

## รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

- โครงการวิจัย** : วิจัยและพัฒนาการเพิ่มประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพและจุลินทรีย์ดินเพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร  
**กิจกรรม** : การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพและหัวเชื้อจุลินทรีย์รูปแบบใหม่
- ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)** : การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดปลอดเชื้อ
- ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ)** : Research and development of production technology for sterile rhizobium bio-fertilizer
- คณะผู้ดำเนินงาน**  
**หัวหน้าการทดลอง** : นายมนต์ชัย มนต์สีลา<sup>1/</sup> กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร  
**ผู้ร่วมงาน** นางสาวจิตรา เกาะแก้ว<sup>1/</sup> กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร  
นางสาวอมรรัตน์ ใจยะเสน<sup>1/</sup> กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร  
นางนงลักษณ์ ปันลาย<sup>2/</sup> กองวิจัยพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืช

### 5. บทคัดย่อ

การศึกษาวัสดุพาที่เหมาะสมในการผลิตปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมแบบเหลว โดยมีสูตรอาหาร Yeast Manitol (YM) เป็นสูตรอาหารพื้นฐาน ผลการศึกษาพบว่าเชื้อไรโซเบียมถั่วเหลืองสามารถเจริญได้ดีในวัสดุพาที่ประกอบด้วย Carboxymethylcellulose 1.5 กรัมต่อลิตร และ Soluble starch 1 กรัมต่อลิตร เชื้อไรโซเบียมถั่วเขียวสามารถเจริญได้ดีในวัสดุพาที่ประกอบด้วยแมกนีเซียมออกไซด์ (MgO) 1 กรัมต่อลิตร และเชื้อไรโซเบียมถั่วลิสงสามารถเจริญได้ดีในวัสดุพาที่ประกอบด้วย Soluble starch 1 กรัมต่อลิตร เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 180 วัน พบว่าเชื้อไรโซเบียมถั่วเหลืองที่มีชีวิตมีปริมาณ  $1.08 \times 10^9$  โคโลนีต่อมิลลิลิตร เชื้อไรโซเบียมถั่วเขียวที่มีชีวิตมีปริมาณ  $2.18 \times 10^9$  โคโลนีต่อมิลลิลิตร และเชื้อไรโซเบียมถั่วลิสงที่มีชีวิตมีปริมาณ  $3.83 \times 10^8$  โคโลนีต่อมิลลิลิตร การทดสอบในแปลงทดลองพบว่าปุ๋ยชีวภาพแบบเหลวสำหรับถั่วเหลือง ถั่วเขียว และถั่วลิสง มีประสิทธิภาพไม่แตกต่างจากปุ๋ยชีวภาพแบบผงที่ใช้วัสดุอินทรีย์เป็นวัสดุรองรับ

<sup>1/</sup>กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

<sup>2/</sup>กองวิจัยพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืช

The aim of this study to find out suitable materials for production of liquid rhizobium bio-fertilizers. The media for rhizobium was based on Yeast Mannitol media (YM). The results showed that soybean rhizobium was able to grow well in carrier materials containing carboxymethyl cellulose 1.5 g/L and soluble starch 1 g/L. Mungbean rhizobium was able to grow well in a carrier material containing 1 g/L of magnesium oxide (MgO) and peanut rhizobium was able to grow well in a carrier material containing 1 g of soluble starch/L, when stored for 180 days, the live soybean rhizobium had a content of  $1.08 \times 10^9$  CFU/ml. Mungbean rhizobium had a living cells of  $2.18 \times 10^9$  CFU/ml. And live peanut rhizobium had  $3.83 \times 10^8$  CFU/ml. The field results showed that liquid rhizobium fertilizers for soybeans, mungbeans and peanuts were no different from the powdered rhizobium fertilizers using organic materials as carrier.

## คำนำ

เชื้อไรโซเบียมเป็นจุลินทรีย์กลุ่มหนึ่งที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพ โดยสามารถตรึงไนโตรเจนที่มีอยู่ในอากาศมาเปลี่ยนเป็นสารประกอบไนโตรเจนที่พืชนำไปใช้ได้ การนำเชื้อไรโซเบียมไปใช้ประโยชน์ในรูปแบบของปุ๋ยชีวภาพสำหรับพืชตระกูลถั่วชนิดต่างๆ การผลิตปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมโดยทั่วไปจะใช้วัสดุอินทรีย์เป็นวัสดุพา เพื่อให้เชื้อจุลินทรีย์ยึดเกาะ วัสดุพาทันนิยมใช้โดยทั่วไปคือ พีท (peat) แต่ในปัจจุบันปริมาณของพีทมีปริมาณที่ลดลง และแหล่งของพีทอยู่ในพื้นที่สงวน เช่น อุทยานแห่งชาติ เป็นต้น การใช้พีทเป็นวัสดุพาจึงมีข้อจำกัด นอกจากนี้การใช้พีทเป็นวัสดุพายังพบปัญหาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์อื่น และไม่สะดวกในการขนส่ง การเก็บรักษา ปุ๋ยชีวภาพแบบเหลวสามารถลดข้อจำกัดในการใช้พีทเป็นวัสดุพาลงได้ ปุ๋ยชีวภาพแบบเหลวต้องประกอบไปด้วยสารที่มีคุณสมบัติในการป้องกันและรักษาสภาพเซลล์ของจุลินทรีย์ เพื่อให้จุลินทรีย์มีชีวิตอยู่ได้ (Brahmaprakash and Sahu, 2012) นอกจากนี้ปุ๋ยชีวภาพแบบเหลวยังช่วยให้เชื้อจุลินทรีย์มีชีวิตอยู่ได้ยาวนานขึ้น เมื่ออยู่ในอาหารและสภาวะที่เหมาะสม (Pindi and Satyanarayana, 2012) กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดินได้มีการวิจัยและพัฒนาการผลิตเชื้อไรโซเบียมแบบเหลวโดยใช้แป้งมันความเข้มข้น 5-6 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับสาร GPM-compound เป็นวัสดุพาและในสภาพเหลว (วิทยา, 2538) Tittabutr *et al.* (2007) ได้ทดลองใช้อาหารเหลว YM medium และเติมสารประกอบที่เป็นโพลิเมอร์ ได้แก่ polyvinyl pyrrolidone (PVP), polyethylene glycol (PEG), polyvinyl alcohol (PVA), gum arabic, cassava starch และ sodium alginate พบว่าที่บางความเข้มข้นสามารถส่งเสริมการเจริญและอัตราการรอดชีวิตของเชื้อไรโซเบียม นอกจากนี้อัตราการรอดและอายุการเก็บรักษาเชื้อไรโซเบียมยังขึ้นกับชนิดและสกุลของเชื้อไรโซเบียมและสารปรุงแต่งที่เติมลงไป Franca *et al.* (2013) รายงานว่าการใช้สารละลาย NaCl 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร, glycerol 200,000 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Carboxymethylcellulose (CMC) 2,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสารปรุงแต่งเพื่อช่วยในการเก็บรักษาเชื้อไรโซเบียม (*Rhizobium tropici* และ

*Bradyrhizobium japonicum*) ที่อุณหภูมิห้อง สามารถเก็บรักษาเชื้อไรโซเบียมได้ถึง 180 วัน โดยที่ยังมีประสิทธิภาพคงเดิม นอกจากนี้ยังมีรายงานการพัฒนาสูตรอาหารที่ใช้กับเชื้อไรโซเบียมสำหรับถั่วพุ่ม (*Vigna unguiculata* L. Walp) โดยพบว่าสูตรอาหารที่มีส่วนประกอบของ CMC, Starch และ MgO มีประสิทธิภาพในการเก็บรักษารักษาเชื้อไรโซเบียมสำหรับถั่วพุ่ม ลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น และประสิทธิภาพยังคงเทียบเท่ากับหัวเชื้อที่ใช้พืชเป็นวัสดุพา (Fernandes Junior *et al.* 2012) เพื่อเป็นแก้ปัญหาการขาดแคลนวัสดุพา และการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ การวิจัยเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมในรูปแบบของเหลวปลอดเชื้อจัดว่าเป็นทางเลือกที่น่าสนใจเพื่อเป็นการแก้ปัญหาข้างต้น

## 6. วิธีดำเนินการ :

### - อุปกรณ์

1. เชื้อไรโซเบียมสำหรับพืชตระกูล  
  - 1.1 เชื้อไรโซเบียมถั่วเหลือง สายพันธุ์ DASA 01001
  - 1.2 เชื้อไรโซเบียมถั่วเขียว สายพันธุ์ DASA 02002
  - 1.3 เชื้อไรโซเบียมถั่วลิสง สายพันธุ์ DASA 03018
2. สารเคมีที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ แมนนิทอล ยีสต์เอ็กแทรกซ์ Carboxy methyl cellulose soluble starch และ MgO เป็นต้น
3. อุปกรณ์สำหรับเลี้ยง เช่น เครื่องแก้ว หลอดทดลอง จานเพาะเชื้อ เป็นต้น
4. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง เครื่องเขย่า ตู้บ่ม หม้อนึ่งความดันไอน้ำ เป็นต้น

### - วิธีการ

1. ทดสอบวัสดุพาแบบเหลวที่เหมาะสมกับเชื้อไรโซเบียม โดยทดสอบความเหมาะสมของสารที่ใช้เป็นวัสดุพา ได้แก่ Carboxy methyl cellulose (CMC), soluble starch และ MgO ทดสอบอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพ เลี้ยงเชื้อไรโซเบียมด้วยอาหาร YM medium บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เมื่อเชื้อไรโซเบียมเจริญเต็มที่ (late log phase) เติมเชื้อไรโซเบียมปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในวัสดุพาแบบเหลวทั้ง 8 กรรมวิธี ปริมาตร 49 มิลลิลิตร เก็บเชื้อไรโซเบียมในขวดพลาสติกที่อุณหภูมิห้อง (30-35 องศาเซลเซียส) นับปริมาณเชื้อไรโซเบียมที่มีชีวิตในแต่ละกรรมวิธีด้วยวิธี viable plate count บนอาหาร YMB ที่อายุการเก็บรักษา 0 7 15 30 60 90 120 150 และ 180 วัน วางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ 8 กรรมวิธี ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1. สูตรอาหารมาตรฐาน (YM medium)

กรรมวิธีที่ 2. สูตรอาหาร YM medium + CMC 1.5 กรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 3. สูตรอาหาร YM medium + Soluble starch 1 กรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 4. สูตรอาหาร YM medium + MgO 1 กรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 5. สูตรอาหาร YM medium + CMC 1.5 กรัมต่อลิตร + Soluble starch 1 กรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 6. สูตรอาหาร YM medium + CMC 1.5 กรัมต่อลิตร + MgO 1 กรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 7. สูตรอาหาร YM medium + Soluble starch 1 กรัมต่อลิตร+ MgO 1 กรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 8. สูตรอาหาร YM medium + CMC 1.5 กรัมต่อลิตร+ Soluble starch 1 กรัมต่อลิตร+ MgO 1 กรัมต่อลิตร

2. ทดสอบประสิทธิภาพปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมปลอดเชื้อแบบเหลวต่อการเจริญเติบโตของพืชตระกูลถั่ว (ถั่วเหลือง ถั่วเขียว ถั่วลิสง) ในกระถางทดลอง ใช้ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ถั่วเขียวพันธุ์ชัชานา 84-1 ถั่วลิสงพันธุ์ไทนาน 9 โดยปลูกถั่วแต่ละชนิดกระถางละ 4 ต้น ใช้กระถางทดลองขนาด 10 นิ้ว ใส่ดินกระถางละ 8 กิโลกรัม ใส่ปุ๋ยเคมี 0-3-3 กิโลกรัม  $N-P_2O_5-K_2O$  ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมแบบผง กระถางละ 0.31 กรัม ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมในวัสดุพาแบบเหลว กระถางละ 2 มิลลิลิตร ทำการทดสอบกับถั่วเหลืองด้วยสูตร YM+CMC 1.5 กรัมต่อลิตร (สูตร 1) YM + Soluble starch 1 กรัมต่อลิตร (สูตร 2) YM + CMC 1.5 กรัมต่อลิตร + Soluble starch 1 กรัมต่อลิตร (สูตร 3) ทดสอบกับถั่วเขียวด้วยสูตรอาหาร YM + MgO 1 กรัมต่อลิตร (สูตร 1) YM + CMC 1.5 กรัมต่อลิตร + Soluble starch 1 กรัมต่อลิตร (สูตร 2) YM + Soluble starch 1 กรัมต่อลิตร+ MgO 1 กรัมต่อลิตร (สูตร 3) และถั่วลิสงด้วยสูตรอาหาร YM+CMC 1.5 กรัมต่อลิตร (สูตร 1) YM + Soluble starch 1 กรัมต่อลิตร (สูตร 2) YM + MgO 1 กรัมต่อลิตร (สูตร 3) วางแผนการทดลอง แบบ CRD จำนวน 5 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ยเคมีและไม่ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม

กรรมวิธีที่ 2 ใส่  $KNO_3$  0.05 % (W/V) ใส่ปุ๋ยเคมี 0-3-3 กิโลกรัม  $N-P_2O_5-K_2O$  ต่อไร่และไม่ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม

กรรมวิธีที่ 3 ใส่ปุ๋ยเคมี 0-3-3 กิโลกรัม  $N-P_2O_5-K_2O$  ต่อไร่และใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมแบบผง

กรรมวิธีที่ 4 ใส่ปุ๋ยเคมี 0-3-3 กิโลกรัม  $N-P_2O_5-K_2O$  ต่อไร่และใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมแบบเหลวสูตร 1

กรรมวิธีที่ 5 ใส่ปุ๋ยเคมี 0-3-3 กิโลกรัม  $N-P_2O_5-K_2O$  ต่อไร่และใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมแบบเหลวสูตร 2

กรรมวิธีที่ 6 ใส่ปุ๋ยเคมี 0-3-3 กิโลกรัม  $N-P_2O_5-K_2O$  ต่อไร่และใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมแบบเหลวสูตร 3

3. ทดสอบประสิทธิภาพปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมปลอดเชื้อแบบเหลวในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพืชตระกูลถั่วในแปลงทดลอง เปรียบเทียบกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมแบบผง ณ แปลงทดลองของศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์ลพบุรี ใช้ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ถั่วเขียวพันธุ์ชัชานา 84-1 ถั่วลิสงพันธุ์ไทนาน ใส่ปุ๋ยเคมี 3-3-3 กิโลกรัม  $N-P_2O_5-K_2O$  ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมแบบผง 200 กรัมต่อไร่ ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมในวัสดุพาแบบเหลว 50 มิลลิลิตรต่อไร่ ทำการทดสอบกับถั่วเหลืองด้วยสูตรอาหาร YM (สูตร 1) YM+CMC 1.5 กรัมต่อลิตร (สูตร 2) YM + Soluble starch 1 กรัมต่อลิตร (สูตร 3) YM + CMC 1.5 กรัมต่อลิตร + Soluble starch 1 กรัมต่อลิตร (สูตร 4) ทดสอบกับถั่วเขียวด้วยสูตรอาหาร YM (สูตร 1) YM + MgO 1 กรัมต่อลิตร (สูตร 2) YM + CMC 1.5 กรัมต่อลิตร + Soluble starch 1 กรัมต่อลิตร (สูตร 3) YM + Soluble starch 1 กรัมต่อลิตร+ MgO 1 กรัมต่อลิตร (สูตร 4) และถั่วลิสงด้วยสูตรอาหาร YM (สูตร 1) YM+CMC 1.5 กรัมต่อลิตร (สูตร 2) YM + Soluble starch 1 กรัมต่อ

ลิตร (สูตร 3)  $YM + MgO$  1 กรัมต่อลิตร (สูตร 4) วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCB) จำนวน 4 ซ้ำ 7 กรรมวิธี ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ยเคมีและไม่ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม

กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมี 3-3-3 กิโลกรัม  $N-P_2O_5-K_2O$  ต่อไร่และไม่ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม

กรรมวิธีที่ 3 ใส่ปุ๋ยเคมี 0-3-3 กิโลกรัม  $N-P_2O_5-K_2O$  ต่อไร่และใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมแบบผง

กรรมวิธีที่ 4 ใส่ปุ๋ยเคมี 0-3-3 กิโลกรัม  $N-P_2O_5-K_2O$  ต่อไร่และปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมสูตรที่ 1

กรรมวิธีที่ 5 ใส่ปุ๋ยเคมี 0-3-3 กิโลกรัม  $N-P_2O_5-K_2O$  ต่อไร่และปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมสูตรที่ 2

กรรมวิธีที่ 6 ใส่ปุ๋ยเคมี 0-3-3 กิโลกรัม  $N-P_2O_5-K_2O$  ต่อไร่และปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมสูตรที่ 3

กรรมวิธีที่ 7 ใส่ปุ๋ยเคมี 0-3-3 กิโลกรัม  $N-P_2O_5-K_2O$  ต่อไร่และปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมสูตรที่ 4

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

เตรียมแปลงทดลอง ขนาดแปลงทดลอง 4x6 เมตร ระยะปลูก ถั่วเหลือง 50 x 25 เซนติเมตร ถั่วเขียว 50 x 25 เซนติเมตร ถั่วลิสง 50 x 50 เซนติเมตร ถอนแยกเหลือ 2 ต้นต่อหลุม แปลงละ 6 แถว ใส่ปุ๋ยเคมีและคลุกเมล็ดด้วยปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมตามกรรมวิธี ปลูกถั่วเขียวและถั่วลิสง เมื่อวันที่ 23 พ.ค. 2562 ถั่วเหลือง เมื่อวันที่ 9 ก.ค. 2562 วัดประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของถั่วเขียวและถั่วลิสง เมื่อวันที่ 2 ก.ค. 2562 และวัดประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลือง เมื่อวันที่ 28 ส.ค. 2562 เก็บผลผลิตถั่วเขียวเมื่อวันที่ 30 ก.ค. 2562 เก็บผลผลิตถั่วลิสง เมื่อวันที่ 28 ส.ค. 2562 และถั่วเหลืองเมื่อวันที่ 15 ต.ค. 2562

- การบันทึกข้อมูล

1. ทดสอบวัสดุคุณภาพแบบเหลวชนิดต่างๆที่เหมาะสมกับเชื้อไรโซเบียม ตรวจนับปริมาณเชื้อไรโซเบียมที่มีชีวิตด้วยวิธี viable plate count และประสิทธิภาพการเข้าสร้างปมด้วยวิธี Most Probable Number (MPN) ตั้งแต่วันที่ 0 15 30 60 90 120 150 และ 180 วัน

2. ทดสอบประสิทธิภาพปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมแบบเหลวต่อการเจริญเติบโตของพืชตระกูลถั่วในกระถางทดลอง เก็บข้อมูลประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนด้วยวิธี Acetylene Reduction Assay น้ำหนักแห้งทั้งหมด น้ำหนักแห้งราก น้ำหนักแห้งปม จำนวนปม เมื่อถั่วเหลือง ถั่วเขียว และถั่วลิสง อายุ 35, 35 และ 40 วัน ตามลำดับ

3. ทดสอบประสิทธิภาพปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมแบบเหลวในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพืชตระกูลถั่วในแปลงทดลอง เมื่อถั่วเหลือง ถั่วเขียว และถั่วลิสง ที่อายุ 36, 39 และ 39 วัน เก็บเกี่ยวถั่วเหลือง ถั่วเขียว และถั่วลิสง ที่อายุ 105, 67 และ 95 วัน ตามลำดับ เก็บข้อมูลประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนด้วยวิธี Acetylene Reduction Assay น้ำหนักแห้งทั้งหมด น้ำหนักแห้งราก น้ำหนักแห้งปม จำนวนปม และผลผลิตเมล็ดถั่วที่ความชื้น 15 เปอร์เซ็นต์

- เวลาและสถานที่

ระยะเวลา

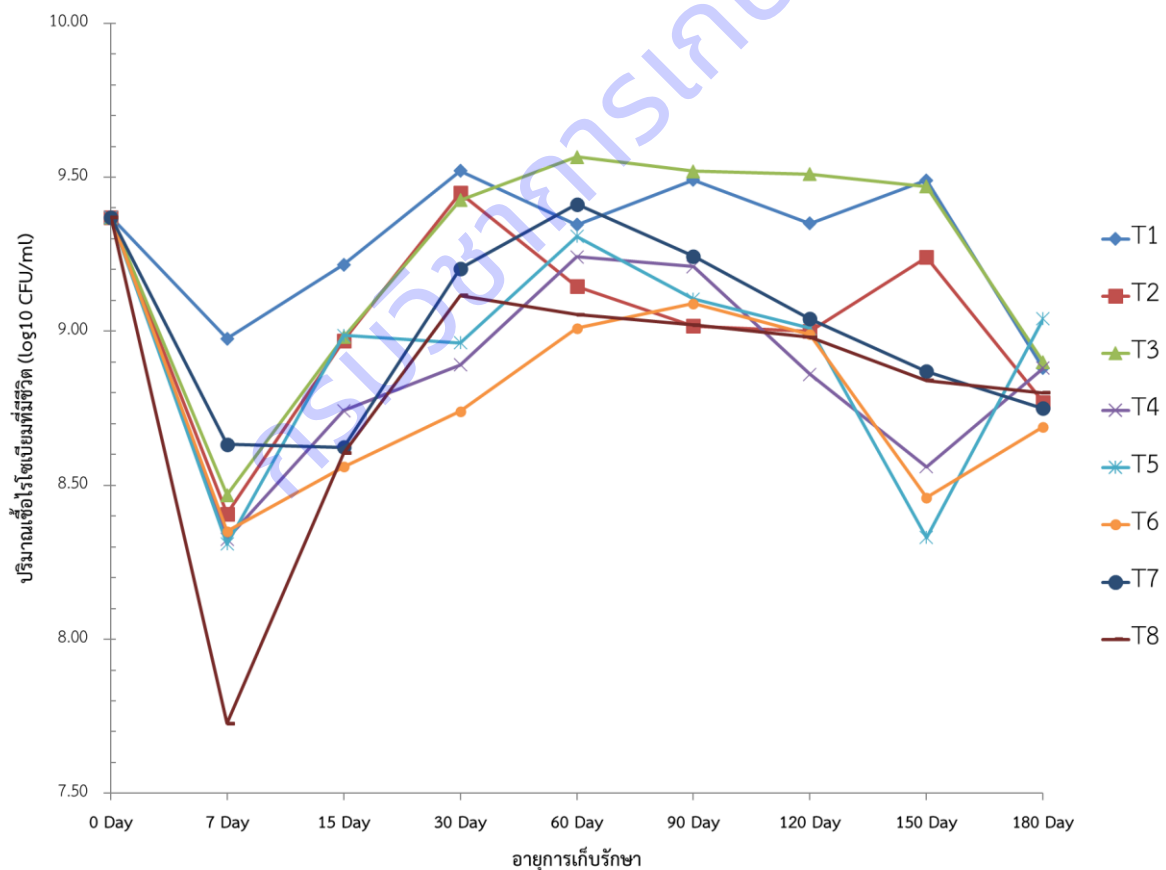
ตุลาคม 2559 – กันยายน 2563

สถานที่ทำการทดลอง    กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร  
ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์ลพบุรี จ. ลพบุรี

## 7. ผลการทดลองและวิจารณ์

### 8.1 การทดสอบวัสดุพาแบบเหลวที่เหมาะสมกับเชื้อไรโซเบียม

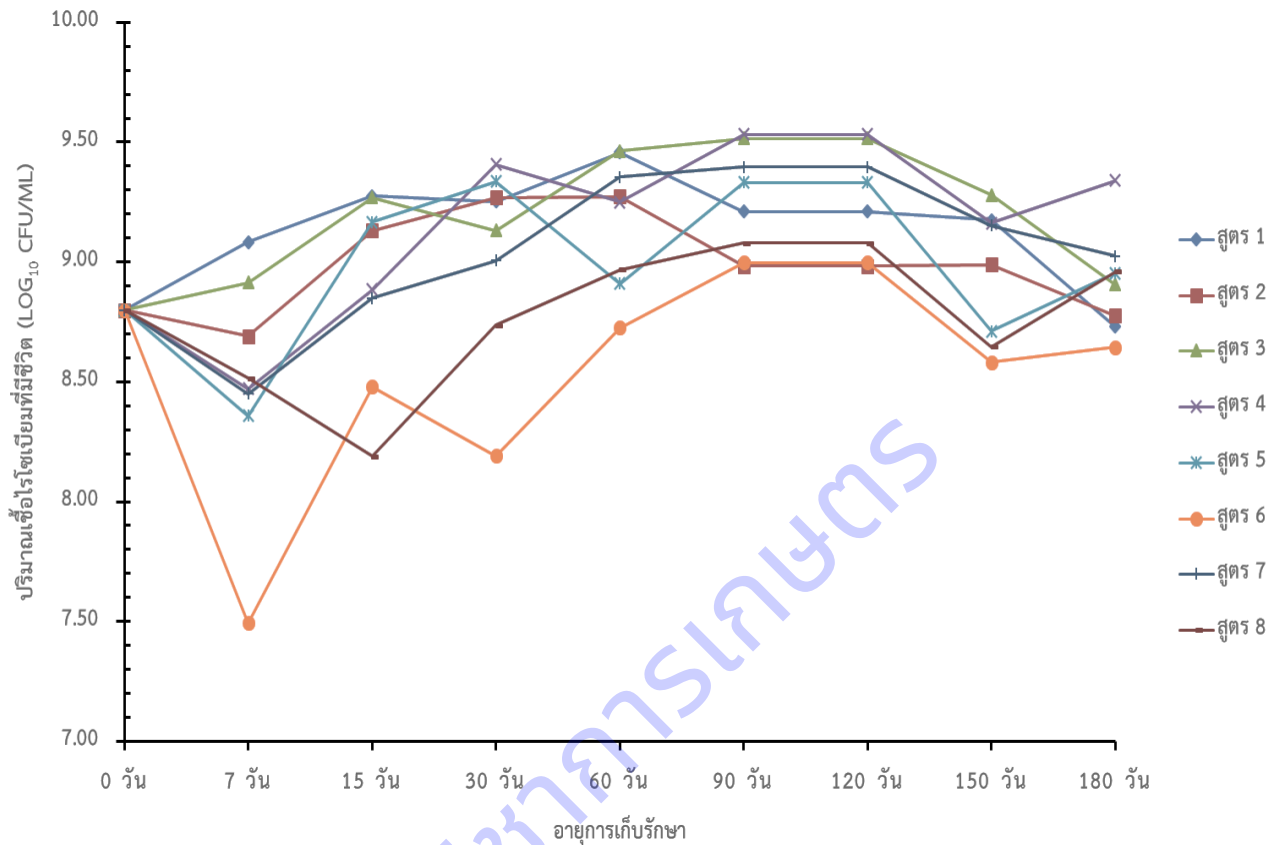
การทดสอบสูตรอาหารที่เหมาะสมในการผลิตเชื้อไรโซเบียมแบบเหลว โดยใช้เชื้อไรโซเบียมที่ใช้ผลิตปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมถั่วเหลือง ถั่วเขียว และถั่วลิสงในการทดลอง เพื่อศึกษาความเหมาะสมของวัสดุพาแบบเหลวทั้ง 8 สูตรและอายุการเก็บรักษา โดยดูจากปริมาณเชื้อไรโซเบียมที่มีชีวิตที่เก็บรักษาจนถึง 180 วัน ผลการทดลองพบว่าเมื่อเก็บรักษาเชื้อไรโซเบียมผ่านไป 180 วัน เชื้อไรโซเบียมถั่วเหลืองสามารถเจริญได้ในวัสดุพาแบบเหลวทุกสูตร และวัสดุพาแบบเหลวสูตรที่ 5 (YM medium + CMC 1.5 กรัมต่อลิตร + Soluble starch 1 กรัมต่อลิตร) มีปริมาณเชื้อไรโซเบียมถั่วเหลืองที่มีชีวิตสูงสุดที่  $1.08 \times 10^9$  โคโลนีต่อมิลลิลิตร (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 ปริมาณของเชื้อไรโซเบียมถั่วเหลืองในวัสดุพาแบบเหลวเมื่ออายุการเก็บรักษา 180 วัน

หมายเหตุ ปริมาณเชื้อไรโซเบียมเริ่มต้น =  $9.37 \log_{10}$  CFU/ml

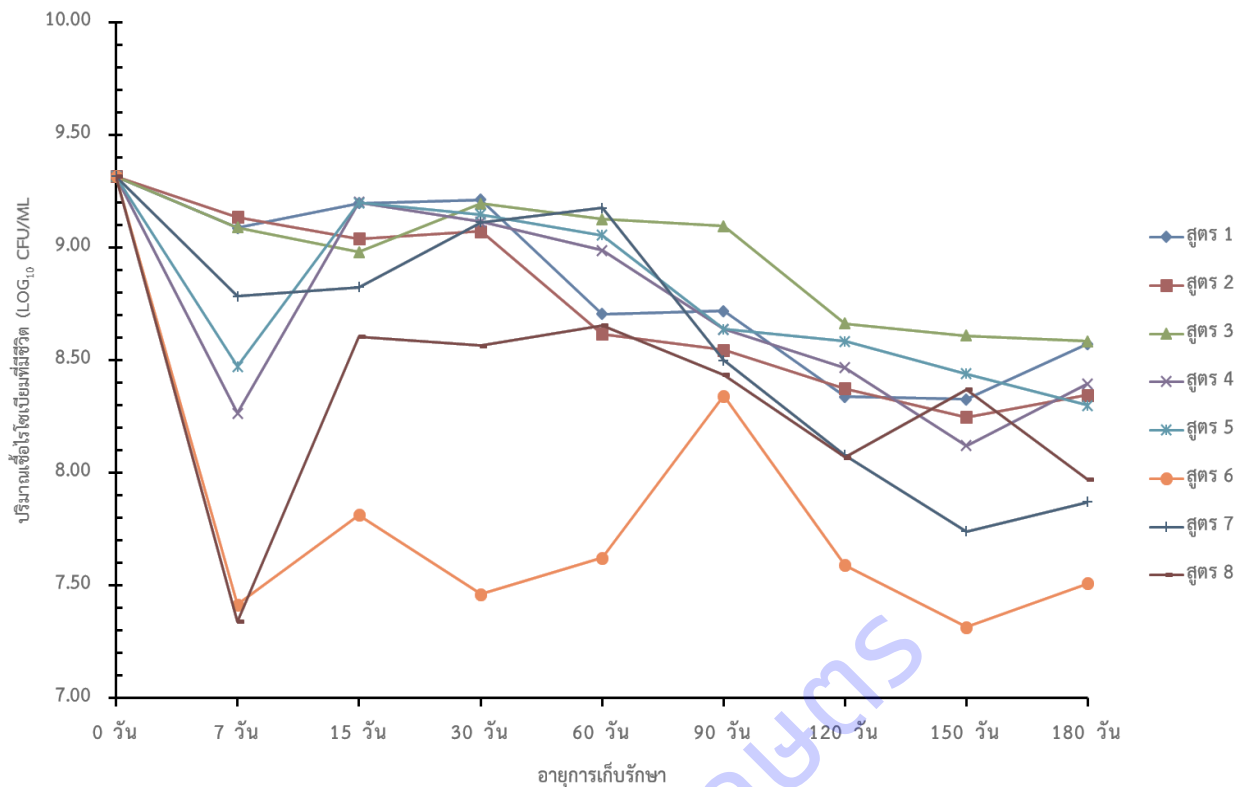
เชื้อโรโซเปียมถั่วเขียวสามารถเจริญได้ดีในวัสดุพาแบบเหลวทุกสูตร การเจริญของเชื้อโรโซเปียมถั่วเขียวในวัสดุพาแบบเหลวสูตรที่ 4 (YM medium + MgO 1 กรัมต่อลิตร) มีปริมาณเชื้อโรโซเปียมถั่วเขียวที่มีชีวิตสูงสุดที่  $2.18 \times 10^9$  โคโลนีต่อมิลลิลิตร (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 ปริมาณของเชื้อโรโซเปียมถั่วเขียวในวัสดุพาแบบเหลวเมื่ออายุการเก็บรักษา 180 วัน

หมายเหตุ ปริมาณเชื้อโรโซเปียมเริ่มต้น =  $8.79 \log_{10} \text{CFU/ml}$

เชื้อโรโซเปียมถั่วลิสงสามารถเจริญได้ดีในวัสดุพาแบบเหลวทุกสูตร และวัสดุพาแบบเหลวสูตรที่ 3 (YM medium + Soluble starch 1 กรัมต่อลิตร) มีปริมาณเชื้อโรโซเปียมถั่วลิสงที่มีชีวิตสูงสุดที่  $3.83 \times 10^8$  โคโลนีต่อมิลลิลิตร (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 ปริมาณของเชื้อโรโซเปียมมัลติสิงในวัสดุพาแบบเหลวเมื่ออายุการเก็บรักษา 180 วัน

หมายเหตุ ปริมาณเชื้อโรโซเปียมเริ่มต้น = 9.31 log<sub>10</sub> CFU/ml

## 8.2 การทดสอบประสิทธิภาพปุ๋ยชีวภาพโรโซเปียมแบบเหลวในกระถางทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อโรโซเปียมแบบเหลวสำหรับถั่วเหลือง ถั่วเขียว และถั่วลิสง ในกระถางทดลอง ผลการทดลองพบว่าประสิทธิภาพเชื้อโรโซเปียมสำหรับถั่วเหลือง กรรมวิธีที่ 2 (KNO<sub>3</sub>) ให้น้ำหนักต้นแห้ง 4.01 กรัม แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กรรมวิธีที่ 3 4 5 และ 6 มีจำนวนปม 55 64 61 และ 58 ปม ต่อกระถาง น้ำหนักปมสด 1.00 1.10 1.00 และ 1.00 กรัมต่อกระถาง น้ำหนักปมแห้ง 0.23 0.26 0.23 และ 0.24 กรัมต่อกระถาง ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ตามลำดับ ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน กรรมวิธีที่ 4 (Rhi+CMC 1.5 กรัมต่อลิตร) มีค่าการตรึงไนโตรเจนสูงที่สุด 19.16 ไมโครโมลเอทิลีนต่อชั่วโมงต่อกระถาง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ตามลำดับ (ตารางที่ 1)



ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพเชื้อไรโซเบียมแบบเหลวสำหรับถั่วเหลืองในกระถางทดลอง

กรรมวิธี	จำนวนปม	น.น.ปมสด (กรัม)	น.น.ปมแห้ง (กรัม)	น.น.ต้นแห้ง (กรัม)	ประสิทธิภาพการตรึง ไนโตรเจน (ไมโครโมลเอทธิ ลีนต่อชั่วโมงต่อกระถาง)
กรรมวิธีที่ 1 (control)	0	0	0	1.87 c	0.8456 c
กรรมวิธีที่ 2 (KNO <sub>3</sub> +PK)	0	0	0	4.01 a	0.6024 c
กรรมวิธีที่ 3 (PK+Rhi ผง)	55 a	1.00 a	0.23 a	3.20 b	11.0694 b
กรรมวิธีที่ 4 (PK+Rhi+CMC 1.5 g/L)	64 a	1.10 a	0.26 a	3.25 b	19.1634 a
กรรมวิธีที่ 5 (PK+Rhi+Soluble starch 1 g/L)	61 a	1.00 a	0.23 a	3.03 b	10.5673 b
กรรมวิธีที่ 6 (PK+Rhi+CMC 1.5 g/L+Soluble starch 1 g/L)	58 a	1.00 a	0.24 a	3.10 b	15.7247 ab
CV	26.55	27.66	25.01	18.99	56.84

ค่าที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเดียวกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $\alpha = 0.05$ , DMRT)

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อไรโซเบียมถั่วเขียวในกระถางทดลอง กรรมวิธีที่ 2 (KNO<sub>3</sub>) ให้น้ำหนักต้นแห้ง 4.79 กรัม แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กรรมวิธีที่ 3 4 5 และ 6 มีจำนวนปม 83 109 82 และ 102 ปมต่อกระถาง ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ตามลำดับ กรรมวิธีที่ 4 (Rhi+MgO 1 กรัมต่อลิตร) ให้น้ำหนักปมสด 0.91 กรัมต่อกระถาง น้ำหนักปมแห้ง 0.15 กรัมต่อกระถาง และมีค่าการตรึงไนโตรเจน 5.193 ไมโครโมลเอทธิลีนต่อชั่วโมงต่อกระถาง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพเชื้อไรโซเบียมแบบเหลวสำหรับถั่วเขียวในกระถางทดลอง

กรรมวิธี	จำนวนปม	น.น.ปมสด (กรัม)	น.น.ปมแห้ง (กรัม)	น.น.ต้นแห้ง (กรัม)	ประสิทธิภาพการตรึง ไนโตรเจน (ไมโครโมลเอทธิ ลีนต่อชั่วโมงต่อกระถาง)
กรรมวิธีที่ 1 (control)	0	0	0	0.60 d	1.6742 bc
กรรมวิธีที่ 2 (KNO <sub>3</sub> + PK)	0	0	0	4.79 a	1.3412 c
กรรมวิธีที่ 3 (PK +Rhi ผง)	83 a	0.60 b	0.09 b	3.07 b	3.4892 ab
กรรมวิธีที่ 4 (PK +Rhi+MgO 1 g/L)	109 a	0.91 a	0.15 a	3.53 b	5.1983 a
กรรมวิธีที่ 5 (PK +Rhi+CMC 1.5 g/L+Soluble starch 1 g/L)	82 a	0.51 b	0.09 b	2.22 c	3.6311 ab
กรรมวิธีที่ 6 (PK Rhi+Soluble starch 1 g/L+MgO 1 g/L)	102 a	0.59 b	0.11 ab	2.80 bc	3.0593 bc
CV	43.43	43.83	53.68	27.77	54.6

ค่าที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเดียวกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $\alpha = 0.05$ , DMRT)

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อไรโซเบียมแบบเหลวสำหรับถั่วลิสงในกระถางทดลอง กรรมวิธีที่ 2 (KNO<sub>3</sub>) ให้น้ำหนักต้นแห้ง 5.09 กรัม แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กรรมวิธีที่ 3 4 5 และ 6 มีจำนวนปม 27 30 29 และ 22 ปมต่อกระถาง ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ตามลำดับ กรรมวิธีที่ 3

(PK+Rhi ผง) ให้น้ำหนักปมสด 0.58 กรัมต่อกระถาง น้ำหนักปมแห้ง 0.19 กรัมต่อกระถาง มีค่าการตรึงไนโตรเจน 16.74 ไมโครโมลเอทิลีนต่อชั่วโมงต่อกระถาง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพเชื้อไรโซเบียมแบบเหลวสำหรับถั่วลิสงในกระถางทดลอง

กรรมวิธี	จำนวนปม	นน.ปมสด (กรัม)	นน.ปมแห้ง (กรัม)	นน.ต้นแห้ง (กรัม)	ประสิทธิภาพการตรึง ไนโตรเจน (ไมโครโมลเอทิลีนต่อชั่วโมงต่อกระถาง)
กรรมวิธีที่ 1 (control)	0	0	0	3.02 bc	0.52 c
กรรมวิธีที่ 2 (KNO <sub>3</sub> + PK)	0	0	0	5.09 a	0.59 c
กรรมวิธีที่ 3 (PK+Rhi ผง)	27 a	0.58 a	0.19 a	3.29 b	16.74 a
กรรมวิธีที่ 4 (PK+Rhi+CMC 1.5 g/l)	30 a	0.52 ab	0.1 b	3.04 bc	13.50 ab
กรรมวิธีที่ 5 (PKRhi+Soluble starch 1 g/l)	29 a	0.50 ab	0.09 b	2.93 bc	11.81 ab
กรรมวิธีที่ 6 (PK+Rhi+MgO 1 g/l)	22 a	0.34 b	0.06 b	2.20 c	8.90 b
CV	69.34	54.95	53.53	29.23	65.26

ค่าที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเดียวกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $\alpha = 0.05$ , DMRT)

8.3 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อไรโซเบียมแบบเหลวสำหรับถั่วเหลือง ถั่วเขียว และถั่วลิสง ในแปลงทดลอง

ผลการวิเคราะห์ธาตุอาหารในดินจากแปลงทดลองของศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์ลพบุรี มีอินทรีย์วัตถุปานกลาง 1.25-1.28 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 31.11-31.38 มิลลิกรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 69.47-69.72 มิลลิกรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์ธาตุอาหารในดินก่อนการปลูกแปลงทดลองของศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์ลพบุรี

ความลึก (ซม.)	Organic Matter (%)	Available P (Bray II) (mg/kg)	Exchangeable K (mg/kg)
0-20	1.284	31.38	69.47
20-50	1.251	31.11	69.72

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อไรโซเบียมแบบเหลวสำหรับถั่วเหลืองในแปลงทดลองพบว่าเชื้อไรโซเบียมแบบเหลวกรรมวิธีที่ 6 (PK+Rhi+Soluble starch 1 กรัมต่อลิตร) มีจำนวนปม น้ำหนักปมสด และน้ำหนักปมแห้งมากที่สุดที่ 56.37 ปม 0.83 กรัม และ 0.19 กรัม ตามลำดับแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กรรมวิธีที่ 4 (PK+Rhi+YM medium) มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนสูงที่สุด 24.21 ไมโครโมลเอทิลีนต่อ

ข้าวโม่ต่อนัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนน้ำหนักต้นแห้งและรากแห้งในแต่ละกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ 6 มีแนวโน้มให้น้ำหนักต้นแห้งและรากแห้งมากที่สุดดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ประสิทธิภาพเชื้อไรโซเบียมแบบเหลวสำหรับถั่วเหลืองในแปลงทดลองศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์ลพบุรี ปี 2562

กรรมวิธี	จำนวน ปม	นน.ปมสด (กรัม)	นน.ปมแห้ง (กรัม)	นน.ต้นแห้ง (กรัม)	นน.ราก แห้ง (กรัม)	ประสิทธิภาพ การตรึง ไนโตรเจน (ไม โครโมเลทอิสิน ต่อข้าวโม่ต่อนัน)
กรรมวิธีที่ 1 (control)	17.75 b	0.25 c	0.07 b	57.48	4.68	7.56 c
กรรมวิธีที่ 2 (NPK)	15.62 b	0.28 c	0.08 b	65.84	5.04	5.6 c
กรรมวิธีที่ 3 (PK+Rhi ผง)	48.00 a	0.48 bc	0.12 ab	57.38	4.8	22.30 ab
กรรมวิธีที่ 4 (PK+Rhi+YM medium)	50.75 a	0.76 ab	0.19 a	61.15	5.54	24.21 a
กรรมวิธีที่ 5 (PK+Rhi+CMC 1.5 g/l)	42.75 a	0.35 c	0.08 b	68.51	5.45	13.02 bc
กรรมวิธีที่ 6 (PK+Rhi+Soluble starch 1 g/l)	56.37 a	0.83 a	0.19 a	69.78	5.82	19.21 ab
กรรมวิธีที่ 7 (PK+Rhi+CMC 1.5 g/l+Soluble starch 1 g/l)	49.35 a	0.54 abc	0.13 ab	60.43	5.15	20.18 ab
CV.	57.55	66.68	66.47	25.59	23.27	59.4

ค่าที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเดียวกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $\alpha = 0.05$ , DMRT)

ผลผลิตของถั่วเหลือง ผลผลิตต่อไร่ กรรมวิธีที่ 2 (NPK) ให้น้ำหนักเมล็ดแห้งต่อต้นและเมล็ดแห้ง 11.87 กรัมต่อต้น และ 379.62 กิโลกรัมต่อไร่ที่ความชื้น 15 เปอเซ็นต์ ตามลำดับแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ น้ำหนักต้นสดในแต่ละกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ผลผลิตถั่วเหลืองในแปลงทดลองศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์ลพบุรี ปี 2562

กรรมวิธี	น้ำหนักเมล็ดแห้ง (กรัม/ต้น)	น้ำหนักต้นสด (กิโลกรัม/ไร่)	น้ำหนักเมล็ดแห้ง (กิโลกรัม/ไร่)
กรรมวิธีที่ 1 (control)	7.22 ab	2508.5	231.07 ab
กรรมวิธีที่ 2 (NPK)	11.87 a	2367.3	379.62 a
กรรมวิธีที่ 3 (PK+Rhi ผง)	6.92 ab	1704.6	221.32 ab
กรรมวิธีที่ 4 (PK+Rhi+YM medium)	8.09 ab	2089.8	258.97 ab
กรรมวิธีที่ 5 (PK+Rhi+CMC 1.5 g/l)	7.96 ab	2251.0	254.62 ab
กรรมวิธีที่ 6 (PK+Rhi+Soluble starch 1 g/l)	9.19 ab	2197.1	294.19 ab
กรรมวิธีที่ 7 (PK+Rhi+CMC 1.5 g/l+Soluble starch 1 g/l)	6.58 b	1722.2	210.61 b
CV	34.38	27.73	34.39

ค่าที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเดียวกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $\alpha = 0.05$ , DMRT)

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อไรโซเบียมแบบเหลวสำหรับถั่วเขียวพบว่า กรรมวิธีที่ 5 (Rhi+MgO 1 กรัมต่อลิตร) มีจำนวนปม น้ำหนักปมสด น้ำหนักปมแห้ง และประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน สูงที่สุด 39.75 ปม 0.48 กรัม 0.17 กรัม และ 8.22 ไมโครโมลเอทิสีนต่อชั่วโมงต่อต้น ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนน้ำหนักต้นแห้งและรากแห้งในแต่ละกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ กรรมวิธีที่ 2 (NPK) ให้น้ำหนักต้นแห้งสูงสุด 31.85 กรัม กรรมวิธีที่ 1 (control) ให้น้ำหนักรากแห้งสูงสุด 6.87 กรัม ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ประสิทธิภาพเชื้อไรโซเบียมแบบเหลวสำหรับถั่วเขียวในแปลงทดลองศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์ลพบุรี ปี 2562

กรรมวิธี	จำนวน ปม	นน.ปมสด (กรัม)	นน.ปมแห้ง (กรัม)	นน.ต้นแห้ง (กรัม)	นน.รากแห้ง (กรัม)	ประสิทธิภาพการ ตรึงไนโตรเจน (ไมโครโมลเอทิสีนต่อชั่วโมงต่อ ต้น)
กรรมวิธีที่ 1 (control)	15.13 d	0.32 bc	0.11 bc	31.37	6.87	1.69 de
กรรมวิธีที่ 2 (NPK ตามค่าวิเคราะห์ดิน)	6.00 e	0.14 d	0.06 bc	31.85	6.50	1.27 e
กรรมวิธีที่ 3 (PK+Rhi ผง)	18.25 d	0.35 b	0.11 bc	30.72	6.44	4.12 cd
กรรมวิธีที่ 4 (PK+Rhi+YM medium)	35.25 ab	0.40 ab	0.14 ab	29.42	5.71	5.14 bc
กรรมวิธีที่ 5 (PK+Rhi+MgO 1 g/l)	39.75 a	0.48 a	0.17 a	29.80	6.80	8.22 a
กรรมวิธีที่ 6 (PK+Rhi+CMC 1.5 g/l+Soluble starch 1 g/l)	27.25 bc	0.33 bc	0.11 bc	25.33	5.82	6.37 abc
กรรมวิธีที่ 7 (PK+Rhi+Soluble strach 1 g/l+MgO 1 g/l)	20.87 cd	0.23 cd	0.07 cd	26.63	5.91	7.30 ab
CV.	34.60	31.54	32.54	29.37	24.38	50.22

ค่าที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเดียวกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $\alpha = 0.05$ , DMRT)

ผลผลิตของถั่วเขียว ณ วันเก็บเกี่ยว น้ำหนักฝัก ผลผลิตต่อไร่และน้ำหนัก 1000 เมล็ด ไม่แตกต่างกันทางสถิติ กรรมวิธีที่ 4 (Rhi+YM medium) มีแนวโน้มให้น้ำหนักฝัก ผลผลิตต่อไร่และน้ำหนัก 1000 เมล็ดสูงสุดที่ 335.5 กิโลกรัมต่อไร่ 211.2 กิโลกรัมต่อไร่ และ 72 กรัม ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ผลผลิตถั่วเขียวในแปลงทดลองศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์ลพบุรี ปี 2562

กรรมวิธี	น้ำหนักฝัก (กิโลกรัม/ไร่)	น้ำหนักเมล็ด (กิโลกรัม/ไร่)	น้ำหนัก 1000 เมล็ด (กรัม)
กรรมวิธีที่ 1 (control)	298.6	191.1	69
กรรมวิธีที่ 2 (NPK)	295.7	184.1	71
กรรมวิธีที่ 3 (PK+Rhi ผง)	303.4	191.2	71
กรรมวิธีที่ 4 (PK+Rhi+YM medium)	335.5	211.2	72
กรรมวิธีที่ 5 (PK+Rhi+MgO 1 g/l)	283.4	184.4	71
กรรมวิธีที่ 6 (PK+Rhi+CMC 1.5 g/l+Soluble starch 1 g/l)	281.6	174.4	67
กรรมวิธีที่ 7 (PK+Rhi+Soluble starch 1 g/l+MgO 1 g/l)	268.5	151.3	69
CV	19.58	23.2	7.97

ค่าที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเดียวกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $\alpha = 0.05$ , DMRT)

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อไรโซเบียมแบบเหลวสำหรับถั่วลิสงพบว่า กรรมวิธีที่ 5 (Rhi+CMC 1.5 กรัมต่อลิตร) มีจำนวนปม และประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนสูงที่สุด 271.5 ปม และ 12.1 ไมโครโมลเอทิสีนต่อชั่วโมงต่อต้นตามลำดับ ส่วนน้ำหนักปมสด น้ำหนักปมแห้ง น้ำหนักต้นแห้ง และน้ำหนักรากแห้งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ประสิทธิภาพเชื้อไรโซเบียมแบบเหลวสำหรับถั่วลิสงในแปลงทดลองศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์ลพบุรี ปี 2562

กรรมวิธี	จำนวนปม	น.น.ปมสด (กรัม)	น.น.ปมแห้ง (กรัม)	น.น.ต้นแห้ง (กรัม)	น.น.รากแห้ง (กรัม)	ประสิทธิภาพการตรึง ไนโตรเจน (ไมโครโมล เอทิสีนต่อชั่วโมงต่อ ต้น)
กรรมวิธีที่ 1 (control)	204.63 bc	0.38	0.15	1.49	42.19	2.44 c
กรรมวิธีที่ 2 (NPK)	169.38 cd	0.31	0.13	1.56	44.01	4.26 bc
กรรมวิธีที่ 3 (PK+Rhi ผง)	183.5 bcd	0.24	0.10	1.71	42.36	7.74 ab
กรรมวิธีที่ 4 (PK+Rhi+YM medium)	222.25 ab	0.40	0.15	1.53	38.08	7.03 bc
กรรมวิธีที่ 5 (PK+Rhi+CMC 1.5 g/l)	271.5 a	0.33	0.08	1.99	42.54	12.1 a
กรรมวิธีที่ 6 (PK+Rhi+Soluble starch 1 g/l)	167.75 cd	0.28	0.08	1.68	36.12	6.59 bc
กรรมวิธีที่ 7 (PK+Rhi+MgO 1 g/l)	147.13 d	0.28	0.09	1.67	43.36	7.67 ab
CV.	25.62	58.15	76.70	20.71	28.14	73.39

ค่าที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเดียวกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $\alpha = 0.05$ , DMRT)

ผลผลิตของถั่วลิสง กรรมวิธีที่ 2 (NPK) ให้น้ำหนักฝักมากที่สุดที่ 728.9 กิโลกรัมต่อไร่ แตกต่างกันทางสถิติแต่น้ำหนักฝักแห้ง และน้ำหนักเมล็ด ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ 2 มีแนวโน้มให้น้ำหนักฝักแห้งสูงที่สุดที่

311.1 กิโลกรัมต่อไร่ และกรรมวิธีที่ 7 (Rhi+MgO 1 กรัมต่อลิตร) ให้น้ำหนักเมล็ด 202.3 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ  
 ดังแสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ผลผลิตถั่วลิสงในแปลงทดลองศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์ลพบุรี ปี 2562

กรรมวิธี	น้ำหนักฝักสด (กก./ไร่)	น้ำหนักฝักแห้ง (กก./ไร่)	น้ำหนักเมล็ด (กก./ไร่)
กรรมวิธีที่ 1 (control)	544.5 b	253.3	161.1
กรรมวิธีที่ 2 (NPK)	728.9 a	311.1	192.6
กรรมวิธีที่ 3 (PK+Rhi ผง)	633.3 ab	255.5	166.3
กรรมวิธีที่ 4 (PK+Rhi+YM medium)	573.33 ab	260.0	169.9
กรรมวิธีที่ 5 (PK+Rhi+CMC 1.5 g/l)	648.9 ab	300.0	190.2
กรรมวิธีที่ 6 (PK+Rhi+Soluble starch 1 g/l)	686.7 ab	302.2	202.0
กรรมวิธีที่ 7 (PK+Rhi+MgO 1 g/l)	682.2 ab	297.8	202.3
cv	14.52	16.55	16.44

ค่าที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเดียวกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $\alpha = 0.05$ , DMRT)

## 8. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ :

การศึกษาวัสดุพาแบบเหลวที่เหมาะสมในการผลิตปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมแบบเหลวสำหรับพืชตระกูลถั่ว (ถั่วเหลือง ถั่วเขียว และถั่วลิสง) โดยมีสูตรอาหาร YM เป็นสูตรอาหารพื้นฐาน เชื้อไรโซเบียมถั่วเหลืองสามารถเจริญได้ในวัสดุพาแบบเหลวทุกสูตร และวัสดุพาแบบเหลวสูตรที่ 5 (YM medium + CMC 1.5 กรัมต่อลิตร + Soluble starch 1 กรัมต่อลิตร) เมื่ออายุการเก็บรักษา 180 วัน มีปริมาณเชื้อไรโซเบียมถั่วเหลืองที่มีชีวิตสูงสุดที่  $1.08 \times 10^9$  โคโลนีต่อมิลลิลิตร เชื้อไรโซเบียมถั่วเขียวสามารถเจริญได้ดีในวัสดุพาแบบเหลวทุกสูตร การเจริญของเชื้อไรโซเบียมถั่วเขียวในวัสดุพาแบบเหลวสูตรที่ 4 (YM medium + MgO 1 กรัมต่อลิตร) เมื่ออายุการเก็บรักษา 180 วัน มีปริมาณเชื้อไรโซเบียมถั่วเขียวที่มีชีวิตสูงสุดที่  $2.18 \times 10^9$  โคโลนีต่อมิลลิลิตร เชื้อไรโซเบียมถั่วลิสงสามารถเจริญได้ในวัสดุพาแบบเหลวทุกสูตร และวัสดุพาแบบเหลวสูตรที่ 3 (YM medium + Soluble starch 1 กรัมต่อลิตร) เมื่ออายุการเก็บรักษา 180 วัน มีปริมาณเชื้อไรโซเบียมถั่วลิสงที่มีชีวิตสูงสุดที่  $3.83 \times 10^8$  โคโลนีต่อมิลลิลิตร

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อไรโซเบียมแบบเหลวสำหรับถั่วเหลือง ถั่วเขียว และถั่วลิสง ในกระถางทดลองพบว่าประสิทธิภาพเชื้อไรโซเบียมสำหรับถั่วเหลือง กรรมวิธีที่ 2 ( $KNO_3$ ) ให้น้ำหนักต้นแห้ง 4.01 กรัม แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กรรมวิธีที่ 3 4 5 และ 6 มีจำนวนปม 55 64 61 และ 58 ปมต่อกระถาง น้ำหนักปมสด 1.00 1.10 1.00 และ 1.00 กรัมต่อกระถาง น้ำหนักปมแห้ง 0.23 0.26 0.23 และ 0.24 กรัมต่อกระถาง ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ตามลำดับ ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนกรรมวิธีที่ 4 (PK+Rhi+CMC 1.5 กรัมต่อลิตร) มีค่าการตรึงไนโตรเจนสูงที่สุด 19.16 ไมโครโมลเอทิลีนต่อชั่วโมงต่อกระถาง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ตามลำดับ ประสิทธิภาพเชื้อไรโซเบียมถั่วเขียวในกระถาง

ทดลอง กรรมวิธีที่ 2 ( $\text{KNO}_3$ ) ให้น้ำหนักต้นแห้ง 4.79 กรัม แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กรรมวิธีที่ 3 4 5 และ 6 มีจำนวนปม 83 109 82 และ 102 ปมต่อกระถาง ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ตามลำดับ กรรมวิธีที่ 4 ( $\text{PK}+\text{Rhi}+\text{MgO}$  1 กรัมต่อลิตร) ให้น้ำหนักปมสด 0.91 กรัมต่อกระถาง น้ำหนักปมแห้ง 0.15 กรัมต่อกระถาง และมีค่าการตรึงไนโตรเจน 5.19 3 ไมโครโมลเอทิสีนต่อชั่วโมงต่อกระถาง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ตามลำดับ การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อไรโซเบียมแบบเหลวสำหรับถั่วลันเตาในกระถางทดลอง กรรมวิธีที่ 2 ( $\text{KNO}_3$ ) ให้น้ำหนักต้นแห้ง 5.09 กรัม แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กรรมวิธีที่ 3 4 5 และ 6 มีจำนวนปม 27 30 29 และ 22 ปมต่อกระถาง ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ตามลำดับ กรรมวิธีที่ 3 ( $\text{PK}+\text{Rhi}$  ผง) ให้น้ำหนักปมสด 0.58 กรัม/ น้ำหนักปมแห้ง 0.19 มีค่าการตรึงไนโตรเจน 16.74 ไมโครโมลเอทิสีนต่อชั่วโมงต่อกระถาง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ตามลำดับ

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อไรโซเบียมแบบเหลวสำหรับถั่วเหลืองในแปลงทดลองพบว่าเชื้อไรโซเบียมแบบเหลวกรรมวิธีที่ 6 ( $\text{PK}+\text{Rhi}+\text{Soluble starch}$  1 กรัมต่อลิตร) มีจำนวนปม น้ำหนักปมสด และน้ำหนักปมแห้งมากที่สุดที่ 56.37 ปม 0.83 กรัม และ 0.19 กรัม ตามลำดับ กรรมวิธีที่ 4 ( $\text{PK}+\text{Rhi}+\text{YM medium}$ ) มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนสูงที่สุด 24.21 ไมโครโมลเอทิสีนต่อชั่วโมงต่อ 9ho แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนน้ำหนักต้นแห้งและรากแห้งในแต่ละกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ 6 มีแนวโน้มให้น้ำหนักต้นแห้งและรากแห้งมากที่สุดดังแสดงใน ผลผลิตของถั่วเหลือง กรรมวิธีที่ 2 ( $\text{NPK}$ ) ให้น้ำหนักเมล็ดต่อต้น และผลผลิตสูงสุด 11.87 กรัมต่อต้น และ 379.62 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ น้ำหนักต้นในแต่ละกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ ผลผลิตของถั่วเขียว ณ วันเก็บเกี่ยว น้ำหนักฝัก ผลผลิตต่อไร่ และน้ำหนัก 1000 เมล็ด ไม่แตกต่างกันทางสถิติ กรรมวิธีที่ 4 ( $\text{PK}+\text{Rhi}+\text{YM medium}$ ) มีแนวโน้มให้น้ำหนักฝัก ผลผลิตต่อไร่และน้ำหนัก 1000 เมล็ดสูงที่สุดที่ 335.5 กิโลกรัมต่อไร่ 211.2 กิโลกรัมต่อไร่ และ 72 กรัม ตามลำดับ การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อไรโซเบียมแบบเหลวสำหรับถั่วเขียวพบว่า กรรมวิธีที่ 5 ( $\text{Rhi}+\text{MgO}$  1 กรัมต่อลิตร) มีจำนวนปม น้ำหนักปมสด น้ำหนักปมแห้ง และประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน สูงที่สุด 39.75 ปม 0.48 กรัม 0.17 กรัม และ 8.22 ไมโครโมลเอทิสีนต่อชั่วโมงต่อต้น ตามลำดับ ส่วนน้ำหนักต้นแห้งและรากแห้งในแต่ละกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ กรรมวิธีที่ 2 ( $\text{NPK}$ ) ให้น้ำหนักต้นแห้งสูงที่สุด 31.85 กรัม กรรมวิธีที่ 1 (control) ให้น้ำหนักรากแห้งสูงที่สุด 6.87 กรัม การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อไรโซเบียมแบบเหลวสำหรับถั่วลันเตาพบว่า กรรมวิธีที่ 5 ( $\text{PK}+\text{Rhi}+\text{CMC}$  1.5 กรัมต่อลิตร) มีจำนวนปม และประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนสูงที่สุด 271.5 ปม และ 12.1 ไมโครโมลเอทิสีนต่อชั่วโมงต่อต้น ตามลำดับ ส่วนน้ำหนักปมสด น้ำหนักปมแห้ง น้ำหนักต้นแห้ง และน้ำหนักรากแห้ง ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ผลผลิตของถั่วลันเตา กรรมวิธีที่ 2 ( $\text{NPK}$ ) ให้น้ำหนักฝักมากที่สุดที่ 728.9 กิโลกรัมต่อไร่ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่ น้ำหนักฝักแห้ง และน้ำหนักเมล็ด ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ 2 มีแนวโน้มให้

น้ำหนักฝักแห้งสูงที่สุดที่ 311.1 กิโลกรัมต่อไร่ และกรรมวิธีที่ 7 (PK+Rhi+MgO 1 กรัมต่อลิตร) ให้น้ำหนักเมล็ด 202.3 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ

จากผลการทดลองพบว่าเชื้อไรโซเบียมสำหรับถั่วเหลือง ถั่วเขียว และถั่วลิสง สามารถเจริญได้ดีในวัสดุพาแบบเหลว และมีปริมาณเชื้อที่มีชีวิตเมื่ออายุการเก็บรักษา 180 วัน สูงกว่าเกณฑ์ที่กำหนดไว้ใน พรบ. ปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 ผลการทดสอบในแปลงทดลองพบว่าปุ๋ยชีวภาพแบบเหลวสำหรับถั่วเหลือง ถั่วเขียว และถั่วลิสง มีประสิทธิภาพไม่แตกต่างจากปุ๋ยชีวภาพแบบผงที่ใช้วัสดุอินทรีย์เป็นวัสดุรองรับ

## 9. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. สูตรอาหารและวัสดุพาแบบเหลวที่เหมาะสมสำหรับพืชตระกูลถั่ว (ถั่วเหลือง ถั่วเขียว และถั่วลิสง)
2. เทคโนโลยีการผลิตและผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมในรูปแบบของเหลว

## 10. คำขอบคุณ -

## 11. เอกสารอ้างอิง

- วิทยา ธนานุสนธิ์. 2538. การผลิตเชื้อไรโซเบียมเหลวแบบใหม่ งานวิจัยปุ๋ยชีวภาพ. กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร
- Brahmaprakash, P. G. and K. P. Sahu. 2012. Biofertilizers for sustainability. J. Indian Institute of Science. 92:37-62.
- Franca, C. R. R. S., M. A. Lira Junior, M. V. B. Figueiredo and N. P. S. G. A. e Silva. 2013. Feasibility of rhizobia conservation by liquid conditioners. Rev. Cienc. Agron. 44:661-668.
- Fernandes Junior, I. P., E. B. da Silva Junoir, S. da Silva Junoir, E. R. C. da Silva e Santos, P. J. de Oliveira, N. G. Rumjanek, L. V. M Martins and R. G. Xavier. 2012. Performance of polymer compositions as carrier to cowpea rhizobial inoculant formulations: Survival of rhizobia in pre inoculated seeds and field efficiency. Afr. J. Biotechnol. 11. 2945-2951.
- Pindi, K. P. and S. D. V. Satyanarayana. 2012. Liquid microbial consortium – a potential tool for sustainable soil health. J. Biofertil Biopestici. 3:124
- Tittabutr, P., W. Payakapong, N. Teaumroong, P. W. Singleton, and N. Boonkerd. 2007. Growth, survival and field performance of bradyrhizobial liquid inoculant formulations with polymeric additives. Science Asia. 33:69-77.