รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองสิ้นสุด ปี 2558

----

1. ชุดโครงการวิจัย : วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
2. โครงการวิจัย : วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตและเทคนิคการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยชีวภาพ ปุ๋ยหมัก ปุ๋ยอินทรีย์เคมีและจุลินทรีย์ย่อยสลายทางการเกษตร
   กิจกรรม : วิจัยพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยหมัก ปุ๋ยอินทรีย์เคมี
   กิจกรรมย่อย : พัฒนาวิธีการผลิตปุ๋ยหมักคุณภาพสูงโดยการเพิ่มเชื้อจุลินทรีย์
3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : การผลิตปุ๋ยหมักคุณภาพโดยการเพิ่มเชื้อจุลินทรีย์ดินที่เป็นประโยชน์
   ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Qualified compost production via the addition of effective microorganisms
4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง	: นางสุปรานี มั่นหมาย	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
ผู้ร่วมงาน	: นางภาวนา ลิกขนานนท์	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
	: นายอธิปัตย์ คลังบุญครอง	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

5. บทคัดย่อ

การศึกษาการผลิตปุ๋ยหมักคุณภาพโดยการเพิ่มเชื้อจุลินทรีย์ดินที่เป็นประโยชน์ ได้ทำการผลิตปุ๋ยหมักจากมูลโค และเปลือกไม้ ทำการผลิตที่จังหวัดราชบุรี ผลิตปุ๋ยหมักมูลโคปริมาณ 2 ตัน โดยใช้วิธีการกองแบบกองยาว ได้ปุ๋ยหมักที่เสร็จสมบูรณ์ ภายในระยะเวลา 4 เดือน ส่วน ปุ๋ยหมักเปลือกไม้ ได้จากกองปุ๋ยหมักแบบกองยาว โดยปุ๋ยหมักเสร็จสมบูรณ์ที่ระยะเวลา 15 เดือน คัดเลือกจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์จำนวน มากกว่า 500 ไอโซเลท โดยทำการคัดเลือกจุลินทรีย์จากแหล่งรวบรวมสายพันธุ์เชื้อ (culture collection) ได้จุลินทรีย์จำนวน 4 สายพันธุ์ คือ จุลินทรีย์เสริมสร้างความต้านทานเชื้อสาเหตุโรคพืช จุลินทรีย์สร้างสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชผลิต IAA จุลินทรีย์เปลี่ยนรูปธาตุอาหารพืช และจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต

ทดสอบประสิทธิภาพของปุ๋ยหมักมูลโค และปุ๋ยหมักเปลือกไม้ ที่มีการเพิ่มและไม่เพิ่มจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อการรอดชีวิตของกล้ามะเขือเทศโดยการเพาะราสาเหตุโรคพืช *Sclerotium rolfsii* ลงในดินเพาะกล้ามะเขือเทศ พบว่าการใช้ปุ๋ยหมักมูลโค และปุ๋ยหมักเปลือกไม้ ที่มีการเพิ่มจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ อัตรา 3 และ 2 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ทำให้กล้ามะเขือเทศมีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำปุ๋ยหมักที่มีการเพิ่มและไม่เพิ่มจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์มาทดสอบกับมะเขือเทศ พบว่าการใช้ปุ๋ยหมักที่มีการเพิ่มเชื้อจุลินทรีย์และไม่ได้เพิ่มเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้มะเขือเทศมีการเจริญเติบโตด้านความสูง ระยะเวลาการออกดอกของมะเขือเทศ มากกว่าการ

ใส่ปุ๋ยเคมี และการไม่ใส่ปุ๋ยเคมี และมีแนวโน้มว่าปุ๋ยหมักที่เพิ่มจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ทำให้มะเขือเทศมีความสูงและผลผลิต มากกว่าปุ๋ยหมักที่ไม่เพิ่มจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์

Abstract:

The production of qualified compost through the addition of beneficial microorganisms was the aim of the study. Raw materials used to produce compost were cow-dung and tree (eucalyptus) bark. Windrow composting was performed at Ratchaburi province. Cow-dung composting was completed in 4 months whereas tree bark composting was completed in 15 months. At the end of each composting phase, Four strains of beneficial microorganisms were inoculated into the compost piles. Then, the composts were used in the growing of tomato.

The effect of composts amended either with or without beneficial microorganisms on the survival of tomato seedlings when *Sclerotium rolfsii* was inoculated into the growing soil was studied. It was found that the seedlings with either 2-3 percent of composted cow-dung or tree bark inoculated with beneficial microorganisms could survive 100 percent in the presence of *Sclerotium rolfsii*. The performance of the composts amended with or without beneficial microorganisms on the growth of tomato was also studied. The result showed that the height of tomato plants with composts either from cow-dung or tree bark was higher than that without composts. Moreover, the date of blooming showed the same trend. With composts, the date of the flower emergence was faster when compared with that without composts. When considering the weight of tomato fruit per pot, that from the treatment with addition of composted cow-dung together with beneficial microorganisms was the most and significantly different from that with a chemical fertilizer.

6. คำนำ

กรมวิชาการเกษตรได้ผลิตผลิตภัณฑ์หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ เพื่อการจำหน่ายจ่ายแจกแก่เกษตรกรไว้ใช้ประโยชน์ในการทำปุ๋ยหมัก หัวเชื้อจุลินทรีย์ฯประกอบด้วย จุลินทรีย์ย่อยสลายเซลลูโลสเป็นส่วนใหญ่และเป็นจุลินทรีย์พวกที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง (mesophiles) โดยใช้ดินพีทเป็นวัสดุพา จุลินทรีย์ย่อยสลายเซลลูโลสเป็นจุลินทรีย์ประเภทแบคทีเรีย รา และแอคติโนมัยซิส จากการเก็บรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายเซลลูโลสตามกิจกรรมการสำรวจรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ดินที่ผ่านมา ได้จุลินทรีย์จำนวนหนึ่ง ที่มีประสิทธิภาพ และมีจุลินทรีย์ที่แสดงกิจกรรมการย่อยสลายเฮมิเซลลูโลส โปรตีนและไขมัน ประกอบกับการที่ไม่สามารถหาดินพีทที่มีคุณภาพมาใช้เป็นวัสดุพาเชื้อในขั้นตอนการผลิตได้ จึงทำให้มีความจำเป็นต้องพัฒนาการผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์เพื่อใช้ช่วยในขั้นตอนการทำปุ๋ยหมัก และเพื่อให้ได้หัวเชื้อจุลินทรีย์ฯที่เหมาะสมในการนำไปใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆ เช่นการผลิตปุ๋ยอินทรีย์น้ำ การย่อยสลายตอซังข้าว ฯลฯ

ในสภาพธรรมชาติจุลินทรีย์เป็นปัจจัยที่สำคัญที่ก่อให้เกิดกระบวนการย่อยสลาย ซึ่งมักจะเป็นเศษวัสดุพืชเป็นส่วนมาก กระบวนการเป็นปุ๋ยหมัก (composting) เป็นกระบวนการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ของวัสดุอินทรีย์ในรูปที่เป็นของแข็ง ซึ่งเกี่ยวข้องกับการย่อยสลายในสภาพใช้อากาศและต้องผ่านระยะที่อุณหภูมิขึ้นสูง (Finstein and Morris, 1975) มีการศึกษาจำนวนมากที่ชี้ให้เห็นว่าจุลินทรีย์ที่เฉพาะเจาะจงที่มีอยู่ในกองปุ๋ยหมักมีผลต่อการพัฒนาคุณภาพของปุ๋ยหมักหรือมีผลเร่งอัตราการย่อยสลายเป็นปุ๋ยหมัก (Nakasaki and Uehara, 1996; Requena et al., 1996; Kuo-Shu et al., 1998; Badr El-Din et al., 2000) จุลินทรีย์ย่อยสลายเซลลูโลสซึ่งเป็นสารประกอบที่มีมากในพืชได้ โดยผ่านกระบวนการทางเอนไซม์เซลลูเลสที่จุลินทรีย์ปลดปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ ส่วนการย่อยสลายโปรตีนและสารประกอบคาร์โบไฮเดรตอื่นเกิดจากกิจกรรมของเชื้อแบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิสูง ซึ่งส่วนมากคือแบคทีเรียในจีนัส *Bacillus* spp. (Strom, 1985) เชื้อราและแอคติโนมัยซิสมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายเซลลูโลส ลิกนิน และวัสดุที่ย่อยสลายยากอื่นๆ เชื้อแอคติโนมัยซิสสามารถย่อยสลายเซลลูโลสได้เพียงเล็กน้อยและย่อยสลายได้น้อยกว่า เชื้อรา แต่จะย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสและลิกนิน เชื้อรามีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสมากกว่า เชื้อแบคทีเรีย เชื้อแอคติโนมัยซิสที่มักพบจากกองปุ๋ยหมักอยู่ในจีนัส *Streptomyces* spp. และ *Thermoactinomyces* spp. ส่วนเชื้อราอยู่ในจีนัส *Aspergillus* spp. (Strom, 1985) ดังนั้นหากมีการศึกษาถึงแนวทางการลดปริมาณสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช การศึกษาถึงความหลากหลายและกิจกรรมของเชื้อจุลินทรีย์ในดินและหาแนวทางเพื่อเพิ่มจำนวนประชากรของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ รวมถึงการเร่งให้เกิดกระบวนการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ ก็อาจจะเป็นแนวทางที่ยั่งยืนในการจัดการดินทางชีวภาพเพื่อเพิ่มผลิตภาพของดิน

จากการรณรงค์และส่งเสริมให้เกษตรกรปรับปรุงบำรุงดินด้วยอินทรียวัตถุ เป็นเวลากว่า 15 ปีแล้ว ทำให้เกษตรกรรู้จักคุ้นเคยและหันมานิยมใช้ปุ๋ยอินทรีย์มากขึ้น ประกอบมีผู้ผลิตปุ๋ยอินทรีย์เพื่อการจำหน่ายพร้อมทั้งมีการโฆษณาโดยสื่อต่าง ๆ ทำให้ตลาดค้าปุ๋ยอินทรีย์เป็นที่รู้จักและขยายเพิ่มมากขึ้นจึงทำให้มีผู้สนใจผลิตปุ๋ยอินทรีย์เป็นการค้าเป็นจำนวนมาก เนื่องจากกระแสเกษตรอินทรีย์ที่กำลังเป็นที่นิยมขณะนี้ จากที่ได้แจ้งกับกรมวิชาการเกษตรในปี 2543 เป็นจำนวนนับ 100 ราย การผลิตมีหลายรูปแบบให้เลือกมีทั้งชนิดผง ชนิดน้ำ และชนิดเม็ด บ้างก็อยู่ในรูปของปุ๋ยเคมีผสมปุ๋ยอินทรีย์ ทำให้สะดวกในการซื้อ การขนย้าย การเก็บรักษาและการใช้ เพราะมีการบรรจุในภาชนะเช่น กระสอบ หรือภาชนะบรรจุพลาสติก พร้อมทั้งระบุสรรพคุณมากมาย ซึ่งอาจจะทำให้เกษตรกรหลงเชื่อหรือเข้าใจผิด เพราะราคาค่อนข้างแพงเมื่อเทียบกับสิ่งที่จะได้รับตอบแทน

ปัจจุบันมีการผลิตปุ๋ยอินทรีย์รูปแบบต่างๆทั้งชนิดผง ชนิดเม็ด และชนิดน้ำ กันอย่างแพร่หลาย โดยผลิตใช้เองและผลิตเพื่อการค้า กรมวิชาการเกษตรจึงได้ปรับปรุง พรบ.ปุ๋ยให้มีขอบข่ายควบคุมทั้งปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์ และปุ๋ยชีวภาพ ซึ่งได้ร่างเกณฑ์กำหนดต่างๆไว้ แต่มีปุ๋ยจำนวนไม่น้อยที่ไม่สามารถผลิตปุ๋ยให้มีคุณสมบัติตรงตามเกณฑ์ได้ ประกอบกับความเข้าใจผิดของผู้ใช้ที่ว่าปุ๋ยจะต้องเป็นเม็ดเท่านั้น ทำให้มีความพยายามที่จะทำปุ๋ยอินทรีย์เม็ดโดยไม่คำนึงถึงคุณภาพ ทำให้ปุ๋ยอินทรีย์เม็ดที่ผลิตได้ส่วนใหญ่ไม่ได้คุณภาพ ได้มีการศึกษาการผลิตปุ๋ยอินทรีย์เม็ดที่มาจากวัสดุอินทรีย์ที่ผ่านกระบวนการหมักและอบไอน้ำแล้ว พบว่าสามารถผลิตได้แต่ลักษณะของเม็ดเป็น

ท่อนสั้นๆ ไม่สวยงาม ไม่เป็นที่นิยมของเกษตรกร และไม่สามารถนำไปใช้ร่วมกับปุ๋ยเคมีในรูปของปุ๋ยผสมแบบไม่เป็นเนื้อเดียวกันได้ เนื่องจากมีรูปทรงต่างกัน ไม่เหมือนปุ๋ยที่ผลิตเป็นเม็ดกลม ดังนั้นจึงต้องหาวิธีปั้นเม็ดจากวัสดุที่มีการย่อยสลายโดยสมบูรณ์และวัสดุที่มีสมบัติคล้ายดิน แต่มีปริมาณอินทรียวัตถุสูงมาเป็นส่วนผสมโดยตรง และมีสมบัติเป็นตัวดูดซับอนุภาคปุ๋ย และอุ้มน้ำได้ และไม่มีการย่อยสลายที่จะเป็นอุปสรรคต่อการเข้ากันได้ของวัตถุดิบ จึงได้เลือกใช้วัตถุดิบที่เป็นสารเสริมสภาพดังกล่าวร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ประเภทมูลสัตว์ วัสดุเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม หรือในสภาพปุ๋ยหมัก โดยได้เลือกปุ๋ยอินทรีย์ที่มีสัดส่วนธาตุอาหารสูงๆมาผสม ให้ได้ปุ๋ยอินทรีย์ประเภทคุณภาพสูง ตลอดจนการใช้ปุ๋ยเคมีเป็นตัวปรับสมดุลธาตุอาหาร เลือกใช้วัตถุดิบที่มีความเหมาะสมทั้งทางเคมีและกายภาพ เป็นทางเลือกให้เกษตรกรหรือผู้ประกอบการนำไปใช้ได้จริง อนึ่งการใช้ปุ๋ยอินทรีย์น้ำประเภทปุ๋ยน้ำหมัก Bio Extract และ Compost tea ที่เป็นผลจากการย่อยสลายจนได้สาร Metabolite (ฮอร์โมน วิตามิน สารปฏิชีวนะและอื่นๆ) ตลอดจนธาตุอาหารต่างๆที่สามารถนำไปใช้ในปรับสภาพดินและบำรุงการเจริญเติบโตของแก่พืชได้อย่างยั่งยืนและสามารถปรับแต่งธาตุอาหารให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสมกับชนิดดินและพืชได้ จึงได้ดำเนินการวิจัยโครงการผลิตปุ๋ยหมักที่มีคุณภาพสูงและได้มาตราฐานและปุ๋ยหมักที่มีจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์

7.วิธีดำเนินการ

1. คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ดินเสริมสร้างความต้านทานเชื้อโรคพืชในจีนัส *Bacillus spp.* เพื่อใช้เป็นปัจจัยในการผลิตปุ๋ยหมักคุณภาพ

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

- เครื่องแก้วต่าง ๆ
- อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ เช่น potato dextrose agar , Nutrient agar , YG agar, B-4 medium
- แอนติไบโอติก เช่น actidio, chloramphinical
- เชื้อราโรคพืชสายพันธุ์ต่าง ๆ

วิธีปฏิบัติการทดลอง

แบ่งการดำเนินงานออกเป็น 2 ขั้นตอนด้วยกันคือ

1) คัดเลือกจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์จากจุลินทรีย์ที่เก็บรวบรวมไว้ เป็นเชื้อแบคทีเรีย แกรม + ในสกุล *Bacillus* ได้แก่ *B. megatherium, B. polymyxa, B. subtilis* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ B-4 medium เก็บบ่มไว้ที่อุณหภูมิต่างๆในตู้บ่มเชื้อ จากนั้นทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อแบคทีเรียที่มีต่อเชื้อ *Phytophthora palmivora* ซึ่งก่อให้เกิดโรคโคนและรากเน่ากับพืชเศรษฐกิจ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ YG agar และทดสอบการสร้างสารส่งเสริมการเจริญเติบโตแก่พืช โดยการเพาะสารละลายเชื้อลงบนเมล็ดพืช/ส่วนของพืชทดสอบ บันทึกเปอร์เซนต์การงอกของเมล็ด การงอกของราก วัดความยาวราก และบันทึกระยะเวลาตั้งแต่เพาะเชื้อจนเมล็ดหรือรากงอก เก็บรักษาสายพันธุ์แบคทีเรียเพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

2) ผลิตปุ๋ยหมักโดยใส่หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายในการทำปุ๋ยหมักของกรมวิชาการเกษตรเป็นตัวเร่งการย่อยสลายกองปุ๋ยหมักจากวัตถุดิบที่คัดเลือกไว้ วิเคราะห์คุณภาพทางเคมี และชีวภาพของปุ๋ยหมักที่ผลิตได้

การบันทึกข้อมูล

1) อัตราการการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์
2) การเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อแต่ละชนิด
3) การสร้างสารส่งเสริมการเจริญเติบโตแก่พืช
4) ประสิทธิภาพการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์
5) เปอร์เซนต์การงอกของเมล็ด การงอกของราก วัดความยาวราก

- แผนการดำเนินงานวิจัย

1. คัดเลือกจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์

2. ผลิตปุ๋ยหมักจากเปลือกไม้ และมูลโค โดยใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายฯ แล้วนำจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ที่คัดเลือกไว้ใส่ในปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์ แล้วปลูกพืชโดยใส่ปุ๋ยหมักที่เตรียมไว้

- แผนการทดลอง CRD 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ

- วิธีการ	1. ปุ๋ยเคมี	2. ปุ๋ยหมักมูลโค+ เชื้อ
	3. ปุ๋ยหมักมูลวัว	4. ปุ๋ยหมักเปลือกไม้+ เชื้อ
	5.ปุ๋ยหมักเปลือกไม้	6. ไม่ใส่ปุ๋ย

2. คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ดินกลุ่ม *Fluorescence pseudomonads* เพื่อใช้เป็นปัจจัยในการผลิตปุ๋ยหมักคุณภาพ

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

- เครื่องแก้วต่าง ๆ
- อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ เช่น potato dextrose agar , Nutrient agar , YG agar
- แอนติไบโอติก เช่น actidio, chloramphinical
- เมล็ดพืช

วิธีปฏิบัติการทดลอง

คัดเลือกจุลินทรีย์ดินที่เป็นประโยชน์จากจุลินทรีย์ที่เก็บรวบรวมไว้ เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบกลุ่ม fluorescent pseudomonads เช่น *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ King’s B medium และ P-1 medium ทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อแบคทีเรียที่มีต่อเชื้อรา *Phytophthora palmivora* ซึ่งก่อให้เกิดโรคโคนและรากเน่ากับพืชเศรษฐกิจ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ YG agar โดยวิธี co-inoculation และทดสอบการสร้างสารส่งเสริมการเจริญเติบโตแก่พืช โดยการเพาะสารละลายเชื้อลงบนเมล็ดพืช/ส่วนของพืชทดสอบ บันทึกเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด การงอกของราก วัดความยาวราก บันทึกระยะเวลาตั้งแต่เพาะเชื้อจนเมล็ดหรือรากงอก เก็บรักษาสายพันธุ์แบคทีเรียไว้เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

การบันทึกข้อมูล

1) อัตราการการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์
2) การสร้างสารส่งเสริมการเจริญเติบโตแก่พืช
3) ปริมาณเอมไซม์ที่เชื้อผลิตได้
4) อัตราการเกิดโรค
5) ประสิทธิภาพการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์
6) เปอร์เซนต์การงอกของเมล็ด การงอกของราก วัดความยาวราก

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1.การผลิตปุ๋ยหมัก ดำเนินการโดย (ก) เลือกวัสดุอินทรีย์ที่ใช้เป็นวัตถุดิบ โดยพิจารณาที่ปริมาณธาตุอาหาร (ไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียม) และความสะดวกในการจัดหา (ข) ใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายในการทำปุ๋ยหมักของกรมวิชาการเกษตรเป็นตัวเร่งกระบวนการย่อยสลายกองปุ๋ยหมักจากวัตถุดิบที่คัดเลือกไว้ (ค) ควบคุมดูแลการย่อยสลายที่เกิดขึ้นในกองปุ๋ยหมักเพื่อให้เกิดการย่อยสลายที่สมบูรณ์ (ง) วิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมี และชีวภาพของปุ๋ยหมักที่ผลิตได้

2. การเพาะเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์เพิ่มให้ปุ๋ยหมักที่ผลิตได้ โดยขั้นตอนการดำเนินงาน (ก) คัดเลือกจุลินทรีย์ที่เหมาะสมกับการทดลอง โดยการคัดเลือกจากสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่เก็บรวบรวมไว้จากโครงการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตร (ข) ศึกษาวิธีการที่จะทำให้ได้ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ต่อกรัมของปุ๋ยหมักสูงเพียงพอ (ค) ศึกษาวิธีการทำให้เชื้อจุลินทรีย์ที่เพาะเพิ่มลงในปุ๋ยหมักมีชีวิตรอดได้นานเพียงพอที่จะนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์ได้ จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ที่ทดลองใช้เพาะเพิ่มเป็นสายพันธุ์ที่อยู่ในสกุล Bacillus (B. megatherium, B. polymyxaและ/B. subtilis) เชื้อแบคทีเรียกลุ่ม fluorescent pseudomonads (Pseudomonas fluorescens และ/ P. putida) และเชื้อราในสกุล Penicilliumและ/ Trichoderma

ขั้นตอนการทดสอบประสิทธิภาพปุ๋ยหมักที่ผลิตได้

1. ศึกษาปุ๋ยหมักที่ผลิตในด้าน (ก) ความสามารถในการป้องกันและต้านทานเชื้อโรคพืชที่ก่อให้เกิดโรครากเน่า ประเมินระดับความรุนแรงของโรคตรวจนับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิต (ข) ความสามารถในการเสริมสร้างการเจริญเติบโต โดยทดสอบการงอกของเมล็ด การพัฒนาของราก บันทึกข้อมูลต่างๆ น้ำหนัก ความยาวราก ตรวจนับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิต (ค) ปริมาณของปุ๋ยหมักที่ใช้

2. ศึกษาวิธีและอัตราการใช้ปุ๋ยหมักที่ผลิต โดยนำปุ๋ยหมักที่พบว่ามีประสิทธิภาพตามที่กำหนดมาเพาะลงดินชุดต่างๆ โดยทดลองกับดินที่มีเนื้อดินต่างๆ (ดินทราย ดินร่วน และดินเหนียว) ตรวจสอบกิจกรรมของจุลินทรีย์เมื่ออยู่ในดิน รวมทั้งการมีชีวิตรอดของจุลินทรีย์ในดิน

3. ศึกษาประสิทธิภาพต่อการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ ในการทดลองนี้ใช้มะเขือเทศเป็นพืชทดสอบ การทดสอบประสิทธิภาพของปุ๋ยหมักต่อการเสริมสร้างความแข็งแรงให้แก่พืชทดลองปลูกมะเขือเทศ โดยใส่ปุ๋ยหมักที่ผลิตลงดินชุดดินสตึก วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 12 กรรมวิธี ทำ 4 ซ้ำ ดังนี้ กรรมวิธีที่ 1-6 ปุ๋ยหมักไม่คลุกเชื้อ 1%, 2%, 3%, 5%, 7% และ 10% ตามลำดับ กรรมวิธีที่ 7-12 ปุ๋ยหมักมูลโคแบบเพิ่มเชื้อจุลินทรีย์ 1%, 3%, 5%, 7% และ 10% กรรมวิธีที่ 13-17 ปุ๋ยหมักเปลือกไม้แบบเพิ่มเชื้อจุลินทรีย์ 1%, 3%, 5%, 7% และ 10% ตามลำดับ ทุกกรรมวิธีให้เพาะสปอร์ (sclerotium) ของเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ที่ก่อให้เกิดโรคโคนรากเน่ากับมะเขือเทศ วิธีการเตรียมเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ให้ทำการต่อเชื้อจากเม็ด sclerotia ที่เชื้อสร้างบนอาหารเลี้ยงเชื้อ YG agar medium บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องจนได้เม็ด sclerotia จำนวนมากบนอาหาร จากนั้นเพาะเม็ด sclerotia จำนวน 10-20 เม็ดลงในหัวอาหารข้าวฟ่างผสมรำหยาบ บ่มเชื้อไว้จนเม็ด sclerotia ขึ้นบนหัวอาหาร เก็บไว้เป็นเชื้อตั้งต้น (starter) ต่อไป เวลานำไปใช้ ให้ต่อเชื้อจาก starter ลงถุงพลาสติกบรรจุข้าวฟ่างและรำข้าว โดยใส่เม็ด sclerotia จำนวน 1-2 กรัมลงในถุงข้าวฟ่าง 100 กรัม ขยำให้เข้ากัน ใช้เพาะลงดินปลูกมะเขือเทศที่เตรียมไว้ ทำการตรวจประเมินความรุนแรงของโรคบนมะเขือเทศหลังจากเพาะเชื้อราโรคพืช

ประมวลผลจากการทดลองผลิตปุ๋ยหมักโดยการเพิ่มเชื้อจุลินทรีย์ ประสิทธิภาพในการควบคุมและป้องกันโรคพืช รวมทั้งการเสริมสร้างการเจริญเติบโต การงอกของรากปริมาณของปุ๋ยหมักที่ใช้แล้วมีประสิทธิภาพ เพื่อใช้เป็นหลักเกณฑ์ในการผลิตปุ๋ยหมักคุณภาพ ขั้นตอนการทดลองผลิตปุ๋ยหมักคุณภาพสูงในปริมาณมาก ศึกษาการผลิตปุ๋ยหมักคุณภาพแบบ mass production โดยพิจารณาถึงต้นทุนที่ต้องใช้ในการผลิต การลดต้นทุนในการผลิต การควบคุมคุณภาพ

การบันทึกข้อมูล

- ข้อมูลสมบัติทางกายภาพ เคมี และชีวภาพของปุ๋ยหมัก
- ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อกรัมของปุ๋ยหมักคุณภาพ
- การเจริญเติบโตของพืชทดสอบที่มีการใช้ปุ๋ยหมักคุณภาพ
- ความรุนแรงของโรคที่เกิดกับพืช หลังใช้ปุ๋ยหมักคุณภาพ
- น้ำหนัก ความยาวราก ของพืชทดสอบ

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

คัดเลือกจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์จากจุลินทรีย์ที่เก็บรวบรวมไว้ เป็นเชื้อแบคทีเรีย แกรมบวกสกุล *Bacillus* ได้แก่ *B. megatherium, B. polymyxa, B. subtilis* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ B-4 medium ได้จุลินทรีย์จำนวน 1 สายพันธุ์ คือ RPS 0034B เป็นจุลินทรีย์เสริมสร้างความต้านทานเชื้อโรคพืชในจีนัส *Bacillus* spp. คัดเลือกจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ โดยคัดเลือกจุลินทรีย์จากแหล่งรวบรวมสายพันธุ์จุลินทรีย์ของงานวิจัยจุลินทรีย์

ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์และละลายฟอสเฟต ได้จุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสร้างสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ผลิต IAA คัดเลือกจุลินทรีย์ดินที่เป็นประโยชน์จากจุลินทรีย์ที่เก็บรวบรวมไว้ เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ กลุ่ม fluorescent pseudomonads เช่น Pseudomonas fluorescens, P. putida บนอาหารเลี้ยงเชื้อ King's B medium และ P-1 medium จำนวน 1 สายพันธุ์ คือ RPS 0081B และ จุลินทรีย์เปลี่ยนรูปธาตุอาหารพืช DC 1102B จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต RPS 003F

การผลิตปุ๋ยหมักสำหรับใช้ในการทดลอง เป็นปุ๋ยหมักจากมูลโคนม และปุ๋ยหมักเปลือกไม้ยูคาลิปตัส ผลิตปุ๋ยหมักมูลโคปริมาณ 2 ตัน โดยใช้วิธีการกองแบบกองยาว (Windrow composting) ได้ปุ๋ยหมักที่เสร็จสมบูรณ์ภายในระยะเวลา 4 เดือน ส่วน ปุ๋ยหมักเปลือกไม้ ได้จากกองปุ๋ยหมักแบบกองยาว โดยปุ๋ยหมักเสร็จสมบูรณ์ที่ระยะเวลา 15 เดือน โดยมีค่าวิเคราะห์ทางกายภาพและเคมี (ตารางที่ 1) หลังจากนั้นการเพิ่มจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ลงในปุ๋ยหมัก

ตารางที่ 1 ค่าวิเคราะห์ทางกายภาพและเคมีของวัสดุที่ใช้ในการทดลอง

ตัวอย่าง	ความชื้น (%)	pH (1:5)	EC (dS/m)	OC (%)	OM (%)	T-N (%)	T- P_2O_5 (%)	T- K_2O (%)	GI (%)
ปุ๋ยหมักเปลือกไม้	56.2	7.39	1.23	25.97	44.77	0.88	0.43	1.01	138.45
ปุ๋ยหมักมูลโค	6.5	7.25	2.29	18.68	32	0.92	1.21	1.922	89.55
						T-N (%)	Avai. P (mg/kg)	Exc.- K (mg/kg)	
ชุดดินสตึก	-	5.9	0.038	-	0.95	-	29.2	128	-

ประสิทธิภาพของปุ๋ยหมักมูลโคและปุ๋ยหมักเปลือกไม้ที่เพิ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ที่ 4 สายพันธุ์ ต่อการเสริมสร้างความแข็งแรงให้แก่พืช หลังการเพาะเชื้อราโรคพืช *Sclerotium rolfsii* ลงกล้ามะเขือเทศ จำนวนกล้ามะเขือเทศที่รอดชีวิตแสดงในตารางที่ 2 ไม่มีกล้ามะเขือเทศรอดชีวิตในกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยหมักมูลโคอัตรา 1 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใส่ปุ๋ยหมักมูลโค 5 7 และ 10เปอร์เซ็นต์ กล้ามะเขือเทศมีอัตราการรอดชีวิตที่ 25 36.7 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนปุ๋ยหมักเปลือกไม้ เมื่อใส่ที่อัตรา 1 เปอร์เซ็นต์ กลเมะเขือเทศตายหมด เมื่อใส่ปุ๋ยเปลือกไม้อัตรา 2 3 5 7 และ 10 เปอร์เซ็นต์ กล้ามะเขือเทศมีอัตราการรอดชีวิตที่ 8.5 10.5 35 46.7 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อใส่ปุ๋ยหมักมูลโคเพิ่มเชื้อจุลินทรีย์และปุ๋ยหมักเปลือกไม้ที่เพิ่มเชื้อจุลินทรีย์ ยิ่ง

ทำให้กล้ามะเขือเทศรอดชีวิตได้มากขึ้น โดยปุ๋ยหมักมูลโคเพิ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่อัตรา 3 เปอร์เซ็นต์ทำให้กล้ามะเขือเทศรอดชีวิตถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนปุ๋ยหมักเปลือกไม้เพิ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่อัตรา 2 เปอร์เซ็นต์ทำให้กล้ามะเขือเทศรอดชีวิตถึง 100 เปอร์เซ็นต์

รูปที่ 1 กล้ามะเขือเทศใน 1-10% ปุ๋ยหมักเปลือกไม้เพิ่มเชื้อจุลินทรีย์

ตารางที่ 2 ความต้านทานต่อโรคของมะเขือเทศที่ใส่ปุ๋ยหมักหลังเพาะเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* 7 วัน

ปริมาณของปุ๋ยหมักที่ใช้ (%)	ความต้านทานต่อโรคของมะเขือเทศที่ใส่ปุ๋ยหมัก (จำนวนต้นกล้าที่ไม่ตายคิดเป็นเปอร์เซ็นต์)			
	ใส่ปุ๋ยหมักมูลโค	ใส่ปุ๋ยหมักเปลือกไม้	ใส่ปุ๋ยหมักมูลโคเพิ่มจุลินทรีย์	ใส่ปุ๋ยหมักเปลือกไม้เพิ่มจุลินทรีย์
1	0%	0%	66.7%	75.7%
2	0%	8.5%	75%	100%
3	0%	10.5%	100%	100%
5	25%	35%	100%	100%
7	36.7%	46.7%	100%	100%
10	50%	75%	100%	100%

จากนั้นนำผลการรอดชีวิตของกล้ามะเขือเทศมาใช้กำหนดอัตราปุ๋ยหมักที่มีการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในการปลูกมะเขือเทศโดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ 1. ปุ๋ยเคมี 2. ปุ๋ยหมักมูลโค + จุลินทรีย์ 3. ปุ๋ยหมักมูลโค 4. ปุ๋ยหมักเปลือกไม้ + จุลินทรีย์5. ปุ๋ยหมักเปลือกไม้6. ไม่ใส่ปุ๋ย โดยกำหนดอัตราการใส่ปุ๋ยหมักมูลโค และปุ๋ยหมักเปลือกไม้ที่อัตรา 2 เปอร์เซ็นต์ โดยปลูกในดินชุดสตึกซึ่งมีผลวิเคราะห์ดินดังนี้ ความเป็นกรด-ด่าง 5.9 ปริมาณอินทรียวัตถุ 0.95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 85 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณจุลินทรีย์ในปุ๋ยหมักมูลโค หลังบ่มปุ๋ยหมัก 1 เดือน พบจุลินทรีย์สายพันธุ์ RPS 0034B เท่ากับ 2.3×10^6 cfu/g DC1102 B เท่ากับ

4.3 x 10^6 cfu/g RPS 0081 B เท่ากับ 1.1 x 10^7 cfu/g และ RPS 003 F เท่ากับ 9.8 x 10^5 cfu/g ปริมาณจุลินทรีย์ในปุ๋ยหมักเปลือกไม้ หลังบ่มปุ๋ยหมัก 1 เดือน พบจุลินทรียายพันธุ์ RPS 0034B เท่ากับ 3.3 x 10^6 cfu/g DC1102 B เท่ากับ 8.0 x 10^6 cfu/g RPS 0081 B เท่ากับ 7.6 x 10^7 cfu/g และRPS 003 F เท่ากับ 3.3 x 10^6 cfu/g

กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยหมักทั้งสองชนิดที่มีการเพิ่มและไม่เพิ่มจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ ทำให้มะเขือเทศมีความสูงมากกว่าการใส่ปุ๋ยเคมี และการไม่ใส่ปุ๋ยในช่วงระยะเวลา 20 ถึง 45 วัน หลังจากนั้นที่ระยะเวลา 60 วัน หลังปลูก กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมี และกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ย ให้มะเขือเทศมีความสูงเทียบเท่ากับกรรมวิธีอื่น ๆ มีแนวโน้มว่าปุ๋ยหมักที่เพิ่มจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ทำให้มะเขือเทศมีความสูงมากกว่าปุ๋ยหมักที่ไม่เพิ่มจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ (ตารางที่ 3)

ผลเป็นไปในทำนองเดียวกันกับการออกดอกของมะเขือเทศ พบว่ากรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยหมักที่มีการเพิ่มและไม่เพิ่มจุลินทรีย์ ทำให้มะเขือเทศออกดอกที่ระยะเวลาหลังปลูก 35 วัน ส่วนกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมี และกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ย ให้มะเขือเทศออกดอกช้ากว่าที่ระยะเวลา 45 วันหลังปลูก ด้านผลผลิตมะเขือเทศพบว่าการใส่ปุ๋ยหมักมูลโคและปุ๋ยหมักเปลือกไม้ที่ไม่มีการเพิ่มเชื่อจุลินทรีย์ และที่มีการเพิ่มเชื่อจุลินทรีย์ทำให้ผลผลิตมะเขือเทศต่อกระถางสูงกว่าการไม่ใส่ปุ๋ยและการใส่ปุ๋ยเคมี (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 3 ความสูง มะเขือเทศเมื่อปลูกในกระถางที่ระยะเวลาต่าง ๆ

กรรมวิธี	ความสูง (เซนติเมตร)			
	20 วัน	30 วัน	45 วัน	60 วัน
1. ปุ๋ยเคมี	8.0	21.0	55.5	88.5
2. ปุ๋ยหมักมูลโค + จุลินทรีย์	23.0	55.0	87.3	89.5
3. ปุ๋ยหมักมูลโค	20.8	52.5	81.1	87.3
4. ปุ๋ยหมักเปลือกไม้ + จุลินทรีย์	23.5	54.8	83.1	92.5
5. ปุ๋ยหมักเปลือกไม้	24.3	56.3	86.6	87.3
6. ไม่ใส่ปุ๋ย	8.2	22.7	57.3	79.3

ตารางที่ 4 จำนวนดอก ผล และน้ำหนักผลมะเขือเทศเมื่อปลูกในกระถาง

กรรมวิธี	วันที่ออกดอก (หลังงอก)	จำนวนดอก	จำนวนผล	น้ำหนักต่อผล (กรัม)	น้ำหนักมะเขือเทศต่อกระถาง (กรัม)
1. ปุ๋ยเคมี	45	32	13	25.9	336.7b
2. ปุ๋ยหมักมูลโค+ จุลินทรีย์	35	30	20	25.5	510a
3. ปุ๋ยหมักมูลโค	35	22	13	32.2	418.6ab
4. ปุ๋ยหมักเปลือกไม้ + จุลินทรีย์	35	36	15	30.5	457.5ab
5. ปุ๋ยหมักเปลือกไม้	35	19	16	31.0	496ab
6. ไม่ใส่ปุ๋ย	45	24	15	23	345b
CV (%)			3.6	5.5	4.3

รูปที่ 3 มะเขือเทศที่ใช้ปุ๋ยหมักที่ระยะเวลา 70 วัน

9.สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

คัดเลือกจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ ได้จุลินทรีย์จำนวน 4 สายพันธุ์ คือ RPS 0034B เป็นจุลินทรีย์เสริมสร้างความต้านทานเชื้อโรคพืชในจีนัส Bacillus spp. RPS 0081B เป็นจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสร้างสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชผลิต IAA DC 1102B เป็นจุลินทรีย์เปลี่ยนรูปธาตุอาหารพืช RPS 003F เป็นจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต

ปุ๋ยหมักมูลโคและปุ๋ยหมักเปลือกไม้ เมื่อมีการเพิ่มเชื้อจุลินทรีย์ทำให้กล้ามะเขือเทศมีอัตราการรอดชีวิตที่อัตรา 3 และ 2 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ การใส่ปุ๋ยหมักมูลวัว และปุ๋ยหมักเปลือกไม้ ที่มีการเพิ่มและไม่เพิ่มจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ ทำให้มะเขือเทศมีความสูง การออกดอกของมะเขือเทศ มากกว่าการใส่ปุ๋ยเคมี และการไม่ใส่ปุ๋ย รวมทั้งมีแนวโน้มว่าปุ๋ยหมักที่เพิ่มจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ทำให้มะเขือเทศมีความสูงมากกว่าปุ๋ยหมักที่ไม่เพิ่มจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

สามารถนำวิธีการผลิตปุ๋ยหมักคุณภาพโดยเพิ่มจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ ซึ่งช่วยเพิ่มปริมาณธาตุอาหารให้แก่พืช และป้องกันกำจัดโรคพืชบางชนิดได้ สามารถนำไปถ่ายทอดให้แก่เกษตรกรและผู้ที่สนใจนำไปผลิตใช้ได้โดยเฉพาะระบบเกษตรอินทรีย์

11. เอกสารอ้างอิง

Mandels, M and J. Weber. 1969. Cellulase and their application. Advances in Chemistry Series. 95: p.391

Nelson, N. 1944. A photometric adaptation of the Soomogyi method for the determination of glucose. J. Biol. Chem. 153: 375-380