

ผลของปุ๋ยมูลไส้เดือนดินร่วมกับແແແแຕงต่อการเจริญเติบโต ของผักสลัดกรีนโอ๊ค

Effects of Vermicompost and Water Fern (*Azolla pinnata*) on Growth of Green Oak Lettuce (*Lactuca sativa*)

พิชญ์ ตั้งสมบัติวิจิตร^{1*} ปวีณา สุขสอาด¹ อุทาน บุณณศักดิ์ศรี² และ กิตติ บุญเลิศนรินทร์³

Pitchya Tangsombatvichit^{1*}, Paweena Suksaard¹, Utharn Buranasaksee² and Kitti Boonlerthirun³

Received: 20 February 2020, Revised: 24 March 2020, Accepted: 2 April 2020

บทคัดย่อ

ปัจจุบันเกษตรกรยุคใหม่ใส่ใจการปลูกผักปลอดภัย ในขณะที่ผู้บริโภคได้ให้ความสำคัญต่อคุณภาพผลผลิตมากขึ้น ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของผักสลัดกรีนโอ๊คในดินที่ใส่ปุ๋ยแตกต่างกัน โดยสิ่งทดลองทั้งหมดมี 7 สิ่งทดลอง คือ 1) ปุ๋ยมูลไส้เดือนดิน 2) แหะແแຕง 3) ปุ๋ยมูลไส้เดือนดินร่วมกับแหะແแຕง 4) น้ำหมักปุ๋ยมูลไส้เดือนดิน 5) ปุ๋ยมูลไส้เดือนดินร่วมกับน้ำหมักปุ๋ยมูลไส้เดือนดิน 6) ปุ๋ยเคมี และ 7) ไม่ใส่ปุ๋ย (ชุดควบคุม) ผลการทดลองพบว่า ผักสลัดปลูกในดินที่ใส่ปุ๋ยมูลไส้เดือนดินร่วมกับแหะແแຕง มีการเจริญเติบโตดีที่สุด มีการสะสมของไนเตรทน้อยที่สุดเท่ากับ 0.68 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ยังพบการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* น้อยกว่า 100 CFU ต่อกรัม นอกจากนี้ ในปุ๋ยมูลไส้เดือนดินยังพบว่ามีแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติตรึงไนโตรเจนในอากาศ คือ แบคทีเรีย ME02 แสดงผลค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของแอมโมเนียมากที่สุด

¹ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ (จุลชีววิทยา) คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ จังหวัดพระนครศรีอยุธยา 13000

¹ Department of Science (Microbiology), Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Suvarnabhumi, PhraNakhon Si Ayutthaya 13000, Thailand.

² สาขาวิชาวิทยาการคอมพิวเตอร์ (เทคโนโลยีสารสนเทศ) คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ จังหวัดสุพรรณบุรี 7213

² Department of Computer Science (Information Technology), Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Suvarnabhumi, Supanburi 72130, Thailand.

³ สาขาวิชาพืชศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ จังหวัดพระนครศรีอยุธยา 13000

³ Department of Plant Science, Faculty of Agricultural Technology and Agro-Industry, Rajamangala University of Technology Suvarnabhumi, PhraNakhon Si Ayutthaya 13000, Thailand.

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (Corresponding author, e-mail): pitchya.t@rmutsb.ac.th Tel: 08 0459 2479

ที่ OD₅₆₀ เท่ากับ 1.0±0.0 เมื่อเทียบกับแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนในอากาศ *Azotobacter vinelandii* (แบคทีเรียควบคุม) เมื่อนำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีบางประการแล้ว มีความเป็นไปได้สูงว่าแบคทีเรีย ME02 จัดอยู่ในสกุล *Azotobacter* ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชใบ ดังนั้นการปลูกผักสลัดกรีนโอ๊คที่ใช้ปุ๋ยมูลไส้เดือนดินและเหานแดง ไม่เพียงแต่จะได้ผักสลัดที่มีคุณภาพดี ยังลดการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหารน้อยลง และการสะสมของไนเตรตต่ำ ดังนั้นปุ๋ยมูลไส้เดือนดินผสมเหานแดงจึงเหมาะสมส่งเสริมให้เกษตรกรใช้ในการปลูกผักสลัดและผักชนิดอื่นแบบใช้ดิน

คำสำคัญ: ปุ๋ยมูลไส้เดือนดิน, เหานแดง, ผักสลัดกรีนโอ๊ค, การปลูกพืชแบบใช้ดิน

ABSTRACT

Recently, smart farmers focus on safety vegetable production and consumers give more priority to product quality. Then, the aim of this research is to study and compare the growth of green oak lettuce (*Lactuca sativa*) on soil with different fertilizers which included 7 treatments: 1) vermicompost, 2) water fern, 3) vermicompost with water fern, 4) vermicompost water extracts, 5) vermicompost with vermicompost water extracts, 6) chemical fertilizer and 7) without fertilizer (control). The results showed that the soil with vermicompost and water fern added had the highest growth rate of green oak lettuce. This treatment had the least nitrate accumulation level of 0.68 mg/g of dry weight. Also, the rate of contamination of bacterial gastrointestinal pathogens, *Escherichia coli*, was less than 100 CFU/g. In addition, nitrogen fixing bacteria, isolate ME02, in the vermicompost showed higher ammonia concentration at OD₅₆₀ of 1.0±0.0, compared to well-known nitrogen fixing bacteria, *Azotobacter vinelandii* (controlled bacteria). Based on morphological and physiological characteristics and biochemical taxonomy, there was a high possibility that isolate ME02 was classified as a member of the genus *Azotobacter* which was plant growth-promoting bacteria. Therefore, green oak growing in soil with vermicompost and water fern not only produces good quality of salad vegetable but also reduce bacteria contamination that caused gastrointestinal infection and reduce low level of nitrate accumulation. In conclusion, it is recommended to use vermicompost mixed with water fern to grow salad vegetable and others of soil-based crops.

Key words: vermicompost fertilizer, water fern, green oak lettuce, soil culture

บทนำ

การดูแลสุขภาพมีบทบาทต่อการใช้ชีวิตของคนในยุคปัจจุบัน ผู้บริโภคให้ความสำคัญในการคัดเลือกประเภทของอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการ

สูง สะอาด และปลอดภัย ผักสลัดเป็นอาหารประเภทหนึ่งที่มีวิตามิน แร่ธาตุ เส้นใย และสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีความจำเป็นต่อความแข็งแรงของร่างกาย ลดอัตราการเกิดโรคและการอักเสบที่เกิดขึ้นจาก

อนุมูลอิสระภายในร่างกาย และยังช่วยรักษาสมดุลภายในร่างกายให้ระบบการทำงานต่างๆ ดำเนินไปได้ด้วยความเหมาะสม (Dias, 2012) ผักสลัด จึงเป็นที่นิยมรับประทานมากขึ้น จัดว่าเป็นพืชผักชนิดหนึ่งที่มีมูลค่าสูง ส่งผลให้มีเกษตรกรสนใจปลูกผักสลัดเพิ่มขึ้น ผักสลัดจัดเป็นผักกินใบ ดังนั้นปุ๋ยที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตที่สำคัญ คือ ปุ๋ยเคมี หรือปุ๋ยหมัก ที่ให้ธาตุไนโตรเจน (N) และແແແແที่มืจุลินทรีย์ช่วยในการตรึงไนโตรเจนในอากาศ แหแแแแ (*Azolla* sp.) เป็นวัสดูอินทรีย์อีกชนิดหนึ่งที่นิยมนำมาใช้ในการปลูกพืชผัก มีประโยชน์ต่อการเพิ่มไนโตรเจนสำหรับพืชกินใบ เช่น ผักสลัด เป็นต้น ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช และยังช่วยแก้ปัญหาดินขาดธาตุไนโตรเจน รวมทั้งเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม แหแแแแ มีสารห้ำสีเขียวแแแแแเป็นแบคทีเรียที่มีชื่อว่า *Anabaena azollae* มีคุณสมบัติในการตรึงไนโตรเจนในอากาศได้ดี ทำให้แหแแแแมีธาตุไนโตรเจนอยู่สูง 4-5% น้ำหนักแห้ง และยังมีธาตุอาหารพืชอื่นๆ อีกด้วย คือ ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม ที่ช่วยให้พืชแข็งแรงต้านทานต่อโรคและแมลง (Nam and Yoon, 2008) การปลูกผักสลัดในยุคแรกจะปลูกลงดิน แต่ปัญหาของการปลูกพืชในดินร่วมกับการใช้ปุ๋ยเคมี คือ 1) เมื่อปลูกผักไปหลายรอบการปลูก ปริมาณธาตุอาหารพืชจะลดน้อยลง โดยเฉพาะธาตุไนโตรเจน ซึ่งเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของผักกินใบและผักสลัด 2) ค่าความเป็นกรด-ด่างเปลี่ยนแปลงไปทำให้การละลายของธาตุอาหารพืชไม่ดีเท่าที่ควร พืชดูดซึมธาตุอาหารได้น้อยลง 3) ปริมาณเกลือสูงขึ้น โครงสร้างทางกายภาพของดินไม่เอื้ออำนวยต่อการไหลของน้ำ ดินอัดตัวกันแน่น ไม่มีช่องว่างของอากาศ 4) ปริมาณจุลินทรีย์ที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชลดลง แต่เพิ่มจุลินทรีย์ที่อาจก่อโรคกับพืชและสะสมในเนื้อเยื่อพืชมากขึ้น (Gruda et al., 2013)

จากปัญหาดังกล่าว จึงมีการพัฒนาระบบการปลูกพืชไร้ดิน (hydroponics) หรือการปลูกพืชใช้น้ำในโรงเรือน การปลูกผักสลัดด้วยวิธีนี้ มีข้อดีคือไม่ใช้ดิน ใช้เพียงสารละลายปุ๋ยน้ำ และอยู่ในการควบคุมปัจจัยต่างๆ ในการเจริญเติบโตของพืช ภายในโรงเรือน สามารถกำหนดขนาดพื้นที่ปลูกได้ และใช้พื้นที่น้อยกว่าการปลูกพืชใช้ดิน แต่ปัญหาที่พบคือ 1) ต้องมีงบประมาณลงทุนสูงในการสร้างโรงเรือนควบคุมปัจจัยต่างๆ 2) ต้องมีงบประมาณลงทุนสร้างรางปลูกผัก สร้างระบบท่อน้ำ 3) ปุ๋ยน้ำที่ใช้เป็นสารละลายปุ๋ยเคมี ซึ่งมีโอกาสสูงต่อการตกค้างในเนื้อเยื่อของผัก โดยเฉพาะไนเตรท (NO_3^-) 4) มีโอกาสสูงที่จะปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียก่อโรครทางเดินอาหาร คือ *Escherichia coli* ที่ปนเปื้อนมากับน้ำที่ใช้ในระบบท่อน้ำ 5) มีข้อจำกัดเมื่อขยายขนาดเป็นการปลูกระดับการค้า หากมีการปนเปื้อนของเชื้อก่อโรครมากับน้ำ ผักที่ปลูกรอบนั้นทั้งหมดจะเสียคุณภาพต่อการบริหารจัดการในภาพรวม (Hussain et al., 2014) หากผู้บริโภครับประทานพืชผักที่มีปริมาณไนเตรทสะสมอยู่มากและเข้าสู่ร่างกาย จะเป็นอันตรายต่อสุขภาพผู้บริโภค โดยเฉพาะเด็กและสตรีมีครรภ์

กระบวนการการปลูกพืชปลอดภัย คือ มีการนำวัสดุที่เป็นอินทรีย์หรือ วัสดุจากธรรมชาติมาใช้ในขั้นตอนการปลูกให้มากที่สุด และใช้สารเคมีเท่าที่จำเป็น ในปัจจุบันการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ที่มีคุณภาพสูงคือการนำเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยมูลไส้เดือนดินมาใช้ในการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ประเภทนี้ เป็นการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ที่มีพื้นฐานมาจากการผลิตปุ๋ยหมัก ร่วมกับการทำงานของไส้เดือนดินสายพันธุ์ต่างๆ เช่น African night crawler (*Eudrilus eugeniae*) เป็นต้น ไส้เดือนดินชนิดนี้มีคุณสมบัติทนต่ออุณหภูมิสูงได้ถึง 35 องศาเซลเซียส ย่อยวัสดูอินทรีย์ได้หลายชนิด และเจริญเติบโตไว ไส้เดือนดินจึงเป็นผู้ช่วยที่ดีในการย่อยสลายขยะอินทรีย์ วัชพืช และวัสดูเหลือทิ้งทาง

การเกษตร รวมทั้งวัสดุอินทรีย์ตามครัวเรือนและแหล่งชุมชน เพื่อผลิตเป็นปุ๋ยในการปลูกพืช (Domínguez *et al.*, 2001) ข้อดีของปุ๋ยมูลไส้เดือนดิน ช่วยปรับสภาพดินให้ดีขึ้น ดินมีความร่วนซุย เพิ่มช่องว่างในดิน ช่วยกักเก็บน้ำในดิน ทำให้จุลินทรีย์ดินบริเวณรากพืชทำงานได้ดี (Sinha *et al.*, 2010) มีงานวิจัยที่นำไส้เดือนดินชนิด *E. eugeniae* มาช่วยย่อยเศษวัสดุเหลือทิ้งจากแปลงปลูกมะเขือเทศ เพื่อผลิตปุ๋ยมูลไส้เดือน ผลการทดลองพบว่า ปุ๋ยที่ผลิตได้เมื่อนำไปวิเคราะห์ ให้ค่าธาตุอาหารหลัก N, P และ K สูงกว่าค่าที่กำหนดของปุ๋ยอินทรีย์มาตรฐานและสามารถใช้ปลูกผักกาดขาวจีนและบวบขึ้นได้คุณภาพดีกว่าการใช้ปุ๋ยเคมี (Klangkongsub and Sohsalam, 2013) เช่นเดียวกันกับ งานวิจัยที่ผลิตปุ๋ยมูลไส้เดือนดิน จากเศษวัสดุอินทรีย์เหลือทิ้งทางการเกษตร วัสดุเหลือทิ้งจากการเพาะเห็ด และเศษผักผลไม้ เปลือกผลไม้จากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตนมเปรี้ยว ด้วยการทำงานของไส้เดือนดินสายพันธุ์ *E. eugeniae* ผลการทดลองพบว่า ปุ๋ยมูลไส้เดือนดินที่ผลิตได้มีคุณภาพดี มีค่าธาตุอาหารหลัก N, P และ K มากกว่าค่าที่กำหนดของปุ๋ยอินทรีย์มาตรฐาน และยังส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นทานตะวันได้ดีเทียบเท่าการใช้ปุ๋ยเคมี (Tangsombatvichit *et al.*, 2016) ปุ๋ยมูลไส้เดือนดินที่มีส่วนผสมของถ่านแท่งเหลือทิ้งและหัวมันเทศคั่วทั้ง ที่ผ่านกระบวนการย่อยด้วยไส้เดือนดินสายพันธุ์ *E. eugeniae* พบว่า มีธาตุอาหารพืช N, P และ K มากกว่าค่าที่กำหนดของปุ๋ยอินทรีย์มาตรฐาน โดยเฉพาะธาตุ K ที่สูงมากที่สุด ปุ๋ยนี้ยังมีคุณสมบัติของความเป็นปุ๋ยอินทรีย์ตามเกณฑ์มาตรฐานกำหนด รวมทั้งมีจุลินทรีย์เฉลี่ยทั้งหมดในปุ๋ยอยู่ถึง 2.83×10^6 CFU/g (Tangsombatvichit and Ketrot, 2018)

ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยชิ้นนี้จึงสนใจทำการศึกษาและเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของผักสลัดในดินโดยใช้ปุ๋ยสูตรที่แตกต่างกัน คือ 1)

ปุ๋ยมูลไส้เดือนดินอย่างเดียว 2) แหนแดงอย่างเดียว 3) ปุ๋ยมูลไส้เดือนดินร่วมกับแหนแดง 4) น้ำหมักปุ๋ยมูลไส้เดือนดิน 5) ปุ๋ยมูลไส้เดือนดินร่วมกับน้ำหมักปุ๋ยมูลไส้เดือนดิน 6) ปุ๋ยเคมี และ 7) ไม่ใส่ปุ๋ย ต่อการเจริญเติบโตของผักสลัดกรีนโอ๊ค โดยควบคุมการปลูกภายในโรงเรือน ทำการตรวจสอบการปนเปื้อนของไนเตรทในผักสลัด ตรวจสอบแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหารที่อาจปนเปื้อนมากับน้ำ คือ *E. coli* ในผักสลัด รวมทั้งตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนในอากาศในปุ๋ยมูลไส้เดือนดิน เพื่อใช้เป็นแนวทางการปลูกผักปลอดภัย ลดอัตราการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหาร ที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภค รวมทั้งลดปัญหาที่อาจเกิดจากการผลิตผักสลัดแบบไม่ใช้ดิน (hydroponic culture)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมดิน ปุ๋ยมูลไส้เดือนดิน และกล้าผักสลัดกรีนโอ๊ค

ดินปลูกที่ใช้ในการทดลองนี้ เป็นดินเหนียวจากแปลงปลูกพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มทร.สุวรรณภูมิ ศูนย์พระนครศรีอยุธยา หันตรา ผสมขุยมะพร้าว กาบมะพร้าวสับ ขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 2:1:1:1 ปุ๋ยมูลไส้เดือนดินที่ใช้ในการทดลองนี้ได้รับการวิเคราะห์คุณภาพของปุ๋ยอินทรีย์ตามมาตรฐานกรมวิชาการเกษตร (มีคุณสมบัติการเป็นปุ๋ยอินทรีย์ดังนี้ คือ 1) ความชื้น 23.33% 2) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 7.21 3) ค่าการนำไฟฟ้า (EC) 1.26 dS/m 4) ปริมาณอินทรีย์วัตถุ 27.4% 5) คาร์บอนต่อไนโตรเจน 11:1 6) ธาตุไนโตรเจน 1.51% 7) ธาตุฟอสฟอรัส 0.81% และ 8) ธาตุโพแทสเซียม 1.87% (Tangsombatvichit and Ketrot, 2018)) การเตรียมกล้าผักสลัดกรีนโอ๊ค โดยใส่พีทมอสลงในถาดหลุมจากนั้นใส่เมล็ด 1

เมล็ด ต่อหลุมในวัสดุพีทมอส รดน้ำทุกวัน เป็นเวลา 14 วัน เพื่อย้ายปลูกในการศึกษาขั้นตอนต่อไป

2. การศึกษาการเจริญเติบโตของผักสลัดกรีนโอ๊ค

ทำการวางแผนการทดลองแบบ randomized complete block design (RCBD) จัดวางกระถางขนาด 8 นิ้ว บรรจุน้ำปลูกเท่ากันทุกกระถาง ทำการทดลองในโรงเรือน กำหนดสิ่งทดลอง ดังนี้คือ 1) ดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย 2) ดิน + ปุ๋ยมูลไส้เดือนดิน 50 กรัมต่อกระถาง 3) ดิน + น้ำหมักปุ๋ยมูลไส้เดือนดิน อัตราส่วน 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 4) ดิน + ปุ๋ยมูลไส้เดือนดิน 50 กรัมต่อกระถาง + แหนแดงสด 50 กรัมต่อกระถาง 5) ดิน + แหนแดงสด 50 กรัมต่อกระถาง 6) ดิน + ปุ๋ยมูลไส้เดือนดิน 50 กรัมต่อกระถาง + น้ำหมักปุ๋ยมูลไส้เดือนดิน อัตราส่วน 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ 7) ดิน + ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 50 กรัมต่อกระถาง ใส่ปุ๋ยครั้งเดียวกับสิ่งทดลอง จากนั้น คัดเลือกต้นกล้าผักสลัดกรีนโอ๊คที่อายุ 14 วัน ต้นสมบูรณ์ มีจำนวนใบเฉลี่ย 2-3 ใบ ใบมีสีเขียวทุกใบ และความสูงของต้นใกล้เคียงกัน ย้ายปลูกในกระถาง กระถางละ 1 ต้น แต่ละสิ่งทดลองมี 4 ซ้ำ แบ่งเป็น บล็อกจำนวน 5 บล็อก วัดการเจริญเติบโตของผักสลัดกรีนโอ๊ค ทุก 7 วัน หลังย้ายปลูกต้นกล้า เป็นเวลา 21 วัน คือ วัดความสูง (เซนติเมตร) จำนวนใบ (ใบ) ความเขียวของใบ วัดด้วยเครื่องคลอโรฟิลล์มิเตอร์ (SPAD) ส่วนการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์รวม (chlorophyll a และ b) น้ำหนักสดทั้งต้น (ลำต้นใบและราก) (กรัม) และน้ำหนักแห้งทั้งต้น (ลำต้นใบและราก) (กรัม) ทำการวัดที่ 21 วันหลังย้ายปลูก วิเคราะห์ผลการทดลองแต่ละสิ่งทดลองทางสถิติ ด้วยโปรแกรม SPSS 23 วิธี one-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

3. การตรวจสอบแบคทีเรีย *Escherichia coli* ในผักสลัดกรีนโอ๊ค

นำใบผักสลัดกรีนโอ๊ค ที่มีอายุ 21 วัน ของแต่ละสิ่งทดลอง มาล้างด้วยน้ำสะอาด 2 ครั้ง หั่นให้มีขนาดเล็ก แล้วชั่งน้ำหนัก 10 กรัม ใส่ในถุงสะอาดที่มีสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.85% 90 มิลลิลิตร เข้าเครื่องตีบด จากนั้น ทำการเจือจาง 10 เท่า ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-2} 10^{-3} และ 10^{-4} จุดสารละลายปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใส่บนอาหารเฉพาะ EMB agar ทำการเกลี่ยสารละลายให้ทั่วผิวหน้าอาหาร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทุกสิ่งทดลอง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

4. การตรวจสอบการสะสมของไนเตรทในผักสลัดกรีนโอ๊ค

ชั่งน้ำหนักแห้งของผักสลัด (ลำต้นใบและราก) แต่ละสิ่งทดลอง 0.1 กรัม เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน 24 ชั่วโมง ทำการแยกสารละลายออก นำมากรองด้วยกระดาษกรอง จากนั้นนำไปวิเคราะห์ค่าไนเตรท ด้วยวิธี colorimetric ด้วยสาร salicylic acid คัดแปลงจาก Cataldo *et al.* (1975) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 nm ด้วยเครื่อง สเปกโตรโฟโตมิเตอร์

5. การตรวจวิเคราะห์แบคทีเรียที่เจริญในโตรเจนในอากาศจากปุ๋ยมูลไส้เดือนดิน

นำปุ๋ยมูลไส้เดือนดิน 10 กรัม ใส่ลงในสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.85% 90 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางสารละลายปุ๋ยครั้งละ 10 เท่า (10^{-2} 10^{-3} และ 10^{-4}) ตามลำดับ เลือกความเข้มข้นที่ 10^{-2} 10^{-3} และ 10^{-4} มาตรวจสอบแบคทีเรียบนอาหารเฉพาะ Burk's N-free agar บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-7 วัน (คัดแปลงจาก Tangsombatvichit and Ketrot, 2018) คัดเลือกโคโลนีแบคทีเรียบริสุทธิ์ จำนวนไม่น้อยกว่า 30 โคโลนี มาทดสอบความสามารถในการตรึงไนโตรเจนด้วยการตรวจวิเคราะห์ความเข้มข้นของแอมโมเนียด้วยสาร

ทดสอบ Nessler's reagent โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียให้
ได้ความเข้มข้น 0.6 แล้วนำสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ 5
มิลลิลิตร ต่อน้ำยาทดสอบ Nessler's reagent 100
ไมโครลิตรผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที นำไปวัด
ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร
พิจารณาผลการเปลี่ยนแปลงสี จากสีเหลืองอ่อน (ไม่
มีการตรึงไนโตรเจน) จนถึงสีเหลืองเข้ม (มีการตรึง
ไนโตรเจนสูง) (Cappuccino and Sherman, 1992) ทำ
การทดลอง 3 ซ้ำ แล้วคัดเลือกโคโลนีที่มี
ความสามารถในการตรึงไนโตรเจนดีที่สุด 1 โคโลนี
มาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และ
คุณสมบัติทางชีวเคมีบางประการ คือ การเคลื่อนที่
เอนไซม์อะเลส (catalase test) เอนไซม์ออกซิเดส
(oxidase test) ปฏิกริยา IMViC test ได้แก่ indole test,
methyl red test, Voges-Proskauer test และ
citrate test เปรียบเทียบกับ แบคทีเรีย *Azotobacter*
vinelandii (แบคทีเรียควบคุม) ดัดแปลงจาก Bisen
et al. (2012) และ Holt *et al.* (2000)

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. การเจริญเติบโตของผักสลัดกรีนโอ๊ค

ผักสลัดกรีนโอ๊ค พืชเศรษฐกิจที่เป็นที่นิยม
รับประทานของผู้บริโภคในปัจจุบัน ถูกนำมา
ทดสอบการเจริญเติบโตด้วยสิ่งทดลองที่แตกต่างกัน
คือ การใช้ปุ๋ยมูลไส้เดือนดิน น้ำหมักปุ๋ยมูลไส้เดือน
ดิน แหนแดง ปุ๋ยเคมี หรือ ไม่ใส่ปุ๋ย (ดินปลูกอย่าง
เดียว) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ผักสลัดกรีน
โอ๊ค ที่ได้รับปุ๋ยมูลไส้เดือนดินและแหนแดง มี
แนวโน้มการเจริญเติบโตดี เมื่อวัดความสูงของต้น
และจำนวนใบ พบว่ามีค่าเฉลี่ยความสูงของต้น และ
จำนวนใบ สูงที่สุด เช่นเดียวกันกับ ผักสลัดที่ได้รับ

ปุ๋ยมูลไส้เดือนดิน หรือ ได้รับปุ๋ยมูลไส้เดือนดินและ
น้ำหมักปุ๋ยมูลไส้เดือนดิน (Table 1 และ Table 2)
ในขณะที่ ผักสลัดที่ได้รับปุ๋ยเคมี มีค่าเฉลี่ยความสูง
ของต้น และจำนวนใบ น้อยกว่า ผักสลัดที่ได้รับปุ๋ย
มูลไส้เดือนดินและแหนแดง อย่างมีนัยสำคัญทาง
สถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (Table 1 และ Table
2) ผักสลัดที่ได้รับปุ๋ยมูลไส้เดือนดินและแหนแดง มี
ค่าเฉลี่ยความเขียวใบสูงที่สุด (Figure 1) รองลงมาคือ
ผักสลัดที่ได้รับปุ๋ยมูลไส้เดือนดิน หรือ ได้รับปุ๋ยมูล
ไส้เดือนดินและน้ำหมักปุ๋ยมูลไส้เดือนดิน ตามลำดับ
(Figure 1) ในขณะที่ ผักสลัดที่ได้รับปุ๋ยเคมี มีค่าเฉลี่ย
ความเขียวของใบผักสลัดกรีนโอ๊คน้อยกว่า การได้รับ
ปุ๋ยมูลไส้เดือนดินและแหนแดง (Figure 1) ผักสลัดที่
ได้รับปุ๋ยมูลไส้เดือนดินและแหนแดง มีค่าเฉลี่ย
คลอโรฟิลล์สูงที่สุด (Figure 2) ในขณะที่ ผักสลัดที่
ได้รับปุ๋ยเคมี มีค่าเฉลี่ยคลอโรฟิลล์น้อยกว่า ส่วนผัก
สลัดที่ได้รับเฉพาะน้ำหมักปุ๋ยมูลไส้เดือนดิน มี
ค่าเฉลี่ยคลอโรฟิลล์น้อยที่สุด เช่นเดียวกันกับ การไม่
ใส่ปุ๋ย (ดินอย่างเดียว) (Figure 2) มีงานวิจัยพบว่า การ
ใส่แหนแดงลงไปดินปลูกข้าวไม่เพียงแต่เพิ่มธาตุ
ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และอินทรีย์วัตถุให้ดิน ยัง
ส่งเสริมการเจริญเติบโตของความสูงต้น จำนวนกอที่
แตก น้ำหนักแห้ง ได้ดีกว่าการใช้ปุ๋ยเคมีไนโตรเจน
(Bhuvaneshwari and Singh, 2015) เช่นเดียวกันกับ
การทดลองการใช้ปุ๋ยมูลไส้เดือนดินผลิตจากวัสดุ
เหลือทิ้งทางการเกษตรและส่วนเหลือทิ้งอินทรีย์จาก
โรงงานอุตสาหกรรมนมเปรี้ยว ต่อการเจริญเติบโต
ของพืช ที่พบว่าปุ๋ยมูลไส้เดือนดินสนับสนุนการ
เจริญเติบโตที่ดีของต้นทานตะวันใกล้เคียงกับใช้
ปุ๋ยเคมี (Tangsombatvichit *et al.*, 2016)

Table 1 The average of number leaves per plant of green oak on 7, 14 and 21 days under different treatments

Treatment	Number leaves per plant		
	Day 7	Day 14	Day 21
1. Soil (control)	5.13 ^b ±0.26	6.55 ^b ±0.34	7.53 ^d ±0.40
2. Soil+vermicompost	7.25 ^a ±0.47	9.25 ^a ±0.57	13.60 ^b ±0.65
3. Soil+vermicompost water	5.15 ^b ±0.11	6.58 ^b ±0.50	7.75 ^d ±0.42
4. Soil+vermicompost+Azolla	7.68 ^a ±0.24	9.70 ^a ±0.53	15.30 ^a ±0.64
5. Soil+Azolla	5.35 ^b ±0.38	6.90 ^b ±0.17	9.43 ^c ±0.43
6. Soil+vermicompost+vermicompost water	7.28 ^a ±0.29	9.13 ^a ±0.54	13.00 ^b ±0.56
7. Soil+chemical fertilizer	5.70 ^b ±0.54	6.65 ^b ±0.36	9.05 ^c ±0.32

Mean value of 4 replicate measurements ± standard deviation

^{abcd} different letters in a column are significantly different level ($p<0.05$) according to Duncan's multiple range test**Table 2** The average of height (cm.) of green oak on 7, 14 and 21 days under different treatments

Treatment	Height (cm.)		
	Day 7	Day 14	Day 21
1. Soil (control)	4.29 ^c ±0.30	7.03 ^b ±0.31	7.50 ^c ±0.52
2. Soil+vermicompost	5.08 ^a ±0.29	8.96 ^a ±0.21	10.04 ^a ±0.43
3. Soil+vermicompost water	4.35 ^{bc} ±0.11	7.23 ^b ±0.44	7.78 ^c ±0.30
4. Soil+vermicompost+Azolla	4.78 ^{abc} ±0.35	9.44 ^a ±0.60	10.53 ^a ±0.65
5. Soil+Azolla	4.43 ^{bc} ±0.39	7.70 ^b ±0.55	8.73 ^b ±0.57
6. Soil+vermicompost+vermicompost water	4.90 ^{ab} ±0.35	9.05 ^a ±0.66	10.15 ^a ±0.32
7. Soil+chemical fertilizer	4.63 ^{abc} ±0.20	7.85 ^b ±0.67	8.93 ^b ±0.44

Mean value of 4 replicate measurements ± standard deviation

^{abcd} different letters in a column are significantly different level ($p<0.05$) according to Duncan's multiple range test

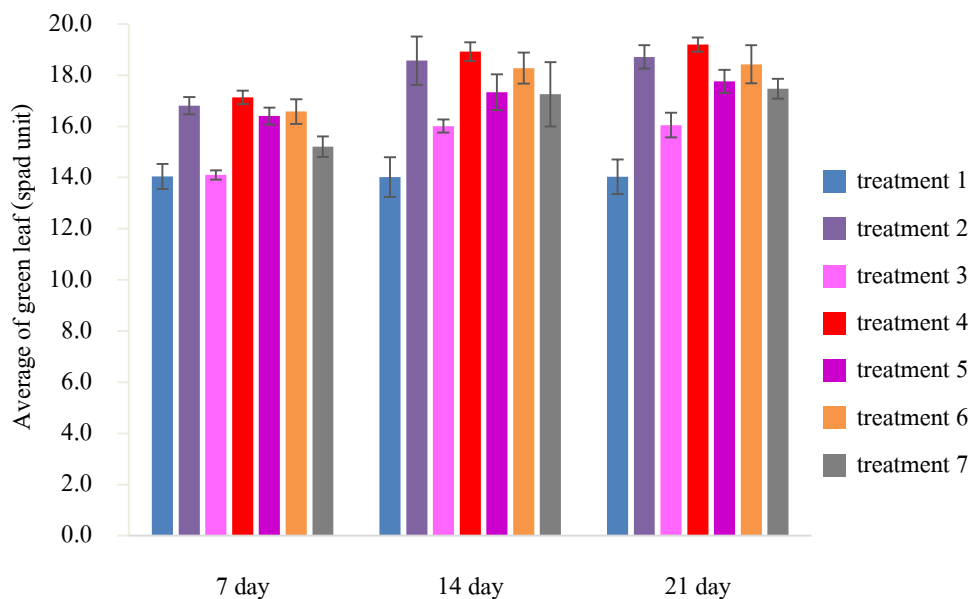


Figure 1 The average of green leaf of green oak on 7, 14 and 21 days under different treatments, 4 replicates

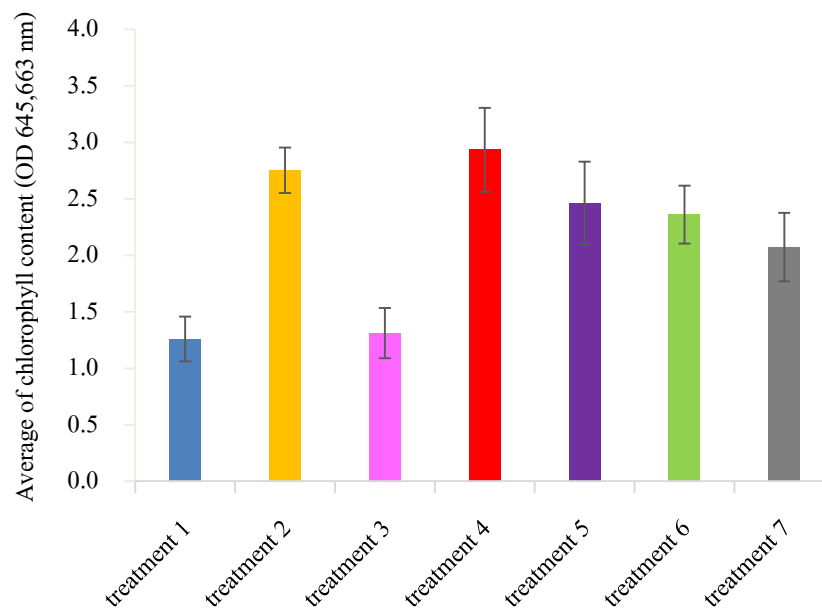


Figure 2 The average of total chlorophyll content of green oak on 21 days under different treatments, 4 replicates

ผักสลัดที่ได้รับปุ๋ยมูลไส้เดือนดินและแทนแดง มีค่าเฉลี่ยน้ำหนัสดกต่อต้น และน้ำหนักแห้งต่อต้นสูงที่สุด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 3) รองลงมาคือ ผักสลัดที่ได้รับปุ๋ยมูลไส้เดือนดิน ได้รับปุ๋ยเคมี หรือ ได้รับปุ๋ยมูลไส้เดือนดินและน้ำหมักปุ๋ย

มูลไส้เดือนดิน (Table 3) ในขณะที่ ผักสลัดที่ได้รับแทนแดงอย่างเดียว มีค่าเฉลี่ยน้ำหนัสดกต่อต้น และน้ำหนักแห้งต่อต้น น้อยกว่า การได้รับปุ๋ยมูลไส้เดือนดินและแทนแดง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% รวมทั้งผักสลัดที่ได้รับน้ำหมักปุ๋ย

มูลไส้เดือนดินอย่างเดียว ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับ ผักสลัดที่ไม่ใส่ปุ๋ย (ดินอย่างเดียว) (Table 3) จะเห็นได้ว่า ปุ๋ยมูลไส้เดือนดินผสมแหนแดงมีผลทำให้ผักสลัดเจริญเติบโตดีที่สุดเนื่องจากปุ๋ยมูลไส้เดือนดินมีธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช N, P และ K รวมทั้งมีคุณสมบัติของปุ๋ยอินทรีย์ตามมาตรฐานกรมวิชาการเกษตรกำหนด และมีจุลินทรีย์ในปุ๋ยอยู่ถึง 2.83×10^6

CFU/g (Tangsombatvichit and Ketrot, 2018) แหนแดงมีสารห้ำยสีเขียวแกมน้ำเงินเป็นแบคทีเรีย *A. azollae* ที่มีคุณสมบัติในการตรึงไนโตรเจนในอากาศได้ดี ทำให้แหนแดงมีธาตุไนโตรเจนอยู่สูงและยังมีธาตุอาหารพืชอื่นๆ คือ ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม ที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและความแข็งแรงต้านทานต่อโรคและแมลง (Nam and Yoon, 2008)

Table 3 The average of fresh weight and average of dry weight in green oak on 21 days under different treatments

Treatment	Fresh weight (g)	Dry weight (g)
1. Soil (control)	24.00 ^d ±2.74	0.50 ^c ±0.07
2. Soil+vermicompost	45.25 ^b ±4.38	1.83 ^b ±0.23
3. Soil+vermicompost water	25.50 ^d ±3.64	0.63 ^c ±0.15
4. Soil+vermicompost+Azolla	53.50 ^a ±2.50	2.33 ^a ±0.26
5. Soil+Azolla	36.00 ^c ±3.61	1.75 ^b ±0.18
6. Soil+vermicompost+vermicompost water	41.75 ^b ±2.05	1.75 ^b ±0.25
7. Soil+chemical fertilizer	45.75 ^b ±3.49	1.63 ^b ±0.19

Mean value of 4 replicate measurements ± standard deviation

^{abcd} different letters in a column are significantly different level ($p < 0.05$) according to Duncan's multiple range test

2. การปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และการสะสมไนเตรทในผักสลัดกรีนโอ๊ค

เมื่อนำผักสลัดกรีนโอ๊คในแต่ละสิ่งทดลองมาตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหาร *E. coli* พบว่า ผักสลัดที่ได้รับปุ๋ยมูลไส้เดือนดินและแหนแดง และได้รับปุ๋ยมูลไส้เดือนดินอย่างเดียว มีการปนเปื้อนของแบคทีเรียชนิดนี้ น้อยกว่า 100 CFU ต่อกรัม (Table 4) ซึ่งมีโอกาสปนเปื้อนมากับดิน หรือน้ำที่ใส่รดต้นไม้ (Gruda *et al.*, 2013; Hussain *et al.*, 2014) แต่ยังคงอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานกำหนด (Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, 2017) เป็นไป

ได้ว่า ในปุ๋ยมูลไส้เดือนดินมีปริมาณจุลินทรีย์ดี มีประโยชน์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค *E. coli* ได้ (Pathma and Sakthivel, 2012) ในขณะที่ ผักสลัดที่ได้รับปุ๋ยมูลไส้เดือนดินร่วมกับน้ำหมักปุ๋ยมูลไส้เดือนดิน ได้รับแหนแดงอย่างเดียว ได้รับน้ำหมักปุ๋ยมูลไส้เดือนดินอย่างเดียว และได้รับปุ๋ยเคมี มีแนวโน้มการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้เพิ่มขึ้น (Table 4) ในขณะที่ ผักสลัดที่ไม่ใส่ปุ๋ย (ดินอย่างเดียว) มีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียมากที่สุด (Table 4) ในขณะที่ผลการตรวจสอบการสะสมไนเตรทตกค้างในผักสลัดกรีนโอ๊คแต่ละสิ่งทดลอง พบว่า ผักสลัดที่ได้รับปุ๋ยมูลไส้เดือนดินและแหนแดง มีการ

สะสมของไนเตรทน้อยที่สุด เท่ากับ 0.68 มิลลิกรัม ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (Table 4) ในขณะที่ ผักสลัดที่ได้รับน้ำหมักปุ๋ยมูลไส้เดือนดิน มีการสะสมของ

ไนเตรทมากที่สุด แต่ยังอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานกำหนด (European Commission, 2011)

Table 4 The average of *Escherichia coli* bacteria determined and average of levels of nitrate in green oak on 21 days under different treatments (3 replicates)

Treatment	<i>E. coli</i> bacteria determined (CFU/g)	Levels of nitrate (mg/g of dry weight)
1. Soil (control)	1.47×10^4	1.30
2. Soil+vermicompost	$<1 \times 10^2$	0.86
3. Soil+vermicompost water	6.3×10^3	1.77
4. Soil+vermicompost+Azolla	$<1 \times 10^2$	0.68
5. Soil+Azolla	1.75×10^3	1.09
6. Soil+vermicompost+vermicompost water	4.2×10^2	1.42
7. Soil+chemical fertilizer	1.66×10^3	1.23

3. แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนในอากาศคัดแยกจากปุ๋ยมูลไส้เดือนดิน

เมื่อนำปุ๋ยมูลไส้เดือนดิน มาตรวจวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนในอากาศ บนอาหารเฉพาะ Burk's N-free agar พบว่ามีแบคทีเรียเจริญได้ และหาค่าเฉลี่ยจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด เท่ากับ 3.2×10^4 CFU/กรัม ทำการคัดเลือกโคโลนีแบคทีเรียบริสุทธิ์บนอาหารเฉพาะ Burk's N-free agar จำนวน 32 โคโลนี แบคทีเรียบริสุทธิ์สามารถจัดกลุ่มตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาได้ 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 โคโลนีสีขาว รูปร่างโคโลนีกลมมีลักษณะเป็นเมือก ขอบโคโลนีเรียบ ผิวหน้าของโคโลนีเรียบ การยกตัวของโคโลนีแบนราบไปตามผิวหน้าอาหาร โคโลนีทึบแสง (Figure 3A) และลักษณะเซลล์แบคทีเรียมีรูปร่างเซลล์เป็นวงรี ดิคส์แกรมลบ (Figure 3C) กลุ่มที่ 2 โคโลนีใส รูปร่างโคโลนีกลมมีลักษณะเป็นเมือก ขอบโคโลนีเรียบ ผิวหน้าของโคโลนีเรียบ การยกตัวของโคโลนีเจริญ

นูนสูงขึ้นจากผิวหน้าอาหารเล็กน้อย โคโลนีโปร่งแสง (Figure 3B) และลักษณะเซลล์แบคทีเรียมีรูปร่างเซลล์เป็นท่อน ดิคส์แกรมลบ (Figure 3D) จากนั้นนำแบคทีเรียบริสุทธิ์มาทดสอบความสามารถในการตรึงไนโตรเจนในอากาศด้วยการวัดความเข้มข้นของแอมโมเนีย ผลการทดลอง พบว่า ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของแอมโมเนีย อยู่ระหว่าง 0.030 ± 0.01 ถึง 1.003 ± 0.00 ในขณะที่แบคทีเรีย *Azotobacter vinelandii* มีค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของแอมโมเนีย เท่ากับ 0.397 ± 0.02 ผลการทดลองที่น่าสนใจคือแบคทีเรียที่คัดแยกได้มีความสามารถตรึงไนโตรเจนในอากาศได้ดีที่สุด อยู่ในกลุ่มที่ 1 (ME02) มีค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของแอมโมเนียมากที่สุด เท่ากับ 1.003 ± 0.00 มีงานวิจัยที่ทำการศึกษาระดับการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียบางกลุ่มด้วยการวัดการเกิดแอมโมเนียได้ ก่อนที่จะเกิดปฏิกิริยาชีวเคมีเปลี่ยนเป็นไนโตรเจน (Cappuccino and Sherman, 1992)

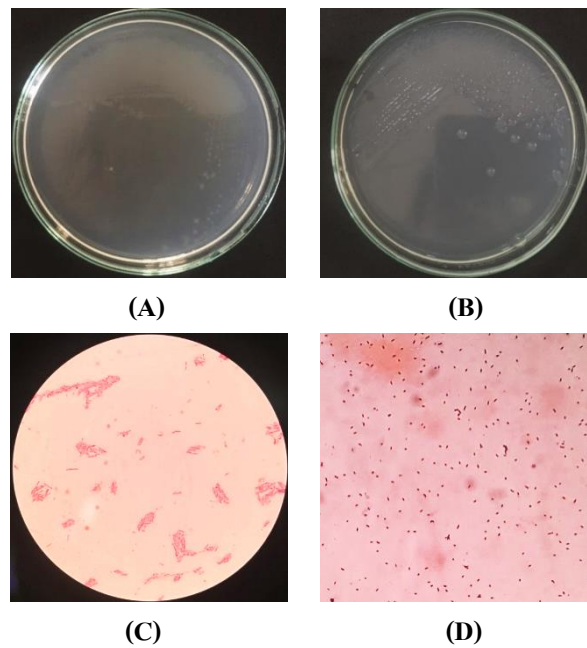


Figure 3 Isolated nitrogen fixing bacteria were grown on Burk's N-free agar group 1 (A) group 2 (B) selected from vermicomposting fertilizer, incubated at temperature of 30 degree celcius on 7 days. The gram staining isolated bacteria group 1 (C) and group 2 (D) appeared under light microscope at 1000X magnification

Table 5 Biochemical test of characteristics of isolated nitrogen fixing bacteria (ME02) from vermicompost biofertilizer compared to *Azotobacter vinelandii* (control), 3 replicates

Biochemical tests	Isolated bacteria ME02	<i>A. vinelandii</i>
Motility	+	+
Catalase	+	+
Oxidase	+	+
Citrate	+	+
Methyl red	-	-
Voges-Proskauer	-	-
Indole	-	-

+ positive - negative

เมื่อนำแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนในอากาศ ME02 ซึ่งมีลักษณะทางสัณฐานวิทยา และสรีรวิทยา จัดอยู่ในกลุ่มที่ 1 มาศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีบางประการที่แสดงถึงคุณสมบัติเฉพาะของแบคทีเรียตรึง

ไนโตรเจนในอากาศ เปรียบเทียบกับแบคทีเรีย *Azotobacter vinelandii* (แบคทีเรียควบคุม) ผลการทดลองพบว่า แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนในอากาศที่คัดแยกได้ ME02 สามารถเคลื่อนที่ได้ มีคุณสมบัติทาง

ชีวเคมี เอนไซม์ และ ปฏิกริยา IMViC test เหมือนกัน กับ *A. vinelandii* (Table 5) จึงมีความเป็นไปได้สูงว่า แบคทีเรียที่คัดแยกได้ ME02 จะอยู่ในสกุล *Azotobacter* sp. และมีคุณสมบัติเป็นแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนในอากาศ (Bisen *et al.*, 2012; Holt *et al.*, 2000). งานวิจัยของ Bhosale *et al.* (2013) พบว่า *Azotobacter* sp. ที่คัดแยกได้จากดินมีคุณสมบัติเป็น plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) นอกจากจะส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชโดยการเพิ่มธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และฮอร์โมนพืชแล้วยังมีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคพืช *Fusarium oxysporum* และผลิตสารต้านทานราได้ด้วย

สรุป

จากผลการทดลองทั้งหมด ทำให้ทราบว่า ผลของการใช้ปุ๋ยมูลไส้เดือนดินและແຮນແດງ มีคุณสมบัติที่มีประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของผักสลัดกรีนโอ๊คที่ปลูกในดิน ส่งผลให้ผักสลัดกรีนโอ๊คมีการเจริญเติบโตดีที่สุด มีความสูงต้นมากที่สุด จำนวนใบมากที่สุด ความเขียวของใบสูงที่สุด คลอโรฟิลล์รวมสูงที่สุด น้ำหนักสดต่อต้นมากที่สุด และน้ำหนักแห้งต่อต้นมากที่สุด นอกจากนั้น การใช้ปุ๋ยมูลไส้เดือนดินและແຮນແດງ ลดการปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหาร *E. coli* และการสะสมของไนเตรทในผักสลัดกรีนโอ๊คน้อยที่สุด รวมทั้งปุ๋ยมูลไส้เดือนดินยังมีแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติตรึงไนโตรเจนในอากาศ อยู่ในสกุล *Azotobacter* sp. ซึ่งเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชใบ ดังนั้นการปลูกผักสลัดกรีนโอ๊คด้วยการใช้ปุ๋ยมูลไส้เดือนดินและແຮນແດງ ไม่เพียงแต่จะได้ผักสลัดที่มีคุณภาพดีซึ่งส่งผลดีต่อผู้บริโภคแล้ว ยังสามารถลดต้นทุนการผลิตได้เนื่องจาก ปุ๋ยมูลไส้เดือนดินผลิตได้ง่ายจากเศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและพืชผัก

ผลไม้ที่เหลือทิ้งร่วมกับการทำงานของไส้เดือนดินในการหมักปุ๋ย และແຮນແດງที่หาได้ง่าย จึงเหมาะแก่การแนะนำให้เกษตรกรนำไปใช้ในการปลูกผักสลัด และผักชนิดอื่นแบบใช้ดินต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ดร.ชัยบัณฑิต ลือลาภ ที่ให้ความอนุเคราะห์เชื้อแบคทีเรีย *Azotobacter vinelandii* เป็นแบคทีเรียเปรียบเทียบในการทดลองครั้งนี้ ขอขอบคุณผู้ช่วยวิจัย กนกวรรณ ทองศรี ศิริรัตน์ คำดี และ อมลวรรณ มีสัจย์ ที่ช่วยเก็บผลการทดลองในการทดลองครั้งนี้ ขอขอบคุณ หลักสูตรจุลชีววิทยา สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มทร.สุวรรณภูมิ ที่เอื้ออำนวยความสะดวกในการวิเคราะห์ผลการทดลองในห้องปฏิบัติการ ขอขอบคุณคณะเทคโนโลยีการเกษตร และอุตสาหกรรมเกษตร มทร.สุวรรณภูมิ ที่ให้ความอนุเคราะห์พื้นที่โรงเรือนแปลงเพาะปลูกควบคุม ขอขอบคุณคุณกานดาดี โนชัย ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำทดลองทางจุลชีววิทยา

เอกสารอ้างอิง

- Bhosale, H.J., Kadam, T.A. and Bobade, A.R. 2013. Identification and production of *Azotobacter vinelandii* and its antifungal activity against *Fusarium oxysporum*. **Journal of Environmental Biology** 34(2): 177-182.
- Bhuvaneshwari, K. and Singh, P.K. 2015. Response of nitrogen-fixing water fern *Azolla* biofertilization to rice crop. **3 Biotech** 5(4): 523-529.

- Bisen, P.S., Debnath, M. and Prasad, G.B.K.S. 2012. **Microbes: Concepts and Applications**. 1st ed. Wiley-Blackwell Publishing, Malden.
- Cappuccino, J.G. and Sherman, N. 1992. **Microbiology: A Laboratory Manual**. 3rd ed. Benjamin/Cummings Pub. Co., Redwood City, CA.
- Cataldo, D.A., Haroon, M., Schrader, L.E. and Youngs, V.L. 1975. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Communications in Soil Science and Plant Analysis** 6(1): 71-80.
- Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. 2017. **Standard for microbiological quality of foods and food containers (Issue 3)**. Available Source: <http://e-library.dmsc.moph.go.th/ebooks/files/micro-ISB N60.pdf>, March 12, 2020. (in Thai)
- Dias, J.S. 2012. Nutritional quality and health benefits of vegetables: A review. **Food and Nutrition Sciences** 3: 1354-1374.
- Dominguez, J., Edwards, C.A. and Ashby, J. 2001. The biology and population dynamics of *Eudrilus eugeniae* (Kinberg) (Oligochaeta) in cattle wastes. **Pedobiologia** 45: 341-353.
- European Commission. 2011. **Commission Regulation (EU) No 1258/2011 of 2 December 2011 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for nitrates in foodstuffs. (Online)**. Available Source: <https://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:320:0015:0017:EN:PDF>, May 23, 2019.
- Gruda, N., Qaryouti, M.M. and Leonardi, C. 2013. Growing media, pp. 271-302. In Baudoin, W., Nono-Womdim, R., Litaladio, N., Hodder, A., Castilla, N., Leonardi, C., De Pascale, S. and Qaryouti, M., eds. **Good Agricultural Practices for Greenhouse Vegetable Crops: Principles for Mediterranean Climate Areas**. Food and Agriculture Organization of The United Nations, FAO, Rome.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T. and Williams, S.T. 2000. **Bergey's Manual® of Determinative Bacteriology**. 9th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.
- Hussain, A., Iqbal, K., Aziem, S., Mahato, P. and Negi, A.K. 2014. A review on the science of growing crops without soil (soilless culture) - A novel alternative for growing crops. **International Journal of Agriculture and Crop Sciences** 7(11): 833-842.
- Klangkongsub, S. and Sohsalam, P. 2013. Vermicompost production by using tomato residue and yard waste. **Journal of Medical and Bioengineering** 2(4): 270-273.
- Nam, K.W. and Yoon, D.H. 2008. Usage of *Azolla* spp. as a biofertilizer on the environmental-friendly agriculture. **Korean Journal of Plant Research** 21(3): 230-235.
- Pathma, J. and Sakthivel, N. 2012. Microbial diversity of vermicompost bacteria that

- exhibit useful agricultural traits and waste management potential. **SpringerPlus** 1: 26. doi: 10.1186/2193-1801-1-26.
- Sinha, R.K., Agarwai, S., Chauhan, K. and Valani, D. 2010. The wonders of earthworms & its vermicompost in farm production: Charles Darwin's friends of farmers', with potential to replace destructive chemical fertilizers from agriculture. **Agricultural Sciences** 1(2): 76-94.
- Tangsombatvichit, P. and Ketrot, D. 2018. The quality of vermicompost from sweet potato crop wastes and its impact on growth promotion of *Brassica chinensis*. **RMUTSB Academic Journal (Science and Technology)** 6(2): 124-133. (in Thai)
- Tangsombatvichit, P., Chupong, S. Ketrot, D. and Boonlerthirun, K. 2016. The management of organic wastes produced vermicompost using earthworm *Eudrilus eugeniae* and effects of vermicompost on growth of *Helianthus annuus*, pp. 1-4. In **Proceedings of 5th International Conference on Food, Agricultural and Biological Sciences (ICFABS-2016)**. International Association of Chemical, Biological & Medical Sciences Researchers, Bangkok.