. Mn	Extr. Zn	Extr. Cu
		g kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	cmol _c kg ⁻¹			mg kg ⁻¹			
20-8-20 fertilizer	control	0.38 ± 0.06b	13.01 ± 2.97b	0.17 ± 0.01	0.29 ± 0.03	0.12 ± 0.08	57.93 ± 4.66d	4.13 ± 1.79	1.06 ± 0.19	0.39 ± 0.07
	<i>Bacillus</i> sp.	0.37 ± 0.03b	16.93 ± 1.08ab	0.18 ± 0.02	0.30 ± 0.04	0.11 ± 0.03	77.33 ± 2.57a	4.62 ± 0.27	1.07 ± 0.19	0.40 ± 0.04
	<i>R. microporus</i>	0.35 ± 0.06b	15.58 ± 2.34ab	0.16 ± 0.02	0.30 ± 0.02	0.11 ± 0.02	66.04 ± 6.06bc	4.58 ± 0.73	1.03 ± 0.08	0.39 ± 0.03
	<i>Bacillus</i> sp. + <i>R. microporus</i>	0.34 ± 0.06b	15.56 ± 2.85ab	0.18 ± 0.02	0.29 ± 0.03	0.11 ± 0.02	65.07 ± 2.02c	4.62 ± 1.20	1.12 ± 0.16	0.40 ± 0.08
Fertilizer applicaton based	control	0.93 ± 0.03a	17.29 ± 1.77a	0.19 ± 0.03	0.30 ± 0.1	0.13 ± 0.05	65.99 ± 4.88bc	4.60 ± 0.62	1.17 ± 0.08	0.40 ± 0.02
	<i>Bacillus</i> sp.	0.98 ± 0.23a	15.04 ± 1.40ab	0.19 ± 0.02	0.30 ± 0.01	0.12 ± 0.02	73.39 ± 1.93ab	4.86 ± 0.51	1.13 ± 0.10	0.39 ± 0.03
	<i>R. microporus</i>	0.93 ± 0.14a	17.07 ± 3.02ab	0.19 ± 0.02	0.30 ± 0.01	0.12 ± 0.02	68.15 ± 3.28bc	4.98 ± 0.77	1.14 ± 0.08	0.43 ± 0.05
	<i>Bacillus</i> sp. + <i>R. microporus</i>	0.83 ± 0.20a	14.38 ± 3.17ab	0.18 ± 0.02	0.30 ± 0.01	0.12 ± 0.02	63.44 ± 5.12cd	4.98 ± 0.40	1.14 ± 0.23	0.46 ± 0.06
F-test		*	*	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS
C.V. (%)		20.99	17.82	0.00	10.72	16.33	7.03	16.21	15.20	13.39

หมายเหตุ: แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจำนวน 4 ซ้ำ; อักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ * = มีความแตกต่างทางสถิติ และ NS = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อทดสอบด้วยวิธี F-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

5.2 ผลของการใส่ปุ๋ยร่วมกับแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 และเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ต่อการเจริญเติบโตของยางพาราหลังสิ้นสุดการทดลอง

การใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน ทำให้การเจริญเติบโตด้านความสูงเหนือดินและเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นยางพาราเพิ่มขึ้น คือ 172.63 เซนติเมตร และ 16.10 มิลลิเมตร ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใส่ปุ๋ยสูตร 20-8-20 เช่นเดียวกับการใส่ปุ๋ยค่าวิเคราะห์ดินและใส่ปุ๋ยสูตร 20-8-20 ร่วมกับการใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 มีแนวโน้มทำให้การเจริญเติบโตด้านความสูงเหนือดินและเส้นรอบวงลำต้นของยางพาราเพิ่มขึ้น คือ 176.73 เซนติเมตร 15.18 มิลลิเมตร และ 163.75 เซนติเมตร 13.22 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใส่ปุ๋ยค่าวิเคราะห์ดินและใส่ปุ๋ยสูตร 20-8-20 แต่การใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินและการใส่ปุ๋ยสูตร 20-8-20 ร่วมกับแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 และเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ทำให้การเจริญเติบโตด้านความสูงเหนือดิน และเส้นรอบวงลำต้นยางพาราไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) และการใส่ปุ๋ยสูตร 20-8-20 ร่วมกับเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 มีผลต่อความสูงเหนือดิน และเส้นรอบวงลำต้นของยางพาราน้อยสุด คือ 140.13 เซนติเมตร และ 10.90 มิลลิเมตร ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใส่ปุ๋ยสูตร 20-8-20 (ตารางที่ 3.6)

น้ำหนักแห้งในส่วนลำต้นและใบยางพาราเมื่อมีการใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินเพิ่มขึ้น คือ 19.94 และ 27.28 กรัม ตามลำดับ (เพิ่มขึ้น 20 และ 17 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) แตกต่างกันอย่างสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใส่ปุ๋ยสูตร 20-8-20 แต่ในส่วนน้ำหนักแห้งของรากยางพาราไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่การใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินร่วมกับการใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 มีแนวโน้มทำให้น้ำหนักแห้งในส่วนลำต้น ใบ และรากยางพาราสูงที่สุด คือ 20.08, 32.85 และ 54.38 กรัม (เพิ่มขึ้น 21.51, 19.86 และ 18.81 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) เปรียบเทียบกับการใส่ปุ๋ยสูตร 20-8-20 ร่วมกับการใช้แบคทีเรีย (ตารางที่ 3.7)

ตารางที่ 3.6 ความสูงส่วนเหนือดิน และเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นของยางพาราหลังสิ้นสุดการทดลอง

Treatment		Heights (cm)	Diameters (mm)
20-8-20 fertilizer	control	157.00 ± 11.56c	12.68 ± 0.64c
	<i>B. subtilis</i>	163.75 ± 5.93abc	13.22 ± 0.90c
	<i>R. microporus</i>	140.13 ± 4.83d	10.90 ± 1.05d
	<i>B. subtilis</i> + <i>R. microporus</i>	161.63 ± 1.08bc	12.54 ± 0.07c
Fertilizer applicaton based	control	172.63 ± 9.12abc	16.10 ± 0.42a
	<i>B. subtilis</i>	176.73 ± 5.75a	15.18 ± 0.39ab
	<i>R. microporus</i>	168.08 ± 9.47abc	14.59 ± 0.60b
	<i>B. subtilis</i> + <i>R. microporus</i>	165.88 ± 7.21abc	13.36 ± 0.55c
F-test		*	*
C.V. (%)		5.4	5.87

หมายเหตุ: แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจำนวน 4 ซ้ำ; อักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ * = มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อทดสอบด้วยวิธี F-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 3.7 น้ำหนักแห้งส่วนลำต้น ใบ และรากของต้นยางพาราหลังสิ้นสุดการทดลอง

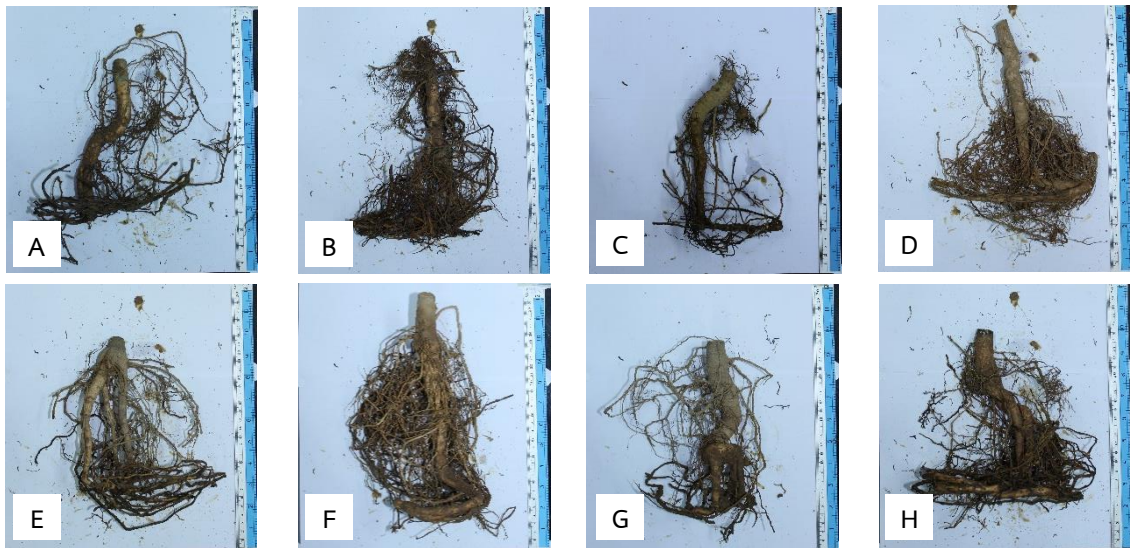
Treatment		Dry weights (g)		
		stem	leaf	root
20-8-20 fertilizer	control	15.81 ± 0.88bc	22.64 ± 4.78c	42.75 ± 4.67ab
	<i>B. subtilis</i>	15.76 ± 0.26bc	25.73 ± 3.67ab	44.15 ± 6.81ab
	<i>R. microporus</i>	13.88 ± 0.95bc	17.76 ± 3.43bc	38.65 ± 7.29b
	<i>B. subtilis</i> + <i>R. microporus</i>	14.85 ± 0.33c	22.23 ± 5.03bc	41.45 ± 7.62ab
Fertilizer applicaton based	control	19.94 ± 2.73a	27.28 ± 5.33ab	50.75 ± 4.07ab
	<i>B. subtilis</i>	20.08 ± 3.70a	32.85 ± 3.99a	54.38 ± 6.71a
	<i>R. microporus</i>	17.78 ± 0.91ab	24.16 ± 2.70bc	48.80 ± 8.82ab
	<i>B. subtilis</i> + <i>R. microporus</i>	16.70 ± 2.34bc	24.08 ± 2.36bc	41.70 ± 5.53ab
F-test		*	*	*
C.V. (%)		12.42	18.96	17.61

หมายเหตุ: แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจำนวน 4 ซ้ำ; ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ * = มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อทดสอบด้วยวิธี F-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 3.13 การเจริญเติบโตของยางพาราหลังสิ้นสุดการทดลอง

- A) ปุ๋ยสูตร 20-8-20 (ชุดควบคุม)
- B) ปุ๋ยสูตร 20-8-20 + แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1
- C) ปุ๋ยสูตร 20-8-20 + เชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6
- D) ปุ๋ยสูตร 20-8-20 + แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 + เชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6
- E) ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน (ชุดควบคุม)
- F) ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน + แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1
- G) ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน + เชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6
- H) ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน + แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 + เชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6



ภาพที่ 3.14 ลักษณะของรากยางพาราหลังสิ้นสุดการทดลอง

- A) ปุ๋ยสูตร 20-8-20 (ชุดควบคุม)
- B) ปุ๋ยสูตร 20-8-20 + แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1
- C) ปุ๋ยสูตร 20-8-20 + เชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6
- D) ปุ๋ยสูตร 20-8-20 + แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 + เชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6
- E) ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน (ชุดควบคุม)
- F) ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน + แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1
- G) ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน + เชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6
- H) ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน + แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 + เชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6

5.3 ความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบยางพาราหลังสิ้นสุดการทดลอง

การใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินมีแนวโน้มทำให้ความเข้มข้นของใบยางพารา ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม สังกะสี และทองแดง เพิ่มขึ้น ในขณะที่ทำให้เหล็ก และแมงกานีส ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใส่ปุ๋ยสูตร 20-8-20 โดยการใส่ปุ๋ยที่เรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ร่วมกับการใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินมีแนวโน้มทำให้ความเข้มข้นในใบยางพารา ได้แก่ ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) สังกะสี (Zn) และทองแดง (Cu) เพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใส่ปุ๋ยสูตร 20-8-20 แต่ที่ไรทเมนต์ที่มีการใส่ปุ๋ยสูตร 20-8-20 ร่วมกับการใช้เชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ทำให้ความเข้มข้นในใบยางพารา ได้แก่ ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และแคลเซียมลดลง และแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใส่ปุ๋ยสูตร 20-8-20 (ตารางที่ 3.8)

การดูใช้ธาตุอาหารส่วนใบของต้นยางพาราซึ่งประเมินจากความเข้มข้นธาตุอาหารและน้ำหนักแห้งของใบยางพารา พบว่า การใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินช่วยเพิ่มปริมาณการดูใช้ธาตุอาหารหลัก ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในส่วนใบของต้นยางพาราเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใส่ปุ๋ยสูตร 20-8-20 ซึ่งส่วนใบของต้นยางพารามีการดูใช้ในโตรเจนเยอะที่สุด คือ $1,086 \text{ mg plant}^{-1}$ (ตารางที่ 3.9) และแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใส่ปุ๋ยสูตร 20-8-20 ในขณะที่การใช้ แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ร่วมกับการใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินช่วยเพิ่มการการดูใช้ธาตุอาหาร ได้แก่ ไนโตรเจน (N), ฟอสฟอรัส (P), โพแทสเซียม (K), แคลเซียม (Ca), แมกนีเซียม (Mg), เหล็ก (Fe), แมงกานีส (Mn), สังกะสี (Zn) และทองแดง (Cu) ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับปุ๋ยสูตร 20-8-20 ร่วมกับการใช้แบคทีเรีย (ตารางที่ 3.9 และ 3.10) ขณะที่การใส่ปุ๋ยสูตร 20-8-20 ร่วมกับการใช้เชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ทำให้ความสามารถในการดูใช้ธาตุอาหาร ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม สังกะสี และทองแดงลดลง แตกต่างทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับการใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินร่วมกับการใส่เชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 (ตารางที่ 3.9 และ 3.10)

5.4 ประเมินศักยภาพของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ร่วมกับการใส่ปุ๋ยในการควบคุมเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 สาเหตุโรครากขาวของยางพาราหลังสิ้นสุดการทดลอง

การใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินสามารถลดการเกิดโรครากขาวส่วนเหนือดินและรากใต้ 100 และ 93.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับการใส่ปุ๋ยสูตร 20-8-20 ลดการเกิดโรครากขาวส่วนเหนือดินและรากใต้ 21.35 และ 10.80 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งต้นยางพาราแสดงความผิดปกติที่ใบล่าง มีสีเหลือง ร่วง ปลายใบไหม้ และใบที่ขึ้นมาใหม่จะมีลักษณะรีียวเล็ก ในส่วนของรากต้นยางพารา รากฝอยน้อย มีสีน้ำตาลเข้ม-ดำคล้ำ และเปื่อยยุ่ย รากแก้วมีสีน้ำตาลเข้ม-ดำคล้ำ และรากนิ่ม โดยเปอร์เซ็นต์ลดการเกิดโรคของการใส่ปุ๋ยสูตร 20-8-20 เพิ่มขึ้น เมื่อมีการใช้ร่วมกับการใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ซึ่งสามารถลดการเกิดโรครากขาวส่วนเหนือดินและรากใต้ 50.00 และ 42.22 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับการใส่ปุ๋ยสูตร 20-8-20 แต่ในขณะที่การใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินร่วมกับการใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 สามารถลดการเกิดโรครากขาวในส่วนเหนือดินและรากใต้สูงสุด คือ 100.00 และ 97.78 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับการใส่ปุ๋ยสูตร 20-8-20 (ตารางที่ 3.11) โดยเมื่อสังเกตลักษณะรากต้นยางพาราของทรีทเมนต์ที่ใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินร่วมกับใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ปริมาณของรากฝอยเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการใส่ปุ๋ยสูตร 20-8-20 ร่วมกับใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 (ภาพที่ 3.14)

ตารางที่ 3.8 ความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบยางพาราหลังสิ้นสุดการทดลอง

Treatment		N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu
		g kg ⁻¹			mg kg ⁻¹					
20-8-20 fertilizer	control	27.94 ± 1.96b	1.60 ± 0.08c	8.38 ± 0.60ad	5.59 ± 0.35ab	1.42 ± 0.17b	94.76 ± 3.11	96.46 ± 10.40	16.63 ± 0.78c	4.79 ± 0.17ab
	<i>B. subtilis</i>	28.95 ± 2.42b	1.77 ± 0.05b	9.44 ± 0.18ab	5.38 ± 1.41bc	1.36 ± 0.06b	91.32 ± 5.53	96.59 ± 3.80	17.36 ± 0.86ab	4.47 ± 0.40b
	<i>R. microporus</i>	21.11 ± 1.47b	1.51 ± 0.10d	7.99 ± 1.08c	4.19 ± 0.71c	1.34 ± 0.09b	88.16 ± 7.23	92.38 ± 9.10	11.90 ± 0.88c	3.05 ± 0.30c
	<i>B. subtilis</i> + <i>R. microporus</i>	26.68 ± 1.36b	1.65 ± 0.04c	9.20 ± 0.53ab	5.54 ± 0.55b	1.43 ± 0.09b	92.17 ± 3.86	97.86 ± 12.02	17.23 ± 1.36ab	3.11 ± 0.30c
Fertilizer applicaton based	control	39.74 ± 1.93a	1.96 ± 0.04a	10.14 ± 0.59a	7.16 ± 0.54a	2.06 ± 0.36a	92.16 ± 8.61	94.19 ± 7.66	20.15 ± 0.97ab	5.24 ± 0.53a
	<i>B. subtilis</i>	38.07 ± 4.57a	1.92 ± 0.01a	10.27 ± 0.70a	7.08 ± 0.43a	2.14 ± 0.30a	91.82 ± 7.74	97.76 ± 4.79	20.88 ± 3.67a	5.11 ± 0.23a
	<i>R. microporus</i>	37.81 ± 3.86a	1.91 ± 0.01a	10.17 ± 0.47a	7.00 ± 0.77a	2.03 ± 0.38a	94.28 ± 5.56	93.06 ± 8.48	19.81 ± 3.76ab	5.25 ± 0.45a
	<i>B. subtilis</i> + <i>R. microporus</i>	34.64 ± 4.01a	1.91 ± 0.02a	10.27 ± 0.29a	6.82 ± 0.39a	2.02 ± 0.06a	95.50 ± 8.52	98.38 ± 8.11	22.22 ± 2.07ab	5.22 ± 0.25a
F-test		*	*	*	*	*	NS	NS	*	*
C.V. (%)		10.67	3.56	7.43	13.51	5.49	8.06	17.08	13.74	8.94

หมายเหตุ: แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจำนวน 4 ซ้ำ; อักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ * = มีความแตกต่างทางสถิติ และ NS = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อทดสอบด้วยวิธี F-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตาราง 3.9 การดูที่ใช้ธาตุอาหารหลักและรองของใบยางพาราหลังสิ้นสุดการทดลอง

Treatment		N	P	K	Ca	Mg
		mg plant ⁻¹				
20-8-20 fertilizer	control	624.16 ± 83.49cd	36.18 ± 6.49cd	188.42 ± 35.76cd	136.18 ± 35.36bc	32.29 ± 8.05cd
	<i>B. subtilis</i>	749.32 ± 140.15c	45.43 ± 5.63bc	242.98 ± 35.58bc	141.98 ± 57.39bc	34.95 ± 4.43cd
	<i>R. microporus</i>	372.62 ± 57.20d	26.49 ± 3.20d	141.36 ± 32.66d	72.23 ± 4.19d	23.71 ± 4.39e
	<i>B.subtilis</i> + <i>R.microporus</i>	592.22 ± 117.49cd	36.75 ± 7.68cd	206.06 ± 55.32cd	121.85 ± 22.57cd	31.80 ± 7.05cd
Fertilizer applicaton based	control	1,086.75 ± 212.43ab	53.31 ± 8.86ab	273.57 ± 38.17ab	196.58 ± 45.40ab	57.61 ± 18.80ab
	<i>B. subtilis</i>	1,259.14 ± 244.39a	63.15 ± 7.02a	338.30 ± 54.33a	232.63 ± 32.24a	70.46 ± 13.72a
	<i>R. microporus</i>	862.98 ± 113.86bc	42.87 ± 6.22bc	244.76 ± 24.09bc	170.04 ± 33.65bc	48.56 ± 8.72bc
	<i>B.subtilis</i> + <i>R.microporus</i>	846.47 ± 162.27bc	46.27 ± 5.03bc	248.59 ± 33.71bc	164.83 ± 20.61bc	49.03 ± 6.77bc
F-test		*	*	*	*	*
C.V. (%)		24.75	19.07	19.61	26.06	26.79

หมายเหตุ: แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจำนวน 4 ซ้ำ; อักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ * = มีความแตกต่างทางสถิติ และ NS = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อทดสอบด้วยวิธี F-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตาราง 3.10 การดูค่าใช้จุลธาตุของใบยางพาราหลังสิ้นสุดการทดลอง

Treatment		Fe	Mn	Zn	Cu
		mg plant ⁻¹			
20-8-20 fertilizer	control	2.12 ± 0.02bc	2.16 ± 0.48bc	0.38 ± 0.43c	0.11 ± 0.08b
	<i>B. subtilis</i>	2.34 ± 0.01a-c	2.47 ± 0.38a-c	0.45 ± 0.31bc	0.11 ± 1.67b
	<i>R. microporus</i>	1.57 ± 0.01c	1.64 ± 0.35c	0.21 ± 0.33e	0.05 ± 0.03c
	<i>B. subtilis</i> + <i>R. microporus</i>	2.06 ± 0.02bc	2.23 ± 0.72bc	0.39 ± 0.55c	0.07 ± 0.11c
Fertilizer applicaton based	control	2.51 ± 0.0ab	2.58 ± 0.59ab	0.55 ± 0.09ab	0.14 ± 0.12ab
	<i>B. subtilis</i>	3.02 ± 0.02a	3.20 ± 0.56a	0.70 ± 0.07a	0.17 ± 4.37a
	<i>R. microporus</i>	2.24 ± 0.02a-c	2.24 ± 0.30bc	0.48 ± 0.30a-c	0.13 ± 0.09b
	<i>B. subtilis</i> + <i>R. microporus</i>	2.32 ± 0.01a-c	2.37 ± 0.31a-c	0.49 ± 0.30a-c	0.13 ± 0.07b
F-test		*	*	*	*
C.V. (%)		21.68	23.61	21.46	0.00

หมายเหตุ: แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจำนวน 4 ซ้ำ; อักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ * = มีความแตกต่างทางสถิติ และ NS = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อทดสอบด้วยวิธี F-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 3.11 ความสามารถของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ร่วมกับการใส่ปุ๋ยในการควบคุมเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 เชื้อสาเหตุโรครากขาวของยางพารา

Treatment		Disease incidence (%)		Disease reduction (%)	
		aerial stem	root	aerial stem	root
20-8-20 fertilizer	control	-	-	-	-
	<i>B. subtilis</i>	-	-	-	-
	<i>R. microporus</i>	79.65 ± 3.16a	90.20 ± 3.52a	21.35 ± 3.16c	10.80 ± 3.52c
	<i>B. subtilis</i> +	50.00 ± 6.42b	57.78 ± 5.13b	50.00 ± 6.42b	42.22 ± 5.13b
	<i>R. microporus</i>				
Fertilizer applicaton based	control	-	-	-	-
	<i>B. subtilis</i>	-	-	-	-
	<i>R. microporus</i>	0.00 ± 0.00c	6.67 ± 4.44c	100.00 ± 0.00a	93.33 ± 4.44a
	<i>B. subtilis</i> +	0.00 ± 0.00c	2.22 ± 4.22c	100.00 ± 0.00a	97.78 ± 4.44a
	<i>R. microporus</i>				
F-test		*	*	*	*
C.V. (%)		8.56	9.79	5.14	6.96

หมายเหตุ: แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจำนวน 4 ซ้ำ; อักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน

ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ * = มีความแตกต่างทางสถิติที่ ทดสอบด้วยวิธี F-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

บทที่ 4

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลของไนโตรเจนและแมงกานีสต่อการเจริญของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*

สายพันธุ์ SM1

ยางพาราเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของภาคใต้ประเทศไทย ที่ผ่านมากษัตริย์มีการใช้พื้นที่ปลูกยางพาราอย่างต่อเนื่อง อีกทั้งละเลยการใส่ปุ๋ยหรือไม่ใส่ตามคำแนะนำของสถาบันวิจัยยาง และดินภาคใต้มีพัฒนาการสูงทำให้เกิดการสูญเสียธาตุอาหารได้ง่ายโดยเฉพาะธาตุไนโตรเจน รวมทั้งดินปลูกยางส่วนใหญ่มีสภาพกรดเนื่องจากสภาพภูมิอากาศเขตร้อนมีฝนตกชุกทำให้แมงกานีสละลายออกมาเกินค่ามาตรฐาน (Siskawardani *et al.*, 2015) ซึ่งในสภาวะที่มีไนโตรเจน 0.421-1.684 โมลาร์ หรือแมงกานีส 0.014-0.056 โมลาร์ หรือไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีสทุกระดับ แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 สามารถเจริญเติบโตได้ไม่แตกต่างกัน คือ $7.03-7.43 \times 10^{11}$ cfu/ml เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเพิ่มไนโตรเจน แมงกานีส และไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส (ตารางภาคผนวกที่ 1) โดยแบคทีเรียในกลุ่มของ *Bacillus* spp. ใช้ไนโตรเจนและแมงกานีส สังเคราะห์กลูตามีน (Mhatre *et al.*, 2016) ผลิตเอนไซม์ยูรีเอส (Kim *et al.*, 2005) ผลิต 2,3-butanediol (Tian *et al.*, 2016) สร้างเอนโดสปอร์และโพรตีน (Stockton and Wyss, 1946) รวมทั้ง polyhydroxyalkanoate (PHA) และ poly-3-hydroxybutyrate (PHB) (Priyanka *et al.*, 2021; Singh *et al.*, 2013) โดยแบคทีเรีย *B. subtilis* สามารถเจริญเติบโตได้และมีการสร้างเอนโดสปอร์มากขึ้นเมื่อเพิ่มสารอาหารในรูปแอมโมเนียมซัลเฟต ยูเรีย แคลเซียม และแมงกานีส (เดชมหิตกุล และคณะ, 2550; Cote and Gherna 1999; Gunka and Commichau, 2012) นอกจากนี้ยังทำให้การผลิตเอนไซม์ยูรีเอสและเอสพาราจินของแบคทีเรีย *B. subtilis* สูงขึ้นเมื่อเพิ่มไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียม (Atkinson and Fisher, 1991) ดังนั้นหากนำแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 มาใช้ประโยชน์ในสวนยางพาราของภาคใต้ ซึ่งมีธาตุอาหารในดินความเข้มข้นของไนโตรเจนต่ำ แมงกานีสสูง เปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานก็จะไม่ส่งผลกระทบต่อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1

2. ผลของไนโตรเจนและแมงกานีสต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Rigidoporus*

microporus สายพันธุ์ NK6

โรครากขาวมีสาเหตุจากเชื้อรา *R. microporus* เป็นเชื้อราที่อาศัยอยู่ในดิน ซึ่งธาตุอาหารในดินก็มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา โดยระดับไนโตรเจนหรือไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีสที่เพิ่มขึ้นทำให้การเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ลดลง และไนโตรเจนที่ความเข้มข้นมากกว่า 2.5 โมลาร์ ส่งผลให้เส้นใยเชื้อราไม่สามารถเจริญต่อไปได้ เช่นเดียวกับการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Pleurotus ostreatus* (U6/8), *Lentinula edodes* (U6/12) และ *Agaricus blazei* (U2/2) ลดลง เมื่อความเข้มข้นของไนโตรเจนมากกว่า 16.2 g kg⁻¹ (Agostini, 2011) ซึ่งระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารมีผลต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา โดยปริมาณไนโตรเจนที่มากหรือน้อยเกินไปเป็นปัจจัยที่จำกัดต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา (Mantovani *et al.*, 2007) สำหรับแมงกานีสที่ระดับความเข้มข้นต่ำกว่า 0.056 โมลาร์ ไม่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา แต่แมงกานีสระดับความเข้มข้นที่มากกว่า 0.056 โมลาร์ ทำให้การเจริญของเส้นใยเชื้อราลดลง (ภาพที่ 3.1) สอดคล้องกับ แมงกานีสที่ระดับความเข้มข้น 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้การเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Trichoderma* spp. สามารถเจริญได้เพิ่มขึ้น และมีแนวโน้มลดลงเมื่อระดับความเข้มข้นมากกว่า 200 มิลลิกรัมต่อลิตร (Jaworska and Dluzniewska, 2007) ซึ่งจะเห็นได้ว่าระดับความเข้มข้นและธาตุอาหาร เช่น แมงกานีส แมกนีเซียม และทองแดง มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Fusarium culmorum*, *Fusarium avenaceum*, *Botrytis cinerea* และ *Beauveria bassiana* (Przedziecki, 1991; Jaworska, 2000)

3. ผลของไนโตรเจนและแมงกานีสต่อการผลิตวงสีเอนไซม์แลคเคสของเชื้อรา

Rigidoporus microporus สายพันธุ์ NK6

เชื้อรา *R. microporus* สามารถผลิตเอนไซม์แลคเคสเป็น extracellular enzymes ซึ่งเอนไซม์แลคเคสเป็นตัวบ่งชี้ถึงการเข้าทำลายรากยางพารา พบเอนไซม์แลคเคสในเนื้อเยื่อที่ถูกทำลายด้วยเชื้อรา *Rigidoporus microporus* (Nandris *et al.*, 1987) ทั้งนี้เชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 สามารถสร้างวงสีเอนไซม์แลคเคสได้เพิ่มขึ้นในสภาวะที่มีแมงกานีส (ตารางที่ 3.1) เช่นเดียวกับเชื้อรา *Pleurotus sajor-caju* สามารถผลิตเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสได้สูงขึ้นเมื่อเพิ่มแมงกานีส 15 มิลลิกรัมต่อลิตร (Fu *et al.*, 1997) โดยเชื้อราใช้แมงกานีสในการผลิตเอนไซม์ ligninolytic ประกอบด้วย แลคเคส แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส และแมงกานีสอินดิเพนเดนท์เปอร์ออกซิเดส (Hatakka *et al.*, 2003) สำหรับในสภาวะที่มีไนโตรเจน และไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีสเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 สามารถสร้างวงสีเอนไซม์แลคเคสลดลง (ตารางที่ 3.1) เช่นเดียวกับ

การผลิตเอนไซม์แอมงานีสเปอร์ออกซิเดส และแลคเคส ลดลงในสภาวะที่มีไนโตรเจนและไนโตรเจนร่วมกับทองแดง (Leatham and Kirk 1983; Eggert *et al.*, 1996; Fu *et al.*, 1997; Mikiashvili *et al.*, 2005; Vall *et al.*, 2014) และไม่สามารถผลิตเอนไซม์แลคเคสได้ในสภาวะที่มีโซเดียมไนเตรต 16.5 กรัมเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน (Eugenio *et al.*, 2009) ทั้งนี้กิจกรรมของเอนไซม์ ligninolytic โดยเฉพาะเอนไซม์แลคเคสถูกควบคุมโดยธาตุอาหารต่างๆ ได้แก่ คาร์บอน ไนโตรเจน แอมงานีส และทองแดง (Jeffries *et al.*, 1981; Keyser *et al.*, 1987; Bonnarme and Jeffries, 1990; Soden and Dobson, 2001; Tinoco *et al.*, 2011)

4. ผลของไนโตรเจนและแอมงานีสต่อประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ SM1 ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rigidoporus microporus* สายพันธุ์ NK6

Bacillus spp. เป็นแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพที่ใช้ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชได้หลายชนิด เช่น เชื้อรา *Rhizoctonia solani* โรคกาบใบแห้ง และเมล็ดต่างของข้าว (Pengnoo *et al.*, 2000; Chamswang *et al.*, 2018) และใบไหม้ของถั่วหรั่ง (Pengnoo *et al.*, 2006) เชื้อรา *Alternaria* spp. สาเหตุโรคใบจุดของผักกาดหอม (วานิด และคณะ, 2552) เชื้อรา *Pestalotiopsis* sp. โรคผลเน่าในฝรั่ง (Tipsing *et al.*, 2019) เชื้อรา *Pythium* sp. โรคเน่าและโรคเหี่ยวในกระเจี๊ยบ (Hassan *et al.*, 2014) โรคเน่าระดับคอดินในมะเขือเทศ (Intana *et al.*, 2008) เชื้อรา *Cercospora oryzae* โรคใบขีดสีน้ำตาล (Yenjit *et al.*, 2020) เชื้อรา *Ilyonectria destructans* (G1), *Ilyonectria liliigena* (G2), *Neurospora sitophila* (G7), *Cladosporium* sp. (G8), *Eutypella scoparia* (G9), *Aschersonia* sp. (G10), และ *Fusarium* sp. (G11) โรครากเน่าของโสม (Durairaj *et al.*, 2018) และสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 สาเหตุโรครากขาวยางพาราได้ 93.33 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 3.1) โดยการยับยั้งระหว่างแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 กับเชื้อราสาเหตุ *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 เป็นเพราะแบคทีเรีย *B. subtilis* สามารถผลิตสารปฏิชีวนะออกมา เช่น iturin, fengycin, surfactin, bacylloicin, macrolactin, bacillaene และ bacilysin (Rabbee *et al.*, 2019; Khedherab *et al.*, 2021) ผลิตเอนไซม์ β -1,3-glucanase, chitinase และ cellulase (Singh *et al.*, 2008; Taechapoempol *et al.*, 2011) ทั้งนี้ในสภาวะที่ไนโตรเจน หรือแอมงานีส หรือไนโตรเจนร่วมกับแอมงานีสในระดับความเข้มข้นต่างๆ ก็ยังสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ได้มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ โดยเฉพาะความเข้มข้นของไนโตรเจนมากกว่า 1.263 โมลาร์ สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ได้สูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 3.1) ในขณะที่การใช้ไนโตรเจนในรูปของยูเรียที่ระดับความเข้มข้น 0.421-1.684 โมลาร์ สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใย

เชื้อราได้ 80-84 เปอร์เซ็นต์ (ภาพภาคผนวกที่ 3) (ในการทดลองจึงมีการเลือกใช้ไนโตรเจนในรูปของแอมโมเนียมซัลเฟต เพราะจากการได้ลงพื้นที่พูดคุยกับเกษตรกรในปัจจุบัน พบว่า เกษตรกรส่วนใหญ่ นิยมใช้ปุ๋ยไนโตรเจนในรูปของแอมโมเนียมซัลเฟต เพราะด้วยราคาที่ถูกลงกว่าการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนในรูปของยูเรีย) โดยแบคทีเรีย *B. licheniformis* (B5) สามารถผลิตสารปฏิชีวนะ bacitracin houria ได้ดี เมื่อเพิ่มไนโตรเจน (glutamic) และแมกนีเซียม 0.1 และ 0.075 เปอร์เซ็นต์ (Haddar *et al.*, 2007) ซึ่งสารปฏิชีวนะดังที่กล่าวข้างต้น อาจจะมีผลไปลดหรือยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราทำให้ไม่สามารถเจริญต่อไปได้ ซึ่งมีลักษณะผิดปกติ คือ เส้นใยเชื้อราหยาบ ขนาดเส้นใยไม่สม่ำเสมอ การเจริญบิดเบี้ยวผิดปกติ และบริเวณปลายเส้นใยโป่งพอง (ภาพที่ 3.7) เช่นเดียวกับ เส้นใยของเชื้อรา *Rhizoctonia solani* บิดเบี้ยว และผิดปกติ เมื่อทดสอบด้วยแบคทีเรีย *B. subtilis* (MBI 600) (Kumar *et al.*, 2013)

นอกจากนี้แบคทีเรีย *B. subtilis* สามารถผลิตสารระเหยได้ (Vespermann 2007; Leelasuphakul *et al.*, 2008) เช่น สารในกลุ่มของ pyrazines, aldehydes, ketones และ alcohols (Azokpota *et al.*, 2009) ซึ่งมีไนโตรเจน และกำมะถัน เป็นองค์ประกอบหลัก (Fink *et al.*, 2020) โดยการผลิตสารระเหยของแบคทีเรีย *B. subtilis* ถูกสร้างในระยะ stationary phase เป็นระยะที่แบคทีเรีย *B. subtilis* มีการสร้างสปอร์ แต่ก็มีสารปฏิชีวนะในกลุ่มของ aldehyde และ ketone สามารถผลิตขึ้นมาในช่วง exponential phase ทั้งนี้แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 สามารถผลิตสารระเหยยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ (ภาพที่ 3.10) ส่งผลทำให้เชื้อรา *R. microsporus* สายพันธุ์ NK6 ได้มีการสะสมสารระเหยดังกล่าวไว้ในเซลล์ ส่งผลกระทบและขัดขวางกระบวนการเมแทบอลิซึมภายในเซลล์ ทำให้ความสามารถในการสร้างสปอร์และเส้นใยของเชื้อราลดลง (Mckeen *et al.*, 1986) เช่นเดียวกับ แบคทีเรีย *B. subtilis* สามารถผลิตสารระเหยที่สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์และการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *Paecilomyces lilacinus* และ *Pochonia chlamydosporia* (Zou *et al.*, 2007) *Alternaria*, *Botrytis*, *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia* และ *Verticillium* (Fiddaman and Rossall, 1994) อย่างไรก็ตามในสภาวะที่มีการเพิ่มไนโตรเจน หรือไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส ระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้น แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 สามารถผลิตสารระเหยเพื่อยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microsporus* สายพันธุ์ NK6 ได้สูงสุด 82 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 3.10) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะไนโตรเจนหรือแมงกานีส จะเข้าไปมีผลต่อการผลิตสารระเหยของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 เนื่องจากสารระเหยในกลุ่มของ pyrazines, aldehydes, ketones และ alcohols จะมีไนโตรเจน และกำมะถัน เป็นองค์ประกอบ (Fink *et al.*, 2007) ซึ่งสารระเหยดังกล่าวมีผลทำให้ลักษณะเส้นใยของเชื้อราที่มีความผิดปกติ การเจริญบิดเบี้ยวผิดปกติ บริเวณปลายเส้นใยโป่งพอง เช่นเดียวกับ สารระเหยของแบคทีเรีย *B. subtilis* ทำให้ผิวของเส้นใยเชื้อรา *Monilinia*

fruticola แห่ง ฝ่อ หดตัว บิดเบี้ยวผิดปกติ ส่วนประกอบภายในของเซลล์ถูกทำลาย และทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อรา *A. solani* แห่ง ฝ่อ มีช่องว่างภายในเซลล์มากขึ้น และลดการงอกของ conidia (Zhou *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2020)

อย่างไรก็ตามเชื้อรา *R. microporus* และแบคทีเรีย *B. subtilis* เป็นจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในดิน ซึ่งจะใช้อินทรีย์วัตถุ คาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม และแมงกานีส (Dauner *et al.*, 2001; Igura *et al.*, 2003; Luo *et al.*, 2007; Basak and Biswas 2009; Monteiro *et al.*, 2014) เป็นแหล่งพลังงาน ผลิตภัณฑ์ชีวชะ และแบ่งเซลล์ (Hoover *et al.*, 2010) ซึ่งเมื่อจำลองให้สภาพแวดล้อมใกล้เคียงกับดินในพื้นที่ดินปลูกยางพาราของภาคใต้ที่มีความเข้มข้นของธาตุไนโตรเจนต่ำ และแมงกานีสสูง แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 สามารถลดการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ได้ทั้งในสภาวะที่มีไนโตรเจน หรือแมงกานีส หรือไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส สามารถวัดการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้น้อยกว่า 0.73 เซนติเมตร โดยไนโตรเจน 1.684 ร่วมกับแมงกานีส 0.056 โมลาร์ มีผลทำให้เส้นใยของเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 หยุดการเจริญเติบโตตั้งแต่วันที่ 5 (ตารางที่ 3.2) ซึ่งเป็นผลมาจากแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 สามารถเข้าครอบครองพื้นที่ได้ก่อนและสร้างสารชีวชะออกมาตั้งที่กล่าวข้างต้น ทำให้เชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ไม่สามารถเจริญต่อไปได้และหยุดการเจริญเติบโต เช่นเดียวกับเส้นใยของเชื้อรา *R. lignosus* หยุดการเจริญเติบโต เนื่องจากจุลินทรีย์ในดินชนิดอื่นที่เจริญขึ้นมาแข่งขันส่งผลให้เชื้อราไม่สามารถเจริญต่อไปได้ (Rodesuchit, 1998)

5. ประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ SM1 ร่วมกับการใส่ปุ๋ยต่อการควบคุมเชื้อรา *Rigidoporus microporus* สายพันธุ์ NK6 เชื้อสาเหตุโรครากขาวของยางพาราในสภาพเรือนทดลอง

ปัจจัยการเกิดและความรุนแรงของโรครากขาวในต้นยางพารา ได้แก่ เชื้อสาเหตุ พืชอาศัย เวลา และสภาพแวดล้อมโดยเฉพาะธาตุอาหาร ซึ่งดินของภาคใต้ในประเทศไทยเป็นดินที่มีพัฒนาการสูง ทำให้มีการสูญเสียธาตุอาหารได้ง่ายโดยเฉพาะธาตุไนโตรเจน และดินปลูกยางส่วนใหญ่มีสภาพกรด เนื่องจากสภาพภูมิอากาศเขตร้อนมีฝนตกชุก ทำให้แมงกานีสละลายออกมาเกินค่ามาตรฐาน ซึ่งสถานะดินที่ปลูกยางพาราในภาคใต้ส่วนใหญ่มีปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมอยู่ในระดับต่ำ ในขณะที่ปริมาณแมงกานีส (Mn) อยู่ในระดับสูง เปรียบเทียบกับเกณฑ์มาตรฐาน (นุชนารถ, 2554) ซึ่งสภาวะดังกล่าวส่งผลกระทบต่อผลผลิตและการเจริญเติบโตของยางพารา รวมทั้งทำให้พืชอ่อนแอและเชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลายได้ง่าย (ภรภัทร, 2563) โดยเมื่อใส่ปุ๋ยสูตร 20-8-20 อัตรา 130 กรัม/ต้น/ปี แบ่งใส่ 2 รอบ ทำให้ไนโตรเจนทั้งหมดในดินต่ำ 0.35 g kg^{-1}

และแมงกานีสสกัดได้สูง 4.58 mg kg^{-1} การเกิดโรครากขาวที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 สามารถเข้าทำลายส่วนเหนือดินและรากของต้นยางพาราได้ 76.50 และ 90.20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 3.11) รวมทั้งในสถานะที่มีแมงกานีสทำให้เชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 สามารถผลิตวงสีเอนไซม์แลคเคสได้อยู่ในระดับปานกลาง-สูง ทำให้เปอร์เซ็นต์ที่เชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 เข้าทำลายส่วนรากได้มากกว่าส่วนเหนือดิน ซึ่งกลไกการเข้าทำลายของเชื้อรา *R. microporus* สร้าง rhizomorphs ติดแน่นกับรากของยางพารา มีลักษณะคล้ายเกลียวที่สานกันประกอบเป็น mycelium สปอร์มีลักษณะกลมและติดแน่นกับเส้นใยคล้ายตาข่าย และสามารถผลิตเอนไซม์ในกลุ่มของ ligninolytic โดยเฉพาะแลคเคสเพื่อย่อยลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสที่ผนังเซลล์รากลยางพารา (Boudet *et al.*, 2003) สังเกตเห็นว่าลักษณะรากต้นยางพารารากฝอยน้อย มีสีน้ำตาลเข้ม-ดำคล้ำ และเปื่อยยุ่ย รากแก้วมีสีน้ำตาลเข้ม-ดำคล้ำ และรากนิ่ม (ภาพที่ 3.14) ในขณะที่ส่วนเหนือดินของต้นยางพาราแสดงความผิดปกติที่ใบล่างมีสีเหลือง ร่วง และมีปลายใบไหม้มากกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ ใบที่แตกยอดขึ้นมาใหม่มีลักษณะเรียวเล็ก เมื่ออาการรุนแรงมากขึ้นต้นยางพาราขึ้นต้นตาย โดยความรุนแรงของโรคพืชมีความสัมพันธ์กับความอุดมสมบูรณ์ดิน (Mitchell and Walters, 2004; Walters and Bingham, 2007) เช่น ธาตุอาหารหลัก รong และจุลธาตุ (Spann and Schumann, 2010; Wang *et al.*, 2013; Zhao *et al.*, 2018)

ธาตุอาหารมีบทบาทโดยตรงต่อการเมแทบอลิซึมของพืช (Bhat *et al.*, 2020) เช่น กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง เมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ลิพิด นิวคลีอิก และกิจกรรมของสารที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต (Wink, 2010) แต่เมื่อมีการใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน อัตรา 155 กรัม/ตัน/ปี แบ่งใส่ 2 ครั้ง ทำให้ไนโตรเจนทั้งหมดในดิน 0.93 g kg^{-1} และแมงกานีสสกัดได้ 4.98 mg kg^{-1} การเกิดโรครากขาวที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ไม่สามารถเข้าทำลายส่วนเหนือดินได้ แต่สามารถเข้าทำลายรากได้ 6.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 3.11) สังเกตเห็นว่าลักษณะปลายรากต้นยางพารามีจุดสีน้ำตาล ส่วนของรากแก้วไม่มีจุดสีน้ำตาล ในขณะที่ส่วนเหนือดินของต้นยางพาราไม่แสดงอาการผิดปกติ (ภาพที่ 3.13) ทั้งนี้เป็นเพราะยางพาราได้รับธาตุอาหารที่เพียงพอ ทำให้เชื้อสาเหตุโรครากขาวในการเข้าทำลายรากของยางพารายากขึ้น รวมถึงไนโตรเจนทั้งหมดในดินที่สูงขึ้นมีผลลดการเกิดโรครากขาวของยางพาราที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ทำให้การเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่เพิ่มไนโตรเจน และไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส เช่นเดียวกับ พิษุณัน (2533) กล่าวว่า ไนโตรเจนในรูปของไนเตรต 25 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดสามารถลดความรุนแรงและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรครากเน่าสาเหตุจากเชื้อรา *P. myriotylum* ได้

จากการศึกษาของ Agrios (2005) พบว่า โรคพืชในวงศ์ Solanaceae ได้แก่ *Fusarium wilt*, *Alternaria early blight*, *Pseudomonas solanacearum wilt*, *Sclerotium rolfsii* และ

Pythium damping off มีการกระจายเพิ่มขึ้นเมื่อเจริญอยู่ในสภาพที่มีไนโตรเจนต่ำ ในทางตรงกันข้าม หากพืชได้รับไนโตรเจนมากเกินไปทำให้พืชเกิดโรคได้ง่ายได้เช่นกัน (Mitchell *et al.*, 2003; Lv *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2008) เช่น เชื้อรา *F. oleagineum* สาเหตุโรคใบจุดในต้นมะกอก (Roca *et al.*, 2016) เชื้อ *P. syringae* และ *O. Lycopersicum* สาเหตุโรคใบจุดในมะเขือเทศ (Hoffland *et al.*, 2000) ซึ่งจะเห็นได้ว่าไนโตรเจน และแมงกานีสมีผลต่อจุลินทรีย์ (Huber and Watson, 1974; Spann *et al.*, 2009; Veresoglou *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2017) อย่างไรก็ตาม การใส่ปุ๋ยสูตร 20-8-20 และมีการเข้าทำลายของเชื้อรา *R. microsporus* สายพันธุ์ NK6 การใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 สามารถลดการเกิดโรครากขาวส่วนเหนือดินและรากของยางพาราได้ 50.00 และ 42.22 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (เพิ่มขึ้น 29 และ 31 เปอร์เซ็นต์) เมื่อเปรียบเทียบกับดินปลูกยางพาราที่มีการใส่ปุ๋ยสูตร 20-8-20 (ตารางที่ 3.11) และมีการเข้าทำลายของเชื้อรา *R. microsporus* สายพันธุ์ NK6 สังเกตเห็นว่าลักษณะรากฝอยเพิ่มขึ้น และมีรากฝอยเริ่มงอกใหม่ ส่วนใบยางพาราปลายใบเริ่มมีรอยไหม้ (ภาพที่ 3.13 และ 3.14)

ในขณะที่การใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินและมีการเข้าทำลายของเชื้อรา *R. microsporus* สายพันธุ์ NK6 การใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 สามารถลดการเกิดโรครากขาวส่วนเหนือดินและรากของยางพาราได้สูงสุด 100.00 และ 97.78 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน สามารถลดการเกิดโรครากขาวส่วนเหนือดินและรากของยางพาราได้ 100.00 และ 93.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 3.11) เมื่อสังเกตลักษณะรากต้นยางพารา รากแก้วมีสีขาวเหลืองนวล ปลายรากฝอยมีจุดสีน้ำตาลเล็กน้อย ปริมาณรากฝอยเพิ่มขึ้น และมีรากฝอยเริ่มงอกใหม่ ส่วนเหนือดินต้นสมบูรณ์ ไม่แสดงอาการผิดปกติ (ภาพที่ 3.13 และ 3.14) สอดคล้องกับ การใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ในสภาพที่มีการเพิ่มไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ โดยไนโตรเจน 1.684 โมลาร์ และแมงกานีส 0.056 โมลาร์ ทำให้เส้นใยเชื้อราหยุดการเจริญเติบโตตั้งแต่วันที่ 5 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมเชื้อรา *R. microsporus* สายพันธุ์ NK6 ที่ไม่มีการเพิ่มไนโตรเจนและแมงกานีส เห็นได้ว่า การใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ร่วมกับการใส่ปุ๋ยสามารถควบคุมเชื้อรา *R. microsporus* สายพันธุ์ NK6 ในสภาพเรือนทดลองได้มากกว่า 42-100 เปอร์เซ็นต์ และหากมีการจัดการธาตุอาหารให้เหมาะสมต่อความต้องการของพืช สามารถลดเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ (Reddy *et al.*, 2017) เช่นเดียวกับ โรคลำต้นเน่า (soybean stem canker) โรคแบคทีเรียใบปล้ำ (bacterial blight) ไวรัสใบต่างแก้วเหลือง (soybean mosaic virus) และโรครากเน่า (phytophthora root rot) ของถั่วเหลือง ความรุนแรงของโรคลดลงเมื่อได้รับการใส่ปุ๋ยอย่างเพียงพอ (Pacumbaba *et al.*, 1997) ดังนั้นการจัดการปุ๋ยเป็นสิ่งจำเป็นต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลของต้นยางพารา (ภรภัทร, 2563)

6 การใช้แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ SM1 ร่วมกับการใส่ปุ๋ยและเชื้อรา *Rigidoporus microporus* สายพันธุ์ NK6 ต่อการเจริญเติบโตของต้นยางพาราในสภาพโรงเรือนทดลอง

การจัดการปุ๋ยเป็นสิ่งจำเป็นต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของต้นยางพารา (ภรภัทร , 2563) เมื่อใส่ปุ๋ยสูตร 20-8-20 ร่วมกับเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ทำให้ความสูงเหนือดิน และเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น รวมทั้งน้ำหนักแห้งส่วนลำต้น ใบ และรากน้อยที่สุด (ตารางที่ 3.6 และ 3.7) ส่งผลทำให้ความเข้มข้นและการดูดใช้ธาตุอาหารของใบยางพารา ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม สังกะสี และทองแดงลดลง แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินร่วมกับการใส่เชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 (ตารางที่ 3.8 และ 3.9) โดยต้นกล้ายางพาราที่มีการเข้าทำลายของเชื้อรา *R. microporus* ระยะเวลา 6 เดือน ทำให้ความเข้มข้นของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมของใบยางพารามีแนวโน้มลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้ายางพาราที่ไม่ได้รับใส่เชื้อรา *R. microporus* (Shabbir *et al.*, 2021) โดยการใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินและการใส่ปุ๋ยสูตร 20-8-20 ร่วมกับการใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 มีแนวโน้มทำให้ความสูงเหนือดินเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 3.6) เมื่อเปรียบเทียบกับการใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินและใส่ปุ๋ยสูตร 20-8-20 ร่วมกับเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ในส่วนน้ำหนักแห้งราก และใบของต้นยางพารา มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเช่นกัน (ตารางที่ 3.7) ส่งผลให้ใบยางพารามีการสะสมธาตุอาหารเพิ่มขึ้น เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม แต่ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสของใบยางพาราอยู่ในระดับที่ต่ำกว่ามาตรฐาน (ตารางที่ 3.8) อาจเป็นผลมาจากปริมาณเหล็กที่อยู่ในสารละลายดินอยู่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับเกณฑ์มาตรฐาน (นุชนารถ, 2554) ลดความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัส ซึ่งสอดคล้องกับ การเพิ่มความเข้มข้นของเหล็กในสารละลายธาตุอาหารที่ใช้ปลูกข้าว ส่งผลให้ข้าวขาดฟอสฟอรัส (ยงยุทธ, 2558) อีกทั้งความเข้มข้นของโพแทสเซียมของใบยางพาราอยู่ในระดับต่ำกว่ามาตรฐาน (ตารางที่ 3.8) อาจเพราะดินที่ใช้ในการทดสอบเป็นดินร่วนเหนียว ดังนั้นโพแทสเซียมในดินถูกตรึงอยู่ในหลีบของแร่ดินเหนียวพวก 2:1 ทำให้รากของยางพาราดูดใช้ธาตุอาหารได้ยากขึ้น ดังนั้นในการใส่ปุ๋ยควรมีการแบ่งใส่ปุ๋ยเพื่อลดการสูญเสียธาตุอาหาร ในขณะที่ การดูดใช้ธาตุอาหารหลัก (ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม) รอง (แคลเซียม และแมกนีเซียม) และจุลธาตุ (เหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดง) รวมทั้งในส่วนของใบยางพารา ทำให้ความสูงเหนือดิน น้ำหนักแห้ง (ลำต้น ใบและราก) ของต้นยางพารามีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยแบคทีเรีย *B. subtilis* สามารถสังเคราะห์เอนไซม์ (polyketide synthases; PKSs) และ (nonribosomal peptide synthetases; NRPSs) (Stein, 2005; Aleti *et al.*, 2015) รวมทั้งสารระเหยอินทรีย์ (volatile organic compounds: VOCs) ที่มีความสามารถในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชและสามารถนำไปใช้ในทางเกษตรได้ (Stein, 2005; Sumi *et al.*, 2015; Tahir *et al.*, 2017)

รวมทั้งสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (PGPB) (Wagi and Ahmed, 2019) ซึ่งผลิตสารทุติยภูมิที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Souza *et al.*, 2015) เช่น กรดแอบไซซิก (abscisic acid), กรดจัสโมนิก (jasmonic acid), จิบเบอเรลลิน (gibberellins), ไซโตไคนิน (cytokinins) และกรดอินโดลแอซีติก (indole-3-acetic acid: IAA) (Bloemberg and Lugtenberg, 2001; Marques *et al.*, 2010; Matsuda *et al.*, 2018) เป็นส่วนหนึ่งซึ่งช่วยเพิ่มการพัฒนาของรากฝอย ทำให้รากฝอยมีพื้นที่ผิวเพิ่มขึ้น ความสามารถในการดูดใช้น้ำและธาตุอาหารเพิ่มขึ้น โดยมีผลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของพืช (Wagi and Ahmed, 2019)

การใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินร่วมกับการใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 มีแนวโน้มทำให้ความเข้มข้นของธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมของใบยางพาราเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการใส่ปุ๋ย 20-8-20 (ตารางที่ 3.8) ซึ่งเห็นได้จากปริมาณการดูดใช้ธาตุอาหารของใบยางพารา ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดง (ตารางที่ 3.9 และ 3.10) เช่นเดียวกับ แบคทีเรีย *B. subtilis* สามารถผลิต gibberellins ส่งผลให้ต้นผักกาดขาวมีความยาวลำต้นส่วนเหนือดิน ความยาวราก น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้น รวมถึงการสะสมธาตุอาหาร ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม และซัลเฟอร์เพิ่มขึ้น (Arkhipova *et al.*, 2005; Kang *et al.*, 2019) รวมทั้งสามารถผลิต IAA ที่ทำให้ความยาวราก น้ำหนักสดและแห้งของเมล็ดหัวหอมเพิ่มขึ้น (Reetha *et al.*, 2014) สารอินทรีย์ระเหย albuterol และ 1,3-propanediol ที่ผลิตโดยแบคทีเรีย *B. subtilis* (SYST2) มีผลกระตุ้นการทำงานของ ออกซิน จิบเบอเรลลิน ไซโตไคนิน เอ็กส์แพนซิน และเอทิลีน สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ (Tahir *et al.*, 2017) นอกจากนี้ แบคทีเรีย *B. megaterium* (XTBG34) ผลิต 2-pentylfuran ส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้น *arabidopsis thaliana* (Zou *et al.*, 2010)

บทที่ 5

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

ในสภาวะที่มีไนโตรเจน 0.421-1.684 โมลาร์ หรือแมงกานีส 0.014-0.056 โมลาร์ หรือไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส ทำให้การเจริญของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ SM1 สามารถเจริญได้อยู่ในช่วง $7.03-7.43 \times 10^{11}$ cfu/ml แต่ทำให้การเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Rigidoporus microporus* สายพันธุ์ NK6 ลดลง ยกเว้นแมงกานีสระดับความเข้มข้นที่ต่ำกว่า 0.056 โมลาร์ เส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 สามารถเจริญได้ไม่แตกต่างกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเพิ่มธาตุอาหาร รวมทั้ง ในสภาวะที่มีไนโตรเจน 0.421-1.684 โมลาร์ หรือแมงกานีส 0.014-0.056 โมลาร์ หรือไนโตรเจนร่วมกับแมงกานีส แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ได้ในช่วง 80-100 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เส้นใยเชื้อรามีลักษณะผิดปกติ คือ เส้นใยเชื้อราหยาบ ขนาดเส้นใยไม่สม่ำเสมอ การเจริญบิดเบี้ยวผิดปกติ ปลายเส้นใยบวม และโป่งพอง โดยเฉพาะไนโตรเจน 1.263 และ 1.684 โมลาร์ สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ได้ 100 เปอร์เซ็นต์

การใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน อัตรา 155 กรัม/ตัน/ปี ให้กับต้นยางพาราอายุ 1 ปี ร่วมกับการใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 สามารถลดการเกิดโรครากขาวที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ในส่วนของเนื้อดินและรากได้ 100.00 และ 97.78 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการใส่ปุ๋ยสูตร 20-8-20 นอกจากนี้การใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน ร่วมกับการใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ทำให้การเจริญเติบโตทางด้านความสูงเนื้อดิน เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น และการสะสมธาตุอาหารของยางพาราเพิ่มขึ้น

ข้อเสนอแนะ

1. แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ควรพัฒนาให้อยู่ในรูปแบบชีวภัณฑ์เพื่อความสะดวกต่อการนำไปใช้และยืดอายุการเก็บรักษา
2. ควรใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินร่วมกับการใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 เพื่อประสิทธิภาพที่ดียิ่งขึ้นในการป้องกันและควบคุมโรครากขาวที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *R. microporus*
3. ความไม่สมดุลของธาตุอาหารมีผลต่อการเกิดและความรุนแรงของโรครากขาวยางพาราที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ควรศึกษาผลของธาตุอาหารตัวอื่นๆ เพิ่มเติม

เอกสารอ้างอิง

- จักรกฤษณ์ พูนภักดี, จำเป็น อ่อนทอง, ขวัญตา ขาวมี และสุพรรณณี ดวงทอง. 2556. รูปของ โฟแทสเซียนในดินที่ดอนและที่ลุ่มที่ใช้ปลูกยางพาราในจังหวัดสงขลา. วารสารแก่นเกษตร 41(2): 21-32.
- ชลิดา เล็กสมบูรณ์ และนัฐพร. 2550. ผลของแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus subtilis* ต่อการ เจริญเติบโตของ อ้อย การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 8 อารักขาพืชไทยได้ ร่วมพระบารมี อารักขาพืช. สมาคมอารักขาพืชไทย กรุงเทพฯ.
- ดวงพร คันธโชติ. 2537. อนุกรมวิธานของแบคทีเรียและปฏิบัติการ. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์ กรุงเทพฯ : 202 หน้า.
- นุชนารถ กังพิศดาร. 2554. คำแนะนำการใช้ปุ๋ยยางพารา. กรุงเทพฯ: สถาบันวิจัยยาง กรมวิชาการ เกษตร.
- ปฎิมาพร ปลอดภัย. 2560. กลไกการเป็นปฏิชีวนะและการประยุกต์ใช้เชื้อ *Streptomyces griseus* subsp. *formicus* เพื่อควบคุมโรครากขาวของยางพารา: มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- ปราโมทย์ ทิมขำ สุภาพร ชูดีประพจน์ และประกิต ทิมขำ. 2560. การใช้ปุ๋ยค่าทดสอบดินร่วมกับการให้น้ำช่วงฤดูแล้งในยางพาราก่อนเปิดกรีต. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล น่าน.
- พิชญ์นันท์ กังแฮ. 2553. ผลของแอมโมเนียมต่อเชื้อ *Pythium* spp. ที่แยกได้จากรากผักกาดหอม (*Lactuca sativa* L.) ที่แสดงอาการโรครากเน่าในระบบปลูกแบบไฮโดรโปนิกส์. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต การจัดการทรัพยากรดิน. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
- พรพรรณ อู่สุวรรณ. 2550. การใช้เชื้อ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ในการควบคุมโรค เชื้อราในองุ่น. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ดุษฎีบัณฑิต เทคโนโลยีการผลิตพืช. มหาวิทยาลัย เทคโนโลยีสุรนารี.
- ภัทรา กิณเรศ. 2551. การใช้ประโยชน์จากเชื้อพันธุกรรมยางบราซิล. ศูนย์วิจัยยางสงขลา. สำนักงานวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 8 กรมวิชาการเกษตร.
- ภรภัทร สุชาติกุล, อรพิน หนูทอง และจิตติลักษณ์ เหมะ. 2562. การจัดทำค่ามาตรฐานเพื่อการ วินิจฉัย สถานะธาตุอาหารในดินและใบ สำหรับยางพาราพันธุ์ RRIT 251 ในระยะก่อนเปิด กรีต. วารสารยางพารา. 40(1): 13-38.

ภรภัทร สุชาติกุล. 2563. สถานะความอุดมสมบูรณ์ของดินปลูกยางในภาคใต้. วารสารยางพารา. 41(2): 13-21.

ยงยุทธ โอสดสภา, อรรถศิษฐ์ วงศ์มณีโรจน์ และชวลิต ฮงประยูร. 2551. ปุ๋ยเพื่อการเกษตรยั่งยืน. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ยงยุทธ โอสดสภา. 2552. ธาตุอาหารพืช. นครปฐม : ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ยงยุทธ โอสดสภา. 2558. ธาตุอาหารพืช. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

รัชฎาวรรณ เดชมณี, สุพจน์ กาเซ็ม, ณัฐธิดา เปื่อนสันเทียะ, ชัยสิทธิ์ ปรีชา, จารุวัฒน์ เกาธรรม พิทักษ์, ดุสิต อธิวัฒน์ และสุดฤดี ประเทืองวงศ์. 2548. การเข้าครอบครองภายในและการชักนำความต้านทานของแบคทีเรียปฏิชีวนะสายพันธุ์ KPS46 บนถั่วเหลือง. การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 7 อารักขาพืช เพื่อคุณภาพชีวิตและสิ่งแวดล้อม อารักขาพืช. สมาคมอารักขาพืชไทย กรุงเทพฯ.

วานิต รอดเนียม. 2552. การคัดเลือกและการเตรียมสูตรสำเร็จ *Bacillus subtilis* เพื่อควบคุมโรคใบจุดที่เกิดจาก *Alternaria longipes* ในผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต การจัดการทรัพยากรดิน. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

วานิต รอดเนียม, วิจิตร ต้นมาละ, บุญมา ดีแสง, ปฐมพงศ์ วงษ์เลี้ยง, มานะ กาญจนมณี-เสถียร และ อัจฉรา เพ็งหนู. 2552. ผลของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus spp.* ต่อเชื้อรา *Alternaria spp.* สาเหตุโรคใบจุดของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์. วารสารโรคพืช. 23(1): 31-40.

เวท ไทยนุกูล และนุชนารถ กังพิศดาร. 2524. ธาตุอาหารสำหรับยางพารา. วารสารยางพารา. 2: 40-46.

วันเพ็ญ วิริยะกิจนทีกุล. 2559. ศักยภาพของดินทรายในการปลูกยางพารา ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของ ประเทศไทย. สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน: กรมพัฒนาที่ดิน.

ไวรุจน์ เดชมหิตกุล, จันทระจิวา ออญคง, กนกวรรณ พุ่มพุทรา, แสงชัย เอกประทุมชัย และเพ็ญจันทร์ เมฆวิจิตรแสง. 2550. การศึกษาสูตรอาหารและกระบวนการผลิตสปอร์ *Bacillus subtilis*

เพื่อเป็นโปรไบโอติกในสัตว์. วารสารวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. 30(2): 251-259.

สถาบันวิจัยยาง. 2547. ข้อมูลวิชาการยางพารา 2547. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สถาบันวิจัยยาง. 2548. เอกสารวิชาการ การใช้ปุ๋ยและการปรับปรุงดินในสวนยาง. สถาบันวิจัยยาง กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์: กรุงเทพมหานคร.

สายใจ หมิ่นภักดี, จำเป็น อ่อนทอง และขวัญตา ขาวมี. 2563. ผลของแมงกานีสต่อการเจริญเติบโตและการดูดใช้ธาตุอาหารของต้นกล้ายางพารา. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์. 7(4): 164-175.

สิทธิชัย บุญมณี. 2556. การเปรียบเทียบการใช้ปุ๋ยตามค่าทดสอบดินและการใช้ปุ๋ยสูตร 20-8-20. วิทยานิพนธ์วิทยาศาตรมหาบัณฑิต การจัดการทรัพยากรดิน. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สุภาภรณ์ เอี่ยมแข็ง และมารีนา ทารง. 2557. การควบคุมเชื้อรา *Rigidoporus lignosus* สาเหตุโรครากขาว ในยางพารา (*Havea brasiliensis* Muell. Arg). วารสารแก่นเกษตร. 42(2): 686-692.

เสมอใจ ชื่นจิตต์. 2555. สูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Streptomyces* sp. ในการยับยั้งโรครากขาวของยางพารา. กรุงเทพมหานคร: ฐานข้อมูลโครงสร้างพื้นฐานภาครัฐด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีกระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.

อภาพร โพธิยอด และเกวลิน คุณาศักดากุล. 2020. การชักนำให้เกิดความต้านทานโรครากเน่าไฟทอปธอราในสตรอเบอร์รี่ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยเชื้อแบคทีเรียไมซีสต์เอนโดไฟต์. วารสารเกษตร. 30(3): 213-222.

อารมณั์ โรจน์สุจิตร์, อุไร จันทรประทีน, พเยาว์ ร่มรื่นสุขารมย์ และบุญปิยะธิดา แคล้วคล่อง. 2554. ประสิทธิภาพของสารเคมีในท้องถิ่นต่อการป้องกันและควบคุมโรครากขาว. กิจกรรมภายใต้โครงการวิจัยการจัดการโรครากขาวยางพารา.

Abbasa, A., Khanb, S.U., Khanc, W.U., Salehd, T.A., Khanb, M.H.U., Ullahe, S., Alib, A. and Ikramf, M. 2019. Antagonist effects of strains of *Bacillus* spp. against *Rhizoctonia solani* for their protection against several plant diseases: alternatives to chemical pesticides. *Comptes Rendus Biologies*. 342: 124-135.

- Abuley, I.K., Nielsen, B.J. and Hansen, H.H. 2019. The influence of timing the application of nitrogen fertilizer on early blight (*Alternaria solani*). Pest Management Science. 75(4): 1150-1158.
- Adekunle, S.M. and Daud, N.W. 2016. Effect of fertilizer rates and soil series on root morphological traits and root: shoot ratio of immature natural rubber (*Hevea brasiliensis*). International Journal of Scientific and Engineering Research. 7(9): 1373-1378.
- Agrios, G.N. 1997. Plant Pathology. Academic Press, San Diego (USA).
- Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology. Academic Press, New York.
- Agostini, E.C.D., Mantovani, T.R.D., Valle, J.S.D., Meirelles, L.D.P., Colauto, N.B. and Linde, G.A. 2011. Low carbon/nitrogen ratio increases laccase production from basidiomycetes in solid substrate cultivation. Scientia Agricola (Piracicaba, Braz.). 68(3): 295-300.
- Ahmed, A.S., Ezziyyani, M., Sánchez, C.P. and Candela, M.E. 2003. Effect of chitin on biological control activity of *Bacillus* spp. and *Trichoderma harzianum* against root rot disease in pepper (*capsicum annum*) plants. European Journal of Plant Pathology. 109: 633–637.
- Aleti, G., Sessitsch, A. and Brader, G. 2015. Genome mining: prediction of lipopeptides and polyketides from *Bacillus* and related firmicutes. Computational and Structural Biotechnology Journal. 13: 192–203.
- Anastassiadou, M., Arena, M., Auteri, D. and Brancato, A. 2021. Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance *Bacillus amyloliquefaciens* strain QST 713 (formerly *Bacillus subtilis* strain QST 713). European Food Safety Authority Journal. 19(1): 6381.
- Arkhipova, T.N., Veselov, S.U., Melentiev, A.I., Martynenko, E.V. and Kudoyarova, G.R. 2005. Ability of bacterium *Bacillus subtilis* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants. Plant and Soil. 272: 201-209.

- Ashlee, M., Losick, E.R. and Kolter, R. 2008. Ecology and genomics of *Bacillus subtilis*. Trends in Microbiology. 16: 269-275.
- Atakav, Y., Pinar, O., Orcid and Kazan, D. 2021. Investigation of the physiology of the obligate alkaliphilic *Bacillus marmarensis* GMBE 72T considering its alkaline adaptation mechanism for poly(3-hydroxybutyrate) synthesis. Microorganisms. 9: 462.
- Atkinson, M.R. and Fisher, S.H. 1911. Identification of genes and gene products whose expression is activated during nitrogen-limited growth in *Bacillus subtilis*. Journal of Bacteriology. 3(1): 23-27.
- Atlas, R.M. and Bartha, R. 1998. Microbial Ecology: Fundamental and application 4 edition. Menlo Park. Benjamin/Cummings. Science Publishing.
- Azokpota, P., Hounhouigan, D.J., Annan, N.T., Nago, M.C. and Jakobsen, M. 2008. Diversity of volatile compounds of afitin, iru and sonru three fermented food condiments from benin. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 24: 879-885.
- Barton, C.J. 1948. Photometric analysis of phosphaterock. Analytical Chemistry. 20: 63-70.
- Basak, B.B. and Biswas, D.R. 2009. Influence of potassium solubilizing microorganism (*Bacillus mucilaginosus*) and waste mica on potassium uptake dynamics by sudan grass (*Sorghum vulgare* Pers.) grown under two Alfisols. Plant and Soil. 317: 235–255.
- Bautista, C.V., Rahlwes, K. and Straigh, P. 2014. Bacterial competition reveals differential regulation of the pks genes by *Bacillus subtilis*. Journal of Bacteriology. 196(4): 717-728.
- Bhat, B.A., Islam, S.T., Ali, A., Sheikh, B.A., Tariq, L., Islam, S.U. and Dar, T.U.H. 2020. Role of micronutrients in secondary metabolism of plants. Plant Micronutrients, Deficiency and Toxicity Management. 311-329.

- Bloemberg, G.V. and Lugtenberg, B.F.J. 2001. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Current Opinion in Plant Biology*. 4: 343-350.
- Bonnarme, P. and Jeffries, T.W. 1990. Mn(II) Regulation of lignin peroxidases and manganese-dependent peroxidases from lignin-degrading white rot fungi. *Applied and Environmental Microbiology*. 56(1): 210-217.
- Boudet, A.M. Kajita, S., Pettenati, J.G. and Goffner, D. 2003. Lignins and Lignocellulosics: a better control of synthesis for new and improved uses. *Trends in Plant Science*. 8(12) 576-581.
- Chamswarnng, C., Intanoo, W. and Noisai, B. 2018. Efficacy of biological products of *Bacillus siamensis* RRK1–Rif for reducing sheath blight and dirty panicle of rice. *Thai Journal of Agricultural Science*. 49(1): 1-14
- Colbach, N., Maurin, N. and Huets, P. 1996. Influence of cropping system on foot rot of winter wheat in France. *Crop Protection*. 15(3): 295-305.
- Cote, R. and Gherna, R.L., 1999. Medium formulation and design *E. coli* and *Bacillus* spp. in encyclopedia of bioprocess technology: fermentation, biocatalysis and bioseparation flickinger, M.C. and Drew, S.W. (Eds.), John Wiley and Sons, New York: 1676-1683.
- Damiri, N., Mulawarman, M. and Effendi, R.S. 2019. Antagonism of *Pseudomonas fluorescens* from plant roots to *Rigidoporus lignosus* pathogen of rubber white roots in vitro. *Biodiversitas*. 20(6): 1549-1554.
- Dauner, M., Storni, T. and Sauer, U. 2001. *Bacillus subtilis* metabolism and energetics in carbon-limited and excess-carbon chemostat culture. *Journal of Bacteriology*. 183(24): 7308-7317.
- Dennis, C. and Webster J. 1971. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma* II. production of volatile antibiotics. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 57: 25-39.

- Dissanayake, D.M.A.P. and Mithrasena, U. 1986. Influence of fertilizers on growth and mineral composition of hevea seedlings grown in the field nursery. Rubber Research Institute of Sri Lanka. 65: 32-46.
- Durairaj, K., Velmurugan, P., Park, J.H., Chang, W.S., Park, Y.J., Senthilkumar, P., Choi, K.M., Lee, J.H. and Oh, B.T. 2021. An investigation of biocontrol activity *Pseudomonas* and *Bacillus* strains against panax ginseng root rot fungal phytopathogens. Biological Control. 125(152): 138-146.
- Elsharkawy, M.M., Nakatani, M., Nishimura, M. and Arakawa, T. 2015. Control of tomato bacterial wilt and root-knot diseases by *Bacillus thuringiensis* CR-371 and *Streptomyces avermectinius* NBRC14893. Acta Agriculturae Scandinavica, Section - Soil and Plant Science. 65(6): 1-6.
- Eskandari, S., Khoshgoftarmansh, A.H. and Sharifnabi, B. 2018. The effect of foliar-applied manganese in mineral and complex forms with amino acids on certain defense mechanisms of cucumber (*Cucumis sativus* L.) against powdery mildew. Journal of Plant Growth Regulation. 37: 481-490.
- Eugenio, M.E., Carbajo, J.M., Martín, J.A., González, A.E. and Villar, J.C. 2009. Laccase production by *Pycnoporus sanguineus* under different culture conditions. Journal of Basic Microbiology. 49: 433-440.
- Fiddaman, P.J. and Rossall, S., Effect of substrate on the production of antifungal volatiles from *Bacillus subtilis*. Journal of Applied Bacteriology. 76(4): 395-405.
- Fink, P. 2007. Ecological functions of volatile organic compounds in aquatic systems. Marine and Freshwater Behaviour and Physiology. 40(3): 155-168.
- Frändberg, E., Petersson, C., Lundgren, L.N. and Schnürer, J. 2000. *Streptomyces halstedii* K122 produces the antifungal compounds bafilomycin B1 and C1. Canadian Journal of Microbiology. 46(8): 753-8.

- Fu, S.Y., Yu, H. and Buswell J.A. 1997. Effect of nutrient nitrogen and manganese on manganese peroxidase and laccase production by *Pleurotus sajor-caju*. FEMS Microbiology Letters. 147(1): 133-137.
- Gea, F.J., Navarro, M.J. and Tello, J.C. 2005. Reduced sensitivity of the mushroom pathogen *verticillium fungicola* to prochloraz-manganese in vitro. Mycological Research. 109(6): 741-745.
- Geiger, J.P., Nandris, D., Nicole, M. and Huguenin, B. 1983. Comparative studies of rubber root rot caused by *Rigidoporus lignosus* and *Phellinus noxius* in ivory coast. Proceeding. 6th Congress of IUFRO, Melbourne. KILE, G.A. (ed.): 407-408.
- Gunka, K. and Commichau, F.M. 2012. Control of glutamate homeostasis in *Bacillus subtilis*: a complex interplay between ammonium assimilation, glutamate biosynthesis and degradation. Molecular Microbiology 85(2): 213-224.
- Haddar, H.O., Aziz, G.M. and Gelawi, M.H.L. 2007. Optimization of bacitracin production by *Bacillus licheniformis* B5. Pakistan Journal of Biological Sciences. 10(6): 972-976.
- Hansen, L.H., Ferrari, B., Sorensen, A.H., Veal, D. and Sorensen, S.J. 2001. Detection of oxytetracycline production by *Streptomyces rimosus* in soil microcosms by combining whole-cell biosensors and flow cytometry. Applied and Environmental Microbiology. 239-244.
- Hassan, N., Shimizu, M. and Hyakumachi, M. 2014. Occurrence of root rot and vascular wilt diseases in roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) in upper egypt. Science Journal Impact Factor: Mycobiology. 42:66-72.
- Hatakka, A., Lundell, T., Hofrichter, M. and Majjala, P. 2013. Manganese peroxidase and its role in the degradation of wood Lignin. Applications of Enzymes to Lignocellulosics. 14: 230-243.
- Helmann, J.D. 2014. Specificity of metal sensing: iron and manganese homeostasis in *Bacillus subtilis*. Journal of Biological Chemistry. 289: 28112-28120.

- Hirano, T., Saito, Y., Ushimaru, H. and Michiyama, H. 2005. The effect of the amount of nitrogen fertilizer on starch metabolism in leaf sheath of japonica and indica rice varieties during the heading period. *Plant Production Science*. 8(2): 122-130.
- Hoffland, E., Michael, J., Jeger and Beusichem, M.L. 2000. Effect of nitrogen supply rate on disease resistance in tomato depends on the pathogen. *Plant and Soil*. 218: 239-247.
- Hood, A.I. 2006. In proceeding of heart rot and root rot in tropical acacia plantation. Yogyakarta, Indonesia. *The Mycology of the Basidiomycetes*: 46-49.
- Hoover, S.E., Xu, W., Xiao, W. and Burkholder, W.F. 2010. Changes in DnaA-dependent gene expression contribute to the transcriptional and developmental response of *Bacillus subtilis* to manganese limitation in luria-bertani medium. *Journal of Bacteriology*. 3915-3924.
- Huber, D.M. and Watson, R.D., 1974. Nitrogen Form and Plant Disease. *Annual Review of Phytopathology*. 12: 139-165. doi:10.1146/annurev.py.12.090174.001035.
- Igura, N., Kamimura, Y., Islam, M.S., Shimoda, M. and Hayakawa, I. 2003. Effects of minerals on resistance of *Bacillus subtilis* spores to heat and hydrostatic pressure. *Applied and Environmental Microbiology*. 69(10): 6307-6310.
- Intana, W., Yenjit, P., Suwanno, T., Sattasakulchai, S., Suwanno, M. and Chamswarnng, C. 2011. Efficacy of antifungal metabolites of *Bacillus* spp. for controlling tomato damping-off caused by *Pythium aphanidermatum*. *Walailak Journal of Science and Technology*. 5(1): 29-38.
- Jacob, J.L., Prevot, J.C., Roussel, D., Lacrotte, R., Serres, E., d Auzac, J., Eschbach, J. M. and Omont, H. 1989. Yield-limiting factors, latex physiological parameters, latex diagnosis and clonal typology. In *Physiology of Rubber Tree Latex*. J d Auzac, J.L. Jacob and H. Chrestin, editors. Boca Raton, CRC Press, Florida, U.S.A. 345-382.

- Jaworska, M., Gorczyca, A., Ropek, D. and Gondek, K. 2000. Effect of heavy metals on *Beauveria bassiana* Bals. (Vuill.) entomo-pathogenic fungi growth and their bio-accumulation. *Chemia i Inżynieria Ekologiczna*. 7(10): 1059-1065.
- Jaworska, M. and Dłuniewska, J. 2007. The effect of manganese ions on development and antagonism of *Trichoderma* isolates. *Polish Journal of Environmental Studies*. 16(4): 549-553.
- Jeffries, T.W., Choi, S. and Kirk, T.K. 1981. Nutritional regulation of lignin degradation by *Phanerochaete chrysosporium* (White Rot Fungus). *Applied and environmental microbiology (USA)*. 42(2): 290-296.
- Kaewchai, S. and Soyong, K. 2010. Application of biofungicides against *Rigidoporus microporus* causing white root disease of rubber trees. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 6: 349-363.
- Kang, S.M., Hamayun, M., Khan, M.A., Iqbal, A. and Lee, I.J. 2019. *Bacillus subtilis* JW1 enhances plant growth and nutrient uptake of Chinese cabbage through gibberellins secretion. *Journal of Applied Botany and Food Quality*. 92: 172-178.
- Kanjanamaneesathian, M., Kusonwiriawong, C., Pengnoo, A. and Nilratana, L. 1998. Screening of potential bacterial antagonists for control of sheath blight in rice and development of suitable bacterial formulations for effective application. *Australasian Plant Pathology*. 27: 198–206.
- Keyser, H.H. and Fudi Li. 1987. Potential for increasing biological nitrogen fixation in soybean. *Biological Nitrogen Fixation for Sustainable Agriculture*. Department of Public Social Services. 49: 119-135.
- Khedherab, S.B., Trabelsib, B.M. and Tounsia, S 2021. Biological potential of *Bacillus subtilis* V26 for the control of *Fusarium* wilt and tuber dry rot on potato caused by *Fusarium* species and the promotion of plant growth. *Biological Control*. 152: 104444.

- Kim, J.K., Mulrooney, S.B. and Hausinger, R.P. 2005. Biosynthesis of active *Bacillus subtilis* urease in the absence of known urease accessory proteins. *Journal of Bacteriology*. 187: 7150-7154.
- Kolsi, I.Z., Mahmoud, A.B., Ali, H., Sellami, S., Nasfi, Z., Tounsi, S. and Jamoussi, K. 2016. Antagonist effects of *Bacillus* spp. strains against *Fusarium graminearum* for protection of durum wheat (*Triticum turgidum* L. subsp. durum). *Microbiological Research*. 192: 148-158.
- Kotze, A.C., Grady, J.O., Pearson, R. and Gough, J.M. 2005. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* to parasitic and free-living life-stages of nematode parasites of livestock. *International Journal for Parasitology*. 35(9): 1013-22.
- Kumar, K.V.K., Yellareddygar, S.K.R., Reddy, M.S., Kloeppe, J.W., Lawrence, K.S., Miller, M.E., Sudini, H., Reddy, E.C.S., Zhou, X.G. and Groth, D.E. 2013. Ultrastructural studies on the interaction between *Bacillus subtilis* MBI 600 (Integral®) and the rice sheath blight pathogen, *Rhizoctonia solani*. *African Journal of Microbiology Research*. 7(19): 2078-2086.
- Kungpisdan, N., Suravanit, R., Prukwiwat, W., Prukwarun, S. and Ramlee, A. 2006. Development of technology in fertilizer utilization to increase yield of rubber. *Thai Agricultural Research Journal*. 24(2): 112-131.
- Leatham, G.F. and Kirk, T.K. 1983. Regulation of ligninolytic activity by nutrient nitrogen in white-rot basidiomycetes. *FEMS Microbiology Letters*. 16: 65-67.
- Leelasuphakul, W., Hemmanee, P. and Chuenchitt, S. 2008. Growth inhibitory properties of *Bacillus subtilis* strains and their metabolites against the green mold pathogen (*Penicillium digitatum* Sacc.) of citrus fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 48: 113-121.
- Leonowicz, A., Matuszewska, A., Luterek, J., Ziegenhagen, D., Wasilewska, M.W., Hofrichter, M. and Rogalski, J. 1999. Biodegradation of lignin by white rot fungi. *Fungal Genetics and Biology*. 27: 175-185.

- Liu, X., Lyu, S., Sun, D., Bradshaw, C.J.A. and Zhou, S. 2017. Species decline under nitrogen fertilization increases community-level competence of fungal diseases. *Proceedings of the Royal Society*. 284(1847): 1471-2954.
- Liu, D., Li, k., Hu, J., Wang, W., Liu, X. and Gao, Z. 2019. Biocontrol and action mechanism of *Bacillus amyloliquefaciens* and *Bacillus subtilis* in soybean phytophthora blight. *International Journal of Molecular Sciences*. 20(12): 2908. <https://doi.org/10.3390/ijms20122908>.
- Lv, Z.X., Yu, X.P., Heong, K.L. and Hu, C. 2005. Effects of nitrogenous fertilization in rice fields on the predatory function of *Cytorhinus lividipennis* Reuter to *Nilaparvata lugens stal*. *Acta Entomologica Sinica*. 48: 48-56.
- Luo, Y., Vilain, S., Voigt, B., Albrecht, D., Hecker, M. and Brozel, V.S. 2007. Proteomic analysis of *Bacillus cereus* growing in liquid soil organic matter. *FEMS Microbiol Letters*. 271: 40-47.
- Mannaa. M. and Kim, K.D. 2018. Biocontrol activity of volatile-producing *Bacillus megaterium* and *Pseudomonas protegens* against *Aspergillus* and *Penicillium* spp. predominant in stored rice grains: study II. *Mycobiology*. 46: 52-63.
- Mantovani, T.R.D., Linde, G.A. and Colauto, N.B. 2007. Effect of the addition of nitrogen sources to cassava fiber and carbon-to-nitrogen ratios on *Agaricus brasiliensis* growth. *Canadian Journal of Microbiology*. 53: 139-143.
- Marques, A.P., Pires, C., Moreira, H., Rangel, A.O. and Castro, P.M. 2010. Assessment of the plant growth promotion abilities of six bacterial isolates using zea mays as indicator plant. *Soil Biology and Biochemistry*. 42: 1229-1235. doi: 10.1016/j.soilbio.2010.04.014.
- Matsuda, R., Handayani, M.L., Sasaki, H., Takechi, K., Takano, H. and Takio, S. 2018. Production of indoleacetic acid by strains of the epiphytic bacteria *Neptunomonas* spp. isolated from the red alga *Pyropia yezoensis* and the seagrass *Zostera marina*. *Archives of Microbiology*. 200(2): 255-265.

- Mckeen, C.D., Reilly, C.C. and Pusey, P.L. 1986. Production and partial characterization of antifungal substances antagonistic to *Monilinia fructicola* from *Bacillus subtilis*. Ecology and Epidemiology. 76: 136-139.
- Mhatre, E., Troszok, A., Monterrosa, R.G., Lindsteadt, S., Holscher, T., Kuipers, O.P. and Kovacs Á.T. 2016. The impact of manganese on biofilm development of *Bacillus subtilis*. Microbiology. 162: 1468-1478.
- Mikiashvili, N., Elisashvili, V., Wasser, S. and Nevo, E. 2005. Carbon and nitrogen sources influence the ligninolytic enzyme activity of *Trametes versicolor*. Biotechnology Letter. 27: 955–959.
- Mitchell, A.F. and Walters, D.R. 2004. Potassium phosphate induces systemic protection in barley to powdery mildew infection. Pest Management Science. 60: 126-134.
- Monteiro, S.M.S., Clemente, J.J., Carrondo, M.J.T. and Cunha, A.E. 2014. Enhanced spore production of *Bacillus subtilis* grown in a chemically defined medium. Advances in Microbiology. 4: 444-454.
- Morton, D.J. and Stroube, W.H. 1955. Antagonistic and stimulatory effects of soil microorganisms upon *Sclerotium rolfsii*. Phytopathology Journal. 45: 417-420.
- Nakaew, N., Rangjaroen, C. and Sungthong, R. 2015. Utilization of rhizospheric *Streptomyces* for biological control of *Rigidoporus* sp. causing white root disease in rubber tree. European Journal of Plant Pathology. 142: 93-105.
- Namsi, A., Montarone, M., Serra, P., Mahamoud, O.B., Takrouni, M.L., Zouba, A., Khoualdia, O., Bové, J.M. and Vila, N.D. 2007. Manganese and brittle leaf disease of date palm trees. Journal of Plant Pathology. 89(1): 125-136.
- Nandris, D., Nocole, M. and Geiger, J.P. 1987. Root rot disease of rubber tree. Plant Disease. The American Phytopathological Society. 71(4): 298-306.
- Pacumbaba, R.P., Brown, G.F. and Pacumbaba, R.O. 1997. Effect of fertilizers and rates of application on incidence of soybean diseases in northern Alabama. Plant Disease. 81: 1459-1460.

- Pengnoo, A., Kusonwiriya Wong, C., Niltatana, L. and Kanjanamaneesathian, M. 2000. Greenhouse and field trials of the bacterial antagonists in pellet formulations to suppress sheath blight of rice caused by *Rhizoctonia solani*. *BioControl Journal*. 45: 245-256.
- Pengnoo, A., Wiwattanapatapee, R., Chumthong, A. and Kanjanamaneesathian, M. 2006. Bacterial antagonist as seed treatment to control leaf blight disease of bambara groundnut (*Vigna subterranea*) World. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 22: 9-14.
- Priyanka, K., Umesh, M., Thazeem, B. and Preethi, K. 2021. Polyhydroxyalkanoate biosynthesis and characterization from optimized medium utilizing distillery effluent using *Bacillus endophyticus* MTCC 9021: a statistical approach. *Biocatalysis and Biotransformation*. 39(1): 16-28.
- Przedziecki, Z., Wojciechowska-Kot, H., Mikołajska, J. and Murawa, D. 1991. The effect of microelements on mycelium development, sporulation and fatty acid content in *Fusarium culmorum* and *Fusarium avenaceum*. *Acta Academiae Agriculturae ac Technicae Olstenensis*. 53: 229-237.
- Rabbee, M.F., Ali, M.S., Choi, J., Hwang, B.S., Jeong, S.C. and Baek, K. 2019. *Bacillus velezensis*: A valuable member of bioactive molecules with in plant microbiomes. *Molecules*. 24(6): 1046-1059.
- Reddy, C.S., Kim, S.C. and Kaul, T. 2017. Genetically modified phytase crops role in sustainable plant and animal nutrition and ecological development. *3 Biotech*. 7: 195. DOI 10.1007/s13205-017-0797-3.
- Reetha, S., Bhuvaneshwari, G., Thamizhiniyan, P. and Mycin, T.R. 2014. Isolation of indole acetic acid (IAA) producing rhizobacteria of *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* and enhance growth of onion (*Allium cepa*L.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 3(2): 568-574.

- Reuveni, M, Agapov, V. and Reuveni, F.L. 1996. Controlling powdery mildew caused by *Sphaerotheca fuliginea* in cucumber by foliar sprays of phosphate and potassium salts. *Crop Prot.* 15: 49-53.
- Roca, L.F., Romero, J., Bohorquez, J.M., Alcantara, E., Escobar, R.F. and Trapero, A. 2018. Nitrogen status affects growth, chlorophyll content and infection by *Fusicladium oleagineum* in olive. *Crop Protection.* 109(2018): 80-85.
- Rodesuchit, A. 1998. White *Rigidoporus linosus* (Klotzsch) Imaz. of the Rubber Tree and a Biological Control Approach. Master of science thesis in plant pathology Prince of Songkla University.
- Schaechter, M. 2006. From growth physiology to system biology. *International Microbiology* 9: 157–161.
- Shabbir, I., Samad, M.Y.A., Othman, R., Wong, M.Y., Sulaiman, Z., Jaafa, N.M. and Bukhar, S.A.H. 2021. Evaluation of bioformulation of *Enterobacter* sp. UPMSSB7 and mycorrhizae with silicon for white root rot disease suppression and growth promotion of rubber seedlings inoculated with *Rigidoporus microporus*. *Biological Control.* 152: 104467.
- Singh, G., Sharma, J.R. and Hoondal, G.S. 2008. Chitinase production by *Serratia marcescens* GG5. *Turkish Journal of Biology.* 32: 231-236.
- Singh, G., Kumari, A., Mittal, A., Yadav, A. and Aggarwal, N.K. 2013. Poly β -hydroxybutyrate production by *Bacillus subtilis* NG220 using sugar industry waste water. *BioMed Research Internationa.*
- Siskawardani, D.D., Onthong, J., Khawmee, K. and Poonpakdee, C. 2016. Manganese status in upland and lowland rubber-growing soils in Songkhla province, southern Thailand. *Agriculture and Natural Resources.* 50: 321-325.
- Skidmore, A.M. and Dickinson, C.H. 1976. Colony interaction and interference between *Septoria nodorum* and *phylloplane* fungi. *Transactions of the British Mycological Society.* 66: 57-64.

- Soden, D.M. and Dobson, A. 2001. Differential regulation of laccase gene expression in *Pleurotus sajor-caju*. *Microbiology*. 147(7): 1755-63.
- Souza, R., Ambrosini, A. and Passaglia, L.M.P. 2015. Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils *Genet. Journal of Molecular Biology*. 38: 401-419.
- Spann, T.M. and Schumann, A.W. 2009. The role of plant nutrients in disease development with emphasis on citrus and huanglongbing. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*. 122: 169-171.
- Stein, T. 2005. *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions. *Mol Microbiol*. 56(4): 845-857.
- Stockton, J.R. and Wyss, O. 1946. Proteinase production by *Bacillus subtilis*. *Indian Journal of Biotechnology*. 10: 70-74.
- Sumi, C.D, Yang, B.W, Yeo, I.C. and Hahm, Y.T. 2015. Antimicrobial peptides of the genus *Bacillus*: a new era for antibiotics. *Canadian Journal of Microbiology*. 61(2): 93-103.
- Taechapoempol, K., Sreethawong, T., Rangsunvigit, P., Namprohm, W., Thamprajamchit, B., Rengpipat, S. and Chavadej, S. 2011. Cellulase-producing bacteria from thai higher termites, *Microcerotermes* sp: Enzymatic activities and Ionic liquid tolerance. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 164: 204–219.
- Tahir, H.A.S., Gu, Q., Wu, H., Raza, W., Hanif, A., Wu, L., Colman, M.V. and Gao, X. 2017. Plant growth promotion by volatile organic compounds produced by *Bacillus subtilis* SYST2. *Front Microbiol* 8: 171.
- Tian, Y., Fan, Y., Liu, J., Zhao, X. and Chen, W. 2016. Effect of nitrogen, carbon sources and agitation speed on acetoin production of *Bacillus subtilis* SF4-3. *Electronic Journal of Biotechnology*. 19: 41-49.
- Tinoco, R., Acevedo, A. and Galindo, E. 2011. Increasing *Pleurotus ostreatus* laccase production by culture medium optimization and copper/lignin synergistic induction. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 38: 531–540.

- Tipsing, S., Panvilai, S., Prajanban, J. and Meidong, R. 2019. Efficiency of *Bacillus* spp. from ant-hill soils against *Pestalotiopsis* sp. causing fruit rot disease in guava. Veridian E-Journal Science and Technology Silpakorn University. 6(2): 2408-1248.
- Uyeda, M., Mizukami, M., Yokomizo, K. and Suzuki, K. 2001. Pentalenolactone i and hygromycin A, immunosuppressants produced by *Streptomyces filipinensis* and *Streptomyces hygroscopicus*. Bioscience Biotechnology and Biochemistry. 65(5): 1252-1254.
- Valle, J.S., Vandenberghe, L.P.S., Santana¹, T.T., Almeida, P.H., Pereira, A.M., Linde, G.A., Colauto, N.B. and Soccol, C.R. 2014. Optimum conditions for inducing laccase production in *Lentinus crinitus*. Genetics and Molecular Research. 13(4): 8544-8551.
- Veresoglou, S.D., Barto, E.K, Menexes, G. and Rillig, M.C. 2013 Fertilization affects severity of disease caused by fungal plant pathogens. The Plant Pathology Journal. 62: 961-969. doi:10.1111/ppa.12014.
- Vespermann, A., Kai, M. and Piechulla, B. 2007. Rhizobacterial volatiles affect the growth of fungi and arabidopsis thaliana. Applied and Environmental Microbiology. 73(17): 5639-5641.
- Wagi, S. and Ahmed, A. 2019. *Bacillus* spp. potent microfactories of bacterial IAA. PeerJ. : 12. DOI 10.7717/peerj.7258.
- Wang, M., Zheng, O., Shen, O. and Guo, S. 2013. The critical role of potassium in plant stress response. International Journal of Molecular Sciences. 14: 7370-7390. doi:10.3390/ijms14047370.
- Wang, X., Wang, J., Jin, P. and Wang, L. 2014. *Bacillus cereus* AR156-induced resistance to colletotrichum acutatum is associated with priming of defense responses in loquat fruit. PLOS ONE. 9(11): 112494.

- Walters, D.R. and Bingham, I.J. 2007. Influence of nutrition on disease development caused by fungal pathogens: implications for plant disease control. *Annals of Applied Biology*. 151: 307–324.
- Wattanasilakorn, S., Sdoodee, S., Nualsri, C. and Chuenchit, S. 2012. Screening of rubber (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) rootstocks for the white root disease resistance. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 8: 2385–2395.
- Wink, M. 2010. Introduction: biochemistry, physiology and ecological functions of secondary metabolites. *Biochemistry of Plant Secondary Metabolism*. 40: 1-19.
- Wiwattanapatapee, R., Pengnoo, A., Kanjanamaneesathian, M., Matchavanich, W., Nilratana, L. and Jantharangsi, A. 2004. Floating pellets containing bacterial antagonist for control sheath blight of rice: formulation, viability and bacterial release studies. *Journal of Controlled Release*. 95: 453–460.
- Yao, Y.A., Wang, J., Ma, X.M., Lutts, S., Sun, C., Ma, J., Yang, Y., Achal, V. and Xu, G. 2012. Proteomic analysis of Mn-induced resistance to powdery mildew in grapevine. *Journal of Experimental Botany*. 63(14): 5155-5170.
- Yenjit, P., Pengphol, S. and Intana, W. 2020. Efficacy of biological product of *Bacillus subtilis* NS-03 to control narrow brown spot of rice caused by *Cercospora oryzae*. *Thai Journal of Agricultural Science*. 51(1): 11-21.
- Yogaratnam, N. and Karunaratne, A.D.M. 1972. Fertilizer responses in *Hevea brasiliensis* seedlings grown in the field nursery. *Q. Jl. Rubb. Res. Inst. Ceylon*. 49: 28-36.
- Yogaratnam, N. and Mel, J.G.D., 1985. Effect of fertilizers on leaf composition of N P K in some hevea cultivars. *Rubber Research Institute of Sri Lanka*. 63:15-24.
- Yu, X., Li, Y., Zhang, C., Liu, H., Liu, J., Zheng, W., Kang, X., Leng, X., Zhao, K., Gu, Y., Zhang, X., Xiang, Q. and Chen, Q. 2014. Culturable heavy metal-resistant and plant growth promoting bacteria in V-Ti magnetite mine tailing soil from Panzhihua, China. *China*. *PLOS ONE*. 9(9): 106618.

- Zhang, D., Yu, S., Yang, Y., Zhang, J., Zhao, D., Pan, Y., Fan, S., Yang, Z. and Zhu, J. 2020. Antifungal effects of volatiles produced by *Bacillus subtilis* against *Alternaria solani* in potato. *Front Microbiol.* 11: 1196-2007.
- Zhang, S., Luo, H.G., Zhang, Q.D., Xu, Y.Y., Zou, C.H., Guo, M.L., He, S.M., Fang, X.W., Zhang, J.X. and Chen, Q.Z. 2008. Effects of nitrogen and potassium fertilizer applications on yield and occurrence of major diseases and insect pests of rice. *Journal of Huazhong Agricultural University.* 27: 732–735.
- Zhao, M., Yuan, J., Zhang, R., Dong, M., Deng, X., Zhu, C., Li, R. and Shen, Q. 2018. Microflora that harbor the NRPS gene are responsible for *Fusarium wilt* disease-suppressive soil. *Applied Soil Ecology.* 132: 83-90.
- Zhou M., Li, P., Wu, S., Zhao, P. and Gao, H. 2019. *Bacillus subtilis* CF-3 volatile organic compounds inhibit *Monilinia fructicola* growth in peach fruit. *Front. Microbiol.* 10: 1804-1804.
- Zou, C., Li, Z. and Yu, D. 2010. *Bacillus megaterium* strain XTBG34 promotes plant growth by producing 2-pentylfuran. *Journal of Microbiology.* 48: 460–466.
- Zou, C.S., HeMo, M., QiGu., Y., Zhou, J.P. and Zhang, K.Q. 2007. Possible contributions of volatile-producing bacteria to soil fungi stasis. *Soil Biology and Biochemistry.* 39(9): 2371-2379.

ภาคผนวก

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. สูตรอาหาร potato dextrose agar (PDA)

potato	200 กรัม
dextrose	20 กรัม
agar	17 กรัม
distilled water	1,000 มิลลิลิตร

2. สูตรอาหาร potato dextrose broth (PDB)

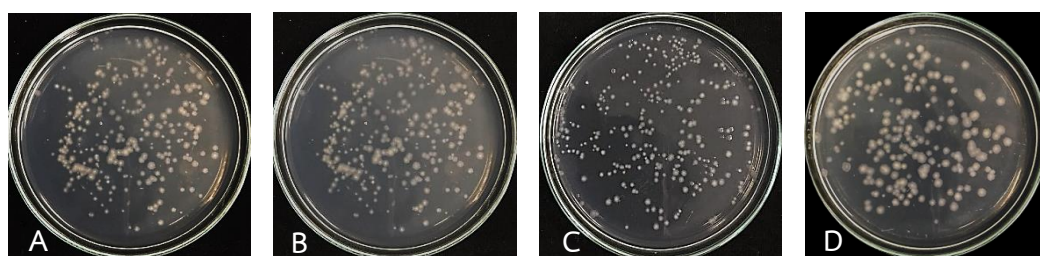
potato	200 กรัม
dextrose	20 กรัม
distilled water	1,000 มิลลิลิตร

3. สูตรอาหาร nutrient agar (NA)

peptone	5 กรัม
beef extra	3 กรัม
agar	17 กรัม
distilled water	1,000 มิลลิลิตร

ตารางภาคผนวกที่ 1 ปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ในสภาวะที่มีไนโตรเจนและแมงกานีส

Concentration (M)	Number of viable <i>B. subtilis</i> (CFU/mL)
control 0	7.03×10^{11}
N 0.421	7.36×10^{11}
N 0.842	7.43×10^{11}
N 1.263	7.30×10^{11}
N 1.684	7.43×10^{11}
Mn 0.014	7.26×10^{11}
Mn 0.028	7.36×10^{11}
Mn 0.042	7.30×10^{11}
Mn 0.056	7.30×10^{11}
N 0.421 + Mn 0.014	7.00×10^{11}
N 0.842 + Mn 0.028	7.06×10^{11}
N 1.263 + Mn 0.042	7.13×10^{11}
N 1.684 + Mn 0.056	7.03×10^{11}



ภาพภาคผนวกที่ 1 ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 บนอาหาร PDA ที่เพิ่มไนโตรเจนและแมงกานีส

- A) ชุดควบคุม 0 โมลาร์
- B) ไนโตรเจน 1.684 โมลาร์
- C) แมงกานีส 0.056 โมลาร์
- D) ไนโตรเจน 1.684 และแมงกานีส 0.056 โมลาร์

ตารางภาคผนวกที่ 2 ผลของไนโตรเจนต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6

Concentration (M)	Growth of <i>R. microporus</i> (cm)
N 0	7.00 ± 0.00d
N 0.421	3.15 ± 0.11c
N 0.842	1.32 ± 0.09b
N 1.263	1.28 ± 0.08ab
N 1.684	1.16 ± 0.04a
F-test	*
C.V. (%)	3.01

หมายเหตุ: แสดงเป็นค่าเฉลี่ยข้อมูล 4 ซ้ำ; ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ * = มีความแตกต่าง เมื่อทดสอบด้วยวิธี F-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางภาคผนวกที่ 3 ผลของแมงกานีสต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6

Concentration (M)	Growth of <i>R. microporus</i> (cm)
Mn 0	7.00 ± 0.00b
Mn 0.014	7.00 ± 0.00b
Mn 0.028	7.00 ± 0.00b
Mn 0.042	7.00 ± 0.00b
Mn 0.056	6.13 ± 0.13a
F-test	*
C.V. (%)	1.04

หมายเหตุ: แสดงเป็นค่าเฉลี่ยข้อมูล 4 ซ้ำ; ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ * = มีความแตกต่าง เมื่อทดสอบด้วยวิธี F-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางภาคผนวกที่ 4 ผลของไนโตรเจนและแมงกานีสต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6

Concentration (M)	Growth of <i>R. microporus</i> (cm)
N 0 + Mn 0	7.00 ± 0.00e
N 0.421 + Mn 0.014	3.25 ± 0.11d
N 0.842 + Mn 0.028	2.34 ± 0.10c
N 1.263 + Mn 0.042	1.74 ± 0.04b
N 1.684 + Mn 0.056	1.52 ± 0.05a
F-test	*
C.V. (%)	2.64

หมายเหตุ: แสดงเป็นค่าเฉลี่ยข้อมูล 4 ซ้ำ; ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ * = มีความแตกต่าง เมื่อทดสอบด้วยวิธี F-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางภาคผนวกที่ 5 ผลของไนโตรเจนร่วมกับแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ต่อการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 โดยวัดบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) ด้วยวิธี dual culture technique

Concentration (M)	Zone of inhibition (mm)
N 0	29.25 ± 0.08c
N 0.421	21.83 ± 0.09e
N 0.842	27.00 ± 0.08d
N 1.263	34.67 ± 0.04b
N 1.684	37.50 ± 0.06a
F-test	*
C.V. (%)	3.49

หมายเหตุ: แสดงเป็นค่าเฉลี่ยข้อมูล 4 ซ้ำ; ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ * = มีความแตกต่าง เมื่อทดสอบด้วยวิธี F-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางภาคผนวกที่ 6 ผลของแมงกานีสร่วมกับแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ต่อการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 โดยวัดบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) ด้วยวิธี dual culture technique

Concentration (M)	Zone of inhibition (mm)
Mn 0	29.25 ± 0.08a
Mn 0.014	14.75 ± 0.24c
Mn 0.028	16.50 ± 0.10b
Mn 0.042	16.75 ± 0.08b
Mn 0.056	16.88 ± 0.15b
F-test	*
C.V. (%)	4.93

หมายเหตุ: แสดงเป็นค่าเฉลี่ยข้อมูล 4 ซ้ำ; ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ * = มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อทดสอบด้วยวิธี F-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางภาคผนวกที่ 7 ผลของไนโตรเจนและแมงกานีสร่วมกับแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ต่อการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 โดยวัดบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) ด้วยวิธี dual culture technique

Concentration (M)	Zone of inhibition (mm)
N 0 + Mn 0	29.25 ± 0.08b
N 0.421 + Mn 0.014	21.75 ± 0.04c
N 0.842 + Mn 0.028	26.88 ± 0.11b
N 1.263 + Mn 0.042	35.63 ± 0.06a
N 1.684 + Mn 0.056	37.50 ± 0.09a
F-test	*
C.V. (%)	9.46

หมายเหตุ: แสดงเป็นค่าเฉลี่ยข้อมูล 4 ซ้ำ; ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ * = มีความแตกต่าง เมื่อทดสอบด้วยวิธี F-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางภาคผนวกที่ 8 ผลของไนโตรเจนร่วมกับเซลล์ของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ต่อการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ด้วยวิธี pour plate technique

Concentration (M)	Percentage of inhibition (%)
N 0	93.33 ± 1.57c
N 0.421	88.34 ± 0.96d
N 0.842	95.56 ± 1.57b
N 1.263	100.00 ± 0.00a
N 1.684	100.00 ± 0.00a
F-test	*
C.V. (%)	3.49

หมายเหตุ: แสดงเป็นค่าเฉลี่ยข้อมูล 4 ซ้ำ; ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ * = มีความแตกต่างทางสถิติที่ เมื่อทดสอบด้วยวิธี F-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางภาคผนวกที่ 9 ผลของแมงกานีสร่วมกับเซลล์ของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ต่อการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ด้วยวิธี pour plate technique

Concentration (M)	Percentage of inhibition (%)
Mn 0	93.33 ± 1.57a
Mn 0.014	82.22 ± 0.00b
Mn 0.028	80.83 ± 1.44b
Mn 0.042	80.73 ± 0.96b
Mn 0.056	80.78 ± 0.00b
F-test	*
C.V. (%)	4.93

หมายเหตุ: แสดงเป็นค่าเฉลี่ยข้อมูล 4 ซ้ำ; ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ * = มีความแตกต่าง เมื่อทดสอบด้วยวิธี F-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางภาคผนวกที่ 10 ผลของไนโตรเจนและแมงกานีสร่วมกับเซลล์ของ *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ต่อการยับยั้งของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ด้วยวิธี pour plate technique

Concentration (M)	Percentage of inhibition (%)
N 0 + Mn 0	93.33 ± 1.57a
N 0.421 + Mn 0.014	90.83 ± 1.24bc
N 0.842 + Mn 0.028	88.34 ± 1.84de
N 1.263 + Mn 0.042	89.34 ± 0.96de
N 1.684 + Mn 0.056	89.45 ± 0.92cd
F-test	*
C.V. (%)	16.45

หมายเหตุ: แสดงเป็นค่าเฉลี่ยข้อมูล 4 ซ้ำ; ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ * = มีความแตกต่าง เมื่อทดสอบด้วยวิธี F-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางภาคผนวกที่ 11 ผลของไนโตรเจนร่วมกับเซลล์แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ต่อการยับยั้งของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ด้วยวิธี volatile extracellular metabolite

Concentration (M)	Percentage of inhibition (%)
N 0	41.33 ± 1.89e
N 0.421	58.67 ± 1.89d
N 0.842	68.00 ± 0.00c
N 1.263	74.67 ± 1.89b
N 1.684	82.67 ± 1.89a
F-test	*
C.V. (%)	3.49

หมายเหตุ: แสดงเป็นค่าเฉลี่ยข้อมูล 4 ซ้ำ; ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ * = มีความแตกต่าง เมื่อทดสอบด้วยวิธี F-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางภาคผนวกที่ 12 ผลของแมงกานีสร่วมกับเซลล์ของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ต่อการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ด้วยวิธี volatile extracellular metabolite

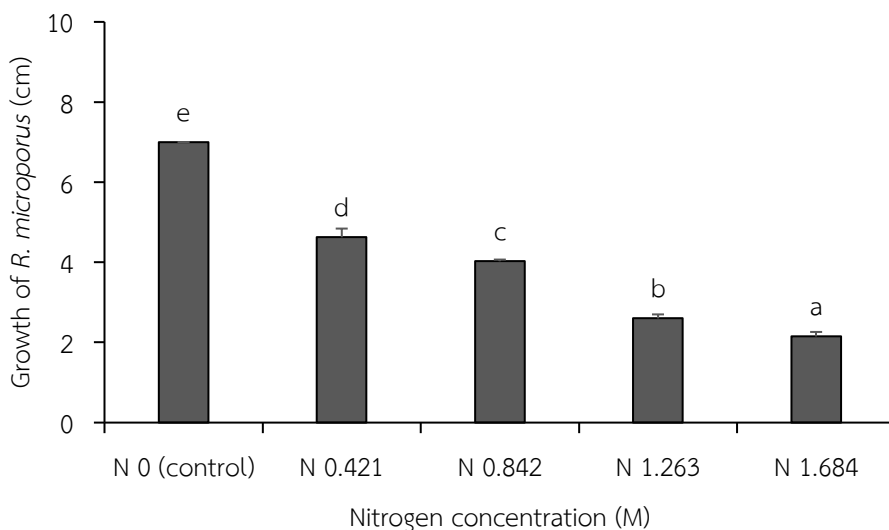
Concentration (M)	Percentage of inhibition (%)
Mn 0	41.33 ± 1.89a
Mn 0.014	18.67 ± 1.89b
Mn 0.028	20.00 ± 0.00b
Mn 0.042	20.00 ± 0.00b
Mn 0.056	21.33 ± 1.89b
F-test	*
C.V. (%)	4.93

หมายเหตุ: แสดงเป็นค่าเฉลี่ยข้อมูล 4 ซ้ำ; ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ * = มีความแตกต่าง เมื่อทดสอบด้วยวิธี F-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางภาคผนวกที่ 13 ผลของไนโตรเจนและแมงกานีสร่วมกับเซลล์ของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ต่อการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6 ด้วยวิธี volatile extracellular metabolite

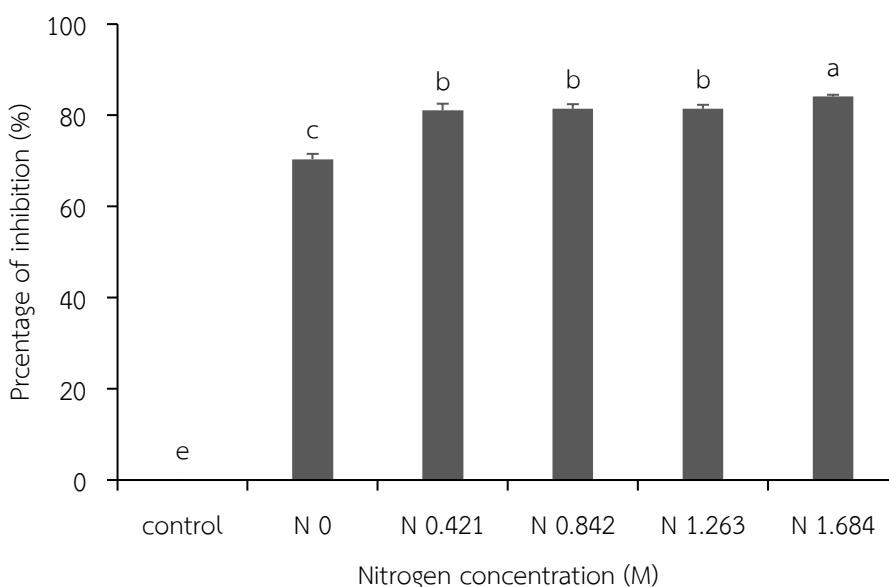
Concentration (M)	Percentage of inhibition (%)
N 0 + Mn 0	41.33 ± 1.89e
N 0.421 + Mn 0.014	54.67 ± 3.77d
N 0.842 + Mn 0.028	60.00 ± 0.00c
N 1.263 + Mn 0.042	62.67 ± 1.73c
N 1.684 + Mn 0.056	81.60 ± 1.89a
F-test	*
C.V. (%)	34.85

หมายเหตุ: แสดงเป็นค่าเฉลี่ยข้อมูล 4 ซ้ำ; ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ * = มีความแตกต่าง เมื่อทดสอบด้วยวิธี F-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพภาคผนวกที่ 2 ผลของไนโตรเจนในรูปของยูเรียต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6

หมายเหตุ: แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจำนวน 4 ซ้ำ; อักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อทดสอบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพภาคผนวกที่ 3 ผลของไนโตรเจนในรูปของยูเรียและแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SM1 ต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* สายพันธุ์ NK6

หมายเหตุ: แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจำนวน 4 ซ้ำ; อักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อทดสอบด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

