

พัฒนาเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยชีวภาพเพื่อประโยชน์ทางการเกษตร

Production Technology of Bio-fertilizer

สุปราณี มั่นหมาย¹ ภาวนา ลิกขานนท์¹ วิทยา ชนานุสนธิ์¹
ศิริลักษณ์ แก้วสุรลิขิต¹ ธูปหอม พิเนตรเสถียร¹ ฉัญจนา ลือตระกูล¹

บทคัดย่อ

การพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยชีวภาพเพื่อประโยชน์ทางการเกษตร เพื่อพัฒนาวิธีการผลิตปุ๋ยชีวภาพที่มีประสิทธิภาพสำหรับพืช ประกอบด้วย 2 การทดลอง ได้แก่

การทดลองที่ 1 ศึกษาวิธีการผลิตปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเม็ด โดยใช้ยิปซัมและดินเหนียวเป็นวัสดุเคลือบ ปั้นเป็นเม็ด เพื่อนำไปใช้กับการปลูกแบบหลุมปลูกหรือปลูกเป็นแถว และใช้ได้โดยไม่จำกัดระยะเวลา แล้วทดสอบประสิทธิภาพของปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมที่ผลิตได้กับถั่วเหลือง

การทดลองที่ 2 การศึกษาวิธีการผลิตปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตพร้อมใช้ โดยทดลองวิธีการผลิตเชื้อราละลายฟอสเฟตให้อยู่ในรูปแบบปุ๋ยชีวภาพ โดยศึกษาวิธีการเลี้ยงขยายปริมาณสปอร์ของเชื้อรา ศึกษาวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเชื้อรา ทดลองผลิตปุ๋ยชีวภาพแบบพร้อมใช้ และทดสอบประสิทธิภาพของปุ๋ยชีวภาพกับพืช

ผลการศึกษา พบว่า สามารถผลิตปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมให้อยู่ในรูปแบบที่นำไปใช้ได้ง่าย โดยมีปริมาณไรโซเบียมต่อเม็ดปุ๋ยชีวภาพไม่ต่ำกว่ามาตรฐานคือมีไม่น้อยกว่า 1×10^4 เซลล์/เม็ด และมีอายุเก็บรักษาไว้ได้นาน ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเม็ดที่ใช้ยิปซัมและดินเหนียวมีปริมาณไรโซเบียมมากกว่า 1×10^4 เซลล์ใน 1 เม็ด และเก็บไว้ได้นาน 1 ปี เมื่อเก็บไว้ในตู้เย็น ในขณะที่เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเม็ดยิปซัมจะเก็บไว้ได้นาน 8 เดือน ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเม็ดดินเหนียวจะเก็บไว้ได้นานเพียง 2 เดือน โดยปริมาณไรโซเบียมมากกว่า 1×10^4 เซลล์/เม็ด นอกจากนี้ การใช้ยิปซัมจะมีปริมาณไรโซเบียมต่อเม็ดมากกว่าการใช้ดินเหนียว ไม่ว่าเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องหรือเก็บในตู้เย็น เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเม็ดที่ผลิตได้ในสภาพกระถาง พบว่า การใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเม็ดยิปซัมให้น้ำหนักเมล็ดไม่แตกต่างทางสถิติจากปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมเหลวซึ่งให้น้ำหนักเมล็ดสูงที่สุด แต่แตกต่างทางสถิติจากการใช้ปุ๋ยในโตรเจน ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดผงและชนิดเม็ดดินเหนียว การทดลองในสภาพไร่ พบว่าปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมเม็ดยิปซัมให้ผลผลิตไม่แตกต่างจากปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมรูปแบบอื่น

¹ สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ส่วนการศึกษาวิธีการผลิตปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต ชนิดเชื้อรา *Penicillium pinophilum* พบว่าใช้วิธีการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง (Solid substrate cultivation) โดยใช้ขี้สตรองเป็นข้าวฟ่างและรำหยาบ ส่วนวัสดุที่เหมาะสม คือ ปุ๋ยหมักมูลโคบดละเอียดร่วมกับซีโอไลท์ ซึ่งทำให้เชื้อรามีชีวิตได้นาน มีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตสูง

คำนำ

ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับว่าไรโซเบียมมีบทบาทเกี่ยวข้องกับธาตุอาหารไนโตรเจนและสำคัญมากต่อการเพิ่มผลผลิตของพืชตระกูลถั่ว โดยเฉพาะพืชถั่วเศรษฐกิจที่สำคัญ เช่น ถั่วเหลือง ถั่วเขียว ถั่วลิสง เป็นต้น ทั้งนี้เพราะไรโซเบียมใช้ทดแทนปุ๋ยไนโตรเจน และด้วยเทคโนโลยีชีวภาพที่ทันสมัย สามารถผลิตไรโซเบียมที่เหมาะสมกับพืชถั่วชนิดต่าง ๆ หรือถั่วพันธุ์ต่าง ๆ เพิ่มมากขึ้น เกษตรกรนำไรโซเบียมไปใช้ในรูปแบบปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม โดยเลี้ยงขยายไรโซเบียมให้มีปริมาณไรโซเบียมสูง ในรูปแบบของเชื้อบริสุทธิ์ในอาหารเฉพาะ แล้วนำไปผสมกับวัสดุพา (Carrier) เพื่อให้ไรโซเบียมอาศัยและมีชีวิตอยู่รอดได้นาน (นันทกร, 2529) ทั้งนี้วัสดุพานำมาผสมกับไรโซเบียม จะต้องเป็นวัสดุที่มีคุณสมบัติที่ไม่เป็นอันตรายต่อไรโซเบียมทุกชนิด สามารถให้ไรโซเบียมอาศัยอยู่รอดได้นานและเพิ่มปริมาณได้ดี (Burton 1984; Somasegaran and Hoben, 1985) วัสดุพาที่สามารถนำมาใช้ผสมกับ ไรโซเบียมมีหลายชนิดได้แก่ ดินพีท ลิกไนท์ ผงถ่าน ปุ๋ยหมักที่ย่อยสลายดีแล้ว ดินเหนียว ถ่านหิน อะพาไทท์ เวอร์มิคิวไลต์ และ ผงเซลลูโลส เป็นต้น โดยคุณสมบัติของวัสดุแต่ละชนิดจะแตกต่างกันไปทั้งทางฟิสิกส์และเคมี วัสดุพาแต่ละชนิดทำให้ไรโซเบียมมีชีวิตอยู่รอดได้ยาวนานและมีปริมาณในวัสดุชนิดนั้น ๆ มากน้อยแตกต่างกัน วัสดุพาบางชนิดเมื่อนำไปใช้ผสมกับไรโซเบียมแล้วจะช่วยให้ไรโซเบียมมีชีวิตอยู่รอดได้เป็นระยะเวลานาน บางชนิดทำให้ไรโซเบียมมีชีวิตอยู่รอดในระยะเวลาคั้น เช่น ถ้าใช้ดินพีทไรโซเบียมสามารถเจริญเพิ่มปริมาณและมีชีวิตอยู่รอดได้นานกว่าผงถ่านหรือดินเหนียว เป็นต้น (Kandasamy and Prasad, 1971; Pugashetti, 1971; Khatri, 1973; Dube, 1973; Philpotts, 1976; Paczkowski and Berryhill, 1979; William and Mallorca, 1980; Hafeez, 1985) จากการศึกษาพบว่าดินพีทเป็นวัสดุพาที่ดีสำหรับการผลิตปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม (Somasegaran, 1991) แม้จะพบว่ามีแหล่งดินพีทมากมายในหลายๆประเทศ แต่มีแหล่งดินพีทที่มีคุณภาพเหมาะสมเป็นวัสดุพาในการผลิตปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมได้เพียงไม่กี่แห่งเท่านั้น เช่นในประเทศโคลัมเบีย มีแหล่งดินพีทมากมาย แต่จากการตรวจสอบพบว่ามีเพียง 1-2 แหล่งเท่านั้นที่สามารถนำไปใช้เป็นวัสดุพาสำหรับการผลิตปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมได้ เนื่องจากแหล่งดินพีทของประเทศไทยส่วนใหญ่อยู่ในเขตป่าสงวนและพื้นที่อนุรักษ์ จึงทำให้มีปัญหาและยากแก่การนำมาใช้เป็นวัสดุพา แม้ว่าสามารถนำวัสดุอื่น เช่น ปุ๋ยหมักมูลโคมาใช้แทนดินพีทได้ แต่มีปัญหาเรื่องความชื้นที่เมื่อผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมแล้ว คุณภาพต่ำกว่ามาตรฐาน เก็บไว้ไม่ได้นาน ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเหลวที่ผลิตก็มีข้อจำกัด จำเป็นต้องใช้สารเคมีและวิธีการผลิตที่ค่อนข้างยุ่งยากกว่า แต่มีข้อดีคือสามารถเก็บได้เป็นระยะเวลาถึง 1 ปี (วิทยาและวิเชียร, 2538)

ปัจจุบันการผลิตปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมภายในประเทศไทยส่วนมากจะผลิตใน 2 รูปแบบคือชนิดผงและชนิดเหลว ดังนั้นการทดลองผลิตปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมในรูปแบบเม็ด จึงเป็นอีกทางเลือกของการผลิตและการใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม โดยการนำวัสดุที่หาได้ง่ายในท้องตลาดหรือในพื้นที่ที่มีราคาถูก เช่น ปูนซีเมนต์ ซีเมนต์ขาว ยิปซัม เป็นต้น มาใช้

ส่วนจุลินทรีย์กับธาตุอาหารพืชฟอสฟอรัสนั้น พบว่าจุลินทรีย์ดินหลายชนิดสามารถละลายไอออนฟอสเฟตจากสารประกอบอินทรีย์ฟอสฟอรัส ทำให้ฟอสฟอรัสเป็นประโยชน์เพิ่มขึ้นซึ่งส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืช ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการผลิตทางการเกษตร ศึกษาเชื้อราที่มีประสิทธิภาพละลายฟอสเฟตที่ยึดตรึงอยู่ในดินชนิดต่างๆ ได้ และ ใช้เชื้อรานั้นเพื่อการผลิตพืช โดยในขั้นต้นทดลองผลิตเชื้อรานั้นให้อยู่ในรูปแบบของปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต ซึ่งเป็นรูปแบบที่สามารถใช้ประโยชน์ได้อย่างมีประสิทธิภาพกว้างขวางและสะดวก แต่ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตที่ผลิตยังมีข้อควรปรับปรุง เนื่องจากมีปริมาณเชื้อรามีน้อย และเมื่ออยู่ในถุงบรรจุเป็นผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตแล้ว บางครั้งเกิดกลิ่นไม่พึงประสงค์จากผลิตภัณฑ์ซึ่งเกิดจากสภาพไร้อากาศภายในถุงเมื่อเก็บทับซ้อนกัน จึงพัฒนาวิธีการผลิตปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตชนิดเชื้อรา เพื่อให้ได้ปุ๋ยชีวภาพคุณภาพให้เกษตรกรได้ใช้

วัตถุประสงค์

เพื่อเป็นแนวทางในการผลิตปุ๋ยชีวภาพ ทั้งปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม และปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต และเพื่อลดต้นทุนการผลิตของเกษตรกร ขณะเดียวกันยังเป็นการสนับสนุนการทำเกษตรอินทรีย์อย่างยั่งยืน

การทดลองที่ 1 การผลิตปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเม็ด

วิธีดำเนินงาน

อุปกรณ์

ไรโซเบียมที่ใช้สำหรับถั่วเหลืองสายพันธุ์ THA 7 และ สายพันธุ์ USDA 110 วัสดุสำหรับปั้นเม็ด เช่นปูนซีเมนต์ ซีเมนต์ขาว ปูนยิปซัม ดินเหนียว ปุ๋ยหมักมูลโค และหินฟอสเฟต แผ่นอะคริลิกขนาดหนา 0.5 เซนติเมตร สารเคมีที่ใช้เตรียมอาหารเลี้ยงไรโซเบียม เครื่องแก้ว เครื่องเขย่าเลี้ยงเชื้อ ตู้เย็นเชื้อ เครื่องชั่ง ตู้อบความร้อนสูง ชุดดินร่วนทรายและชุดดินร่วนเหนียว กระถางทดลอง ปุ๋ยยูเรีย ปุ๋ยทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต ปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์

วิธีการ

1. สภาพห้องปฏิบัติการ

ดำเนินการทดลอง ปี 2549-2550 โดยปฏิบัติการทดลองดังนี้

1.1 เลือกวัสดุเพื่อใช้ในการปั้นเม็ด โดยใช้ ปูนซีเมนต์ ปูนซีเมนต์ขาว ปูนยิปซัม ดินเหนียว ปุ๋ยหมัก และ หินฟอสเฟต

1.2 ผสมวัสดุปั้นเม็ดชนิดต่างๆที่เลือกไว้ กับ ปุ๋ยหมักและหินฟอสเฟต

1.3 ปั้นเม็ดโดยอัดส่วนผสมแต่ละชนิดลงในเบ้าแผ่นอะคริลิกที่มีขนาด 0.5x0.5x0.5 เซนติเมตร โดยการปาดและอัดลงในรูเบ้าให้แน่น นำไปผึ่งแดดให้แห้ง แล้วแกะออกจากเบ้า

1.4 ทดสอบความแข็งของเม็ดที่ผลิตจากวัสดุแต่ละชนิด โดยบีบกดด้วยนิ้วชี้และนิ้วหัวแม่มือต้องไม่แตกยุ่ยได้ง่าย

1.5 เลี้ยงขยายปริมาณไรโซเบียมสายพันธุ์ THA 7 และ USDA 110 ด้วยอาหารเหลว YMB เป็นระยะเวลา 5 วัน ตรวจสอบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์อื่น เมื่อไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อที่ไม่ต้องการแล้ว เทไรโซเบียมทั้ง 2 สายพันธุ์ผสมกัน แบ่งเป็นส่วนเท่ากันตามชนิดเม็ดวัสดุ เทไรโซเบียมที่ผสมแล้ว ให้ท่วมเม็ดวัสดุนั้นๆ ทิ้งให้เม็ดวัสดุดูดซับไรโซเบียมไว้นานประมาณ 3 นาที เทไรโซเบียมที่เหลือทิ้ง แล้วผึ่งเม็ดวัสดุที่ผลิตเป็น ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมแล้วในที่ร่ม เมื่อแห้งแบ่งเม็ดปุ๋ยชีวภาพแต่ละชนิดเป็น 2 ส่วน เก็บที่อุณหภูมิห้องและเก็บในตู้เย็น

1.6 สุ่มตัวอย่างตรวจนับจำนวนการมีชีวิตอยู่รอดของไรโซเบียม โดยการทำ Serial dilution และ Viable count ตามระยะเวลาทุกเดือนจนถึง 12 เดือน

2. สภาพเรือนทดลอง

ดำเนินการทดลองปี 2550 ที่เรือนทดลอง กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร วางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design มี 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ คือ

2.1 ปุ๋ยไนโตรเจน อัตรา 12 กิโลกรัม/ไร่

2.2 ใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดผง

2.3 ใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเหลว

2.4 ใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเม็ดดินเหนียว

2.5 ใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเม็ดยิปซัม

ทุกกรรมวิธีใส่ปุ๋ยอัตรา 0-9-6 N-P₂O₅-K₂O กิโลกรัม/ไร่ บรรจุดินกระถางละ 30 กิโลกรัม ใช้ดินทดสอบ 2 ชนิด คือ ดินร่วนทรายและดินร่วนเหนียว ใช้ถั่วเหลืองจำนวน 2 พันธุ์ คือ เชียงใหม่ 60 และ สจ. 5 โดย ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ปลูกในดินร่วนทราย และพันธุ์ สจ. 5 ปลูกในดินร่วนเหนียว

3. สภาพไร่

ดำเนินการทดลอง ปี 2551-2553 ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตร จังหวัดขอนแก่นวางแผนการทดลองแบบ Randomized complete block design มี 6 กรรมวิธี ทำ 4 ซ้ำ คือ

3.1 ไม่ใช้ไรโซเบียมและปุ๋ยไนโตรเจน

3.2 ใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเม็ดคิปปซัม

3.3 ใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเม็ดดินเหนียว

3.4 ใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดผง

3.5 ใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเหลว

3.6 ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 12 กิโลกรัมไนโตรเจน/ไร่

ทุกกรรมวิธีใส่ปุ๋ยอัตรา 0-9-6 $N-P_2O_5-K_2O$ กิโลกรัม/ไร่ ขนาดแปลงย่อย 3x5 เมตร พื้นที่เก็บเกี่ยว 2x4 เมตร ชุดดินร่วนทราย ใช้ถั่วเหลืองทดสอบ 3 พันธุ์คือ เชียงใหม่ 60 สจ. 5 และเชียงใหม่ 5

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สภาพห้องปฏิบัติการ

จากการทดลองพบว่า การใช้ปูนซีเมนต์และปูนซีเมนต์ขาวร่วมกับการใช้ปุ๋ยหมักและหินฟอสเฟตผลิตเป็นเม็ด เมื่อเก็บที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็น ทำให้ไรโซเบียมไม่มีชีวิตอยู่รอดได้ในเม็ดวัสดุที่ผลิต ในทุกๆระยะเวลาที่เก็บรักษา สาเหตุเป็นเพราะ วัสดุบดเม็ดทั้งปูนซีเมนต์และปูนซีเมนต์ขาว มีค่าความเป็นด่างสูง โดยมีค่าความเป็นกรด-ด่างสูงกว่า 10 ซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมสำหรับไรโซเบียมอยู่ที่ช่วงประมาณ 6-7.5 (Somasegaran and Hoben, 1985) สำหรับวัสดุบดเม็ดอีก 2 ชนิดคือ ปูนยิปซัมและดินเหนียว เมื่อผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมแล้วพบว่าวัสดุปูนยิปซัมและวัสดุดินเหนียวมีค่าความเป็น กรด-ด่างประมาณ 7-7.5 และ 6-6.5 ตามลำดับ ซึ่งเป็นช่วงความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมกับการอยู่รอดของ ไรโซเบียม ตารางที่ 1 แสดงปริมาณเซลล์มีชีวิตรอดของไรโซเบียมในปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเม็ด เมื่อเก็บในตู้เย็น ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเม็ดคิปปซัม และปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเม็ดดินเหนียวมีปริมาณ ไรโซเบียมอยู่รอดสูงโดยมีมากกว่า 1×10^4 เซลล์/เม็ด ที่ระยะเวลา 1 จนถึง 12 เดือน ซึ่งเป็นค่าที่ไม่น้อยกว่าค่ามาตรฐานที่ปริมาณไรโซเบียมต้องไม่น้อยกว่า 1×10^4 เซลล์ต่อเม็ด (Date and Roughley, 1977; Skipper et al., 1980) ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเม็ดคิปปซัมมีปริมาณไรโซเบียมโดยเฉลี่ยมากกว่าปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเม็ดดินเหนียว ในทุกๆระยะเวลาที่เก็บรักษา แต่เมื่อเก็บในอุณหภูมิห้อง พบว่าไรโซเบียมในปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเม็ดดินเหนียวมีชีวิตอยู่รอดได้ในปริมาณไม่น้อยกว่า 1×10^4 เซลล์/เม็ด ในระยะเวลาเก็บรักษาเพียง 2 เดือน หลังจากนั้นปริมาณลดต่ำลงมาก ในขณะที่ปริมาณของไรโซเบียมในปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเม็ดคิปปซัม อยู่รอดได้ไม่น้อยกว่า 1×10^4 เซลล์/เม็ด ในระยะเวลาเก็บรักษา 1-8 เดือน หลังจากนั้นปริมาณลดต่ำลงกว่า 1×10^4 เซลล์/เม็ด

2. สภาพเรือนทดลอง

ผลการใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดต่างๆ (ตารางที่ 2) คือ ชนิดเม็ดดินเหนียว ชนิดเม็ดคิปปซัม ชนิดผง ชนิดเหลว และการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 12 กิโลกรัมไนโตรเจน/ไร่ กับถั่วเหลืองเชียงใหม่ 60 ในดินร่วนทรายและถั่วเหลืองส.จ. 5 ในดินร่วนเหนียว พบว่า ถั่วเหลืองเชียงใหม่ 60 ปุ๋ยชีวภาพ ไรโซเบียมชนิดเหลวให้จำนวนฝักสูงสุด ไม่แตกต่างทางสถิติจากการใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเม็ดคิปปซัมแต่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญจากวิธีการอื่นๆ การใช้ปุ๋ยชีวภาพ ไรโซเบียมชนิดเม็ดคิปปซัมและปุ๋ยชีวภาพ

ไรโซเบียมชนิดเม็ดดินเหนียวให้จำนวนฝักไม่แตกต่างกันทางสถิติ และการใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเม็ดดินเหนียว ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดผง และการใช้ปุ๋ยในโตรเจนอัตรา 12 กิโลกรัมในโตรเจน/ไร่ ให้จำนวนฝักไม่แตกต่างกัน ส่วนน้ำหนักเมล็ดถั่วเหลืองต่อต้นเป็นไปในทำนองเดียวกับจำนวนฝักพบว่ากรรมวิธีใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเหลวให้น้ำหนักเมล็ดถั่วเหลืองสูงสุด รองลงมาคือการใช้ปุ๋ยชีวภาพชนิดเม็ดขี้ปัสสาวะ การใช้ปุ๋ยชีวภาพชนิดเม็ดดินเหนียว การใช้ปุ๋ยชีวภาพชนิดผงและการใช้ปุ๋ยในโตรเจน 12 กิโลกรัมในโตรเจน/ไร่ ซึ่งเท่ากับ 8.85 8.07 6.58 6.38 และ 5.89 กรัม/ต้น ตามลำดับ

สำหรับถั่วเหลืองส.จ.5 พบว่าการใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเม็ดขี้ปัสสาวะไม่แตกต่างกับการใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเหลวที่ให้ผลผลิตถั่วเหลืองสูงสุด โดยให้น้ำหนักเมล็ดถั่วเหลืองต่อต้นเท่ากับ 5.55 และ 7.24 กรัม ตามลำดับ แตกต่างทางสถิติจากกรรมวิธีอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง การใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมทุกชนิด ให้ผลผลิตสูงกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งจากการใช้ปุ๋ยในโตรเจน 12 กิโลกรัมในโตรเจน/ไร่ โดยการใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดผง การใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเม็ดดินเหนียวและการใช้ปุ๋ยในโตรเจน 12 กิโลกรัมในโตรเจน/ไร่ ให้ผลผลิตถั่วเหลืองเท่ากับ 5.19 4.34 และ 2.43 กรัม/ต้น ตามลำดับ

3. สภาพไร่

ผลการทดลองในปี 2551 กับถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในดินร่วนทราย ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรขอนแก่นแสดงในตารางที่ 3 การใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมทุกชนิดให้ผลผลิตถั่วเหลืองแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งจากการไม่ใช้ไรโซเบียมและไม่ใส่ปุ๋ยในโตรเจน การใช้ปุ๋ยชีวภาพชนิดผงให้ผลผลิตสูงสุด รองลงมาเป็นการใช้ปุ๋ยชีวภาพชนิดเหลว ปุ๋ยชีวภาพชนิดเม็ดขี้ปัสสาวะ ปุ๋ยในโตรเจน 12 กิโลกรัมในโตรเจน/ไร่ ปุ๋ยชีวภาพชนิดเม็ดดินเหนียว และการไม่ใช้ไรโซเบียมและไม่ใส่ปุ๋ยในโตรเจน ซึ่งให้น้ำหนักผลผลิตเท่ากับ 550 442 361 254 251 และ 90 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ

ผลการทดลองในปี 2552 กับถั่วเหลืองพันธุ์ ส.จ. 5 ในดินร่วนทราย (ตารางที่ 3) ซึ่งให้เห็นว่า การใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมทุกชนิดและการใช้ปุ๋ยในโตรเจน 12 กิโลกรัมในโตรเจน/ไร่ ให้ผลผลิตถั่วเหลืองพันธุ์ ส.จ.5 ไม่แตกต่างกัน แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากการไม่ใช้ไรโซเบียมและไม่ใส่ปุ๋ยในโตรเจน โดยการใช้ปุ๋ยชีวภาพชนิดเหลวมีแนวโน้มให้ผลผลิตสูงสุด รองลงมาเป็นการใช้ปุ๋ยชีวภาพชนิดเม็ดขี้ปัสสาวะ ปุ๋ยชีวภาพชนิดผง ปุ๋ยในโตรเจน 12 กิโลกรัมในโตรเจน/ไร่ ปุ๋ยชีวภาพชนิดเม็ดดินเหนียว และ การไม่ใช้ไรโซเบียมและไม่ใส่ปุ๋ยในโตรเจน ซึ่งให้ผลผลิตเท่ากับ 309 287 268 266 258 และ 128 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ

ผลการทดลองในปี 2553 กับถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 5 ในดินร่วนทราย (ตารางที่ 3) ซึ่งให้เห็นว่า การใช้ปุ๋ยชีวภาพชนิดเหลวและการใช้ปุ๋ยชีวภาพชนิดเม็ดขี้ปัสสาวะ ให้ผลผลิตถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 5 ไม่แตกต่างกัน แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติจากวิธีการอื่นๆ การใช้ปุ๋ยชีวภาพชนิดเม็ดขี้ปัสสาวะ การใช้ปุ๋ยชีวภาพชนิดผง การใช้ปุ๋ยชีวภาพชนิดเม็ดดินเหนียวและการใช้ปุ๋ยในโตรเจน 12 กิโลกรัมในโตรเจน/ไร่ ให้ผลผลิตถั่วเหลืองไม่แตกต่างกัน โดยการใช้ปุ๋ยชีวภาพชนิดเหลวให้ผลผลิตสูงสุด รองลงมาเป็นการใช้ปุ๋ยชีวภาพชนิดเม็ดขี้ปัสสาวะ ปุ๋ยชีวภาพชนิดผง ปุ๋ยชีวภาพชนิดเม็ดดินเหนียวปุ๋ยในโตรเจนอัตรา 12 กิโลกรัมในโตรเจน/ไร่

และการไม่ใช้ไรโซเบียมและไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนซึ่งให้ผลผลิตเท่ากับ 298 279 260 251 248 และ 110 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. การผลิตปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเม็ด โดยใช้ปูนยิปซัมและดินเหนียวเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถทำได้ โดยไรโซเบียมสามารถมีชีวิตอยู่รอดได้ 1 ปี แต่ต้องเก็บไว้ในที่เย็นหรือตู้เย็น หากเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องควรใช้ปูนยิปซัมเป็นวัสดุผลิต ซึ่งเก็บไว้ได้เป็นระยะเวลาประมาณ 6-8 เดือน

2. ปุ๋ยชีวภาพชนิดเม็ดทั้ง 2 ชนิดใช้ได้ผลดีในการเพิ่มผลผลิตพืชได้ เช่นเดียวกับ ปุ๋ยชีวภาพชนิดเหลว ปุ๋ยชีวภาพชนิดผง และการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 12 กิโลกรัมไนโตรเจน/ไร่

3. นำเทคโนโลยีการผลิตที่ได้จากการทดลองไปใช้ผลิตปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม เพื่อให้เกษตรกรใช้กับพืชต่างชนิดกันได้โดยเฉพาะพืชเศรษฐกิจเช่น ถั่วเหลือง ถั่วเขียวและถั่วลิสง

4. ผลผลิตพันธุ์ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมทุกชนิด จำหน่ายในราคา 20 บาท/ถุงเท่ากัน ใช้ได้กับพื้นที่ปลูก 1 ไร่ ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดผง สามารถผลิตได้ในปริมาณมาก ผลิตได้ง่าย แต่อายุการเก็บรักษาสั้นประมาณ 5 เดือน การใช้ต้องมีสารเหนียว เช่น น้ำเชื่อม น้ำมันพืช คลุกกับเมล็ดถั่วก่อน แล้วคลุกเชื้อผง ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเหลว ผลิตได้ในจำนวนน้อยกว่าแบบผง การผลิตยุ่งยากกว่า ต้องใช้วิธีการปลอดเชื้อเกือบทุกขั้นตอนการผลิต แต่เก็บรักษาได้นาน 1 ปี การใช้คลุกกับเมล็ดถั่วได้เลย ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเม็ด ผลิตได้ในจำนวนน้อย การผลิตยุ่งยากกว่า แต่เก็บรักษาได้นาน 1 ปี ใช้ง่าย หยอดพร้อมเมล็ดปลูก

การทดลองที่ 2 การศึกษาวิธีการผลิตปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตแบบพร้อมใช้

วิธีดำเนินงาน

1. ศึกษาวิธีการเลี้ยงขยายปริมาณจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตในสภาพห้องปฏิบัติการ

การเลี้ยงขยายปริมาณเชื้อรา *Penicillium pinophilum* ดำเนินการโดยเลือกส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อราที่เหมาะสมที่จะนำมาผลิต คือ ส่วนที่เป็นสปอร์ที่เรียกว่าโคนิดิโอสปอร์ (Conidiospore) จึงทำการทดลองหาซับสเตรท (Substrate) และส่วนค้ำจุน (Supporter) ที่เหมาะสมสำหรับการขยายปริมาณโคนิดิโอสปอร์ โดยกำหนดวิธีการเลี้ยงเชื้อเป็นแบบการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง (Solid substrate)

อุปกรณ์

เชื้อราละลายฟอสเฟต *Penicillium pinophilum* วัสดุอินทรีย์ที่ทดลองใช้เป็นซับสเตรท และ ส่วนค้ำจุน สำหรับเลี้ยงขยายปริมาณเชื้อราคือ ข้าวฟ่าง รำหยาบ และ ข้าวโพดบดหยาบ อุปกรณ์เครื่องแก้ว หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ ตู้แช่เชื้อ เครื่องเขย่า กล้องจุลทรรศน์ อาหารเลี้ยงเชื้อ สารปฏิชีวนะ สำหรับการนับปริมาณเชื้อราคือ Potato dextrose agar และ Cycloheximide และสารเคมีต่างๆ ถุงพลาสติกทนร้อน พร้อมคอกขวด พลาสติก อุปกรณ์เลี้ยงเชื้อแบบการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง เครื่องนับสปอร์

วิธีการ

1.2.1 วางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design ทำ 3 ซ้ำ โดยกรรมวิธี คือ ข้าวฟ่าง รำ หยาบ ข้าวโพดคดหยาบ ในอัตราส่วนต่าง ๆ ดังนี้ 1) ข้าวฟ่างผสมรำหยาบอัตราส่วน 1:1 2) ข้าวฟ่างผสมรำหยาบอัตราส่วน 2:1 3) ข้าวฟ่างผสมรำหยาบอัตราส่วน 1:2 4) ข้าวโพดคดหยาบ 5) ข้าวโพดคดหยาบผสมรำหยาบอัตราส่วน 1:1

1.2.2 การปฏิบัติการทดลอง

เลี้ยงเชื้อแบบการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง บรรจุวัสดุทดลองในถุงพลาสติกทนร้อนขนาด 6 x 9 นิ้ว ถุงละ 150 กรัม สวมคอขวดพลาสติกทนร้อน อุดจุกด้วยสำลี นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำโดยใช้ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้วเป็นเวลา 20 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเพาะเชื้อรา *Penicillium pinophilum* ลงในถุงในปริมาณเท่ากัน เก็บบ่มไว้ในตู้หมักในห้อง ที่ระยะ 10 20 และ 30 วัน ทำ Serial dilution ของส่วนผสมและตรวจนับปริมาณโคนินดิโอสปอร์ โดยตรงทางกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า

1.2.3 การบันทึกข้อมูล

1) ปริมาณโคนินดิโอสปอร์ ในวัสดุอินทรีย์ที่ใช้ ตามระยะเวลาบ่ม 10 20 และ 30 วัน

2 ศึกษาวัสดุพาที่เหมาะสมสำหรับเชื้อราละลายฟอสเฟต

อุปกรณ์

เชื้อรา *Penicillium pinophilum* วัสดุพา คือ ซีโอไลท์ ปุ๋ยหมักมูลโคบดละเอียดและรำละเอียด จาน แก้วเพาะเลี้ยงเชื้อ อาหารเลี้ยงเชื้อ สารปฏิชีวนะ สำหรับการนับปริมาณเชื้อราคือ Potato dextrose agar และ Cycloheximide และสารเคมีอื่นๆ เครื่องนับโคโลนี

วิธีการ

1) วางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design ใช้วัสดุพา 2 ชนิด คือ ซีโอไลท์และปุ๋ยหมักมูลโคบดละเอียด จำนวน 6 กรรมวิธีคือ 1) ซีโอไลท์ 100 เปอร์เซ็นต์ 2) ซีโอไลท์ 70 เปอร์เซ็นต์ + ปุ๋ยหมักมูลโค 30 เปอร์เซ็นต์ 3) ซีโอไลท์ 50 เปอร์เซ็นต์ + ปุ๋ยหมักมูลโค 50 เปอร์เซ็นต์ 4) ซีโอไลท์ 100 เปอร์เซ็นต์ + รำ 5) ซีโอไลท์ 70 เปอร์เซ็นต์ + ปุ๋ยหมักมูลโค 30 เปอร์เซ็นต์ + รำ 6) ซีโอไลท์ 50 เปอร์เซ็นต์ + ปุ๋ยหมักมูลโค 50 เปอร์เซ็นต์ + รำ

2) การปฏิบัติการทดลองวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของวัสดุพาก่อนทดลอง คลุกผสมเชื้อรา *Penicillium pinophilum* กับวัสดุพาดตามกรรมวิธีที่กำหนด ปรับปริมาณความชื้นให้เท่ากันในทุกกรรมวิธีด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ บรรจุในจานแก้ว บ่มไว้ในตู้หมักในห้อง คูแลให้ปริมาณความชื้นอยู่ในระดับเดิม และทุกระยะเวลา 7 30 90 120 180 และ 360 วัน ทำการตรวจนับปริมาณเชื้อราที่มีชีวิตโดยวิธี Serial dilution plating บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar ที่ใส่ปฏิชีวนะสารต้านเชื้อแบคทีเรียเพนเปียน Cycloheximide

3) การบันทึกข้อมูล ปริมาณเชื้อราในวัสดุอินทรีย์ที่ใช้ ที่ระยะเวลาบ่ม 7 30 90 120 180 และ 360 วัน

3 การทดลองผลิตปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตในห้องปฏิบัติการ

การผลิตปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตในห้องปฏิบัติการ โดยเลี้ยงขยายเชื้อรา *Penicillium pinophilum* ให้ได้ปริมาณโคนิดิโอสปอร์มากบนข้าวฟ่างและรำหยาบ โดยวิธีการหมักแบบการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง ในถุงพลาสติกทนร้อน บ่มไว้ 15 วัน แล้วผลิตรูปแบบเม็ดและแบบผง

3.1 การผลิตปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตแบบเม็ดพร้อมใช้

อุปกรณ์

หัวเชื้อจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตเชื้อรา *Penicillium pinophilum* ปุ๋ยหมักมูลโคบดละเอียด 80 เมช หินฟอสเฟต กากน้ำตาล ที่บดเนื้อหมูด้วยมือ อุปกรณ์เครื่องแก้ว อาหารเลี้ยงเชื้อ สารปฏิชีวนะ สำหรับการนับปริมาณเชื้อราคือ Potato dextrose agar, Cycloheximide และสารเคมีอื่นๆ ถังพลาสติก จานเพาะเชื้อ

วิธีการ

1) การปฏิบัติการทดลอง

คลุกผสมหัวเชื้อจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตเชื้อรา *Penicillium pinophilum* ที่ได้จากการทดลองที่ 1 เข้ากับวัสดุพาที่ได้จากการศึกษาในขั้นต้นซึ่งได้แก่ ปุ๋ยหมักมูลโคบดละเอียด ในอัตราส่วน 2:1 เก็บบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเพื่อให้ได้ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตแบบพร้อมใช้จึงทำการผสมหินฟอสเฟตลงไปโดยใช้อัตราส่วนหัวเชื้อจุลินทรีย์ต่อหินฟอสเฟตเท่ากับ 5:1 โดยน้ำหนัก ให้ความชื้นโดยใช้น้ำกรองในปริมาณที่เหมาะสมแก่ส่วนผสมดังกล่าว แล้วอัดเม็ดด้วยที่บดเนื้อหมูด้วยมือ ใช้กากน้ำตาล 1 เปอร์เซ็นต์เป็นสารเชื่อมการอัดเม็ด บ่มในจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็น ตรวจนับปริมาณเชื้อรา *Penicillium pinophilum* ทุกระยะ 0 7 30 60 90 120 150 และ 180 วัน

2) การบันทึกข้อมูล

ปริมาณเชื้อรา *Penicillium pinophilum* ที่ระยะเวลา 0 7 30 60 90 120 150 และ 180 วัน

3.2 ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตแบบผง

การผลิตปุ๋ยชีวภาพแบบผงเป็นรูปแบบที่สามารถผลิตได้ง่ายไม่ยุ่งยาก เพื่อนำไปใช้กับพื้นที่เพาะปลูกที่มีการใส่ปุ๋ยฟอสเฟตอย่างต่อเนื่องและมีปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในดินสูง นอกจากนี้ เมื่อนำไปใช้ในพื้นที่เพาะปลูกอื่น ๆ ให้ใช้ร่วมกับหินฟอสเฟตในอัตราที่ลดลงจากปกติ 30 เปอร์เซ็นต์

อุปกรณ์

หัวเชื้อจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตเชื้อรา *Penicillium pinophilum* ปุ๋ยหมักมูลโคบดละเอียด 80 เมช อุปกรณ์เครื่องแก้ว อาหารเลี้ยงเชื้อ สารปฏิชีวนะ สำหรับการนับปริมาณเชื้อราคือ Potato dextrose agar, Cycloheximide และสารเคมีอื่นๆ ถังพลาสติก ถุงพลาสติกทนร้อนขนาด 6 x 9 นิ้ว

วิธีการ

1) การปฏิบัติการทดลอง

คลุกผสมหัวเชื้อจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตเชื้อรา *Penicillium pinophilum* ที่ได้จากการทดลองที่ 1 (เลี้ยงขยายปริมาณโคนดิโอสปอร์ บนข้าวฟ่างและรำหยาบ) เข้ากับวัสดุพาที่ศึกษาไว้ขั้นต้นคือ ปุ๋ยหมักมูลโค บดละเอียดใช้อัตราส่วน หัวเชื้อจุลินทรีย์ต่อปุ๋ยหมักมูลโคเท่ากับ 4:1 โดยน้ำหนัก ใส่ในถุงพลาสติกใสทนร้อนขนาด 6 x 9 นิ้ว ปริมาณ 200 กรัม เก็บบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น ตรวจนับปริมาณเชื้อรา ทุกระยะเวลา 0 7 30 60 90 120 150 และ 180 วัน

2) การบันทึกข้อมูล

ปริมาณเชื้อรา *Penicillium pinophilum* ที่ระยะเวลา 0 7 30 60 90 120 150 และ 180 วัน

4. ศึกษาประสิทธิภาพปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตกับพืช

อุปกรณ์

เชื้อรา *Penicillium pinophilum* เมล็ดถั่วแดง เมล็ดผักบุ้ง ข้าวโพดพันธุ์นครสวรรค์ 2 จานแก้ว เพาะเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 150 มิลลิเมตร กระจายเพาะเมล็ด ชุติณก้าแพงแสน ชุติณหุบกะพง ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยหมักมูลโค หินฟอสเฟต กระจายดินเผาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12 นิ้ว ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตเชื้อรา *Penicillium pinophilum* แบบเม็ด

วิธีการ

1 ศึกษาผลกระทบของเชื้อราต่อการงอกของเมล็ดพืช

โดยคลุกเชื้อรา *Penicillium pinophilum* กับเมล็ดพืชทั้ง 3 ชนิดในปริมาณมากเกินพอ เพาะบนกระจายเพาะเมล็ด ในดินชุติณก้าแพงแสนและชุติณหุบกะพง ให้ความชื้น และบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ตรวจสอบการงอกที่ระยะเวลา 2 3 และ 7 วัน

2 ศึกษาประสิทธิภาพปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตกับพืช

1) วางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design มี 5 กรรมวิธี ทำ 4 ซ้ำ กรรมวิธีคือ 1) ไม่ใส่ปุ๋ย 2) ปุ๋ยสูตร 20-10-10 ปริมาณ 40 กิโลกรัม/ไร่ 3) ปุ๋ยหมักมูลโค + หินฟอสเฟต 4) ปุ๋ยหมักมูลโค + เชื้อราละลายฟอสเฟต 5) ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตแบบเม็ด

2) การปฏิบัติการทดลอง

ปลูกข้าวโพดในดินชุติณก้าแพงแสน ซึ่งมีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 0.9 เปอร์เซ็นต์ ความเป็นกรด-ด่าง 6.0 ใส่ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต และปุ๋ยเคมี ตามกรรมวิธีที่กำหนด

3) การบันทึกข้อมูล

เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดพืช 3 ชนิด ที่ระยะเวลา 2 3 และ 7 วัน ความสูงของข้าวโพด และน้ำหนักฝักข้าวโพด

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ศึกษาวิธีการเลี้ยงขยายปริมาณจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตในสภาพห้องปฏิบัติการ

ที่ระยะเวลา 30 วัน ข้าวฟางผสมรำหยาบอัตรา 2:1 ให้ปริมาณสปอร์มากที่สุดเท่ากับ 5.0×10^8 สปอร์/กรัม แตกต่างทางสถิติจากข้าวฟางผสมรำหยาบอัตรา 1:1 และ 1:2 และข้าวโพดบดผสมรำหยาบอัตรา 1:1 ซึ่งให้ปริมาณสปอร์ 7.5×10^7 1.7×10^6 และ 1.8×10^7 สปอร์/กรัมตามลำดับ ข้าวโพดบดหยาบมีปริมาณสปอร์ราที่ไม่แตกต่างทางสถิติจากปริมาณราในข้าวฟางผสมรำหยาบอัตรา 2:1 คือ 3.8×10^8 สปอร์/กรัม นอกจากนี้พบว่าข้าวฟางผสมรำหยาบอัตรา 2:1 ที่เก็บบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องมีอายุการเก็บรักษานานพอเพียงกับการนำไปใช้ประโยชน์ในเบื้องต้นได้โดยมีอายุการเก็บรักษาประมาณ 60 วัน

2. การศึกษาหาวัสดุที่เหมาะสมกับเชื้อรา *Penicillium pinophilum*

ค่าความเป็นกรด-ด่างของซีโอไลต์ ปุ๋ยหมักมูลโคบดละเอียด ซีโอไลต์ 70 เปอร์เซ็นต์ผสมปุ๋ยหมักมูลโคบด 30 เปอร์เซ็นต์ และซีโอไลต์ 50 เปอร์เซ็นต์ ผสมปุ๋ยหมักมูลโค 50 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 6.03 6.64 6.55 และ 6.58 ตามลำดับ ปริมาณเชื้อรา *Penicillium pinophilum* ที่มีชีวิตในวัสดุที่ระยะเวลาต่างๆ (ตารางที่ 4) พบว่าที่ระยะเวลา 7 30 90 120 180 และ 360 วัน การใช้ซีโอไลต์ 70 เปอร์เซ็นต์ ผสมปุ๋ยหมักมูลโค 30 เปอร์เซ็นต์ และการใช้ซีโอไลต์ 50 เปอร์เซ็นต์ ผสมปุ๋ยหมักมูลโค 50 เปอร์เซ็นต์ ทั้งที่มีการผสมรำละเอียดและไม่ผสมอยู่ในช่วง 10^6 - 10^8 เซลล์/กรัมของวัสดุ พบว่ากรรมวิธีการใส่รำละเอียดทำให้มีเชื้อปนเปื้อนมากกว่าการไม่ใส่ เมื่อเก็บเชื้อราไว้จนครบ 360 วันพบว่า ปริมาณเชื้อราลดต่ำลงในทุกกรรมวิธี โดยเฉพาะกรรมวิธีที่ใช้ซีโอไลต์ 100 เปอร์เซ็นต์ ไม่ว่าจะใส่รำหรือไม่ก็ตาม พบเชื้อราในปริมาณน้อยที่สุด จนถึงตรวจไม่พบ และพบว่าการใช้ซีโอไลต์ 50 เปอร์เซ็นต์ ผสมปุ๋ยหมักมูลโคบด 50 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาณเชื้อสูงถึง 10^7 เซลล์/กรัมของวัสดุ

เมื่อนำต้นทุนของซีโอไลต์และปุ๋ยหมักมูลโคซึ่งเท่ากับ 8,000 และ 4,800 บาท/ตัน มาประกอบการพิจารณาวัสดุที่เหมาะสมสำหรับการทดลองนี้แล้ว การใช้ซีโอไลต์ 50 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับปุ๋ยหมักมูลโค 50 เปอร์เซ็นต์ เหมาะสมเป็นวัสดุสำหรับเชื้อรา *Penicillium pinophilum*

3. การทดลองการผลิตปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตในห้องปฏิบัติการ

ปริมาณเชื้อรา *Penicillium pinophilum* ที่มีชีวิตในปุ๋ยชีวภาพรูปแบบผงและรูปแบบเม็ดพร้อมใช้ ทั้งที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น ปุ๋ยชีวภาพแบบผงมีปริมาณเชื้อรา *Penicillium pinophilum* สูงกว่าปุ๋ยชีวภาพแบบเม็ดในทุกระยะเวลาที่ตรวจนับ ที่ระยะเวลา 7 วัน ปุ๋ยชีวภาพแบบผงที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็นมีปริมาณเชื้อราเท่ากับ 1.7×10^8 และ 2.4×10^8 เซลล์/กรัม ตามลำดับ แตกต่างทางสถิติจากปริมาณเชื้อราในปุ๋ยชีวภาพแบบเม็ดที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องซึ่งเท่ากับ 5.0×10^7 เซลล์/กรัม ปุ๋ยชีวภาพทั้งแบบผงและแบบเม็ดที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องและตู้เย็นมีปริมาณเชื้อรา *Penicillium pinophilum* ลดลงตามระยะเวลา ที่ระยะเวลา 180 วัน ปุ๋ยชีวภาพแบบผงที่เก็บไว้ในอุณหภูมิตู้เย็นมีปริมาณเท่ากับ 4.2×10^6 เซลล์/กรัม แตกต่างทางสถิติจากปริมาณเชื้อราในกรรมวิธีอื่นๆทั้งหมด

4. ศึกษาประสิทธิภาพปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตกับพืช

ศึกษาประสิทธิภาพปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตกับพืชพบว่าที่ระยะเวลา 60 วัน กรรมวิธีใส่ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตแบบเม็ด ทำให้ข้าวโพดมีความสูงเท่ากับ 113.75 เซนติเมตร ไม่แตกต่างทางสถิติจากกรรมวิธีใส่ปุ๋ยหมักมูลโคร่วมกับเชื้อราละลายฟอสเฟตซึ่งทำให้ข้าวโพดมีความสูงเท่ากับ 106.8 เซนติเมตร แต่แตกต่างทางสถิติจากกรรมวิธีใส่ปุ๋ยหมักมูลโคกับหินฟอสเฟต ใส่ปุ๋ยเคมี และไม่ใส่ปุ๋ยซึ่งมีความสูงเท่ากับ 95.3 85.9 และ 23.6 เซนติเมตร ตามลำดับ การใส่ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตแบบเม็ด ทำให้ได้น้ำหนักฝักข้าวโพดมากที่สุดเท่ากับ 58.8 กรัม/ต้น ไม่แตกต่างทางสถิติจากกรรมวิธีใส่ปุ๋ยเคมีซึ่งให้น้ำหนักฝักเท่ากับ 57.5 กรัม/ต้น แต่แตกต่างทางสถิติจากกรรมวิธีใส่ปุ๋ยหมักมูลโคกับเชื้อราละลายฟอสเฟต ใส่ปุ๋ยหมักมูลโคกับหินฟอสเฟตและไม่ใส่ปุ๋ย ซึ่งให้น้ำหนักฝักข้าวโพดเท่ากับ 48.4 43.4 และ 32.8 กรัม/ต้น ตามลำดับ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. การเลี้ยงขยายปริมาณสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium pinophilum* โดยวิธีหมักแบบใช้ขี้สตรอง ที่เป็นของแข็ง ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีข้าวฟ่างเป็นส่วนประกอบหลักโดยใช้ข้าวฟ่างผสมรำหยาบอัตรา 2:1 ทำให้ได้สปอร์ปริมาณมากและมีอายุการเก็บรักษาที่นานเพียงพอ
2. วัสดุที่เหมาะสมสำหรับเชื้อรา *Penicillium pinophilum* คือ ซีโอไลท์ 50 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับปุ๋ยหมักมูลโคบดละเอียด 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งทำให้เชื้อรามีชีวิตอยู่รอดได้นานเป็นระยะเวลาไม่ต่ำกว่า 360 วัน โดยยังมีปริมาณถึง 10^7 เซลล์/กรัมของวัสดุ
3. ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตแบบเม็ดพร้อมใช้ผลิตโดยขยายสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium pinophilum* ในข้าวฟ่างผสมรำหยาบอัตรา 2:1 เมื่อเชื้อราขยายสปอร์จนเต็มถุงเพาะ ผสมหัวเชื้อกับปุ๋ยหมักมูลโคบดละเอียดในอัตรา 2:1 ใส่หินฟอสเฟตลงในอัตรา 1:5 โดยน้ำหนักแล้วอัดหรือปั้นเม็ดโดยใช้กากน้ำตาลเป็นสารเชื่อมการอัดหรือปั้นเม็ด ปุ๋ยชีวภาพแบบผง ผลิตโดยขยายปริมาณสปอร์ของเชื้อรา ในข้าวฟ่างผสมรำหยาบอัตราส่วน 2:1 เมื่อเชื้อราขยายปริมาณสปอร์จนเต็มถุงให้ผสมส่วนผสมกับปุ๋ยหมักมูลโคบดละเอียด ในอัตราหัวเชื้อจุลินทรีย์ต่อปุ๋ยหมักเท่ากับ 4:1 ปริมาณเชื้อราในปุ๋ยชีวภาพชนิดผงสูงกว่าในปุ๋ยชีวภาพชนิดเม็ด

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ใช้เป็นเอกสารอ้างอิงได้ถึงประสิทธิภาพของปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมทั้ง ชนิดผง เหลว และ เม็ด ในการทดแทนปุ๋ยไนโตรเจนได้ 100 เปอร์เซ็นต์
2. สามารถต่อยอดงานวิจัย โดยนำเทคโนโลยีการผลิตที่ได้จากการทดลอง ไปผลิตปุ๋ยชีวภาพชนิดเม็ดสำหรับพืชตระกูลถั่วชนิดอื่น เพื่อทดแทนการใช้ปุ๋ยไนโตรเจน หรือ เพื่อการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ปุ๋ย

ชีวภาพละลายฟอสเฟตและผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ชนิดอื่น สำหรับกับการผลิตพืชชนิดต่างๆ ทั้งไม้ผล ไม้ประดับ พืชผัก ไม้ดอก ไม้ประดับ

3. สามารถใช้ผลจากการศึกษาวิธีการผลิตเชื้อรา ให้อยู่ในรูปแบบที่ใช้งานง่าย อายุการเก็บรักษานาน และยังคงประสิทธิภาพไว้ได้ เพื่อการผลิตเชื้อราสายพันธุ์ที่มีประโยชน์อื่นๆ

4. ลดต้นทุนการผลิตด้านปุ๋ยในโตรเจนของเกษตรกรลงได้ 400-500 บาท/ไร่

5. เกษตรกรนำปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเม็ดไปใช้ได้ง่าย สะดวก ลดขั้นตอนในการใช้

6. ในพื้นที่ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสในดินสูง ลดต้นทุนการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตของเกษตรกรได้ 100 เปอร์เซ็นต์ เพิ่มประสิทธิภาพการใช้หินฟอสเฟตหรือปุ๋ยฟอสเฟต ได้ 25-30 เปอร์เซ็นต์ ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตสามารถใช้เป็นปัจจัยการผลิตสำหรับเกษตรกรอินทรีย์

7. สามารถถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเม็ด และปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตสู่ภาคเอกชนผลิตสู่ภาคเกษตรกร

เอกสารอ้างอิง

นันทกร บุญเกิด. 2529. คู่มือการใช้เชื้อไรโซเบียม. กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร. 46 หน้า.

วิทยา ชนานุสนธิ์ และ วิเชียร ภาณุวาส. 2538. การผลิตเชื้อไรโซเบียมชนิดเหลวแบบใหม่ ใน รายงานวิจัยปุ๋ยชีวภาพ เล่มที่ 1 กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร หน้า 131-160.

Burton, J.C. 1984. Legume Inoculant Production Manual. NifTal Project-MIRCEN. University of Hawaii Dep. Of Agronomy and Soil Science. 128 p.

Dube, J.N. 1973. Production of Legume Inoculants Using Modified Lignite Impregnated with Broth as a Carrier Rew. Indus. 18: 94-95.

Date, R.A. and R.J. Roughley. 1977. Preparation of Legume Inoculants. In Hardy, R.W.F. and Gibson A.H. (eds.) A treatise on dinitrogen fixation. John Wiley and Sons, pp. 243-276.

Hafeez, F.Y. 1985. Evaluations of Carrier Materials for Production of Rhizobium-Legume Inoculant. Nuclear Institute for Agriculture and Biology. Faisalabad. Pakistan. 10th North American Rhizobium Conference. Wailea, Maui. August 11-17. 63 p.

Kandasamy, R. and N.N. Prasad. 1971. Lignite as a carrier of Rhizobia. Curr. Sci. 40: 496.

Khatri, A. A. 1973. Rice husk as the Medium for Legume Inoculant. Sci. Cult. 39: 194-196.

Paczkowski, M.W. and D.L. Berryhill. 1979. Survival of *Rhizobium phaseopli* in Coal-Based Inoculants. Proceeding of The Seventh American Rhizobium Conference. 17-21 June 1979. 39 p.

Philpotts, H. 1976. Filter Mud as a Carrier for Rhizobium Inoculant. J. Appl. Bact.. 41: 277-281.

- Pugashetti, B. K. 1971. Cellulose Powder as Legume Inoculants Base. Curr. Sci. 40: 494-495.
- Skipper, H.D., J.H. Palmer, Giddens J.E., and J.M. Woodruff. 1980. Evaluation of Commercial Soybean Inoculants from South Carolina and Geogia. Agron. J. 72: 673-674.
- Somasegaran, P. 1991. Inoculant Production with Emphasis on Choice of Carrier, Methods of Production, and Reliability Testing/Quality assurance guidelines. Paper presented at the meeting on Expert Consultation on Legume Inoculant Production and Quality Control. 19-21 March 1991, U.N. Food and Agricultural Organization, Rome. 32 p.
- Somasegaran, P. and H. J. Hoben. 1985. Methods in Legume-Rhizobium Technology. University of Hawaii. NifTAL Project and MIRCEN. Dept. of Agronomy and Soil Science. 367 p.
- Williams, P. M. and M.S. Mallorca. 1980. Survival of Rhizobium japonicum in Filter mud based Inoculants. Acta. Cient. Venezolana. 31:27-29.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 การอยู่รอดของไรโซเบียมเมื่อเก็บไว้ในระยะเวลาต่างๆ ปี 2549

วัสดุปั่นเม็ด	ปริมาณไรโซเบียม (เซลล์/เม็ด) ที่ระยะเวลา (เดือน)						
	0	1	2	4	6	8	12
เม็ดดินเหนียวอบเก็บในตู้เย็น	1.04×10^7	3.37×10^5	1.50×10^5	2.29×10^5	2.27×10^5	1.13×10^5	1.01×10^5
เม็ดดินเหนียวเผาเก็บในตู้เย็น	5.10×10^6	1.87×10^5	1.80×10^5	3.60×10^5	2.20×10^5	3.15×10^5	1.09×10^5
เม็ดขี้ปซัมเก็บในตู้เย็น	2.26×10^7	6.64×10^5	4.21×10^5	2.68×10^5	2.58×10^5	1.98×10^5	4.86×10^4
เม็ดดินเหนียวอบเก็บอุณหภูมิห้อง	1.04×10^7	2.25×10^4	$< 10^4$	$< 10^4$	$< 10^4$	$< 10^4$	$< 10^4$
เม็ดดินเหนียวเผาเก็บอุณหภูมิห้อง	5.10×10^6	7.43×10^3	$< 10^4$	$< 10^4$	$< 10^4$	$< 10^4$	$< 10^4$
เม็ดขี้ปซัมเก็บอุณหภูมิห้อง	2.26×10^7	6.37×10^4	$< 10^4$	$< 10^4$	$< 10^4$	$< 10^4$	$< 10^4$

ใช้มาตรฐานปริมาณไรโซเบียมไม่น้อยกว่า 1×10^4 เซลล์/เม็ด เป็นตัวกำหนด

ตารางที่ 2 จำนวนฝักและน้ำหนักเมล็ดของถั่วเหลือง สภาพเรือนทดลองในปี 2550

กรรมวิธี	การใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมกับถั่วเหลือง		
	ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60		ถั่วเหลืองพันธุ์ ส.จ.5
	จำนวนฝัก (ฝัก/ต้น)	น้ำหนักเมล็ด (กรัม/ต้น)	น้ำหนักเมล็ด (กรัม/ต้น)
ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 12 กิโลกรัมไนโตรเจน/ไร่	22 c	5.89 b	2.43 c
ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดผง	23 c	6.38 b	5.19 b
ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเหลว	33 a	8.85 a	7.24 a
ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเม็ดดินเหนียว	25 bc	6.58 b	4.34 b
ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเม็ดขี้ปซัม	32 ab	8.07 ab	5.55 ab
F-test	*	*	**
CV (เปอร์เซ็นต์)	16.6	19.6	22.5

ทุกกรรมวิธีใส่ปุ๋ย 0-9-6 N-P₂O₅-K₂O กิโลกรัม/ไร่

* = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ** = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

จำนวนฝักและน้ำหนักเมล็ดถั่วเหลืองที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 3 น้ำหนักผลผลิตของถั่วเหลืองสภาพไร่ ฤดูฝน ในปี 2551-2553 (กิโลกรัม/ไร่)

กรรมวิธี	การใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมกับถั่วเหลือง		
	ผลผลิตถั่วเหลือง เชียงใหม่ 60/2551	ผลผลิตถั่วเหลือง ส.จ. 5/2552	ผลผลิตถั่วเหลือง เชียงใหม่ 5/2553
ไม่ใช้ไรโซเบียมและ ไม่ใช้ปุ๋ยไนโตรเจน	90 c	128 b	110 c
ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเม็ดขี้ปซัม	361 c	287 a	279 ab
ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเม็ดดินเหนียว	251 d	258 a	251 b
ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดผง	550 a	268 a	260 b
ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเหลว	442 b	309 a	298 a
ปุ๋ยไนโตรเจน 12 กิโลกรัมไนโตรเจน/ไร่	254 d	266 a	248 b
F-test	**	*	*
CV (เปอร์เซ็นต์)	16.2	27.4	22.4

ทุกกรรมวิธีใส่ปุ๋ย 0-9-6 N-P₂O₅-K₂O กิโลกรัม/ไร่

* = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ** = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

ผลผลิตถั่วเหลืองที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 4 ปริมาณเชื้อรา *Penicillium pinophilum* ในวัสดุพา ในห้องปฏิบัติการ ปี พ.ศ. 2551

ชนิดของวัสดุพา	ปริมาณเชื้อรา (เซลล์/กรัม) ที่ระยะเวลาบ่ม (วัน)					
	7	30	90	120	180	360
ซีโอไลท์ 100 เปอร์เซ็นต์	2.9×10^7 ab	1.0×10^8 a	5.6×10^7 a	4.3×10^7	9.4×10^7 a	1.3×10^4 b
ซีโอไลท์ 70 เปอร์เซ็นต์ ปุ๋ยหมักมูลโค 30 เปอร์เซ็นต์	3.5×10^7 ab	3.2×10^7 ab	4.7×10^7 a	1.8×10^7	1.7×10^8 a	9.0×10^6 a
ซีโอไลท์ 50 เปอร์เซ็นต์ ปุ๋ยหมักมูลโค 50 เปอร์เซ็นต์	1.8×10^7 bc	4.9×10^7 ab	3.8×10^7 ab	3.1×10^7	3.0×10^7 a	1.6×10^7 a
ซีโอไลท์ 100 เปอร์เซ็นต์ + รำ	1.1×10^7 c	1.9×10^8 a	1.3×10^7 c	3.4×10^7	9.0×10^6 c	-
ซีโอไลท์ 70 เปอร์เซ็นต์ ปุ๋ยหมักมูลโค 30 เปอร์เซ็นต์ + รำ	6.3×10^7 a	1.5×10^7 b	5.5×10^7 a	2.1×10^7	5.3×10^7 b	2.7×10^6 a
ซีโอไลท์ 50 เปอร์เซ็นต์ ปุ๋ยหมักมูลโค 50 เปอร์เซ็นต์ + รำ	3.3×10^7 ab	1.7×10^7 b	2.0×10^7 bc	2.8×10^7	1.8×10^7 a	9.0×10^5 a
F-test	*	*	*	ns	*	*
CV. (เปอร์เซ็นต์)	2.2	3.7	2.2	2.5	7.7	5.1

ปริมาณเชื้อราเริ่มต้นที่ 0 วัน เท่ากับ 7.0×10^7 เซลล์/กรัม ในทุกกรรมวิธี

ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ * = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ปริมาณเชื้อราที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% โดยวิธี DMRT



ภาพที่ 1 การผลิตปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมแบบเม็ด
(การทดลองที่ 1 การผลิตปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดเม็ด)



ภาพที่ 2 ปริมาณรา *Penicillium pinophilum* ในวัสดุพาหะชนิดต่างๆ ที่ระยะเวลาบ่ม 360 วัน
(การทดลองที่ 2 การผลิตปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตแบบพร้อมใช้)



ภาพที่ 3 ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตแบบเม็ดและแบบผง
(การทดลองที่ 2 การผลิตปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตแบบพร้อมใช้)