รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการ “ การผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์ให้เหมาะสมกับการใช้ประโยชน์ทางการเกษตร”

โดย รศ. ดร. สมพร ชุนห์ลือชานนท์ และคณะ

มีนาคม 2552

สัญญาเลขที่ RDG4920043

รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการ การผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์ให้เหมาะสมกับการใช้ประโยชน์ทางการเกษตร

คณะผู้วิจัย	สังกัด
1. นายสมพร ชุนห์ลือชานนท์	คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
2. นางสาวอรวรรณ ฉัตรสีรุ้ง	คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
3. น ายชูชาติ สันธทรัพย์	คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
4. นายสุดชล วุ้นประเสริฐ	คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ที่ได้สนับสนุนทุนวิจัยให้กับโครงการนี้จนสามารถทำการค้นคว้า วิจัยการผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมกับการใช้ประโยชน์ทางการเกษตร สามารถคัดเลือกวัสดุพาหะ สารเคลือบเซลล์ รวมทั้งกรรมวิธีการผลิตที่เหมาะสม จนได้แนวทางในการผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์เพื่อนำไปปรับใช้ประโยชน์ ขอขอบคุณ สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และศูนย์วิจัยพืชไร่ จังหวัดเชียงใหม่ ที่เอื้อเฟื้อเครื่องมือในการทำ Freeze dry และSpray dry ขอขอบคุณสถานีวิจัยและศูนย์ฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่อุปกรณ์และอำนวยความสะดวกในการทดสอบประสิทธิภาพหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตได้กับพืช จนได้ข้อมูลประกอบงานวิจัยเสร็จสมบูรณ์

(รองศาสตราจารย์ ดร. สมพร ชุนห์ลือชานนท์)

หัวหน้าโครงการ

มีนาคม 2552

บทคัดย่อ

การผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์ให้เหมาะสมกับการใช้ประโยชน์ทางการเกษตร มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้วัสดุพาหะ(carrier) และวัสดุเคลือบเซลล์ที่เหมาะสมกับการอยู่รอดของจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจน(*Rhizobium*, *Azotobacter*, *Azospirillum* และ *Beijerinckia*) จุลินทรีย์ย่อยหินฟอสเฟต (Phosphate solubilizer) และจุลินทรีย์ละลายโพแทสเซียม (Silicate bacteria) และประสิทธิภาพของเชื้อผงที่ผลิตได้ต่อความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารพืชและการเข้าสร้างปมในพืชตระกูลถั่ว วัสดุพาหะที่ใช้แบ่งเป็นวัสดุที่มี pH สูง (8-10) ได้แก่ ทัลคัม(Talcum), ผงถ่านไม้, เถ้าลอย (fly ash) และเถ้าหนัก (bottom ash) และวัสดุ pH ต่ำ (3-5) ได้แก่ แป้งมันสำปะหลังและผงพีท โดยเปรียบเทียบวัสดุที่ปรับ pH ให้เป็นกลาง และวัสดุที่ไม่ปรับ pH ทั้งที่ทำให้ปลอดเชื้อในหม้อนึ่งความดันและไม่ทำให้ปลอดเชื้อ พบว่า การปรับ pH ไม่ทำให้การอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์แตกต่างจากวัสดุที่ไม่ปรับ pH แต่การทำให้วัสดุปลอดเชื้อมีผลต่อการอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์มากกว่า วัสดุที่เหมาะสมต่อการอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์ คือ พีท แป้งมันสำปะหลัง และทัลคัม เมื่อใช้ทัลคัมและแป้งมันสำปะหลังผลิตหัวเชื้อผงแห้งด้วยวิธี Freeze dry และ Spray dry โดยการเคลือบเซลล์ด้วยสารเคลือบเซลล์ชนิดต่างๆ ได้แก่ sucrose-peptone, skimmed milk และแป้งเปียก ปรากฏว่า การผลิตผงเชื้อจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนอิสระด้วยวิธี Spray dry เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone ในทัลคัม ทำให้เชื้ออยู่รอดในอัตราเฉลี่ยประมาณ 7 log no. cells g^{-1} สูงกว่าวิธีอื่น ส่วนเชื้อย่อยละลายโพแทสเซียมและเชื้อย่อยหินฟอสเฟตนั้น การผลิตที่ทำให้เชื้อมีอัตราการอยู่รอดสูง คือ การทำ Freeze dry เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone และ skimmed milk ตามลำดับ เมื่อนำหัวเชื้อผงที่ผลิตได้จากวิธีดังกล่าวมาปลูกเชื้อร่วมกันลงในปุ๋ยอินทรีย์ที่ผสมด้วยหินฟอสเฟต และแร่เฟลด์สปาร์ ในอัตราของเชื้อชนิดละ 10^5 cells g^{-1} ทำให้ปุ๋ยอินทรีย์มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (P_2O_5) และโพแทสซียมที่สกัดได้ (K_2O) ปลดปล่อยออกมามากขึ้น สำหรับเชื้อไรโซเบียมที่ผลิตเป็นเชื้อผงด้วยวิธี Freeze dry เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone และใช้ทัลคัมเป็นวัสดุพาหะ มีประสิทธิภาพต่อการเข้าสร้างปม และการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลืองในปริมาณเทียบเท่ากับการใช้ผงพีท

Abstract

The objective of microbial inoculant production suitable for agricultural application were to find out the appropriate carriers and cell-coating materials which supporting high survival of inoculated nitrogen-fixing bacteria (*Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter* and *Beijerinckia*), phosphate-solubilizer, and Silicate bacteria. The produced inocculant should be effective on available major plant nutrients and nodulation of leguminous plant. The applied carrier materials included high pH (8-10) materials such as talcum, wood charcoal powder, fly ash and bottom ash and low pH materials such as casawa flour and peat. The inoculated microbes could survive in both neutral-range-adjusted pH and non adjusted pH materials and the sterilized carriers provided more survival cells than that of non sterilization. The appropriate materials for survival of microorganisms were peat, casawa flour and talcum. Talcum and casawa flour were selected to be carriers for microbial inoculant production with freeze dry and spray dry methods. On these processes, the cells were coated with coating materials; sucrose-peptone, skimmed milk and glutinous boiled casawa. The nitrogen-fixing bacterial inoculum produced with Spray dry method using talcum as carrier and coating cells with sucrose-peptone yielded higher microbs survival at the average of 7 log no. cells g^{-1} than the other procedures. Freeze dry method was appropriate for silicate bacteria and phosphate solubilizer that coating cells with sucrose-peptone and skimmed milk, respectively. Coinoculation with the produced incula at the rate of 10^5 cells g^{-1} on organic fertilizer mixed with rock phosphate and feldspar gave higher total N and mineralized more P(P_2O_5) and extractable K (K_2O) when compared with that of non inoculation. For *Rhizobium* inoculum could be produced effectively by freeze dry method and coating cells with sucrose-peptone in talcum. The produced *Rhizobium* inoculum effected on nodulation and nitrogen fixation ability of soybean at similar rate of the *Rhizobium* using peat as a carrier.

Executive summary

The research on microbial inoculant production suitable for agricultural application was effort to develop techniques for conserving viability by reducing the activity of cells through the withdrawal of water. Two major methods, freeze- and spray-drying were applied for desiccation. Prior drying, the microbial cells need to encapsulate with special polypeptides or polysaccharides or co-coating of which. The encapsulated cells were incorporated in different carriers including the high pH materials; talcum, charcoal powder, bottom ash and fly ash, and the low pH materials; cassawa flour and peat powder. The pH of these materials was adjusted to be 6.5-7.5 which generally appropriate condition for the survival of microbes. Carrier-based preparation microorganisms were *Azotobacter*, *Azospirillum, Beijerinckia, Rhizobium,* Phosphate-solubilizer, and Potassium-solubilizer which were previously selected as the efficient strains.

From the screening for appropriate carrier management, pH adjustment was not affected the survival of inoculated microorganisms whereas those in the autoclaved (120^{o}C, 15lb $inch^{-1}$, 1hr.) carriers were significantly survived more than non autoclaved ones. However, the inoculated microorganisms could not survive in fly-ash and bottom ash since earlier of processing. Among the tested carrier materials, talcum and cassawa flour had significantly survival potential with respect to control (peat). So, these two materials were selected for further formulation by freeze-drying and spray-drying inoculum production. In this formulation step, the cells were encapsulated with sucrose-peptone, skimmed milk, and boiled cassawa before incorporating into the carriers.

The response of inoculations varied in different formulations as well as microbial species used. The inoculation of sucrose-peptone encapsulated nitrogen-fixing bacteria in talcum resulted in significant survival at the average of 10^{7} cells g^{-1} when desiccating by spray-dry. On the other hand, freeze-drying was an appropriate formulation for sucrose-peptone and skimmed milk encapsulated potassium-solubilizer and phosphate solubilizer, respectively. Establishment of the inoculation combination strains of the produced inocula at the rate of 10^{5}cells g^{-1} into organic fertilizer containing rock phosphate and feldspar was conducted to evaluate the efficiency of the microbial inoculants. The ability of inoculants provided significantly increasing of total N, available P (P_2O_5) and extractable K (K_2O) when compared with those of non

inoculation. In the case of rhizobium inoculant, freeze-drying of sucrose-peptone encapsulated bacteria in talcum was an appropriate formulation. The inoculation of soybean crops both in green house and field trials capable to significantly increase nodulation and nitrogen fixation comparable to peat-based rhizobia. It is ensure that the inoculant contains a sufficient population of rhizobia to produce abundant nodulation.

From this research, it indicated that the innovative products meet quality standard. Moreover, the advantages of the produced inoculants are easy to use and it does not limited in carrier material quantity for production. Peat material can be subsidized by talcum powder with low cost. Although the products seemed to be shorter in shelf-life, some attempting further study need to implement for the desirable quality.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
Executive summary	ง
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญรูป	ฎ
บทที่ 1. บทนำ	1
บทที่ 2. วิธีการทดลอง	5
2.1 วัสดุพาหะ	5
2.1.1 การปรับ pH ของวัสดุพาหะให้เหมาะสม	5
2.1.2 ทดสอบความเหมาะสมของวัสดุพาหะต่อการมีชีวิตรอดของเชื้อจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจน และจุลินทรีย์ย่อยละลายโพแทสเซียม	5
2.2 ประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ผงต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของปุ๋ยอินทรีย์	7
2.2.1 ศึกษาปริมาณและประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของจุลินทรีย์ *Azotobacter, Azospirillum,* และ *Beijerinckia* หลังจากคลุกหัวเชื้อที่ผลิตได้จากวิธีการทำผงแห้งลงในปุ๋ยอินทรีย์	7
2.2.2 ศึกษาปริมาณและประสิทธิภาพการย่อยละลายโพแทสเซียมจากแร่เฟลด์สปาร์ที่ผสมร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ ของเชื้อย่อยละลายแร่เฟลด์สปาร์ (Silicate bacteria) ที่ผลิตได้จากวิธีการทำผงแห้ง	7
2.2.3 ศึกษาปริมาณและประสิทธิภาพการย่อยสลายหินฟอสเฟตในปุ๋ยอินทรีย์ที่ผสมด้วย หินฟอสเฟตและ จุลินทรีย์ย่อยละลายหินฟอสเฟต (Phosphate solubilizer) ที่ผลิตได้จากวิธีการทำผงแห้ง	8
2.2.4 ศึกษาประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน การย่อยสลายหินฟอสเฟต และการย่อยละลาย โพแทสเซียม ในปุ๋ยอินทรีย์ที่มีส่วนผสมของวัสดุที่เป็นแหล่งของฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในอัตราที่เหมาะสมจากการทดลอง ใน 2.2.1, 2.2.2, และ 2.2.3 ร่วมกับการใช้เชื้อผสม ทั้ง 3 กลุ่ม	8

สารบัญ

	หน้า
2.3 ศึกษาอัตราการใช้หัวเชื้อไรโซเบียมต่อประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน การติดปม การเจริญเติบโต และผลผลิตของถั่วเหลือง	8
2.3.1 การทดลองในกระถางทดลอง	8
2.3.2 การทดลองในแปลงทดลอง	10
บทที่ 3. ผลการทดลอง	12
3.1 วัสดุพาหะ	12
3.1.1 การปรับ pH ของวัสดุพาหะให้เหมาะสม	12
3.1.2 การทดสอบความเหมาะสมของวัสดุพาหะต่อการมีชีวิตรอด (survival) ของเชื้อจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจน และจุลินทรีย์ย่อยละลายโพแทสเซียม	13
3.1.2.1 การอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์ในวัสดุพาหะชนิดต่างๆ ที่คลุกเชื้อโดยวิธีปกติ	13
3.1.2.2 การผลิตเชื้อผงแห้ง	26
3.2 ประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ผงต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของปุ๋ยอินทรีย์	37
3.2.1 ประสิทธิภาพจุลินทรีย์เชื้อผสมตรึงไนโตรเจน (*Azospirillum*, *Azotobacter* และ *Beijerinckia*) ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของปุ๋ยอินทรีย์	37
3.2.2 ประสิทธิภาพหัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยละลายโพแทสเซียม (Silicate bacteria) ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติหัวเชื้อของปุ๋ยอินทรีย์	39
3.2.3 ประสิทธิภาพหัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยหินฟอสเฟตต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของปุ๋ยอินทรีย์	39
3.2.4 ประสิทธิภาพของหัวเชื้อผงรวม (จุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจน, จุลินทรีย์ย่อยหินฟอสเฟต และจุลินทรีย์ย่อยละลายโพแทสเซียม) ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์และโพแทสเซียมที่สกัดได้ในปุ๋ยอินทรีย์	45
3.3 ประสิทธิภาพของหัวเชื้อไรโซเบียมต่อการตรึงไนโตรเจน การติดปม การเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเหลือง	48
3.3.1 การทดลองในกระถางทดลอง	48
3.3.2 การทดสอบในแปลงทดลอง	52
บทที่ 4. สรุปผลการทดลอง	55
เอกสารอ้างอิง	57

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 สัดส่วนของสารเคมี: วัสดุ ที่เหมาะสมต่อการปรับค่า pH ให้อยู่ที่ 6.5-7.5 13

ตารางที่ 2 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของวัสดุที่ใช้ในการทดลอง จากการทดลองปรับ pH ด้วย $CaCO_3$ Formic acid และ Phosphoric acid ทั้ง 2 ชนิด 13

ตารางที่ 3 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจนับได้ในวัสดุพาหะทัลคัม ที่ไม่ปรับ pH ผ่านการอบฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ 16

ตารางที่ 4 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจนับได้ในวัสดุพาหะทัลคัม ปรับ pH ผ่านการอบฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ 16

ตารางที่ 5. ค่าความเป็นกรด-ด่าง(pH)ของวัสดุพาหะทัลคัมที่ไม่ปรับ pH ผ่านการฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อในระหว่างการบ่มเชื้อเป็นเวลา 6 เดือน 17

ตารางที่ 6 ค่าความเป็นกรด-ด่าง(pH)ของวัสดุพาหะทัลคัมที่ปรับ pH ผ่านการฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อในระหว่างการบ่มเชื้อเป็นเวลา 6 เดือน 17

ตารางที่ 7 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจนับได้ในวัสดุพาหะแป้งมันสำปะหลัง ที่ไม่ปรับ pH ผ่านการอบฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ 18

ตารางที่ 8 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจนับได้ในวัสดุพาหะแป้งมันสำปะหลัง ที่ไม่ปรับ pH ผ่านการอบฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ 18

ตารางที่ 9 ค่าความเป็นกรด-ด่าง(pH)ของวัสดุพาหะแป้งมันสำปะหลังไม่ปรับ pH ผ่านการฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ 19

ตารางที่10 ค่าความเป็นกรด-ด่าง(pH)ของวัสดุพาหะแป้งมันสำปะหลังปรับ pH ผ่านการฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ 19

ตารางที่11 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจนับได้ใน เถ้าลอย ที่ไม่ปรับ pH ผ่านการอบฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ 21

ตารางที่12 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจนับได้ใน เถ้าลอย ปรับ pH ผ่านการอบฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ 21

ตารางที่13 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)ของวัสดุพาหะเถ้าลอยไม่ปรับ pH ผ่านการฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ 22

ตารางที่14 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)ของวัสดุพาหะเถ้าลอยปรับ pH ผ่านการฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ 22

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่15 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจนับได้ในผงถ่าน ที่ไม่ปรับ pH ผ่านการอบฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ 23

ตารางที่16 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจนับได้ในผงถ่าน ปรับ pH ผ่านการอบฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ 23

ตารางที่17 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)ของวัสดุพาหะผงถ่านไม้ ไม่ปรับ pH ผ่านการฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ 24

ตารางที่18 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)ของวัสดุพาหะผงถ่านไม้ ปรับ pH ผ่านการฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ 24

ตารางที่19 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจนับได้ใน ผงพีท ที่ปรับ pH ผ่านการอบฆ่าเชื้อ 25

ตารางที่20 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)ของวัสดุพาหะผงพีท ผ่านการฆ่าเชื้อและไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ 25

ตารางที่21 ปริมาณเชื้อผสมตรึงไนโตรเจน (log no. of cells g^{-1}) หลังจากการทำ Freeze dry ในระยะเวลา 0-180 วัน 28

ตารางที่22 ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อผสมตรึงไนโตรเจน(log no. of cells g^{-1}) หลังจากการ Spray dry ในระยะเวลา 0-180 วัน 28

ตารางที่23 เปรียบเทียบปริมาณเชื้อผสมตรึงไนโตรเจน (log no of cells g^{-1}) ระหว่างวิธี Freeze dry และ Spray dry ($P<0.05$) ที่ระยะเริ่มต้นการทดลอง (0 วัน) 29

ตารางที่24 ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อ*Rhizobium* (log no. of cells g^{-1}) หลังจากการ Freeze dry ในระยะเวลา 0-180 วัน 30

ตารางที่25 ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อ*Rhizobium* (log no. of cells g^{-1}) หลังจากการ Spray dry ในระยะเวลา 0-180 วัน 31

ตารางที่26 เปรียบเทียบปริมาณเชื้อ *Rhizobium* (log no of cells g^{-1}) ระหว่างวิธี Freeze dry และ Spray dry ($P<0.05$) ที่ระยะเริ่มต้นการทดลอง (0 วัน) 31

ตารางที่ 27ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อ Silicate bacteria (log no. of cells g^{-1}) หลังจากการ Freeze dry ในระยะเวลา 0-180 วัน 32

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่28 ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อ Silicate bacteria (log no. of cells g^{-1}) หลังจากการ Spray dry ในระยะเวลา 0-180 วัน 33

ตารางที่29 เปรียบเทียบปริมาณเชื้อ Silicate bacteria (log no of cells g^{-1}) ระหว่างวิธี Freeze dry และ Spray dry ($P<0.05$) ที่ระยะเริ่มต้นการทดลอง (0 วัน) 33

ตารางที่30 ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อ Phosphate solubilizer (log no. of cells g^{-} หลังจากการ Freeze dry ในระยะเวลา 0-180 วัน 34

ตารางที่31เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนในปุ๋ยหมักหลังการคลุกหัวเชื้อผสมตรึงไนโตรเจน (*Azotobacter*, *Azospirillum* และ *Beijerinckia*) 38

ตารางที่32 ค่า pH ของปุ๋ยหมักหลังการคลุกหัวเชื้อจุลินทรีย์ผสมตรึงไนโตรเจน เก็บตัวอย่างทุก 7 วัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ 38

ตารางที่33 ปริมาณเชื้อผสมตรึงไนโตรเจน (log no. of cell g^{-1}) หลังการคลุกหัวเชื้อจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนผสมกับปุ๋ยหมัก เก็บตัวอย่างทุก 7 วัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ 38

ตารางที่34 ปริมาณเชื้อย่อยละลายโพแทสเซียม (Silicate bacteria) (log no of cell g^{-1}) หลังการคลุกหัวเชื้อจุลินทรีย์ผสมกับปุ๋ยหมัก เก็บตัวอย่างทุกๆ 7วัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ 41

ตารางที่35 เปอร์เซ็นต์โพแทสเซียม(Extractable K)ในปุ๋ยหมักหลังจากใส่หัวเชื้อ Silicate bacteria 42

ตารางที่36 ปริมาณเชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟต(Phosphate solubilizer) (log no of cell g^{-1}) หลังการคลุกหัวเชื้อจุลินทรีย์ผสมกับปุ๋ยหมัก เก็บตัวอย่างทุกๆ 7 วัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ 43

ตารางที่37 ปริมาณฟอสฟอรัส (Available P, ppm P) ในปุ๋ยหมักหลังจากคลุกหัวเชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟต 44

ตารางที่38เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน(%N) ในปุ๋ยอินทรีย์ที่มีส่วนผสมของวัสดุที่เป็นแหล่งของฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในอัตราที่เหมาะสม 46

ตารางที่39ปริมาณ Extractable K ในปุ๋ยอินทรีย์ที่มีส่วนผสมของวัสดุที่เป็นแหล่งของฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในอัตราที่เหมาะสม(%K) 46

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่40 ปริมาณ available P ในปุ๋ยอินทรีย์ที่มีส่วนผสมของวัสดุที่เป็นแหล่งของฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในอัตราที่เหมาะสม (ppm P) 47

ตารางที่41 ค่า pH ปุ๋ยหมักหลังการคลุกหัวเชื้อจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนผสมกับเชื้อจุลินทรีย์ย่อยละลายหินฟอสเฟตผสมเชื้อจุลินทรีย์ย่อยละลายโพแทสเซียม เก็บตัวอย่างทุก 7 วัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ 47

ตารางที่42 แสดงจำนวนปมและน้ำหนักแห้งของต้นถั่วเหลืองฝักสด พันธุ์เชียงใหม่ 1 จากการทดสอบประสิทธิภาพการเข้าสร้างปมและการเจริญเติบโตของถั่วเหลืองฝักสดพันธุ์เชียงใหม่ 1 ในกระถางทดลอง ระยะ V4 หลังการปลูก (ระยะออกดอก) 51

ตารางที่43 แสดงจำนวนปมและน้ำหนักแห้งของต้นถั่วเหลืองฝักสด พันธุ์เชียงใหม่ 1 จากการทดสอบประสิทธิภาพการเข้าสร้างปมและการเจริญเติบโตของถั่วเหลืองฝักสดพันธุ์เชียงใหม่ 1 ในแปลงทดลอง ระยะ V4 หลังการปลูก (ระยะออกดอก) 53

ตารางที่44 แสดงน้ำหนักแห้ง, น้ำหนักเมล็ดของต้นถั่วเหลืองฝักสด พันธุ์เชียงใหม่ 1 จากการทดสอบประสิทธิภาพการเข้าสร้างปมและการเจริญเติบโตของถั่วเหลืองฝักสดพันธุ์เชียงใหม่ 1 ในแปลงทดลอง ระยะ V6 หลังการปลูก (ระยะเก็บเกี่ยวผลผลิต) 54

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 1 แสดงลักษณะการติดปมของต้นถั่ว ที่คลุกเมล็ดด้วยหัวเชื้อไรโซเบียม เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone ในวัสดุพาหะ Talcum (ซ้าย) เทียบกับต้นถั่วที่คลุกเมล็ดด้วยผงพีท (ขวา) 49

รูปที่ 2 ลักษณะปมที่เก็บได้จากตัวอย่าง ผงพีท (ซ้าย) และหัวเชื้อผงแป้ง (ขวา) เปรียบเทียบกับขนาดของเหรียญบาท 49

บทที่ 1.

บทนำ

ปัจจุบันจุลินทรีย์เข้ามามีบทบาทในการใช้ประโยชน์ทางการเกษตรทั้งในด้านความอุดมสมบูรณ์ของดิน ช่วยเพิ่มความเป็นประโยชน์ธาตุอาหารพืช และการควบคุมแมลงและโรคพืชโดยชีววิธี ในส่วนของการช่วยเพิ่มความเป็นประโยชน์ธาตุอาหารพืชมีทั้งจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจน จุลินทรีย์เพิ่มความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสและจุลินทรีย์เพิ่มความเป็นประโยชน์ของธาตุโพแทสเซียม รวมทั้งจุลินทรีย์ผลิตสารกระตุ้นการเจริญเติบโต(PGPRs) จุลินทรีย์เหล่านี้มีการผลิตจำหน่ายในรูปแบบต่างๆ ส่วนใหญ่ใช้วัสดุเนื้อหยาบ เช่น ปุ๋ยอินทรีย์บดละเอียดหรือผงพีทเป็นวัสดุพาหะ(carrier) นี้มีวิธีการใช้ค่อนข้างยุ่งยาก เนื่องจากต้องคลุกเมล็ดก่อนปลูกและการคลุกเมล็ดนั้นต้องใช้ร่วมกับสารเหนียวหรือละลายน้ำเพื่อจุ่มรากพืชก่อนปลูก แต่ถ้าเตรียมหัวเชื้อให้อยู่ในรูปผงแห้งมีความละเอียดคล้ายผงแป้ง โดยมีการเคลือบเซลล์จุลินทรีย์ด้วยวัสดุที่เหมาะสมที่ทำให้จุลินทรีย์คงทนอยู่ได้เป็นเวลานาน เมื่อคลุกเมล็ดผงแป้งที่เตรียมได้จะตรึงแน่นบนผิวเมล็ดและติดอยู่ปริมาณมากบริเวณ hilum โดยไม่ต้องใช้สารเหนียว ซึ่งสามารถคลุกเมล็ดจากโรงงานผลิตเมล็ดพันธุ์ก่อนบรรจุถุงจำหน่ายก็จะช่วยลดปัญหาการใช้เชื้อจุลินทรีย์ของเกษตรกรได้อีกทางหนึ่ง

จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีบทบาทสำคัญในด้านการเกษตรและสิ่งแวดล้อม เป็นตัวย่อยสลายและสร้างสารประกอบอินทรีย์ทุกชนิดทั้งที่เป็นประโยชน์และเป็นโทษ บทบาทด้านการเกษตรในส่วนที่เป็นประโยชน์นั้นมีจุลินทรีย์หลายกลุ่มที่ประสบผลสำเร็จในการใช้เพิ่มผลผลิตพืชและเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน เช่นจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจน จุลินทรีย์ย่อยสลายหินฟอสเฟต จุลินทรีย์ละลายโพแทสเซียม และจุลินทรีย์ผลิตสารช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช (PGPR) ซึ่งมีการผลิตออกจำหน่ายจ่ายแจกแล้ว ในรูปของหัวเชื้อ หรือปุ๋ยชีวภาพ

จุลินทรีย์ที่สามารถนำมาใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพแบ่งออกเป็น 5 กลุ่มด้วยกันคือ

1. จุลินทรีย์ที่ช่วยเพิ่มไนโตรเจน
2. จุลินทรีย์ที่ช่วยเพิ่มฟอสฟอรัส
3. จุลินทรีย์ที่ช่วยเพิ่มโพแทสเซียม
4. จุลินทรีย์ที่ช่วยเพิ่มธาตุอื่นนอกเหนือจากธาตุหลัก
5. จุลินทรีย์ที่ผลิตสารกระตุ้นการเจริญเติบโต

ปัจจุบันจุลินทรีย์ที่ผลิตเป็นหัวเชื้อจำหน่ายให้เกษตรกรนำไปใช้ได้แล้วคือ เชื้อไรโซเบียมที่ให้กับพืชตระกูลถั่วต่างๆ เชื้อย่อยสลายหินฟอสเฟต เชื้อไมคอร์ไรซา เชื้อ Bacillus ช่วยย่อยละลายโพแทสเซียม (ผลิตภัณฑ์จากสาธารณรัฐประชาชนจีน) เชื้อ PGPR และเชื้อย่อยเซลลูโลส เป็นต้น

จุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนมีความสำคัญตรงที่ช่วยทำให้ธาตุไนโตรเจนเป็นประโยชน์กับพืช เนื่องจากธาตุไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของกรดอะมิโน กรดนิวคลิอิค และโปรตีนทุกชนิด พืชสามารถใช้ไนโตรเจนได้ในรูปของปุ๋ยไนโตรเจน ซึ่งในการสังเคราะห์ปุ๋ยไนโตรเจนนั้นต้องทำให้ก๊าซไนโตรเจนรวมกับก๊าซไฮโดรเจนภายใต้อุณหภูมิ 400-500 °C ที่ความดัน 100-200 บรรยากาศ ในการผลิตปุ๋ยไนโตรเจนในลักษณะนี้ต้องทำในรูปโรงงานอุตสาหกรรมที่มีต้นทุนในการผลิตสูงทำให้ปุ๋ยไนโตรเจนมีราคาแพง แต่ยังมีวิธีการผลิตปุ๋ยไนโตรเจนในลักษณะเดียวกันโดยการตรึงไนโตรเจนจากอากาศของจุลินทรีย์บางชนิดที่มีเอนไซม์ nitrogenase ทำให้ N_2 รวมตัวกับ H_2 เป็น NH_4^+ กระบวนการดังกล่าวเรียกว่าการตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพ (Biological Nitrogen Fixation หรือ BNF) จุลินทรีย์กลุ่มนี้มีทั้ง Bacteria, Actinomycete และ Cyanobacteria มีทั้งที่สามารถอยู่ในดินได้โดยอิสระ และต้องอยู่ร่วมกับพืช พวกที่อยู่ในดินโดยอิสระนั้นได้แก่ Bacteria และ Cyanobacteria ส่วนพวกที่อยู่ร่วมกับพืชมีทั้ง Bacteria ได้แก่ ไรโซเบียม Cyanobacteria เช่น Azolla-Anabaena และ Actinomycete เช่น Frankia เป็นต้น การตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพนั้น Burns and Hardy (1975) ได้ประเมินไว้ว่าจุลินทรีย์สามารถตรึงไนโตรเจนได้ประมาณ 170 ล้านตันต่อปี ซึ่งมากกว่าการผลิตปุ๋ยจากโรงงานอุตสาหกรรมถึง 3 เท่า และการตรึงไนโตรเจนของจุ ลินทรีย์ที่อยู่อย่างอิสระในดินมีปริมาณพอๆ กับพวกที่ต้องอยู่ร่วมกับพืชอื่น จุลินทรีย์ที่มีการศึกษากันมากในกลุ่มของ bacteria ได้แก่ *Azotobacter, Azospirillum, Beijerinckia* และ *Klebsiella* ซึ่งมีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนได้แตกต่างกันออกไปเมื่ออยู่บริเวณ Rhizosphere ของพืชต่างชนิดกัน เช่นใน ข้าวฟ่าง Wani et al. (1989) พบว่าจุลินทรีย์ที่รากของหญ้า Kalla ตรึงไนโตรเจนได้ถึง 40-70% นอกจากตรึงไนโตรเจนให้กับพืชแล้วยังปลดปล่อยสารเร่งการเจริญเติบโตให้กับพืชทำให้พืชมีผลผลิตเพิ่มขึ้นด้วย (Okon and Kapulnik, 1986)

จุลินทรีย์กลุ่มที่ 2 ได้แก่จุลินทรีย์ย่อยสลายหินฟอสเฟต ฟอสฟอรัสเป็นธาตุที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืชเนื่องจากเป็นส่วนประกอบของ nucleic acid, nucleotides, ATP(Adenosine triphosphate) และ ADP(Adenosine diphosphate) ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานที่ใช้ในกระบวนการชีวเคมีของเซลล์ นอกจากนั้นยังเป็นส่วนประกอบของ coenzyme ในปฏิกิริยา oxido-reduction ในกระบวนการสังเคราะห์สารประกอบอินทรีย์ภายในเซลล์อีกด้วย ธาตุฟอสฟอรัสจึงมีความสำคัญต่อพืชโดยเฉพาะอย่างยิ่งการออกดอก ซึ่งถ้าขาดธาตุนี้พืชอาจไม่ออกดอก หรือดอกเล็กไม่สมบูรณ์ พืชจะได้รับฟอสฟอรัสส่วนหนึ่งจากที่มีอยู่แล้วในดิน และอีกส่วนหนึ่งจากการใส่เพิ่มเติมให้ในรูปของปุ๋ยเคมีหรือในรูปของหินฟอสเฟต ปุ๋ยเคมีฟอสเฟตได้มาจากการนำหินฟอสเฟตไปแปรรูปโดยกระบวนการทางเคมี ให้ได้ปุ๋ยฟอสเฟตในรูปของ superphosphate, doublesuperphosphate หรือ triplesuperphosphate แล้วแต่กรรมวิธีในการผลิตทำให้ปุ๋ยเคมีฟอสเฟตมีต้นทุนในการผลิตสูง และกระบวนการผลิตยังมีผลกระทบต่อ

สิ่งแวดล้อมอีกด้วย ในส่วนของหินฟอสเฟตนั้นปกติแล้วสามารถสลายตัวให้อนุมูลฟอสเฟตที่พืชสามารถนำไปใช้ได้โดยธรรมชาติอยู่แล้ว แต่เป็นไปได้อย่างช้าๆ และดินบริเวณที่ใส่หินฟอสเฟตนั้นจะต้องมี pH ที่เป็นกรดจึงจะทำให้ฟอสฟอรัสละลายออกมาเป็นประโยชน์ได้ แต่การละลายของฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์จะมีอัตราเร็วมากขึ้นเพราะมีการพบว่าจุลินทรีย์บางชนิดที่สร้างกรดอินทรีย์แล้วปลดปล่อยออกมาย่อยละลายหินฟอสเฟต กรดอินทรีย์เหล่านี้ได้แก่ lactic acid, citric acid, ketogluconic acid, malic acid, oxalic acid, malonic acid, tartaric acid และ succinic acid ซึ่งสามารถพบได้ในกลุ่มของจุลินทรีย์ทั้ง Bacteria, Actinomycete และ เชื้อรา ความสามารถในการย่อยหินฟอสเฟตนั้นพบว่าเชื้อรามีมากกว่า Bacteria ประมาณ 3-100 เท่า โดยที่เชื้อราละลายได้ประมาณ 1-30% ในขณะที่ bacteria ละลายได้ 0.01-11.0% ในช่วงเวลาเดียวกัน เชื้อราที่พบว่ามีความสามารถในการย่อยหินฟอสเฟตนั้นได้แก่ *Aspergillus* และ *Penicillium* (Pareek and Gaur, 1973, Agnihotri, 1970, และ Kucey, 1983) ในส่วนของ Bacteria มี *Arthrobacter* sp., *Bacillus* sp. (Banik, 1982)

จุลินทรีย์กลุ่มที่ 3 คือจุลินทรีย์ที่ช่วยเพิ่มโพแทสเซียม โพแทสเซียมเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นของพืชอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งนอกจากจะเพิ่มความสามารถในการสร้างเมล็ดแล้ว ยังเป็นส่วนประกอบในโครงสร้างของเซลล์และเอ็นไซม์ต่างๆ ตลอดจนเป็นตัวช่วยในการเคลื่อนย้ายน้ำตาลเพิ่มความหวานให้กับผลไม้และอ้อย เป็นต้น จุลินทรีย์ในกลุ่มที่ช่วยเพิ่มโพแทสเซียมจะทำหน้าที่เช่นเดียวกับพวกที่ช่วยเพิ่มฟอสฟอรัส โดยการผลิตกรดหรือเอ็นไซม์ออกมาละลายโพแทสเซียมที่อยู่ในรูปของหินแร่ต่างๆ จุลินทรีย์ชนิดนี้เป็นแบคทีเรียที่มีชื่อเรียกเป็นภาษาอังกฤษที่เป็นคำศัพท์เฉพาะว่า Silicate Bacteria ซึ่ง Silicate คือสารประกอบที่เป็นเกลือ ที่ได้จากกรด Silicic ที่มีธาตุหลายชนิดรวมทั้งโพแทสเซียมปะปนอยู่ด้วย โพแทสเซียมที่อยู่ในสารประกอบนี้โดยธรรมชาติแล้วแทบจะไม่ละลายออกมาให้พืชใช้ประโยชน์ได้เลยหรือละลายออกมาได้น้อยและช้ามาก จุลินทรีย์จะผลิตกรดอินทรีย์พวก succinic และ lactic ไปทำปฏิกิริยากับ silicate ให้แตกตัวออกมาเป็นแร่ pegmatolite และ kietyoite ซึ่งพบว่าความสามารถของแบคทีเรียตัวนี้ ทำให้ pegmatolite ปลดปล่อย K ออกมาในรูปของ K_2O ได้ประมาณ 27% ละลาย P ออกมาในรูป P_2O_5 จาก kietyoite ประมาณ 60% หลังจากใส่เชื้อตัวนี้ลงไปนาน 2-4 สัปดาห์ หรือถ้าใส่ลงในแร่ mica จะได้ K_2O ถึง 51% ภายใน 30 วัน เป็นต้น

ปุ๋ยชีวภาพที่มีส่วนประกอบของแบคทีเรียชนิดนี้ปัจจุบันประเทศจีนได้ผลิตออกมาในรูปของปุ๋ยชีวภาพในชื่อ Bio-potassium fertilizer หรือ BPF (Hebei Academy of Science, 1996) โดยมีศักยภาพในการผลิตประมาณ 10,000 ตัน/ปี ซึ่งใช้ได้กับพื้นที่ประมาณ 1-4 ล้านไร่ และจากการทดสอบกับพืชชนิดต่างๆ ของทางผู้ผลิตพบว่ามีผลผลิตเพิ่มขึ้นประมาณ 11-24% แล้วแต่ชนิดพืช

ในส่วนของจุลินทรีย์อีกสองกลุ่มที่เหลือ คือ จุลินทรีย์ที่ช่วยเพิ่มธาตุอื่นนอกเหนือจากธาตุหลักและพวกที่มีความสามารถผลิตสารกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชก็เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่น่าสนใจนำมาผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพได้เช่นกัน เพราะเป็นจุลินทรีย์ที่ช่วยทำให้ธาตุต่างๆ ในดินละลายออกมาเป็นประโยชน์กับพืช นอกจากนั้นบางชนิดยังผลิตสารจำพวกฮอร์โมนพืช เช่น IAA, Gibberellin และ Vitamin เป็นต้น ซึ่งจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องเกือบทั้งหมด เป็นจุลินทรีย์ที่กล่าวมาแล้วข้างต้น ประสิทธิภาพจะมากบ้างน้อยบ้างแล้วแต่ชนิดของจุลินทรีย์เหล่านั้น

จะเห็นได้ว่าปุ๋ยชีวภาพที่ผลิตจากจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ นั้นมีประโยชน์อย่างมากทั้งในด้านการลดต้นทุนการผลิตจากการทดแทนปุ๋ยเคมีด้วยปุ๋ยชีวภาพ และช่วยรักษาสภาพแวดล้อมที่เกิดจากสารเคมีในการนำมาใช้ในการเกษตรได้อีกทางหนึ่งด้วย แต่ปัญหาที่ประสบในปัจจุบันคือ หัวเชื้อที่ผลิต อยู่ในรูปแบบที่มีกรรมวิธีใช้ค่อนข้างยุ่งยาก โดยต้องคลุกเมล็ดก่อนปลูกทันที และบางชนิดต้องใช้สารเหนียวเคลือบเมล็ดด้วย ทำให้เกษตรกรไม่ค่อยนิยมใช้ และเกษตรกรจำนวนมากรู้จักเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในการเกษตรไม่มากนัก รวมทั้งหาซื้อได้ยากในท้องถิ่น ตัวอย่างที่เห็นค่อนข้างชัดเจนได้แก่หัวเชื้อไรโซเบียมของกรมวิชาการเกษตรที่มีปริมาณการผลิตลดลงในช่วงหลายปีที่ผ่านมา ปัจจุบันได้มีผู้ทำการทดลองเก็บเชื้อจุลินทรีย์ในสภาพผงแห้ง พบว่าจำเป็นต้องเคลือบเซลล์จุลินทรีย์ก่อนที่จะทำให้แห้งด้วยเครื่อง spray dryer โดยที่การเคลือบเซลล์เชื้อ Beijerinckia ด้วยน้ำตาล glucose ได้ผลดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับ malt dextrin, modified starch และ gum acacia (Boza et al. 2003 และ Boza et al. 2004) แต่ถ้าเก็บในสภาพ Freeze drying นั้นสารที่ใช้เคลือบเซลล์จะเป็นพวก sucrose/peptone solution (http://www.rhizobium.umn.edu/grossary.shtml) หรือ sorbitol และ monosodium glutamate (Ana et al. 2003) ดังนั้นถ้าเปลี่ยนรูปแบบการผลิตหัวเชื้อให้สะดวกต่อการใช้ โดยให้อยู่ในรูปของผงแป้งที่แห้งและละเอียดสามารถเกาะติดเมล็ดโดยไม่ต้องใช้สารเหนียวหรือทำให้เมล็ดเปียก และเชื้อสามารถมีชีวิตอยู่กับเมล็ดได้นาน หรืออาจจะนำไปคลุกเมล็ดพืชในโรงงานผลิตเมล็ดก่อนบรรจุถุงจำหน่ายก็จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่ง

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เพื่อให้ได้วิธีการผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมและสะดวกต่อการใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพโดยมีวัตถุประสงค์เฉพาะดังนี้

วัตถุประสงค์เฉพาะที่1 เพื่อให้ได้วัสดุเคลือบเซลล์ และวัสดุพาหะ (carrier) ที่เหมาะสมกับชนิดของ จุลินทรีย์

วัตถุประสงค์เฉพาะที่ 2 ทดสอบการมีชีวิตอยู่รอดและประสิทธิภาพของจุลินทรีย์

วัตถุประสงค์เฉพาะที่ 3 ทดสอบการตอบสนองของพืชต่อหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตได้

บทที่ 2

วิธีการทดลอง

เพื่อให้บรรลุเป้าหมายที่ตั้งไว้ การดำเนินงานวิจัยจะทำตามวัตถุประสงค์เฉพาะดังนี้

วัตถุประสงค์เฉพาะที่ 1 เพื่อให้ได้วัสดุเคลือบเซลล์ และวัสดุพาหะ (carrier) ที่เหมาะสมกับชนิดของจุลินทรีย์

2.1 วัสดุพาหะ (carrier)

2.1.1 การปรับ pH ของวัสดุพาหะให้เหมาะสม

คัดเลือกวัสดุเพื่อใช้เป็น carrier จากวัสดุต่างๆ ได้แก่ ทัลคัม(Talcum), แป้งมันสำปะหลัง, ผงถ่าน และผงพีท รวมถึงวัสดุพลอยได้จากการใช้ลิกไนท์เป็นเชื้อเพลิงของโรงไฟฟ้า ได้แก่ เถ้าลอยและเถ้าหนัก

เนื่องจากวัสดุที่นำมาใช้เป็น carrier มีคุณสมบัติแตกต่างกันโดยเฉพาะ pH ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญอันดับต้นๆที่มีผลกระทบต่อเชื้อจุลินทรีย์ โดยวัสดุแต่ละชนิดมี pH แตกต่างกัน จึงทำการทดลองปรับ pH โดยใช้ $CaCO_3$ สำหรับวัสดุที่มี pH ต่ำ และใช้กรด Formic acid และ Phosphoric acid สำหรับวัสดุที่มี pH สูง โดยต้องปรับpH มีค่าอยู่ประมาณ 6.5-7.5 ซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการอยู่อาศัยของเชื้อจุลินทรีย์

2.1.2 ทดสอบความเหมาะสมของวัสดุพาหะต่อการมีชีวิตรอด (survival) ของเชื้อจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจน และจุลินทรีย์ที่ย่อยละลายโพแทสเซียม

2.1.2.1 ทดสอบการรอดชีวิต(survival)ของเชื้อจุลินทรีย์ที่คลุกกับcarrier ตามวิธีปกติ (conventional method)

ทำการคลุกเชื้อแบคทีเรียที่เลี้ยงและเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวลงในแป้งมันสำปะหลัง, Talcum และผงพีท โดยให้มีเชื้อใน carrierเริ่มต้นที่ 10^8 cells g^{-1} ปรับความชื้นวัสดุให้อยู่ที่ 45-60% บรรจุในถุงพลาสติก ปิดผนึกเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25°C) เก็บตัวอย่างเพื่อตรวจนับปริมาณเชื้อทุก 1 เดือน เป็นเวลา 6 เดือน เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบครั้งนี้ประกอบด้วย เชื้อ *Rhizobium* NA6080, *Rhizobium* GSY012, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Beijerinckia* และ Silicate bacteriaใช้วิธี Drop plate ในการตรวจนับปริมาณเชื้อ ส่วนเชื้อ Phosphate solubilizer ทำการตรวจนับโดยวิธี spread plate

2.1.2.2 ทดสอบการรอดชีวิต (survival) ของเชื้อจุลินทรีย์จากวิธีทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze Dry) วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองมีดังนี้ คือ

เชื้อที่ใช้ในการทดลองแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 เชื้อ *Azotobacter*, *Azospirillum* และ *Beijerinckia*

กลุ่มที่ 2 เชื้อ Silicate bacteria

กลุ่มที่ 3 เชื้อ *Rhizobium* 2 สายพันธุ์ คือ NA6080 และGSY012

กลุ่มที่ 4 เชื้อ Phosphate solubilizer

วัสดุพาหะ(ผ่านการฆ่าเชื้อ) ไม่ปรับ pH

- ทัลคัม
- แป้งมันสำปะหลัง

สารเคลือบเซลล์

- sucrose-peptone solution (sucrose 10% ผสมกับ peptone 5%)
- skimmed milk (skimmed milk 20g L^{-1})
- แป้งเปียก (แป้งมันสำปะหลัง 4 g : น้ำ 100 mL)

การเตรียมตัวอย่างเพื่อนำไปทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze Dry)

เลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดให้มีปริมาณเชื้อประมาณ 10^9 cells mL^{-1} นำเชื้อที่ได้มาผสมกับสารเคลือบเซลล์ในอัตรา 1:1 จากนั้นผสมกับวัสดุพาหะให้มีปริมาณเชื้อประมาณ 10^8 cells g^{-1} เขย่าให้เข้ากันประมาณ 30 นาที จากนั้นนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -80°C ประมาณ 30 นาที ถึง 1 ชั่วโมง แล้วนำไปเข้าเครื่อง Freeze dry รอจนตัวอย่างแห้งจึงนำมาทดสอบหาปริมาณการมีชีวิตรอดของหัวเชื้อที่ผลิต

การเก็บข้อมูล

ศึกษาการมีชีวิตรอดของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Dilution drop plate สำหรับเชื้อ *Azotobacter, Azospirillum, Beijerinckia* และ Silicate bacteria สำหรับเชื้อไรโซเบียมใช้วิธี MPN และเชื้อ Phosphate solubilizer ใช้วิธี spread plate

2.1.2.3 ทดสอบการรอดชีวิต (survival) ของเชื้อจุลินทรีย์จากวิธีอบแห้งแบบพ่น (Spray Dry)

เชื้อที่ใช้ในการทดลองแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 เชื้อ *Azotobacter, Azospirillum* และ *Beijerinckia*

กลุ่มที่ 2 เชื้อ Silicate bacteria

กลุ่มที่ 3 เชื้อ *Rhizobium* 2 สายพันธุ์ คือ NA6080 และGSY012

กลุ่มที่ 4 เชื้อ Phosphate solubilizer

วัสดุพาหะ(ผ่านการฆ่าเชื้อ) ไม่ปรับpH

- ทัลคัม
- แป้งมันสำปะหลัง

สารเคลือบเซลล์

- sucrose-peptone solution (sucrose 10% ผสมกับ peptone 5%)
- skimmed milk (skimmed milk 20g L^{-1})
- แป้งเปียก (แป้งมันสำปะหลัง 4 g : น้ำ 100 mL)

การเตรียมตัวอย่างเพื่อนำไปทำ Spray Dry

เลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ให้มีปริมาณเชื้อประมาณ 10^9 cells mL^{-1} นำเชื้อที่ได้มาผสมกับสารเคลือบเซลล์ในอัตรา 1:1 จากนั้นผสมกับวัสดุพาหะ 1 กิโลกรัม เพื่อให้มีปริมาณเชื้อประมาณ 10^8 cells g^{-1} ปรับปริมาตรเป็น 4000 mL ด้วยน้ำกลั่น คนให้เข้ากันทิ้งไว้ ประมาณ 30 นาที นำไปเข้าเครื่องพ่นแห้ง (Spray Dryer) ศึกษาหาปริมาณการมีชีวิตรอดของหัวเชื้อที่ผลิตได้ ทุก 30 วัน จนครบ 180 วัน

การเก็บข้อมูล

ศึกษาการมีชีวิตรอดของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Dilution drop plate สำหรับเชื้อ *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Beijerinckia* และSilicate bacteria และวิธี MPN plant infection สำหรับเชื้อไรโซเบียม

วัตถุประสงค์เฉพาะที่ 2 ทดสอบการมีชีวิตอยู่รอดและประสิทธิภาพของจุลินทรีย์

2.2 ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ผงต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของปุ๋ยอินทรีย์

2.2.1 ศึกษาปริมาณและประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของจุลินทรีย์ *Azotobacter, Azospirillum,* และ *Beijerinckia* หลังจากคลุกหัวเชื้อที่ผลิตได้จากวิธีการทำผงแห้งลงในปุ๋ยอินทรีย์

เปรียบเทียบอัตราการใช้หัวเชื้อในการคลุกลงในปุ๋ยอินทรีย์ โดยใส่ให้มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 10^6, 10^7, และ 10^8 เซลล์ต่อกรัมปุ๋ย กรรมวิธีการคลุกเชื้อแบ่งออกเป็นคลุกด้วยเชื้อเดี่ยวและเชื้อผสม 2 และ 3 ชนิดร่วมกัน วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำ 3 ซ้ำ เก็บข้อมูลปริมาณเชื้อโดยวิธี Dilution plate count สำหรับเชื้อ *Azotobacter*, และ *Beijerinckia* และ วิธี MPN สำหรับเชื้อ *Azospirillum* และวัดประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนโดยวิธี Acetylene Reduction Assay (ARA) หลังจากบ่มเชื้อทุก 7 วัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

2.2.2 ศึกษาปริมาณและประสิทธิภาพการย่อยละลายโพแทสเซียมจากแร่เฟลด์สปาร์ที่ผสมร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ ของเชื้อย่อยละลายแร่เฟลด์สปาร์ (Silicate bacteria) ที่ผลิตได้จากวิธีการทำผงแห้ง

วางแผนการทดลองโดยมีกรรมวิธีการทดลองเช่นเดียวกับ 2.2.1 โดยการคลุกปุ๋ยอินทรีย์ด้วยแร่เฟลด์สปาร์ ในอัตรา 5, 10 และ 20% โดยน้ำหนัก เก็บข้อมูลปริมาณเชื้อ โดยวิธี Dilution

plate count และประเมินประสิทธิภาพการละลาย โพแทสเซียมด้วยการวิเคราะห์ หาปริมาณ Extractable K หลังจากบ่มเชื้อทุก 7 วัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

2.2.3 ศึกษาปริมาณและประสิทธิภาพการย่อยสลายหินฟอสเฟตในปุ๋ยอินทรีย์ที่ผสมด้วยหินฟอสเฟตและ จุลินทรีย์ย่อยละลายหินฟอสเฟต (Phosphate solubilizer) ที่ผลิตได้จากวิธีการทำผงแห้ง

วางแผนการทดลองโดยมีกรรมวิธีการทดลองเช่นเดียวกับ 2.2.1 โดยการคลุกปุ๋ยอินทรีย์ด้วยหินฟอสเฟต อัตรา 5, 10 และ 20 % โดยน้ำหนัก เก็บข้อมูลปริมาณเชื้อ โดยวิธี Dilution plate count และประเมินประสิทธิภาพการย่อยสลายหินฟอสเฟตด้วยการวิเคราะห์ หาปริมาณ available P หลังจากบ่มเชื้อทุก 7 วัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

2.2.4 ศึกษาประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน การย่อยสลายหินฟอสเฟต และการย่อยละลาย โพแทสเซียม ในปุ๋ยอินทรีย์ที่มีส่วนผสมของวัสดุที่เป็นแหล่งของ ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในอัตราที่เหมาะสมจากการทดลอง ใน 2.2.1, 2.2.2, และ 2.2.3 ร่วมกับการใช้เชื้อผสม ทั้ง 3 กลุ่ม

วางแผนการทดลองเช่นเดียวกับ 2.2.1 ทำการศึกษาข้อมูล วิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจน Available P และ Extractable K เป็นระยะทุก 7 วัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

วัตถุประสงค์เฉพาะที่ 3 ทดสอบการตอบสนองของพืชต่อหัวเชื้อไรโซเบียมที่ผลิตได้

2.3 ศึกษาอัตราการใช้หัวเชื้อไรโซเบียมต่อประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน การติดปม การเจริญเติบโต และผลผลิตของถั่วเหลือง

2.3.1 การทดลองในกระถางทดลอง

การศึกษาทำโดยคลุกเมล็ดถั่วด้วยหัวเชื้อไรโซเบียม ที่ผลิตได้ในลักษณะผงแป้ง (มีอัตราการมีชีวิตรอดของเชื้อดีที่สุด) ในอัตรา 10^4, 10^5 และ 10^6 เซลล์ต่อเมล็ด เปรียบเทียบกับเมล็ดถั่วที่ไม่ใส่เชื้อ และเมล็ดถั่วที่คลุกผงพีทในอัตราแนะนำ (10^5 เซลล์ต่อเมล็ด) ปลูกลงดินในกระถางทดลองเพื่อเปรียบเทียบอัตราที่เหมาะสมที่ทำให้ต้นถั่วเจริญเติบโตดีที่สุด การทดลองวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCB) 3 ซ้ำ และมีตำรับการทดลอง 17 ตำรับดังนี้

ตำรับ 1. ไม่ใส่เชื้อ ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน (Control)

ตำรับ 2. ใส่หัวเชื้อไรโซเบียมผงพีทอัตราแนะนำ

ตำรับ 3. ใส่หัวเชื้อไรโซเบียม เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone ในวัสดุพาหะทัลคัม อัตรา 10^4 เซลล์ต่อเมล็ด

ตำรับ 4. ใส่หัวเชื้อไรโซเบียม เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone ในวัสดุพาหะทัลคัม อัตรา 10^5 เซลล์ต่อเมล็ด

ตำรับ 5. ใส่หัวเชื้อไรโซเบียม เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone ในวัสดุพาหะทัลคัม อัตรา 10^6 เซลล์ต่อเมล็ด

ตำรับ 6. ใส่หัวเชื้อไรโซเบียม เคลือบเซลล์ด้วย skimmed milk ในวัสดุพาหะทัลคัม อัตรา 10^4 เซลล์ต่อเมล็ด

ตำรับ 7. ใส่หัวเชื้อไรโซเบียม เคลือบเซลล์ด้วย skimmed milk ในวัสดุพาหะทัลคัมอัตรา 10^5 เซลล์ต่อเมล็ด

ตำรับ 8. ใส่หัวเชื้อไรโซเบียม เคลือบเซลล์ด้วย skimmed milk ในวัสดุพาหะทัลคัม อัตรา 10^6 เซลล์ต่อเมล็ด

ตำรับ 9. ใส่หัวเชื้อไรโซเบียม เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone ในวัสดุพาหะแป้งมันสำปะหลัง อัตรา 10^4 เซลล์ต่อเมล็ด

ตำรับ 10. ใส่หัวเชื้อไรโซเบียม เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone ในวัสดุพาหะแป้งมันสำปะหลัง อัตรา 10^5 เซลล์ต่อเมล็ด

ตำรับ 11. ใส่หัวเชื้อไรโซเบียม เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone ในวัสดุพาหะแป้งมันสำปะหลัง อัตรา 10^6 เซลล์ต่อเมล็ด

ตำรับ 12. ใส่หัวเชื้อไรโซเบียม เคลือบเซลล์ด้วยแป้งเปียก ในวัสดุพาหะแป้งมันสำปะหลัง อัตรา 10^4 เซลล์ต่อเมล็ด

ตำรับ 13. ใส่หัวเชื้อไรโซเบียม เคลือบเซลล์ด้วยแป้งเปียก ในวัสดุพาหะแป้งมันอัตราสำปะหลัง 10^5 เซลล์ต่อเมล็ด

ตำรับ 14. ใส่หัวเชื้อไรโซเบียม เคลือบเซลล์ด้วยแป้งเปียก ในวัสดุพาหะแป้งมันสำปะหลัง อัตรา 10^6 เซลล์ต่อเมล็ด

ทุกตำรับการทดลองใส่ปุ๋ย P_2O_5 อัตรา 9 กก./ไร่ และปุ๋ย K_2O อัตรา 6 กก./ไร่ ใส่ปุ๋ยพร้อมปลูก

เปรียบเทียบข้อมูลการเจริญเติบโต ความสูง ประสิทธิภาพการติดปม ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน

การเก็บข้อมูล

เก็บข้อมูลในระยะถั่วเหลืองออกดอก (ระยะ V4 หรือประมาณ 30-35 วันหลังปลูก) ดังต่อไปนี้

1. ความสูงของต้นถั่ว
2. น้ำหนักแห้งและน้ำหนักสดส่วนที่อยู่เหนือดิน

3. น้ำหนักแห้งและน้ำหนักสดของปม
4. น้ำหนักแห้งและน้ำหนักสดราก
5. จำนวปมต่อต้น
6. น้ำหนักปมสดต่อจำนวนปม
7. การประเมินประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนด้วยวิธี Acetylene Reduction Assay
8. วิเคราะห์สัดส่วนของสารประกอบไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในตัวอย่างเนื้อเยื่อของลำต้นแห้ง

2.3.2 การทดลองในแปลงทดลอง

ทำการทดสอบประสิทธิภาพของผงเชื้อไรโซเบียมที่ผลิตโดยวิธี Freeze Dry ต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเหลือง ในสภาพแปลงทดลอง เพื่อยืนยันการนำไปใช้ได้จริงในไร่นา โดยใช้เชื้อชนิดเดียวกับการทดสอบในกระถาง อัตรา 10^5 เซลล์ต่อเมล็ด เปรียบเทียบกับเมล็ดถั่วที่ไม่ใส่เชื้อ และเมล็ดถั่วที่คลุกผงพีทในอัตราแนะนำ (10^5 เซลล์ต่อเมล็ด) ปลูกลงดินในแปลงทดลองที่ไม่เคยผ่านการปลูกถั่วมาก่อนเพื่อเปรียบเทียบหัวเชื้อที่ทำให้ต้นถั่วเจริญเติบโตดีที่สุด วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design: RCB ทำ 3 ซ้ำ แบ่งเป็น 7 ตำรับการทดลองดังนี้

ตำรับ 1. ไม่ใส่เชื้อ ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน (Control)

ตำรับ 2. ใส่หัวเชื้อไรโซเบียมผงพีทอัตราแนะนำ

ตำรับ 3. ใส่หัวเชื้อไรโซเบียม เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone ในวัสดุพาหะทัลคัม อัตรา 10^5 เซลล์ต่อเมล็ด

ตำรับ 4. ใส่หัวเชื้อไรโซเบียม เคลือบเซลล์ด้วย skimmed milk ในวัสดุพาหะทัลคัมอัตรา 10^5 เซลล์ต่อเมล็ด

ตำรับ 5. ใส่หัวเชื้อไรโซเบียม เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone ในวัสดุพาหะแป้งมัน อัตรา 10^5 เซลล์ต่อเมล็ด

ตำรับ 6. ใส่หัวเชื้อไรโซเบียม เคลือบเซลล์ด้วยแป้งเปียก ในวัสดุพาหะแป้งมันอัตรา 10^5 เซลล์ต่อเมล็ด

ทุกตำรับการทดลองใส่ปุ๋ย P_2O_5 อัตรา 9 กก./ไร่ และปุ๋ย K_2O อัตรา 6 กก./ไร่ วิธีการใส่ปุ๋ย คือ ใส่ครั้งแรกพร้อมปลูก

เปรียบเทียบข้อมูลการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการติดปม ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน และผลผลิต

การเก็บข้อมูล

การเก็บข้อมูลแบ่งออกเป็น 2 ระยะเวลา คือ

1. ในระยะถั่วเหลืองออกดอก (ระยะ V4 หรือประมาณ 30-35 วันหลังปลูก) เก็บข้อมูลดังต่อไปนี้

1.1 น้ำหนักแห้งและน้ำหนักสดต้น

1.2 น้ำหนักแห้งและน้ำหนักสดของปม

1.3 น้ำหนักแห้งและน้ำหนักสดราก

1.4 จำนวนปม

1.5 การประเมินประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนด้วยวิธี Acetylene Reduction Assay

2. ในระยะถั่วเหลืองให้ผลผลิต (ระยะ V6 หรือประมาณ 65-70 วันหลังปลูก) เก็บข้อมูลดังต่อไปนี้

2.1 น้ำหนักแห้งส่วนต้น

2.2 น้ำหนักแห้งเมล็ด

2.3 น้ำหนักแห้ง 100 เมล็ด

2.4 วิเคราะห์สัดส่วนของสารประกอบไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในตัวอย่างเนื้อเยื่อของลำต้นแห้ง และในเมล็ดแห้ง

บทที่ 3.

ผลและวิจารณ์การทดลอง

วัสดุพาหะ (carrier)และวัสดุเคลือบเซลล์ ที่เหมาะสมกับชนิดของจุลินทรีย์

3.1 วัสดุพาหะ (carrier)

3.1.1 การปรับ pH ของวัสดุพาหะให้เหมาะสม

วัสดุที่นำมาเปรียบเทียบความเหมาะสมเพื่อใช้เป็นวัสดุพาหะในการทดลองครั้งนี้ ได้แก่ ทัลคัม(Talcum), แป้งมันสำปะหลัง, ผงถ่านไม้ และผงพีท รวมถึงวัสดุพลอยได้จากการใช้ลิกไนท์เป็นเชื้อเพลิงของโรงไฟฟ้า ได้แก่ เถ้าลอยและเถ้าหนัก วัสดุแต่ละชนิดมีค่า pH แตกต่างกัน ทั้งที่มี pH ต่ำ ได้แก่ ผงพีท แป้งมันสำปะหลัง pH 3.83 5.56 ตามลำดับ และวัสดุที่มี pH สูง แก่ ทัลคัม, ผงถ่านไม้, เถ้าหนัก (Bottom ash) และเถ้าลอย (Fly ash) ซึ่งมี pH 8.80, 8.96, 8.42 และ 10.73 ตามลำดับ ค่า pH จัดเป็นปัจจัยสำคัญอันดับต้นๆที่มีผลกระทบต่อเชื้อจุลินทรีย์ จึงทำการทดลองเปรียบเทียบความแตกต่างของวัสดุพาหะที่ปรับ pH ให้เหมาะสมและไม่ปรับ pH สำหรับวัสดุที่มี pH ต่ำ ปรับ pH โดยใช้ $CaCO_3$ สำหรับวัสดุที่มี pH สูง ใช้กรด Formic acid หรือ Phosphoric acid โดยต้องปรับpH ให้มีค่าประมาณ 6.0-8.0 ซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการอยู่อาศัยของเชื้อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีส (ยงยุทธ และคณะ, 2541) ทำการทดลองหาสัดส่วนที่เหมาะสมของ $CaCO_3$ และกรดทั้ง 2 ชนิด ผลของการปรับ pH พบว่าในวัสดุแต่ละชนิดในปริมาณ 100 กรัม ต้องใช้ $CaCO_3$ และกรดในสัดส่วนแตกต่างกันดังนี้ คือ แป้งมันสำปะหลังและผงพีทต้องใช้ $CaCO_3$ ในอัตรา 0.25 กรัม และ 5.00 กรัม ตามลำดับ ส่วน ทัลคัม เถ้าหนัก และผงถ่าน ต้องใช้ Formic acid ความเข้มข้น 5 โมลาร์ ในอัตรา 10, 5 และ 5 มิลลิลิตร ตามลำดับ สำหรับเถ้าลอยต้องใช้ Phosphoric acid ความเข้มข้น 10 โมลาร์ อัตรา 10 มิลลิลิตรจึงจะปรับ pH ให้อยู่ระหว่าง 6.5-7.5 (ตารางที่ 1) สาเหตุที่ต้องใช้ Phosphoric acid กับเถ้าลอยเนื่องจาก ถ้าใช้ Formic acid ต้องใช้ในปริมาณมากจึงจะปรับ pH ให้ลดลงได้เพราะเถ้าลอยมีความเป็นด่างสูงมาก โดยมี pH อยู่ที่ 10.73

เมื่อปรับ pH ของวัสดุพาหะได้แล้ว จึงบ่มวัสดุทิ้งไว้อีกประมาณ 6 สัปดาห์ เพื่อตรวจสอบการเปลี่ยนแปลง pH โดยทำการตรวจวัด pH เป็นระยะ ทุก 3, 5, 7, 10, 14, 21, 28, 35 และ 42 วัน พบว่าวัสดุพาหะที่มีการเปลี่ยนแปลง pH น้อย คือ ทัลคัมและแป้งมันสำปะหลังโดยที่ ทัลคัมมี pH อยู่ที่ 7.40 ถึง 7.60 ส่วนเถ้าลอย และเถ้าหนัก pH เพิ่มขึ้นเป็นประมาณ 8 เมื่อทิ้งไว้ในระยะเวลา 21 วันและ pH เพิ่มขึ้นเป็น 10.11และ 9.65 เมื่อบ่มไว้นาน 42 วัน เช่นเดียวกับผงถ่านที่ pH เพิ่มขึ้นเป็นมากกว่า 8 เมื่อบ่มไว้ 35 วัน (ตารางที่2)

ตารางที่ 1 สัดส่วนของสารเคมี: วัสดุ ที่เหมาะสมต่อการปรับค่า pH ให้อยู่ที่ 6.5-7.5

ชนิดของวัสดุพาหะ	สารที่ใช้ในการปรับค่า pH	อัตราส่วนที่ใช้ (สารเคมี : วัสดุพาหะ)
ทัลคัม	Formic acid (5 M)	10 ml : 100g
แป้งมัน	$CaCO_3$	0.25g : 100g
เถ้าลอย	Phosphoric acid (10 M)	10 ml : 100g
เถ้าหนัก	Formic acid (5 M)	5 ml : 100g
ผงถ่าน	Formic acid (5 M)	5 ml : 100g
พีท	$CaCO_3$	5 g : 100g

ตารางที่ 2 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของวัสดุที่ใช้ในการทดลอง จากการทดลองปรับ pH ด้วย $CaCO_3$ Formic acid และ Phosphoric acid ทั้ง 2 ชนิด

ชนิดวัสดุพาหะ	กรด-ด่าง	วัน								
		3	5	7	10	14	21	28	35	42
ทัลคัม	Formic acid (5 M)	7.56	7.57	7.57	7.65	7.70	7.58	7.61	7.58	7.64
แป้งมัน	$CaCO_3$	7.43	7.43	7.40	7.40	7.60	7.53	7.49	7.31	7.45
เถ้าลอย	Phosphoric acid (10 M)	7.48	7.43	7.36	7.16	7.14	7.98	8.02	9.13	10.11
เถ้าหนัก	Formic acid (5 M)	7.33	7.36	7.38	7.57	7.70	8..66	9.01	8.86	9.65
ถ่าน	Formic acid (5 M)	7.15	7.45	7.56	7.49	7.62	7.71	7.79	8.25	8.02
พีท	$CaCO_3$	7.16	6.98	7.25	7.51	7.10	7.28	7.31	7.48	7.14

3.1.2 การทดสอบความเหมาะสมของวัสดุพาหะต่อการมีชีวิตรอด (survival) ของเชื้อจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจน และจุลินทรีย์ย่อยละลายโพแทสเซียม

3.1.2.1 การอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์ในวัสดุพาหะชนิดต่างๆ ที่คลุกเชื้อโดยวิธีปกติ

เปรียบเทียบอัตราการมีชีวิตรอดของเชื้อจุลินทรีย์ในวัสดุพาหะชนิดต่างๆ ได้แก่ แป้งมันสำปะหลัง, ผงพีท, ทัลคัม, เถ้าลอย(Fly ash), เถ้าหนัก(Bottom ash) และผงถ่านไม้ เพื่อคัดเลือกวัสดุพาหะที่เหมาะสมใช้ในการทำเชื้อผงแบบพ่นแห้งและทำแห้งแบบเยือกแข็งต่อไป โดยทำการคลุกเชื้อ Rhizobium NA 6080, Rhizobium GSY 012, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Beijerinckia* และ Silicate bacteria ให้มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดในวัสดุพาหะชนิดต่างๆ เริ่มต้นที่ 10^8 cells g^{-1} ปรับความชื้นให้อยู่ที่ประมาณ 60% แบ่งบรรจุถุงพลาสติกปิดผนึกเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25 °C) เก็บตัวอย่างเพื่อตรวจนับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เป็นระยะทุก 1 เดือน เป็นเวลา 6 เดือน แยกตรวจนับบนอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะของเชื้อแต่ละชนิด ผลการทดลองมีดังนี้ คือ

วัสดุทัลคัม จากการคลุกเชื้อแบคทีเรียในทัลคัมที่ไม่ปรับ pH ตรวจนับทันที พบว่าเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนอิสระ ได้แก่ *Azotobacter*, *Azospirillum* และ *Beijerinckia* และเชื้อ Silicate bacteria มีปริมาณลดลงจาก 8 log no.of cell g^{-1} มาอยู่ที่ 5 ถึง 7 log no.of cell g^{-1} (ตารางที่ 3) ทั้งในวัสดุที่อบฆ่าเชื้อและไม่อบฆ่าเชื้อ โดยเชื้อ *Azospirillum* มีปริมาณคงที่ อยู่ที่ประมาณ 5 ถึง 6 log no.of cell g^{-1} ตลอดการทดลอง ส่วนเชื้อ *Azotobacter* ปริมาณเชื้อลดลงมาอยู่ที่ประมาณ 6 ถึง 7 log no.of cell g^{-1} ทั้งในวัสดุที่ได้รับการอบฆ่าเชื้อ และในวัสดุที่ไม่ได้อบฆ่าเชื้อปริมาณเชื้อ สำหรับการมีชีวิตรอดของเชื้อ *Beijerinckia* พบว่ามีปริมาณลดลงโดยมีปริมาณเชื้อที่ประมาณ 5 log no.of cell g^{-1}ในวัสดุที่อบฆ่าเชื้อ และประมาณ 4 ถึง 5 log no.of cell g^{-1} ในวัสดุที่ไม่อบฆ่าเชื้อ และปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นเป็น 6 และ 5 log no.of cell g^{-1} ในวัสดุที่อบฆ่าเชื้อและไม่อบฆ่าเชื้อตามลำดับ เมื่อนับที่ 1 เดือน หลังจากนั้นปริมาณเชื้อ *Beijerinckia* ในวัสดุที่อบฆ่าเชื้อมีประมาณ 6 log no.of cell g^{-1} ในขณะที่วัสดุทัลคัมที่ไม่อบฆ่าเชื้อจะมีเชื้อลดลงเหลือเพียง 5 log no.of cell g^{-1} สำหรับเชื้อ *Beijerinckia* พบว่าสามารถอาศัยในวัสดุทัลคัมที่ฆ่าเชื้อ ได้ดีกว่าวัสดุที่ไม่ฆ่าเชื้อ ปริมาณของเชื้อ Silicate bacteria มีลักษณะคล้ายกับเชื้อ *Azotobacter* กล่าวคือมีปริมาณเชื้ออยู่ที่ประมาณ 6 ถึง 7 log no.of cell g^{-1} ในวัสดุที่อบฆ่าเชื้อและไม่อบฆ่าเชื้อตั้งแต่เดือนแรกจนถึงเดือนที่ 3 หลังจากนั้นลดลงมาอยู่ที่ประมาณ 6 ถึง 5 log no.of cell g^{-1} ตามลำดับ ในส่วนของเชื้อไรโซเบียมพบว่า เชื้อไรโซเบียมทั้งสองสายพันธุ์ สามารถมีชีวิตรอดอยู่ในทัลคัมได้ดี โดยพบว่ามีปริมาณเชื้ออยู่ที่ประมาณ 7 ถึง 8 log no.of cell g^{-1} ตลอดการทดลอง ยกเว้นในเดือนที่ 5 และ 6 ที่ปริมาณเชื้อในวัสดุที่ไม่อบฆ่าเชื้อลดลงบ้างเล็กน้อย และโดยเฉลี่ยแล้วในวัสดุที่ไม่อบฆ่าเชื้อทำให้การอยู่รอดของเชื้อไรโซเบียมมีน้อยกว่าในวัสดุที่อบฆ่าเชื้อ แต่อย่างไรก็ตามการอยู่รอดของเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ พบว่ามีปริมาณลดลงอย่างมากเมื่อผสมอยู่ในผงทัลคัมที่ปรับ pH ก่อนการคลุกเชื้อ ทั้งในวัสดุที่อบฆ่าเชื้อและไม่อบฆ่าเชื้อ โดยมีปริมาณเชื้ออยู่ที่ประมาณ 3 ถึง 4 log no.of cell g^{-1} เท่านั้น ยกเว้นเชื้อ Rhizobium GSY 012 ที่มีปริมาณ 5 ถึง 6 log no.of cell g^{-1} (ตาราง 4)

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณการรอดชีวิตของเชื้อจุลินทรีย์ในวัสดุทัลคัมที่ปรับ pH และไม่ปรับ pH พบว่าเชื้อจุลินทรีย์มีอัตราการรอดชีวิตในวัสดุทัลคัมที่ไม่ปรับ pH ได้ดีกว่าวัสดุทัลคัมที่ปรับ pH โดยเฉพาะเชื้อไรโซเบียมที่ปริมาณเชื้อลดลงเพียงเล็กน้อย ในขณะที่เชื้อ *Azospirillum* และ *Beijerinckia* ในวัสดุทัลคัมที่ไม่ปรับ pH พบอัตราการมีชีวิตรอดต่ำสุดอยู่ที่ 5 log no.of cell g^{-1} และ อยู่ที่ 3 ถึง 4 log no.of cell g^{-1} ในวัสดุทัลคัมที่ปรับ pH ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการปรับ pH ทัลคัมด้วย Formic acid อาจเกิดสารประกอบบางอย่างที่เป็นอันตรายต่อจุลินทรีย์ จึงทำให้มีปริมาณจุลินทรีย์โดยเฉลี่ยน้อยกว่าทัลคัมที่ไม่ปรับ pH แต่อย่างไรก็ตามในทัลคัมที่ปรับ pH นั้น เมื่อทิ้งไว้นานเกินกว่า 3 เดือน pH ปรับสูงขึ้นใกล้เคียงกับวัสดุที่ไม่ปรับ pH ทั้งนี้อาจเป็นเพราะอนุมูลไฮดรอกไซด์(OH) ในทัลคัมถูกปลดปล่อยออกมาเนื่องจากโมเลกุลของทัลคัมประกอบด้วยไฮดรอกไซด์

4.75 % ,SiO_2 63.35% และ MgO 31.90% (www.en .wikipedia .org/wiki/Tale21/5/2552) โดย pH ของทัลคัมที่ไม่ปรับ pH อยู่ที่ 8-9 (ตารางที่ 5) สำหรับทัลคัมที่ทำการปรับ pH ด้วยกรด Formic acid (5 M) ในอัตราที่เหมาะสม ค่า pH อยู่ที่ 6 ถึง 7 และมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นในเดือนที่ 3 (ตารางที่ 6)

วัสดุแป้งมันสำปะหลัง เชื้อแบคทีเรียที่คลุกลงในแป้งมันสำปะหลังที่ไม่ปรับ pH ก่อนคลุกเชื้อ มีปริมาณการอยู่รอดของเชื้อค่อนข้างสูงโดยเฉพาะเชื้อ *Azospirillum* ในแป้งมันสำปะหลังที่อบฆ่าเชื้อ มีปริมาณเชื้อเฉลี่ยประมาณ 8 log no.of cell g^{-1} ตลอดระยะเวลา 6 เดือน (ตารางที่ 7) แต่กลับไม่พบปริมาณการมีชีวิตรอดของเชื้อ *Azotobacter* และเชื้อ *Beijerinckia* เชื้อ Silicate bacteria มีปริมาณอยู่ที่ 8 log no.of cell g^{-1} สำหรับเชื้อไรโซเบียมมีปริมาณเชื้อแตกต่างกันเล็กน้อยระหว่างสายพันธุ์ ในสายพันธุ์ Rhizobium GSY 012 มีการรอดชีวิตสูงกว่าสายพันธุ์ Rhizobium NA6080 ที่ 0 วันเปรียบเทียบอัตราการมีชีวิตรอดของเชื้อแบคทีเรียในวัสดุพาหะแป้งมัน ไม่ปรับ pH ผ่านการฆ่าเชื้อ พบว่า มีเพียงเชื้อ *Azospirillum* เพียงเชื้อเดียวที่พบการมีชีวิตรอดของเชื้อ ประมาณ 7-8 log no. of cell g^{-1} ที่ 90 วัน ในขณะที่ไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้ออื่นบนอาหารที่ทำการทดสอบ เช่นเดียวกับการทดสอบเชื้อแบคทีเรียที่ผสมในวัสดุพาหะแป้งมัน ไม่ปรับ pH ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ โดยจะพบปริมาณเชื้อ *Azospirillum,* silicate bacteria และ *Rhizobium* ที่ 0 วัน แต่เมื่อตรวจนับที่ 90 วันกลับไม่พบการรอดชีวิตของเชื้อทุกชนิด

ส่วนในแป้งมันสำปะหลังที่ปรับ pH ก่อนการคลุกเชื้อจุลินทรีย์ (ตารางที่ 8) ปรากฏว่าเชื้อจุลินทรีย์มีปริมาณเหลือรอดน้อยมากตั้งแต่เริ่มต้น ทั้งในแป้งที่อบฆ่าเชื้อและไม่อบฆ่าเชื้อ ทั้งนี้เนื่องมาจากการปรับ pH ด้วย $CaCO_3$ แล้วทำให้มีความชื้นเนื่องจากการใส่สารละลายเซลล์จุลินทรีย์และน้ำลงไปเพื่อปรับให้มีความชื้นที่เหมาะสม ทำให้โครงสร้างของเนื้อแป้งจับตัวเป็นก้อนแข็ง มีการกระจายไม่สม่ำเสมอ ซึ่งอาจจะไม่เหมาะสมต่อการอยู่อาศัยของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้

การเปลี่ยนแปลง pH ของแป้งมันสำปะหลังมีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน คือ ยิ่งนานค่าความเป็นกรดจะเพิ่มมากขึ้น โดยแป้งมันสำปะหลังที่ไม่ปรับ pH ค่า pH อยู่ที่ประมาณ 4 ถึง 5 ใกล้เคียงกับธรรมชาติของแป้งมันสำปะหลังยกเว้นในเชื้อ *Azospirillum* ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อ มีค่า pH ค่อนข้างสูงอยู่ที่ 8 (ตารางที่ 9) สำหรับแป้งมันสำปะหลังที่ปรับ pH ค่า pH ในช่วง 3 เดือนแรกอยู่ที่ 7 และจะค่อยๆลดลงในเดือนที่ 4 เป็นต้นไป (ตารางที่ 10) การลดลงของ pH หลังจากบ่มเชื้อในระยะเวลานานเกิดจากการปลดปล่อยกรดอินทรีย์และสารประกอบอะโรแมติก (aromatic compound) อันเนื่องมาจากการใช้แป้งมันเป็นแหล่งอาหารและพลังงานของจุลินทรีย์และอาจเกิดสารประกอบอินทรีย์บางชนิดที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ (Marcan, *et al.*, 2007 และ Sukara and Daellet, 1988)

ตารางที่ 3 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจนับได้ในวัสดุพาหะทัลคัม ที่ไม่ปรับ pH ผ่านการอบฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ

ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์	ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจนับได้ (log no.of cell g^{-1})													
	0 เดือน		1 เดือน		2 เดือน		3 เดือน		4 เดือน		5 เดือน		6 เดือน	
	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC
Azospirillum	5.92	5.85	5.35	5.43	5.40	5.25	5.62	5.76	6.41	5.58	5.45	5.61	6.97	5.90
Azotobacter	6.73	7.20	ND	5.05	ND	7.95	6.02	7.88	6.08	7.78	7.20	7.07	7.02	6.76
Beijerinckia	5.47	4.94	6.71	5.42	6.24	ND	6.63	ND	6.11	ND	6.24	5.47	7.62	5.77
Bacillus	6.16	7.11	6.33	8.03	6.60	7.34	6.62	7.09	6.00	6.68	5.92	6.25	5.80	5.63
Rhizobium NA6080	8.56	8.37	8.78	5.77	8.35	7.92	8.51	7.94	8.11	7.80	8.33	6.80	8.14	6.66
Rhizobium GSY012	8.08	5.59	8.22	ND	9.18	8.40	9.20	ND	9.01	7.98	8.37	7.40	8.22	7.25

*C = ปลอดเชื้อ , NC = ไม่ปลอดเชื้อ , ND = not determine

ตารางที่ 4 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจนับได้ในวัสดุพาหะทัลคัม ปรับ pH ผ่านการอบฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ

ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์	ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจนับได้ (log no.of cell g^{-1})													
	0 เดือน		1 เดือน		2 เดือน		3 เดือน		4 เดือน		5 เดือน		6 เดือน	
	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC
Azospirillum	3.05	3.75	3.33	3.62	4.47	4.37	3.82	2.63	ND	3.63	4.19	3.78	3.52	ND
Azotobacter	4.37	3.27	3.11	4.51	3.74	ND	4.83	4.54	3.46	4.28	4.35	ND	3.27	4.58
Beijerinckia	5.75	ND	4.81	ND	3.85	4.16	5.33	ND	4.81	ND	3.75	4.51	4.60	3.45
Bacillus	6.32	2.41	5.63	4.86	3.31	5.37	6.52	4.13	ND	3.75	4.88	3.55	3.14	ND
Rhizobium NA6080	4.91	5.96	4.77	ND	3.05	4.94	ND	3.99	2.61	4.09	3.79	ND	4.19	3.73
Rhizobium GSY012	7.66	4.18	5.97	6.69	ND	5.72	6.63	6.89	ND	5.09	5.80	6.98	5.85	5.59

*C = ปลอดเชื้อ , NC = ไม่ปลอดเชื้อ, ND = not determine

ตารางที่ 5 ค่าความเป็นกรด-ด่าง(pH)ของวัสดุพาหะทัลคัมที่ไม่ปรับ pH ผ่านการฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อในระหว่างการบ่มเชื้อเป็นเวลา 6 เดือน

ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์	ค่า pH													
	0 เดือน		1เดือน		2 เดือน		3 เดือน		4 เดือน		5 เดือน		6 เดือน	
	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC
Azospirillum	9.35	8.77	9.38	9.09	9.35	9.57	9.57	9.45	9.51	9.46	9.40	9.54	8.93	9.28
Azotobacter	8.70	8.51	8.22	8.55	8.61	8.54	8.64	8.71	8.69	8.61	8.58	8.67	8.61	8.53
Beijerinckia	8.62	8.61	8.68	8.75	8.78	8.79	8.63	8.59	8.47	8.44	8.70	8.59	8.66	8.65
Bacillus	8.78	8.69	8.95	8.96	9.01	8.96	8.72	9.03	9.14	9.01	9.16	9.01	9.11	9.07
Rhizobium NA6080	8.61	8.65	8.80	8.69	8.61	8.79	8.85	8.74	8.58	8.82	8.52	8.48	8.67	8.62
Rhizobium GSY012	8.80	8.81	8.33	8.87	8.61	8.54	8.85	8.75	8.58	8.56	8.52	8.58	8.67	8.62

*C = ปลอดเชื้อ , NC = ไม่ปลอดเชื้อ

ตารางที่ 6 ค่าความเป็นกรด-ด่าง(pH)ของวัสดุพาหะทัลคัมที่ปรับ pH ผ่านการฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อในระหว่างการบ่มเชื้อเป็นเวลา 6 เดือน

ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์	ค่า pH													
	0 เดือน		1 เดือน		2 เดือน		3 เดือน		4 เดือน		5 เดือน		6 เดือน	
	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC
Azospirillum	7.15	7.23	7.65	7.61	7.36	7.84	8.59	8.25	8.45	8.42	8.60	8.75	8.76	8.45
Azotobacter	6.89	7.16	6.99	7.96	7.41	7.85	8.23	8.78	8.15	8.25	8.13	8.56	8.24	8.56
Beijerinckia	7.42	6.98	8.10	7.45	7.56	7.23	8.24	7.86	8.11	8.23	8.32	8.45	8.41	8.42
Bacillus	7.11	7.39	7.54	7.89	8.01	7.36	7.65	7.88	7.98	8.07	8.14	7.23	8.62	8.23
Rhizobium NA6080	6.52	6.98	6.79	7.56	7.88	7.67	7.74	7.69	7.99	7.65	8.24	7.69	8.11	8.25
Rhizobium GSY012	6.76	6.88	6.98	7.52	7.68	7.89	7.11	7.76	7.65	7.58	7.89	7.46	8.20	8.24

*C = ปลอดเชื้อ , NC = ไม่ปลอดเชื้อ

ตารางที่ 7 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจนับได้ในวัสดุพาหะแป้งมันสำปะหลัง ที่ไม่ปรับ pH ผ่านการอบฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ

ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์	ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจนับได้ (log no.of cell g^{-1})													
	0 เดือน		1 เดือน		2 เดือน		3 เดือน		4 เดือน		5 เดือน		6 เดือน	
	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC
Azospirillum	7.93	4.94	8.42	0.00	8.31	0.00	8.50	0.00	8.52	0.00	8.42	0.00	8.30	0.00
Azotobacter	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Beijerinckia	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Bacillus	8.12	8.12	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Rhizobium NA6080	6.05	6.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Rhizobium GSY012	8.43	8.43	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

*C = ปลอดเชื้อ , NC = ไม่ปลอดเชื้อ

ตารางที่ 8 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจนับได้ในวัสดุพาหะแป้งมันสำปะหลัง ที่ไม่ปรับ pH ผ่านการอบฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ

ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์	ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจนับได้ (log no.of cell g^{-1})													
	0 เดือน		1 เดือน		2 เดือน		3 เดือน		4 เดือน		5 เดือน		6 เดือน	
	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC
Azospirillum	5.09	0.00	4.73	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Azotobacter	7.55	0.00	0.00	0.00	4.57	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Beijerinckia	6.38	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	4.66	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Bacillus	0.00	0.00	0.00	0.00	5.39	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Rhizobium NA6080	5.66	4.27	5.28	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Rhizobium GSY012	0.00	5.59	0.00	0.00	0.00	0.00	3.19	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

*C = ปลอดเชื้อ , NC = ไม่ปลอดเชื้อ

ตารางที่ 9 ค่าความเป็นกรด-ด่าง(pH)ของวัสดุพาหะแป้งมันสำปะหลังไม่ปรับ pH ผ่านการฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ

ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์	ค่า pH													
	0 เดือน		1 เดือน		2 เดือน		3 เดือน		4 เดือน		5 เดือน		6 เดือน	
	C	NC	C	NC	C	NC	C	C	NC	C	NC	C	NC	C
Azospirillum	8.00	5.98	8.33	4.54	7.96	4.14	8.16	4.00	8.04	4.14	8.14	4.00	8.16	4.03
Azotobacter	4.60	5.28	4.32	4.66	4.28	4.52	4.04	4.38	3.93	4.02	4.02	4.37	3.94	4.19
Beijerinckia	4.52	5.07	4.37	4.55	4.12	4.29	4.11	4.18	3.95	4.19	4.13	4.24	4.01	4.18
Bacillus	5.70	5.47	4.93	3.18	4.79	4.20	4.68	2.80	4.68	2.92	4.56	3.01	4.68	2.98
Rhizobium NA6080	4.67	5.39	4.10	4.24	4.08	4.13	3.51	3.22	3.89	3.67	3.95	3.55	4.03	3.64
Rhizobium GSY012	4.71	5.24	4.25	4.65	4.24	4.14	3.57	3.95	3.64	3.97	3.69	4.12	3.78	4.07

*C = ปลอดเชื้อ , NC = ไม่ปลอดเชื้อ

ตารางที่ 10 ค่าความเป็นกรด-ด่าง(pH)ของวัสดุพาหะแป้งมันสำปะหลังปรับ pH ผ่านการฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ

ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์	ค่า pH													
	0 เดือน		1 เดือน		2 เดือน		3 เดือน		4 เดือน		5 เดือน		6 เดือน	
	C	NC	C	NC	C	NC	C	C	NC	C	NC	C	NC	C
Azospirillum	6.87	7.46	6.56	7.08	7.11	7.37	7.14	6.92	6.67	6.87	6.23	5.97	5.61	5.58
Azotobacter	7.08	7.64	7.24	7.24	7.39	7.47	7.27	7.01	6.48	6.57	6.23	6.45	5.68	5.47
Beijerinckia	7.45	7.85	7.58	7.61	7.28	7.12	7.03	7.25	6.75	6.38	6.18	5.75	5.14	5.38
Bacillus	7.23	7.68	7.69	7.48	7.68	7.45	7.00	6.89	6.83	6.75	6.67	6.72	5.76	5.87
Rhizobium NA6080	7.56	7.15	7.63	7.35	7.01	7.12	6.76	6.84	6.77	6.14	6.14	5.56	5.12	5.23
Rhizobium GSY012	7.77	6.89	7.55	7.16	6.81	6.97	6.78	6.62	6.94	6.35	6.29	5.73	5.45	5.14

*C = ปลอดเชื้อ , NC = ไม่ปลอดเชื้อ

วัสดุเถ้าลอยและเถ้าหนัก เถ้าลอยและเถ้าหนักเป็นวัสดุพลอยได้จากการใช้ลิกไนท์เป็นเชื้อเพลิงในการผลิตกระแสไฟฟ้าแม่เมาะ เมื่อนำมาใช้ในการคลุกเชื้อจุลินทรีย์เพื่อทดสอบ พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ไม่สามารถอยู่รอดได้ทั้งที่ปรับ pH และไม่ปรับ pH รวมถึงนึ่งฆ่าเชื้อ และไม่นึ่งฆ่าเชื้อ ถึงแม้พบจุลินทรีย์ในเถ้าลอยบ้างในระยะแรก แต่ในระยะหลังไม่พบการเจริญของเชื้อเลย (ตารางที่ 11 และ 12) ยิ่งไปกว่านั้นในเถ้าหนักไม่พบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์อยู่รอดเลยตั้งแต่ระยะแรก ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเถ้าทั้ง 2 ชนิด มี pH สูงมาก (ตารางที่ 13 และ 14) โดยเฉพาะเถ้าลอยเมื่อเพิ่มความชื้นลงไปจะมีลักษณะเป็นโคลนมีความร้อนเกิดขึ้นปฏิกิริยาค่อนข้างรุนแรง เมื่อแห้งและเย็นตัวลงมีลักษณะแข็งคล้ายซีเมนต์ จึงไม่เหมาะสมเป็นอย่างยิ่งที่จะใช้เป็นวัสดุพาหะสำหรับการผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์

วัสดุผงถ่านไม้ จากการคลุกเชื้อจุลินทรีย์กับผงถ่านไม้บดละเอียดผ่านตะแกรงขนาด 0.5 มม.พบว่าในผงถ่านที่ไม่ปรับ pH ก่อนคลุกเชื้อมีเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดเท่านั้นที่อยู่รอดได้ในระยะ 30 วัน แรก ได้แก่ *Azotobacter*, *Azospirillum* และ *Beijerinckia* (ตารางที่ 15) ส่วนในผงถ่านที่ปรับ pH ก่อนคลุกเชื้อมีผลในทำนองเดียวกับผงถ่านที่ไม่ปรับ pH แต่เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองทุกชนิดอยู่รอดได้เมื่อตรวจนับหลังจากคลุกเชื้อลงในวัสดุ แต่หลังจากนั้นเชื้อจุลินทรีย์ไม่สามารถรอดอยู่ได้ (ตารางที่ 16) ค่า pH อยู่ที่ 7-8 ทั้งในผงถ่านที่ปรับ pH และไม่ปรับ pH (ตารางที่ 17 และ 18)

ผงพีท เนื่องจากผงพีทมีคุณสมบัติเป็นกรดจัด มี pH ก่อนการทดลองประมาณ 3.8 จึงไม่ได้ใช้เป็นวัสดุพาหะในการทดลองครั้งนี้สำหรับผงพีทที่ปรับ pH แล้ว เมื่อนำมาเป็นวัสดุพาหะพบว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองสามารถเจริญอยู่ได้ในระดับประมาณ 7 ถึง 8 log no.of cell g^{-1} ในเดือนแรก และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นหลังจากนั้นทั้งในผงพีทที่อบฆ่าเชื้อและไม่อบฆ่าเชื้อ โดยเชื้อที่สามารถอยู่ได้ในปริมาณประมาณ 8 ถึง 9 log no.of cell g^{-1}ได้แก่ *Azotobacter* และ Rhizobium ทั้งสองสายพันธุ์ ปริมาณเชื้อของ *Azospirillum, Beijerinckia* และ Silicate bacteria ก็สามารถเจริญอยู่ได้ในระดับสูงเช่นเดียวกันโดยมีปริมาณเชื้ออยู่ที่ประมาณ 7 ถึง 8 log no.of cell g^{-1} (ตารางที่ 19) อีกทั้งยังมีค่า pH และความชื้นเหมาะต่อการอยู่อาศัยของเชื้อจุลินทรีย์ จึงนิยมนำมาใช้ผลิตเป็นหัวเชื้อ แต่เนื่องจากผงพีทมีอนุภาคใหญ่เกินไปและเป็นวัสดุที่ขาดแคลนในประเทศไทย จึงไม่ได้นำไปใช้ในการทดลองผลิตเป็นหัวเชื้อผงแบบ Spray dry และ Freeze dry

จากการทดสอบการรอดชีวิตของเชื้อจุลินทรีย์ที่คลุกเชื้อผสมกับวัสดุพาหะตามวิธีปกติ เพื่อหาวัสดุที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นวัสดุพาหะในการทำแห้งด้วยวิธี Spray dry และFreeze dry พบว่าทัลคัมเป็นวัสดุที่เหมาะสมในการนำไปศึกษาตามวิธีดังกล่าว แต่อย่างไรก็ตามแป้งมันสำปะหลังถึงแม้ว่าในการศึกษาเบื้องต้น การอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์ไม่ค่อยมากนัก แต่มีลักษณะเป็นผงละเอียด และเป็นวัสดุที่หาได้ง่ายทั่วไป จึงได้นำมาทดสอบเปรียบเทียบในครั้งนี้ด้วย

ตารางที่ 11 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจนับได้ใน เถ้าลอย ที่ไม่ปรับ pH ผ่านการอบฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ

ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์	ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจนับได้ (log no.of cell g^{-1})													
	0 เดือน		1 เดือน		2 เดือน		3 เดือน		4 เดือน		5 เดือน		6 เดือน	
	C	NC	C	NC	C	NC	C	C	NC	C	NC	C	NC	C
Azospirillum	7.58	7.58	0.00	7.42	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Azotobacter	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Beijerinckia	3.33	3.41	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Bacillus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Rhizobium NA6080	0.00	4.57	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Rhizobium GSY012	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

*C = ปลอดเชื้อ , NC = ไม่ปลอดเชื้อ

ตารางที่ 12 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจนับได้ใน เถ้าลอย ปรับ pH ผ่านการอบฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ

ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์	ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจนับได้ (log no.of cell g^{-1})													
	0 เดือน		1 เดือน		2 เดือน		3 เดือน		4 เดือน		5 เดือน		6 เดือน	
	C	NC	C	NC	C	NC	C	C	NC	C	NC	C	NC	C
Azospirillum	5.87	4.63	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Azotobacter	4.51	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Beijerinckia	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Bacillus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Rhizobium NA6080	5.63	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Rhizobium GSY012	5.51	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

*C = ปลอดเชื้อ , NC = ไม่ปลอดเชื้อ

ตารางที่ 13 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)ของวัสดุพาหะเถ้าลอยไม่ปรับ pH ผ่านการฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ

ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์	ค่า pH													
	0 เดือน		1 เดือน		2 เดือน		3 เดือน		4 เดือน		5 เดือน		6 เดือน	
	C	NC	C	NC	C	NC	C	C	NC	C	NC	C	NC	C
Azospirillum	11.25	11.15	11.13	11.08	10.48	10.75	10.61	10.78	10.50	10.28	10.12	10.57	10.91	10.74
Azotobacter	11.13	11.24	11.08	11.17	10.44	10.46	10.65	10.45	10.24	10.38	10.67	10.64	10.54	10.25
Beijerinckia	11.28	11.08	11.11	11.24	10.61	10.38	10.79	10.67	10.57	10.64	10.55	10.38	10.40	10.14
Bacillus	11.27	11.10	11.07	11.10	10.47	10.67	10.68	10.38	10.85	10.97	10.93	10.47	10.66	10.34
Rhizobium NA6080	11.28	11.14	11.19	11.14	10.53	10.58	10.77	10.35	11.00	10.57	10.61	10.45	10.58	10.28
Rhizobium GSY012	11.11	11.12	11.14	11.04	10.68	10.87	10.57	10.57	10.91	10.38	10.47	10.34	10.74	10.37

*C = ปลอดเชื้อ , NC = ไม่ปลอดเชื้อ

ตารางที่ 14 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)ของวัสดุพาหะเถ้าลอยปรับ pH ผ่านการฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ

ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์	ค่า pH													
	0 เดือน		1 เดือน		2 เดือน		3 เดือน		4 เดือน		5 เดือน		6 เดือน	
	C	NC	C	NC	C	NC	C	C	NC	C	NC	C	NC	C
Azospirillum	7.87	7.74	8.55	8.28	8.69	8.64	9.01	9.08	9.25	9.27	9.24	9.84	9.87	9.82
Azotobacter	7.69	7.88	8.47	8.46	8.97	8.34	9.05	9.15	8.97	9.43	9.23	9.76	9.57	9.94
Beijerinckia	7.84	7.64	8.23	8.73	8.67	8.76	9.14	9.02	8.71	9.67	9.58	9.38	9.68	9.61
Bacillus	7.69	7.86	8.73	8.68	8.97	8.46	8.94	9.07	9.09	9.57	9.47	9.49	9.81	9.68
Rhizobium NA6080	7.57	7.91	8.24	8.37	8.57	8.83	8.64	8.69	9.32	9.40	9.18	9.68	9.64	9.81
Rhizobium GSY012	7.66	7.58	8.19	8.25	8.51	8.67	9.06	8.79	9.25	9.15	9.38	9.58	9.83	9.73

*C = ปลอดเชื้อ , NC = ไม่ปลอดเชื้อ

ตารางที่ 15 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจนับได้ในผงถ่าน ที่ไม่ปรับ pH ผ่านการอบฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ

ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์	ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจนับได้ (log no.of cell g^{-1})													
	0 เดือน		1 เดือน		2 เดือน		3 เดือน		4 เดือน		5 เดือน		6 เดือน	
	C	NC	C	NC	C	NC	C	C	NC	C	NC	C	NC	C
Azospirillum	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Azotobacter	6.56	8.96	8.03	9.05	7.07	7.04	7.71	0.00	7.78	0.00	7.93	0.00	7.96	0.00
Beijerinckia	7.87	7.17	0.00	7.80	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Bacillus	8.06	0.00	8.20	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Rhizobium NA6080	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Rhizobium GSY012	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

*C = ปลอดเชื้อ , NC = ไม่ปลอดเชื้อ,

ตารางที่ 16 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจนับได้ในผงถ่าน ปรับ pH ผ่านการอบฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ

ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์	ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจนับได้ (log no.of cell g^{-1})													
	0 เดือน		1 เดือน		2 เดือน		3 เดือน		4 เดือน		5 เดือน		6 เดือน	
	C	NC	C	NC	C	NC	C	C	NC	C	NC	C	NC	C
Azospirillum	8.60	8.03	0.00	0.00	0.00	4.63	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Azotobacter	7.73	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Beijerinckia	8.49	8.95	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Bacillus	8.73	7.69	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Rhizobium NA6080	8.42	5.56	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Rhizobium GSY012	6.54	7.94	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

*C = ปลอดเชื้อ , NC = ไม่ปลอดเชื้อ,

ตารางที่ 17 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)ของวัสดุพาหะผงถ่านไม้ ไม่ปรับ pH ผ่านการฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ

ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์	ค่า pH													
	0 เดือน		1 เดือน		2 เดือน		3 เดือน		4 เดือน		5 เดือน		6 เดือน	
	C	NC	C	NC	C	NC	C	C	NC	C	NC	C	NC	C
Azospirillum	8.86	8.57	8.56	8.46	8.62	8.34	8.12	8.26	8.15	8.45	8.23	8.19	8.15	8.09
Azotobacter	8.75	8.18	8.46	8.56	8.46	8.18	7.98	8.28	8.09	8.28	8.56	8.24	8.64	8.27
Beijerinckia	8.49	8.67	8.78	8.96	8.17	8.72	8.56	8.47	8.56	8.07	7.91	8.26	8.34	8.08
Bacillus	8.76	8.09	8.23	8.69	8.16	8.23	8.46	8.56	8.07	8.09	7.84	8.34	8.25	8.15
Rhizobium NA6080	8.64	8.45	8.56	8.49	8.12	8.45	8.23	8.17	8.31	8.26	8.04	8.15	8.43	8.16
Rhizobium GSY012	8.61	8.21	8.59	8.56	8.46	8.11	8.08	8.24	8.46	8.17	8.12	8.17	8.21	8.28

*C = ปลอดเชื้อ , NC = ไม่ปลอดเชื้อ

ตารางที่ 18 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)ของวัสดุพาหะผงถ่านไม้ ปรับ pH ผ่านการฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ

ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์	ค่า pH													
	0 เดือน		1 เดือน		2 เดือน		3 เดือน		4 เดือน		5 เดือน		6 เดือน	
	C	NC	C	NC	C	NC	C	C	NC	C	NC	C	NC	C
Azospirillum	7.68	7.42	7.86	7.84	8.07	8.27	8.12	8.16	8.24	8.24	8.08	8.34	8.31	8.52
Azotobacter	7.81	7.56	7.78	7.88	8.11	7.90	8.24	8.25	8.26	8.56	8.12	8.19	8.46	8.29
Beijerinckia	7.35	7.13	7.94	8.01	8.13	8.23	8.34	8.24	8.56	8.39	8.24	8.34	8.34	8.27
Bacillus	7.68	7.44	7.65	7.95	7.92	8.15	8.29	8.36	8.34	8.28	8.09	8.25	8.46	8.45
Rhizobium NA6080	7.42	7.64	7.81	7.81	8.11	8.03	8.14	8.45	8.45	8.43	8.34	8.23	8.15	8.24
Rhizobium GSY012	7.46	7.53	7.68	7.68	7.86	7.77	8.24	8.23	8.29	8.23	8.46	8.01	8.37	8.65

*C = ปลอดเชื้อ , NC = ไม่ปลอดเชื้อ

ตารางที่ 19 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจนับได้ใน ผงพีท ที่ปรับ pH ผ่านการอบฆ่าเชื้อ

ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์	ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจนับได้ (log no.of cell g^{-1})													
	0 เดือน		1 เดือน		2 เดือน		3 เดือน		4 เดือน		5 เดือน		6 เดือน	
	C	NC	C	NC	C	NC	C	C	NC	C	NC	C	NC	C
Azospirillum	7.31	7.65	7.31	7.62	7.38	7.55	8.85	8.60	9.09	8.20	9.05	ND	5.66	8.20
Azotobacter	8.22	8.94	8.31	9.05	9.50	8.73	9.38	8.49	8.24	8.93	7.32	8.95	9.28	8.93
Beijerinckia	7.93	7.17	6.54	7.29	8.73	7.77	8.62	7.98	7.88	7.99	7.22	7.68	9.03	6.85
Bacillus	8.06	7.73	8.10	8.03	8.20	8.57	8.53	6.63	8.17	5.61	8.14	5.61	7.60	5.10
Rhizobium NA6080	7.82	8.42	8.25	8.54	8.52	8.68	8.70	8.25	9.37	8.39	9.70	8.91	9.89	ND
Rhizobium GSY012	6.20	7.29	9.27	7.40	9.92	7.73	9.93	7.20	9.67	8.24	9.24	8.70	6.35	8.85

*C = ปลอดเชื้อ , NC = ไม่ปลอดเชื้อ, ND = not determine

ตารางที่ 20 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)ของวัสดุพาหะผงพีท ผ่านการฆ่าเชื้อและไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ

ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์	ค่า pH													
	0 เดือน		1 เดือน		2 เดือน		3 เดือน		4 เดือน		5 เดือน		6 เดือน	
	C	NC	C	NC	C	NC	C	C	NC	C	NC	C	NC	C
Azospirillum	6.52	6.51	6.71	6.53	7.15	6.67	7.20	7.23	7.11	7.22	7.08	7.16	7.02	7.11
Azotobacter	7.52	7.43	7.59	7.30	7.59	7.25	6.32	7.14	7.46	7.27	7.43	7.50	7.48	7.34
Beijerinckia	6.34	6.61	6.88	7.05	7.09	7.05	7.13	7.04	7.07	7.36	7.05	7.04	7.11	7.12
Bacillus	6.30	6.42	6.98	7.12	6.94	7.15	7.12	6.42	7.13	7.13	7.04	7.12	7.12	7.08
Rhizobium NA6080	6.67	6.75	7.02	7.09	6.92	7.04	6.99	7.00	6.98	7.01	7.00	6.98	6.87	7.01
Rhizobium GSY012	6.52	6.51	6.71	6.53	7.15	6.67	7.20	7.23	7.11	7.22	7.05	7.14	7.13	7.18

*C = ปลอดเชื้อ , NC = ไม่ปลอดเชื้อ

3.1.2.2 การผลิตเชื้อผงแห้ง

จากการทดสอบความเป็นไปได้ของวัสดุพาหะที่จะนำมาใช้ในการผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์แบบผง พบว่าวัสดุที่มีศักยภาพ ได้แก่ ทัลคัม และมันสำปะหลัง เนื่องจากพบว่าเชื้อจุลินทรีย์สามารถเจริญอยู่ได้และมีอัตราการมีชีวิตรอดสูงกว่าวัสดุอื่น ยกเว้นในผงพืท แต่ในการทดสอบการผลิตเชื้อผงแห้งจะไม่นำผงพืทมาใช้ใน เนื่องจากสามารถใช้ผงพืทผลิตหัวเชื้อโดยวิธีปกติได้อยู่แล้ว และอีกประการหนึ่งคือ ผงพืทมีลักษณะหยาบมีอนุภาคใหญ่ทำให้อุดตันหัวฉีดพ่นเมื่อทำเป็นผงแห้ง อย่างไรก็ตาม การผลิตเชื้อผงแบบแห้งนั้นเลือกทำการทดลองเปรียบเทียบวัสดุพาหะทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ ทัลคัมและแป้งมันสำปะหลัง ที่ไม่ปรับ pH ควบคู่กับการทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารเคลือบเซลล์ 3 ชนิด คือ sucrose-peptone, skimmed milk และแป้งเปียก โดยสารเคลือบเซลล์จะช่วยในการป้องกันความร้อนหรือความเย็นที่เกิดขึ้นระหว่างขบวนการทำแห้ง อีกทั้งการรอดชีวิตของเชื้อที่ทำแห้งแบบเยือกแข็งนั้นขึ้นอยู่กับน้ำที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ และผลของปฏิกิริยาของสารป้องกันความเย็นกับองค์ประกอบของผิวเซลล์หรือสารที่มีอยู่ภายในเซลล์(สมบูรณ์, 2544) นอกจากนี้การทำแห้งด้วยวิธี Spray dry เป็นการเอาน้ำออกจากเซลล์ จากการทดลองของ Champagne *et al*. (1991) พบว่าการเอาน้ำออกอย่างรวดเร็วและการทำให้เซลล์แห้งส่งผลให้เกิดการแตกของเซลล์และทำให้อนุภาคที่ได้ภายหลังจากการทำให้แห้งแล้วนั้นเป็นหลุม ซึ่งเกิดจาก oxidative degeneration ของโปรตีนและองค์ประกอบภายในเซลล์ส่งผลให้จุลินทรีย์ตาย สารเคลือบเซลล์ที่เหมาะสมจะช่วยในการป้องกันเซลล์จากการทำแห้งและช่วยให้เซลล์มีชีวิตรอด สอดคล้องกับการทดลองของ Lian (2002) ที่ทำการพ่นแห้งเชื้อ Bifidobacteria โดยใช้สารเคลือบเซลล์ชนิดต่างๆ คือ เจลาติน กัมอาราบิกและแป้งเปียก พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้รับการเคลือบเซลล์มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงกว่าการไม่เคลือบเซลล์

อัตราการมีชีวิตรอดของเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้จากการผลิตเชื้อผงแห้งแบบเยือกแข็ง(Freeze dry) และแบบพ่นแห้ง (Spray dry)

เชื้อจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจน

นำเชื้อจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนอิสระ ทั้ง 3 สกุล คือ *Azospirillum, Azotobacter* และ *Beijerinckia* ที่ได้จาการเลี้ยงขยายเชื้อในอาหารเหลว ผสมรวมกันให้มีเชื้อประมาณ 10^9 cells mL^{-1} ทำการเคลือบเซลล์ด้วยวัสดุเคลือบเซลล์ต่างกัน 3 ชนิด คือ sucrose-peptone, skimmed milk และ แป้งเปียก แบ่งส่วนผสมของจุลินทรีย์ที่เคลือบเซลล์แล้วผสมกับวัสดุพาหะคือ ทัลคัมและแป้งมันสำปะหลัง ในสัดส่วนที่มีปริมาณเซลล์ประมาณ 10^8 cells mL^{-1} ก่อนนำไปทำ Freeze dry และ Spray dry หลังจากทำเป็นเชื้อผงแห้งแล้ว แบ่งใส่ถุงพลาสติกปิดผนึกให้แน่น เพื่อเก็บ

ตัวอย่างนับปริมาณเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากไนโตรเจน เป็นระยะนาน 6 เดือน โดยนับปริมาณเชื้อทุกเดือน การทดลองได้ผลดังนี้คือ

การทำเชื้อผงแห้งแบบ Freeze dry (ตารางที่ 21) จากการตรวจนับปริมาณเชื้อหลังจากการทำแห้งทันทีพบปริมาณเชื้อผสมประมาณ 5 ถึง 7 log no.of cell g^{-1} ซึ่งเป็นปริมาณที่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกตำรับการทดลอง แต่เมื่อเก็บเชื้อผงไว้นาน 30 วัน ปรากฏว่าเชื้อจุลินทรีย์ในวัสดุแป้งมันสำปะหลังเคลือบเซลล์ด้วยแป้งเปียก พบปริมาณเชื้อมากที่สุด รองลงมาได้แก่เชื้อจุลินทรีย์ในวัสดุทัลคัมเคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone และ เชื้อจุลินทรีย์เคลือบเซลล์ด้วย skimmed milk ทั้งในทัลคัมและแป้งมันสำปะหลัง ซึ่งมีปริมาณเชื้อไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยมีปริมาณเชื้อประมาณ 6.72 ถึง 7.01 log no.of cell g^{-1} เชื้อในทัลคัมที่เคลือบเซลล์ด้วยแป้งเปียก และ เชื้อในแป้งมันสำปะหลังที่เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone มีปริมาณเชื้ออยู่ที่ 5.20 และ 6.35 log no.of cell g^{-1} ตามลำดับ ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในเชื้อผงที่เก็บไว้นาน 60 วัน พบว่าการอยู่รอดของเชื้อเป็นไปในทำนองเดียวกับเชื้อที่เก็บไว้นาน 30 วัน กล่าวคือเชื้อจุลินทรีย์ในวัสดุทัลคัมที่เคลือบด้วย sucrose-peptone และ เคลือบด้วย skimmed milk มีปริมาณเชื้อโดยเฉลี่ย คือ 6.64 ถึง 6.67 log no.of cell g^{-1} มากกว่าเชื้อในทัลคัมเคลือบเซลล์ด้วยแป้งเปียกที่มีเชื้ออยู่ 5.02 log no.of cell g^{-1} สำหรับปริมาณเชื้อที่เคลือบเซลล์ด้วยสารเคลือบเซลล์ชนิดต่างๆในวัสดุพาหะชนิดแป้งมันสำปะหลัง ปริมาณเชื้อที่พบไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อยู่ที่ 6.61 – 7.20 log no.of cell g^{-1} หลังจากเก็บไว้นาน 90 และ 120 วัน อัตราการมีชีวิตรอดของเชื้อมีปริมาณใกล้เคียงกับปริมาณเชื้อที่ 60 วัน และโดยเฉลี่ยแล้ว เชื้อผงที่ทำโดยนำเชื้อจุลินทรีย์ผสมในวัสดุพาหะแป้งมันสำปะหลังเคลือบเซลล์ด้วย แป้งเปียกมีปริมาณเชื้อมากกว่าการใช้ทัลคัมเป็นวัสดุพาหะ และดูเหมือนว่าทำให้มีปริมาณเซลล์อยู่รอดมากที่สุดโดยมีปริมาณประมาณ 7.35 ถึง 7.50 log no.of cell g^{-1} หลังจากเก็บไว้นาน 90 และ 120 วัน อย่างไรก็ตามปริมาณเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนทั้งหมดเริ่มลดลงเล็กน้อยเมื่อเก็บไว้นาน 150 วัน และลดลงโดยเฉลี่ยมากที่สุดเมื่อเก็บไว้นาน 180 วัน โดยปริมาณเซลล์ในระยะนี้มีประมาณ 4.58-5.42 log no.of cell g^{-1}

อาจกล่าวได้ว่าในกรรมวิธีการผลิตแบบ Freeze dry หากใช้วัสดุพาหะชนิดทัลคัมสารเคลือบเซลล์ที่เหมาะสมในการผลิตผงเชื้อ ได้แก่ sucrose-peptone และ skimmed milk ในขณะที่แป้งเปียกเป็นสารเคลือบเซลล์ที่เหมาะสมสำหรับวัสดุพาหะชนิดแป้งมันสำปะหลัง

ตารางที่ 21 ปริมาณเชื้อผสมตรึงไนโตรเจน (log no. of cells g^{-1}) หลังจากการทำ Freeze dry ในระยะเวลา 0-180 วัน

Tr	Day						
	0	30	60	90	120	150	180
1	6.79±0.39	6.72±0.28	6.67±0.19	6.60±0.13	6.58±0.11	6.64±0.14	5.42±0.27
2	7.06±0.37	6.85±0.32	6.64±0.14	6.39±0.30	6.36±0.18	6.15±0.39	5.35±0.38
3	5.73±0.17	5.20±0.14	5.02±0.13	4.83±0.31	5.37±0.80	5.27±0.90	4.63±0.28
4	6.35±0.16	6.35±0.17	6.61±0.32	6.70±0.55	6.18±0.14	6.30±0.38	4.97±0.30
5	6.80±0.77	7.01±0.61	6.84±0.71	6.98±0.70	6.67±0.92	5.58±0.24	4.58±0.07
6	6.80±0.65	7.06±0.57	7.20±0.56	7.35±0.23	7.50±0.14	6.17±0.28	5.02±0.39
mean	6.59±0.60	6.53±0.74	6.50±0.79	6.48±0.89	6.44±0.78	5.97±0.59	4.99±0.42
LSD	0.85	0.70	0.72	0.74	0.91	0.81	0.53
%CV.	7.22	6.02	6.24	6.46	7.93	7.65	6.02

หมายเหตุ; Tr1= Talcum +sucrose peptone, **Tr2** = Talcum+skimmed milk, **Tr3** = Talcum+แป้งเปียก, **Tr4** = แป้งมัน+sucrose peptone, **Tr5** = แป้งมัน+ skimmed milk, **Tr6** = แป้งมัน+แป้งเปียก

การทำเชื้อผงแห้งแบบ Spray dry ของเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มตรึงไนโตรเจนแบบอิสระพบว่ามีปริมาณจุลินทรีย์อยู่รอดหลังจากการพ่นแห้งอยู่ในปริมาณสูงและไม่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกรรมวิธีต่างๆ ที่ใช้ในการเตรียมเซลล์ก่อนพ่นแห้ง โดยมีจุลินทรีย์ประมาณ 6.96 ถึง 7.63 log no.of cell g^{-1} หลังจากนั้นปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มลดลงเล็กน้อยเมื่อเก็บเชื้อไว้นาน 60 วัน การลดลงเพิ่มมากขึ้นเมื่อเก็บไว้นาน 120 วัน ยกเว้นเชื้อตรึงไนโตรเจนอิสระที่เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone มีทัลคัมเป็นวัสดุพาหะที่ยังคงมีปริมาณเชื้ออยู่ที่ประมาณ 7.41 log no. of cells g^{-1} แต่เมื่อเก็บไว้นาน 180 วันพบว่าในทุกกรรมวิธีการผลิตเชื้อมีปริมาณลดลงเหลือเพียง 1.23-2.77 log no. of cells g^{-1} และในบางกรรมวิธีไม่พบการมีชีวิตรอดของเชื้อ เนื่องจากเชื้อที่จากการทำ Spray dry ในครั้งนี้กระบวนการผลิตเป็นระบบเปิดจึงมีการปนปื้อนของเชื้อชนิดอื่นโดยเฉพาะเชื้อรา ซึ่งทำให้การนับเชื้อเป็นไปได้ยาก (ตาราง 22)

ตารางที่ 22 ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อผสมตรึงไนโตรเจน(log no. of cells g^{-1}) หลังจากการ Spray dry ในระยะเวลา 0-180 วัน

Tr	Day						
	0	30	60	90	120	150	180
1	7.63±0.24	7.63±0.70	7.94±0.54	7.41±0.59	5.80±0.18	5.51±0.14	2.77±2.44
2	7.54±0.28	7.38±0.21	6.79±0.09	6.71±0.13	6.09±0.26	5.52±0.11	1.23±2.13
3	7.49±0.41	7.10±0.44	6.74±0.19	6.56±0.52	6.28±0.40	6.17±0.26	1.98±3.44
4	7.41±0.05	7.26±0.16	7.19±0.26	6.73±0.22	5.88±0.32	5.83±0.58	1.36±3.36
5	7.61±0.42	7.17±0.18	7.35±0.66	7.12±0.50	6.33±0.12	6.78±0.22	2.05±3.56
6	6.96±0.49	7.26±0.27	7.13±0.18	6.80±0.08	6.14±0.27	5.56±0.36	ND±ND
mean	7.44±0.36	7.30±0.36	7.19±0.52	6.89±0.45	6.09±0.31	5.89±0.54	1.57±2.36
LSD	0.59	0.67	0.68	0.70	0.49	0.57	4.62
%CV	4.46	5.19	5.30	5.74	4.52	5.40	165.96

หมายเหตุ; Tr1= Talcum +sucrose peptone, **Tr2** = Talcum+skimmed milk, **Tr3** = Talcum+แป้งเปียก, **Tr4** = แป้งมัน+sucrose peptone, **Tr5** = แป้งมัน+ skimmed milk, **Tr6** = แป้งมัน+แป้งเปียก

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเชื้อระหว่างวิธี Freeze dry และ Spray dry ที่ 0 วัน พบว่า วิธี Spray dry มีปริมาณเชื้อมากกว่า วิธี Freeze dry แต่เมื่อเปรียบเทียบชนิดของสารเคลือบพบว่าการเคลือบเซลล์ด้วย skimmed milk จะพบปริมาณเชื้อดีที่สุดเมื่อเทียบกับการเคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone และแป้งเปียก (ตารางที่ 23) จากข้อมูลเบื้องต้นในตารางที่ 22 และ 23 ทางกลุ่มผู้วิจัยจึงเลือกหัวเชื้อที่ผลิตด้วยวิธีSpray dry เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone มีทัลคัมเป็นวัสดุพาหะไปใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพ จุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของปุ๋ยอินทรีย์

ตารางที่ 23 เปรียบเทียบปริมาณเชื้อผสมตรึงไนโตรเจน (log no of cells g^{-1}) ระหว่างวิธี Freeze dry และ Spray dry ($P<0.05$) ที่ระยะเริ่มต้นการทดลอง (0 วัน)

สารเคลือบเซลล์	Freeze dry		Spray dry		ค่าเฉลี่ย
	Talcum	แป้งมัน	Talcum	แป้งมัน	
Sucrose peptone	6.79	6.35	7.63	7.41	7.05(ab)
Skimmed milk	7.06	6.80	7.54	7.61	7.25(a)
แป้งเปียก	5.73	6.80	7.49	6.96	6.75(b)
ค่าเฉลี่ย	6.59(b)		7.44(a)		7.02

CV % 1. วิธีการ = 6.03 2. วัสดุพาหะ =2.87 3. สารเคลือบเซลล์ = 6.51

LSD 1. วิธีการ= 0.61 2. วัสดุพาหะ =0.61 3. สารเคลือบเซลล์ = 0.40

เชื้อไรโซเบียม

การทำเชื้อผงแห้งของไรโซเบียมโดยวิธี Freeze dry (ตารางที่ 24) พบว่าทั้งการใช้ผงทัลคัมและแป้งมันสำปะหลังที่เคลือบเซลล์ด้วยวัสดุเคลือบเซลล์ทั้ง 3 ชนิด มีปริมาณเซลล์อยู่รอดในปริมาณสูงเมื่อตรวจนับหลังจากการทำแห้งทันที โดยมีปริมาณตั้งแต่ 8.06 ถึง 8.84 log no.of cell g^{-1} ซึ่งสูงกว่าปริมาณเซลล์จุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ การเคลือบเซลล์เชื้อไรโซเบียมที่ผสมอยู่ในแป้งมันสำปะหลังและเคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone ทำให้เชื้อไรโซเบียมมีปริมาณการอยู่รอดมากที่สุดที่ 8.84 log no.of cell g^{-1} รองลงมาได้แก่การเคลือบเซลล์ที่อยู่ในแป้งมันสำปะหลังด้วยแป้งเปียก ส่วนเชื้อไรโซเบียมที่ผสมด้วยผงทัลคัม ถึงแม้ว่ามีปริมาณต่ำกว่าไรโซเบียมที่ใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นวัสดุพาหะ แต่ก็ยังมีปริมาณการอยู่รอดสูงในระดับมากกว่า 8 log no.of cell g^{-1} ไม่ว่าจะเคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone , skimmed milk หรือแป้งเปียกก็ตาม และปริมาณเชื้อไรโซเบียมยังคงอยู่ในปริมาณใกล้เคียงกันนี้ หลังจากเก็บไว้นาน 60 วัน ยกเว้นในเซลล์ที่คลุกด้วยทัลคัมที่เคลือบด้วยแป้งเปียกที่ลดลงมาอยู่ที่ 6.78 log no.of cell g^{-1} แต่อย่างไรก็ดีปริมาณเซลล์เริ่มลดลงมากขึ้นเมื่อเก็บเชื้อไว้นานขึ้น และลดลงมากที่สุดเมื่อเก็บไว้นาน 180 วัน สำหรับเชื้อที่ทำแห้งแบบ Freeze dry และสามารถอยู่รอดได้ในอัตราสูงเมื่อเก็บไว้ได้นานกว่าคือ

เชื้อไรโซเบียมที่ใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นวัสดุพาหะและเคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone และเชื้อที่ใช้ทัลคัมเป็นวัสดุพาหะและเคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone เช่นเดียวกันที่มีปริมาณเชื้อประมาณ 7.21 และ 6.43 log no.of cell g^{-1} เมื่อเก็บไว้นาน 150 วัน

ตารางที่ 24 ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อ *Rhizobium* (log no. of cells g^{-1}) หลังจากการ Freeze-dry ในระยะเวลา 0-180 วัน

Tr	Day						
	0	30	60	90	120	150	180
1	8.30±0.15	7.69±0.68	8.51±0.34	7.38±0.59	6.84±0.99	6.43±0.88	5.54±0.30
2	8.34±0.24	7.69±0.13	8.39±0.55	6.46±0.35	6.50±0.35	5.88±0.50	5.41±0.39
3	8.06±0.05	7.55±0.11	6.78±0.25	5.54±0.44	5.57±0.37	5.79±0.72	5.54±0.13
4	8.84±0.04	8.61±0.17	8.10±1.06	7.39±0.12	7.21±0.89	7.21±0.46	5.77±0.14
5	8.45±0.37	7.79±0.70	7.72±0.72	6.45±0.48	6.28±0.35	5.59±0.23	5.12±0.46
6	8.55±0.22	8.27±0.31	7.65±0.51	6.82±1.01	5.96±0.69	5.64±0.07	4.99±0.45
mean	8.42±0.30	7.93±0.53	7.86±0.80	6.68±0.81	6.39±0.79	6.09±0.75	5.39±0.39
LSD	0.38	0.76	1.12	1.00	1.18	0.97	0.60
%CV.	2.52	5.40	8.03	8.47	10.35	8.97	6.27

หมายเหตุ; Tr1= Talcum +sucrose peptone, **Tr2** = Talcum+skimmed milk, **Tr3** = Talcum+แป้งเปียก, **Tr4** = แป้งมัน+sucrose peptone, **Tr5** = แป้งมัน+ skimmed milk, **Tr6** = แป้งมัน+แป้งเปียก

สำหรับการทำเชื้อไรโซเบียมผงโดยวิธี Spray dry นั้นเมื่อพิจารณาโดยเฉลี่ยแล้วปริมาณการอยู่รอดของเชื้อไรโซเบียมที่ทำแห้งทุกกรรมวิธีมีน้อยกว่าการทำแห้งแบบ Freeze dry แต่อย่างไรก็ตามปริมาณการอยู่รอดก็ยังอยู่ในเกณฑ์สูง เมื่อเก็บเชื้อไว้นาน 30 วัน ปริมาณเชื้อไรโซเบียมหลังทำแห้งแล้วตรวจนับทันที พบว่าปริมาณการอยู่รอดในกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีปริมาณเชื้ออยู่ระหว่าง 7.45 ถึง 8.12 log no.of cell g^{-1} (ตาราง 25) เช่นเดียวกับการอยู่รอดของเชื้อไรโซเบียมเมื่อเก็บไว้นาน 30 และ 60 วัน โดยมีค่าเฉลี่ย 7.26 ถึง 7.98 และ 6.60 ถึง 7.84 log no.of cell g^{-1} ตามลำดับ หลังจากนั้นปริมาณเซลล์ลดลงเล็กน้อยเมื่อเก็บไว้นาน 90 วัน ยกเว้นเชื้อไรโซเบียมที่มีทัลคัมเป็นวัสดุพาหะเคลือบด้วย sucrose- peptone และเคลือบด้วย skimmed milk ที่ยังอยู่ในปริมาณสูงที่ 8.00 และ 7.28 log no. of cells/g ตามลำดับ ปริมาณการอยู่รอดของเชื้อไรโซเบียมเริ่มลดลงมากขึ้นเมื่อเก็บไว้นาน 150 วัน และลดลงมากที่สุดอยู่ในระดับ 3.21 ถึง 4.69 log no.of cell g^{-1}เมื่อเก็บเชื้อไว้นาน 180 วัน เมื่อพิจารณาข้อมูลโดยรวม พบว่า เชื้อที่เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone และ skimmed milk ใช้ทัลคัมเป็นวัสดุพาหะ และเชื้อที่เคลือบเซลล์ด้วยแป้งเปียก มีแป้งมันเป็นวัสดุพาหะจะพบปริมาณการมีชีวิตรอดของเชื้อดีที่สุด

เปรียบเทียบปริมาณการมีชีวิตของเชื้อระหว่างวิธี Freeze dry และ Spray dry ที่ 0 วัน พบว่าผงเชื้อที่ผลิตด้วยวิธี Freeze dry มีปริมาณเชื้อมากกว่าวิธี Spray dry (ตารางที่ 26) แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างชนิดของสารเคลือบเซลล์ อย่างไรก็ตามจากข้อมูลโดยรวมแล้วหากเก็บเชื้อในระยะเวลานาน พบปริมาณการมีชีวิตรอดของเชื้อ Rhizobium ที่ผลิตโดย

วิธี Freeze dry มากกว่าวิธี Spray dry และมีอัตราลดลงน้อยกว่า เช่นเดียวกับการผลิตเชื้อผสมตรึงไนโตรเจน ที่เมื่อเก็บในระยะเวลาที่นานขึ้นเชื้อจากวิธีการผลิตแบบ Spray dry จะถูกปนเปื้อนด้วยเชื้อรา ทำให้พบปริมาณของเชื้อไรโซเบียมลดลง

ตารางที่ 25 ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อ Rhizobium (log no. of cells g^{-1}) หลังจากการ Spray-dry ในระยะเวลา 0-180 วัน

Tr	Day						
	0	30	60	90	120	150	180
1	7.93±0.31	7.98±0.87	7.84±1.04	8.00±0.48	6.68±0.30	5.95±0.96	3.21±2.80
2	8.12±0.14	7.97±0.03	7.28±0.34	7.28±0.08	6.58±0.35	5.55±0.39	4.69±0.92
3	7.75±0.25	7.48±0.43	6.85±0.15	6.29±0.30	6.03±0.23	5.31±0.14	4.37±0.28
4	7.45±0.19	7.27±0.11	6.60±0.73	6.49±0.57	5.74±0.17	4.09±0.39	4.60±0.07
5	7.61±0.33	7.26±0.62	6.81±0.74	6.61±0.60	6.41±0.45	5.41±0.21	4.60±0.26
6	7.64±0.55	7.56±0.43	7.12±0.27	7.12±0.35	6.44±0.41	6.85±0.80	4.54±0.39
mean	7.75±0.35	7.58±0.52	7.09±0.67	6.97±0.70	6.31±0.44	5.53±0.57	4.32±1.15
LSD	0.57	0.89	1.11	0.77	0.59	1.01	2.18
%CV.	4.15	6.63	8.85	6.22	5.29	10.28	28.20

หมายเหตุ; Tr1= Talcum +sucrose peptone, **Tr2** = Talcum+skimmed milk, **Tr3** = Talcum+แป้งเปียก, **Tr4** = แป้งมัน+sucrose peptone, **Tr5** = แป้งมัน+ skimmed milk, **Tr6** = แป้งมัน+แป้งเปียก

ตารางที่ 26 เปรียบเทียบปริมาณเชื้อ Rhizobium (log no of cells g^{-1}) ระหว่างวิธี Freeze dry และ Spray dry ($P<0.05$) ที่ระยะเริ่มต้นการทดลอง (0 วัน)

สารเคลือบเซลล์	Freeze dry		Spray dry		ค่าเฉลี่ย
	Talcum	แป้งมัน	Talcum	แป้งมัน	
Sucrose peptone	8.32	8.84	7.99	7.48	8.16
Skimmed milk	8.38	8.54	8.13	7.69	8.18
แป้งเปียก	8.06	8.59	7.80	7.80	8.06
ค่าเฉลี่ย	8.45a		7.81b		8.13

CV % 1. วิธีการ = 4.39 2. วัสดุพาหะ = 3.99 3. สารเคลือบเซลล์ = 3.09

LSD 1. วิธีการ= 0.51 2. วัสดุพาหะ = 0.30 3. สารเคลือบเซลล์ = 0.22

เชื้อจุลินทรีย์ย่อยละลายโพแทสเซียม (Silicate bacteria)

จุลินทรีย์ย่อยละลายโพแทสเซียมเป็นแบคทีเรียอีกชนิดหนึ่งที่ได้นำมาทดลองผลิตเป็นเชื้อผงแห้งโดยวิธี Freeze dry และ Spray dry พบว่าปริมาณการอยู่รอดของเชื้อเป็นไปในทำนองเดียวกันกับเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น และการทำแห้งแบบ Freeze dry ทำให้เชื้อมีอัตราการอยู่รอดของเชื้อมากกว่า Spray dry ในการทำ Freeze dry พบว่าหลังจากทำ Freeze dry แล้วตรวจนับปริมาณเชื้อทันที เชื้อที่เคลือบเซลล์ด้วย sucrose peptone ในผงทัลคัม และเชื้อที่เคลือบด้วยแป้ง

เปียกในแป้งมันสำปะหลังมีอัตราการอยู่รอดสูงสุด อยู่ที่ 8.17 และ 8.31 log no. of cells g^{-1} ตามลำดับ รองลงมาได้แก่เชื้อที่เคลือบด้วย sucrose-peptone ในแป้งมันสำปะหลังที่มีอัตราการอยู่รอด 7.94 log no. of cells g^{-1} ปริมาณเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้มีอัตราการอยู่รอดใกล้เคียงกับการตรวจนับในช่วงแรกจนถึง 60 วัน ยกเว้นเชื้อที่เคลือบด้วยแป้งเปียกในแป้งมันสำปะหลังที่มีปริมาณเชื้อลดลงมากกว่ากรรมวิธีอื่นๆ หลังจากนั้นปริมาณเชื้อค่อยๆ ลดลงจนต่ำสุดที่ประมาณ 4.33 log no. of cells g^{-1} เมื่ออายุการเก็บรักษา 180 วัน แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ที่เคลือบด้วย sucrose-peptone และใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นวัสดุพาหะจะมีปริมาณการรอดชีวิตสูงเก็บไว้ได้นานกว่ากรรมวิธีอื่น โดยยังมีปริมาณเชื้อ 7.23 log no. of cells g^{-1} เมื่อเก็บไว้นาน 150 วัน (ตาราง 27)

ตารางที่ 27 ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อ Silicate bacteria (log no. of cells g^{-1}) หลังจากการ Freeze dry ในระยะเวลา 0-180 วัน

Tr	Day						
	0	30	60	90	120	150	180
1	8.17±0.69	7.90±0.83	7.96±0.39	6.77±0.67	6.48±0.65	6.30±0.43	4.65±0.28
2	7.43±0.29	7.46±0.12	7.28±0.23	6.97±0.08	6.02±0.54	5.56±0.42	5.52±0.45
3	7.42±0.28	6.38±0.21	7.23±0.34	6.83±0.23	6.65±0.28	6.48±0.41	4.89±0.40
4	7.94±0.32	8.17±0.29	7.98±0.25	7.44±0.77	7.52±0.45	7.23±0.60	4.41±0.01
5	6.94±0.22	7.13±0.25	7.18±0.34	7.01±0.60	6.53±0.53	5.88±0.74	4.81±0.08
6	8.31±0.32	7.67±0.14	6.41±0.01	5.89±0.50	5.67±0.84	5.52±0.13	4.33±0.38
mean	7.70±0.59	7.45±0.68	7.34±0.60	6.82±0.66	6.48±0.76	6.16±0.74	4.77±0.48
LSD	0.68	0.70	0.51	0.95	1.02	0.88	0.56
%CV.	4.99	5.26	3.90	7.83	8.86	8.0	6.59

หมายเหตุ; Tr1= Talcum +sucrose peptone, **Tr2** = Talcum+skimmed milk, **Tr3** = Talcum+แป้งเปียก, **Tr4** = แป้งมัน+sucrose peptone, **Tr5** = แป้งมัน+ skimmed milk, **Tr6** = แป้งมัน+แป้งเปียก

ปริมาณการอยู่รอดของเชื้อ Silicate bacteria จากการทำ Spray dry พบว่าเริ่มแรกปริมาณเชื้อมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยกรรมวิธีที่มีเชื้อสูงในระดับเดียวกัน ได้แก่เชื้อที่คลุกในผงทัลคัมและเคลือบเซลล์ด้วยแป้งเปียก เชื้อที่คลุกในแป้งมันสำปะหลังเคลือบเซลล์ด้วย skimmed milk และเคลือบเซลล์ด้วยแป้งเปียก ซึ่งมีปริมาณเซลล์ 7.88, 7.44 และ 7.48 log no. of cells g^{-1} ตามลำดับ และปริมาณเชื้ออยู่ในระดับใกล้เคียงระยะแรกจนถึงเมื่อเก็บไว้นาน 60 วัน ยกเว้นเชื้อในผงทัลคัมที่เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone ที่ส่วนมากอยู่รอดได้ในอัตรา 6.43 log no. of cells g^{-1}จนถึงอายุการเก็บรักษา 120 วัน (ตาราง 28)

เปรียบเทียบปริมาณเชื้อ Silicate bacteria ระหว่างวิธี Freeze dry และ Spray dry ที่ระยะเริ่มต้นการทดลอง (0 วัน) พบว่าทั้ง 2 วิธีไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่การเคลือบเซลล์ด้วยสารเคลือบเซลล์ที่ต่างกันจะพบปริมาณการรอดชีวิตของเชื้อแตกต่างกัน คือในวิธี Freeze dry การเคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone ใช้ทัลคัมเป็นวัสดุพาหะ และเคลือบเซลล์ด้วยแป้งเปียก

มีแป้งมันเป็นวัสดุพาหะจะพบปริมาณการรอดชีวิตของเชื้อดีกว่า แต่ในวิธี Spray dry กลับพบว่าการเคลือบเซลล์ด้วยแป้งเปียกใช้ทัลคัมเป็นวัสดุพาหะเป็นวิธีที่ดีที่สุด (ตารางที่ 29)

ตารางที่ 28 ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อ Silicate bacteria (log no. of cells g^{-1}) หลังจากการ Spray dry ในระยะเวลา 0-180 วัน

Tr	Day						
	0	30	60	90	120	150	180
1	6.26±0.14	6.23±0.11	6.85±0.37	7.22±0.31	6.43±0.06	5.79±0.15	4.98±0.81
2	6.77±0.41	7.27±1.12	6.66±0.54	5.74±0.45	5.62±0.41	5.29±0.36	4.98±0.36
3	7.88±0.29	6.83±0.99	6.07±0.87	5.23±0.81	4.86±0.58	4.75±0.40	5.53±0.11
4	7.39±0.14	6.95±0.05	6.60±0.33	6.63±0.02	4.33±0.21	5.53±0.13	5.56±0.17
5	7.44±0.19	7.29±0.03	6.89±0.01	6.69±0.01	5.35±0.36	5.34±0.36	5.06±0.85
6	7.48±0.34	7.24±0.22	6.45±0.21	5.75±0.46	5.71±0.44	5.21±0.20	5.45±0.31
mean	7.70±0.60	7.45±0.65	7.34±0.49	6.82±0.80	6.48±0.59	6.16±0.40	4.77±0.51
LSD	0.48	1.10	0.84	0.78	0.68	0.51	0.93
%CV.	4.99	5.26	3.90	7.83	8.86	8.0	6.59

หมายเหตุ; Tr1= Talcum +sucrose peptone, **Tr2** = Talcum+skimmed milk, **Tr3** = Talcum+แป้งเปียก, **Tr4** = แป้งมัน+sucrose peptone, **Tr5** = แป้งมัน+ skimmed milk, **Tr6** = แป้งมัน+แป้งเปียก

ตารางที่ 29 เปรียบเทียบปริมาณเชื้อ Silicate bacteria (log no of cells g^{-1}) ระหว่างวิธี Freez-dry และ Spray dry ($P<0.05$) ที่ระยะเริ่มต้นการทดลอง (0 วัน)

สารเคลือบเซลล์	Freeze dry		Spray dry		ค่าเฉลี่ย
	Talcum	แป้งมัน	Talcum	แป้งมัน	
Sucrose peptone	8.40	8.00	6.27	7.40	7.52b
Skimmed milk	7.49	6.97	6.90	7.48	7.21c
แป้งเปียก	7.48	8.40	7.94	7.56	7.84a
ค่าเฉลี่ย	7.79		7.26		7.52

CV % 1. วิธีการ = 2.96 2. วัสดุพาหะ = 3.94 3. สารเคลือบเซลล์ = 3.91

LSD 1. วิธีการ= 3.12 2. วัสดุพาหะ = 0.28 3. สารเคลือบเซลล์ = 0.25

เมื่อเก็บเชื้อในระยะเวลาที่นานขึ้น พบว่าการผลิตผงเชื้อด้วยวิธี Freeze dry เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone ในวัสดุพาหะแป้งมันสำปะหลังพบปริมาณเชื้อมากที่สุดแต่สำหรับการผลิตด้วยวิธี Spray dry การเคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone ใช้ทัลคัมเป็นวัสดุพาหะพบอัตราการรอดชีวิตของเชื้อดีที่สุด

จุลินทรีย์ย่อยละลายหินฟอสเฟต (Phosphate solubilizer)

จุลินทรีย์ย่อยละลายหินฟอสเฟตที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้เป็นเชื้อรา ซึ่งการขยายปริมาณเชื้อทำโดยการเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวที่ทำให้เชื้อราสร้างเส้นใยได้จำนวนมาก เมื่อนำเชื้อราที่

เพาะเลี้ยงได้มาผสมรวมกับวัสดุพาหะทั้งสองชนิด คือ ทัลคัม และ แป้งมันสำปะหลัง ปรากฏว่าเส้นใยเชื้อราทำให้วัสดุทั้งสองชนิดจับตัวกันมีลักษณะเหนียวเป็นก้อนทำให้ไม่สามารถนำไปผ่านขบวนการ Spray dry ได้ เพราะทำให้มีการอุดตันบริเวณหัวฉีด ดังนั้นในส่วนของเชื้อราย่อยละลายหินฟอสเฟตจึงดำเนินการทดลองในเฉพาะส่วนของวิธี Freeze dry เพียงอย่างเดียวผลการทดลองพบว่าโดยเฉลี่ยการใช้ทัลคัมเป็นวัสดุพาหะทำให้มีปริมาณการเหลือรอดของเชื้อจุลินทรีย์ในปริมาณสูงกว่าการใช้แป้งมันสำปะหลัง และจากการใช้สารเคลือบเซลล์ที่แตกต่างกัน 3 ชนิด สารละลาย skimmed milk เป็นสารเคลือบที่ทำให้เชื้อราอยู่รอดได้มากที่สุด และมีปริมาณในระดับ 7.23 และ 6.50 log no of cells g^{-1} ในระยะเวลา 90 ถึง 120 วันตามลำดับ(ตารางที่ 30) แต่อย่างไรก็ตามเชื้อราชนิดนี้สามารถผลิตเป็นหัวเชื้อใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพดีอยู่แล้วในการผลิตปุ๋ยอินทรีย์-ชีวภาพ (สมพร และ คณะ 2549)

ตารางที่ 30 ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อ Phosphate solubilizer (log no. of cells g^{-1}) หลังจากการ Freeze dry ในระยะเวลา 0-180 วัน

Tr	Day						
	0	30	60	90	120	150	180
1	6.76±0.54	7.08±0.61	7.27±0.42	6.65±0.58	6.31±0.51	5.56±0.41	4.65±0.28
2	7.85±0.44	7.61±0.33	7.56±0.64	7.23±0.56	6.50±1.16	5.80±1.02	5.35±0.73
3	7.16±0.48	6.86±0.51	7.11±0.54	6.64±0.45	5.86±0.24	5.57±1.17	4.27±0.25
4	6.31±0.79	6.11±0.92	6.24±1.55	5.71±1.40	5.77±1.04	5.64±1.39	5.12±0.88
5	7.37±1.21	7.61±0.79	7.44±0.89	6.75±0.69	5.94±0.32	5.94±0.72	5.26±0.44
6	6.82±0.73	6.74±0.16	6.57±0.22	6.41±0.39	6.36±0.18	5.69±0.97	5.11±0.92
mean	7.05±0.80	7.00±0.74	7.03±0.85	6.56±0.79	6.12±0.65	5.70±0.85	4.96±0.67
LSD	1.38	1.19	1.56	1.32	1.36	1.68	1.09
%CV.	10.73	9.32	12.20	11.05	12.22	16.17	12.11

หมายเหตุ; Tr1= Talcum +sucrose peptone, **Tr2** = Talcum+skimmed milk, **Tr3** = Talcum+แป้งเปียก, **Tr4** = แป้งมัน+sucrose peptone, **Tr5** = แป้งมัน+ skimmed milk, **Tr6** = แป้งมัน+แป้งเปียก

การผลิตเชื้อผงในงานวิจัยนี้แตกต่างจากงานวิจัยอื่นตรงที่นำหัวเชื้อจุลินทรีย์เข้มข้นที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวผสมกับวัสดุพาหะ ในอัตราส่วนที่เหมาะสมก่อนนำไปทำให้แห้งเพื่อให้เป็นหัวเชื้อที่สามารถใช้ประโยชน์ได้ทันที โดยแต่ละครั้งต้องทำในปริมาณมาก ไม่เหมือนกับการเก็บเชื้อบริสุทธิ์เพื่อใช้เป็นเชื้อพันธุ์ที่ต้องทำในหลอดขนาดเล็ก ไม่มีวัสดุพาหะ แต่อย่างไรก็ตามการทำให้เชื้อแห้งจำเป็นต้องมีการเคลือบเซลล์ด้วยสารเคลือบเซลล์บางชนิด เพื่อให้เซลล์สามารถทนต่อการขาดน้ำได้ สารประกอบที่ใช้ส่วนใหญ่เป็นโพลีแซคคาไรด์ หรือโพลีเปปไทด์ เพราะสารประกอบทั้ง 2 ชนิดนี้ ช่วยป้องกันการเสียสภาพของโปรตีนในเซลล์โดยใช้ H-bond จับกับโปรตีนแทนที่น้ำ (Leslie *et al.*,1995) สารประกอบเหล่านี้ได้แก่ non-fat milk solid, serum, trehalose, glycerol, betaine, adonitol, sucrose, glucose, lactose และ โพลิเมอร์ต่างๆ เช่น dextran และ polyethyleneglycon (Hubalek,2003) แต่ประสิทธิภาพการป้องกันเซลล์นั้นขึ้นอยู่กับความ

เหมาะสมระหว่างชนิดของสารประกอบ วิธีการทำแห้ง และชนิดของจุลินทรีย์ (Carvalho *et al.*,2004) เห็นได้จากผลการทดลองการทำแห้งของจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนที่พบว่าการทำแห้งแบบ freeze dry โดยใช้วัสดุพาหะเป็นทัลคัมการเคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone และ skimmed milk ช่วยทำให้จุลินทรีย์มีอัตรารอดสูงกว่าเคลือบเซลล์ด้วยแป้งเปียก แต่ถ้าใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นวัสดุพาหะต้องเคลือบเซลล์ด้วยแป้งเปียกจึงจะทำให้หัวเชื้อที่ผลิตได้มีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่าสารเคลือบเซลล์ชนิดอื่น ส่วนเชื้อไรโซเบียมนั้นสารเคลือบเซลล์ทั้ง 3 ชนิด ไม่ทำให้อัตราการรอดชีวิตแตกต่างกัน สำหรับ silicate bacteria พบว่าการเคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone ให้ผลดีทั้งในวัสดุพาหะที่เป็นทัลคัมและแป้งมันสำปะหลังแต่ในจุลินทรีย์ย่อยหินฟอสเฟตซึ่งเป็นเชื้อราสารละลาย skimmed milk เป็นสารเคลือบเซลล์ที่ทำให้เชื้ออยู่รอดมากที่สุด ผลที่ได้จากการวิจัยนี้มีผลไปในทิศทางเดียวกันกับงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเชื้อแห้งอื่นๆ เช่น Cavalho *et al.(*2004) รายงานว่าการอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์จุลินทรีย์และสารป้องกันเซลล์ โดยพบว่าการใช้น้ำตาล mannose เคลือบเซลล์ *Lactobacillus buigarieus* ในการทำแห้งโดยวิธี freeze dry ทำให้เชื้อชนิดนี้รอดชีวิตมากกว่า fructose, lactose หรือ glucose เช่นเดียวกับการรายงานของ Streeter *et al.(*2003) ที่พบว่าการใช้ trehalose ทำให้เชื้อ *Bradyrhizobium japonicum* อยู่รอดได้มากขึ้นเมื่อทำให้เป็นเชื้อแห้ง แต่สำหรับ Abadias *et al.(*2001) กลับพบว่าการใช้ส่วนผสมของ skimmed milk กับ carbohydrate sugars ทำให้เชื้อ *Candida sake* รอดชีวิต 45-85% เช่นเดียวกับ Desmond *et al.(*2002) ที่พบว่า *Lactobacillus paracasei* มีชีวิตรอดเพิ่มขึ้น 1000 เท่า เมื่อใช้ Gum acacia 10 % ผสมลงใน skimmed milk เข้มข้น 10% นอกจากสารประกอบเหล่านี้จะช่วยป้องกันเซลล์จากการทำแห้งให้รอดชีวิตมากขึ้นแล้วยังช่วยรักษาเซลล์ในระหว่างการเก็บรักษาด้วย

ในเชื้อ *Beijerinkia spp.* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจน ชนิดหนึ่งนั้น Boza *et al.* (2004) รายงานว่าการใช้ glucose เป็นสารเคลือบเซลล์ที่เหมาะสมในการทำ spray dry เพราะมีเชื้อจุลินทรีย์เหลือรอดมากที่สุด โดยมีปริมาณเชื้อลดลงจาก 10^9 cfu/g เหลือ 10^8 cfu/g สอดคล้องกับผลที่ได้จากการทำ Spray dry ของจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจน ซึ่งมี Beijerinkia รวมอยู่ในการศึกษาครั้งนี้ด้วย ที่ปริมาณเซลล์ลดลงจาก10^8 cfu/g เหลือ 10^7 cfu/g หรือลดลง 10 เท่าของอัตราเริ่มต้นเช่นเดียวกัน ส่วนจุลินทรีย์ย่อยหินฟอสเฟตซึ่งเป็นเชื้อราพบว่า การทำแห้งโดยมี skimmed milk เป็นสารเคลือบเซลล์ ใช้ทัลคัมเป็นวัสดุพาหะ ทำให้จุลินทรีย์ชนิดนี้อยู่รอดได้ในอัตราประมาณ 10^7 cfu/gใกล้เคียงกับรายงานของ Abd-alla and Omar (2001) ที่พบว่า *Asperjillus niger* ที่ใช้พีทเป็นวัสดุพาหะในการผลิตหัวเชื้อมีปริมาณอยู่รอดประมาณ10^6 - 10^7 cfu/g แต่จะลดลงเป็น 10^4 – 10^2 cfu/g เมื่อเก็บไว้นาน 2 ถึง 3 เดือน ประสิทธิภาพการทำแห้งของเชื้อรานั้น Larena *et al.* (2003) พบว่าการทำ freeze dry กับเชื้อ *Pennicillium oxalicum* ทำให้เชื้อรามีอัตรารอดถึง 100% ในขณะที่ทำ Spray dry มีอัตรารอดเพียง 20 % เท่านั้น ทั้งนี้อาจเป็นเพราะความร้อนที่ใช้ในการทำแห้งสูงเกินไป แต่เชื้อราที่ทำแห้งโดยวิธี freeze dry นั้น มีอัตราการรอดลดลงถึง 50% เมื่อเก็บไว้

นาน 30 วัน ในขณะที่ Silicate bacteria ที่ทำให้แห้งโดยวิธี freeze dry และ spray dry ได้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีแนวโน้มว่าการทำแห้งโดยวิธี freeze dry ทำให้แบคทีเรียมีชีวิตรอดหลังจากการทำแห้งมากกว่า spray dry และสารเคลือบเซลล์ที่เหมาะสมคือ sucrose-peptone โดยสามารถใช้ทัลคัมและแป้งมันสำปะหลังเป็นวัสดุพาหะได้ทั้ง 2 อย่าง ถึงแม้ว่า freeze dry เป็นที่นิยมในการทำเชื้อผงแห้ง แต่ก็ยังมีความเสียหายต่อเซลล์ได้ โดยเฉพาะวิธีการแช่แข็ง และระยะเวลาการแช่แข็ง ขึ้นกับเครื่องมือที่ใช้ทำแห้ง ซึ่งการแช่แข็งนั้นมี 2 วิธี คือ ทำใน freeze dry chamber หรือแช่แข็งก่อนแล้วจึงนำเข้าเครื่องทำแห้ง (Morgan *et al.*,2006)

จะเห็นได้ว่าหัวเชื้อที่ผลิตได้จากการวิจัยครั้งนี้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของปริมาณเชื้อในปุ๋ยชีวภาพ ตามประกาศกระทรวงเกษตร และสหกรณ์ (2552) ที่ระบุให้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม มีไม่น้อยกว่า 10^6 เซลล์ต่อกรัม ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ไม่น้อยกว่า 10^7 โคโลนีหรือเซลล์ต่อกรัม ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตที่เป็นเชื้อรา มีไม่น้อยกว่า 10^7 โคโลนีต่อกรัม ในปริมาณจุลินทรีย์ดังกล่าวสามารถคลาดเคลื่อนได้ร้อยละ 10 แต่อย่างไรก็ตามมาตรฐานโดยทั่วไปโดยเฉพาะหัวเชื้อไรโซเบียมที่ผลิตขึ้นใหม่ต้องมีปริมาณ 5×10^7 ถึง 1×10^9 เซลล์ต่อกรัม ขึ้นอยู่กับข้อกำหนดของแต่ละประเทศ(Lupwayi *et al.*, 2000)

การมีชีวิตอยู่รอดและประสิทธิภาพของจุลินทรีย์

3.2 ประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ผงต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของปุ๋ยอินทรีย์

ผลที่ได้จากการเปรียบเทียบวัสดุพาหะ สารเคลือบเซลล์ และวิธีการทำเชื้อผงแห้ง มีความแตกต่างกันออกไป ในเชื้อจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนพบว่าการใช้ทัลคัมเป็นวัสดุพาหะ เคลือบเซลล์จุลินทรีย์ด้วย sucrose-peptone และทำแห้งด้วยวิธี Spray dry ทำให้ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้มีมากกว่าวิธีอื่น (ตารางที่ 22) ส่วนจุลินทรีย์ละลายโพแทสเซียมที่เป็นแบคทีเรียเหมือนกันพบว่าการใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นวัสดุพาหะ เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone และทำแห้งด้วยวิธี Freeze dry (ตารางที่ 27)เหมาะสมที่สุด สำหรับจุลินทรีย์ย่อยหินฟอสเฟตซึ่งเป็นเชื้อรา ปรากฏว่าการใช้ทัลคัมเป็นวัสดุพาหะ เคลือบเซลล์ด้วย skimmed milk และทำแห้งด้วยวิธี Freeze dry (ตารางที่ 30) เหมาะสมสำหรับการทำเชื้อผง ดังนั้นจึงใช้วิธีการดังกล่าวทำหัวเชื้อผงเพื่อศึกษาประสิทธิภาพในปุ๋ยอินทรีย์ที่มีส่วนประกอบดังนี้คือ N 1.32%, P_2O_5 0.58%, K_2O 0.50%, OM 37.91%, OC 21.99%, EC 1.01 ds/m และ pH 6.91

3.2.1 ประสิทธิภาพจุลินทรีย์เชื้อผสมตรึงไนโตรเจน (*Azospirillum*, *Azotobacter* และ *Beijerinckia*) ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของปุ๋ยอินทรีย์

จากการปรับปริมาณหัวเชื้อให้มีจุลินทรีย์แตกต่างกัน 3 ระดับ คือ ประมาณ 4, 5 และ 6 cells g^{-1} จากผงเชื้อที่ผลิตได้ ใส่ลงในปุ๋ยอินทรีย์ ใส่กระบะพลาสติกมีฝาปิด เก็บไว้อุณหภูมิห้อง ปรับความชื้นให้อยู่ที่ 60 % ทุกสัปดาห์ เก็บตัวอย่างตรวจวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน และการเปลี่ยนแปลงค่า pH เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่าปริมาณไนโตรเจนในทุกตำรับการทดลองเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจาก 1.32 % เป็น 1.38 ถึง 1.83% เมื่อบ่มไว้นาน 7 วัน และปริมาณไนโตรเจนอยู่ในปริมาณใกล้เคียงกันนี้จนถึงสัปดาห์ที่ 7 และลดลงเล็กน้อยในสัปดาห์ที่ 8 แต่อย่างไรก็ตามมีแนวโน้มว่าการใส่หัวเชื้อในอัตรา 1 เปอร์เซ็นต์ หรือให้มีเชื้อจุลินทรีย์ผสมตรึงไนโตรเจนประมาณ 5 log no. of cells g^{-1} ทำให้มีไนโตรเจนเพิ่มขึ้นตั้งแต่ 1.83 ถึง 1.75 % หลังจากบ่มไว้นาน 7 สัปดาห์ แต่หลังจากนั้นลดลงเหลือ 1.41 % (ตารางที่ 31) ซึ่งอาจเกิดจากการสูญเสียโดยกระบวนการ Denitrification ก็ได้ สำหรับ pH ของปุ๋ยหลังจากบ่มทิ้งไว้มีการเปลี่ยนแปลงไม่มากนัก โดยมีค่าระหว่างประมาณ 7.60-8.19 (ตารางที่ 32)

ตารางที่ 31 เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนในปุ๋ยหมักหลังการคลุกหัวเชื้อผสมตรึงไนโตรเจน (*Azotobacter*, *Azospirillum* และ*Beijerinckia*)

Tr	สัปดาห์							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	1.77±0.39	1.52±0.26	1.56±0.13	1.71±0.37	1.68±0.38	1.56±0.26	1.54±0.22	1.23±0.21
2	1.69±0.18	1.57±0.22	1.53±0.19	1.69±0.29	1.60±0.29	1.77±0.31	1.66±0.14	1.32±0.28
3*	1.83±0.33	1.78±0.16	1.63±0.22	1.81±0.10	1.71±0.18	1.61±0.07	1.75±0.29	1.41±0.04
4	1.38±0.06	1.43±0.05	1.77±0.10	1.54±0.11	1.56±0.04	1.58±0.17	1.56±0.12	1.29±0.11
mean	1.67±0.29	1.57±0.21	1.62±0.17	1.69±0.23	1.64±0.23	1.63±0.21	1.63±0.19	1.32±0.17
LSD	0.57	0.41	0.34	0.45	0.48	0.38	0.37	0.32
%CV	17.10	12.74	10.48	13.46	14.58	11.51	11.39	12.29

หมายเหตุ :Tr1 = control, **Tr2** = ปุ๋ยหมัก+ เชื้อผสมจากวิธีการ spray dry ที่ระดับ 10^4 cells g^{-1}, **Tr3** = ปุ๋ยหมัก+ เชื้อผสมจากวิธีการ spray dry ที่ระดับ 10^5 cells g^{-1}, **Tr4 =** ปุ๋ยหมัก+ เชื้อผสมจากวิธีการ spray dry ที่ระดับ 10^6 cells g^{-1}

ตารางที่ 32 ค่า pH ของปุ๋ยหมักหลังการคลุกหัวเชื้อจุลินทรีย์ผสมตรึงไนโตรเจน เก็บตัวอย่างทุก 7 วัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

Tr	สัปดาห์							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	8.06	7.65	8.03	8.09	8.02	8.08	8.18	7.90
2	8.03	7.70	8.01	8.19	8.00	8.07	8.13	7.94
3	7.93	7.60	7.84	7.99	7.86	7.90	7.92	7.79
4	7.79	7.91	8.08	8.16	7.96	7.90	7.95	7.81

หมายเหตุ :Tr1 = control, **Tr2** = ปุ๋ยหมัก+ เชื้อผสมจากวิธีการ spray dry ที่ระดับ 10^4 cells g^{-1}, **Tr3** = ปุ๋ยหมัก+ เชื้อผสมจากวิธีการ spray dry ที่ระดับ 10^5 cells g^{-1}, **Tr4 =** ปุ๋ยหมัก+ เชื้อผสมจากวิธีการ spray dry ที่ระดับ 10^6 cells g^{-1}

ตารางที่ 33 ปริมาณเชื้อผสมตรึงไนโตรเจน (log no. of cell g^{-1}) หลังการคลุกหัวเชื้อจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนผสมกับปุ๋ยหมัก เก็บตัวอย่างทุก 7 วัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

Tr	สัปดาห์							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	5.97±0.21	6.18±0.31	6.37±0.16	5.93±0.11	6.62±0.08	6.27±0.08	6.53±0.19	6.90±0.13
2	7.46±0.60	6.54±0.26	6.33±0.44	6.56±0.33	6.68±0.23	6.70±0.20	5.64±1.30	6.88±0.28
3	5.68±0.41	6.73±0.22	5.98±1.05	6.04±0.90	7.13±0.14	7.12±0.23	7.04±0.15	7.04±0.24
4	7.22±0.48	7.22±0.35	7.09±0.19	8.06±0.07	8.03±0.11	7.56±0.09	7.30±0.20	7.81±0.05
mean	6.58±0.89	6.67±0.46	6.44±0.65	6.65±0.98	7.11±0.60	6.92±0.52	6.63±0.88	7.16±0.43
LSD	0.94	0.53	0.95	1.05	0.26	0.33	1.23	0.46
%CV	7.19	3.98	7.41	7.92	1.85	2.29	9.27	3.21

หมายเหตุ :Tr1 = control, **Tr2** = ปุ๋ยหมัก+ เชื้อผสมจากวิธีการ spray dry ที่ระดับ 10^4 cells g^{-1}, **Tr3** = ปุ๋ยหมัก+ เชื้อผสมจากวิธีการ spray dry ที่ระดับ 10^5 cells g^{-1}, **Tr4 =** ปุ๋ยหมัก+ เชื้อผสมจากวิธีการ spray dry ที่ระดับ 10^6 cells g^{-1}

ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนผสมกับปุ๋ยหมักที่ 0วัน พบเชื้ออยู่ที่ 5-7 log no. of cell g^{-1} (ตารางที่ 33) และมีแนวโน้มคงที่ตลอดการทดลองอยู่ที่ 6- 7 log no. of cell g^{-1} อย่างไรก็ตาม ปริมาณเชื้อที่พบในตำรับการทดลองคลุกเชื้อผสมตรึงไนโตรเจนกับปุ๋ยอินทรีย์ในอัตรา 10^5 cells g^{-1} และ10^6 cells g^{-1} มีปริมาณเชื้อมากกว่าในตำรับควบคุมที่ไม่ใส่เชื้อ และจะพบในปริมาณมากตามอัตราการใส่ที่เพิ่มมากขึ้นในขณะที่การผสมผงเชื้อในอัตรา 10^4 cells g^{-1} พบเชื้อในปริมาณใกล้เคียงกับตำรับควบคุม

3.2.2 ประสิทธิภาพหัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยละลายโพแทสเซียม (Silicate bacteria) ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติหัวเชื้อของปุ๋ยอินทรีย์

จากการใช้หัวเชื้อที่ผลิตโดยวิธี Freeze dry มีแป้งมันสำปะหลังเป็นวัสดุพาหะและเคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone ในอัตราที่ให้มีจำนวนเซลล์ของเชื้อย่อยละลายโพแทสเซียม ประมาณ 10^4, 10^5 และ 10^6 cells g^{-1} คลุกผสมลงในปุ๋ยหมักที่มีแร่เฟลด์สปาร์ซึ่งมีปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมดเท่ากับ 6.75% ในอัตรา 5, 10 และ 20% โดยน้ำหนัก หมักรวมกัน ทำการเก็บตัวอย่างส่วนผสมดังกล่าววิเคราะห์สกัดหาโพแทสเซียมทุกสัปดาห์เป็นเวลานาน 8 สัปดาห์ พบว่าปริมาณโพแทสเซียมมีปริมาณเกือบไม่แตกต่างกันในทุกกรรมวิธีที่ใช้ในการทดลองตั้งแต่สัปดาห์แรกจนถึงสัปดาห์สุดท้ายโดยมีปริมาณประมาณ 0.2% แสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์ที่ผลิตได้ชนิดนี้เพียงอย่างเดียวมีประสิทธิภาพยังไม่มากพอในการช่วยปลดปล่อยโพแทสเซียม (ตาราง 35) แต่เมื่อใช้ร่วมกับจุลินทรีย์ในกลุ่มจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนอิสระและจุ ลินทรีย์ย่อยหินฟอสเฟตแล้วมีแนวโน้มทำให้โพแทสเซียมเพิ่มมากขึ้น (ตาราง 40) ปริมาณเชื้อย่อยละลายโพแทสเซียมที่พบในปุ๋ยหมักมีปริมาณใกล้เคียง ยกเว้นในตำรับการทดลองที่ 5 (ปุ๋ยหมัก+หัวเชื้อจากการ freeze dry 10^4 cell g^{-1}ผงแป้ง+แร่เฟลด์สปาร์ 10%) ที่พบปริมาณเชื้อน้อยที่สุด (ตารางที่ 34)

3.2.3 ประสิทธิภาพหัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยหินฟอสเฟตต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของปุ๋ยอินทรีย์

หัวเชื้อผงของจุลินทรีย์ย่อยหินฟอสเฟตชนิดเชื้อราที่ใช้ทัลคัมเป็นวัสดุพาหะและเคลือบเซลล์ด้วย skimmed milk ทำให้แห้งแบบ Freeze dry เมื่อผสมหัวเชื้ออัตราที่มีเชื้ออยู่ 10^4, 10^5 และ 10^6 cells g^{-1} และในปุ๋ยอินทรีย์ที่มีหินฟอสเฟตที่มีฟอสฟอรัสทั้งหมด 8.71% อัตรา 5, 10 และ 20% บ่มให้มีความชื้น 60% นาน 8 สัปดาห์ ในระหว่างการบ่ม เก็บตัวอย่างวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์(available P) เป็นระยะทุกสัปดาห์ พบว่าในทุกระยะของการบ่มปุ๋ยปริมาณของฟอสฟอรัสมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยฟอสฟอรัสปลดปล่อยออกมามากในช่วง 1 ถึง 2 สัปดาห์ หลังจากนั้นมีแนวโน้มลดลง ทั้งนี้อาจเกิดจากกระบวนการ immobilization ของจุลินทรีย์ที่อยู่ในปุ๋ยอินทรีย์ เพราะปุ๋ยอินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองไม่ได้มีการทำ

ให้ปลอดเชื้อ และเป็นที่น่าสังเกตว่าการเพิ่มขึ้นฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์เพิ่มขึ้นตามปริมาณของหินฟอสเฟตที่ใส่ลงไปในปุ๋ยอินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง แต่อย่างไรก็ตามผลการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ทุกระยะตลอดการทดลองมีแนวโน้มว่าการใส่หัวเชื้อให้มีประมาณเชื้อย่อยหินฟอสเฟตในอัตรา 10^5 cells g^{-1} และใส่หินฟอสเฟตในอัตรา 20% พบมีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์มากที่สุด (ตารางที่ 37)

ปริมาณเชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟต (Phosphate solubilizer) หลังการคลุกหัวเชื้อจุลินทรีย์ผสมกับปุ๋ยหมัก พบว่าในตำรับการทดลองที่มีการใส่หัวเชื้อมีปริมาณเชื้อมากกว่าในตำรับควบคุม (ตารางที่ 36) เช่นเดียวกับเชื้อผสมตรึงไนโตรเจนในปุ๋ยหมัก และแตกต่างจากปริมาณเชื้อย่อยละลายโพแทสเซียมที่ปริมาณเชื้อในตำรับควบคุมกับตำรับที่มีการใส่หัวเชื้อมีปริมาณเชื้อใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 34 ปริมาณเชื้อย่อยละลายโพแทสเซียม (Silicate bacteria) (log no of cell g^{-1}) หลังการคลุกหัวเชื้อจุลินทรีย์ผสมกับปุ๋ยหมัก เก็บตัวอย่างทุกๆ 7วัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

Tr	สัปดาห์							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	6.80±0.30	6.92±0.08	6.23±0.10	6.09±0.09	6.08±0.34	6.53±0.52	6.28±0.35	6.13±0.04
2	6.49±0.14	6.92±0.07	6.17±0.04	6.15±0.04	6.27±0.09	6.69±0.21	6.40±0.28	6.66±0.83
3	6.41±0.09	6.84±0.12	6.04±0.38	6.11±0.12	5.98±0.27	6.10±0.30	6.13±0.15	6.55±0.28
4	6.76±0.09	8.26±0.76	6.81±0.53	6.19±0.29	6.74±0.41	6.48±0.35	6.59±0.07	6.58±0.04
5	4.47±3.87	8.70±ND	6.42±0.11	5.35±0.56	6.05±0.53	6.59±0.09	6.48±0.19	3.98±3.45
6	6.59±0.20	8.70±ND	6.55±0.15	5.63±0.29	6.05±0.47	6.71±0.04	6.62±0.04	6.15±0.41
7	6.72±0.08	7.04±0.05	6.23±0.11	6.68±0.14	5.83±0.67	6.56±0.48	6.61±0.16	6.64±0.16
8	6.56±0.11	6.80±0.20	6.42±0.6	6.38±0.14	6.26±0.23	6.33±0.13	6.50±0.28	6.77±0.08
9	6.43±0.18	6.67±0.42	6.47±0.29	6.73±0.23	6.29±0.36	6.16±0.50	6.63±0.26	6.47±0.15
10	7.14±0.40	7.06±0.06	7.04±0.23	6.33±0.31	3.99±1.03	6.76±0.56	6.73±0.38	6.55±0.60
11	7.17±0.07	7.17±0.28	7.06±0.22	6.65±0.57	5.72±048	7.09±0.36	6.99±0.02	7.16±0.24
12	7.29±0.90	6.87±0.26	7.17±0.27	6.43±0.19	5.60±0.56	6.81±0.26	6.96±0.24	6.51±0.29
13	7.99±0.04	7.64±0.11	7.31±0.04	7.07±0.50	7.44±0.59	7.58±0.23	7.36±0.32	7.33±0.34
14	8.03±0.26	7.47±0.32	7.02±0.33	6.81±0.29	7.45±0.19	7.39±0.19	7.45±0.38	7.26±0.12
15	7.70±0.14	7.38±0.26	7.14±0.12	6.54±0.17	6.88±0.43	6.92±0.23	7.22±0.18	7.14±0.09
mean	6.84±1.18	7.36±0.70	6.67±0.47	6.34±0.50	6.18±0.90	6.71±0.49	6.73±0.43	6.52±1.09
LSD	1.70	0.48	0.42	0.48	0.81	0.56	0.42	1.58
%CV	14.84	3.87	3.76	4.55	7.87	5.02	3.76	14.53

หมายเหตุ : Tr1:ปุ๋ยหมักCONTROL+แร่เฟลด์สปาร์ 5%, Tr2 : ปุ๋ยหมักCONTROL+แร่เฟลด์สปาร์ 10% Tr 3 : ปุ๋ยหมักCONTROL+แร่เฟลด์สปาร์ 20%

Tr 4 : ปุ๋ยหมัก+หัวเชื้อจากการ freeze dry 10^4 cell g^{-1}ผงแป้ง+แร่เฟลด์สปาร์ 5% Tr 5 : ปุ๋ยหมัก+หัวเชื้อจากการ freeze dry 10^4 cell g^{-1}ผงแป้ง+แร่เฟลด์สปาร์ 10%

Tr 6 : ปุ๋ยหมัก+หัวเชื้อจากการ freeze dry 10^4 cell g^{-1}ผงแป้ง+แร่เฟลด์สปาร์ 20% Tr 7 : ปุ๋ยหมัก+หัวเชื้อจากการ freeze dry 10^5 cell g^{-1}ผงแป้ง+แร่เฟลด์สปาร์ 5%

Tr 8 : ปุ๋ยหมัก+หัวเชื้อจากการ freeze dry 10^5 cell g^{-1}ผงแป้ง+แร่เฟลด์สปาร์ 10% Tr 9 : ปุ๋ยหมัก+หัวเชื้อจากการ freeze dry 10^5 cell g^{-1}ผงแป้ง+แร่เฟลด์สปาร์ 20%

Tr 10 : ปุ๋ยหมัก+หัวเชื้อจากการ freeze dry 10^6 cell g^{-1}ผงแป้ง+แร่เฟลด์สปาร์ 5% Tr 11: ปุ๋ยหมัก+หัวเชื้อจากการ freeze dry 10^6 cell g^{-1}ผงแป้ง+แร่เฟลด์สปาร์ 10%

Tr 12: ปุ๋ยหมัก+หัวเชื้อจากการ freeze dry 10^6 cell g^{-1}ผงแป้ง+แร่เฟลด์สปาร์ 20% Tr13 : ปุ๋ยหมัก+หัวเชื้อจากการ freeze dry 10^7 cell g^{-1}ผงแป้ง+แร่เฟลด์สปาร์ 5%

Tr 14: ปุ๋ยหมัก+หัวเชื้อจากการ freeze dry 10^7 cell g^{-1}ผงแป้ง+แร่เฟลด์สปาร์ 10% Tr 15: ปุ๋ยหมัก+หัวเชื้อจากการ freeze dry 10^7 cell g^{-1}ผงแป้ง+แร่เฟลด์สปาร์ 20%

ตารางที่ 35 เปอร์เซ็นต์โพแทสเซียม(Extractable K)ในปุ๋ยหมักหลังจากใส่หัวเชื้อ Silicate bacteria

Tr	สัปดาห์							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	0.27±0.01	0.27±0.01	0.23±ND	0.24±0.04	0.26±0.01	0.24±0.02	0.24±0.01	0.23±0.02
2	0.25±ND	0.26±ND	0.22±ND	0.21±ND	0.25±ND	0.24±0.01	0.24±0.01	0.22±0.01
3	0.23±ND	0.23±0.01	0.20±0.01	0.19±0.01	0.22±0.01	0.21±0.01	0.21±ND	0.18±0.02
4	0.27±0.01	0.28±0.02	0.22±0.01	0.26±0.04	0.23±0.04	0.25±0.01	0.24±0.01	0.23±0.01
5	0.26±0.03	0.25±0.03	0.21±0.03	0.23±0.07	0.24±0.03	0.24±0.02	0.24±0.03	0.23±0.03
6	0.23±0.01	0.24±ND	0.19±0.01	0.19±0.01	0.21±0.01	0.20±.01	0.20±0.01	0.20±0.01
7	0.27±0.01	0.27±0.01	0.22±0.01	0.21±0.01	0.26±0.01	0.26±0.01	0.25±0.01	0.23±0.01
8	0.26±0.01	0.27±0.01	0.23±0.01	0.20±ND	0.25±0.01	0.24±0.01	0.24±0.01	0.21±ND
9	0.24±0.01	0.24±0.02	0.22±0.01	0.19±0.01	0.23±0.01	0.23±0.01	0.22±0.01	0.20±0.01
10	0.26±0.01	0.27±0.02	0.23±0.01	0.20±0.01	0.26±0.01	0.24±ND	0.25±0.01	0.23±0.01
11	0.23±0.01	0.24±0.01	0.21±0.01	0.19±ND	0.23±0.01	0.22±0.01	0.23±0.01	0.21±ND
12	0.23±0.01	0.23±0.01	0.19±0..00	0.18±0.01	0.21±0.01	0.21±ND	0.21±0.01	0.20±0.01
13	0.25±0.01	0.23±0.06	0.22±0.01	0.20±0.01	0.23±0.01	0.20±0.06	0.20±0.06	0.17±0.10
14	0.18±0.08	0.24±0.02	0.17±0.05	0.16±0.06	0.17±0.06	0.21±0.02	0.21±0.01	0.19±0.01
15	0.22±0.02	0.23±ND	0.20±0.01	0.18±0.01	0.20±0.01	0.20±0.01	0.20±0.02	0.19±0.01
mean	0.24±0.03	0.25±0.02	0.21±0.02	0.20±0.03	0.23±0.03	0.23±0.02	0.22±0.02	0.21±0.03
LSD	0.04	0.03	0.02	0.05	0.03	0.03	0.03	0.04
%CV	10.14	7.65	8.08	14.35	8.94	7.38	8.36	13.07

หมายเหตุ : Tr1:ปุ๋ยหมักCONTROL+แร่เฟลด์สปาร์ 5%, Tr2 : ปุ๋ยหมักCONTROL+แร่เฟลด์สปาร์ 10% Tr 3 : ปุ๋ยหมักCONTROL+แร่เฟลด์สปาร์ 20%

Tr 4 : ปุ๋ยหมัก+หัวเชื้อจากการ freeze dry 10^4 cell g^{-1}ผงแป้ง+แร่เฟลด์สปาร์ 5% Tr 5 : ปุ๋ยหมัก+หัวเชื้อจากการ freeze dry 10^4 cell g^{-1}ผงแป้ง+แร่เฟลด์สปาร์ 10%

Tr 6 : ปุ๋ยหมัก+หัวเชื้อจากการ freeze dry 10^4 cell g^{-1}ผงแป้ง+แร่เฟลด์สปาร์ 20% Tr 7 : ปุ๋ยหมัก+หัวเชื้อจากการ freeze dry 10^5 cell g^{-1}ผงแป้ง+แร่เฟลด์สปาร์ 5%

Tr 8 : ปุ๋ยหมัก+หัวเชื้อจากการ freeze dry 10^5 cell g^{-1}ผงแป้ง+แร่เฟลด์สปาร์ 10% Tr 9 : ปุ๋ยหมัก+หัวเชื้อจากการ freeze dry 10^5 cell g^{-1}ผงแป้ง+แร่เฟลด์สปาร์ 20%

Tr 10 : ปุ๋ยหมัก+หัวเชื้อจากการ freeze dry 10^6 cell g^{-1}ผงแป้ง+แร่เฟลด์สปาร์ 5% Tr 11: ปุ๋ยหมัก+หัวเชื้อจากการ freeze dry 10^6 cell g^{-1}ผงแป้ง+แร่เฟลด์สปาร์ 10%

Tr 12: ปุ๋ยหมัก+หัวเชื้อจากการ freeze dry 10^6 cell g^{-1}ผงแป้ง+แร่เฟลด์สปาร์ 20% Tr13 : ปุ๋ยหมัก+หัวเชื้อจากการ freeze dry 10^7 cell g^{-1}ผงแป้ง+แร่เฟลด์สปาร์ 5%

Tr 14: ปุ๋ยหมัก+หัวเชื้อจากการ freeze dry 10^7 cell g^{-1}ผงแป้ง+แร่เฟลด์สปาร์ 10% Tr 15: ปุ๋ยหมัก+หัวเชื้อจากการ freeze dry 10^7 cell g^{-1}ผงแป้ง+แร่เฟลด์สปาร์ 20%

ตารางที่ 36 ปริมาณเชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟต(Phosphate solubilizer) (log no of cell g^{-1}) หลังการคลุกหัวเชื้อจุลินทรีย์ผสมกับปุ๋ยหมัก เก็บตัวอย่างทุกๆ 7วัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

Tr	สัปดาห์							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	5.22±0.11	5.47±1.09	5.43±0.29	5.28±0.15	5.22±0.21	4.59±0.47	1.38±2.39	1.30±2.25
2	5.74±0.37	5.31±0.29	5.33±0.28	5.59±0.51	5.74±0.11	4.66±0.25	4.38±0.39	3.30±0.28
3	5.63±0.78	5.83±0.63	5.96±0.76	5.99±0.74	5.73±0.75	5.13±0.06	4.55±0.34	3.81±0.03
4	6.90±0.47	6.46±0.10	6.09±0.61	6.17±0.43	5.70±0.01	5.33±0.11	4.63±0.07	4.27±0.37
5	7.31±0.24	7.32±0.59	6.65±0.30	6.86±0.43	6.25±0.01	5.36±0.22	4.48±0.38	4.29±0.61
6	7.59±0.32	6.33±0.29	7.07±0.26	6.82±0.75	6.18±0.11	6.43±0.95	1.66±2.88	1.32±2.28
7	8.76±0.19	7.75±0.16	6.93±0.32	6.29±0.92	5.73±0.33	5.66±0.76	4.79±0.72	4.45±0.50
8	8.22±0.29	7.92±0.07	7.14±0.21	6.96±0.36	5.73±0.57	5.67±0.27	5.21±0.31	4.67±0.51
9	8.20±0.13	6.96±0.54	7.48±0.37	7.09±0.53	6.19±0.48	6.26±0.54	5.39±0.60	4.94±0.81
10	7.38±0.41	7.56±0.10	6.49±0.29	6.08±0.91	6.02±0.71	5.62±0.46	5.75±0.42	4.78±0.24
11	6.43±0.29	7.06±1.20	7.16±0.18	6.60±0.67	5.97±0.46	5.35±0.28	5.03±0.90	4.53±0.49
12	6.86±0.49	6.76±0.52	7.42±0.24	7.06±0.50	6.46±0.16	5.90±0.14	5.03±0.51	3.89±0.81
13	7.19±0.17	6.77±0.98	6.92±0.23	6.09±0.85	5.76±0.86	5.60±0.93	5.15±0.53	4.56±0.47
14	6.70±0.61	6.89±0.89	7.17±0.67	6.17±0.95	6.05±0.75	5.59±0.43	4.97±0.50	3.65±0.60
15	7.27±0.34	7.25±0.46	6.80±0.39	6.23±0.66	6.01±0.66	5.73±0.69	5.71±0.16	4.48±0.37
mean	7.02±1.02	6.77±0.95	6.67±0.74	6.35±0.76	5.92±0.51	5.52±0.65	4.54±1.54	3.88±1.36
LSD	0.62	1.16	0.68	1.12	0.86	0.78	1.78	1.61
%CV	5.31	10.25	6.09	10.56	8.73	8.48	23.41	24.77

หมายเหตุ : Tr1 = Control (ปุ๋ยหมัก + หินฟอสเฟต 5%), **Tr2 =** Control (ปุ๋ยหมัก + หินฟอสเฟต 10%), **Tr3 =** Control (ปุ๋ยหมัก + หินฟอสเฟต 20%),**Tr4 =** ปุ๋ยหมัก + เชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟตจากวิธี freeze dry 10^4 cells/g+ หินฟอสเฟต 5%, **Tr5 =** ปุ๋ยหมัก + เชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟตจากวิธี freeze dry 10^4 cells/g+ หินฟอสเฟต 10%, **Tr6 =** ปุ๋ยหมัก + เชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟตจากวิธี freeze dry 10^4 cells/g+ หินฟอสเฟต 20%, **Tr7** = ปุ๋ยหมัก + เชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟตจากวิธี freeze dry 10^5 cells/g+ หินฟอสเฟต 5%, **Tr8** = ปุ๋ยหมัก + เชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟตจากวิธี freeze dry 10^5 cells/g+ หินฟอสเฟต 10%, **Tr9** = ปุ๋ยหมัก + เชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟตจากวิธี freeze dry 10^5 cells/g+ หินฟอสเฟต 20%, **Tr10** = ปุ๋ยหมัก + เชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟตจากวิธี freeze dry 10^6 cells/g+ หินฟอสเฟต 5%, **Tr11** = ปุ๋ยหมัก + เชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟตจากวิธี freeze dry 10^6 cells/g+ หินฟอสเฟต 10%, **Tr12** = ปุ๋ยหมัก + เชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟตจากวิธี freeze dry 10^6 cells/g+ หินฟอสเฟต 20%, **Tr13** = ปุ๋ยหมัก + เชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟตจากวิธี freeze dry 10^7 cells/g+ หินฟอสเฟต 5%, **Tr14** = ปุ๋ยหมัก + เชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟตจากวิธี freeze dry 10^7 cells/g+ หินฟอสเฟต 10%, **Tr15** = ปุ๋ยหมัก + เชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟตจากวิธี freeze dry 10^7 cells/g+ หินฟอสเฟต

ตารางที่ 37 ปริมาณฟอสฟอรัส (Available P, ppm P) ในปุ๋ยหมักหลังจากคลุกหัวเชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟต

Tr	สัปดาห์							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	133.81±4.51	137.76±12.75	131.43±2.09	120.24±1.95	126.96±1.85	127.05±3.68	126.31±3.74	129.73±1.98
2	148.60±5.53	161.10±2.90	140.77±2.99	127.52±2.59	137.00±2.54	129.55±3.55	128.80±0.82	132.75±1.42
3	167.66±5.94	179.94±5.34	149.71±3.16	137.64±2.95	147.04±0.39	134.43±0.79	127.23±1.59	138.39±1.49
4	130.96±0.78	136.73±3.15	132.36±4.05	118.81±4.55	127.22±5.25	128.89±2.06	126.18±2.23	135.24±0.99
5	145.61±1.75	154.01±2.63	138.53±3.37	128.55±2.92	134.65±1.93	130.21±2.32	128.40±2.40	133.15±2.19
6	167.14±4.87	177.74±2.80	152.73±2.40	137.64±4.95	151.60±0.98	134.69±5.04	133.11±2.61	140.62±2.08
7	137.96±3.39	144.85±6.62	133.40±3.44	123.23±1.84	139.35±0.81	128.76±2.25	127.88±3.74	133.80±1.20
8	150.93±3.84	157.62±2.93	141.42±7.10	131.80±1.12	135.83±1.19	131.39±6.00	126.05±2.16	132.75±ND
9	169.08±3.32	181.35±4.19	157.85±1.97	142.58±1.48	157.60±5.43	133.64±4.19	131.15±8.62	144.56±0.39
10	130.70±8.53	137.89±2.27	124.07±3.75	122.84±0.60	130.09±1.76	132.06±2.41	126.70±5.28	135.11±4.09
11	144.19±3.57	157.88±5.34	134.33±4.22	126.22±4.13	19.48±12.38	127.97±2.03	126.31±3.14	137.48±2.36
12	167.53±7.65	164.84±17.22	147.74±5.13	135.83±4.79	143.65±6.74	130.74±5.60	127.62±0.99	136.95±3.01
13	125.90±2.55	135.05±4.06	120.26±2.17	116.60±0.60	122.27±5.31	108.84±22.07	116.11±1.41	130.65±12.68
14	133.69±9.10	142.91±1.99	126.05±3.16	120.50±5.57	126.31±7.43	124.93±2.47	113.88±2.61	123.95±5.91
15	160.52±4.21	164.71±1.77	140.37±1.64	133.10±5.10	146.52±4.01	130.60±5.09	119.90±11.21	136.59±8.11
mean	147.62±15.70	155.63±16.67	138.37±10.96	128.21±8.26	137.70±10.80	128.92±8.20	125.71±6.29	134.74±6.06
LSD	8.46	11.25	6.20	5.50	8.57	11.33	7.34	7.61
%CV	3.43	4.32	2.69	2.56	3.72	5.26	3.49	3.37

หมายเหตุ : Tr1 = Control (ปุ๋ยหมัก + หินฟอสเฟต 5%), **Tr2 =** Control (ปุ๋ยหมัก + หินฟอสเฟต 10%), **Tr3 =** Control (ปุ๋ยหมัก + หินฟอสเฟต 20%),**Tr4 =** ปุ๋ยหมัก + เชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟตจากวิธี freeze dry 10^4 cells/g+ หินฟอสเฟต 5%, **Tr5 =** ปุ๋ยหมัก + เชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟตจากวิธี freeze dry 10^4 cells/g+ หินฟอสเฟต 10%, **Tr6 =** ปุ๋ยหมัก + เชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟตจากวิธี freeze dry 10^4 cells/g+ หินฟอสเฟต 20%, **Tr7** = ปุ๋ยหมัก + เชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟตจากวิธี freeze dry 10^5 cells/g+ หินฟอสเฟต 5%, **Tr8** = ปุ๋ยหมัก + เชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟตจากวิธี freeze dry 10^5 cells/g+ หินฟอสเฟต 10%, **Tr9** = ปุ๋ยหมัก + เชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟตจากวิธี freeze dry 10^5 cells/g+ หินฟอสเฟต 20%, **Tr10** = ปุ๋ยหมัก + เชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟตจากวิธี freeze dry 10^6 cells/g+ หินฟอสเฟต 5%, **Tr11** = ปุ๋ยหมัก + เชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟตจากวิธี freeze dry 10^6 cells/g+ หินฟอสเฟต 10%, **Tr12** = ปุ๋ยหมัก + เชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟตจากวิธี freeze dry 10^6 cells/g+ หินฟอสเฟต 20%, **Tr13** = ปุ๋ยหมัก + เชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟตจากวิธี freeze dry 10^7 cells/g+ หินฟอสเฟต 5%, **Tr14** = ปุ๋ยหมัก + เชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟตจากวิธี freeze dry 10^7 cells/g+ หินฟอสเฟต 10%, **Tr15** = ปุ๋ยหมัก + เชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟตจากวิธี freeze dry 10^7 cells/g+ หินฟอสเฟต 20

3.2.4 ประสิทธิภาพของหัวเชื้อผงรวม (จุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจน, จุลินทรีย์ย่อยหินฟอสเฟต และจุลินทรีย์ย่อยละลายโพแทสเซียม) ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์และโพแทสเซียมที่สกัดได้ในปุ๋ยอินทรีย์

จากการนำผงเชื้อที่ได้จากแต่ละกรรมวิธีการผลิตซึ่งทำให้จุลินทรีย์มีอัตราการมีชีวิตรอดสูงและอัตราการใช้ที่มีแนวโน้มว่ามีประสิทธิภาพดีมาแยกทดสอบการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของปุ๋ยอินทรีย์ในการทดลองก่อนหน้านี้ นำข้อมูลดังกล่าวคัดเลือกเชื้อใส่ผสมลงในปุ๋ยอินทรีย์ที่มีหินฟอสเฟต 5% และแร่เฟลด์สปาร์ 5% โดยใช้หัวเชื้อผงแต่ละชนิดในอัตราที่มีเชื้อจุลินทรีย์ประมาณ 5 log no.cell g^{-1} หรือ 10^5 cells g^{-1} พบว่าเมื่อใส่เชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดร่วมกันในอัตราดังกล่าว ทำให้มีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียมที่สกัดได้มากกว่า ปุ๋ยอินทรีย์ที่ไม่ได้ใส่หัวเชื้อจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในเกือบทุกระยะของการเก็บตัวอย่างตรวจวิเคราะห์ กล่าวคือไนโตรเจนมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นเมื่อบ่มทิ้งไว้ในระยะเวลานานขึ้น ทั้งในปุ๋ยอินทรีย์ที่ใส่หัวเชื้อและไม่ใส่หัวเชื้อ อย่างไรก็ตามการใส่หัวเชื้อร่วมด้วยทำให้มีปริมาณไนโตรเจนเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนโดยเพิ่มขึ้นเฉลี่ยจาก 0.9 เป็น 1.2 ในสัปดาห์ที่ 7 ของการบ่มปุ๋ย ในขณะที่ปุ๋ยอินทรีย์ผสมหินฟอสเฟตและแร่เฟลด์สปาร์(ตำรับที่ 2)พบปริมาณไนโตรเจนเพิ่มขึ้นเล็กน้อยอยู่ที่ 0.99 ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการบ่มปุ๋ยอินทรีย์ย่างเดียวตำรับควบคุม (ตาราง 38)

การย่อยสลายหินฟอสเฟตในปุ๋ยอินทรีย์ผสมได้ผลในการทำนองเดียวกันกับไนโตรเจน กล่าวคือ การใส่เชื้อผสมทำให้มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์เพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตั้งแต่สัปดาห์แรกเป็นต้นไป เมื่อเปรียบเทียบกับส่วนผสมของปุ๋ยอินทรีย์ที่ไม่ได้ใส่หัวเชื้อผง โดยมีปริมาณเฉลี่ย 149.33 ppm ในสัปดาห์ที่ 2 (ตาราง 40) เช่นเดียวกับโพแทสเซียมที่พบว่ามีปริมาณเพิ่มมากขึ้นเมื่อใส่หัวเชื้อผสม โดยเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตั้งแต่บ่มปุ๋ยไว้ในสัปดาห์แรก (ตาราง 39)

สำหรับการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างของปุ๋ยผสมเมื่อบ่มทิ้งไว้ในระยะ 8 สัปดาห์ พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงไม่มากนัก แต่ปุ๋ยผสมที่ใส่เชื้อจุลินทรีย์ร่วมด้วย ทำให้ pH ลดลงเล็กน้อยและมีแนวโน้มว่า pH ลดลงเมื่อบ่มไว้ในระยะเวลานานขึ้น แต่ก็ยังอยู่ในช่วงของ pH เป็นกลาง คือ 7.08 ถึง 7.41 ในสัปดาห์ที่ 8 (ตารางที่ 41)

ตารางที่ 38 เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน(%N) ในปุ๋ยอินทรีย์ที่มีส่วนผสมของวัสดุที่เป็นแหล่งของฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในอัตราที่เหมาะสม

Tr	สัปดาห์							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	0.74±0.02	0.91±0.16	0.81±0.07	0.89±0.02	0.87±0.01	0.88±0.01	0.91±0.02	0.87±0.06
2	0.71±0.03	0.80±0.04	0.86±0.03	0.91±0.03	0.91±0.03	1.03±0.03	0.99±0.06	1.03±0.02
3	0.97±0.09	0.93±0.16	1.08±0.04	1.12±0.05	0.99±0.09	1.17±0.09	1.21±0.08	1.09±0.14
mean	0.81±0.13	0.88±0.13	0.91±0.13	0.97±0.11	0.92±0.07	1.03±0.07	1.04±0.15	1.00±0.12
LSD	0.12	0.29	0.06	0.10	0.12	0.08	0.16	0.17
%CV	6.69	14.62	3.16	4.54	5.86	9.99	6.67	7.55

หมายเหตุ : Tr1 = Control (ไม่ใส่อะไรเลย), **Tr2** = Control (ใส่หินฟอสเฟต5%+เฟลด์สปาร์5%), **Tr3** = เชื้อผสมตรึงไนโตรเจน 10^5 cells g^{-1} + เชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟต10^5 cells g^{-1}
+ เชื้อย่อยละลายเฟลด์สปาร์ 10^5 cells g^{-1}

ตารางที่ 39 ปริมาณ Extractable K ในปุ๋ยอินทรีย์ที่มีส่วนผสมของวัสดุที่เป็นแหล่งของ ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในอัตราที่เหมาะสม(%K)

Tr	สัปดาห์							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	0.23±ND	0.24±0.01	0.23±ND	0.22±ND	0.21±ND	0.20±0.02	0.21±0.01	0.21±ND
2	0.25±ND	0.22±0.01	0.22±ND	0.22±ND	0.21±ND	0.19±ND	0.20±ND	0.21±ND
3	0.27±0.01	0.23±ND	0.25±0.01	0.24±0.02	0.24±0.01	0.23±0.02	0.23±0.01	0.24±0.03
mean	0.25±0.02	0.23±0.01	0.24±0.2	0.23±0.01	0.22±0.02	0.21±0.02	0.21±0.02	0.22±0.02
LSD	0.02	0.02	0.02	0.03	0.01	0.03	0.02	0.04
%CV	3.87	3.55	3.74	5.97	1.86	6.45	4.16	7.88

หมายเหตุ : Tr1 = Control (ไม่ใส่อะไรเลย), **Tr2** = Control (ใส่หินฟอสเฟต5%+เฟลด์สปาร์5%), **Tr3** = เชื้อผสมตรึงไนโตรเจน 10^5 cells g^{-1} + เชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟต10^5 cells g^{-1} + เชื้อย่อยละลายเฟลด์สปาร์ 10^5 cells g^{-1}

ตารางที่40 ปริมาณ available P ในปุ๋ยอินทรีย์ที่มีส่วนผสมของวัสดุที่เป็นแหล่งของ ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในอัตราที่เหมาะสม (ppm P)

Tr	สัปดาห์							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	127.69±1.36	128.34±6.26	128.08±2.34	129.24±6.83	121.54±1.03	124.15±9.38	124.02±4.63	121.28±4.69
2	131.58±3.61	132.22±4.87	133.91±15.48	128.99±5.25	121.68±10.93	114.12±5.51	120.11±4.71	116.99±7.04
3	142.20±1.57	149.33±6.74	146.35±1.99	141.81±8.70	139.38±0.82	163.48±40.22	139.25±1.8	139.25±2.54
mean	133.82±6.83	136.63±10.98	136.11±11.30	133.35±8.82	127.53±10.45	133.91±30.73	127.79±9.39	125.84±11.14
LSD	4.81	10.70	22.61	19.31	15.40	58.50	10.72	6.88
%CV	1.59	3.45	7.33	6.39	5.33	19.27	3.70	2.41

หมายเหตุ : Tr1 = Control (ไม่ใส่อะไรเลย), **Tr2** = Control (ใส่หินฟอสเฟต5%+เฟลด์สปาร์5%), **Tr3** = เชื้อผสมตรึงไนโตรเจน 10^5 cells g^{-1} + เชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟต10^5 cells g^{-1} + เชื้อย่อยละลายเฟลด์สปาร์ 10^5 cells g^{-1}

ตารางที่ 41 ค่า pH ปุ๋ยหมักหลังการคลุกหัวเชื้อจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนผสมกับเชื้อจุลินทรีย์ย่อยละลายหินฟอสเฟตผสมเชื้อจุลินทรีย์ย่อยละลายโพแทสเซียม เก็บตัวอย่างทุก 7 วัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

Tr	สัปดาห์							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	7.73	7.72	7.63	7.43	7.44	7.32	7.29	7.27
2	7.68	7.66	7.64	7.62	7.45	7.37	7.43	7.41
3	7.12	6.88	6.61	6.69	6.58	6.88	6.97	7.08

หมายเหตุ : Tr1 = Control (ไม่ใส่อะไรเลย), **Tr2** = Control (ใส่หินฟอสเฟต5%+เฟลด์สปาร์5%), **Tr3** = เชื้อผสมตรึงไนโตรเจน 10^5 cells g^{-1} + เชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟต10^5 cells g^{-1} + เชื้อย่อยละลายเฟลด์สปาร์ 10^7 cells g^{-1}

การตอบสนองของพืชต่อหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตได้

3.3 ประสิทธิภาพของหัวเชื้อไรโซเบียมต่อการตรึงไนโตรเจน การติดปม การเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเหลือง

จากผลการศึกษาการผลิตผงเชื้อไรโซเบียมที่ได้จากการทำแห้งแบบ Freeze dry และ Spray dry ด้วยการเคลือบเซลล์ของเชื้อด้วยสารเคลือบเซลล์ sucrose-peptone, skimmed milk และแป้งเปียกปรากฏว่า เชื้อที่มีศักยภาพที่น่าจะนำไปใช้ได้จริงเนื่องจากมีปริมาณการอยู่รอดสูงได้แก่การผลิตหัวเชื้อแบบแห้งวิธี Freeze dry เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone ในวัสดุพาหะทัลคัม, การเคลือบเซลล์ด้วย skimmed milkในวัสดุพาหะทัลคัม, การเคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone ในวัสดุพาหะแป้งมันสำปะหลัง และการเคลือบเซลล์ด้วย แป้งเปียก ในวัสดุพาหะแป้งมันสำปะหลัง จึงได้นำหัวเชื้อดังกล่าวมาทดสอบเพื่อหาประสิทธิภาพต่อการตอบสนองของพืชและอัตราการใช้ที่เหมาะสมต่อไปโดยแบ่งการทดลองทั้งในกระถางและในแปลงทดลอง

3.3.1 การทดลองในกระถางทดลอง

จากการศึกษาการตอบสนองของพืชต่อหัวเชื้อไรโซเบียมที่ผลิตได้ในระยะออกดอก (V4) พบว่าลักษณะการติดปมมีการกระจายตัวติดอยู่บริเวณรากแก้ว รากแขนง และรากฝอย โดยส่วนใหญ่พบบริเวณรากแก้ว ปมที่พบมีทั้งปมขนาดใหญ่และปมขนาดเล็ก จากการทดลองพบว่า ความสูงและน้ำหนักของต้นถั่วไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ความสูงเฉลี่ยอยู่ที่ 24.0 เซนติเมตร และน้ำหนัก 18.24 g เมื่อพิจารณาจำนวนปมต่อต้น พบว่าตำรับที่ 10 (เชื้อไรโซเบียม เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone ผสมในวัสดุพาหะแป้งมันสำปะหลัง ปริมาณเชื้อในอัตราแนะนำ 10^5 เซลล์ต่อเมล็ด) มีจำนวนปมมากที่สุด คือ 58 ปม/ต้น รองลงมาได้แก่ตำรับที่ 11 (เชื้อไรโซเบียม เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone ผสมในวัสดุพาหะแป้งมัน ปริมาณเชื้อสูงกว่าอัตราแนะนำ10^6 เซลล์ต่อเมล็ด) พบจำนวนปม 50 ปม/ต้น และตำรับที่ 2 (ผงพืทหัวเชื้อไรโซเบียม) พบจำนวนปม 33 ปม/ต้น แต่เมื่อเปรียบเทียบ น้ำหนักสดปม ต่อ จำนวนปม พบว่าตำรับที่ 8 เชื้อไรโซเบียมเคลือบเซลล์ด้วย skimmed milk ในวัสดุพาหะทัลคัม อัตรา 10^6 เซลล์ต่อเมล็ด มีสัดส่วนมากที่สุดแสดงว่าปมในตำรับการทดลองนี้มีขนาดใหญ่กว่าปมถั่วในตำรับอื่น ส่วนในตำรับอื่นขนาดปมไม่แตกต่างกัน

เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลน้ำหนักแห้งต้นและน้ำหนักแห้งราก พบว่าตำรับที่ 6 (หัวเชื้อไรโซเบียมเคลือบเซลล์ด้วย skimmed milk ในวัสดุพาหะทัลคัม อัตรา 10^4 เซลล์ต่อเมล็ด) มีน้ำหนักแห้งต้นและน้ำหนักแห้งรากมากที่สุด. และตำรับที่ 12 (หัวเชื้อไรโซเบียมเคลือบเซลล์ด้วย แป้งเปียกในวัสดุพาหะแป้งมัน อัตรา 10^4 เซลล์ต่อเมล็ด) มีน้ำแห้งต้นน้อยที่สุด

รูปที่ 1 แสดงลักษณะการติดปมของต้นถั่ว ที่คลุกเมล็ดด้วยหัวเชื้อไรโซเบียม เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone ในวัสดุพาหะ Talcum (ซ้าย) เทียบกับต้นถั่วที่คลุกเมล็ดด้วยผงพีท (ขวา)

รูปที่ 2 ลักษณะปมที่เก็บได้จากตัวอย่าง ผงพีท (ซ้าย) และหัวเชื้อผงแป้ง (ขวา) เปรียบเทียบกับขนาดของเหรียญบาท

ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนที่ประเมินจากวิธี Acetylene Reduction Assay พบว่าปริมาณ เอทธิลีนที่ตรวจวัดได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกตำรับการทดลอง แต่ในตำรับการทดลองที่ 3 (หัวเชื้อไรโซเบียมเคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone ในวัสดุพาหะทัลคัม อัตรา 10^4 เซลล์ต่อเมล็ด) และ ตำรับที่ 7 (หัวเชื้อไรโซเบียมเคลือบเซลล์ด้วย skimmed milk ในวัสดุพาหะทัลคัม อัตรา 10^5 เซลล์ต่อเมล็ด) มีแนวโน้มดีที่สุด และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน (%N) ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียม พบว่า %N ในตำรับการทดลองที่ 10 (เชื้อไรโซเบียม เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone ผสมในวัสดุพาหะแป้งมัน ปริมาณเชื้อในอัตราแนะนำ 10^5 เซลล์ต่อเมล็ด) มากที่สุด คือ 3.72% รองลงมาได้แก่ตำรับการทดลองที่ 14 (หัวเชื้อไรโซเบียมเคลือบเซลล์ด้วย แป้งเปียก ในวัสดุพาหะแป้งมัน อัตรา 10^6 เซลล์ต่อเมล็ด) 3.38%N สำหรับ %P และ%K ที่พบในต้นถั่วนั้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 42) จากผลการทดลองที่ได้รับจะเห็นได้ว่าหัวเชื้อแห้งที่ผลิตได้มีประสิทธิภาพในระดับเดียวกับหัวเชื้อไรโซเบียมที่กรมวิชาการ

เกษตรแนะนำให้เกษตรกรใช้ในการปลูกถั่วเหลือง กล่าวคือ ต้องมีเชื้ออยู่ 10^5 เซลล์ต่อเมล็ด ซึ่งอาจจะสูงกว่าปริมาณเชื้อที่แนะนำให้ใช้ทั่วไปที่กำหนดให้มีปริมาณเชื้อ 10^3, 10^4 และ10^5 เซลล์ต่อเมล็ด เมื่อใช้กับถั่วขนาดเมล็ด เล็ก กลาง และใหญ่ ตามลำดับ(Lupwayi *et al.*, 2000) เช่นเดียวกับมาตรฐานของแคนาดาที่ระบุให้มีปริมาณเชื้อ10^3- 10^4 เซลล์ต่อเมล็ด (Rennie,1991) แต่สอดคล้องกับ herridge(2002), Boonkerd(1991) และ Wadoux(1991) ที่รายงานว่าปริมาฯเชื้อไรโซเบียมที่เหมาะสมต่อถั่วเหลือง คือ 10^5- 10^6 เซลล์ต่อเมล็ด แสดงว่าหัวเชื้อไรโซเบียมที่ผลิตได้มีคุณภาพอยู่ในระดับมาตรฐานทั่วไป แต่แตกต่างกันตรงที่ไม่ใช้พีทเป็นวัสดุรองรับ และหัวเชื้อเป็นผงแห้งสามารถคลุกเมล็ดได้โดยไม่ต้องใช้สารเหนียวเหมือนหัวเชื้อที่ผลิตโดยใช้ผงพีทเป็นวัสดุรองรับ

จากการเปรียบเทียบข้อมูลการทดลองในกระถางเพื่อคัดเลือกนำไปศึกษาต่อในแปลงทดลอง พบว่า ไม่มีตำรับการทดลองไหนที่โดดเด่นในทุกด้าน แต่ใช้หลักการพิจารณาข้อมูลโดยรวมและความเป็นไปได้ในการใช้ประโยชน์จริง ปรากฏว่ากรรมวิธีที่มีผลทำให้หัวเชื้อไรโซเบียมมีประสิทธิภาพต่อการเข้าสร้างปม การตรึงไนโตรเจนและองค์ประกอบของการเจริญเติบโตของต้นถั่วเหลืองสูงกว่ากรรมวิธีการทดลองอื่น ได้แก่ หัวเชื้อไรโซเบียมที่เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone ใช้ทัลคัมเป็นวัสดุพาหะ, หัว เชื้อไรโซเบียมเคลือบเซลล์ด้วย skimmed milk ใช้ทัลคัมเป็นวัสดุพาหะ, หัวเชื้อไรโซเบียมเคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone ใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นวัสดุพาหะ และหัว เชื้อไรโซเบียมเคลือบเซลล์ด้วย แป้งเปียก ใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นวัสดุพาหะ ในอัตราแนะนำ (10^5 เซลล์ต่อเมล็ด) เพื่อทดลองเปรียบเทียบกับผงพีทที่มีการแนะนำให้ใช้ทั่วไป ในสภาพแปลงทดลอง

ตารางที่ 42 แสดงจำนวนปมและน้ำหนักแห้งของต้นถั่วเหลืองฝักสด พันธุ์เชียงใหม่ 1 จากการทดสอบประสิทธิภาพการเข้าสร้างปมและการเจริญเติบโตของถั่วเหลืองฝักสดพันธุ์เชียงใหม่ 1 ในกระถางทดลอง ระยะ V4 หลังการปลูก (ระยะออกดอก)

TR	ความสูง	จำนวนปม/ต้น	นน.ต้นสด/ต้น	นน.ต้นแห้ง/ต้น	นน.รากสด/ต้น	นน.รากแห้ง/ต้น	นน.ปมสด/ต้น	นน.ปมแห้ง/ต้น	นน.ปมสด/จำนวนปม/ต้น	ปริมาณ C_2H_4/ต้น	%N/ต้น	%P/ต้น	%K/ต้น
1	22.6±5.18	11.7±5.51	21.17±6.80	5.80±1.48	9.99±8.32	1.16±0.44	1.23±0.68	0.280±0.15	0.101±0.029	2.30±2.30	2.48±0.25	0.44±0.09	0.66±0.08
2	18.7±5.86	33.3±32.0	13.72±5.77	3.68±1.61	6.07±3.43	1.04±0.53	1.37±1.56	0.077±0.07	0.036±ND8	1.66±2.04	2.89±0.63	0.39±0.07	0.73±0.27
3	19.5±0.87	11.3±19.63	17.43±7.01	4.48±1.53	7.24±3.82	1.01±0.42	0.69±1.19	0.153±0.26	0.020±0.035	2.87±2.55	2.75±0.71	0.44±0.06	0.71±0.17
4	23.3±2.08	6.7±11.55	17.35±3.43	4.17±0.97	6.39±2.63	1.08±0.17	0.31±0.53	0.087±0.15	0.015±0.026	2.71±3.05	2.21±0.83	0.43±0.11	0.62±0.07
5	17.8±2.47	16.6±15.27	13.04±5.29	3.73±1.55	6.74±2.84	0.95±0.28	0.67±0.70	0.163±0.18	0.026±0.024	3.64±3.65	2.56±0.54	0.36±0.03	0.65±0.19
6	29.8±6.45	22.3±21.03	25.88±9.45	7.21±2.79	26.5±10.24	2.47±0.72	0.63±0.45	0.130±0.09	0.042±0.024	1.13±1.17	1.88±ND	0.40±0.02	0.55±0.12
7	20.2±1.53	7.0±3.61	12.28±2.70	3.76±0.38	6.85±1.60	1.04±0.37	0.59±0.49	0.130±0.11	0.068±0.056	2.85±2.47	2.34±0.40	0.46±0.09	0.65±0.03
8	31.3±10.50	3.0±3.61	17.24±8.63	4.83±2.30	6.10±3.30	1.14±0.47	0.61±0.68	0.147±0.17	0.146±0.129	2.43±4.18	2.24±0.48	0.40±0.08	0.71±0.12
9	23.5±4.09	4.3±3.79	18.59±4.11	5.13±0.89	9.58±5.41	1.24±0.31	0.57±0.56	0.113±0.11	0.091±0.092	2.19±3.72	2.27±0.35	0.42±0.08	0.58±0.09
10	23.0±6.08	58.0±69.20	21.95±14.57	5.78±3.76	11.14±5.88	1.27±0.61	1.34±1.11	0.357±0.29	0.054±0.039	2.39±3.66	3.72±0.83	0.49±0.14	0.77±0.22
11	32.3±14.47	50.0±5.00	19.19±7.75	5.21±2.11	10.31±6.58	1.18±0.70	1.50±0.48	0.403±0.14	0.030±0.011	2.06±2.40	3.22±0.53	0.38±0.06	0.73±0.19
12	23.5±3.04	2.0±2.64	11.90±7.15	3.19±1.30	6.63±6.58	0.83±0.24	0.21±0.30	0..047±0.06	0.061±0.057	1.20±2.06	2.27±0.37	0.35±0.08	0.59±0.10
13	24.3±0.58	11.7±10.07	24.50±8.62	6.67±2.28	11.49±5.60	1.49±0.67	0.97±0.83	0.222±0.19	0.065±0.047	2.35±3.85	2.74±0.19	0.40±0.07	0.64±0.14
14	26.0±1.00	5.0±2.00	24.09±8.16	6.45±2.07	5.51±1.58	1.30±0.19	0.52±0.42	0.140±0.11	0.081±0.052	1.95±3.05	3.38±0.10	0.53±0.12	0.67±0.11
mean	24.00±6.63	17.36±25.51	18.24±7.85	5.02±2.03	9.32±6.89	1.23±0.55	0.80±0.76	0.175±0.17	0.060±0.057	2.27±2.55	2.64±0.66	0.42±0.08	0.66±0.14
LSD	10.26	35.57	10.45	2.75	8.87	0.79	1.05	0.213	0.079	3.71	0.86	0.13	0.25
%CV.	25.47	122.10	34.13	32.66	56.70	38.28	78.23	72.46	79.05	97.43	19.44	18.74	22.91

หมายเหตุ : Tr1 = Control. Tr2 = ผงพีท, Tr3 = เคลือบเซลล์ด้วยsucrose-peptone ในวัสดุพาหะทัลคัม อัตรา 10^4 cells/เมล็ด, Tr4 = เคลือบเซลล์ด้วยsucrose-peptone ในวัสดุพาหะทัลคัม อัตรา 10^5 cells/เมล็ด, Tr5 = เคลือบเซลล์ด้วยsucrose-peptone ในวัสดุพาหะทัลคัม อัตรา 10^6 cells/เมล็ด, Tr6= เคลือบเซลล์ด้วยskimmed milk ในวัสดุพาหะทัลคัมอัตรา 10^4 cells/เมล็ด, Tr7 = เคลือบเซลล์ด้วย skimmed milk ในวัสดุพาหะทัลคัม อัตรา 10^5 cells/เมล็ด, Tr8= เคลือบเซลล์ด้วย skimmed milk ในวัสดุพาหะทัลคัม อัตรา 10^6 cells/เมล็ด, Tr9= เคลือบเซลล์ด้วยsucrose-peptone ในวัสดุพาหะแป้งมัน อัตรา 10^4 cells/เมล็ด, Tr10 = เคลือบเซลล์ด้วยsucrose-peptone ในวัสดุพาหะแป้งมัน อัตรา 10^5 cells/เมล็ด, Tr11 = เคลือบเซลล์ด้วยsucrose-peptone ในวัสดุพาหะแป้งมัน อัตรา 10^6 cells/เมล็ด, Tr12= เคลือบเซลล์ด้วยแป้งเปียก ในวัสดุพาหะแป้งมัน อัตรา 10^4cells/เมล็ด, Tr13 = เคลือบเซลล์ด้วยแป้งเปียก ในวัสดุพาหะแป้งมันอัตรา 10^5cells/เมล็ด, Tr14 = เคลือบเซลล์ด้วยแป้งเปียก ในวัสดุพาหะแป้งมัน อัตรา 10^6cells/เมล็ด

3.3.2 การทดสอบประสิทธิภาพของหัวเชื้อไรโซเบียมผงในแปลงทดลอง

จากผลการทดลองในกระถางคัดเลือกกรรมวิธีการผลิตที่ให้ผลดีที่สุด นำมาทดลองในแปลงทดสอบ คลุกผงเชื้อผสมกับเมล็ดถั่วเหลืองให้มีปริมาณเซลล์ 10^5 เซลล์ต่อเมล็ด จากการเก็บข้อมูลการตอบสนองของพืชต่อหัวเชื้อไรโซเบียมในระยะ V4 พบว่า น้ำหนักต้นและจำนวนปมไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เปรียบเทียบน้ำหนักปมพบว่าในตำรับการทดลองที่ 2 เมล็ดถั่วคลุกด้วยผงพีทมีน้ำหนักปมมากที่สุด คือ1.987 g รองลงมาได้แก่ตำรับการทดลองที่ 5 (ผงเชื้อไรโซเบียม เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone ใช้แป้งมันเป็นวัสดุพาหะ) และ 3 (ผงเชื้อไรโซเบียม เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone ใช้ทัลคัมเป็นวัสดุพาหะ) ตามลำดับ ตำรับการทดลองที่ไม่ได้รับการคลุกเชื้อมีน้ำหนักปมต่ำที่สุด คือ 0.84 g ตรวจวัดประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน พบว่า ตำรับการทดลองที่ 3 (ผงเชื้อไรโซเบียม เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone ใช้ทัลคัมเป็นวัสดุพาหะ)และ 2 (หัวเชื้อผงพีท) มีปริมาณก๊าซเอทธิลีนสูงสุด อยู่ที่ 4.31 และ 4.18 μmole C_2H_4/h/plantตามลำดับ ในขณะที่ตำรับการทดลองที่ไม่ได้คลุกเชื้อพบปริมาณเอทธิลีนต่ำสุด (ตารางที่ 43) แต่อย่างไรก็ตามในส่วนของผลผลิตและองค์ประกอบของผลผลิต ได้แก่ น้ำหนักสดต้น น้ำหนักเมล็ด รวมถึง %N, %P และ %K ในต้นและเมล็ดถั่วที่ระยะเก็บเกี่ยว พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(ตารางที่ 44) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากต้นถั่วเหลืองที่ทำการทดลองถูกโรคเข้าทำลายหลังจากติดฝักอ่อนแล้ว จากข้อมูลโดยรวมพบว่าเมล็ดถั่วเหลืองที่คลุกด้วยหัวเชื้อผงพีทและหัวเชื้อผงจากการทำ Freeze dry เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone มีทัลคัมเป็นวัสดุพาหะ มีประสิทธิภาพต่อการตอบสนองของพืชได้ผลดีที่สุด รองลงมาคือหัวเชื้อผงที่เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone มีแป้งมันสำปะหลังเป็นวัสดุพาหะ แสดงให้เห็นว่าเชื้อไรโซเบียมที่ผลิตด้วยวิธีนี้สามารถใช้ทดแทนหัวเชื้อที่ผลิตโดยใช้ผงพีทเป็นวัสดุพาหะได้

ตารางที่ 43 จำนวนปมและน้ำหนักแห้งของต้นถั่วเหลืองฝักสด พันธุ์เชียงใหม่ 1 จากการทดสอบประสิทธิภาพการเข้าสร้างปมและการเจริญเติบโตของถั่วเหลืองฝักสดพันธุ์เชียงใหม่ 1 ในแปลงทดลอง ระยะ V4 หลังการปลูก (ระยะออกดอก)

Tr	นน.ต้นสด	นน.ต้นแห้ง	จำนวนปม	นน.ปมสด	นน.ปมแห้ง	นน.รากสด	นน.รากแห้ง	µmoleC_2H_4/hr/ต้น
1	15.22±9.22	3.40±2.17	4.17±8.28	0.048±0.08	0.024±0.038	3.44±1.33	0.71±0.32	0.35±0.56
2	32.98±16.51	7.24±3.55	53.33±31.13	1.987±1.86	0.514±0.210	6.77±2.84	1.36±0.71	4.18±0.58
3	24.51±5.22	5.72±1.14	31.67±18.02	1.008±0.74	0.371±0.253	5.95±1.17	1.23±0.18	4.31±2.33
4	23.87±21.90	5.12±4.60	30.67±53.34	0.302±0.43	0.102±0.134	5.41±3.15	1.04±0.67	1.64±2.31
5	23.47±12.31	4.73±2.36	39.00±29.55	1.138±1.11	0.411±0.398	6.11±2.85	0.92±0.41	2.84±2.02
6	21.02±12.67	4.81±2.55	14.17±7.83	0.493±0.44	0.214±0.176	4.96±2.53	0.97±0.48	2.52±2.29
mean	23.51±14.02	5.17±2.96	28.83±31.60	0.830±1.11	0.272±0.276	7.20±2.50	1.04±0.51	2.64±2.22
LSD	15.01	3.10	33.88	1.193	0.279	6.59	0.50	2.30
%CV.	53.69	50.39	98.83	120.96	86.10	76.98	40.92	73.34

หมายเหตุ : Tr1 =. ไม่ใส่เชื้อ ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน (Control) Tr2= หัวเชื้อไรโซเบียมจากผงพีทอัตราแนะนำ Tr3=หัวเชื้อไรโซเบียม เคลือบเซลล์ด้วยsucrose-peptone ในวัสดุพาหะTalcum อัตรา 10^5 เซลล์ต่อเมล็ด TR4=หัวเชื้อไรโซเบียม เคลือบเซลล์ด้วย skimmed milk ในวัสดุพาหะTalcum อัตรา 10^5 เซลล์ต่อเมล็ด Tr5=หัวเชื้อไรโซเบียม เคลือบเซลล์ด้วยsucrose-peptone ในวัสดุพาหะแป้งมัน อัตรา 10^5 เซลล์ต่อเมล็ด Tr6=หัวเชื้อไรโซเบียม เคลือบเซลล์ด้วยแป้งเปียก ในวัสดุพาหะแป้งมันอัตรา 10^5 เซลล์ต่อเมล็ด

ตารางที่ 44 น้ำหนักต้นแห้ง, น้ำหนักเมล็ดของต้นถั่วเหลืองฝักสด พันธุ์เชียงใหม่ ในระยะเก็บเกี่ยวถั่วเหลืองฝักสดพันธุ์เชียงใหม่ 1 ในแปลงทดลอง

Tr	นน.ต้นแห้ง(kg)	นน.เมล็ดแห้ง(g)	นน.แห้ง100เมล็ด(g)	ต้น			เมล็ด		
				%N	%P	%K	%N	%P	%K
1	1.27±0.44	403.50±157.91	18.67±2.23	2.22±0.33	0.57±0.04	1.92±0.32	7.07±0.14	0.65±0.08	2.01±0.04
2	1.20±0.30	417.13±80.57	20.56±0.48	2.24±0.14	0.37±0.05	1.67±0.01	7.34±0.21	0.68±0.05	2.27±0.58
3	1.27±0.25	432.60±47.72	19.94±0.54	2.05±0.19	0.45±0.14	2.13±0.52	7.33±0.20	0.67±0.06	1.92±0.08
4	1.22±0.36	455.87±271.60	18.59±3.69	2.19±0.38	0.54±0.12	2.06±0.22	6.99±0.23	0.65±0.03	1.99±0.14
5	1.12±0.33	393.73±226.65	17.81±4.78	2.27±0.28	0.59±0.21	2.10±0.46	7.12±0.40	0.65±0.05	2.01±0.13
6	1.28±0.33	448.10±76.03	20.40±2.84	2.12±0.10	0.45±0.10	2.06±0.34	7.34±0.23	0.68±0.06	1.94±0.04
mean	1.23±0.29	425.09±141.10	19.33±2.65	2.18±0.23	0.50±0.13	1.99±0.34	7.20±0.26	0.66±0.05	2.02±0.24
LSD	0.25	223.06	4.87	0.41	0.18	0.54	0.46	0.07	0.46
%CV.	11.28	28.84	13.84	10.44	19.54	14.84	3.54	5.71	12.46

หมายเหตุ : Tr1 =. ไม่ใส่เชื้อ ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน (Control) Tr2= หัวเชื้อไรโซเบียมจากผงพืทอัตราแนะนำ Tr3=หัวเชื้อไรโซเบียม เคลือบเซลล์ด้วยsucrose-peptone ในวัสดุพาหะTalcum อัตรา 10^5 เซลล์ต่อเมล็ด TR4=หัวเชื้อไรโซเบียม เคลือบเซลล์ด้วย skimmed milk ในวัสดุพาหะTalcum อัตรา 10^5 เซลล์ต่อเมล็ด Tr5=หัวเชื้อไรโซเบียม เคลือบเซลล์ด้วยsucrose-peptone ในวัสดุพาหะแป้งมัน อัตรา 10^5 เซลล์ต่อเมล็ด Tr6=หัวเชื้อไรโซเบียม เคลือบเซลล์ด้วยแป้งเปียก ในวัสดุพาหะแป้งมันอัตรา 10^5 เซลล์ต่อเมล็ด

บทที่ 4
สรุปผลการทดลอง

ผลการทดลองโครงการการผลิตเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมกับการใช้ประโยชน์ทางการเกษตร เปรียบเทียบความเหมาะสมและวิธีการจัดการวัสดุพาหะ(carrier)ชนิดต่างๆทั้งวัสดุที่มี pH สูง(pH 8-10) ได้แก่ ทัลคัม, ผงถ่านไม้, เถ้าหนัก(Bottom ash) และเถ้าลอย(Fly ash) และวัสดุที่มี pH ต่ำ (pH 3-5) ได้แก่ แป้งมันสำปะหลังและผงพีท จากการศึกษาความเหมาะสมของวัสดุพาหะเบื้องต้นพบว่า การปรับ pH และไม่ปรับ pH ของวัสดุพาหะดังกล่าว ไม่ทำให้การอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนอิสระ(*Azotobacter*, *Azospirillum* และ *Beijerinckia*), เชื้อไรโซเบียม, จุลินทรีย์ย่อยสลายหินฟอสเฟต(Phosphate solubilizer) และจุลินทรีย์ละลายโพแทสเซียม(Potassium solubilizer)แตกต่างกันมากนักและวัสดุพาหะที่อบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 120 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วนาน 1 ชม. ทำให้เชื้อจุลินทรีย์อยู่รอดมากกว่าวัสดุที่ไม่ผ่านการอบฆ่าเชื้อ อย่างไรก็ตามวัสดุที่เชื้อจุลินทรีย์ไม่สามารถอาศัยอยู่และมีชีวิตรอดได้ตั้งแต่ระยะแรก คือ เถ้าลอยและเถ้าหนัก ในขณะที่ทัลคัมและแป้งมันสำปะหลังเป็นวัสดุพาหะที่พบปริมาณการมีชีวิตรอดของเชื้อใกล้เคียงกับผงพีทที่ใช้เป็นวัสดุเปรียบเทียบ ดังนั้นจึงได้เลือกใช้ทัลคัมและแป้งมันสำปะหลังในการทดลองผลิตหัวเชื้อผงแห้งด้วยวิธี Freeze dry และ Spray dry ด้วยการเคลือบเซลล์ด้วยสารเคลือบเซลล์ชนิดต่างๆ ได้แก่ sucrose-peptone, skimmed milk และแป้งเปียก พบว่ามีกรรมวิธีที่เหมาะสมแตกต่างกัน คือ การผลิตผงเชื้อจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนอิสระด้วยวิธี spray dry เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone ในวัสดุพาหะที่เป็นทัลคัม ทำให้ปริมาณเชื้ออยู่รอดในอัตราเฉลี่ยประมาณ 10^7 cells g^{-1} ซึ่งมากกว่าวิธีอื่น ส่วนเชื้อย่อยละลายโพแทสเซียมและเชื้อย่อยสลายหินฟอสเฟต กรรมวิธีการผลิตที่เหมาะสม คือ การทำ Freeze dry เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone และskimmed milk ตามลำดับ เมื่อนำหัวเชื้อผงที่ผลิตได้จากวิธีดังกล่าวใส่เชื้อร่วมกันลงในปุ๋ยอินทรีย์ที่ผสมด้วยหินฟอสเฟตและแร่เฟลด์สปาร์ ในปริมาณเชื้ออัตรา 10^5 cells g^{-1} ปรากฏว่า ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์(P_2O_5) และโพแทสเซียมที่สกัดได้ (K_2O) ปลดปล่อยออกมามากกว่าตำรับปุ๋ยอินทรีย์ที่ไม่ได้ใส่เชื้อจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับเชื้อไรโซเบียมที่ผลิตเป็นเชื้อผงด้วยวิธี Freeze dry เคลือบเซลล์ด้วย sucrose-peptone และใช้ทัลคัมเป็นวัสดุพาหะมีประสิทธิภาพต่อการตอบสนองการตรึงไนโตรเจน และการเข้าสร้างปมของถั่วเหลืองในปริมาณเทียบเท่ากับการใช้ผงพีทส่วนการใช้วัสดุพาหะที่เป็นแป้งมันสำปะหลังและเคลือบเซลล์ด้วยsucrose-peptoneมีผลต่อการตอบสนองของถั่วเหลืองรองลงมา

จะเห็นได้ว่ากรรมวิธีการผลิตหัวเชื้อแห้งมีความเหมาะสมแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ สารเคลือบเซลล์และวัสดุพาหะ และถึงแม้ว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์หลังจากทำแห้งอยู่ในระดับเดียวกับหัวเชื้อมาตรฐานที่ผลิตจากแหล่งอื่น แต่อายุการเก็บรักษายังค่อนข้างสั้น ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้การเก็บรักษาได้ยาวนานขึ้น

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2552. ประกาศเรื่องกำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณจุลินทรีย์รับรองตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ.2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่2) พ.ศ. 2550. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 126 ตอนพิเศษ 63 ง. หน้า 65.

ยงยุทธ โอสถสภา, ศุภมาศ พนิชศักดิ์พัฒนา, อรรถศิษฐ์ วงศ์มณีโรจน์ และ ชัยสิทธิ์ ทองจู. 2541. ปฐพีวิทยาเบื้องต้น. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร.

สมบูรณ์ ธนาศุภวัฒน์. 2544. เทคนิคการเก็บรักษาจุลินทรีย์.สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. 193 หน้า

สมพร ชุนห์ลือชานนท์. 2549. รายงานการวิจัยการผลิตปุ๋ยอินทรีย์-ชีวภาพเพื่อเพิ่มธาตุอาหารพืช. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

Abadias, M., Teixido, N., Usall, J., Benabarre.A., Vinas, I. 2001. Vaiability, efficiency, and storage stability of freeze-dried biocontrol agent Candida sake using different protective and rehydration media. J. Food Prot. 64: 856-861.

Abd-Alla, M.H. and Omar, S.A. 2001. Survival of Rhizobia/Bradyrhizobia and rock-phosphate-solubilizing Fungus *Aspergillus nigar* on various carriers from some agro-industrial wastes and their effect to nodulation and growth of faba bean and soy been. J. Plant Nutri. 24(2): 261-272.

Agnihotri, V.P. 1970. Solubilization of insoluble phosphate by some fungi isolated from nursery beds. Can. J. Microbiol. 16: 877.

Ana, S. Carvalho, J., Silva, P. H., Paula., T. F., Xavier, M. and Paul G. 2003. Protective effect of sorbitol and monosodium glutamate during storage of freeze-dried lactic acid bacteria. INRA, EDP Sciences. 203–210

Banik, S. And Dey, B.K., 1982. Available phosphate content of an alluvial soil as influences by inoculation of some phosphate-solubilizing microorganisms. Plant and Soil. 69: 353-364.

Boza, Y., Barbin, D., Scamparini, A. R. 2003. Activity and survival of spray-dried Beijerinckia sp. Microancapsulated in different carbohydrate. Appl Biochem Biotechnol. 111(2): 113-28.

Burns, R.C. and. Hardy, R.W.F. 1975. Nitrogen Fixation in Bacteria and Higher Plants. , Springer, New York (1975). 64.

Carvalho, A.S., Silva, J., Ho, P., Teixeira, P., Malcata, F.X., Gibbs. P. 2004. Effects of various sugars added to growth and drying media upon thermotolerance and survival throughout storage of freeze-dried *Lactobacillus delbrueckii* spp. Bulgaricus. Biotec. Prog. 20: 248-254.

Champagne, C.P., Gardner, N., Brochu, E., Beaulieu, Y. 1991. The Freeze-drying of lactic acid bacteria. Can. I. Food Sci. J; 24: 118-28.

Desmond, C., Ross, R.P., O' Callaghan, E., Fitzgerald, G., Stamton, C. 2002. Improved survival of *Lactobacillus paraeasei* NFBC 338 in spray dried powders containing gum acacia. J. App. Microbiol.93: 1003-1011.

Hebei Academy of science. 1996. International course on Biologycal fertilizer Baoding, China, p. 97.

Herridge, D., Gemell, G., Hartley, E. 2002. Legume inoculants and quality control. In: D. Herridge (ed). Inoculant and Nitrogen fixation of Legumes in Vietnam. ACIAR proceedings 109c: 105-115.

Hubalek, Z., 2003. Protectants used in cryopreservation of microoganisms. Cryobiology. 46: 205-229.

Kucey, R.M.N. 1983. Phosphate-solubilizing bacteria and fungi in various cultivated and virgin Alberta soils. C.J. Soil Sci. 63(4): 671-678.

Larena, I., Melgarijo, P., De Cal, A., 2003. Drying of conidia of *Penicilium oxalicum*, a biological control agent against fusarium wilt of tomato. J. Phytopath. 151: 600-606.

Leslie, S.B., Israeli, E., Lighthart, B., Crowe, J.H., Crowe, L.M., 1995. Trehalose and sucrose protect both membranes and proteins in intact bacteria during drying. App. Env. Microbiol. 61(10): 3592-3597.

Lian W.C, Hsiao H.C, Chou C.C. 2002. Survival of bifidobacteria after spray-drying. Int. J. Food Microbiol. 74(1-2): 79-86.

Lupwayi, N.Z., Olsen, P.E., Sande, E.S., Keyser, H.H., Collins, M.M., Singleton, P.W., Rice, W.A. 2000. Inoculant quality and its evaluation. Field Crops. Res. 65: 259-270.

Marcan, M.J.A., Vieira, G.C.C., Simas, K.N., Santos, K., Vieira, M.A. Amboni, R.D. de M.C. and Amante, E.R. 2007. Effect of the improved fermentation on physicochemical properties and sensorial acceptability of sour cassava starch. Brazil. Arc. Biol. Tech. 50(6): 1073-1081.

Morgan, C.A., Hewrman, N., White, P.A., Vesey, G. 2006. Preservation of microorganisms by drying; A review. J. Microbiol. Methods. 66: 183-193.

Okon, Y. and Kapulnik, Y. 1986. Development and function of *Azospirillum* inoculated roots. (1986). *Plant and Soil*. 90: 3–16 .

Pareek, R.P.and. Gaur, A.C. 1973. Release of phosphate from tricalcium phosphates by organic acids. *Curr. Sci.* p. 278–279.

Rennie, R.J. 1991. Canadian legume inculants. Evaluation of an industry. Report on the Expert Consultation on Legume Inoculant Production and Quality Control. FAO, Rome, 121-130.

Wadoux, P. 1991. Inoculant Production in industry using sterile carries. Report of the Expert Consulation on Legume Inoculant Production and Quality Control. FAO, Rome, 33-42.

Wani SP, Rupela OP, Lee KK (1995) Sustainable agriculture in the semi-arid tropics through biological nitrogen fixation in grain legumes. Plant Soil 174: 29–49

http://www.rhizobium.umn.edu/grossary .shtml. 23/3/2548

Strecter, J.B., 2003. Effect of trehalose on survival of Bradyrhizobium japonicum during desiccation. J. App. Micro. 95: 484-491.

Sukara,E. and Doellet,H.W. 1988. Cassava starch fermentation pattern of *Rhizopus oligosporus.*MIRCEN.J.4: 463-471.