

Received: July 12, 2020; Revised: October 28, 2020; Accepted: November 5, 2020

ปุ๋ยชีวภาพจากจุลินทรีย์โพรไบโอติกของพืช

Biofertilizer from plant probiotic microorganisms

ณัฐวุฒิ เพชรนวล¹ ปฐมาภรณ์ ทิลารักษ์¹ พิริยาภรณ์ อันนาคมงาม¹ และอมรรัตน์ สุวรรณโพธิ์ศรี^{1*}Nattawut Petnuan¹, Patamaporn Tilaruk¹, Piriaporn Anartngam¹ and
Amornrat Suwanposri^{1*}¹คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมและการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี จังหวัดจันทบุรี

*Corresponding Author E-mail Address : amornrat_su@mutto.ac.th

บทคัดย่อ

ปัจจุบันเกษตรกรสนใจนำปุ๋ยชีวภาพมาใช้ในการเพาะปลูกพืชเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากไม่ทำให้ดินเสื่อมคุณภาพและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของปุ๋ยชีวภาพที่หมักร่วมกับจุลินทรีย์โพรไบโอติกของพืช 2 ชนิด ได้แก่ *Lactobacillus casei* และ *Bacillus subtilis* ที่มีผลต่อการเจริญของผักบุ้ง โดยใช้ปุ๋ยชีวภาพ 5 สูตร ได้แก่ สูตรที่ 1: *L. casei* สูตรที่ 2: *B. subtilis* สูตรที่ 3: *L. casei* และ *B. subtilis* (อัตราส่วน 1:1) สูตรที่ 4 *L. casei* และ *B. subtilis* (อัตราส่วน 3:1) และสูตรที่ 5: *L. casei* และ *B. subtilis* (อัตราส่วน 1:3) นำไปรดผักบุ้งสองสายพันธุ์ ได้แก่ ผักบุ้งจีนยอดไผ่-9 และผักบุ้งใบไข่เขี้ยวมรกต นาน 35 วัน พบว่าปุ๋ยชีวภาพสูตรที่ 5 เป็นสูตรที่ดีที่สุดทำให้ผักบุ้งทั้งสองสายพันธุ์มีการเจริญเติบโตสูงสุด โดยให้ค่าเฉลี่ยสูงสุดของน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และความสูงของลำต้น แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) ยกเว้นค่าความยาวราก จากผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าปุ๋ยชีวภาพที่ผลิตโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ผสม *L. casei* และ *B. subtilis* สามารถนำมาใช้ในการเพาะปลูกและช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักบุ้งได้ รวมถึงเป็นแนวทางในการนำไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนาการผลิตปุ๋ยชีวภาพสำหรับนำไปใช้กับพืชชนิดอื่น

คำสำคัญ: ปุ๋ยชีวภาพ จุลินทรีย์โพรไบโอติกของพืช ผักบุ้ง

Abstract

Nowadays, farmers are increasingly interested in biofertilizers using to grow crops because it does not cause soil deterioration and environmental friendly. Therefore, the aim of this research was to study on the efficacy of biofertilizer fermented with two plant probiotic microorganisms *Lactobacillus casei* and *Bacillus subtilis* on growth of Chinese morning glory (*Ipomoea aqatic* Forsk). Five formulas of biofertilizers including

(1) *L. casei* fermentation, (2) *B. subtilis* fermentation, (3) combination of *L. casei* and *B. subtilis* (1:1) fermentation, (4) combination of *L. casei* and *B. subtilis* (3:1) fermentation and (5) combination of *L. casei* and *B. subtilis* (1:3) fermentation were produced and used to Chinese morning glory cv. 'Yodpai-9' and 'Kaewmorakot' growing for 35 days. The result showed that the highest growth rate of two cultivars was observed in 1:3 fermentation of *L. casei* and *B. subtilis*. The maximum average of fresh weights, dry weights and stem heights were significantly difference ($p < 0.01$), except root lengths. This result indicated that mixed cultures of *L. casei* and *B. subtilis* fermentation was appropriated for Chinese morning glory growing. This information useful for biofertilizer developmental process for other plant species.

Keywords: Biofertilizer, Plant probiotic microorganisms, Chinese morning glory

บทนำ

เกษตรกรรมเป็นอาชีพหลักของคนไทยตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน การทำเกษตรกรรมที่มีการใช้ปุ๋ยเคมี ยาฆ่าแมลง และยากำจัดวัชพืชซึ่งเป็นสารเคมีมาเป็นระยะเวลานานนั้นทำให้เกิดการเสื่อมสภาพ เนื่องจากสมบัติทางเคมีและชีวภาพของดินถูกทำลาย จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในดินลดจำนวนลง มีการสะสมของสารเคมีในดินเพิ่มมากขึ้นและอาจมีผลข้างเคียงต่อผู้บริโภค ทำให้มีเกษตรกรเป็นจำนวนมากที่หันมาสนใจการใช้ผลิตภัณฑ์ที่มาจากธรรมชาติซึ่งมีส่วนประกอบของจุลินทรีย์โพรไบโอติกของพืช (Plant probiotic microorganisms) ทดแทนการใช้สารเคมีมากขึ้นเนื่องจากไม่ทำลายดิน ช่วยปรับปรุงคุณภาพของดิน รักษาสมดุลของระบบนิเวศ เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ปลอดภัย และช่วยลดต้นทุน โดยผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนประกอบของจุลินทรีย์โพรไบโอติกของพืชนั้น จะทำหน้าที่เป็นสารป้องกันทางชีวภาพ สารควบคุมศัตรูพืชทางชีวภาพ ปุ๋ยชีวภาพ สารส่งเสริมหรือกระตุ้นการเจริญของพืชทางชีวภาพ (Ben et al., 2007) จุลินทรีย์โพรไบโอติกของพืช ได้แก่ *Bacillus* sp., *Azotobacter* sp., *Rhizobium* sp., *Anabaena* sp., *Lactobacillus* sp., *Saccharomyces* sp., *Trichoderma* sp., *Beuveria* sp., และ *Pseudomonas* sp. (Upadhyay et al., 2012; Tsuda, et al., 2016; Sudhakar et al., 2000) ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้จะทำหน้าที่เพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดินโดยการย่อยสลายซากพืชซากสัตว์และปลดปล่อยธาตุอาหารออกมาให้แก่พืช ช่วยในการตรึงไนโตรเจน ปรับปรุงสมบัติทางกายภาพของดินทำให้อนุภาคของดินเกาะกัน ช่วยปรับปรุงอัตราการแทรกซึมน้ำและการระบายอากาศ ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชโดยการสร้างฮอร์โมน วิตามิน และกรดอินทรีย์ที่เป็นประโยชน์กับพืช ช่วยควบคุมศัตรูพืช เพิ่มความต้านทานให้กับพืช และลดสารเคมีทางการเกษตรที่ตกค้างในดิน (Rillig et al., 2002; Tangprasittipap and Prasertsan, 2002; Vurukonda et al., 2015; Viriyawattana and Surachat, 2014) ผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนประกอบของจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่เกษตรกรนิยมใช้คือ ปุ๋ยชีวภาพ (Biofertilizer)

ปุ๋ยชีวภาพเป็นปุ๋ยที่เกิดจากการนำวัสดุเหลือทิ้งต่าง ๆ เช่น เศษผัก เศษอาหาร เศษใบไม้ นำมาหมักในรูปแบบต่าง ๆ โดยมีจุลินทรีย์ที่อยู่ในวัตถุดิบเป็นตัวช่วยย่อยสลายวัตถุดิบให้กลายเป็นธาตุอาหารแก่พืช รวมถึงมีการเติมจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อพืชลงไปด้วย ซึ่งจุลินทรีย์ที่นิยมนำมาใช้ในการผลิตปุ๋ยหมักชีวภาพได้แก่ *Bacillus* sp. เนื่องจากมีความปลอดภัยสูง พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ สามารถสร้างเอนโดสปอร์ที่ทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญได้ดี เป็นจุลินทรีย์ที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชโดยการสร้างสารควบคุมการเจริญ เช่น Indole-3-acetic acid (IAA), Gibberellins, Salicylic acid, Jasmonic acid รวมถึง Absciscic acid โดย Gibberellins จะกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช โดยการส่งเสริมการงอกของเมล็ด การยืดยาวของลำต้น การพัฒนาของดอก และการติดผลของพืช สำหรับฮอร์โมนในกลุ่มออกซินโดยเฉพาะ IAA และ Indole acetamide (IAM) ที่แบคทีเรียสร้างขึ้นสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของรากพืชได้เช่นเดียวกัน มีรายงานการนำ

B. subtilis ไปใช้ในข้าวโพดพบว่าสามารถช่วยปกป้องรากของข้าวโพดจากเชื้อรา *Fusarium verticillioides* ได้ (Cavaglieri et al., 2005) และจุลินทรีย์ที่นิยมใช้อีกชนิดหนึ่งคือ *Lactobacillus* sp. ซึ่งจะช่วยในการเปลี่ยนสภาพของดิน จากดินไม่ดีหรือดินที่สะสมโรคให้กลายเป็นดินที่ต้านทานโรค โดยการผลิตสารป้องกันและทำลายโรคพืช คือ กรดแลคติก และสารปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งหรือทำลายศัตรูพืชได้ รวมถึงสร้างสารละลายโพแทสเซียมให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ทำให้มีระดับของโพแทสเซียมเพียงพอต่อการนำไปใช้ในการสร้าง ราก ลำต้นและใบของพืช ส่งผลให้พืชมีการเจริญเติบโตที่ดีเกษตรกรจะใช้น้ำของนมเปรี้ยว ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการผลิตปุ๋ยชีวภาพโดยใช้จุลินทรีย์ 2 ชนิด ได้แก่ *L. casei* และ *B. subtilis* และศึกษาประสิทธิภาพของปุ๋ยชีวภาพที่ผลิตได้ต่อการเจริญเติบโตของผักบุ้ง 2 สายพันธุ์ คือ ผักบุ้งจีนยอดไผ่-9 และผักบุ้งใบไผ่เขียวมรกต

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

การเตรียมกล้าเชื้อ

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการศึกษาในครั้งนี้ ได้แก่ *L. casei* TISTR390 ซึ่งได้มาจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย และ *B. subtilis* จากสาขาวิชาวิทยาศาสตร์ประยุกต์และเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี โดยนำเชื้อ *L. casei* มาเลี้ยงบนอาหาร MRS agar และเชื้อ *B. subtilis* เลี้ยงบนอาหาร Nutrient agar (NA) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นใส่เชื้อที่เจริญแล้วลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ภายในบรรจุอาหารเหลว MRS broth ปริมาตร 150 มิลลิลิตร สำหรับเชื้อ *L. casei* และอาหาร Nutrient broth (NB) สำหรับเชื้อ *B. subtilis* ที่ผ่านการนิ่งฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งอัดไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที นำไป cấyบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 50 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

การผลิตปุ๋ยชีวภาพ

ทำการผลิตปุ๋ยชีวภาพ ทั้งหมดจำนวน 5 สูตร ได้แก่ สูตรที่ 1: *L. casei* เพียงอย่างเดียว สูตรที่ 2: *B. subtilis* เพียงอย่างเดียว สูตรที่ 3: *L. casei* และ *B. subtilis* (อัตราส่วน 1:1) สูตรที่ 4: *L. casei* และ *B. subtilis* (อัตราส่วน 3:1) และสูตรที่ 5: *L. casei* และ *B. subtilis* (อัตราส่วน 1:3) โดยในทุกสูตรจะใช้เศษผัก กากน้ำตาล และน้ำในอัตราส่วน 3:1:5 เติมจุลินทรีย์เริ่มต้นความเข้มข้น 10^8 cfu/มิลลิลิตร หมักในถังขนาด 15 ลิตร ที่อุณหภูมิห้อง นาน 35 วัน จากนั้นกรองและนำส่วนใสไปใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

ศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพ

ตรวจวัดปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตในปุ๋ยชีวภาพ โดยนำตัวอย่างปุ๋ยชีวภาพในวันที่ 0, 10, 15, 20, 25, 30 และ 35 มาเจือจางในน้ำกลั่นให้ได้ระดับการเจือจางตั้งแต่ 10^{-1} ถึง 10^{-6} ตรวจหาปริมาณ *L. casei* และ *B. subtilis* โดยใช้อาหาร MRS และ NA ตามลำดับ ด้วยเทคนิค Spread plate บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24 - 48 ชั่วโมง รายงานผลในหน่วย Colony forming unit; cfu/มิลลิลิตร

ศึกษาผลของปุ๋ยชีวภาพต่อการเจริญเติบโตของผักบุ้ง

การศึกษาในครั้งนี้ใช้ผักบุ้งจำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ ผักบุ้งจีนยอดไผ่-9 และผักบุ้งใบไผ่เขียวมรกต โดยการนำเมล็ดผักบุ้งทั้งสองสายพันธุ์ไปแช่น้ำ 1 คืน จากนั้นห่อด้วยผ้าเปียกอีก 2 คืน เพื่อเร่งให้รากงอก และเลือกเอาเฉพาะเมล็ดที่มีรากงอกไป

ปลูกในแปลงทดสอบขนาดกว้าง 30 เซนติเมตร x ยาว 60 เซนติเมตร ใส่เมล็ดผักบุ้งในหลุมหลุมละ 1 เมล็ด โดยแต่ละหลุมห่างกัน 10 เซนติเมตร ใน 1 แปลงจะมีต้นผักบุ้งทั้งหมด 18 ต้น หลังจากครบ 10 วัน ผักบุ้งที่ได้มีความสูงเริ่มต้นใกล้เคียงกัน (3.4 ± 0.0192 ถึง 4.0 ± 0.0000 เซนติเมตร) จากนั้นรดด้วยปุ๋ยชีวภาพที่เจือจางด้วยน้ำประปา (อัตราส่วน 1:9) ปริมาตร 1 ลิตร ทุก ๆ 5 วัน จนครบ 35 วัน โดยรดในช่วงเวลา 09.00-10.00 น. และรดด้วยน้ำประปาทุกวันต่อเนื่องนาน 35 วัน ในทุกชุดการทดลอง (ในวันที่มีการรดด้วยปุ๋ยชีวภาพจะรดด้วยน้ำประปาปริมาตร 4 ลิตร ส่วนในวันที่ไม่มีการรดด้วยปุ๋ยชีวภาพจะรดด้วยน้ำประปาปริมาตร 5 ลิตร) ศึกษาการเจริญเติบโตของผักบุ้ง โดยวัดความสูงของลำต้น น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความยาวใบ และความยาวราก เมื่อปลูกผ่านไปเป็นเวลา 10, 15, 20, 25, 30 และ 35 วัน

การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized Design; CRD) แต่ละทรีทเมนต์จะทำการทดสอบ 3 ซ้ำ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 99 และรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ผลการวิจัย

ผลของปุ๋ยชีวภาพต่อการเจริญเติบโตของผักบุ้ง

ผลของน้ำหนักสด

ผลการศึกษาน้ำหนักสดของผักบุ้งทั้ง 2 สายพันธุ์ ที่รดด้วยปุ๋ยชีวภาพทั้ง 5 สูตร เป็นเวลา 35 วัน พบว่าน้ำหนักสดเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่ใช้ในการเพาะปลูก โดยในผักบุ้งจินยอดไผ่-9 ที่รดด้วยปุ๋ยชีวภาพสูตรที่ 5 มีน้ำหนักสดเฉลี่ยเพิ่มขึ้นสูงที่สุดเท่ากับ 1.17 ± 0.0055 กรัม รองลงมาคือผักบุ้งที่รดด้วยปุ๋ยชีวภาพสูตรที่ 1 สูตรที่ 2 สูตรที่ 3 สูตรที่ 4 และชุดควบคุม โดยมีน้ำหนักสดเฉลี่ยเท่ากับ 0.82 ± 0.0027 , 0.82 ± 0.0074 , 0.71 ± 0.0086 , 0.70 ± 0.0042 และ 0.63 ± 0.0054 กรัม ตามลำดับ ส่วนในผักบุ้งใบไผ่เขียวมรกตพบว่าการรดด้วยปุ๋ยชีวภาพสูตรที่ 5 ผักบุ้งมีน้ำหนักสดเฉลี่ยสูงที่สุดเท่ากับ 1.22 ± 0.0150 กรัม รองลงมาคือปุ๋ยชีวภาพสูตรที่ 2 สูตรที่ 1 สูตรที่ 4 สูตรที่ 3 และชุดควบคุม โดยมีน้ำหนักสดเท่ากับ 0.83 ± 0.0066 , 0.30 ± 0.0045 , 0.75 ± 0.0015 , 0.70 ± 0.018 และ 0.67 ± 0.0043 กรัม ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักสดของผักบุ้งทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่าเป็นไปในทิศทางเดียวกัน โดยการใช้ปุ๋ยชีวภาพสูตรที่ 5 มีผลต่อน้ำหนักสดของผักบุ้งทั้ง 2 สายพันธุ์มากที่สุด ทำให้ผักบุ้งใบไผ่เขียวมรกตมีน้ำหนักสดสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) (ตารางที่ 1) และสูงกว่าชุดควบคุม 2 เท่า

ผลของน้ำหนักแห้ง

ผลการศึกษาน้ำหนักแห้งของผักบุ้งจินยอดไผ่-9 เมื่อรดด้วยปุ๋ยชีวภาพเป็นเวลา 35 วัน พบว่าในทุกชุดการทดลองจะมีน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่ใช้ในการเพาะปลูกโดยการรดด้วยปุ๋ยชีวภาพสูตรที่ 5 ผักบุ้งมีน้ำหนักแห้งเฉลี่ยสูงที่สุดเท่ากับ 0.50 ± 0.0071 กรัม รองลงมาคือผักบุ้งที่รดด้วยปุ๋ยชีวภาพสูตรที่ 1 สูตรที่ 2 สูตรที่ 4 สูตรที่ 3 และชุดควบคุม ซึ่งมีน้ำหนักแห้งเฉลี่ยเท่ากับ 0.39 ± 0.0029 , 0.37 ± 0.049 , 0.33 ± 0.0012 , 0.32 ± 0.0027 และ 0.30 ± 0.044 กรัม ตามลำดับ ส่วนในผักบุ้งใบไผ่เขียวมรกต พบว่าผักบุ้งที่รดด้วยปุ๋ยชีวภาพสูตรที่ 5 มีน้ำหนักแห้งเฉลี่ยสูงที่สุดเท่ากับ 0.50 ± 0.0042 กรัม รองลงมาคือผักบุ้งที่รดด้วยปุ๋ยชีวภาพสูตรที่ 2 สูตรที่ 1 สูตรที่ 4 สูตรที่ 3 และชุดควบคุม ซึ่งมีน้ำหนักแห้งเฉลี่ยเท่ากับ 0.39 ± 0.0095 , 0.37 ± 0.0066 , 0.35 ± 0.0068 , 0.33 ± 0.0021 และ 0.32 ± 0.0026 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 1) นอกจากนี้จากการสังเกตพบว่า ผักบุ้งที่รดด้วยปุ๋ยชีวภาพทุกสูตรมีน้ำหนักแห้งสูงกว่าชุดควบคุม

ผลของความยาวราก

ผลของความยาวของรากผักบุ้งจีนยอดไผ่-9 เมื่อรดด้วยปุ๋ยชีวภาพเป็นเวลา 35 วัน พบว่าการรดด้วยปุ๋ยชีวภาพสูตรที่ 2 ผักบุ้งมีความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 5.4 ± 1.1510 เซนติเมตร ขณะที่ผักบุ้งไผ่เขียวมรกต พบว่าเมื่อรดด้วยปุ๋ยชีวภาพสูตรที่ 5 ผักบุ้งมีความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 6.1 ± 0.3079 เซนติเมตร (ตารางที่ 1)

ผลของความสูงของลำต้น

ผลของความสูงของลำต้นผักบุ้งจีนยอดไผ่-9 ที่ผ่านการรดด้วยปุ๋ยชีวภาพเป็นเวลา 35 วัน พบว่าลำต้นของผักบุ้งมีความยาวเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ตามระยะเวลาที่ปลูกการรดด้วยปุ๋ยชีวภาพสูตรที่ 5 ทำให้ผักบุ้งมีความสูงเฉลี่ยของลำต้นมากที่สุดเท่ากับ 16.4 ± 0.0333 เซนติเมตร รองลงมาคือปุ๋ยชีวภาพสูตรที่ 1 สูตรที่ 2 สูตรที่ 3 สูตรที่ 4 และชุดควบคุม มีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 15.2 ± 0.0667 , 15.0 ± 0.0385 , 10.6 ± 0.0192 , 10.5 ± 0.0509 และ 10.3 ± 0.0509 เซนติเมตร ตามลำดับ เช่นเดียวกับในผักบุ้งไผ่เขียวมรกต พบว่า ลำต้นของผักบุ้งจะมีความยาวขึ้นเรื่อย ๆ ตามระยะเวลาที่ปลูก โดยเฉพาะการรดด้วยปุ๋ยชีวภาพสูตรที่ 5 ทำให้ความสูงเฉลี่ยของลำต้นสูงที่สุดเท่ากับ 16.5 ± 0.1528 เซนติเมตร รองลงมาคือสูตรที่ 1 สูตรที่ 2 สูตรที่ 3 สูตรที่ 4 และชุดควบคุม มีความยาวเท่ากับ 15.0 ± 0.0333 , 15.0 ± 0.0385 , 10.7 ± 0.06467 , 10.6 ± 0.0509 และ 10.6 ± 0.0509 เซนติเมตร ตามลำดับ โดยการรดด้วยปุ๋ยชีวภาพสูตรที่ 5 จะทำให้ผักบุ้งทั้งสองสายพันธุ์มีความสูงเฉลี่ยของลำต้นสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) (ตารางที่ 1)

ผลของความยาวใบ

ผลการศึกษาความยาวใบของผักบุ้งจีนยอดไผ่-9 และผักบุ้งไผ่เขียวมรกต เมื่อรดด้วยปุ๋ยชีวภาพเป็นเวลา 35 วัน (ตารางที่ 1) พบว่าการรดด้วยปุ๋ยชีวภาพสูตรที่ 5 ทำให้ใบของผักบุ้งทั้ง 2 สายพันธุ์ มีความยาวเฉลี่ยมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) โดยในผักบุ้งจีนยอดไผ่-9 มีความยาวใบเฉลี่ยสูงที่สุดเท่ากับ 6.6 ± 0.2269 เซนติเมตร และใบของผักบุ้งไผ่เขียวมรกตมีความยาวเฉลี่ยสูงที่สุดเท่ากับ 6.4 ± 0.1528 เซนติเมตร

ผลของจำนวนใบ

การนับจำนวนใบของผักบุ้งจีนยอดไผ่-9 และผักบุ้งไผ่เขียวมรกต เมื่อรดด้วยปุ๋ยชีวภาพเป็นเวลา 35 วัน พบว่ามีจำนวนใบมากขึ้นเรื่อย ๆ และอาจมีการแปรผัน เนื่องจากผักบุ้งมีการเจริญเพิ่มขึ้น จำนวนใบจะมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะโดยการแตกยอดใบขึ้นมาใหม่ ซึ่งทำให้มีจำนวนใบที่แตกต่างกัน โดยการรดด้วยปุ๋ยชีวภาพสูตรที่ 5 แก่ผักบุ้งจีนยอดไผ่-9 และผักบุ้งไผ่เขียวมรกต ทำให้มีจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด (6.6 ± 0.5092 และ 6.9 ± 0.8389 ใบต่อต้น ตามลำดับ) เมื่อเทียบกับการรดด้วยปุ๋ยชีวภาพสูตรอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความยาวราก ความสูงของลำต้น ความยาวใบ และจำนวนใบของผักบุ้งทั้งสองสายพันธุ์ที่รดด้วยปุ๋ยชีวภาพ นาน 35 วัน

ตัวอย่าง	ชุดควบคุม	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	สูตรที่ 3	สูตรที่ 4	สูตรที่ 5	F-test	C.V. (%)
น้ำหนักสด (กรัม)								
ผักบุ้งจีนยอดไผ่-9	0.63 ± 0.0054^d	0.82 ± 0.0027^b	0.82 ± 0.0074^b	0.71 ± 0.0086^c	0.70 ± 0.0042^c	1.17 ± 0.0055^a	**	0.74
ผักบุ้งไผ่เขียวมรกต	0.67 ± 0.0043^f	0.80 ± 0.0045^c	0.83 ± 0.0066^b	0.70 ± 0.0118^e	0.75 ± 0.0015^d	1.22 ± 0.0150^a	**	1.04
น้ำหนักแห้ง (กรัม)								
ผักบุ้งจีนยอดไผ่-9	0.30 ± 0.0044^f	0.39 ± 0.0029^b	0.37 ± 0.0049^c	0.32 ± 0.0027^e	0.33 ± 0.0012^d	0.50 ± 0.0071^a	**	1.16
ผักบุ้งไผ่เขียวมรกต	0.33 ± 0.0026^e	0.37 ± 0.0066^c	0.39 ± 0.0095^b	0.33 ± 0.0020^e	0.35 ± 0.0068^d	0.50 ± 0.0042^a	**	1.57
ความยาวราก (เซนติเมตร)								
ผักบุ้งจีนยอดไผ่-9	3.6 ± 0.6173^{ab}	3.5 ± 0.2457^{ab}	5.4 ± 1.1510^a	5.2 ± 0.5699^{ab}	3.4 ± 0.7820^b	4.8 ± 0.7211^{ab}	**	16.85

ผักบุ้งใบไม้เขียว	4.3±0.3672 ^{ab}	5.9±0.7876 ^a	5.8±0.2887 ^a	4.9±0.1540 ^{ab}	5.2±0.7988 ^{ab}	6.1±0.3079 ^a	**	9.69
มรกต								
ความสูงของลำต้น (เซนติเมตร)								
ผักบุ้งจีนยอดไผ่-9	10.3±0.0509 ^e	15.2±0.0667 ^b	15.0±0.0385 ^c	10.6±0.0192 ^d	10.5±0.0509 ^d	16.4±0.0333 ^a	**	0.34
ผักบุ้งใบไม้เขียว	10.6±0.0509 ^c	15.0±0.0333 ^b	15.0±0.0385 ^b	10.7±0.0667 ^c	10.6±0.0509 ^c	16.5±0.1528 ^a	**	0.59
มรกต								
ความยาวใบ (เซนติเมตร)								
ผักบุ้งจีนยอดไผ่-9	4.3±0.2524 ^b	5.5±0.6669 ^{ab}	6.2±0.8718 ^a	5.5±0.3339 ^{ab}	4.3±0.1667 ^b	6.6±0.2269 ^a	**	9.10
ผักบุ้งใบไม้เขียว	4.7±0.2589 ^c	5.0±0.5699 ^{bc}	5.6±0.6557 ^{abc}	4.7±0.1072 ^c	5.8±0.1388 ^{ab}	6.4±0.1528 ^a	**	7.03
มรกต								
จำนวนใบ (ใบ)								
ผักบุ้งจีนยอดไผ่-9	5.2±0.3849 ^b	5.4±0.1925 ^b	5.4±0.5092 ^b	5.6±0.1925 ^{ab}	5.2±0.5092 ^b	6.6±0.5092 ^a	**	7.50
ผักบุ้งใบไม้เขียว	4.9±0.1925 ^b	5.2±0.1925 ^b	5.4±0.5092 ^b	5.2±0.1925 ^b	5.2±0.3849 ^b	6.9±0.8389 ^a	**	8.33
มรกต								

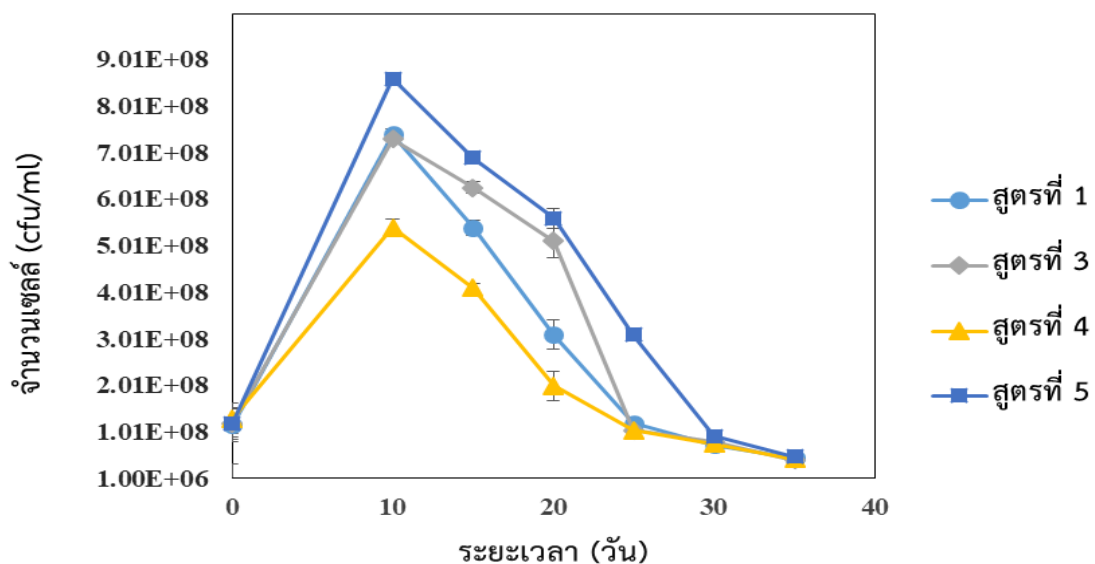
หมายเหตุ : - ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และรายงานค่าในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean±SD)

- อักษร ^{a-f} ที่แตกต่างกันในแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 99 (p<0.01)

ผลการศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพที่ผลิตได้

ผลการศึกษาปริมาณเชื้อ *L. casei*

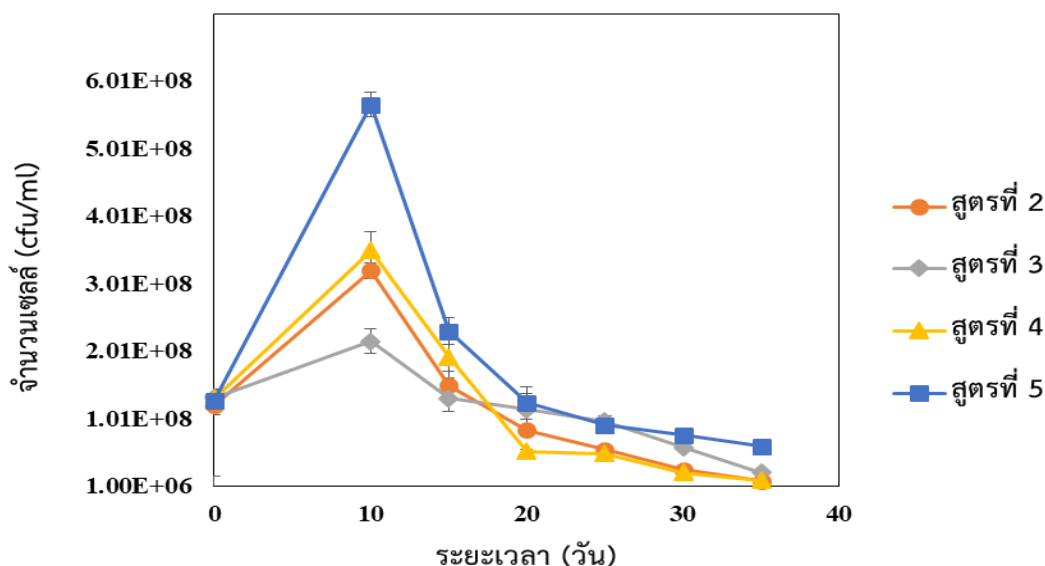
การศึกษาปริมาณของ *L. casei* ในระหว่างการนำไปปรับดินแปลงผักบุ้งเป็นระยะเวลา 35 วัน โดยวิเคราะห์ปริมาณของเชื้อ *L. casei* ในปุ๋ยชีวภาพสูตรที่ 1, 3, 4 และ 5 ซึ่งมีเชื้อ *L. casei* เป็นส่วนประกอบ พบว่า แม้ว่าจะระยะเวลานานมากขึ้น แต่ปริมาณของเชื้อ *L. casei* ในปุ๋ยชีวภาพแต่ละสูตรก็ยังอยู่ในช่วง 10^7 cfu/มิลลิลิตร ($4.0 \times 10^7 \pm 2.0 \times 10^6$ - $4.8 \times 10^7 \pm 1.70 \times 10^6$ cfu/มิลลิลิตร) ซึ่งเป็นช่วงความหนาแน่นที่เหมาะสมในการทำงานของจุลินทรีย์ (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *L. casei* ในปุ๋ยชีวภาพในระหว่างการนำไปปรับผักบุ้งระหว่างวันที่ 0 - 35

ผลการศึกษาปริมาณเชื้อ *B. subtilis*

ผลการศึกษาปริมาณเชื้อ *B. subtilis* ในระหว่างการนำโปรตีนแปลงผักบั้ง เป็นระยะเวลา 35 วัน โดยวิเคราะห์ปริมาณของ *B. subtilis* ในปุ๋ยชีวภาพสูตรที่ 2, 3, 4 และ 5 ซึ่งมีเชื้อ *B. subtilis* เป็นส่วนประกอบ พบว่าแม้ว่าระยะเวลาในการหมักปุ๋ยชีวภาพจะนานมากขึ้น แต่ปริมาณเชื้อ *B. subtilis* ในแต่ละสูตร (9.0×10^6 - $1.7 \times 10^5 \pm 6.0 \times 10^7$ - 2.3×10^6 cfu/มิลลิลิตร) ก็ยังคงมีปริมาณสูงและอยู่ในช่วงที่เหมาะสมในการทำงาน (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *B. subtilis* ในปุ๋ยชีวภาพในระหว่างการนำโปรตีนผักบั้งระหว่างวันที่ 0 - 35

การอภิปรายผล

เมื่อนำปุ๋ยชีวภาพที่ผลิตได้จากการหมักเศษผัก กากน้ำตาล ร่วมกับจุลินทรีย์ 2 ชนิด ได้แก่ *L. casei* และ *B. subtilis* โดยในปุ๋ยสูตรที่ 1 และ 2 จะใช้เชื้อเดียว และในสูตรที่ 3, 4 และ 5 ใช้เป็นเชื้อผสม ผลจากการใช้เชื้อเดียว *L. casei* (สูตรที่ 1) เพียงชนิดเดียวพบว่า ช่วยให้ผักบั้งทั้งสองสายพันธุ์มีน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความยาวลำต้น และความยาวใบมีค่าสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) ในขณะที่การใช้เชื้อเดียว *B. subtilis* (สูตรที่ 2) เพียงชนิดเดียว นั้นให้ผลที่ต่ำกว่าการใช้เชื้อ *L. casei* เพียงอย่างเดียว โดยการใช้ *B. subtilis* เพียงเชื้อเดียวนั้นสามารถช่วยส่งเสริมให้ผักบั้งทั้งสองสายพันธุ์มีความยาวรากมากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) นอกจากนี้ยังช่วยส่งเสริมให้ผักบั้งจินยอดไผ่-9 มีความยาวของใบมากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) อีกด้วย ส่วนความยาวราก และจำนวนใบ นั้นในการใช้เชื้อเดียวทั้งการใช้เชื้อ *L. casei* และ *B. subtilis* เพียงอย่างเดียว ในผักบั้งทั้งสองสายพันธุ์ให้ค่าที่สูงกว่าชุดควบคุมแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.01$) จากผลการทดลองที่ได้จะเห็นว่าความยาวรากผักบั้งทั้งสองสายพันธุ์มีความแปรผันเนื่องจากการเก็บตัวอย่างโดยการถอน อาจมีรากบางส่วนที่ขาดและผักบั้งมีระบบรากแก้วที่มีการแตกแขนงเป็นรากฝอยทำให้การวัดอาจเกิดความคลาดเคลื่อน (ตารางที่ 1) ส่วนความยาวของใบเฉลี่ยจะมีค่าค่อนข้างแปรผัน เนื่องจากเมื่อผักบั้งมีการเจริญก็จะทำให้มีจำนวนใบมากขึ้น ซึ่งแต่ละใบก็จะมีขนาดที่แตกต่างกัน โดยทั่วไปอายุการเพาะปลูกปกติของผักบั้งคือ 20-25 วัน ซึ่งจะมีความสูงประมาณ 30-35 เซนติเมตร แต่จากผลการศึกษาในครั้งนี้ผักบั้งทั้งสองสายพันธุ์มีความยาวลำต้นสูงสุด ประมาณ 16.5 เซนติเมตร

อาจเป็นผลเนื่องมาจากการทดลองนั้นไม่มีการใส่ปุ๋ยชนิดอื่น ๆ ในแปลงปลูก โดยรดแค่น้ำประปาและปุ๋ยชีวภาพเท่านั้น เพราะต้องการทราบว่า การใช้ปุ๋ยชีวภาพในการรดผักบั้งนั้นมีผลอย่างไรต่อการเจริญของผักบั้งโดยป้องกันไม่ให้มีปัจจัยอื่น ๆ เข้ามาเกี่ยวข้อง

ดังนั้นจากผลการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการใช้เชื้อ *L. casei* หรือ *B. subtilis* เพียงอย่างเดียวสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักบั้งทั้งสองสายพันธุ์ได้ โดย *L. casei* ผลิตรวดแลคติก และสร้างสารละลายโพแทสเซียมให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ ทำให้มีระดับของโพแทสเซียมเพียงพอต่อการนำไปใช้ในการสร้าง ราก ลำต้นและใบของผักบั้งทำให้ผักบั้งมีการเจริญที่ดี รวมถึงผลิตสารปฏิชีวนะ (Bacteriocin) ที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่เป็นศัตรูของพืช สอดคล้องกับรายงานของ Mohite (2013) ที่ทำการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตออกซิน (Indole-3-acetic acid; IAA) จากดิน โดยพบว่าจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้นั้น คือ *B. megaterium*, *L. casei*, *B. subtilis*, *B. cereus* และ *L. acidophilus* พบในบริเวณรอบรากข้าวโพด ข้าวสาลี ต้นกล้วย และฝ้าย สามารถผลิต IAA ได้ในช่วง 15-65 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เช่นเดียวกับ Higa and Kinjo (2004) ศึกษาผลของจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติก (*Lactobacillus*) ต่อการเจริญของพืชและการเพิ่มฮิวมัสในดิน โดยการเติม EM4 ซึ่งประกอบด้วยจุลินทรีย์ในสกุล *Lactobacillus* (ร้อยละ 90) จุลินทรีย์สังเคราะห์ด้วยแสง เชื้อรา และยีสต์ ลงในดินที่มีหญ้า สับหรือเศษไม้ชิ้นเล็กๆ เป็นส่วนประกอบ พบว่าการเติม EM4 สามารถช่วยเร่งให้เกิดการย่อยสลายสารอินทรีย์ในดินและปลดปล่อยสารอาหารที่ส่งผลต่อการเจริญให้แก่พืช โดยพบว่าแปลงที่ปลูกในดินที่มีการเติม EM4 มีการเจริญที่ดีกว่าดินที่ไม่มีการเติม EM ส่วน *B. subtilis* สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสที่ย่อยสลายเซลลูโลสซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในเศษพืชหรือผัก ที่นำมาใช้ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพ ให้เกิดเป็นกรดอินทรีย์ และผลิตฮอโมน รวมถึงสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักบั้ง นอกจากนี้ยังช่วยในการแก้ปัญหาดินที่จับตัวเป็นก้อนแข็ง ทำให้ดินร่วนซุย เพิ่มความสามารถในการขยายตัวของราก และการดูดซึมสารอาหารของผักบั้ง ทำให้ผักบั้งมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้ Yao et al. (2007) ศึกษาผลของการใช้ปุ๋ยชีวภาพ FZB 24® *Bacillus subtilis* ที่มีต่อผลผลิตของฝ้าย เปรียบเทียบกับการใช้ปุ๋ยเคมีที่มีธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมเป็นองค์ประกอบ พบว่าการใช้ FZB 24® *Bacillus subtilis* มีประสิทธิภาพสูงในการปรับปรุงการเจริญและผลผลิตของฝ้าย โดยการเพิ่มความสามารถในการขยายตัวของรากและการดูดซึมสารอาหาร

เมื่อรดด้วยปุ๋ยชีวภาพสูตรที่ 3 สูตรที่ 4 และสูตรที่ 5 ซึ่งเป็นสูตรที่ใช้เชื้อผสมระหว่าง *L. casei* และ *B. subtilis* ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน พบว่าการใช้ปุ๋ยชีวภาพสูตรที่ 5 ที่ใช้เชื้อผสมระหว่าง *L. casei* และ *B. subtilis* อัตราส่วน 1:3 เป็นสูตรที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของผักบั้งทั้ง 2 สายพันธุ์ มากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับผลการตรวจนับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตของทั้งสองสายพันธุ์ ที่พบว่ามีปริมาณอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการทำงาน และมีปริมาณสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับปุ๋ยชีวภาพสูตรอื่น ๆ เช่นเดียวกับ Cavaglieri et al. (2005) รายงานว่าแบคทีเรีย *B. subtilis* CE1 เป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ดีที่สุดในการยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อรา *F. verticillioides* โดยการยับยั้งการสร้างสารฟูโมนิซิน (Fumonisin) และเมื่อทดสอบในระดับโรงเรือน โดยใช้ *B. subtilis* CE1 ที่ความหนาแน่น 10^6 , 10^7 และ 10^8 cfu/มิลลิลิตร พบว่าในทุกระดับความหนาแน่นสามารถลดหรือยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. verticillioides* ทั้งบริเวณภายในและภายนอก รากของข้าวโพดได้ แสดงให้เห็นว่าระดับความหนาแน่นของเชื้อจุลินทรีย์ในช่วง 10^6 - 10^8 cfu/มิลลิลิตร เป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการทำงานของจุลินทรีย์

บทสรุป

ปุ๋ยชีวภาพที่ผลิตโดยการหมักเศษผักและกากน้ำตาลร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์ผสม ได้แก่ *L. casei* และ *B. subtilis* ในอัตราส่วน 1:3 เป็นสูตรที่เหมาะสมที่สุดในการเพาะเลี้ยงผักบั้งจีนยอดไม้-9 และผักบั้งใบไม้เขียวมรกต เนื่องจากทำให้ผักบั้งทั้งสองสายพันธุ์มีการเจริญเติบโตสูงที่สุด การรดด้วยปุ๋ยชีวภาพจะทำให้ผักบั้งมีการเจริญมากกว่าในชุดควบคุม เนื่องจากมีจุลินทรีย์ช่วยในการย่อยสลายวัตถุอินทรีย์ในการผลิตปุ๋ยให้เป็นธาตุอาหารที่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตของผักบั้ง แสดงให้เห็นว่าปุ๋ยชีวภาพที่ผลิตได้นั้นมีประสิทธิภาพสามารถนำไปใช้ในการเพาะปลูกพืชได้ และเป็นแนวทางให้กับการนำไปพัฒนาเพื่อผลิตปุ๋ยชีวภาพสำหรับพืชชนิดอื่นต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัย ขอขอบพระคุณ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ประยุกต์และเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี ในการอนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการ และอุปกรณ์ต่าง ๆ ในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Ben R.F., Prévost D., Yezza A. and Tyagi R.D. (2007). Agro-industrial waste materials and wastewater sludge for rhizobial inoculant production: A review. *Bioresource Technology*. 98(18): 3535-3546.
- Cavaglieri L., Orlando J. Rodríguez M.I., Chulze S. and Etcheverry M. (2005). Biocontrol of *Bacillus subtilis* against *Fusarium verticillioides* in vitro and at the maize root level. *Research in Microbiology*. 156(5-6): 748-754.
- Higa T. and Kinjo S. (2004). Effect of lactic acid fermentation bacteria on growth and soil humus formation (online). Available: https://www.researchgate.net/publication/237386239_Effect_of_Lactic_Acid_Fermentation_Bacteria_on_Plant_Growth_and_Soil_Humus_Formation.
- Mohite B. (2013). Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 13(3): 638-649.
- Rillig M.C., Wright S.F. and Eviner V.T. (2002). The role of arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin in soil aggregation: comparing effects of five plant species. *Plant and Soil*. 238: 325-333.
- Sudhakar P., Chattopadhyay G.N., Gangwar S.K. and Ghosh J.K. (2000). Effect of foliar application of *Azotobacter*, *Azospirillum* and *Beijerinckia* on leaf yield and quality of mulberry (*Morus alba*). *The Journal of Agricultural Science*. 134(2): 227-234.
- Tangprasittipap A. and Prasertsan P. (2002). 5-aminolevulinic acid from photosynthetic bacteria and its applications. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 24(4): 717-725.

- Tsuda K., Tsuji G., Higashiyama M., Ogiyama H., Umemura K., Mitomi M., Kubo Y. and Kosaka Y. (2016). Biological control of bacterial soft rot in Chinese cabbage by *Lactobacillus plantarum* strain by under field conditions. *Biological Control*. 100: 63-69.
- Upadhyay S.K., Singh J.S., Saxena A.K. and Singh D.P. (2012). Impact of PGPR inoculation on growth and antioxidant status of wheat under saline conditions. *Plant Biology*. 14(4): 605-611.
- Viriyawattana N. and Surachat S. (2014). Biodegradation of paraquat by the novel bacteria strain, *Aeromonas veronii* NK67 from cassava fields in Thailand. *Asian Journal Microbiology, Biotechnology & Environmental sciences paper*. 16(1): 35-40.
- Vurukonda S.S.K.P., Vardharajula S., Shrivastava M. and Skz A. (2015). Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiological Research*. 184: 13-24.
- Yao A.V., Bochow H., Karinov S., Boturov U., Sanginboy S. and Sharipov A.K. (2007). Effect of FZB 24® *Bacillus subtilis* as a biofertilizer on cotton yields in field tests. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 39(4): 322-328.