ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตแบบพร้อมใช้

Production Technology of Phosphate Biofertilizer

ภาวนา ลิกขนานนท์ *สุปรานี มั่นหมาย*

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตประเภทเชื้อรา *Penicillium pinophilum* ให้อยู่ในรูปแบบปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตแบบพร้อมใช้โดย 1.ศึกษาวิธีการเลี้ยงขยายปริมาณสปอร์ของ *Penicillium pinophilum* ในห้องปฏิบัติการ พบว่าวิธี solid substrate cultivation บนซับสเตรทที่เหมาะสมคือข้าวฟ่างและรำข้าวเจ้าหยาบในอัตราส่วน 2:1 (โดยน้ำหนัก) ที่บรรจุในถุงพลาสติก (150 กรัมต่อถุง) แล้วบ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 14 วัน ทำให้ได้สปอร์สีส้มของ *Penicillium pinophilum* มีปริมาณเท่ากับ 1 x 10^8 สปอร์ต่อกรัมของวัสดุ และมี shelf life ที่นานเพียงพอ 2. หาวัสดุพาที่เหมาะสมสำหรับเชื้อราละลายฟอสเฟต *Penicillium pinophilum* โดยศึกษาการมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อในวัสดุพาที่ทดลอง พบว่าการใช้ปุ๋ยหมักมูลโคบดละเอียด 50 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับซีโอไลท์ 50 เปอร์เซ็นต์ การใช้ปุ๋ยหมักมูลโคบดละเอียด 30 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับซีโอไลท์ 70 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เชื้อรามีชีวิตอยู่รอดได้นานเป็นระยะเวลาไม่ต่ำกว่า 360 วันโดยยังมีปริมาณถึง 10^6-10^8 เซลล์ต่อกรัมของวัสดุพา และยังคงแสดงประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตทุกระยะเวลา 0 7 15 30 60 90 120 180 และ 360 วัน 3. ทดสอบประสิทธิภาพและศึกษาหาวิธีการใช้ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตที่ผลิตกับพืชผักในสภาพเรือนทดลอง ผลการทดลองมีแนวโน้มว่าการใส่ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตให้น้ำหนักต้นมากกว่าการไม่ใส่ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต

คำนำ

ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารหลักที่มีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืช เนื่องจากฟอสฟอรัสเป็นธาตุที่ทำปฏิกิริยากับสารประกอบต่างๆในดินได้ดี ดังนั้นดินที่ไม่มีการใส่ปุ๋ยจึงมีฟอสฟอรัสในสารละลายดินน้อยมากโดยจะมีฟอสฟอรัสไม่เกิน 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร (Ozanne, 1980) ดินส่วนใหญ่มีอนินทรีย์ฟอสฟอรัสอยู่ในรูปที่ไม่ละลายจึงเป็นฟอสฟอรัสที่ไม่เป็นประโยชน์ต่อพืช แม้ว่าดินส่วนใหญ่จะมีแหล่งสำรองของฟอสฟอรัส แต่ฟอสฟอรัสในแหล่งสำรองนี้อยู่ในสภาพที่เป็นประโยชน์น้อยเพราะถูกดินดูดตรึงเอาไว้ ดังนั้นการขาดฟอสฟอรัสในดินจึงเป็นปัญหาที่พบอย่างกว้างขวาง เมื่อต้องการผลิตพืชจึงจำเป็นต้องให้ฟอสฟอรัส หินฟอสเฟตเป็นแหล่งของฟอสฟอรัสต้นทุนต่ำซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นปุ๋ยให้แก่พืช จึงเป็นทางเลือกอีกทางสำหรับดินที่ขาดฟอสฟอรัส ปัญหาของการใช้หินฟอสเฟตคือประสิทธิภาพในการใช้ต่ำไม่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดินที่มีค่า pH สูงกว่า 5.5-6.0 แม้ว่าเมื่อสภาพแวดล้อมอื่นๆเหมาะสม ผลผลิตที่ได้จึงต่ำกว่าพืชที่ได้รับจากปุ๋ยฟอสเฟตที่ละลายได้อื่นๆ (Khasawneh and Doll, 1978) การใช้หินฟอสเฟตเป็นแหล่งของฟอสฟอรัสโดยตรงจึงไม่แพร่หลาย อย่างไรก็ตามมีรายงานว่ามีวิธีการหลายวิธีที่ทำให้ฟอสฟอรัสในหินฟอสเฟตเป็นประโยชน์เพิ่มขึ้น เช่น วิธีการทางเคมี (วิศิษฐ์ และมนูเวทย์, 2520) และวิธีทางกายภาพโดยนำเอาหินฟอสเฟตไปเผาไฟหรือบดให้ละเอียด (ลัดดาวัลย์ และ

คณะ, 2529) รวมทั้งพบว่ามีจุลินทรีย์หลายชนิดสามารถละลายหินฟอสเฟตออกมาเป็นประโยชน์ได้ (Sperber, 1958; Louw and Weber, 1959; Gerretsen, 1984) โดยมีรายงานว่าจุลินทรีย์สามารถปลดปล่อยกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆออกมา ทำให้หินฟอสเฟตเป็นประโยชน์เพิ่มขึ้น

กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ได้ศึกษาจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตจนได้เชื้อราสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพเป็นเชื้อราในจีนัส *Penicillium* เชื้อราชนิดนี้ส่วนใหญ่มีถิ่นที่อยู่ทั่วๆไป เป็นพวก opportunistic saprophytes ในเรื่องความต้องการธาตุอาหาร ไม่ยุ่งยาก สามารถเจริญในเกือบทุกสภาพแวดล้อม แม้มีธาตุอาหารเพียงเล็กน้อย สามารถใช้อินทรีย์คาร์บอนรูปแบบที่ซับซ้อนที่สุดและมีสภาพแวดล้อมทางกายภาพ-เคมีเป็นช่วงที่กว้าง ยกตัวอย่างเช่น ค่า a_w, อุณหภูมิ และ redox potential สายพันธุ์ส่วนใหญ่เป็นพวกราในดิน เพื่อใช้ประโยชน์จากเชื้อรานี้ได้ จำเป็นต้องทำให้อยู่ในรูปแบบปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตเสียก่อน

ในการผลิตจุลินทรีย์ออกมาเพื่อใช้ประโยชน์ไม่ว่าจะใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพหรือหัวเชื้อจุลินทรีย์อื่น ๆ ก็ตาม สิ่งจำเป็นที่เกี่ยวข้องผลิตภัณฑ์ที่ต้องคำนึงถึงคือ

1. การผลิตส่วนขยายพันธุ์ได้ในปริมาณมากและต้นทุนต่ำ
2. อัตราส่วนของส่วนขยายพันธุ์ต่อส่วน vegetative สูง
3. ความสามารถในการอยู่รอดจนถึงกระบวนการท้ายน้ำ (down stream process) โดยเฉพาะเมื่ออยู่ในสภาพแห้งซึ่งจำเป็นต้องหลีกเลี่ยงการเน่าเสียหรือการปนเปื้อน
4. ความคงตัวและอายุการเก็บรักษาที่เพียงพอของผลิตภัณฑ์สุดท้ายต่อการเก็บรักษา โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อไม่มีตู้เย็น
5. ความสามารถในการทนทานต่อการผันแปรของสภาพแวดล้อมในด้านอุณหภูมิ การเก็บแห้ง รังสี และความชื้นสัมพัทธ์ เพื่อการอยู่รอด และการขยายพันธุ์ประชากรจุลินทรีย์เมื่ออยู่ในดิน
6. ประสิทธิผลที่คงที่ภายใต้สภาพแปลงปลูกที่ผันแปร เมื่อต้องใช้ในอัตราที่แนะนำทางการค้า

อายุการเก็บรักษาเป็นปัจจัยสำคัญซึ่งจะชี้บอกความสำเร็จทางการค้าของผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์เช่นเดียวกับความสามารถที่มีในสภาพแปลงปลูก พบว่า อายุการเก็บรักษาที่ทำให้สูญเสียการมีชีวิตรอดน้อยที่สุดที่ 18 เดือน (Couch and Ignoffo, 1981)

การผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตแต่เดิมใช้ดินพีทร่วมกับปุ๋ยหมักมูลโคเป็นวัสดุพาแต่เนื่องจากในปัจจุบันไม่สามารถจัดหาดินพีทมาใช้ในการผลิตได้ จึงจำเป็นต้องศึกษาหาวัสดุพาเชื้อที่จะใช้ทดแทนดินพีทในขั้นตอนการผลิตปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตได้อย่างคุ้มค่าทางเศรษฐกิจ ซีโอไลท์เป็นวัสดุที่น่าจะมีศักยภาพนำมาใช้เป็นวัสดุพาให้แก่เชื้อราละลายฟอสเฟต *Penicillium pinophilum* เนื่องจากคุณสมบัติที่ซีโอไลท์เป็นแร่อลูมิโนซิลิเกทที่โครงสร้างเป็นรูพรุนเหมาะสำหรับการดูดซับน้ำได้ถึงร้อยละ 55 ของน้ำหนักตัวเองจึงน่าจะสามารถดูดซับเชื้อจุลินทรีย์ไว้ได้เพียงพอ

ดังนั้นการวิจัยเพื่อทำให้จุลินทรีย์อยู่ในรูปแบบของผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพ จึงดำเนินงานเบื้องต้นให้สอดคล้องกับความจำเป็นด้านต่างๆที่กล่าวแล้วข้างต้น โดยแบ่งการทดลองเป็นขั้นตอนดังนี้คือ

- การศึกษาวิธีการเลี้ยงขยายปริมาณจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตที่เหมาะสมในสภาพห้องปฏิบัติการ
- การศึกษาหาวัสดุพาที่เหมาะสมสำหรับจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต

- การทดลองการผลิตปุ๋ยชีวภาพจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตในห้องปฏิบัติการ
- การทดสอบการมีชีวิตรอดของจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตในปุ๋ยชีวภาพจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต
- การศึกษาประสิทธิภาพ วิธีและอัตราการใช้ปุ๋ยชีวภาพจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตที่ผลิตได้กับพืช

วิธีดำเนินการ

ศึกษาวิธีการเลี้ยงขยายปริมาณจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต *Penicillium pinophilum*

การเลี้ยงขยายจุลินทรีย์เพื่อให้ได้ปริมาณเซลล์มากนั้นจำเป็นต่อการผลิตให้อยู่ในรูปหัวเชื้อจุลินทรีย์ นอกจากนี้ส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อรา *Penicillium pinophilum* ที่เหมาะสมกับการจะนำมาผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพ คือส่วนที่เป็นสปอร์ที่เรียกว่า conidiospore จึงทำการทดลองหาซับสเตรท (substrate) และส่วนค้ำจุน (supporter) ที่เหมาะสมสำหรับการขยายจำนวนสปอร์ดังกล่าว โดยกำหนดวิธีการเลี้ยงเชื้อเป็นแบบ solid substrate

กระบวนการเลี้ยงเชื้อแบบ solid substrate เป็นระบบแบบ 4 phase คือ phase ที่ 1 เป็นอากาศซึ่งเป็นระบบแบบต่อเนื่องที่ไหลผ่านพื้นผิวที่มีสภาพเป็นของแข็ง ส่วน phase ที่ 2 เป็นส่วนค้ำจุน (supporter) ที่ไม่ละลายน้ำภายในประกอบด้วย phase ที่ 3 เป็นธาตุอาหารในรูปสารละลาย สารละลายนี้ถูกดูดซับอย่างแน่นหนาในเนื้อของส่วนค้ำจุนที่ไม่ละลายน้ำนี้ สำหรับ phase ที่ 4 เป็นจุลินทรีย์ซึ่งเจริญภายในส่วนค้ำจุนและ/หรือบนผิวหน้า และ/หรือในที่ว่างอิสระ ข้อได้เปรียบของกระบวนการเลี้ยงเชื้อแบบ solid substrate คือ ได้ผลผลิตมากกว่า เป็นเทคนิคที่ง่ายกว่า ต้องการพลังงานเข้าสู่ระบบน้อยกว่า ก่อให้เกิดน้ำเสียปริมาณต่ำ และทำให้เกิด product discovery ที่ดีขึ้น ส่วนค้ำจุนมีทั้งที่เป็นอินทรีย์และอนินทรีย์ ส่วนค้ำจุนอินทรีย์ส่วนมากเป็นผลิตผลจากการเกษตรเช่น จากข้าว ข้าวโพด และผลพลอยได้อื่นๆ โดยทำหน้าที่ให้ธาตุอาหารและขณะเดียวกันยังทำหน้าที่เป็นส่วนค้ำจุน พบว่าการใช้รำข้าวเป็นส่วนผสมจะให้สปอร์ซึ่งเป็นส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อราในปริมาณที่มาก สำหรับส่วนค้ำจุนที่มีสภาพเฉื่อย มักเติมสารละลายอาหารที่ทราบองค์ประกอบแน่นอนลงไปในส่วนค้ำจุนที่เป็นอนินทรีย์เช่นดินเบา (diatomaceous earth) ดินเหนียว เวอร์มิคิวไล้ท์ หรือในส่วนค้ำจุนที่เป็นอินทรีย์เช่น ซังข้าวโพด ชานอ้อย ขี้เลื่อย

อุปกรณ์

1. จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตประเภทเชื้อรา *Penicillium pinophilum*
2. วัสดุอินทรีย์ที่ทดลองใช้เป็น substrate และ supporter สำหรับการเลี้ยงขยายปริมาณเชื้อราคือ ข้าวฟ่าง รำหยาบ รำละเอียด ข้าวโพดบดหยาบ
3. อุปกรณ์เครื่องแก้ว
4. อาหารเลี้ยงเชื้อ สารปฏิชีวนะ สำหรับการนับปริมาณเชื้อราคือ Potato Dextrose Agar, และ cycloheximide และสารเคมี
5. ถุงพลาสติกทนร้อนขนาด 6x9 นิ้ว พร้อมคอขวดพลาสติก
6. อุปกรณ์เลี้ยงเชื้อแบบ solid substrate
7. อุปกรณ์นับสปอร์ counting chamber

วิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized ทำ 3 ซ้ำ โดยกรรมวิธีคือ วัสดุอินทรีย์ในอัตราส่วนต่าง ๆ คือ ข้าวฟ่าง รำข้าวหยาบ ข้าวโพดบดหยาบ ข้าวฟ่างผสมรำข้าวหยาบอัตราส่วน 1 : 1 ข้าวฟ่างผสมรำข้าวหยาบอัตราส่วน 2 : 1 ข้าวฟ่างผสมรำข้าวหยาบอัตราส่วน 1 : 2 ข้าวโพดบดหยาบ และข้าวโพดบดหยาบผสมรำหยาบอัตราส่วน 1 : 1 ทำการเลี้ยงเชื้อแบบ solid substrate โดยบรรจุวัสดุทดลองในถุงพลาสติกทนร้อนขนาด 6 x 9 นิ้ว ในปริมาณ 150 กรัมต่อถุง สวมคอขวดพลาสติกทนร้อน อุดจุกด้วยสำลี นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอโดยใช้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 20 นาที ทิ้งให้เย็นข้ามคืน (รูปที่ 1-6) แล้วเพาะเชื้อรา *Penicillium pinophilum* ลงในถุงที่เตรียมไว้ เก็บบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง ครบกำหนด 10, 20 และ 30 วัน ทำการตรวจนับปริมาณเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar ที่ใส่สารปฏิชีวนะ cycloheximide โดยวิธี serial dilution plating

รูปที่ 1. ข้าวฟ่างลาย รูปที่ 2. ข้าวฟ่างแช่น้ำ 1 คืน รูปที่ 3. รำข้าวเจ้าหยาบ

รูปที่ 4. คลุกผสม รูปที่ 5. บรรจุถุงทนร้อน รูปที่ 6. เตรียมนำเข้านึ่งฆ่าเชื้อ

การบันทึกข้อมูล

ปริมาณเชื้อราในวัสดุอินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง ตามระยะเวลาบ่ม 10, 20 และ 30 วัน

ศึกษาวัสดุพาที่เหมาะสมสำหรับจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตครั้งที่ 1

การนำจุลินทรีย์ไปใช้ประโยชน์ได้จะต้องมีการขยายเชื้อให้มีการสร้างสปอร์จำนวนมากโดยที่ประสิทธิภาพที่กำหนดยังคงเดิม จากนั้นต้องหาวัสดุที่สามารถพาหัวเชื้อไปใช้ได้และให้จุลินทรีย์มีชีวิตอยู่รอดในระยะเวลานาน จึงทดลองคลุกผสมเชื้อรากับวัสดุพาชนิดต่างๆได้แก่ ดินพีท ปุ๋ยหมักมูลโคบดละเอียด กากตะกอนหม้อกรองโรงงานน้ำตาล ลิกไนท์ และแกลบ เก็บบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง ตรวจนับปริมาณเชื้อราทุกเดือนจนครบ 12 เดือน

อุปกรณ์

1. เชื้อรา *Penicillium pinophilum*
2. วัสดุที่ทดลองใช้เป็นวัสดุพาเชื้อราคือ ดินพีท ปุ๋ยหมักมูลโคบดละเอียดขนาด 80 เมช ลิกไนท์ แกลบ และกากตะกอนหม้อกรองโรงงานน้ำตาล

3. อุปกรณ์เครื่องแก้ว

4. อาหารเลี้ยงเชื้อ สารปฏิชีวนะ สำหรับการนับปริมาณเชื้อราคือ Potato Dextrose Agar และ cycloheximide และสารเคมีอื่นๆ

5. เครื่องนับโคโลนี

วิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Desigh ทำ 4 ซ้ำ โดยกรรมวิธีการทดลองมีวัสดุที่ทดลองใช้เป็นวัสดุพาหะคือดินพีท ปุ๋ยหมักมูลวัวบดละเอียดขนาด 80 เมช กากตะกอนหม้อกรองโรงงานน้ำตาล ลิกไนท์และแกลบ ทำการเพาะเชื้อรา *Penicillium pinophilum* ที่เลี้ยงขยายปริมาณเชื้อบนข้าวฟ่างผสมรำข้าวหยาบ อัตราส่วน 2 : 1 ลงในวัสดุอินทรีย์ชนิดต่างๆที่ทดลองใช้เป็นวัสดุพา โดยกำหนดให้ปริมาณเชื้อราเท่ากันในทุกกรรมวิธีการทดลอง เก็บบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง ตรวจนับปริมาณเชื้อราทุกระยะเวลา 0, 5, 15, 30, 60, 90, 180, 240 และ 360 วัน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar ที่ใส่ cycloheximide

การบันทึกข้อมูล

ปริมาณเชื้อราในวัสดุอินทรีย์ที่ใช้เป็นวัสดุพาที่ระยะเวลาบ่ม 0, 5, 15, 30, 60, 90, 180, 240 และ 360 วัน

ศึกษาวัสดุพาที่เหมาะสมสำหรับจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตครั้งที่ 2

เนื่องจากปุ๋ยชีวภาพที่ผลิตโดยใช้วัสดุพาที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองครั้งที่ 1 เมื่ออยู่ในถุงบรรจุเป็นผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตแล้ว พบว่าบางครั้งเกิดกลิ่นไม่พึงประสงค์จากผลิตภัณฑ์ จึงทำการทดลองหาวัสดุพาแบบใหม่เพื่อแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้น

อุปกรณ์

1. เชื้อรา *Penicillium pinophilum*
2. วัสดุที่นำมาทดลองเป็นวัสดุพาเชื้อคือซีโอไลท์ ปุ๋ยหมักมูลโคบดละเอียดและรำละเอียด
3. อุปกรณ์ เครื่องแก้ว
4. อาหารเลี้ยงเชื้อ สารปฏิชีวนะ สำหรับการนับปริมาณเชื้อราคือ Potato Dextrose Agar และ cycloheximide และสารเคมีอื่นๆ
5. เครื่องนับโคโลนี

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยกำหนดวัสดุพา 2 ชนิด คือ ซีโอไลท์และปุ๋ยหมักมูลโคบดละเอียด มีจำนวน 6 กรรมวิธีคือ (1) ซีโอไลท์ 100เปอร์เซ็นต์ (Z100เปอร์เซ็นต์) (2) ซีโอไลท์ 70เปอร์เซ็นต์ + ปุ๋ยหมักมูลโค 30 เปอร์เซ็นต์ (Z70เปอร์เซ็นต์ C30เปอร์เซ็นต์) (3) ซีโอไลท์ 50เปอร์เซ็นต์ + ปุ๋ยหมักมูลโค 50เปอร์เซ็นต์ (Z50 เปอร์เซ็นต์ C50เปอร์เซ็นต์) (4) ซีโอไลท์ 100เปอร์เซ็นต์ + รำ (Z100เปอร์เซ็นต์ + รำ) (5) ซีโอไลท์ 70เปอร์เซ็นต์ + ปุ๋ยหมักมูลโค 30เปอร์เซ็นต์ + รำ (Z70เปอร์เซ็นต์ C30เปอร์เซ็นต์ + รำ) (6) ซีโอไลท์ 50เปอร์เซ็นต์ + ปุ๋ยหมักมูลโค 50เปอร์เซ็นต์ + รำ (Z50เปอร์เซ็นต์ C50เปอร์เซ็นต์ + รำ) วัดค่าความเป็นกรด-ด่างของซีโอไลท์และปุ๋ยหมักมูลโคบดละเอียดก่อนทดลอง แล้วคลุกผสมเชื้อรา *Penicillium pinophilum* เข้ากับวัสดุพาตามกรรมวิธีที่กำหนด

ปรับปริมาณความชื้นให้เท่ากันในทุกกรรมวิธีด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อปนเปื้อน แล้วบรรจุในจานเพาะเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 100 มิลลิเมตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ดูแลให้ปริมาณความชื้นอยู่ในระดับเดิม และทุกระยะเวลา 0 7 15 30 60 90 120 180 และ 360 วัน ทำการตรวจนับปริมาณเชื้อรามีชีวิตโดยวิธี serial dilution plating บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar ที่ใส่ปฏิชีวนะสารต้านเชื้อแบคทีเรียปนเปื้อน

ทดสอบประสิทธิภาพและศึกษาวิธีและอัตราการใช้ปุ๋ยชีวภาพจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตที่ผลิตได้กับพืชผักในสภาพกระถาง

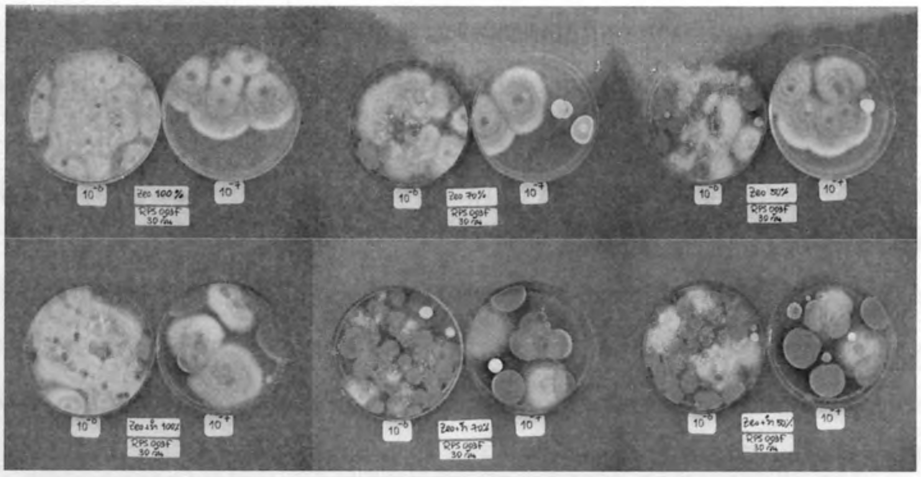
วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Desigh ทำ 4 ซ้ำ กรรมวิธีเป็นดังนี้ (1) ปุ๋ยเคมี (2) N K (3) N K + ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต 2 กรัมต่อกระถาง (3) N K + ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต 10 กรัมต่อกระถาง (4) N K + ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต 10 กรัมต่อกระถาง ดินที่ใช้ในการทดลองเป็นดินชุดกำแพงแสนและน้ำพอง พืชผักใช้ในการทดสอบคือกวางตุ้งและคะน้า

ผลการทดลองและวิจารณ์

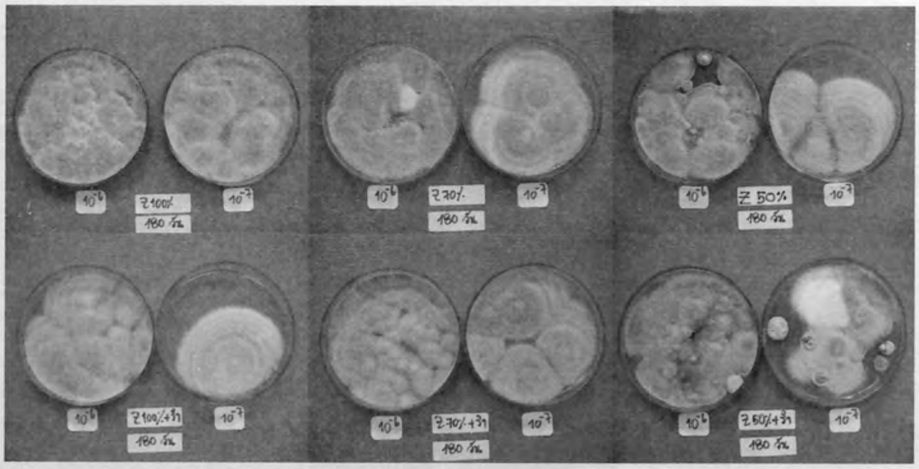
จากการทดลองเลี้ยงขยายปริมาณสปอร์เชื้อรา *Penicillium pinophilum* บนข้าวฟ่างผสมรำข้าวหยาบน้ำหนัก 150 กรัม/ถุง จะให้ปริมาณสปอร์เต็มถุงพลาสติกขนาด 6x9 นิ้ว ภายในระยะเวลา 14 วัน โดยมีลักษณะเป็นเม็ดสีส้มเต็มถุงดังรูปที่ 9 ปริมาณสปอร์ต่อกรัมของวัสดุทดลองอยู่ในช่วง 10^8 สปอร์หลังจากนี้จะพบการปนเปื้อนของเชื้อราชนิดอื่นมากขึ้น

รูปที่ 9. สปอร์สีส้มเต็มถุงเลี้ยงขยายปริมาณเชื้อ

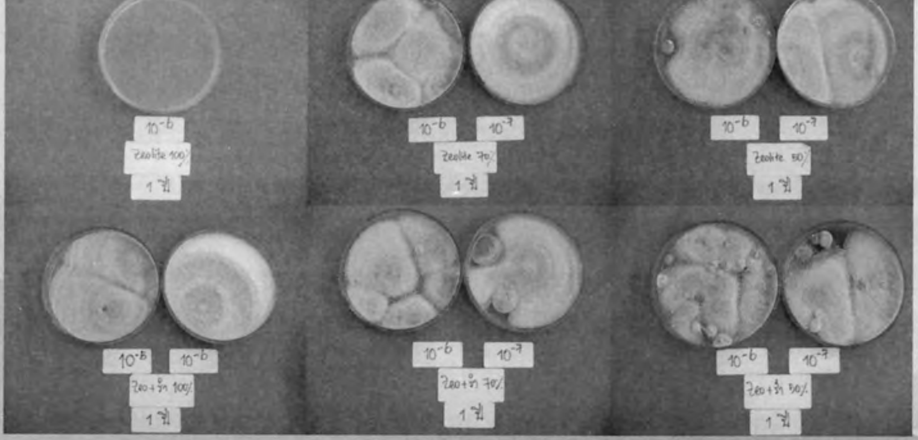
ค่าความเป็นกรด-ด่างของซีโอไลท์ ปุ๋ยหมักมูลโคบดละเอียด ซีโอไลท์ 70 เปอร์เซ็นต์ผสมปุ๋ยหมักมูลโคบดละเอียด 30 เปอร์เซ็นต์ และซีโอไลท์ 50 เปอร์เซ็นต์ ผสมปุ๋ยหมักมูลโคบดละเอียด 50 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 6.03 6.64 6.55 และ 6.58 ตามลำดับ ปริมาณเชื้อรา *Penicillium pinophilum* ที่มีชีวิตในวัสดุพาที่ระยะเวลาต่างๆแสดงในตารางที่ 1 และรูปที่ 10 พบว่าที่ระยะเวลา 0 7 15 30 60 90 120 และ 180 วัน การใช้ซีโอไลท์ 70 เปอร์เซ็นต์ ผสมปุ๋ยหมักมูลโคบดละเอียด 30 เปอร์เซ็นต์ และการใช้ซีโอไลท์ 50 เปอร์เซ็นต์ ผสมปุ๋ยหมักมูลโคบดละเอียด 50 เปอร์เซ็นต์ ทั้งที่มีการผสมรำละเอียดและไม่ผสมอยู่ในช่วง 10^6-10^8 เซลล์ต่อกรัมของวัสดุพา โดยมีแนวโน้มว่ากรรมวิธีการใส่รำละเอียดทำให้มีเชื้อปนเปื้อนมากกว่าการไม่ใส่รำละเอียด เมื่อเก็บเชื้อราไว้จนครบ 360 วันพบว่า ปริมาณเชื้อลดต่ำลงในทุกกรรมวิธี โดยเฉพาะกรรมวิธีที่ใช้ซีโอไลท์ 100 เปอร์เซ็นต์ ไม่ว่าจะใส่รำหรือไม่ก็ตาม ตรวจพบเชื้อราในปริมาณน้อยที่สุดจนถึงตรวจไม่พบ และพบว่ากรรมวิธีการใช้ซีโอไลท์ 50 เปอร์เซ็นต์ ผสมปุ๋ยหมักมูลโคบดละเอียด 50 เปอร์เซ็นต์ ยังคงให้ปริมาณเชื้อสูงถึง 10^7 เซลล์ต่อกรัมของวัสดุพา เมื่อพิจารณาถึงประสิทธิภาพของปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตที่ผลิตได้ในการละลายตะกอน $CaHPO_4$ พบว่าเชื้อรา *Penicillium pinophilum* ในปุ๋ยชีวภาพที่ทุกระยะเวลาบ่มสามารถละลายตะกอน $CaHPO_4$ ได้วงใสรอบโคโลนีเชื้อมีความกว้างในช่วง >9 มิลลิเมตรที่ระยะเวลา 3 วัน ซึ่งแสดงว่าเชื้อรา *Penicillium pinophilum* ในวัสดุพา ยังคงมีประสิทธิภาพเหมือนเดิม



รูปที่ 10. ปริมาณเชื้อรา *Penicillium pinophilum* ในวัสดุพาชนิดต่าง ๆ ที่ระยะเวลาบ่ม 30 วัน



รูปที่ 11. ปริมาณเชื้อรา *Penicillium pinophilum* ในวัสดุพาชนิดต่าง ๆ ที่ระยะเวลาบ่ม 180 วัน



รูปที่ 12. ปริมาณเชื้อรา *Penicillium pinophilum* ในวัสดุพาชนิดต่าง ๆ ที่ระยะเวลาบ่ม 360 วัน

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

สามารถใช้ซีโอไลท์เพียงอย่างเดียว หรือใช้ร่วมกับปุ๋ยหมักมูลโคบดละเอียดสำหรับการผลิตปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตจากเชื้อรา *Penicillium pinophilum* โดยปริมาณเชื้อราละลายฟอสเฟตในปุ๋ยชีวภาพมีค่าอยู่ในมาตรฐานและมากกว่ามาตรฐานที่กำหนดซึ่งเท่ากับ 1×10^7 เซลล์ต่อกรัมของวัสดุพา

การนำไปใช้ประโยชน์

ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตที่ทดลองผลิตขึ้นมา มีประสิทธิภาพและมีอายุการเก็บรักษาเป็นระยะเวลาไม่ต่ำกว่า 6 เดือน ดังนั้นสามารถใช้ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตนี้เพื่อเพิ่มการละลายหินฟอสเฟต ละลายฟอสเฟตที่ถูกตรึงอยู่ในดินและ/หรืออินทรีย์ฟอสเฟตที่มีอยู่แล้วในดินแต่พืชนำมาใช้ไม่ได้ ปลดปล่อยฟอสฟอรัสออกมาให้พืชใช้ประโยชน์ได้ ทำให้สามารถเพิ่มประสิทธิภาพของปุ๋ยหินฟอสเฟต ลดการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตซึ่งเป็นการลดต้นทุนการผลิตพืชได้อีกแนวทางหนึ่ง

เอกสารอ้างอิง

ลัดดาวัลย์ มีสุข เพ็ญศรี ชูวรเวช ยุพิน สรวิสูตร จันทิรา อริยธัช เรวดี ดีมาก และภาวนาฏ เสมรสูต. 2529. การเพิ่มประสิทธิภาพของหินฟอสเฟตโดยเผาที่อุณหภูมิต่ำ. *วารสารวิชาการเกษตร* 4 (1): 17-24.

วิศิษฐ์ โชลิตกุล และมนูเวทย์ ศรีเสน. 2520. ปุ๋ยฟอสเฟตและโพแทสเซียม. หน้า 85-130. *ใน: รายงานการสัมมนาทางวิชาการเรื่อง อุตสาหกรรมปุ๋ยกับการเกษตร*

Couch, T.L. and C.M. Ignoffo. 1981. Formulation of insect pathogens. *In* Microbial Control of Pests and Plant Diseases (ed. H.D. Burges), Academic Press, London, pp. 6 21-635

Gerretsen, F.C. 1984. The influence of microorganisms on the phosphate uptake by plant. *Plant Soil,* 1: 51-81.

Khasawneh, F.E. and E.C. Doll. 1979. The use of phosphate rock for direct application to soils. *Adv. Agron* 30:159-206.

Louw, H.A. and Webley. 1959. A study of soil bacteria dissolving certain mineral phosphate fertilizers and related compounds. *J. Appl. Bacteriol.* 22: 171-196.

Matte, M. 1992. The production of organic acids. *Rev Biotechnol.* 12: 87-132.

Ozanne, P.G. 1980. The Role of Phosphorus in Agriculture. Am. Soc. of Agron. Madison, Wisc.

Sperber, J.I. 1958. The incidence of apatite-solubilizing organisms in the rhizosphere and soli. Aust. *J. Agriic. Res.* 9: 778-781.