Federal agricultural extensionists also have not played a significant role in persuading farmers to reduce pesticide use. Even though there have been many projects to introduce alternative farming techniques, most of the programs are organized at the training centers. Only a few interested farmers who can afford to travel long distance attend such training sessions. The majority of small-scale farmers would like to attend but do not have the time and resources to do so. In addition, the main focus of such training sessions usually is on introducing new advanced methods of farming. However, basic knowledge on appropriate use, and the dangers of agrochemicals are rarely emphasized. For this reason, farmers still hold to lay beliefs about agro-chemicals and resort mainly to the commercial sources for chemical information.

Thai farmers often have no other option other than consulting with the agrochemical vendors who are readily available in the community, or seeking information from commercial mass media. Misleading promotional strategies have been reported to be associated with commercial mass media promotion (Health Systems Research Institute, 2005, pp.13-15). For example, hidden promotional messages heavily promoted on radio broadcast programs, mainly conveyed by a DJ who has absolutely no formal training in agriculture, and aimed only at changing farmers' beliefs and attitudes toward pesticides. Promotion of pesticides by brand names instead of common names are also widely practiced, especially in the form of sponsors of entertainment or charity events, causing redundant application of the same pesticides in the same field.

In conclusion, the study indicated inappropriate pesticide use patterns among
Thai farmers. Findings of this study clearly suggest that it is necessary to reduce
possible health and environmental risks associated with pesticide use by documenting

risk perceptions and developing ways to address them. However, health and environmental factors cannot be isolated from economic concerns. Since the majority of farmers in Thailand are low-income, the initial cost of switching from pesticides to more environmentally friendly and healthy methods should be seriously investigated. A recent study found cost to be an important predictor for small-scale farmers to switch to a biological fertilizer (Jetiyanon et al., 2007). Further studies are highly warranted to generate appropriate date on which to base policy.

Acknowledgements

The authors are highly grateful to the Thailand Research Fund for the research grant. We also wish to sincerely thank Professor Joseph W Kloepper and Ms Diane Smith for their kind editorial assistance.

References

- Berg, H., 2001. Pesticide use in rice and rice-fish farms in the Mekong Delta, Vietnam. Crop Prot. 20(10), 897-905.
- Burleigh, J.R., Vingnanakulasingham, V., Lalith, W.R.B., Gonapinuwala, S., 1998.

 Pattern of pesticide use and pesticide efficacy among chili growers in the dry zone of NE Sri Lanka (System B): perception vs reality. Agr Ecosyst Environ. 70(1), 49-60.
- Damalas, C.A., Telidis, G.K., Thanos, S.D., 2008. Assessing farmers' practices on disposal of pesticide waste after use. Sci Total Environ. 390(2-3), 341-345.
- Department of Disease Control, Bureau of Epidemiology, 2006. Annual Epidemiological S Surveillance Report 2005. Ministry of Public Health, Nonthaburi, Thailand.

- Epstein, L., Bassein, S., 2003. Patterns of pesticide use in California and the implications for strategies for reduction of pesticides. Annu Rev Phytopathol. 41(2003), 351-375.
- Health Systems Research Institute, Research and Development Program on Healthy
 Public Policy and Health Impact Assessment, 2005. The Summary of
 Pesticides Situation in Thai Society. Ministry of Public Health, Nonthaburi,
 Thailand. (in Thai language)
- Isin, S, Yildirim, I., 2007. Fruit-growers' perceptions on the harmful effects of pesticides and their reflection on practices: the case of Kemalpasa, Turkey. Crop Prot. 26(7), 917-922.
- Jetiyanon, K., Plianbangchang, P., Nimpitakpong, P., 2007. The impact of a lecture-based intervention on knowledge and awareness of Plant Growth Promoting Rhizobacteria as a biological control measure among farmers in Phitsanulok, Thailand. Agri J. 23(1): 67-77.
- Matthews, G., Wiles, T., Baleguel, P., 2003. A survey of pesticide application in Cameroon. Crop Prot. 22(5), 707-714.
- Miles, J.R., Harris, C.R., Morrow, D.C., 1983. Assessment of hazard associated with pesticide container disposal and of rinsing procedures as a means of enabling disposal of pesticide containers in sanitary landfills. J Environ Sci Heal B. 18(1983), 305-315.
- Tienmar, C. 2004. The situation of pesticides advertising and promotion systems in the area of Petchaburi province. Nonthaburi: The National Health System Reform Office. (in Thai language, with English abstract)
- Wilson C, Tisdell C. 2001. Why farmers continue to use pesticides despite environmental, health and sustainability costs. Ecol Econ. 39(3), 449-462.

- World Health Organization, 2005. The WHO Recommended Classification of
 Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification: 2004. World Health
 Organization, Geneva, Switzerland.
- World Health Organization, 2006. Sound Management of Hazardous Wastes from Health Care and from Agriculture. WHO South East Asia Regional Office, New Delhi, India.

Table 1 General information about the participants

Variable	Number (%)			
Level of education				
No education	19 (14.6)			
Primary school	97 (74.6)			
Secondary school	14 (10.8)			
Crops (multiple answers possible)				
Rice	120 (92.3)			
Horticultural (mango and vegetables)	73 (56.1)			
Corn	19 (14.6)			

Table 2 Types of pesticides used

Group of	Chemical family	Toxicity	Status	Number of
pesticides/Common		class*		farmers
name				mentioned
				using
Insecticides:				
Parathion-methyl	Organophosphates	Ia	Registered	1
			(on watched	
			list)	
Methomyl	Carbamates	Ib	Registered	6
			(on watched	
			list)	
Chlorpyriphos	Organophosphates	II	Registered	40
Cypermethrin	Pyrethroids	II	Registered	19
Endosulphan	Organochlorines	II	Banned (Oct	5
			2004)	
Fenobucarb	Carbamates	II	Registered	3
Abamectin	-	U	Registered	5
Captan	-	U	Registered	1
Unidentifiable	unk	unk	Unk	29
insecticides in re-				
packaged				
containers				
Herbicides:				
Butachlor+Propanyl	-	II (Propanyl	Registered	6

70	70) and U			
		(Bulachlor)		
Paraquat dichloride	Paraquats	II	Registered	6
2,4-D, isobutyl	-	U	Registered	8
ester				
Atrazine	Triazine	U	Registered	2
	derivatives			
Butachlor	-	U	Registered	1
Glyphosate	-	U	Registered	17
Oxadiazon	-	U	Registered	1
Unidentifiable	unk	unk	unk	2
herbicides in re-				
packaged				
containers				
Fungicides:				
15% w/v	Azole derivatives	U	Registered	11
Difenoconazole +				
15% w/v				
Propiconazole				
Cabendazim	-	U	Registered	3
(benzimidazole)				
Mancozeb	Carbamates	U	Registered	2
Unidentifiable	unk	unk	unk	4
fungicides in re-				
packaged				

containers

Note:

* Toxicity class as classified by World Health Organization (2004) where Ia = extremely hazardous, Ib = Highly hazardous, II = moderately hazardous, III = slightly hazardous, U = unlikely to present acute hazard in normal use unk = unknown

Table 3 Sources of pesticides

Sources (multiple answers possible)	Number (%)
Agro-chemical shops in the community	210 (60)
Co-operative shops in the community	65 (18.6)
Agro-chemical shops in the municipal markets	54 (15.4)
Convenience stores in the community	15 (4.3)
Direct sale of the agro-chemical companies	4 (1.1)
Village leaders	2 (0.6)

Table 4 Frequency of pesticide application

Frequency of pesticide application (multiple answers possible,	Number (%)
depending on the types of pesticides)	
Less than once a month (approximately 1-2 times/season)	59 (40.7)
Once or twice a month	24 (16.5)
Three to four times a month	32 (22)
More frequently than once a week	6 (4.1)
Depends on the pest manifestation	24 (16.6)

Table 5 Sources of information about pesticide use

Sources of information (multiple answers possible)	Number (%)
Commercial media/public broadcast (including television,	201 (37.6)
community broadcasting, radio, newspaper, leaflets & pamphlets,	
billboards)	
Governmental agricultural personnel (including agricultural	141 (26.4)
extension officers, and local administrative officers)	
Village leaders, opinion leaders, and community healthcare	134 (25)
volunteers	
Neighbors	30 (5.6)
Sales persons from agro-chemical companies	29 (5.4)

Table 6 Pesticide practices

Varial	ples	Number (%)
Label	read	
Yes		99 (80.5)
	Every topic on the label	32 (32.3)
	Direction only	40 (40.4)
	Indication only	3 (23.2)
	Caution only	23 (23.2)
No		24 (19.5)
Person	nal Protection (multiple answers possible)	
	Mouth and nose cover	79 (64.2)
	Gloves	51 (41.5)
	Taking wind condition into account while spraying	38 (30.9)
	Boots	26 (21.1)
	Long-sleeves shirts	26 (21.1)
	Taking a shower after handling	11 (8.9)
Pestic	ide empty containers disposal	
	Selling them	93 (75.6)
	Keeping them home for other uses	20 (16.3)
	Burying them	5 (4.1)
	Burning them	4 (3.2)
	Leaving them randomly by the field	1 (0.8)

ภาคผนวกที่ 5

Seed Coating for Vegetative Cells of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria

using Alginate/Pectin Wet Film Formulations

Sakchai Wittaya-areekul^{1,*}, Kanchalee Jetiyanon², Pinyupa Plianbangchang³,

Tuangchai Somjitranukij¹

¹Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmaceutical Sciences,

Naresuan University, Phitsanulok 65000, Thailand

²Department of Agricultural Sciences, Faculty of Agriculture Natural Resources and

Environment, Naresuan University, Phitsanulok 65000, Thailand

³Department of Pharmacy Practice, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Naresuan

University, Phitsanulok 65000, Thailand

* Corresponding author: Sakchai Wittaya-areekul, Ph.D.

Tel. +6655 2610 00 ext. 1881

Fax. +6655 2610 57

E-mail: sakchai99@yahoo.com

Keywords: Seed coating, Vegetative cell, Rhizobacteria, PGPR

Abstract

Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) have been traditionally introduced in liquid bacterial suspensions or in the form of dry seed coatings. However, dry seed coatings still have limitation in where they are not readily applicable for vegetative cells of PGPR and generally require specific instruments for coating. The objective of this study was to develop the practical formulation for application of PGPR vegetative cells. Alginate and pectin were used as film formers and propylene glycol was used as a plasticizer. The formulation was developed with various concentrations of the film components and evaluated for some physical film properties. The films were further cross-linked using calcium chloride solution to improve the film strength. The optimum film formulation was selected for evaluation of appropriate coating method and PGPR survival in the film components using cucumber seeds as a model for seed coating. Results showed that PGPR can grow in all of the film formulations. The optimum film formulation contained 2% w/v alginate and 4% w/v pectin (ratio2:1), and 2% w/v propylene glycol using 0.1% w/v calcium chloride and 2% w/v propylene glycol as a cross-linking solution. This film formulation showed even film formation with excellent water adsorption and water vapor penetration. The coating method conducted by pouring 5 mL of polymer mixtures over 10 grams of cucumber seeds and then spraying with 0.5 mL of cross-linking solution resulted in good film coating feature with minimal coating duration. It was suggested that this seed coating formulation could be benefit for vegetative cells of PGPR and would be a practical preparation for growers.

1. Introduction

Rhizobacteria are root-colonizing bacteria that form a symbiotic relationship with many plants. The term "rhizobacteria" usually refers to bacteria that form a relationship beneficial for plants. These bacteria are often referred to as plant growth-promoting rhizobacteria or PGPR [Bushan, 1998; Benizri et al., 2001; Jetiyanon and Kloepper, 2002; Kloepper et al., 2004]. Although rhizobacteria inoculants are indisputably beneficial for various plants, they are not widely used in industrial agriculture, especially for biofertilizer, since large-scale application techniques have not been economically available [Ciccillo et al., 2003]. Several requirements have to be fulfilled in order to induce a beneficial effect on plants such as the bacterial deposit around seeds should be homogenously distributed around the seed at an optimal concentration [Amiet-Charpertier et al., 1998; Ryu et al., 2006], ranging between the biosaturation and the biostimulation threshold [Hartley et al., 2004]. This deposit will be effective, if it takes place in the direct environment of the seeds. These remarks bring out the need for direct bacterization of seeds, so as to reduce the distance between bacteria and roots.

Currently, rhizobacteria has been traditionally introduced in liquid bacterial suspensions or in the form of dry seed coatings [Amiet-Charpertier et al., 1998; Hartley et al., 2004; Ryu et al., 2006]. However, dry seed coatings still have limitation where they are not readily applicable for vegetative cells of free living rhizobacteria and generally require specific instruments for coating. Wet film coating for application of PGPR vegetative cells using spontaneous cross-linking reaction between alginate or pectin and calcium chloride can resolve a crucial step toward preserving the vegetative cells viability to produce homogenously distributed bacterial cells over the seed surface.

Alginate is a salt of alginic acid, a polymer of β -D-mannuronic acid and α -Lguluronic acid, which is isolated from brown seaweeds [Sime, 1990]. Pectin is commonly derived from fruit waste mainly apple and citrus peel. Alginate films can be prepared by cross-linking with CaCl₂ to generate a film with barrier properties [Olivas et al., 2008]. The main pectin component is a linear chain of α -(1-4)-linked Dgalacturonic acid that forms the pectin backbone, a homogalacturonan. In low-ester pectins, ionic bridges are formed between calcium and carboxylic acid of the galacturonic acid. Low ester pectins need calcium to form a gel, but can do so at lower soluble solids and higher pH-values than high-ester pectins [Sriamornsak et al., 2006]. Both alginate and pectin are idealistic for preparing films and easily forming insoluble gel with calcium ions. The objective of this study was to develop the practical formulation and method of wet film coating for vegetative cells of free living PGPR. The basic film properties required for good barrier such as water vapor penetration, water adsorption, coating method, and survival of PGPR in wet film and on coated seeds will be evaluated to obtain good film properties and easy to use for growers.

2. Material and methods

2.1 Materials

Low viscosity sodium alginate (viscosity 250 cps, 2% w/v) containing mannuronate (M) and guluronate (G) in a M/G ratio of 0.45 (Manugel® DMB) was purchased from ISP Alginates, San Diego, CA, USA. GENU pectin type LM104 AS-FS was obtained from CP Kelco (Lille Skenseved, Denmark). All other chemicals were obtained from commercial suppliers and were used as received.

2.2 Preparation of the free films

The free films were prepared by casting and solvent evaporation technique using sodium alginate, pectin, and mixture of sodium alginate and pectin solutions as film formers and propylene glycol (PG) as a plasticizer. For sodium alginate solution, a specified amount of sodium alginate was dispersed in deionized water and agitated for 1 hr. PG was then added to the sodium alginate solution under gentle agitation. The mixed solution was left to stand until air bubbles have disappeared and the solution was then poured on a dry glass petri dish in a dust-free environment and allowed to air dry at 40°C for 24 hr. Then the obtained films were tested for their physical properties.

The pectin solution was prepared in the same manner as preparing sodium alginate solution. The mixed solutions at various ratios of sodium alginate and pectin solution were prepared by mixing various volumes of sodium alginate and pectin solution, followed by gentle agitation.

To improve film integrity by cross-linking with CaCl₂, the dry glass petri dish containing sodium alginate, pectin, or mixture solutions were immersed in CaCl₂ solution for cross-linking reaction at 1, 5, and 10 minutes (Figure 1). Then, the cross-linked films were drained and allowed to air dry at 40°C for 24 hr. The obtained films were tested for their physical properties.

2.3 Characterization of the free films

2.3.1 Water vapor penetration

To measure the water vapor penetration, the films were cut and placed on top of open 2.5 cm bottles containing 5 g of silica gel and held in place with a screw lid (test area: 4.9 cm²). The bottles were conditioned in a desiccator containing silica gel for 12 hours (0% RH) to ensure complete dryness of film and silica gel before conducting an experiment. The bottles were then placed in a desiccator containing a saturated solution of NaCl solution at 30°C (75% RH) [Nyqvist, 1983]. The equilibrium moisture penetration was determined by weighing the bottles at 0, 12, 24, and 48 hrs, respectively.

2.3.2 Water uptake

The water uptake was determined gravimetrically. The weight of a strip of completely dried film (2.5 x 2.5 cm²) was determined directly with an analytical balance. Then the strip of film was immersed into deionized water at room temperature (25°C) for 2 hr. The resultant swollen film was gently blotted with filter paper to remove excess surface water and weighed again. The water uptake of the film is expressed as the percentage of weight increased.

2.4 Wet film coating on cucumber seeds

Spontaneous wet film coating was performed using cucumber seeds as a model for seed coating. Various amount of coating solution containing vegetative cells of *Bacillus cereus* strain RS87 (10⁶ cfu/mL) were first dispersed on cucumber seeds, then mixture solution of CaCl₂ and PG was sprayed on the coated seeds to form water insoluble coating layer. The determination of coated cucumber seeds was examined by visual inspection of coating material around the seed surface.

2.5 Survival of *Bacillus cereus* strain RS87 in the wet film and on the coated seeds

Coated cucumber seeds from wet film coating experiment were randomly sampling.

Four coated seeds were placed onto a petri dish containing tryptic soy agar and

incubated at room temperature for 24 hrs. The experiment was repeated three times.

The determination of bacterial growth on seeds was done with visual inspection of

colony forming on and around the base of the seeds

2.6 Scanning Electron Microscopy (SEM)

The coated seed samples were mounted directly onto the SEM sample holder using

double-sided sticking tape and were gold spray-coated. Then, the samples were

examined using scanning electron microscopy (LEO 1455VP, Cambridge, UK). to

investigate the distribution of vegetative cells of B. cereus strain RS87 over the seed

surface.

2.7 Statistical analysis

All experiments for the characterization of the composite film were done in triplicate.

One-way analysis of variance (ANOVA) was performed to determine the significant

difference in each property among the formulated films. The differences were

considered to be significant at a level of P < 0.05.

3. Results and discussion

3.1 The free film basic properties

The compositions of free film preparing from various concentration of sodium alginate (1-3% w/v) and pectin (3-5% w/v) was shown in Table 1. The free films prepared from sodium alginate were translucent, smooth and water-soluble. The free films prepared from pectin were slightly opaque, yellowish, smooth and watersoluble. However, both alginate and pectin wet films were simply washed away with gentle rinse, while the dried films were easily broken apart and washed away shortly after rehydration. During the film casting step, the polymer solution (alginate/pectin solution) was immersed in 0.5-2% w/v calcium chloride solution to form weakly cross-linked films. Calcium ions (Ca²⁺) diffused into the polymeric solution during cross-linking reaction forming either intermolecular or intramolecular linkages [Sriamornsak et al., 2006]. The cross-linked films were not soluble in water and showed substantially strong membrane properties both before and after the rehydration process. Higher calcium chloride concentrations at 2% w/v, while keeping the sodium alginate concentration constant at 2% w/v resulted in highly contraction of the films to form thick lens instead of insoluble thin films. High total solid contents of the films (3% w/v sodium alginate or 5% w/v pectin) resulted in uneven surface, whereas lower concentrations (1.5% w/v sodium alginate or 2% w/v pectin) resulted in poor structural integrity and hard to remove from petri dish.

The formulations of 2% w/v sodium alginate or 4% w/v pectin with 2% w/v propylene glycol (PG) found to be the optimal concentrations with good overall basic properties of the films. The free films preparing from sodium alginate produced translucent films but severely contracted during the cross-linking reaction, while the free films prepared from pectin produced yellowish, slightly opaque films but only slightly contracted during the cross-linking reaction. Therefore, various ratios (v:v) of

2% w/v sodium alginate and 4% w/v pectin were examined for the following experiments to obtain films with good overall basic properties both before and after the cross-linking reaction. The composition and physical properties of the films are summarized in Table 2.

The films prepared from 2% w/v sodium alginate and 4% w/v pectin at a ratio of 2:1 (v:v) with 2% w/v PG using 0.5, 1, and 2% w/v CaCl₂ provided translucent films with relatively uniform thickness. Increasing CaCl₂ concentrations (2% w/v) in the crosslinking solution resulted in excessive contraction of the wet film. The applied small molecular weight plasticizers (propylene glycol and glycerol) caused not only increase the resistance to the mechanical effect, but also decrease in the surface free energy of the films [Bajdik et al., 2007]. Addition of 2% w/v PG in CaCl₂ as a crosslinking solution produced slow gel formation and resulted in substantially decreasing film contraction after cross-linking. The films formulation containing 2% w/v sodium alginate and 4% w/v pectin at a ratio of 2:1 with 2% w/v PG using 0.5, 1, and 2% w/v CaCl₂ and 2% w/v PG as a cross-linking solution was further prepared and characterized for their specific properties.

3.2 Characterization of the free films

The evaluation of the free films has been established as an effective step in the development of film coating systems, since it can be readily used to characterize and evaluate fundamental properties of the coating. The results of the free films properties in various conditions will then be applied in order to get the practical coating formulations and conditions.

3.2.1 Water vapor penetration

The water vapor penetration across the films at 6, 12, 24, and 48 hours were measured and expressed as % weight increased of dried silica gel. The free films showed a zero order water penetration profile as a function of time. The vapor transmission was measured under steady state conditions. Therefore, the contribution of the moisture absorbed by the film can be considered negligible. Figure 2 shows water vapor penetration at 48 hours of the film containing 2% w/v sodium alginate and 4% w/v pectin at ratio of 2:1 with 2% w/v PG using 0.5, 2% w/v CaCl₂ and 2% w/v PG as a cross-linking solution, cross-linking at 1, 5, and 10 minutes, respectively. Using 0.5% w/v CaCl₂ resulted in higher vapor penetration than 2% w/v CaCl₂ due to less cross-linking in the polymer chains. No statistically difference vapor penetration after additional cross-linking time at 5 and 10 minutes. The loosely cross-linking of the gel structure at low CaCl₂ concentration resulted in porous film after drying and the vapor penetration was independent of time. Because of these advantages of the film, water vapor from planted seeds surroundings can penetrate through the film and help the distributed rhizobacteria and cucumber seed grow.

Several studies reported that anionic polysaccharides (e.g. sodium alginate and low methoxy potassium pectin) can react with calcium ions to form insoluble gels in the hydrated states. Therefore, the dried films can be applied as film coating for sustained release [Sriamornsak, 1997]. The cross-linking reaction was originally described by Grant et al. [1973] in terms of an egg-box model for the mechanism of binding involving two or more units. In case of alginate and pectin, the gel formation resulted from a specific interaction between calcium ions and blocks of galacturonate and

guluronate units, respectively. However, recent studies suggested that mannuronate-guluronate blocks also involved in gelation of alginate [Braccini and Perez, 2001; Donati et al., 2005]. This ability to form an insoluble network could explain how its concentration affects the water adsorption, making films with higher concentration acted as higher barriers to water vapor. Sriamornsak and Kennedy [2006] showed that the effect of hardening time on the puncture strength and elongation of calcium pectinate (GENU pectin type LM-104 AS FS) films required at least 30 min to reach the maximum mechanical strength, while a much shorter time was required for calcium alginate films. The results were consistent with our experiment where the combination of alginate and pectin solutions produced the films with only slightly contraction, consequently, better film features than the films produced from only alginate solution. In this experiment, a much shorter reaction time was employed so that we obtained the insoluble films within a practical time frame for further application regardless of the maximum gel strength.

3.2.2 Water adsorption

Figure 3 shows the equilibrium water uptake of the films at 0.5 and 2% w/v of CaCl₂ in cross-linking solution. At 0.5% w/v CaCl₂, the films showed no significant different in equilibrium water uptake with increasing cross-linking time. Increasing concentration of CaCl₂ resulted in higher water adsorption at 1 minute cross-linking time, while decreasing significantly at 5 and 10 minutes cross-linking time. Pavlath et al. [1999] assumed that there are two reactions occurring when immersing an alginate film in a calcium solution. One is the precipitation of the film by linkage of calcium with carboxyl groups on the film surface, and the other is dissolution of alginate by the solution. This could explain the results at 1 minute cross-linking time where at

low calcium ion concentration (0.5% w/v) where the dissolution of polymers was faster than the precipitation of polymers. Figure 4 shows that higher concentration of calcium chloride in cross-linking solutions at 1% w/v and 2% w/v produced no significantly different film thickness compared with the film without cross-linking reaction. The film thickness was significantly lower than other groups at 0.5% w/v calcium chloride probably due to dissolution of polymers higher than precipitation or gel structural change. Figure 4 shows that higher concentration of calcium chloride in cross-linking solutions at 2% w/v produced no significantly different film thickness compared with 0.5% w/v calcium chloride at 1, 5, and 10 minutes cross-linking time. The film thickness of 0.5 and 2% w/v calcium chloride at 1 and 5 minutes crosslinking time was significantly lower than the film without cross-linking reaction due to dissolution of polymers higher than precipitation or gel structural change. Rhim [2004] also found that thickness of alginate films decreases when immersed in calcium solutions and attributed that to polymer dissolution during soaking. However, Sriamornsak and Kennedy [2006] suggested that the changes in calcium content did not substantially influence the microscopic structure of the hydrated films in scanning electron micrographs. Our results showed that although the calcium content and crosslinking time did not significantly influence the microscopic structure, they substantially influence the water adsorption properties of the films.

3.3 Wet film coating on cucumber seeds

The seed coating procedure was first, application of 5 mL coating solution containing 2% w/v alginate and 4% w/v pectin (ratio 2:1) with 2% w/v PG on 10 grams (50 seeds) of cucumber seeds (approximately 10⁵ cfu/seed), then 0.5 mL of cross-linking solution was sprayed on the coated seeds. The results were consistent with the free

film properties where cross-linking solution with more than 2% w/v CaCl₂ or without PG resulted in high contraction and separation of wet film from the seeds. Spraying the cross-linking solution provided good distribution over the coated seeds and easy to perform. This method of coating and spraying was modified to be easily prepared and practical on the field using plastic tub. Figure 5a shows the morphology of vegetative cells of strain RS87 after separation of cells from the medium. Figure 5b shows the vegetative cells of strain RS87 were evenly distributed over the coated cucumber seed. This result implied that the vegetative cells of strain RS87 were homogenously distributed around the seeds.

3.4 Survival of *B. cereus* strain RS87 in the wet film and on the coated seeds Figure 6a shows that strain RS87 can grow well in the composition of the films. Figure 6b shows that the film coating on the seeds appeared uniform and colony of strain RS87 appeared around the base of each cucumber seed. It was found that strain RS87 can survive on the coated seeds over ... days at room temperature and over ... days at 40°C. Amiet-Charpertier et al. [1998] also suggested that M3.1 rhizobacterium strain survival was found to be rather high over 2 days, since the bacterial concentration in the dried polymer microparticles remained at a value of $\sim 6 \times 10^3$ cfu/g, but all the encapsulated bacteria were dead after 6 days. Further work in greenhouse experiments will be performed in order to justify efficacy of using wet film coating comparing with bacterial suspension application.

4. Conclusions

Alginate/pectin films immersed in CaCl₂ appear to generate films with good water vapor penetration and water adsorption. Spreading the film coating solution

containing 2% w/v sodium alginate and 4% w/v pectin (ratio 2:1) followed by spraying the cross-linking solution of 0.5% w/v CaCl₂ and 2% w/v PG on the coated seeds was the quick and practical method for application in the field using farm utensils. Coated cucumber seed containing vegetative cells of strain RS87 showed good distribution of bacteria around every seeds.

5. Acknowledgements

This work was supported by a grant from the Thailand Research Fund (grant no. DBG4980001) and PERCH-CIC. A gratitude to Prof. Hans E. Junginger, Naresuan University, for his valuable advice in preparing this manuscript.

6. References

- Amiet-Charpertier, C., Benoit, J.P., Gadille, P., and Richard, J. (1998). Preparation of rhizobacteria-containing polymer microparticles using a complex coaceravation method. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 144, 179-190.
- Bajdik, J., Feher, M., and Pintye-Hodi, K. (2007). Effect of plasticizer on surface of free films prepared from aqueous solutions of salts of cationic polymers with different plasticizers. *Applied Surface Science*, *253*, 7303-7308.
- BeMiller, J.N., and Whistler, R.L. (1996). Carbohydrates. In Owen R. Fennema (Ed.). *Food chemistry* (3rd ed., pp. 157-224). New York: Marcel Dekker, Inc.
- Benizri, E., Baudin, E., and Guckert, A. (2001). Root colonization by inoculated plant growth promoting rhizobacteria. *Biocontrol Science and Technology*, 11, 557-574.

- Bowen, G.D., and Rovira, A.D. (1999). The rhizosphere and its management to improve plant growth. *Advances in Agronomy*, 66, 1-102.
- Braccini, I., and Perez, S. (2001). Molecular basis of Ca²⁺-induced gelation in alginates and pectins: the egg-box model revisited. *Biomacromolecules*, 2, 1089-1096.
- Bushan, Y. (1998). Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. *Biotechnology Advances*, *16*, 729-770.
- Ciccillo, F., Fiore, A., Bevivino, A., Dalmastri, C., Tabacchioni, S., and Chiarini, L. (2002). Effects of two different application methods of Burkholderia ambifaria MCI7 on plant growth and rhizopheric bacterial diversity. *Environmental Microbiology*, *4*, 238-245.
- Grant, G.T., Morris, E.R., Rees, D.A., Smith, P.J.A., and Thom, D. (1973). Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: the egg-box model. *FEBS Letters*, *32*, 195-198.
- Hartley, E., Gemell, L.G., and Herridge, D.F. (2004). Lime pelleting inoculated serradella (*Ornithopus spp.*) increases nodulation and yield. *Soil Biology and Biochemistry*, *36*, 1289-1294.
- Jetiyanon, J., and Kloepper, J.W. (2002). Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria for induction of systemic resistance against multiple plant diseases. *Biological Control*, 24, 285-291.
- Kloepper, J.W., Ryu, C.M., and Zhang, S. (2004). Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology*, 94, 1259-1266.
- Nyqvist, H. (1983). Saturated salt solutions for maintaining specified relative humidities. *International Journal Pharmaceutical Technology and Product Manufacturing*, 4, 47-48.

- Olivas, G.I., and Barbosa-Canovas, G.V. (2008). Alginate-calcium films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizer and relative humidity. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 41, 359-366.
- Pavlanth, A.E., Gosset, C., Camirand, W., and Roberton, G.H. (1999). Ionomeric films of alginic acid. *Journal of Food Science*, 64, 61-63.
- Rhim, J.W. (2004). Physical and mechanical properties of water resistant sodium alginate films. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, *37*, 323-330.
- Ryu, C., Kim, J., Choi, O., Kim, S.H., and Park, C.S. (2006). Improvement of biological control capacity of *Paenibacillus polyyxa* E681 by seed pelleting on sesame. *Biological Control*, *39*, 282-289.
- Sime, W.J. (1990). Alginates. In P. Harris (Ed.). *Food gels* (pp. 53-58). London: Elsevier.
- Sriamronsak, P., Prakingpan, S., Puttipipatkhachorn, S., and Kennedy, R.A. (1997).

 Developemnt of sustained release theophylline pellets coated with calcium pectinate. *Journal of Controlled Release*, 47, 221-232.
- Sriamornsak, P., and Kennedy, R.A. (2006). A novel gel formation method, microstructure and mechanical properties of calcium polysaccharide gel films. *International Journal of Pharmacognosy, 323*, 72-80.

List of Tables

- Table 1 The compositions and physical characteristics of the free films preparing from various concentration of sodium alginate (1-3% w/v), pectin (3-5% w/v) and propylene glycol (1-3% w/v).
- Table 2 The characteristics and physical properties of the free films preparing from combination of 2% w/v sodium alginate and 4% w/v pectin solutions cross-linking with $CaCl_2$.

List of Figures

- Figure 1 Diagram of cross-linking bath of the wet film in calcium chloride solution.
- Figure 2 Water vapor penetration at 48 hours of the free films at 0.5 and 2% w/v of CaCl₂ immersed in cross-linking solution for 1, 5, and 10 minutes, respectively.
- Figure 3 Equilibrium water uptake of the free films at 0.5 and 2% w/v of CaCl₂ immersed in cross-linking solution for 1, 5, and 10 minutes, respectively.
- Figure 4 Thickness of the free films at 0.5 and 2% w/v of CaCl₂ immersed in cross-linking solution for 1, 5, and 10 minutes, respectively
- Figure 5 SEM micrograph of (a) Rhizobacteria (RS87) vegetative cells in concentrated suspension and (b) Rhizobacteria (RS87) vegetative cells On the coating layer of cucumber seed.
- Figure 6 (a) Rhizobacteria (RS87) growth in the composition of the films,

 (b) Rhizobacteria (RS87) growth on the film coated cucumber seeds (right) compared with control without the films (left).

No.	Sod.Alginate (% w/v)	Pectin (% w/v)	PG (% w/v)	Film characteristics
1	1.0	-	-	Translucent, smooth, brittle
2	1.5	-	-	Translucent, smooth, brittle
3	2.0	-	-	Translucent, smooth, brittle
4	3.0	-	-	Translucent, uneven, brittle
5	2.0	-	1.0	Translucent, smooth, flexible
6	2.0	-	2.0	Translucent, smooth, flexible
7	2.0	-	3.0	Translucent, uneven surface, flexible, sticky
8	-	3.0	-	Yellowish, translucent, smooth, brittle
9	-	4.0	-	Yellowish, translucent, smooth, brittle
10	-	5.0	-	Yellowish, translucent, uneven, brittle
11	-	4.0	1.0	Yellowish, translucent, smooth, flexible
12	-	4.0	2.0	Yellowish, translucent, smooth, flexible
13	-	4.0	3.0	Yellowish, translucent, uneven, flexible, sticky

Table 1 - Wittaya-areekul et al.

No.	Sod. Alginate: pectin (v:v)	PG (% w/v)	CaCl ₂ (% w/v)	Film characteristics
1	2:1	2	-	Translucent, smooth, soluble
2	1:1	2	-	Translucent, smooth, soluble
3	1:2	2	-	Translucent, smooth, soluble
4	2:1	2	0.5	Translucent, smooth, shrink, insoluble
5	1:1	2	0.5	Translucent, smooth, shrink, insoluble
6	1:2	2	0.5	Translucent, smooth, slightly shrink, insoluble
7	2:1	2	1.0	Translucent, smooth, shrink, insoluble
8	1:1	2	1.0	Translucent, smooth, shrink, insoluble
9	1:2	2	1.0	Translucent, smooth, slightly shrink, insoluble
10	2:1	2	2.0	Translucent, smooth, shrink, insoluble
11	1:1	2	2.0	Translucent, smooth, shrink, insoluble
12	1:2	2	2.0	Translucent, smooth, shrink, insoluble

Table 2 - Wittaya-areekul et al.

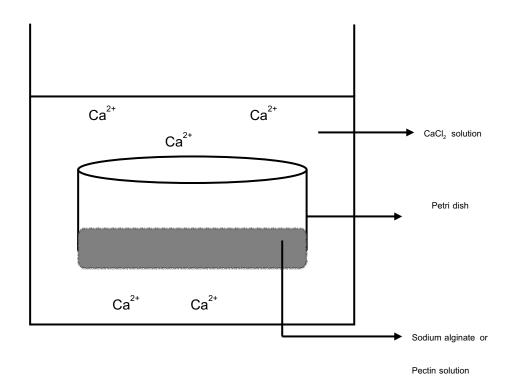


Figure 1 - Wittaya-areekul et al.

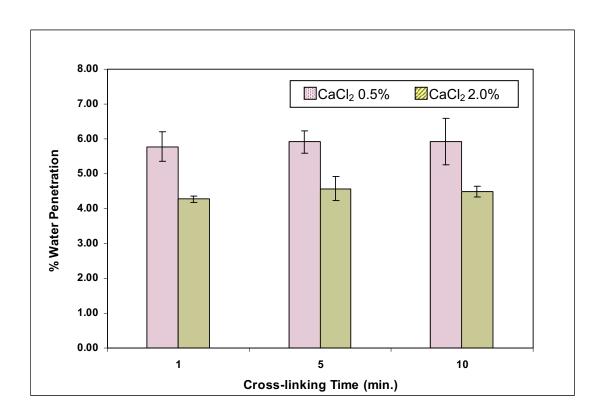


Figure 2 - Wittaya-areekul et al.

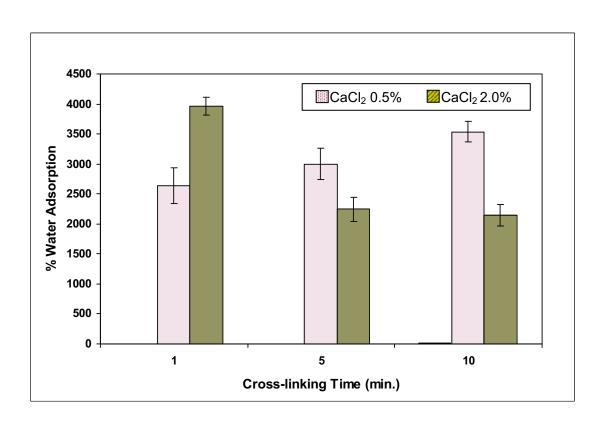


Figure 3 - Wittaya-areekul et al.

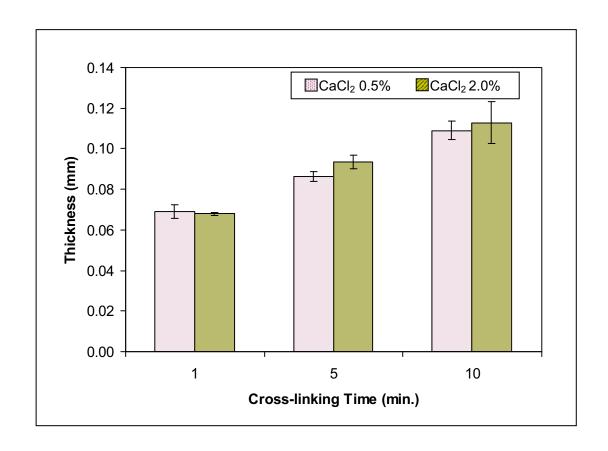
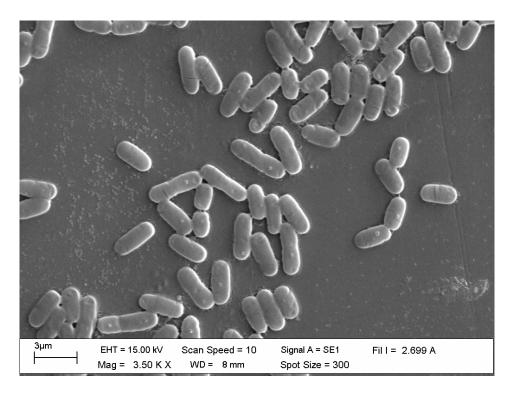


Figure 4 - Wittaya-areekul et al



(a)

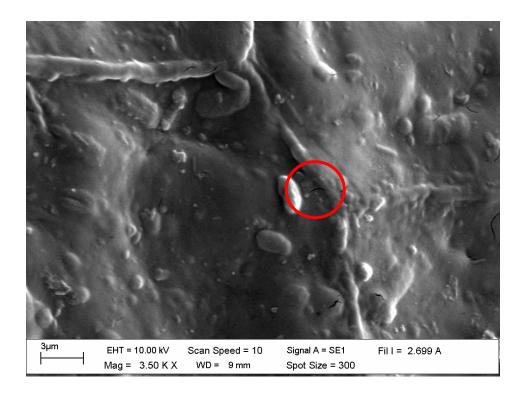


Figure 6 - Wittaya-areekul et al.

Development of Seed Coating Formulation for Live Cells of Free-living Plant Growth-Promoting Rhizobacteria

Wittaya-Areekul, S. 1*, Jetiyanon, K. 2, Plianbangchang, P. 1

¹ Faculty of Pharmaceutical Sciences, Naresuan University, Phitsanulok, Thailand ² Faculty of Agriculture, Natural Resources and Environment, Naresuan University, Phitsanulok, Thailand

Abstract

Currently, formulation containing live cells of free-living plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) is in a liquid form. Most products require intensive apparatus and certain conditions for preparation. The objective of this study was to develop the practical formulation for live cells of free-living PGPR. Alginate and pectin was used as film formers and propylene glycol was used as a plasticizer. The formulation was developed with various concentrations of the film components and evaluated for basic film properties, i.e., flexibility, water adsorption and vapor penetration. The films were further cross-linked using calcium chloride solution to improve the film strength. The optimum film formulation was selected for evaluation of appropriate coating method and rhizobacterial survival in the film components using soybean seeds as a model for seed coating. The result showed that rhizobacteria can grow in all of the film formulations. The optimum film formulation contained 2% w/v alginate 4% w/v pectin, and 2% w/v propylene glycol using 0.1 %w/v calcium chloride and 2% w/v propylene glycol as a cross linking solution. This film formulation showed even film formation with excellent water adsorption and vapor penetration. The coating method consisted of spreading 4 mL of polymer mixtures on 10 grams of soybean seeds and then spraying with 0.6 mL of cross linking solution resulted in good film coating feature with minimal coating duration. It was suggested that this seed coating formulation could be benefit for using live cells of PGPR and would be a practical preparation for growers.

Keywords: Rhizobacteria, Growth Promotion, Seed Coating, Wet Film

Outputs:

- 1. Submitted petty patent to Thailand Intellectual Property Department.
- 2. Wittaya-Areekul, S., Jetiyanon, K., Plianbangchang, P. Development of Seed Coating Formulation for Live Cells of Free-living Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. Carbohydrate Polymers (manuscript in preparation).

*Corresponding author.

Tel.: 055-261000 ext. 3619; Fax: 055-261057

E-mail: sakchai99@yahoo.com

Seed Coating Film of Bacillus cereus strain RS87 for Plant Growth Promotion

Jetiyanon, K.^{1*}, Wittaya-areekul, S.², Plianbangchang, P.²

Abstract

Plant growth promoting rhizobacterium (PGPR), Bacillus cereus strain RS87, has been demonstrated for it's efficacy of promoting plant growth in various crops both in greenhouse and field trials. However, application of strain RS87 is still based on using live cells which is routinely prepared in laboratory. The objective of this study was to investigate the feasibility of seed coating film containing spore of strain RS87 for plant growth promotion. Cucumber and pepper were tested. In greenhouse assays, the experiment consisted of 7 treatments including non-treated seed control (NTC), soaking seed with water control (WC), wet-seed coating film control (WFC), dry-seed coating film control (DFC), soaking seed with live cells RS87 (LC-RS87), wet-seed coating film with RS87 spore (WF-RS87spore), and dry-seed coating film with RS87 spore (DF-RS87spore). Three experiments including percentage of emergence (30 replications/treatment), root length (30 replications/treatment), and plant height (12 replications/treatment) were separately investigated. Each experiment was conducted twice. Results showed that DF-RS87spore provided the highest seed emergence of cucumber and pepper. LC-RS87 and WF-RS87spore gave better seed emergence than control treatments. All bacterized treatments (both live cells and spore of RS87) significantly promoted ($P \le 0.05$) root length and plant height over control treatments. In conclusion, seed coating film with RS87 spore promoted plant growth of cucumber and pepper.

Keywords: Seed Coating Film, Bacillus cereus strain RS87, plant growth promotion

Outputs

1. Jetiyanon, K., Wittaya-areekul, S., Plianbangchang, P. Seed Coating Film of *Bacillus cereus* strain RS87 for Plant Growth Promotion. Canadian Journal of Microbiology (manuscript in preparation)

*Corresponding author.

Tel.:0-55-261-000 ext. 2722; Fax:0-55-261-040

E-mail: kanchaleej@nu.ac.th

¹Faculty of Agriculture, Natural Resources, and Environment, Naresuan University, Phitsanulok, Thailand

²Faculty of Pharmaceutical Sciences, Naresuan University, Phitsanulok, Thailand

Demographic Characteristics and Channels of Innovations Diffusion in Noen Maprang District, Phitsanulok: An Application for PGPR

Jetiyanon, K.¹ Plianbangchang P.^{2*}, Wittaya-areekul S.²

¹Faculty of Agriculture, Natural Resources and Environment, Naresuan University, Phitsanulok, Thailand

Abstract

Understanding of the community background and proper channel is essential for the success of innovations diffusion in a community. In this study, we investigated the demographic characteristics and acceptable channels of PGPR technology distribution in two villages of Noen Maprang district, Phitsanulok. The study was conducted between November 2006 and June 2007. Responses were gathered from 170 community members by means of a survey with structured questionnaires. Two focus group sessions were conducted with community leaders. The results indicated that the majority (72.9%) of community members in both villages were farmers, with primary school education (74.1%). Most of the respondents cultivated various crops in their fields. The main crop was rice (92.3%), followed by mango (56.1%) and corn (14.6%). Almost all farmers utilized agro-chemicals for plant production. Aproximately 50% used only chemicals, whereas 43.8% used a combination of chemicals and natural products. The majority of respondents (83.5%) reported affiliating with at least one group/organization. Economic was the most frequently mentioned reason (83.8%) for joining a group/organization. Most community members (74.1%) received agriculture-related information. The most frequently mentioned source of information was village head (66.7%), followed by district and subdistrict agricultural extensionists (56.3%), community broadcast (55.6%), and television (50.8%). A number of the respondents (78.2%) expressed intention to try alternative method for plant production. Results revealed that the most appropriate means to diffuse new technology was a field-trail demonstration, coupled with a workshop for interested members. Words of mouth from interested members to their social network, i.e., family members and neighbors, then, would be an effective communication channel. This study showed the problem of heavy chemical use that awaited resolution. In addition, community members exhibited interest in more environmental-friendly alternatives. The results from this study were utilized as a strategy to introduce and distribute PGPR knowledge and practice in these communities.

Keywords: Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR), diffusion of innovations

Outputs

1. Jetiyanon, K. Plianbangchang P., Wittaya-areekul S. Demographic Characteristics and Channels of Innovations Diffusion in Noen Maprang District, Phitsanulok: An Application for PGPR, Agricultural System (manuscript in preparation).

*Corresponding author.

Tel.:66-5526-1000 ext. 3620; Fax: 66-5526-1057

E-mail: pplianbangchang@nu.ac.th

²Faculty of Pharmaceutical Sciences, Naresuan University, Phitsanulok, Thailand

"การถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยไรโซแบคทีเรียสู่เกษตรกร"

26 มิถุนายน 2551

ณ มหาวิทยาลัยนเรศวร จ.พิษณุโลก

I. ความน้ำ

คณะผู้วิจัย อันประกอบด้วย รองศาสตราจารย์ ดร.กัญชลี เจติยานนท์ สังกัดคณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม รองศาสตราจารย์ ดร.ศักดิ์ชัย วิทยาอารีย์กุล และรองศาสตราจารย์ ดร.ภิญญุภา เปลี่ยนบางช้าง สังกัดคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัย จากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) เพื่อดำเนินโครงการวิจัยแบบมุ่งเป้า ในหัวข้อ "การ พัฒนาสูตรตำรับ ทดสอบประสิทธิภาพ และถ่ายทอดเทคโนโลยีของผลิตภัณฑ์ส่งเสริมการเจริญเติบโต ของพืชจากไรโซแบคทีเรีย" ระยะเวลา 2 ปี ตั้งแต่ พ.ศ. 2549-2551

การดำเนินงานที่ผ่านมาเป็นไปตามแผนการวิจัย โดยผู้วิจัยได้พัฒนาสูตรตำรับปุ๋ยที่มีส่วนผสม ของเชื้อไรโชแบคทีเรียที่มีความคงตัว มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ทั้งในภาวะ ควบคุมและภาคสนาม นอกจากนี้ ยังได้เผยแพร่นวัตกรรม "ปุ๋ยไรโซ" ให้กับเกษตรกรผู้สนใจในอำเภอ เนินมะปราง จ.พิษณุโลก ด้วยกระบวนการแพร่กระจายนวัตกรรมที่เหมาะสมกับพื้นที่ นั่นคือ ใช้ผู้นำ ชุมชน (ผู้ใหญ่บ้าน) ซึ่งเป็นผู้นำทางความคิดของชาวบ้านเป็นจุดเริ่มต้น เพื่อระบุกลุ่มผู้รับนวัตกรรมเร็ว จากนั้นใช้เทคนิคการทดลองเพื่อให้เห็นผลเชิงประจักษ์และการบอกต่อเป็นช่องทางการแพร่กระจาย นวัตกรรมในชุมชนต่อไป เกษตรกรอาสาสมัครได้ทดลองใช้ "ปุ๋ยไรโซ" ทดแทนปุ๋ยเคมีบางส่วนโดยได้ ผลผลิตไม่แตกต่างกัน แต่มีความพึงพอใจกับ "ปุ๋ยไรโซ" มากกว่า เนื่องจากเห็นว่า เป็นมิตรกับ สิ่งแวดล้อมและผลผลิตที่ได้มีคุณภาพดีกว่าการใช้ปุ๋ยเคมีเต็มสูตรอย่างเดียว เช่น แตงกวามีรสหวาน กว่า เก็บผลผลิตได้นานกว่า เป็นต้น นอกจากนี้ ตลอดระยะเวลาการทดลอง มีเพื่อนบ้านและเกษตรกร จากชุมชนใกล้เคียงซึ่งได้เห็นผลเชิงประจักษ์ของ "ปุ๋ยไรโซ" ให้ความสนใจอีกจำนวนหนึ่ง

ขั้นตอนสุดท้ายของโครงการ คือ การถ่ายทอดนวัตกรรมไรโซแบคทีเรียหรือ "ปุ๋ยไรโซ" สู่ เกษตรกร ด้วยเหตุนี้ คณะผู้วิจัยจึงได้จัดโครงการอบรมเชิงปฏิบัติการ "การถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิต ปุ๋ยไรโซแบคทีเรียสู่เกษตรกร" ขึ้น เพื่อเปิดโอกาสให้เกษตรกรผู้สนใจทั่วประเทศ ได้รับความรู้เกี่ยวกับ หลักการของไรโซแบคทีเรียในการเสริมสร้างความเจริญเติบโตให้กับพืช ได้รับชมการสาธิตการผลิต "ปุ๋ยไรโซ" และแลกเปลี่ยนประสบการณ์กับเกษตรกรอาสาสมัครที่เคยทดลองใช้ผลิตภัณฑ์แล้ว

การอบรมเชิงปฏิบัติการนี้จัดขึ้นในวันพฤหัสบดีที่ 26 มิถุนายน 2551 ณ มหาวิทยาลัยนเรศวร จ.พิษณุโลก โครงการแบ่งเป็น 2 ช่วง ช่วงเช้าเป็นการสาธิตการผลิต "ปุ๋ยไรโซ" ณ แปลงทดลอง ช่วง บ่ายเป็นการบรรยายความรู้และแลกเปลี่ยนประสบการณ์ ที่อาคารคณะเกษตรศาสตร์ฯ ผู้เข้าร่วม โครงการจะได้รับตัวอย่าง "ปุ๋ยไรโซ" เพื่อทดลองใช้คนละ 1 กิโลกรัม

II. ผลการดำเนินงาน

ผลการดำเนินงานเชิงปริมาณ:

จากใบลงทะเบียน (ภาคผนวก 9ก) มีผู้ลงทะเบียน 59 คน แบ่งเป็น ผู้ทรงคุณวุฒิจาก สกว. 2 คน คณะผู้วิจัย 2 คน วิทยากร 3 คน ผู้สังเกตการณ์จาก สกว. 1 คน ผู้สังเกตการณ์จากมหาวิทยาลัย นเรศวร 1 คน และเกษตกรผู้สนใจ 50 คน

ผลการดำเนินงานเชิงคุณภาพ:

ผลการดำเนินงานเชิงคุณภาพประเมินจากแบบประเมินความพึงพอใจ (ภาคผนวก 9ข) ที่แจก ให้ผู้เข้าร่วมโครงการในช่วงพักรับประทานอาหารกลางวัน จากแบบประเมินที่แจก 50 ฉบับ ได้รับ กลับคืนมา 48 ฉบับ คิดเป็นอัตราการตอบกลับร้อยละ 96

ผู้ตอบแบบประเมินส่วนใหญ่ (ร้อยละ 70.8) เป็นเพศชาย อายุกระจายกันตั้งแต่ ด่ำกว่า 25 ปีไป จนถึงสูงกว่า 55 ปี โดยเกือบครึ่ง (ร้อยละ 46.8) มีอายุ 51 ปีขึ้นไป ผู้เข้าร่วมโครงการ 14 รายมาจาก จังหวัดพิษณุโลก นอกนั้นมาจากจังหวัดราชบุรี (8 ราย) กรุงเทพฯ (7 ราย) สุโขทัย (5 ราย) กำแพงเพชร (4 ราย) พิจิตร (2 ราย) และจันทบุรี ชัยนาท ชัยภูมิ นครปฐม ปทุมธานี ประจวบคีรีขันธ์ สมุทรปราการ และอุตรดิตถ์ จังหวัดละ 1 ราย

ผู้เข้าร่วมโครงการเกินครึ่ง (ร้อยละ 62.5) ประกอบอาชีพเกษตรกรรมเป็นหลัก ที่เหลือมีอาชีพ ค้าขาย/ประกอบธุรกิจ หรือรับราชการ (หรือเป็นข้าราชการบำนาญ) โดยประกอบอาชีพเกษตรกรรมเป็น อาชีพเสริมหรืองานอดิเรก

ช่องทางสื่อสารที่เข้าถึงผู้เข้าร่วมโครงการครั้งนี้มากที่สุด คือ การประชาสัมพันธ์ของผู้ให้ทุนผ่าน หนังสือพิมพ์เดลินิวส์ (เข้าถึงผู้เข้าร่วมโครงการร้อยละ 74.5) รองลงมาเป็นการสื่อสารจากปากต่อปาก คือ รับทราบจากผู้วิจัยโดยตรง (ร้อยละ 12.8) และวิทยุคลื่น สวท.พิษณุโลก (ร้อยละ 6.4)

การประเมินความพึงพอใจต่อโครงการแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ การบริหารจัดการและวิชาการ ตัวเลือกแบบประเมินเป็นแบบ dichotomous (พอใจ/ไม่พอใจ) พร้อมให้ระบุข้อเสนอแนะหากผู้ประเมิน ไม่พึงพอใจต่อประเด็นนั้นๆ

ในภาพรวม ผู้เข้าร่วมโครงการมีความพึงพอใจต่อการบริหารจัดการเกินร้อยละ 80 ทุกด้าน (ตารางที่ 1) โดยเฉพาะด้านอาหารและเครื่องดื่มและสถานที่บรรยายช่วงบ่าย (ห้อง AG 2303 คณะ

เกษตรศาสตร์ฯ) ที่ผู้เข้าร่วมโครงการทุกคนมีความพึงพอใจ ด้านที่ได้รับความพึงพอใจจากผู้เข้าร่วม โครงการน้อยที่สุด คือ การประชาสัมพันธ์โครงการ โดยมีข้อเสนอแนะว่า ควรประชาสัมพันธ์ให้ทั่วถึง มากกว่านี้ เช่น การติดป้ายประชาสัมพันธ์ตามสำนักงานเกษตรจังหวัด เกษตรตำบล ประชาสัมพันธ์ ผ่าน อบต. การใช้สื่อที่เข้าถึงเกษตรกร เช่น หนังสือพิมพ์ไทยรัฐและเดลินิวส์ วิทยุขุมชน หรือรายการ โทรทัศน์สำหรับเกษตรกร เป็นต้น

นอกจากนี้ ผู้เข้าร่วมโครงการบางรายยังมีข้อเสนอแนะให้จัดอบรมในระยะเวลานานขึ้น โดยมี การเสนอเป็น 2 วัน (5 ราย) จัดในวันหยุดสุดสัปดาห์ (3 ราย) และควรจัดที่กรุงเทพฯ เพื่อให้ผู้สนใจจาก ต่างจังหวัดสามารถเข้าร่วมประชุมได้สะดวกขึ้น (5 ราย)

ตารางที่ 1 ความพึงพอใจต่อการบริหารจัดการโครงการฯ

ด้าน	จำนวนผู้ที่พึงพอใจ (ร้อยละ)
1. วันที่จัดโครงการ (26 มิ.ย. 51) (n=46)	42 (91.3)
2. จำนวนวันที่จัดโครงการ (1 วัน) (n=47)	43 (91.5)
3. การประชาสัมพันธ์ (n=46)	39 (84.8)
4. การเดินทาง (n=46)	40 (87.0)
5. การลงทะเบียนและการต้อนรับ (n=47)	44(93.6)
6. อาหารและเครื่องดื่ม (n=46)	46 (100.0)
7. สถานที่ช่วงเช้า (แปลงสาธิต) (n=45)	39 (86.7)
8. สถานที่ช่วงบ่าย (คณะเกษตรฯ) (n=45)	45 (100.0)

ในด้านวิชาการ ผู้เข้าร่วมโครงการมีความพึงพอใจต่อการบริหารจัดการเกินร้อยละ 80 ทุกด้าน เช่นกัน (ตารางที่ 2) โดยการบรรยายในช่วงบ่ายได้รับความพึงพอใจจากผู้เข้าร่วมโครงการทุกคน ด้านที่ ได้รับการประเมินต่ำที่สุดในกลุ่มนี้ คือ ประโยชน์ที่ได้รับจากโครงการในภาพรวม ทั้งนี้เนื่องจากผู้วิจัยยัง ไม่สามารถถ่ายทอดเทคโนโลยีทั้งหมดในการผลิตปุ๋ยไรโชให้กับเกษตรกรได้ด้วยข้อจำกัดด้านเครื่องมือ วิทยาศาสตร์และเทคนิคการเลี้ยงเชื้อขั้นสูง โดยเกษตรกรยังจำเป็นต้องขอรับเชื้อไรโชแบคทีเรียจาก ห้องปฏิบัติการทุกครั้ง เพื่อนำไปผลิตปุ๋ยไรโช จึงทำให้เกษตรกรจำนวนหนึ่งรู้สึกว่า การอบรมครั้งนี้ยัง ไม่เกิดประโยชน์สูงสุดกับตนเอง

นอกจากนี้ ผู้เข้าร่วมโครงการ 5 รายยังเห็นว่า การสาธิตในช่วงเช้ามีรายละเอียดน้อยเกินไปจน ไม่เข้าใจ มี 2 รายเสนอให้จัดสถานที่ชมการสาธิตที่เป็นอาคาร กันแดดได้ และมี 1 รายที่เสนอแนะว่า ควรแบ่งกลุ่มเข้าชมการสาธิตให้ชัดเจน เพื่อความเป็นระเบียบ

ตารางที่ 2 ความพึงพอใจต่อเนื้อหาวิชาการของโครงการฯ

ด้าน	จำนวนผู้ที่พึงพอใจ (ร้อยละ)
1. ความสามารถของวิทยากร (n=46)	45 (97.8)
2. เวลาการสาธิตผลิตปุ๋ยช่วงเช้า (n=45)	42 (93.3)
3. เวลาการบรรยายช่วงบ่าย (n=44)	44 (100.0)
4. การเปิดโอกาสให้ซักถามแลกเปลี่ยน (n=45)	43 (95.6)
5. ประโยชน์ที่ได้รับจากโครงการในภาพรวม (n=44)	37 (84.1)

เมื่อสอบถามถึงความสนใจในการเข้ารับการอบรมในลักษณะเดียวกันในครั้งต่อไป ผู้เข้าร่วม โครงการทุกคนแสดงความจำนงเข้าร่วมโครงการ พร้อมทั้งให้ชื่อ-ที่อยู่และหมายเลขโทรศัพท์ติดต่อไว้ กับผู้วิจัย

III. บทสรุป

โครงการอบรมเชิงปฏิบัติการ "การถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยไรโซแบคทีเรียสู่เกษตรกร" เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัยเรื่อง "การพัฒนาสูตรตำรับ ทดสอบประสิทธิภาพ และถ่ายทอด เทคโนโลยีของผลิตภัณฑ์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชจากไรโซแบคทีเรีย" ที่ได้รับการสนับสนุนทุน วิจัยแบบมุ่งเป้าจาก สกว. ผลการดำเนินงานพบว่า ประสบผลสำเร็จทั้งเชิงปริมาณและคุณภาพ โดยมี ผู้เข้าร่วมโครงการ 59 คนจากจังหวัดต่างๆ ทั้งภาคเหนือตอนล่าง ภาคกลาง ภาคตะวันตก ภาค ตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันออก และภาคใต้ตอนบนของประเทศ ผู้เข้าร่วมโครงการมีความพึงพอใจ ต่อประเด็นต่างๆ ของการจัดโครงการในระดับดีมาก

ผลจากการจัดโครงการครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงความสนใจของเกษตรกรในการแสวงหาทางเลือก ในการเกษตร โดยเฉพาะในยุคที่ปุ๋ยเคมีมีราคาแพง ดังนั้น จึงมีความเป็นไปได้สูงในด้านการตลาดที่จะ พัฒนานวัตกรรม "ปุ๋ยไรโซ" สู่เกษตรกรต่อไป อย่างไรก็ตาม อุปสรรคสำคัญที่ต้องข้ามผ่านให้ได้เพื่อ ถ่ายทอดเทคโนโลยีนี้สู่เกษตรกรอย่างแท้จริง คือ การเพาะเลี้ยงเชื้อไรโซแบคทีเรีย ซึ่งในปัจจุบัน ต้องการเครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคนิคการเลี้ยงเชื้อขั้นสูง เกษตรกรไม่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้ เอง จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อแก้ปัญหานี้

ปัญหาและอุปสรรคที่พบจากการจัดโครงการ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาการจัดโครงการ ครั้งต่อไป คือ การประชาสัมพันธ์ โดยผู้เข้าร่วมโครงการเสนอแนะให้ใช้สื่อที่เข้าถึงเกษตรกรมากขึ้น เช่น หนังสือพิมพ์ไทยรัฐหรือเดลินิวส์ การติดป้ายประชาสัมพันธ์ตามสำนักงานเกษตรจังหวัดหรือเกษตร ตำบล เป็นต้น

ภาคผนวก **9**ก ใบลงทะเบียน

ใบลงทะเบียน

โครงการอบรมเชิงปฏิบัติการ "การถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยไรโชแบคทีเรียสู่เกษตรกร″

ลำดับที่	ชื่อ-สกุล	ลายเช็น	
1	ศาสตราจารย์ ดร.วิชัย บุญแสง	J V- /	
2	ศาสตราจารย์ ดร.ประเสริฐ โสภณ	While I	
3	รองศาสตราจารย์ ดร.กัญชลี เจติยานนท์	There theman	
4	รองศาสตราจารย์ ตร.ภิญญุภา เปลี่ยนบางข้าง	riveranen munn	
	รองศาสตราจารย์ ดร.ศักดิ์ชัย วิทยาอารีย์กุล		
5	นางสาวสุทิศา ด้วงบ้านยาง	person adventions	
6	นางเยี้ยม ฉุยฉาย	10121	
7	นายสว่าง สมพิมเสน	A yor	
8	อ้างสหาสิตสาลาสล์ ดีร. วิบุลล์ วิธากายร	545	
9	รหางพางางล ก็หางสักด์ (สกา.)	Mrn Am	

โครงการอบรมเชิงปฏิบัติการ "การถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยไรโชแบคทีเรียสู่เกษตรกร″

ลำดับที่	ชื่อ-สกุล	ลายเข็น
10	merendy extraded nov	081-6665976
	J. D. YSLIG STOCKER WOOM:	X60 87 084910646
12	enshasin sounds	85311 099.94321
	20035 ps57d	83f 08-9402-94
	40 6 7104 N6 NOWS	THE 10870250260
15	เพา ชีวกรรณ สียเพร็พอง	Prom 084-3085059
16	27 21 20 BON 900	Da 0848489004
	onedista nillatorno	J. 0816017116
18	भारत स्वत्रामा स्मार्स्स नाम	dograf
19	16106919 Two Use ลิกอั	2.089-4144458
20	माग्राम्ये माम्यसःगाम	V 21-081-705:2169
11	MONONIMON OUTER	201701 086 0073577
22	mendenger of of my orth	02.05 083 6035139
23	सार विमाय होंदारी	07 089-9882702
24	20000000 विशिष्ठ	
	Row Instruct OD NEEDE	Ors 811448
	י אין אונה הה בייניטים	084939450.
27	RICHENNY (111)	381-7073216
1 28	melar reigno	px 089-5682077
	र्केट के कि रहे के कि	089-704-7334 Am

โครงการอบรมเชิงปฏิบัติการ "การถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยไรโชแบคทีเรียสู่เกษตรกร"

ลำดับที่	ชื่อ-สกุล	ลายเช็น
30	he Bon one: worldessy	4.
	and other and most	Va
32	win exist innove	4
33	war Som towns.	was at Ban
	นาย ณรบล์ นาแก้ว	NOVO 08A-4133170
35	900/1/400 Y107016	& Oo
36	MADON BENEFILE MUNIMINE.	
	मात ७७२०२८म स्थित्रणण	JBW 4N 08445/6942

โครงการอบรมเชิงปฏิบัติการ "การถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยไรโชแบคทีเรียสู่เกษตรกร"

ลำดับที่	ชื่อ-สกุล	ลายเข็น
38	400035 1467MV	022 1WSSWN 081-2844940
39	त व्यक्तमा एकत्वमं एक	NJ2 1W85WN 081-2844940
40	นางสมบรณ์ เรื่องค่า	Mesuri 1303 026-1658568
41	4.5. Eynt Sso's	15ym 5=552 0833381982
42		
43	Localocus spaniken	12
44	21212/5NAP 23/5010C	of 0860946488
	याच ठर्मकुरिय स्वाह्य के वर्ष	SHAP ONOTE 08/9293998
46	mval A rof	ad 0x62032161
47	หาง ค่นอง รองดำกร์	Ax20 087-2392505
48	นาบ สำราย นั้นหม 20	37720 085 2736357
	• • •	
49	मनमूर्वी बिड्नेपर्डेज़र्वी.	trs2 081-5334587.

โครงการอบรมเชิงปฏิบัติการ "การถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยไรโชแบคทีเรียสู่เกษตรกร"

ลำดับที่	ชื่อ-สกุล	ลายเช็น
50	molden acarc	เปียม
51	190 pareso STIANO	ADI 08/163390 X3
52	104 06 PHONNS	8 084-1954939
53	मास्तापर्येव दात्व	
	นายทวีลิทธ์ ทชมเมช์ง	A
	12 an Hon	71
56	विशिन्त भूनाभाग	
57	यान प्रक्रम मंग्रीमाग व्याप्ता	Man 084-7292962
	,	
3 5%	ma (84: Idenal yestern	Die: 18orlar 081-9625213
	0	
59	थाने मार्था भाषा	N:3, L= 081. 9621521

ภาคผนวก 9ข

แบบประเมินความพึงพอใจ

แบบประเมินความพึงพอใจ

โครงการอบรมเชิงปฏิบัติการ "การถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยไรโชแบคทีเรียสู่เกษตรกร″

26 มิถุนายน 2551 ณ มหาวิทยาลัยนเรศวร จ.พิษณุโลก

คำขึ้นจง:

แบบประเมินนี้จัดท่าขึ้นเพื่อรับทราบระดับความพึงพอใจที่ท่านมีต่อแง่มุมต่างๆ ของโครงการ ผลการประเมินจะนำไปใช้ปรับปรุงการจัดโครงการครั้งต่อไป

โปรดทำเครื่องหมายถูก (✓) ในช่องสี่เหลี่ยม (❑) ด้านหน้า/ด้านล่างของข้อความ หรือตอบ คำถามในช่องว่างตามความเป็นจริง

ส่วนที่ 1: ข้อมูลทั่วไปของท่าน

1. เพศ	🗆 ชาย	🗆 หญิง			
2. อายุ	ุ เต๋ากว่า 25 ปี เ⊒ 41-45 ปี	□ 25-3 □ 46-3		□ 31-35 ជ □ 51-55 ជ	□ 36-40 ปี □ มากกว่า 55 ปี
3. อาขีพหลัก	🗆 เกษตรกรรม	🗆 อื่นๆ	คือ		
4. ภูมิลำเนา	🗆 จังหวัดพิษณ	,โลก 🗆 อื่นๆ	คือ จังหวัด		
	ลเกี่ยวกับโครงกา ชลี □ หนัง ข่าวหมู่บ้าน				โทรทัศน์ ช่อง

ส่วนที่ 2: ความพึงพอใจต่อโครงการ

2.1 ส่วนการบริหารจัดการ

ด้าน	ระดับความพึงพอใจ		ข้อเสนอแนะ
	พอใจ	ไม่พอใจ	
1. วันที่จัดโครงการ (26 มิ.ย. 51)			ควรเป็น
2. จำนวนวันที่จัดโครงการ (1 วัน)			ควรเป็น
3. การประชาสัมพันธ์			ควรเป็น
4. การเดินทาง			ควรเป็น
5. การลงทะเบียนและการ ต้อนรับ			ควรเป็น
6. อาหารและเครื่องดื่ม			ควรเป็น
7. สถานที่ช่วงเข้า (แปลง สาธิต)			ควรเป็น
8. สถานที่ช่วงบ่าย (คณะ เกษตรฯ)			ควรเป็น

แบบประเมินโครงการอบรมปุ๋ยไรโช 26 มิ.ย. 51

หน้า 1/2

2.2 ส่วนเนื้อหาการอบรม

ด้าน	ระดับความพึงพอใจ		ข้อเสนอแนะ
	พอใจ	ไม่พอใจ	MEG LIMB IS
1. ความสามารถของวิทยากร		A STATE OF	ควรเป็น
2. เวลาการสาธิตผลิตปุ๋ยช่วง เช้า	2352 8	ul-rite	ควรเป็น
3. เวลาการบรรยายช่วงบ่าย			ควรเป็น
4. การเปิดโอกาสให้ซักถาม แลกเปลี่ยน	Tasuras		ควรเป็น
5. ประโยชน์ที่ได้รับจาก โครงการในภาพรวม			ควรเป็น

เข้า	
3. เวลาการบรรยายช่วงบ่าย	ควรเป็น
4. การเปิดโอกาสให้ชักถาม แลกเปลี่ยน	ควรเป็น
5. ประโยชน์ที่ได้รับจาก	ควรเป็น
โครงการในภาพรวม	
ถ้ามีการจัดโครงการเช่นนี้อีก ท่านสนใจ	เข้าร่วมหรือไม่
⊒ ไม่สนใจ	
🗅 สนใจ กรุณาให้ชื่อ-ที่อยู่สำหรับติดต่อ	
ชื่อ – สกุล	0.30.51
ที่อยู่	
หมายเลขโทรศัพท์	
@ significant	รุณาสละเวลาตอบแบบประเมินชุดนี้ ©
© ขอบคุณทกร	ุณาลละเวลาตอบแบบบระเมนุซุตน ⊜
แบบประเมินโครงการอบรมปุ๋ยไรโช 26 มิ.ย	ม. 51

ภาพกิจกรรม



แผ่นป้ายต้อนรับผู้เข้าร่วมโครงการบริเวณแปลงสาธิต



ผู้เข้าร่วมโครงการรับฟังการอธิบายส่วนผสมของปุ๋ยไรโซ



รศ.ดร.กัญชลี เจติยานนท์ วิทยากร



ชมการสาธิตที่หน่วยผลิตบริเวณแปลงทดลอง



รับฟังการบรรยายกรรมวิธีการผลิตเชื้อไรโซแบคทีเรียและการเตรียมผลิตภัณฑ์ ที่คณะเกษตรศาสตร์ฯ



นางเยี้ยม ฉุยฉาย หนึ่งในเกษตรกรอาสาสมัคร แลกเปลี่ยนประสบการณ์กับผู้เข้าร่วมโครงการ



บรรยากาศการซักถามและแลกเปลี่ยนความคิดเห็น



ถ่ายภาพร่วมกันเป็นที่ระลึก