การพัฒนาผลิตภัณฑ์ปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ดผสมเชื้อราไตรโคเดอร์มา

Product development for Trichoderma mixed with pelleted organic fertilizer

พลฤทธิ์ ทองคลี่ [1*]

Phonrit Thongklee [1*]

บทคัดย่อ

งานวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเข้มข้นของสปอร์เชื้อรา *Trichoderma harzianum* และความเข้มข้นของกากน้ำตาลที่เหมาะสมต่อการผลิตปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ดที่ผสมเชื้อรา *T. harzianum* ศึกษาจากปัจจัยที่เกี่ยวข้องจำนวน 2 ปัจจัย ซึ่งวางแผนการทดลองด้วยวิธีการสุ่มแบบสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) จำนวน 20 ตำรับการทดลอง 3 ซ้ำ โดยศึกษาผลของความเข้มข้นสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* และเปอร์เซ็นต์ของสารละลายกากน้ำตาลต่ออัตราการมีชีวิตรอดปริมาณสปอร์ของเชื้อราไตรโคเดอร์มา สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ด ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าที่ความเข้มข้นสปอร์ 6.25×10^{7} ± 1.46 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ผสมกับกากน้ำตาล 15% (ตำรับการทดลองที่ 9), 6.70×10^{8} ± 1.26 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ผสมกับกากน้ำตาล 5%, 10% และ 15% (ตำรับการทดลองที่ 12, 13 และ 14) และที่ความเข้มข้นสปอร์ 1×10^{9} ± 0.14 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ผสมกับกากน้ำตาล 10% และ 15% (ตำรับการทดลองที่ 18 และ 19) มีอัตราการมีชีวิตรอดของเชื้อรา *T. harzianum* สูงที่สุด ในปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ดตำรับการทดลองที่ 18, 13, 19 และ 14 มีปริมาณสปอร์ที่นับได้เท่ากับ 4.25×10^{8} ± 0.39, 3.23×10^{8} ± 0.45, 2.42×10^{8} ± 0.52 และ 1.90×10^{8} ± 0.13 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ผลการศึกษาพบว่า กากน้ำตาลเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับเชื้อรา *T. harzianum* ดังนั้นตำรับการทดลองที่ใช้สารละลายสปอร์ที่ความเข้มข้น 6.70×10^{8} สปอร์ต่อมิลลิลิตร ร่วมกับกากน้ำตาลความเข้มข้น 10% และตำรับการทดลองที่ใช้สารละลายสปอร์ที่ความเข้มข้น 1×10^{9} สปอร์ต่อมิลลิลิตร ร่วมกับกากน้ำตาลความเข้มข้น 10% จึงเหมาะสำหรับนำไปผลิตปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ดผสมเชื้อรา *T. harzianum* เมื่อพิจารณาจากอัตราการมีชีวิตรอด และค่าจากการนับปริมาณสปอร์

Abstract

The aim of this research was studied the concentration of spores of *Trichoderma harzianum* and molasses concentration that suitable for the production organic fertilizer pellets mixed with *T. harzianum*

คำสำคัญ : ปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ด, เชื้อราไตรโคเดอร์มา ฮัทเชียนั่ม

[1] คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา ต.แม่กา อ.เมือง จ.พะเยา 56000

[1] School of Agriculture and Natural Resources, University of Phayao, Meaka, Muang, Phayao, 56000

[*] Corresponding author: p_phonrit@hotmail.com

this studied involved two factors. The experiment was set up as a completely randomized design (CRD) with 20 treatments. The effect of spore concentration of *T. harzianum* and percent of molasses solutions on survival rate, spore counting, physical and chemical properties of the pelleted organic fertilizer were studied. The results show that spore concentration at 6.25×10^{7} ± 1.46 spores/ml mixed with 15% molasses (treatment no. 9), 6.70×10^{8} ±1.26 spores/ml mixed with 5%, 10% and 15% molasses (treatment no. 12, 13 and 14) and 1×10^{9} ± 0.14 spores/ml mixed with 10% and 15% molasses (treatment no. 18 and 19 gave the highest survival rate of *T. harzianum* on organic fertilizer pellet. The treatments no. 18, 13, 19 and 14 gave highest spores concentration content as 4.25×10^{8}±0.39, 3.23×10^{8} ±0.45, 2.42×10^{8} ± 0.52 and 1.90×10^{8} ±0.13 spores /ml on, respectively. The result suggested that, molasses was necessary for *T. harzianum* and the treatment no. 13 (spore solution at 6.70×10^{8} spores/ml together with 10% molasses) and 18 (spore solution at 1×10^{9} spores/ml together with 10% molasses) are suitable for produced in the pelleted organic fertilizer mixed with *T. harzianum*. When considering on survival rate and spore count parameters.

Key words : Leonardite, Cow manure, Marigold

บทนำ

ปริมาณการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ในประเทศไทยมีเพิ่มมากขึ้นในปัจจุบัน เนื่องมาจากนโยบายการพัฒนาภาคการเกษตร ปี 2559 ของรัฐบาลที่ส่งเสริมให้เกษตรกรลดปริมาณการใช้ปุ๋ยเคมี สนับสนุนให้ใช้ปุ๋ยอินทรีย์มาทดแทนหรือใช้ปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับปุ๋ยเคมีเพื่อลดต้นทุนการผลิต รวมถึงเกษตรกรที่ทำการเกษตรแบบอินทรีย์เพิ่มมากขึ้น เห็นได้จากพื้นที่การผลิตเกษตรอินทรีย์ในประเทศที่ได้การรับรองมาตรฐานเกษตรอินทรีย์ขยายตัวเพิ่มขึ้นจาก 235,523.35 ไร่ ในปี พ.ศ. 2557 เป็น 284,918.44 ไร่ ในปี พ.ศ.2558 (เพิ่มขึ้น 20.97%) และจำนวนฟาร์มเกษตรอินทรีย์ที่ได้รับรองมาตรฐานในช่วงเวลาดังกล่าวขยับเพิ่มขึ้นจาก 9,961 ฟาร์ม เป็น 13,154 ฟาร์ม (วิฑูรย์, 2559) ทำให้แนวโน้มความต้องการใช้ปุ๋ยอินทรีย์มีประมาณปีละ 580,000 ตัน (เทคโนโลยีชาวบ้าน, 2559) ส่วนการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ในประเทศไทยนั้นมีวัตถุดิบทางการเกษตรที่มีศักยภาพในการผลิตปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพมีอยู่หลากหลาย เช่น ผักตบชวา เศษพืชจากไร่นา มูลสัตว์ และวัสดุเหลือทิ้งจากโรงงานน้ำตาล เป็นต้น โดยเฉพาะกากน้ำตาลมีการนำมาใช้อย่างแพร่หลายในเกษตรกรที่ผลิตปุ๋ยอินทรีย์ใช้เอง ซึ่งกากน้ำตาลเป็นแหล่งพลังงานหรืออาหารของจุลินทรีย์จึงทำให้เกิดการย่อยสลายเร็วขึ้น (พงษ์เทพ, 2548) นับได้ว่าเป็นวัตถุดิบที่สำคัญในการผลิตปุ๋ยหมักและปุ๋ยชีวภาพของเกษตรกร

ในปัจจุบันได้มีการรณรงค์ให้เกษตรกรลด หลีกเลี่ยง หรือเลิกใช้สารเคมีความคุมศัตรูพืชกันอย่างกว้างขวาง ซึ่งในทางปฏิบัติ การควบคุมโรคพืชด้วยสารเคมียังคงเป็นสิ่งจำเป็นที่เกษตรกร

ไม่สามารถหลีกเลี่ยงได้เพราะยังหาวิธีการอื่นๆ ที่มีประสิทธิภาพเท่าเทียมกันมาทดแทนได้ ทั้งนี้ในประเทศไทยได้มีการพัฒนาชีวภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาโดย รศ. ดร. จิระเดช แจ่มสว่าง และคณะ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ซึ่งเกษตรกรส่วนใหญ่รู้จักและยอมรับถึงประสิทธิภาพการควบคุมโรคพืชของเชื้อราไตรโคเดอร์มา อย่างไรก็ตาม ผู้วิจัยพบว่ายังมีปัญหาเกี่ยวกับเทคนิควิธีการใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาที่ค่อนข้างยุ่งยาก และสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายสูงกว่าสารเคมี จึงมีแนวคิดในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาที่อยู่ในรูปปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ด เพื่อเพิ่มความสะดวกในการใช้ชีวภัณฑ์ของเกษตรกรมากยิ่งขึ้น การใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มามีหลายรูปแบบ ได้แก่ รูปแบบผงเชื้อ รูปแบบเม็ดหัวเชื้อ รูปแบบน้ำ ตลอดจนการใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสด ซึ่งนำไปใช้ได้หลายวิธี เช่น การใช้เชื้อสดผสมกับปุ๋ยหมักแล้วใช้คลุกเคล้ากับดินในหลุมปลูก การคลุกเมล็ดด้วยเชื้อสด และการใช้น้ำสปอร์ที่ได้จากการล้างเชื้อสดออกจากเมล็ดข้าว เทราด หรือฉีดพ่นลงดิน (จิระเดช และวรรณวิไล, 2545) อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีรายงานการใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาที่ผสมกับปุ๋ยอินทรีย์ในรูปแบบอัดเม็ดในการควบคุมโรคพืชระดับดินมาก่อน ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเข้มข้นของสปอร์เชื้อรา *Trichoderma harzianum* และกากน้ำตาลความเข้มข้นต่างๆ ที่เหมาะสมต่อการผลิตปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ดผสมเชื้อราไตรโคเดอร์มา โดยมีการตรวจสอบปริมาณเชื้อราไตรโคเดอร์มาที่มีชีวิตรอดในปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ดในช่วงเวลาต่างๆ ของการเก็บรักษา

อุปกรณ์และวิธีการ

กิจกรรมการพัฒนาผลิตภัณฑ์ปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ดผสมเชื้อราไตรโคเดอร์มา

การเตรียมเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 โดยใช้หัวเชื้อจากห้องปฏิบัติการควบคุมโรคพืชโดยชีวภาพ คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ซึ่งเป็นหัวเชื้อบริสุทธิ์ชนิดผง นำมาเลี้ยงในข้าวสุกตามวิธีของจิระเดช และวรรณวิไล (2542) บ่มไว้เป็นเวลา 7 วัน เพื่อเตรียมสารละลายสปอร์ในการทดลองต่อไป

การเตรียมปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ด ใช้วัตถุดิบในการผลิตจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ แร่ลีโอนาไดต์ ปุ๋ยหมักผักตบชวา หินบะซอลต์บด มูลสุกร มูลไก่ อัตราส่วนเท่ากับ 3:1:1:3:2 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ (ชัยมงคล และบุญร่วม, 2558) ซึ่งได้ผ่านขั้นตอนการตีป่นละเอียด เพื่อนำผงวัตถุดิบมาผสมในถังผสมตามอัตราส่วนที่กล่าวข้างต้น และเข้าสู่ขั้นตอนการอัดเม็ดต่อไป

การเตรียมสารละลายสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* และกากน้ำตาลความเข้มข้นต่างๆ ที่เหมาะสมต่อการผลิตปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ด ซึ่งใช้เป็นตัวเชื่อมประสานในขั้นตอนการผสมวัตถุดิบก่อนเข้าสู่กระบวนการอัดเม็ดปุ๋ยอินทรีย์ มี 2 ปัจจัย ได้แก่ ปัจจัยที่ 1 คือ ความเข้มข้นของสารละลายสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 จากเชื้อขยายชนิดสดจำนวน 4 ระดับ ได้แก่ 0 (ไม่ใส่สปอร์เชื้อ), $6.25 \times 10^{7} \pm 1.46$ (2 กรัม เชื้อสดต่อน้ำ 1 ลิตร), $6.70 \times 10^{8} \pm 1.26$ (10 กรัม เชื้อสดต่อน้ำ 1 ลิตร) และ $1 \times 10^{9} \pm 0.14$ (20 กรัม เชื้อสดต่อน้ำ 1 ลิตร) สปอร์ต่อมิลลิลิตร และปัจจัยที่ 2

คือระดับความเข้มข้นของกากน้ำตาล (molasses) จำนวน 5 ระดับ ได้แก่ 0% (ไม่ใส่กากน้ำตาล), 5%, 10%, 15% และ 20% อัตราผสม 450 มิลลิลิตรต่อปุ๋ยอินทรีย์ 1 กิโลกรัม วางแผนการทดลองแบบ 4x5 แฟกทอเรียลและวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (4x5 Factorial in CRD) จำนวน 20 ตำรับการทดลอง ตำรับการทดลองละ 5 ซ้ำ (Table 1)

Table 1 Treatment number from factorial combination of molasses and *T. harzianum* concentration.

Molasses' concentration (M)	*T. harzianum'* concentration (S)			
	0 (spores/ml)	$6.25x10^7$±1.46 (spores/ml)	$6.70x10^8$±1.26 (spores/ml)	$1x10^9$±0.14 (spores/ml)
0%	T1	T6	T11	T16
5%	T2	T7	T12	T17
10%	T3	T8	T13	T18
15%	T4	T9	T14	T19
20%	T5	T10	T15	T20

จากนั้นตรวจหาเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเชื้อรา *T. harzianum* บนเม็ดปุ๋ยอินทรีย์หลังผสมตามแต่ละตำรับการทดลอง โดยใช้วิธี agar method ดัดแปลงจากวิธีของ Kawasaki and Machado (2013) ซึ่งแต่ละครั้งสุ่มตัวอย่างปุ๋ยจากแต่ละตำรับการทดลองมาวางบนอาหาร PDA (potato dextrose agar) จำนวน 10 เม็ด 3 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน แล้วนำมานับการเจริญของเชื้อรา *T. harzianum* และคำนวณเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเชื้อรา *T. harzianum* บนอาหาร PDA ได้จากสูตรเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเชื้อรา *T. harzianum* = (จำนวนเม็ดปุ๋ยที่มีเชื้อรา *T. harzianum* เจริญ /จำนวนเม็ดปุ๋ยทั้งหมด) x100 โดยใช้ระยะเวลาในการทดลอง 0-31 วัน

การตรวจนับปริมาณสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ในเม็ดปุ๋ยอินทรีย์ในแต่ละตำรับการทดลองที่ระยะเวลา 0 (หลังผลิตเสร็จ) 15 และ 30 วัน ของการเก็บรักษา โดยชั่งปุ๋ย 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าด้วย vortex เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำไปกรองผ่านตะแกรงขนาด 35 ไมครอน นำสารแขวนลอยที่กรองได้ไปตรวจนับ โดยใช้ Hemacytometer ตรวจนับปริมาณสปอร์ และวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของปุ๋ยอินทรีย์ผสมเชื้อราไตรโคเดอร์มา ได้แก่ ความชื้น ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ค่าการนำไฟฟ้า (EC) ปริมาณอินทรียวัตถุ (OM) และปริมาณธาตุอาหารหลัก ได้แก่ ไนโตรเจนทั้งหมด (total nitrogen) ฟอสฟอรัสทั้งหมด (total P_2O_5) และโพแทสเซียมทั้งหมด (total K_2O) วิเคราะห์ผลการทดลองโดยวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

ผลและวิจารณ์

เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเชื้อรา *T. harzianum* ของเม็ดปุ๋ยอินทรีย์หลังเก็บนาน 0-31 วัน พบว่าปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ดที่ผสมเชื้อราไตรโคเดอร์มาที่ความเข้มข้นต่างๆ มีจำนวน 6 ตำรับการทดลองที่มีเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเชื้อรา *T. harzianum* สูง ได้แก่ ตำรับการทดลองที่ 9 ($6.25x10^7$ ±1.46 สปอร์ต่อมิลลิลิตร + Molasses 15%), ตำรับการทดลองที่ 13 ($6.70 x10^8$ ±1.26 สปอร์ต่อมิลลิลิตร + Molasses 10%), ตำรับการทดลองที่ 14 ($6.70x10^8$±1.26 สปอร์ต่อมิลลิลิตร + Molasses 15%), ตำรับการทดลองที่ 18 ($1x10^9$ ±0.14 สปอร์ต่อมิลลิลิตร+ Molasses 10%), ตำรับการทดลองที่ 19 ($1x10^9$ ±0.14 สปอร์ต่อมิลลิลิตร + Molasses 15%) และตำรับการทดลองที่ 12 ($6.70x10^8$±1.26 สปอร์ต่อมิลลิลิตร + Molasses 5%) คือ 100%, 100%, 100%, 100%, 100% และ 93.3% ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า ความเข้มข้นระหว่างสารละลายสปอร์เชื้อราไตรโคเดอร์มากับกากน้ำตาลในตำรับการทดลองที่แสดงไว้ข้างต้น มีแนวโน้มที่สามารถนำไปผลิตในระดับโรงงานปุ๋ยอินทรีย์ และยังคงมีเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเชื้อราไตรโคเดอร์มาในระดับสูง และพบว่าในตำรับการทดลองที่ไม่ใส่เชื้อราไตรโคเดอร์มามีการเจริญของเชื้อราชนิดอื่นในเม็ดปุ๋ยอินทรีย์บนอาหาร PDA ในส่วนตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อราไตรโคเดอร์มาร่วมกับกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นสูง (ความเข้มข้นกากน้ำตาลที่ 20%) พบว่าเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเชื้อราไตรโคเดอร์มาลดลงเมื่อเก็บไว้นาน เนื่องจากเชื้อราชนิดอื่นเจริญได้ดี และส่วนตำรับการทดลองที่ไม่ใช้กากน้ำตาล พบว่าในช่วงสัปดาห์แรกมีเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเชื้อราไตรโคเดอร์มาสูงและเมื่อเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น พบว่าเชื้อราไตรโคเดอร์มามีเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดต่ำลง แสดงให้เห็นว่าเมื่อผลิตปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ดผสมเชื้อราไตรโคเดอร์มาออกมาแล้วสามารถนำไปใช้ประโยชน์ภายใน 2 สัปดาห์หลังผลิต ดังนั้นกล่าวได้ว่าในการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ข้างต้น ไม่จำเป็นต้องใช้กากน้ำตาลเป็นส่วนผสมและเป็นการประหยัดต้นทุนการผลิต ยกเว้นตำรับการทดลองที่ไม่ใช้กากน้ำตาลหรือใช้กากน้ำตาลและไม่ใส่เชื้อราไตรโคเดอร์มาที่ไม่พบการเจริญของเชื้อราไตรโคเดอร์มาในเม็ดปุ๋ยอินทรีย์ (Table 2)

เมื่อนำมาตรวจนับปริมาณสปอร์ของ *T. harzianum* ในเม็ดปุ๋ยอินทรีย์หลังเก็บรักษาเป็นเวลา 0-30 วัน พบว่า มีปริมาณสปอร์เชื้อราไตรโคเดอร์มาเพิ่มขึ้น ได้แก่ ตำรับการทดลองที่ 9 (เพิ่มขึ้นจาก $0.017x10^7$ เป็น $4.1x10^7$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร), ตำรับการทดลองที่ 12 (เพิ่มขึ้นจาก $0.26x10^7$ เป็น $1.63x10^7$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร), ตำรับการทดลองที่ 13 (เพิ่มขึ้นจาก $0.37x10^7$ เป็น $32.33x10^7$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร), ตำรับการทดลองที่ 14 (เพิ่มขึ้นจาก $0.31x10^7$ เป็น $19x10^7$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร), ตำรับการทดลองที่ 18 (เพิ่มขึ้นจาก $1.17x10^7$ เป็น $42.50x10^7$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร) และตำรับการทดลองที่ 19 (เพิ่มขึ้นจาก $1.47x10^7$ เป็น $24.17x10^7$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร) อย่างไรก็ตาม ผู้วิจัยจำเป็นต้องคัดเลือกความเข้มข้นระหว่างสารละลายสปอร์เชื้อราไตรโคเดอร์มากับกากน้ำตาลที่เหมาะสมที่สุดที่เชื้อราไตรโคเดอร์มาเจริญได้ดี ได้แก่ ตำรับการทดลองที่ 13 ($6.70x10^8$ ±1.26 สปอร์ต่อมิลลิลิตร + Molasses 10%) มีปริมาณสปอร์เชื้อราไตรโคเดอร์มาหลังเก็บรักษา

Table 2 Percentage of survival of *T. harzianum* after mixing with pelleted organic fertilizer.

			Percentage of survival								
T. harzianum concentration (S)	Molasses' concentration (M)	Treatment no.	0[1/] day	3rd day	7th day	11th day	15th day	19th day	23th day	27th day	31th day
0	0%	T1	0[2/]	0	0	0	0	0	0	0	0
	5%	T2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10%	T3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	15%	T4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20%	T5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
$6.25x10^7$ (spores/ml)	0%	T6	100	100	90	90	0	0	0	0	0
	5%	T7	100	100	100	90	90	80	0	0	0
	10%	T8	100	100	100	60	46.67	30	16.67	0	0
	15%	T9	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	20%	T10	100	100	100	100	26.67	13.33	0	0	0
$6.70x10^8$ (spores/ml))	0%	T11	100	100	100	96.67	66.67	40	0	0	0
	5%	T12	100	100	100	100	100	100	100	100	93.33
	10%	T13	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	15%	T14	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	20%	T15	100	100	100	100	83.33	66.67	0	0	0
$1x10^9$ (spores/ml)	0%	T16	100	100	100	100	96.67	83.33	40	0	0
	5%	T17	100	100	100	100	100	100	70	56.67	46.67
	10%	T18	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	15%	T19	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	20%	T20	100	100	100	100	100	63.33	30	0	0

[1/] After production is completed, [2/] No growth was observed in our tests

30 วัน เพิ่มขึ้นจาก $0.37x10^7$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร เป็น $32.33x10^7$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร และตำรับการทดลองที่ 18 ($1x10^9 \pm 0.14$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร + Molasses 10%) มีปริมาณสปอร์เชื้อราไตรโคเดอร์มาหลังเก็บรักษา 30 วัน เพิ่มขึ้นจาก $1.17x10^7$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร เป็น $42.50x10^7$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร (Table 3)

จากการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ด พบว่ามีค่าความชื้น ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ค่าการนำไฟฟ้า (EC) ปริมาณอินทรียวัตถุ (OM) มีค่าอยู่ระหว่าง 22.45-23.63%, 5.9-6.81, 1.24-2.86 ds/m และ 30.50-39.27% ตามลำดับ ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารหลัก ได้แก่ ไนโตรเจนทั้งหมด (total nitrogen) ฟอสฟอรัสทั้งหมด (total P_2O_5) และโพแทสเซียมทั้งหมด (total K_2O) พบว่า ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียม ในปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ดผสมเชื้อราไตรโคเดอร์มาก่อนเก็บรักษามีประมาณ 1-1.27%, 0.94-1.2% และ 0.93-2.22% ตามลำดับ เป็นไปตามประกาศกรมวิชาการเกษตร

Table 3 Spore counting of *T. harzianum* after mixing with pelleted organic fertilizer.

T. harzianum concentration (S)	Molasses' concentration (M)	Treatment no.	Haemacytometer count (Values are x10^7 spores/ml)		
			0 day	15th day	30th day
0	0%	T1	$0^{1/f}$	0^{e}	0^{f}
	5%	T2	$0^{1/f}$	0^{e}	0^{f}
	10%	T3	$0^{1/f}$	0^{e}	0^{f}
	15%	T4	$0^{1/f}$	0^{e}	0^{f}
	20%	T5	$0^{1/f}$	0^{e}	0^{f}
6.25x10^7 (spores/ml)	0%	T6	0.013±0.0^{e}	0^{e}	0^{f}
	5%	T7	0.013±0.0^{e}	0.002±0.0^{d}	0^{f}
	10%	T8	0.014±0.0^{e}	0.035±0.0^{d}	0^{f}
	15%	T9	0.017±0.0^{e}	1.38±0.32^{cd}	4.10±0.56^{e}
	20%	T10	0.018±0.0^{e}	0.006±0.0^{d}	0^{f}
6.70x10^8 (spores/ml))	0%	T11	0.21±0.12^{d}	0.012±0.0^{d}	0^{f}
	5%	T12	0.26±0.04^{d}	1.42±0.38^{cd}	1.63±0.08^{e}
	10%	T13	0.37±0.03^{d}	1.37±0.13^{cd}	32.33±4.51^{b}
	15%	T14	0.31±0.04^{d}	1.36±0.15^{cd}	19±1.27^{d}
	20%	T15	0.33±0.1^{d}	0.012±0.0^{d}	0^{f}
1x10^9 (spores/ml)	0%	T16	1.33±0.14^{bc}	0.035±0.0^{d}	0^{f}
	5%	T17	1.30±0.05^{bc}	1.88±0.13^{c}	0.63±0.12^{e}
	10%	T18	1.17±0.14^{c}	15.27±2.68^{b}	42.50±3.91^{a}
	15%	T19	1.47±0.25^{ab}	18.33±1.76^{a}	24.17±5.2^{c}
	20%	T20	1.57±0.08^{a}	0.90±0.04^{cd}	0^{f}
		S	**	**	**
		M	*	**	**
		SxM	**	**	**
		%CV	4.47	5.87	5.37

Mean in each column followed by different letters were different significantly by Duncan's multiple range test (DMRT). **=0.01, *=0.05

1/ No found spore in our tests

เรื่องกำหนดเกณฑ์ปุ๋ยอินทรีย์ พ.ศ. 2557 ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 ปริมาณธาตุอาหารหลักในปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ดผสมเชื้อราไตรโคเดอร์มาหลังเก็บนาน 15 วัน พบว่ามีไนโตรเจนประมาณ 0.62-0.97% ฟอสฟอรัสประมาณ 1.21-1.62% และมีโพแทสเซียมประมาณ 1.89-2.75% และปริมาณธาตุอาหารหลักในปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ดผสมเชื้อราไตรโคเดอร์มาหลังเก็บนาน 30 วัน พบว่ามีไนโตรเจนประมาณ 0.66-0.82% ฟอสฟอรัสประมาณ 1.08-1.44% และมีโพแทสเซียมประมาณ 2.02-2.75% เห็นได้ว่าปริมาณไนโตรเจนจากการวิเคราะห์ก่อนเก็บรักษาถึงอายุการเก็บที่ 30 วัน มีปริมาณลดลงอย่างมาก จากรายงานของ Danielson and Davey (1973) สนับสนุนว่า เชื้อรา *T. harzianum* สามารถใช้แหล่งไนโตรเจน (nitrogen source) ในการใช้

Table 4 Properties of pelleted organic fertilizer.

T. harzianum concentration (S)	Molasses' concentration (M)	Treatment no.	pH	Moisture (%)	EC ($dS.m^{-1}$)	OM (%)
0	0%	T1	6.68 ^{abc}	23.62	1.24 ^{i}	30.50 ^{l}
	5%	T2	6.54 $^{b-f}$	23.71	1.44 ^{ghi}	31.24 ^{kl}
	10%	T3	6.47 $^{c-f}$	23.57	1.52 ^{fgh}	35.04 ^{f}
	15%	T4	6.45 ^{def}	23.55	2.33 ^{cd}	33.88 ^{g}
	20%	T5	5.96 ^{i}	23.05	2.59 ^{b}	35.99 ^{de}
$6.25x10^{7}$ (spores/ml)	0%	T6	6.80 ^{a}	22.88	1.29 ^{i}	30.40 ^{l}
	5%	T7	6.60 $^{a-e}$	23.05	1.61 ^{fg}	32.83 ^{h}
	10%	T8	6.34 ^{fg}	23.62	1.59 ^{fg}	31.87 ^{ijk}
	15%	T9	6.18 ^{gh}	22.85	1.68 ^{ef}	35.36 ^{ef}
	20%	T10	5.90 ^{i}	22.95	2.42 ^{bcd}	38.95 ^{ab}
$6.70x10^{8}$ (spores/ml))	0%	T11	6.80 ^{a}	22.45	1.30 ^{i}	32.40 ^{hij}
	5%	T12	6.64 $^{a-d}$	23.63	2.34 ^{cd}	36.94 ^{c}
	10%	T13	6.65 $^{a-d}$	22.66	2.53 ^{bc}	37.16 ^{c}
	15%	T14	6.38 ^{efg}	22.68	2.21 ^{d}	36.47 ^{cd}
	20%	T15	6.35 ^{fg}	23.02	2.60 ^{b}	38.74 ^{ab}
$1x10^{9}$ (spores/ml)	0%	T16	6.71 ^{ab}	23.02	1.34 ^{hi}	31.56 ^{jk}
	5%	T17	6.56 $^{b-f}$	23.28	1.70 ^{ef}	32.67 ^{hi}
	10%	T18	6.52 $^{b-f}$	23.02	1.85 ^{e}	38.11 ^{b}
	15%	T19	6.01 ^{hi}	22.82	2.64 ^{b}	35.57 ^{ef}
	20%	T20	6.07 ^{hi}	23.09	2.86 ^{a}	39.27 ^{a}
		S	**	ns	**	**
		M	**	ns	**	**
		SxM	**	ns	**	**
		%CV	1.85	5.21	6.10	6.08

Mean in each column followed by different letters were different significantly by Duncan's multiple range test (DMRT).
**=0.01, *=0.05 and ns = nonsignificant

ผลิตเอนไซม์ได้อย่างกว้างขวาง เช่น ในรูปของ KNO_3, urea, casamino acids, L-alanine, L-aspartic acid, L-glutamic acid, L-cysteine, L-leucine, D-aspartic acid, L-histidine, D-alanine แหล่งไนโตรเจนในรูป $(NH_4)^+$ -N และเชื้อรา *T. harzianum* จะใช้แหล่งไนโตรเจนได้ดีในรูปของ $(NO_3)^-$ -N อาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ไนโตรเจนของปุ๋ยอินทรีย์ลดลง (Table 4)

สรุป

จากผลการทดลองพัฒนาผลิตภัณฑ์ปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ดผสมเชื้อราไตรโคเดอร์มา แสดงให้เห็นว่ากากน้ำตาลมีความจำเป็นต่ออัตราการมีชีวิตรอดของเชื้อราไตรโคเดอร์มาบนเม็ดปุ๋ยอินทรีย์เมื่อต้องใช้เวลาในการเก็บเพิ่มขึ้น ซึ่งได้คัดเลือกจำนวน 2 ตำรับการทดลอง ได้แก่ ตำรับ

Table 5 Analysis of total nitrogen, total phosphorus and total potassium in pelleted organic fertilizer.

T. harzianum concentration (S)	Molasses' concentration (M)	Treatment no.	Total nitrogen (%)			Total P_2O_5 (%)			Total K_2O (%)		
			0 day	15th day	30th day	0 day	15th day	30th day	0 day	15th day	30th day
0	0%	T1	1.02 k	0.78 cd	0.80 ab	0.94 k	1.23 fg	1.19	1.04 ij	1.23 fg	2.28 e
	5%	T2	1.16 e	0.97 a	0.74 a-e	1.11 b	1.35 c-f	1.18	0.96 k	1.35 c-f	2.75 a
	10%	T3	1.18 d	0.85 b	0.74 a-e	0.98 h	1.25 efg	1.17	1.13 h	1.25 efg	2.60 bc
	15%	T4	1.19 c	0.92 a	0.69 cde	0.92 l	1.26 efg	1.08	1.45 f	1.26 efg	2.39 de
	20%	T5	1.27 a	0.83 bc	0.74 a-e	0.99 g	1.42 bcd	1.25	1.75 c	1.42 bcd	2.63 ab
$6.25x10^7$ (spores/ml)	0%	T6	1.15 f	0.74 de	0.75 a-e	0.97 i	1.33 d-g	1.21	2.22 a	1.33 d-g	2.59 bc
	5%	T7	1.16 e	0.67 ghi	0.73 a-e	1.03 f	1.53 ab	1.32	0.95 k	1.53 ab	2.66 ab
	10%	T8	1.16 e	0.71 efg	0.73 a-e	0.94 k	1.41 bcd	1.24	1.34 g	1.41 bcd	2.64 ab
	15%	T9	1.18 d	0.69 fgh	0.73 b-e	1.05 e	1.44 bcd	1.26	1.73 c	1.44 bcd	2.66 ab
	20%	T10	1.16 e	0.72 efg	0.76 abc	0.99 g	1.41 bcd	1.33	1.85 b	1.41 bcd	2.47 cd
$6.70x10^8$ (spores/ml))	0%	T11	1.01 l	0.64 hi	0.66 e	0.90 m	1.42 bcd	1.24	1.03 j	1.42 bcd	2.02 f
	5%	T12	1.09 i	0.68 fgh	0.70 cde	0.94 k	1.32 d-g	1.22	1.09 i	1.32 d-g	2.26 e
	10%	T13	1.11 h	0.68 fgh	0.75 a-e	0.96 j	1.61 a	1.44	1.55 e	1.61 a	2.60 bc
	15%	T14	1.09 i	0.69 fgh	0.69 cde	1.06 d	1.21 g	1.13	1.17 h	1.21 g	2.56 bc
	20%	T15	1.19 c	0.74 def	0.76 a-d	1.07 c	1.42 bcd	1.26	1.45 f	1.42 bcd	2.60 abc
$1x10^9$ (spores/ml)	0%	T16	1.01 l	0.67 ghi	0.66 de	0.88 n	1.44 bcd	1.17	0.95 k	1.44 bcd	2.47 cd
	5%	T17	1.05 j	0.67 ghi	0.68 cde	0.92 k	1.48 bc	1.29	0.88 l	1.48 bc	2.29 e
	10%	T18	1.11 h	0.65 hi	0.70 cde	0.94 k	1.32 d-g	1.20	0.93 k	1.32 d-g	2.53 bc
	15%	T19	1.13 g	0.65 hi	0.76 a-d	1.05 e	1.62 a	1.39	1.07 ij	1.62 a	2.56 bc
	20%	T20	1.23 b	0.62 i	0.82 a	1.20 a	1.38 cde	1.30	1.65 d	1.38 cde	2.55 bc
		S	**	**	ns	**	**	ns	**	**	**
		M	**	**	**	**	ns	ns	**	**	**
		SxM	**	**	**	**	**	ns	**	**	**
		%CV	0.034	3.11	4.99	0.13	3.96	4.40	1.59	0.06	2.36

Mean in each column followed by different letters were different significantly by Duncan's multiple range test (DMRT).
**=0.01, *=0.05 and ns = nonsignificant

การทดลองที่ 13 โดยใช้สารละลายสปอร์เชื้อราไตรโคเดอร์มาที่ความเข้มข้น $6.70x10^8$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ร่วมกับกากน้ำตาลความเข้มข้น 10% และตำรับการทดลองที่ 18 ใช้สารละลายสปอร์เชื้อราไตรโคเดอร์มาที่ความเข้มข้น $1x10^9$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ร่วมกับกากน้ำตาลความเข้มข้น 10% สำหรับนำไปทดสอบผลิตในกระบวนการผลิตปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ดระดับโรงงาน จากนั้นคัดเลือกส่วนผสมที่เหมาะสมที่สุดเพียงหนึ่งเดียวสำหรับโรงงานต่อไป ผลจากการนำเม็ดปุ๋ยอินทรีย์ผสมเชื้อราไตรโคเดอร์มามาตรวจจำนวนสปอร์พบว่ามีปริมาณของสปอร์เชื้อราไตรโคเดอร์มาเพิ่มสูงขึ้น

นอกจากนี้คุณภาพทางเคมีของปุ๋ยอินทรีย์ผสมเชื้อราไตรโคเดอร์มา พบว่าความชื้น ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าการนำไฟฟ้า ปริมาณอินทรียวัตถุ ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมทั้งหมด ผ่านมาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของกรมวิชาการเกษตร แต่ในส่วนของปริมาณไนโตรเจนในเม็ดปุ๋ยอินทรีย์ พบว่ามีปริมาณลดลงมาก ทำให้ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานตามที่กฎหมายกำหนด อย่างไรก็ตาม ผู้วิจัยต้องศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องการปรับแก้สูตรผสมของปุ๋ยอินทรีย์หรือเพิ่มวัตถุดิบบางชนิดเพื่อแก้ไขปริมาณไนโตรเจนที่ลดลงของปุ๋ยอินทรีย์ต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณการสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรมที่สนับสนุนงบประมาณในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

จิระเดช แจ่มสว่าง และวรรณวิไล อินทนู. 2545. การผลิตเชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสดด้วยเทคนิคอย่างง่ายเพื่อใช้ควบคุมโรคเน่าระดับดินของถั่วฝักยาวที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii*. น. 114-122. *ใน* การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 40. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

จิระเดช แจ่มสว่าง และวรรณวิไล อินทนู. 2542. การใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาควบคุมโรคพืช. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

ชัยมงคล ใจหล้า และบุญร่วม คิดค้า. 2558. การปรับปรุงกระบวนการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ตรากว๊านพะเยา, น. 20. *ใน* รายงานการประชุมวิชาการดินและปุ๋ยแห่งชาติ ครั้งที่ 4 (ภาควิชาธรณีศาสตร์) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

เทคโนโลยีชาวบ้าน. 2559. สถานการณ์ปุ๋ยภายในประเทศ. ดินและปุ๋ย. มติชน 28: 73. เข้าถึงได้จาก: http://info.matichon.co.th/techno/techno.php?srctag=05073010559&srcday=&search=no [เข้าถึงเมื่อ 10 กรกฎาคม 2560].

พงษ์เทพ วิชัยสุทธิพันธุ์. 2548. การศึกษาอัตราส่วนระหว่างปริมาณวัตถุดิบต่อปริมาณของกากน้ำตาลในน้ำสารสกัดชีวภาพที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของผักคะน้า. *ใน* รายงานการวิจัยของมหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม. สำนักวิทยบริการและเทคโนโลยีสารสนเทศ, นครปฐม.

วิฑูรย์ ปัญญากุล. 2559. สถานการณ์เกษตรอินทรีย์ไทย ปี 2559. มูลนิธิสายใยแผ่นดิน. เข้าถึงได้จาก: http://www.greennet.or.th/article/organic-farming/thailand [เข้าถึงเมื่อ 10 กรกฎาคม 2560].

Danielson, R.M. and C. B Davey. 1973. Carbon and nitrogen nutrition of Trichoderma. Soil Biol. Biochem, 5(5), 505–515.

Kawasaki, V.H. and C, Machado. 2013. Establishment of a semi-selective method for the detection of Sclerotinia sclerotiorum in dry bean and soybean seeds. J. Seed Science, 35(4), 435–442.