



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การพัฒนาปุ๋ยชีวภาพจากผลผลิตในท้องถิ่น
เพื่อสนองแนวทางพระราชดำริเศรษฐกิจพอเพียง

โดย
สุรางค์รัตน์ พันแสง
พวงผกา แก้วกรม
กมลวรรณ ศรีปลั่ง



มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

2554



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การพัฒนาปุ๋ยชีวภาพจากผลผลิตในท้องถิ่น
เพื่อสนองแนวทางพระราชดำริเศรษฐกิจพอเพียง

โดย

สุรางค์รัตน์ พันแสง

พวงผกา แก้วกรม

กมลวรรณ ศรีปลั่ง

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน
มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2554



ชื่อโครงการวิจัย(ภาษาไทย) การพัฒนาปุ๋ยชีวภาพจากผลผลิตในท้องถิ่น เพื่อสนองแนวทางพระราชดำริเศรษฐกิจพอเพียง

(ภาษาอังกฤษ) Development of Bio-Fertilizer from Local Products on Sufficient Economy According to the Royal Initiatives

ชื่อผู้วิจัย นางสาวสุรางค์รัตน์ พันแสง
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พวงผกา แก้วกรม
นางสาวกมลวรรณ ศรีปลั่ง
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประเภท งบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2554

จำนวนเงิน	70,400	บาท	ระยะเวลาทำการวิจัย	11	เดือน
ตั้งแต่วันที่	1 พฤศจิกายน พ.ศ.2553	ถึง วันที่	30 กันยายน พ.ศ.2554		

บทคัดย่อ

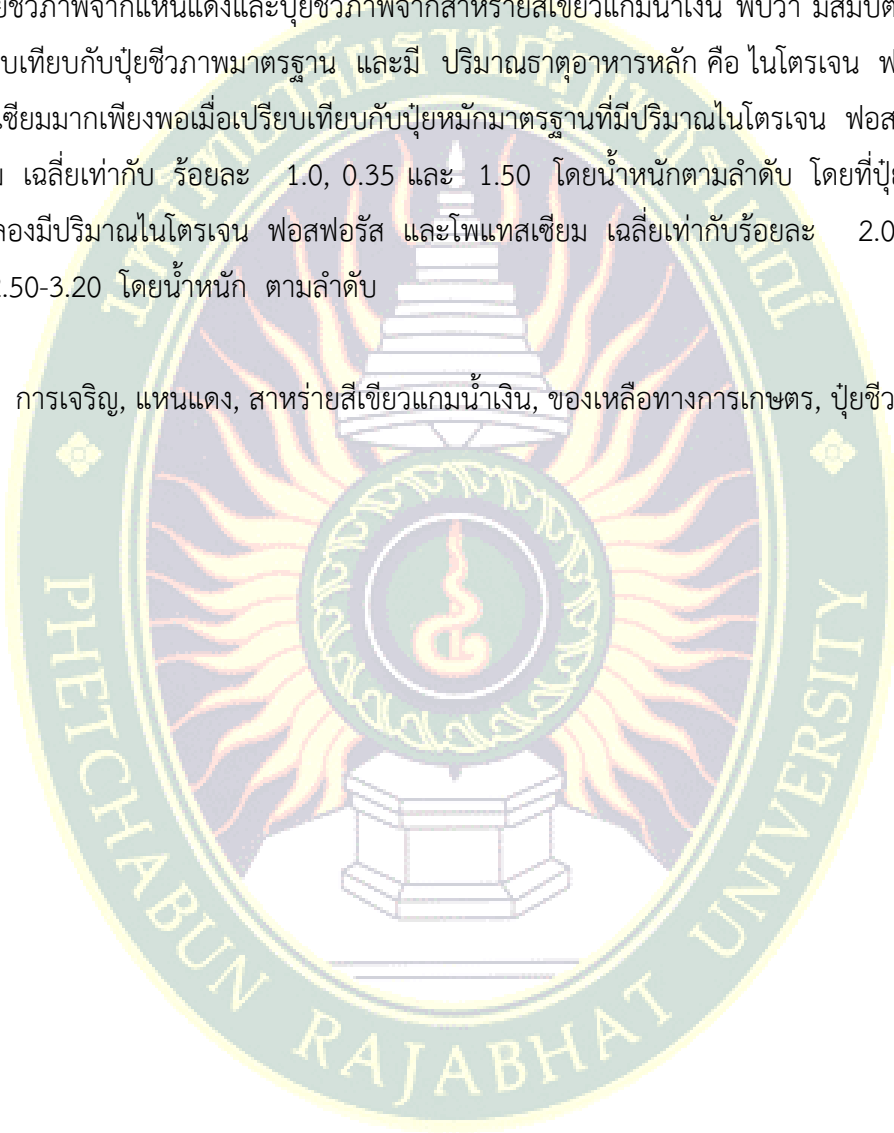
การพัฒนาปุ๋ยชีวภาพจากผลผลิตในท้องถิ่น เพื่อสนองแนวทางพระราชดำริเศรษฐกิจพอเพียง เน้นการนำวัสดุในท้องถิ่นมาพัฒนาใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อชุมชน ซึ่งเป็นการช่วยให้การพัฒนาคุณภาพชีวิตของประชาชนให้มีความเป็นอยู่ที่ดีขึ้น โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ตอน คือ

ตอนที่ 1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของແໜແຂງและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน มุ่งเน้นในการเพิ่มปริมาณ โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ขั้นตอน คือ การทดลองที่ 1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของແໜແຂງ วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design หรือ RCBD พบว่า แห้ແໜແຂງที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ 2 K_2HPO_4 อัตรา 4 กรัม/กระถาง มีอัตราการเจริญเติบโตและมีน้ำหนักแห้งมากที่สุด สูตรอาหารที่ 5 K_2HPO_4 อัตรา 10 กรัม/กระถาง มีอัตราการเจริญเติบโตและน้ำหนักแห้งน้อยที่สุด การทดลองที่ 2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน พบว่า *Nostoc* sp. มีอัตราการเจริญมากที่สุด การเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ทำให้อัตราการเจริญและผลผลิตน้ำหนักแห้งลดลง สายพันธุ์ที่มีอัตราการเจริญ น้ำหนักแห้งสูงสุด คือ *Nostoc* sp. และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่สามารถเจริญและให้ผลผลิตน้ำหนักแห้งสูงที่ pH 5.0-8.5 และเมื่อเฉลี่ยทุกระดับ pH แล้ว สายพันธุ์ที่มีอัตราการเจริญ น้ำหนักแห้งสูง คือ *Anabaena* sp. และ *Nostoc* sp. ซึ่งไม่มีความแตกต่างกัน สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสามารถเจริญและให้ผลผลิตน้ำหนักแห้งสูงที่สุด เมื่อได้รับความเข้มแสงที่ระดับ $80 \mu mole \text{ quanta cm}^{-2} s^{-1}$ และ

เมื่อเฉลี่ยทุกระดับความเข้มแสงแล้วสายพันธุ์ที่มีอัตราการเจริญ น้ำหนักแห้งสูง คือ *Anabaena* sp. และ *Nostoc* sp. ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตอนที่ 2 การศึกษาและการพัฒนาวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรในจังหวัดเพชรบูรณ์ เพื่อการผลิตปุ๋ยชีวภาพจากແຫນແດງและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน โดยทำการผสมวัสดุเหลือใช้รวมทั้งสิ้น 6 สูตร ทดลอง พบว่า เศษผักที่เกษตรกรทิ้งไปนั้นมีไนโตรเจน 5.21 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ก้านยาสูบ 2.43 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณโพแทสเซียมมีอยู่ในก้านยาสูบ 5.54 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ เศษผัก 2.00 เปอร์เซ็นต์ เมื่อศึกษาปุ๋ยชีวภาพจากແຫນແດງและปุ๋ยชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน พบว่า มีสมบัติทางกายภาพที่ดีเมื่อเปรียบเทียบกับปุ๋ยชีวภาพมาตรฐาน และมี ปริมาณธาตุอาหารหลัก คือ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมมากเพียงพอเมื่อเปรียบเทียบกับปุ๋ยหมักมาตรฐานที่มีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม เฉลี่ยเท่ากับ ร้อยละ 1.0, 0.35 และ 1.50 โดยน้ำหนักตามลำดับ โดยที่ปุ๋ยชีวภาพที่ได้จากการทดลองมีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม เฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 2.0-3.0 , 2.50-3.70 และ 2.50-3.20 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ

คำสำคัญ : การเจริญ, แຫນແດງ, สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน, ของเหลือทางการเกษตร, ปุ๋ยชีวภาพ





Abstract

The development of bio-fertilizer base on the concept of sufficiency economy focused on the benefit of using local materials. This research need to improve the qualities of life of local people. This study divided into two sections including with;

The first one investigated on appropriate condition for growth of *azolla* spp. and blue-green algae by focus on increase quantity. This approach was applied to using cooperated with organic farm. This technique will be an effectively for soil and environmental management. This research was divided into two parts. The first was investigated on an optimum conditions for the growth of *azolla* spp.. Experimental design was a Randomized Complete Block Design (RCBD). The results indicated that *azolla* spp. in the second treatment which used K_2HPO_4 4 g/pot had the highest growth rate. *Azolla* spp. in this treatment have grew about 53.71 ± 7.25 g/unit and it have 2.17 ± 0.53 g of dry matter. Meanwhile, the fifth treatment, which used K_2HPO_4 10 g/pot, have the lowest growth rate of *azolla* spp.. The growth rate and dry weight were 9.57 ± 1.73 g/unit and 0.45 ± 0.10 g, respectively. The second part monitored an optimum condition on the growth of blue-green algae. The results found that *Nostoc* sp. had the highest growth rate ($0.431 \mu, \text{day}^{-1}$) followed by *Anabaena* sp. and *Calothrix* sp., respectively. The result on concentration of NaCl had a negative effected to growth rate and dry weight of *azolla* spp. Comparing between three strains of cyanobacteria at pH 5.0-8.5 indicated that *Nostoc* sp. had the highest on growth and dry biomass. But on the average pH,

Anabaena sp. and *Nostoc* sp. showed the highest growth rate and biomass, and there were no significantly different. The optimum range of light intensity was a 80 $\mu\text{mole quanta cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$. On the average light intensity the results indicated that *Anabaena* sp. and *Nostoc* sp. showed the highest growth rate and biomass, and there were no significantly different.

The seconded section were focused on the production of bio-fertilizer from *azolla* spp. and cyanobacteria. The objectives were to study the composition of agricultural wastes which were produced a high quality bio-fertilizer. This product produced base on safety for users, consumers and environments. Moreover, bio-fertilizer can be use to replace/reduce a chemical fertilizers in local community. The raw materials were straw, vegetable scraps, tobacco petiole, corncob, chicken manure, biodegradation and molasses. Bio-fertilizers were produced into six treatments. The results revealed that vegetable scraps had a nitrogen concentration about 5.21%, followed by tobacco petiole (2.43%). According to potassium, tobacco petiole had a concentration 2.43% followed by vegetable scraps (2.00%). *Azolla* spp. and cyanobacteria bio-fertilizer have a high quality when comparing to the standard bio-fertilizer. The standard bio-fertilizer have a macro-nutrients i.e. nitrogen, phosphorus and potassium about 1.0, 0.35 and 1.50 by weight, respectively. Meanwhile, the products from this experiment have an average of nitrogen, phosphorus and potassium about 2.0-3.0, 2.50-3.70 and 2.50-3.20 by weight, respectively.

Keywords : Growth, *Azolla* spp., blue-green algae, agricultural waste, Bio-fertilizer



กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ เนื่องจากความร่วมมือจากบุคคลและองค์กรจากหลายภาคส่วน คณะผู้วิจัยต้องขอขอบพระคุณ นายกองค์การบริหารส่วนตำบลบ้านหวาย คุณบุญญาฤทธิ์ ต่ายขาว ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการเผยแพร่องค์ความรู้ต่าง ๆ ของงานวิจัยให้แก่ประชาชนในเขตพื้นที่ และขอขอบพระคุณสถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ที่คอยให้คำปรึกษาพร้อมทั้งสายพันธุ์สำหรับสี่เขี้ยวเกมน้ำเงินที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้

ขอขอบคุณ อาจารย์ และเจ้าหน้าที่ สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีทุกท่าน ที่คอยช่วยเหลือให้กำลังใจและประสานงานการวิจัยจนลุล่วงสำเร็จไปได้ด้วยดี

ท้ายสุดนี้คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ที่ทำหน้าที่ในการประสานงานจนทำให้การดำเนินโครงการวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอคิดเห็นและข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์จากผู้รับการอบรมเป็นสิ่งที่คณะผู้วิจัยระลึกถึงความกรุณา ซึ่งมีส่วนสำคัญที่ทำให้โครงการวิจัยนี้มีความสมบูรณ์ ถูกต้อง และเป็นประโยชน์ต่อชุมชนในท้องถิ่นของจังหวัดเพชรบูรณ์ ท้ายสุดนี้ขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ สำนักงบประมาณและสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่สนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัยในครั้งนี้

สุรางค์รัตน์ พันแสงและคณะ

11 มกราคม 2555



บทคัดย่อไทย

บทคัดย่ออังกฤษ

กิตติกรรมประกาศ

สารบัญเรื่อง

สารบัญภาพ

สารบัญตาราง

บทที่ 1 บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

ขอบเขตของการวิจัย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

หน้า

III

V

V

VII

IX

X

1

1

2

2

2

นิยามศัพท์เฉพาะ	3
กรอบแนวความคิดของการวิจัย	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
แห่นแดง (<i>Azolla pinnate</i> R.Br.)	5
สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue-green algae)	9
ความหมายของคำว่า “ปุ๋ย”	25
การจำแนกปุ๋ย	25
ปริมาณธาตุอาหารพืช สารอื่น ๆ สมบัติของปุ๋ยและสิ่งอื่น ๆ ที่นำมาใช้เป็นปุ๋ย	26
การผลิตปุ๋ยชีวภาพ	30
ข้อดี-ข้อด้อยและข้อควรระวังของปุ๋ยชีวภาพ	34
ผลการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการใช้ปุ๋ยชีวภาพ	35
ข้อเสนอแนะในการใช้ปุ๋ยชีวภาพ	36
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	38
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	40
วิธีดำเนินการวิจัย	40
การเก็บรวบรวมข้อมูล	44
การวิเคราะห์ข้อมูล	44
สถานที่ทำการทดลอง	44
ระยะเวลาทำการทดลอง	44
สารบัญเรื่อง	หน้า
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	45
ตอนที่ 1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของแห่นแดง และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเพื่อเพิ่มผลผลิตข้าว	45
ตอนที่ 2 การศึกษาสมบัติทางกายภาพของปุ๋ยชีวภาพจากแห่นแดง และปุ๋ยชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน	53

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	58
สรุปผลการวิจัย	58
ข้อเสนอแนะ	62
บรรณานุกรม	63
ภาคผนวก	66
ภาคผนวก ก สูตรอาหาร BG11	67
ภาคผนวก ข การวัดความหนาแน่นของเซลล์	68
ภาคผนวก ค การวิเคราะห์ธาตุอาหารในปุ๋ย	69
ภาคผนวก ง ภาพการทดลอง	71
ภาคผนวก จ หลักฐานการเผยแพร่ผลงานวิจัย	73



สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1.1	กรอบแนวความคิดของการวิจัย	4
2.1	ลักษณะต้นของเหวนแดง	6

2.2	เซลล์สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (<i>Anabaena azollae</i>) ในช่องใบของแหนแดง	6
2.3	ลักษณะโครงสร้างของเซลล์ไซยาโนแบคทีเรีย	10
2.4	การเจริญของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในการเพาะเลี้ยงแบบครั้งคราว	20
4.1	อัตราการเจริญของแหนแดง (<i>Azolla</i> spp.) ระหว่างสัปดาห์ที่ 5-8	47
4.2	อุณหภูมิที่เกิดขึ้นในการหมักปุ๋ยชีวภาพ	54
4.3	ปริมาณธาตุอาหารของปุ๋ยชีวภาพจากแหนแดงและปุ๋ยชีวภาพ จากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน	56



ตาราง ที่		หน้า
2.1	องค์ประกอบทางเคมีของແໜແດງ	8
2.2	การจำแนกไคยาโนแบคทีเรียตามแบบนักพฤกษศาสตร์	12
2.3	สิ่งที่ใช้ในการพิจารณาในการจัดจำแนกไคยาโนแบคทีเรีย	13
2.4	จุลินทรีย์ที่ได้รับความสนใจทำการวิจัยเพื่อนำมาใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพ แยกตามกิจกรรมที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช	28
2.5	การจำแนกไรโซเปียมอาศัยการจำแนกตามความสัมพันธ์กับพืชตระกูลถั่วชนิด ต่าง ๆ	32
2.6	การเพิ่มผลผลิตของเชื้อไรโซเปียมต่อถั่วเหลืองที่ปลูกในภาคต่าง ๆ	35
4.1	อัตราการเจริญของແໜແດງ (<i>Azolla</i> spp.) ระหว่างสัปดาห์ที่ 1-4	46
4.2	อัตราการเจริญของແໜແດງ (<i>Azolla</i> spp.) ระหว่างสัปดาห์ที่ 5-8	47
4.3	น้ำหนักแห้งของແໜແດງ (<i>Azolla</i> spp.)	48
4.4	อัตราการเจริญ และน้ำหนักแห้งของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน จำนวน 3 สายพันธุ์	49
4.5	ผลของโซเดียมคลอไรด์ระดับต่าง ๆ ต่ออัตราการเจริญ และน้ำหนักแห้ง ของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน จำนวน 3 สายพันธุ์	50
4.6	ผลของ pH ระดับ 4.0 , 5.0 , 6.0 , 7.4 และ 8.5 ต่ออัตราการเจริญ และน้ำหนักแห้งของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน จำนวน 3 สายพันธุ์	51
4.7	ผลของความเข้มแสง 40 , 60 และ 80 $\mu\text{mole quanta cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ต่ออัตราการเจริญของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน จำนวน 3 สายพันธุ์	52
4.8	ผลการวิเคราะห์ธาตุอาหารหลักในวัสดุผสม	53
4.9	อุณหภูมิที่เกิดขึ้นในการหมักปุ๋ย	54
4.10	ผลการวิเคราะห์ทางกายภาพของปุ๋ย (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)	55
4.11	ผลการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารของปุ๋ยชีวภาพจากແໜແດງและ ปุ๋ยชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน	56
4.12	อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจน (C/N ratio)	57

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม พลเมืองประมาณ 60% มีอาชีพปลูกข้าวเป็นหลักในพื้นที่ทั้งหมดประมาณ 65 ล้านไร่ ให้ผลผลิตข้าวคิดเป็นมูลค่าประมาณ 70,000 ล้านบาท ทำให้ประเทศไทยได้ชื่อว่าเป็นประเทศหนึ่งที่มีการผลิตข้าวเป็นรายใหญ่ของโลก แต่ในขณะเดียวกันพบว่าเกษตรกรไทยที่มีอาชีพทำนายากจนลงเรื่อย ๆ ทั้งนี้เป็นเพราะราคาข้าวตกต่ำ วัสดุที่เป็นปัจจัยการผลิตมีราคาสูงขึ้นเรื่อย ๆ ดินเสื่อมสภาพลง จำเป็นต้องเพิ่มปัจจัยการผลิตมากขึ้น จากการสำรวจสถิติทางการเกษตรของศูนย์สถิติการเกษตร สำนักเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์(2550) พบว่า ประเทศไทยมีการนำเข้าปุ๋ยเคมีเพิ่มมากขึ้นทุกปี เมื่อปี พ.ศ.2545 มีปริมาณการใช้ 3,713,328 ตัน ปี พ.ศ.2546 ปริมาณการใช้ 3,952,356 ตัน และปี พ.ศ.2547 ปริมาณการใช้ 3,919,766 ตัน แสดงว่าดินนาในประเทศไทยมีความอุดมสมบูรณ์ลดลงและมีศักยภาพการผลิตข้าวต่ำ ทำให้ชาวนาต้องเพิ่มเงินซื้อปุ๋ยเคมีมากขึ้น ประกอบกับปุ๋ยเคมีมีราคาแพงทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น เกษตรกรไทยจึงยากจนลง การพัฒนาประเทศเพื่อให้เกิดความเจริญก้าวหน้าทัดเทียมอารยประเทศ สิ่งที่ต้องแก้ไขรีบด่วน คือ การจัดความยากจนของชาวนาไทย ซึ่งเป็นประชากรส่วนใหญ่ของประเทศให้มีการอยู่ดีกินดี การทำให้เพิ่มพื้นที่การเพาะปลูกย่อมเป็นไปได้ยากเนื่องจากจำนวนประชากรที่เพิ่มขึ้นทุกปี ในขณะที่พื้นที่ดินยังคงเท่าเดิม สิ่งที่เป็นไปได้คือ การเพิ่มผลผลิตต่อพื้นที่ให้สูงขึ้นหรือลดต้นทุนการผลิตลง ซึ่งการเพิ่มผลผลิตในแต่ละพื้นที่ที่มีปัจจัยหลายอย่างร่วมกัน แต่ปัจจัยหนึ่งที่สำคัญ คือ การใส่ปุ๋ยเพื่อเพิ่มธาตุอาหารที่จำเป็นลงไปดินและปัจจุบันพบว่าเกษตรกรไทยยังคงใช้ปุ๋ยในอัตราต่ำอยู่เนื่องมาจากฐานะยากจน มีเงินไม่เพียงพอที่จะซื้อปุ๋ยซึ่งมีราคาสูงในท้องตลาดมาใช้ได้เพียงพอ และขณะเดียวกันเกษตรกรขาดความมั่นใจว่าเมื่อใช้ปุ๋ยแล้วผลผลิตที่ได้คุ้มค่ากับการลงทุนหรือไม่

แนวทางหนึ่งที่จะช่วยเพิ่มผลผลิตข้าวและลดการใช้ปุ๋ยเคมี คือ การพัฒนา ใช้ปุ๋ยชีวภาพจากແຫນແຂງແລະສາหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ซึ่งสามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ ช่วยเพิ่มไนโตรเจนให้กับดินและพืช และยังปลดปล่อยสารจำพวกฮอร์โมนที่สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชทำให้ผลผลิตสูงขึ้น ปลดปล่อยออกซิเจนในขณะที่สังเคราะห์แสงทำให้จุลินทรีย์มีประโยชน์อื่น ๆ เจริญเติบโตดีเมื่อใช้ปุ๋ยชีวภาพจะช่วยยึดอนุภาคดินให้จับกันเป็นโครงสร้างที่คงทนต่อการชะล้างของน้ำฝนทำให้ดินอุ้มน้ำดีขึ้น (กลุ่มวิจัยเศรษฐกิจการผลิต และการจัดการไร่นา, 2542) นอกจากนี้สภาพแวดล้อมในนาที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (ธงชัย, 2546)

การพัฒนาประเทศตามสภาพเศรษฐกิจในอดีต จะมุ่งเน้นในด้านการเติบโตของตัวเลขของรายได้ประเทศโดยรวมเป็นด้านหลัก การพัฒนาดังกล่าวจะทำให้มีการเจริญเติบโตทางด้านวัตถุและก้าวหน้าไปอย่างรวดเร็ว ทางด้านเทคโนโลยีทำให้มิติทางด้านสังคมวัฒนธรรมแบบสังคมความเป็นไทยถูกมองข้ามไป

ค่านิยมแบบตะวันตกเข้ามาบดบังจนประชาชนแทบจะหาความสุขแบบสังคมชนบทไม่ได้ เกษตรกรที่ทำ การเกษตรกรรมเป็นคนที่มีความยากจนเป็นส่วนใหญ่ของประเทศ และเป็นปัญหาของประเทศมาเป็น เวลานาน การทำการเกษตรกรรมชาวนา ชาวนาจะมีความสุขภาพทิวทัศน์จากการใช้สารเคมีซึ่งมีและ ต้นทุนสูง และมีสิ่งทำให้สิ่งแวดล้อมเสื่อมโทรมมากขึ้น ในปัจจุบันการนำเทคโนโลยีสมัยใหม่มาใช้ในการ ประกอบอาชีพเพื่อมุ่งหวังให้มีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น แต่กลับกลายเป็นว่าชาวนา ชาวนามีคุณภาพชีวิตที่ ต่ำลง ขณะที่คนจำหน่ายสารเคมีและเทคโนโลยีมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้นจึงมีส่วนเป็นไปได้ว่าส่วนหนึ่งที่ ทำลายชีวิตชาวนา เพราะการใช้สารเคมีและปุ๋ยเคมี นอกจากนี้เกษตรกรชาวนา ชาวนาจะมีค่าใช้จ่ายสูง จนทำให้ต้องทิ้งถิ่นฐานอพยพย้ายถิ่นไปทำงานรับจ้างในเมืองหรือในกรุงเทพฯ ทำให้เห็นว่าหากเราปล่อย ให้การพัฒนาทางด้านเทคโนโลยีมาทำลายชาวนาชาวนาแล้วสังคมจะมีปัญหาต่อไป ดังนั้นจึงควรที่จะหา แนวทางทำให้ชาวนาชาวนาสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ และลดค่าใช้จ่ายลงเพื่อดำรงไว้ซึ่งคุณภาพชีวิตแบบ พอเพียง มีสิ่งแวดล้อมที่ดีไม่เป็นอันตรายต่อคนและชุมชนเข้มแข็งจะช่วยเป็นแรงผลักดันให้สังคมขับเคลื่อน ต่อไป ดังที่ บุญยงค์ เกศเทศ (2546 : 173) ได้ให้ความเห็นไว้ว่า กระแสสังคมโลกาภิวัตน์ที่กำลังทำลายล้าง ชุมชน คงดำเนินต่อไปไม่หยุดยั้งเพียงแต่เราต้องมีกระบวนการต่อสู้อย่างถูกวิธีและเป็นรูปธรรม ระบบ การเรียนการสอนในโรงเรียนต้องปรับเปลี่ยนสู่การศึกษาท้องถิ่น เพื่อขึ้นความถูกต้องให้แก่ชุมชน ขณะเดียวกันก็ถ่ายทอดประสบการณ์และการเรียนรู้เพื่อก้าวไปสู่ความเข้าใจเทคโนโลยีที่ค่อยเป็นค่อยไปไม่ ก้าวกระโดดอย่างที่เป็นอยู่ จนเชื่อมต่อไม่ติดกับรากเหง้าภูมิปัญญาท้องถิ่น และระบบนิเวศตามศักยภาพ และปัจจัยของแต่ละชุมชน ทั้งนี้เพราะความเจริญก้าวหน้าดังกล่าวทำให้เกิดช่องว่างของคนในสังคมมากขึ้น เกษตรกรจะมีปัญหาด้านสุขภาพและสิ่งแวดล้อมมากขึ้น และจะทวีความรุนแรงเป็นจำนวนมากขึ้นจนเกิด การเปลี่ยนแปลงเป็นผลกระทบต่อคุณภาพชีวิตของประชาชน กลายเป็นปัญหาของสังคมตามมา

จากปัญหาและความสำคัญ หากมีการส่งเสริมการใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพอย่างง่ายเพื่อส่งเสริม วิธีชีวิตของเยาวชนตามแนวพระราชดำริเศรษฐกิจพอเพียง โดยการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ด้วยการนำวัสดุใน ท้องถิ่นมาพัฒนาใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อชุมชน ก็จะช่วยให้การพัฒนาคุณภาพชีวิตของประชาชนให้มีความ เป็นอยู่ที่ดีขึ้น มีการดำรงชีวิตอยู่ในชุมชนตาม มาตรฐานเบื้องต้นที่มนุษย์ดำรงอยู่ในสังคม ในสิ่งแวดล้อมที่ดี ขึ้นเพียงพอที่จะก่อให้เกิดความสุขทั้ง ร่างกายและจิตใจ

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาสถานะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเห่นแดงและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเพื่อ เพิ่มผลผลิต ข้าว
2. เพื่อส่งเสริมการใช้ของเหลือทางการเกษตรในจังหวัดเพชรบูรณ์ เพื่อการผลิตปุ๋ยชีวภาพ จากเห่นแดงและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

วิเคราะห์หาอัตราการเจริญ (specific growth rate, μ) ของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต ผลของโซเดียมคลอไรด์ (NaCl), ความเป็นกรด-ด่าง (pH), ความเข้มแสง ศักยภาพประกอบพวกวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรในพื้นที่จังหวัดเพชรบูรณ์

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ของแหนแดงและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน มุ่งเน้นในการเพิ่มปริมาณเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ควบคู่กับการเกษตรอินทรีย์
2. ทราบองค์ประกอบพวกวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรในพื้นที่จังหวัดเพชรบูรณ์ พร้อมทั้งบอก สัดส่วนองค์ประกอบที่เหมาะสมของคาร์บอนและไนโตรเจน กระบวนการหมักปุ๋ยเป็นการหมักในสภาวะที่มีอากาศ (Aerobic digestion) มุ่งเน้นความปลอดภัยต่อผู้ใช้และผู้บริโภค เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และสามารถนำปุ๋ยชีวภาพไปใช้ทดแทนหรือลดการใช้ปุ๋ยเคมีของท้องถิ่นและชุมชนได้

1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ

การเจริญ (Growth) หมายถึง การเพิ่มขนาด จำนวน หรือการเพิ่มของน้ำหนักแห้ง
แหนแดง (Mosquito fern, Water fern) หมายถึง พืชน้ำเล็ก ๆ พวกเฟิร์น พบเจริญเติบโต อยู่บนผิวน้ำในที่ที่มีน้ำขังในเขตร้อนและอบอุ่นทั่วไป

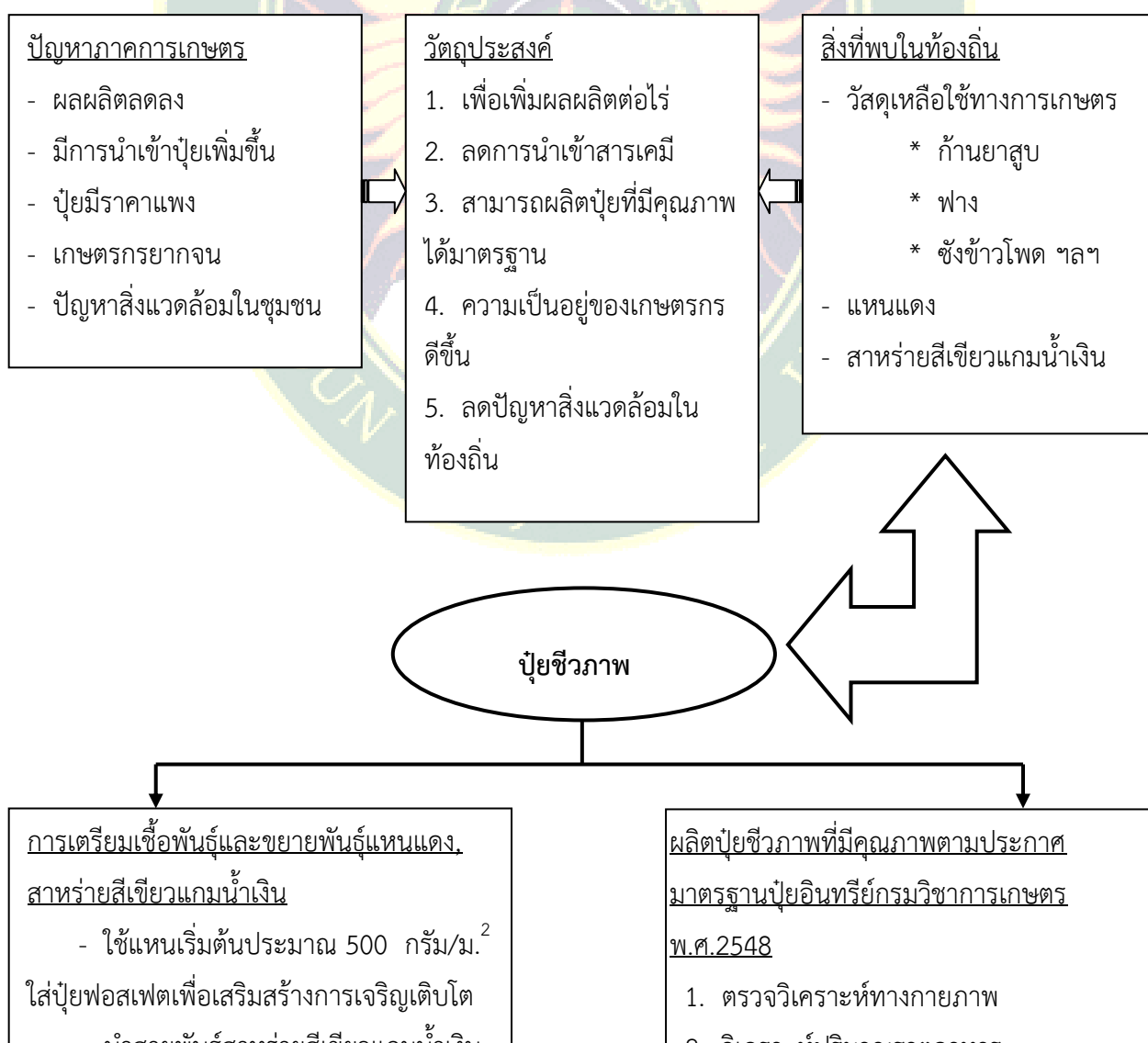
สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue-green algae หรือ Cyanobacteria) เป็นชื่อที่ใช้เรียก แบคทีเรียกลุ่มหนึ่งที่มีความสามารถในการสังเคราะห์แสงได้เหมือนพืชทั่วไป แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถพบ ได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ และเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีประโยชน์มากในทางอุตสาหกรรมและเกษตรกรรม

วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร (Agricultural waste) หมายถึง เศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เช่น เศษผัก พางข้าว แขนข้าวโพด ก้านยาสูบ ที่เหลือทิ้งจากการผลิตพืชผลทางการเกษตรของจังหวัด เพชรบูรณ์

ปุ๋ยชีวภาพ (Bio-fertilizer) หมายถึง ปุ๋ยชีวภาพที่ได้จากการหมักเศษวัสดุเหลือทิ้งทาง การเกษตรกับวัสดุอื่น ๆ โดยอัตราส่วนที่เหมาะสม

อินทรีย์วัตถุ (Organic matter) หมายถึง สิ่งที่ได้จากการย่อยสลายตัวของสารอินทรีย์ ได้แก่ ซากพืช ซากสัตว์ รวมถึงสิ่งขับถ่ายของมนุษย์และสัตว์ ขยะต่าง ๆ จนไปถึงเซลล์ของจุลินทรีย์ที่ตายแล้ว อินทรีย์วัตถุเมื่อย่อยสลายต่อไปจนขั้นสุดท้ายจะได้ฮิวมัส ฮิวมัสเป็นสารที่เสถียร มีพื้นที่ผิวสัมผัสสูง สามารถดูดซับน้ำได้ดี มีความสามารถในการแลกเปลี่ยนประจุไฟฟ้าสูง

1.6 กรอบแนวความคิดของการวิจัย





ภาพที่ 1.1 กรอบแนวความคิดของการวิจัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แหนแดง (*Azolla pinnate* R.Br.)

แหนแดง (*Azolla*, Water fern, Water velvet) มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Azolla* spp. เป็นพืชลอยบนผิวน้ำ ลักษณะโดยทั่วไปของแหนแดง ประกอบด้วยส่วนต่างๆ คือ ลำต้น (rhizome) ราก (root) และใบ (lobe) มีกิ่งแยกจากลำต้น ใบเกิดตามกิ่งเรียงสลับกันไป แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ใบบน (dorsal lobe) และใบล่าง (ventral lobe) มีขนาดใกล้เคียงกัน รากของแหนแดงจะห้อยลงไปในน้ำตามแนวดิ่งและอาจฝังลงไปในดินโคลนได้ ใบบนมีโพรงใบและมีสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินอาศัยอยู่ในลักษณะพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินนี้สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศแล้วเปลี่ยนให้เป็นสารประกอบในรูปของแอมโมเนียมให้แหนแดงใช้ประโยชน์ได้ ทำให้แหนแดงเจริญเติบโตได้เร็วและมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสูง และการที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสูงทำให้แหนแดงสลายตัวได้ง่ายและปลดปล่อยไนโตรเจนและธาตุอาหารพืชอื่น ๆ ออกมาอย่างรวดเร็ว เพื่อให้พืชอื่นหรือจุลินทรีย์นำไปใช้ต่อไป จากการศึกษาพบว่าประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ของไนโตรเจนในต้นแหนแดงจะถูกปลดปล่อยออกมาภายใน 8 สัปดาห์หลังจากการไถกลบ

แหนแดงมีหลายชนิด (species) เช่น *Azolla caroliniana*, *A. filiculoides*, *A. microphylla*, *A. mexicana*, *A. nilotica*, *A. pinnata* และ *A. rubra* ส่วนใหญ่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตร้อนของทวีปอเมริกา แอฟริกา และเอเชีย แหนแดงชนิดที่พบแพร่หลายในประเทศไทยคือ *A. pinnata* โดยทั่วไป แหนแดงจะอาศัยอยู่ในน้ำนิ่งและนาข้าวทั่วไป เจริญได้ดีในน้ำที่มีความเป็นกรดเป็นด่างระหว่าง 4.0-5.5 อุณหภูมิ 18-25 °C ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศอยู่ระหว่าง 85-90 เปอร์เซ็นต์ แสง 50-75 เปอร์เซ็นต์ของแสงแดดปกติ ($1700 \text{ uE} / \text{M}^{-2} \cdot \text{S}^{-1}$) และในสภาพน้ำที่ความเค็มต่ำกว่า 0.1 เปอร์เซ็นต์ของเกลือ

แหนแดงมีอัตราการเจริญเติบโตที่ค่อนข้างรวดเร็วและแตกต่างกันไปตามชนิด เช่น แหนแดงพันธุ์ *Azolla pinnata* สามารถเจริญเติบโตให้น้ำหนักเป็น 2 เท่า ได้ภายใน 2-6 วัน ขึ้นกับสภาพแวดล้อม ในฤดูแล้ง แหนแดงจะเจริญได้ช้ากว่าในฤดูหนาว มีอัตราการเพิ่มน้ำหนักแห้งประมาณ 0.308 กรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง/วัน ตรึงไนโตรเจนได้ประมาณ 9.86 มิลลิกรัมไนโตรเจน/กรัมน้ำหนักแห้ง/วัน ส่วน *A. mexicana* ให้น้ำหนักเป็น 2 เท่า ในเวลาสั้นที่สุดประมาณ 2.8 วัน ซึ่งสั้นเป็นสองเท่าของ *A. filiculoides* ทั้งนี้เพราะ *A. mexicana* สามารถใช้แสงได้ดีกว่า และสามารถตรึงไนโตรเจนได้สูงกว่า *A. filiculoides* สำหรับ *A. caroliniana* เป็นแหนแดงที่สามารถเจริญเติบโตได้ตลอดปีโดยไม่ตาย ซึ่งแหนแดงส่วนใหญ่เมื่อเจริญเติบโตเต็มที่แล้วจะโทรมและตายไปพักหนึ่ง แล้วจึงเกิดใหม่เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม

ธาตุฟอสฟอรัสมีผลต่อการเจริญเติบโตของแหนแดงมากที่สุด ถ้ามีระดับฟอสฟอรัสต่ำกว่า 0.23 เปอร์เซ็นต์ในเนื้อเยื่อ การเจริญเติบโตและการตรึงไนโตรเจนของแหนแดงจะหยุดชะงัก อาการซึ่งอาจ

สังเกตได้ คือ ใบมีสีแดงเข้ม การเจริญเติบโตลดลง และปลายรากคดงอ การเลี้ยงเหนแดงให้ได้ผลดีจึงควรใส่ปุ๋ยฟอสเฟตในนาบ้าง

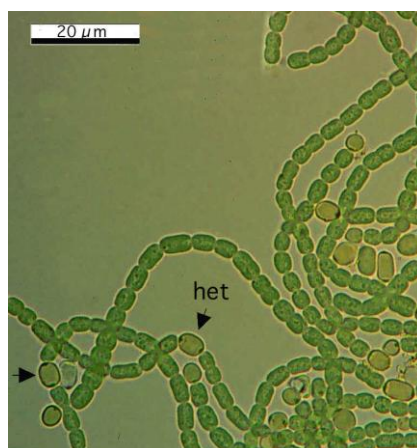


ภาพที่ 2.1 ลักษณะต้นของเหนแดง
ที่มา : วราภรณ์ (2551)

ประโยชน์ของเหนแดง

เหนแดงมีคุณสมบัติเป็นทั้งปุ๋ยพืชสด และปุ๋ยชีวภาพเนื่องจากในใบของเหนแดงมีสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue green algae) ชื่อ *Anabaena azollae* อาศัยอยู่โดยดำรงชีวิตอยู่ร่วมกันกับเหนแดงแบบพึ่งพาอาศัยกัน สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ความสัมพันธ์นี้ ทำให้เหนแดงกลายเป็นปุ๋ยพืชสดที่สำคัญ และมีศักยภาพสูงที่สามารถนำมาใช้ในระบบเกษตรพอเพียง เพื่อร่วมกับการปลูกข้าวทดแทนการใช้ปุ๋ยเคมีไนโตรเจน นอกจากนี้ยังสามารถลดการเจริญเติบโตของวัชพืชนาข้าวเป็นอย่างดี

กลไกการตรึงไนโตรเจนของสาหร่ายน้ำเงินแกมสีเขียวในเหนแดง



ภาพที่ 2.2 เซลล์สาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว (*Anabaena azollae*) ในช่องใบของแหนแดง
ที่มา : วราภรณ์ (2551)

แหนแดงไม่สามารถตรึงไนโตรเจนได้ด้วยตัวของมันเอง แต่อาศัยสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่อาศัยอยู่ในโพรงใบในการตรึงไนโตรเจน สาหร่ายจำพวกนี้มีอยู่หลายสกุล แต่สกุลที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้ดีมี 9 สกุล ที่สำคัญ คือ สกุล *Anabaena*, *Nostoc*, และ *Oscillatoria* สาหร่ายพวกนี้มีโครงสร้างเป็นเส้นสายยาว (filament) แต่จะมีบางส่วนเท่านั้นที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้ ส่วนหรือเซลล์ที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้นี้ เรียกว่า heterocyst ซึ่งจะมีลักษณะแตกต่างไปจากเซลล์อื่น ๆ จนสามารถสังเกตเห็นได้ชัด โดยที่เซลล์ของ heterocyst จะมีขนาดใหญ่กว่าและไม่มีสี โดยทั่วไปแล้วสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมักมีชีวิตร่วมอย่างอิสระ แต่ในบางกรณีก็สามารถที่จะอยู่ร่วมกับเชื้อราได้ เกิดเป็นสิ่งมีชีวิตใหม่ที่แตกต่างจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินและเชื้อรา เรียกว่า Lichen นอกจากนี้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางชนิดยังสามารถที่จะอยู่ร่วมกับเฟิร์นได้ อย่างเช่นในกรณี *Anabaena* อยู่ร่วมกับแหนแดงเป็นต้น

ในแหนแดง ขบวนการตรึงไนโตรเจนจากอากาศของ *Anabaena* จะเกิดที่เซลล์ heterocyst โดยสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเหล่านี้จะทำหน้าที่ตรึง N_2 จากบรรยากาศ โดยใช้ Enzyme Nitrogenase เปลี่ยน N_2 ให้เป็น NH_3 ภายใต้สภาพ reduction จากนั้น NH_3 จะถูกแปรรูปต่อไป โดยรวมตัวกับสารประกอบอินทรีย์จากแหนแดงกลายเป็นสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนต่าง ๆ เช่น Glutamic acid เป็นต้น

การขยายพันธุ์ทำได้ 2 วิธี คือ

1. การขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการแตกหน่อ เมื่อดันมีการเจริญเติบโตเต็มที่แล้ว
2. การขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศ โดยการสร้างสปอร์สืบพันธุ์เพศผู้ และเพศเมีย

สายพันธุ์ของแหนแดง : ที่ใช้ในนาข้าว

1. *Azolla filiculoides*
2. *Azolla pinnata*
3. *Azolla critata*

4. *Azolla rubra*

5. *Azolla nilotica*

วิธีการเลี้ยงเพื่อขยายพันธุ์

1. เลี้ยงในบ่อดินโคลน กระจก และซีเมนต์ (คล้ายกับการเลี้ยงบัว)
2. เลี้ยงในบ่อธรรมชาติ โดยเลี้ยงในกระชัง
3. เลี้ยงในแปลงโดยตรง

สภาพแวดล้อมที่สำคัญต่อการเจริญเติบโต

1. น้ำ
2. แสง
3. อุณหภูมิ
4. อากาศ
5. แร่ธาตุต่าง ๆ
6. ความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำ

ชีวจักรของแหนแดง

แหนแดงที่เห็นในธรรมชาติเป็นระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น แม้เมื่อมีสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมแหนแดงจะเปลี่ยนระบบการขยายพันธุ์จากการเจริญเติบโตทางลำต้น เป็นการสร้างสปอร์ ทั้งเพศผู้และเพศเมียในต้นเดียวกันขึ้น สปอร์เพศผู้ (microsporocarp) มีขนาดใหญ่แต่มีสปอร์เล็ก ๆ ภายในมากมาย ส่วนสปอร์เพศเมีย (macrosporocarp) มีขนาดเล็ก แต่ภายในมีไข่อยู่ใบเดียว เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม microsporocarp และ macrosporocarp จะผสมพันธุ์เกิดเป็นตัวอ่อนที่เรียกว่า zygote ซึ่ง zygote นี้จะเจริญเติบโต เป็นต้นแหนแดงต่อไป

ประโยชน์ที่มีต่อการเกษตร

เนื่องจากแหนแดงสามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ (โดยอาศัยกิจกรรมของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน) ดังนั้นแหนแดงจึงสามารถเจริญเติบโตได้ดีแม้ในสภาพที่มีปริมาณของปุ๋ยไนโตรเจนต่ำ เมื่อแหนแดงเน่าเปื่อยสลายตัวลงธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์ก็จะถูกปลดปล่อยออกมาอย่างรวดเร็ว เพื่อให้พืชอื่นหรือจุลินทรีย์นำไปใช้ต่อไป ด้วยเหตุนี้แหนแดงจึงจัดเป็นพืชที่สามารถนำมาใช้เพื่อเป็นปุ๋ยพืชสดและเพื่อประโยชน์ในการปรับปรุงความอุดมสมบูรณ์ของดิน นอกจากนี้แล้วเกษตรกรบางแห่งยังได้นำเอาแหนแดงไปใช้ประโยชน์ในการเลี้ยงสัตว์ เช่น ปลา สุนัข เป็ด เป็นต้น เนื่องจากในแหนแดงนอกจากจะมีธาตุอาหารพืชสูงแล้ว ยังมีปริมาณโปรตีนซึ่งเป็นสารอาหารที่สำคัญสำหรับการเจริญเติบโตของสัตว์อยู่ในปริมาณที่สูงด้วยเช่นกัน (ตารางที่ 2.1) ทำให้สัตว์เจริญเติบโตได้ดี

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีของແໜແດງ

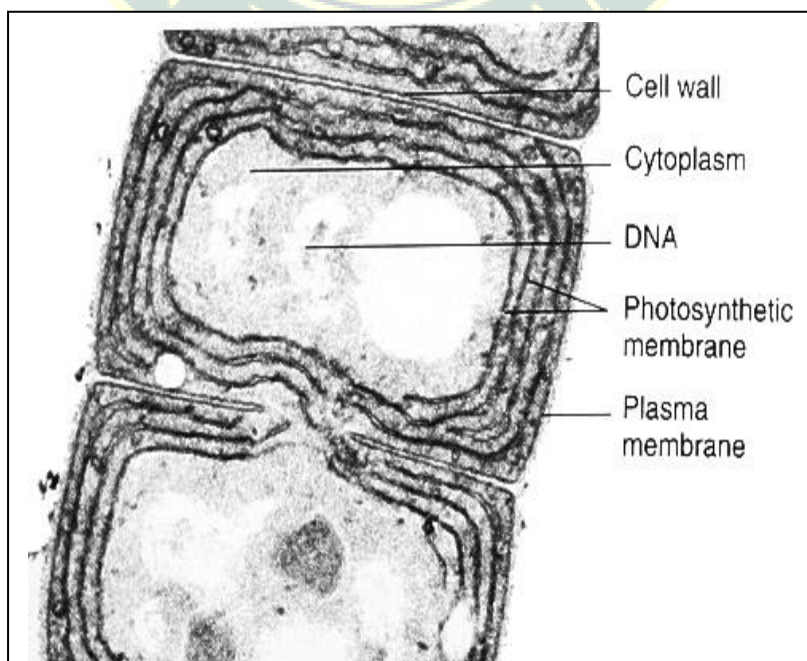
องค์ประกอบทางเคมี	% ธาตุอาหารต่อน้ำหนักแห้งของແໜແດງ
Ash	10.5
Crude fat	3 - 3.36
Crude protein	3 - 5
Nitrogen	23 - 30
Phosphorus	0.5 - 0.9
Calcium	0.1 - 1.0
Potassium	2 - 4.5
Manganese	0.5 - 0.65
Magnesium	0.11 - 0.16
Iron	0.06 - 0.26
Soluble sugars	3.4 - 3.5
Starch	6.50 - 6.54
Chlorophyll	0.34-0.55

2.2 สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue-green algae)

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue-green algae) หรือไซยาโนแบคทีเรีย จัดเป็นโพรคาริโอต (prokaryote) มีรูปร่างเป็นเซลล์เดี่ยวและเป็นเส้นสาย ซึ่งประกอบด้วยเซลล์เดี่ยวหรือหลายแถว มีทั้งที่ไม่สร้างกิ่งแขนงและสร้างกิ่งแขนง ในสภาพธรรมชาติอาศัยอยู่อย่างอิสระเป็นเซลล์เดี่ยว หรืออยู่รวมกันเป็นโคโลนี หรืออยู่รวมกันกับสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ (Singleton และ Sainsbury, 1987) และต่างจากแบคทีเรียชนิดอื่นๆ คือ สามารถสังเคราะห์แสงได้เพราะภายในมีคลอโรฟิลล์ เอ และสามารถปลดปล่อยก๊าซออกซิเจนได้ (Lewin, 1977) แต่อย่างไรก็ตามคลอโรพลาสต์และรงควัตถุก็ยังไม่มีการพัฒนาเหมือนสิ่งที่มีสีเขียวโดยทั่วไปมีแต่ไทลาคอยด์ที่ขดไปมาภายในที่ผิวภายนอกมีไฟโคบิลลิซอม (phycobilisomes) ซึ่งเป็นรงควัตถุที่ค่อนข้างซับซ้อนเกาะติดอยู่ Sze (1986) รายงานว่าไฟโคบิลลิโปรตีนในไซยาโนแบคทีเรียมีอยู่ 4 ชนิด คือ ไฟโคอีริทริน (phycoerythrin) ไฟโคไซยานิน (phycocyanin) อัลโลไฟโคไซยานิน (allophycocyanin) และไฟโคอีริโทรไซยานิน (phycoerythrocyanin) โดยไฟโคไซยานินและอัลโลไฟโคไซยานิน พบในไซยาโนแบคทีเรียทุกชนิด และไฟโคไซยานินทำให้เซลล์มีสีน้ำเงินแกมเขียว หน้าที่ของไฟโคบิลลิซอม คือ รับแสงที่ความเข้มแตกต่างกัน และส่งผ่านไปเพื่อใช้ในการสังเคราะห์

คลอโรฟิลล์ (Grazer, 1987) จัดเป็นข้อแตกต่างระหว่างพืชชั้นสูงและไซยาโนแบคทีเรียรวมถึงโกลาโคยด์ซึ่งขาดไปมาภายในเซลล์ ทำหน้าที่คล้ายกับคลอโรพลาสต์ในพืชที่มีสีเขียว ซึ่งทำหน้าที่เป็นคลีนลูกโซ่อิเล็กตรอนเพื่อสร้างพลังงาน (Singleton และ Sainsbury, 1987)

ผนังเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียแบ่งออกเป็น 3 ชั้น ชั้นนอก (outer membrane) ค่อนข้างหนาและฉีกขาดได้ง่าย ประกอบด้วยสารพวกเจลลาตินหรือเมือก ถัดเข้ามาเป็นชั้นที่ประกอบด้วยสารพวก peptidoglycan ซึ่งเป็นชั้นที่อัดแน่น มีองค์ประกอบเหมือนผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ ชั้นในสุดเป็นชั้นที่เรียกว่า cytoplasmic membrane หรือเซลล์เมมเบรน ซึ่งเป็นชนิดที่ติดกับไซโตพลาสซึมภายในไซโตพลาสซึมประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนที่มีสีเป็นที่อยู่ของรงควัตถุที่เรียกว่า โปรโทพลาสซึม (protoplas) ภายในโปรโทพลาสซึมมีกรานูลหลายชนิดสะสมอยู่ ได้แก่ ไซยาโนไฟซินกรานูล (cyanophycin granules), ไกลโคเจนกรานูล (glycogen granules), โพลีฟอสเฟตกรานูล (polyphosphate granules) หน้าที่ของกรานูล คือ เป็นแหล่งสำรองไนโตรเจน คาร์บอนและพลังงาน รวมทั้งฟอสเฟตให้แก่เซลล์ นอกจากนี้ กรานูลมีช่องว่างเก็บแก๊ส (gas vacuole) พบได้ในบางสกุล ทำหน้าที่ในการจมตัวหรือลอยตัวของไซยาโนแบคทีเรียที่เป็นแพลงก์ตอนในน้ำ ภายในบรรจุแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ สามารถผ่านเข้าออกได้อย่างอิสระ (Walsby, 1987) โดยการควบคุมของเอนไซม์ ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase ซึ่งอยู่เป็นกลุ่มภายในโครงสร้างที่เรียกว่า คาร์บอกซิโซม (carboxysomes) ดังภาพที่ 2.3 และในส่วนของเซนโทรพลาสซึมเป็นที่อยู่ของดีเอ็นเอ ribosome 70S ทำหน้าที่ควบคุมลักษณะต่าง ๆ ทางด้านพันธุกรรม โดยดีเอ็นเอของไซยาโนแบคทีเรียมีขนาดตั้งแต่ 2,400 ถึง 13,000 กิโลเบส นอกจากนี้ยังพบ extrachromosome ได้แก่ พลาสมิด (plasmid) ซึ่ง Ciferri และคณะ (1989) รายงานว่า พลาสมิดเหล่านี้ส่วนใหญ่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์แสง แต่ถ้าเกิดการสูญหายไปก็ไม่มีผลต่อกระบวนการสังเคราะห์แสงแต่อย่างใด



ภาพที่ 2.3 ลักษณะโครงสร้างของเซลล์ไซยาโนแบคทีเรีย

ไซยาโนแบคทีเรียสามารถเจริญเติบโตได้ทั่วไป ตั้งแต่เขตร้อนถึงขั้วโลก Liengen และ Olsen (1997) รายงานว่า พบ *Nostoc commune* เจริญได้ทั่วไปโดยเฉพาะแถบขั้วโลก และเมื่อนำมาศึกษาการตรึงไนโตรเจน พบว่า สามารถตรึงไนโตรเจนได้ดีบนผิวดินเมื่อหิมะละลายแล้ว ซึ่งมีอุณหภูมิประมาณ 19 องศาเซลเซียส และไซยาโนแบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตที่เป็นตัวการเพิ่มไนโตรเจนให้กับพื้นผิวดินและในทะเล โดย Kart และคณะ (1997) ได้ศึกษาในเขตร้อนกึ่งแห้งแล้งในมหาสมุทรแปซิฟิกทางตอนเหนือ พบว่า คาร์บอนและไนโตรเจนที่พบในแหล่งน้ำประมาณ 50% ได้มาจากการสังเคราะห์ของไซยาโนแบคทีเรีย ซึ่งเป็นจุดเริ่มต้นที่สำคัญของวงจรลูกโซ่ของสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ในทะเล

อนุกรมวิธานของไซยาโนแบคทีเรีย

การจัดหมวดหมู่

นักพฤกษศาสตร์ได้จัดไซยาโนแบคทีเรียอยู่ใน Division Cyanophyta, Class Myxophyceae ตามการจัดจำแนกของ International Code of Botanical Nomenclature แต่หลังจากจัดว่าเป็นโพรคาริโอตแล้วก็ได้มีการจัดจำแนกโดยใช้หลักของ International Code of Nomenclature of Bacteria ซึ่งนักแบคทีเรียวิทยาได้จัดจำแนกไซยาโนแบคทีเรีย ดังนี้

Kingdom	:	Prokaryote
Division	:	Gracilicutes (Gram-negative bacteria)
Class	:	Photobacteria

Subclass : Oxyphotobacteria
Order : Cyanobacteriales

Singleton และ Sainsbury (1987) ได้แบ่งไซยาโนแบคทีเรียเป็น 5 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 เป็นเซลล์เดี่ยว (unicellular) มักอยู่เดี่ยว ๆ หรือเป็นกลุ่ม ขยายพันธุ์โดยการแบ่งเซลล์ออกเป็น 2 ส่วนเท่า ๆ กันที่เรียกว่า binary fission เช่น *Gloeobacter* , *Gloeocapsa*, *Gloeotheca* , *Synechococcus* , *Synechocystis* หรือโดยการแตกหน่อ (budding) เช่น *Chamaesiphon*

กลุ่มที่ 2 เป็นเซลล์เดี่ยว เซลล์ปกคลุมด้วย fibrous layer บางสกุลขยายพันธุ์โดยวิธี multiple fission เพียงอย่างเดียว เช่น *Dermocarpa* , *Xenococcus* บางสายพันธุ์ขยายพันธุ์โดยวิธี multiple fission และ binary fission เช่น *Chroococcidiopsis* , *Dermocarpella*, *Myxosarcina* , *Pleurocapsa* ซึ่ง Multiple fission เป็นการขยายพันธุ์โดยวิธี binary fission ที่เกิดขึ้นติดต่อกันหลาย ๆ ครั้งอย่างรวดเร็ว และมีการสร้าง fibrous layer บางครั้งก็เรียกว่า baeocytes ซึ่งมีการปลดปล่อยออกมาภายนอกเมื่อมีรอยแยกของ fibrous layer หลายสายพันธุ์มีการแบ่งเซลล์และรวมกันเป็นกลุ่มภายใน fibrous layer บางสายพันธุ์ทำ multiple fission และสร้าง bacocyte ที่สามารถเคลื่อนที่ได้ โดยมีการเปลี่ยนสภาพของ fibrous layer กลุ่มนี้รวม Chamaesiphonales และ Pleurocapsales ไว้ด้วย

กลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มที่เป็นเส้นสาย เจริญเติบโตโดยการแบ่งเซลล์ตรงกลางสายเซลล์ โดยเจริญไปในแนวระนาบ สายเซลล์หลักหรือที่เรียกว่า ทริชโอม (trichomes) มีเพียงแถวเดียว ไม่มีการแตกแขนง บางสกุลมี เฉพาะเซลล์ธรรมดา ไม่มีการสร้างเฮเทอโรซิสต์และอะคินีต บางครั้งทริชโอมมีการขดกันเป็นเกลียว เช่น สกุล *Spirulina* หรือทริชโอมอาจมีสายตรง เช่น สกุล *Oscillatoria* , *Pseudoanabaena*

กลุ่มที่ 4 เป็นกลุ่มที่เป็นเส้นสาย เจริญเติบโตโดยการแบ่งเซลล์ตรงกลางสายเซลล์ โดยเจริญไปในแนวระนาบ สายเซลล์มีเพียงแถวเดียว ไม่สร้างกิ่งแขนง สร้างเฮเทอโรซิสต์ในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน และบางสกุลสร้างอะคินีต ขยายพันธุ์โดยการขาดตอนของทริชโอม หรือโดยการงอกของอะคินีตเป็นไฮโมโกน โดยสกุล *Calothrix* , *Nostoc* และ *Scytonema* แต่จะไม่สร้างในสกุล *Anabaena* , *Cylindrospermum* หรือ *Nodularia*

กลุ่มที่ 5 เป็นกลุ่มที่เป็นเส้นสาย เจริญเติบโตโดยการแบ่งเซลล์ตรงกลางสายเซลล์ ซึ่งเจริญเติบโตได้หลายระบบ บางเซลล์มีการแบ่งตัวในแนวระนาบ ในทริชโอมที่โตเต็มที่มีเซลล์หลายแถว มีการแตกกิ่งแขนงแบบแขนงแท้ (true branching) และแขนงประกอบด้วยเซลล์แถวเดียว มีการสร้างอะคินีต ขยายพันธุ์โดยการขาดตอน สร้างฮอโมโกนในบางสกุล มีการงอกของอะคินีต เช่น *Fischerella*

จากการจำแนกของนักแบคทีเรียวิทยา ซึ่งเป็นการจำแนกที่นิยมใช้ในปัจจุบัน เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับ การจำแนกนักพฤกษศาสตร์ซึ่งเป็นแบบเก่า ได้จัดจำแนกและเปรียบเทียบลักษณะของแต่ละอันดับ (order) ตามตารางที่ 2.2 ซึ่งในแต่ละอันดับมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

ตารางที่ 2.2 การจำแนกไซยาโนแบคทีเรียตามแบบนักพฤกษศาสตร์

Phylum	Class	Order	Family
Cyanophyta	Cyanophyceae	Chroococcales	<i>Chroococcaceae</i>
			<i>Entophysalidaceae</i>
		Chamaesiphonales	<i>Cyanidiaceae</i>
			<i>Chamaesiphonaceae</i>
			<i>Dermocarpaceae</i>
		Pleurocapsales	<i>Pleurocapsaceae</i>
			<i>Hyclaceae</i>
		Nostocales	<i>Oscillatoriaceae</i>
			<i>Gomontiellaceae</i>
			<i>Nostocaceae</i>
			<i>Scytonemataceae</i>
			<i>Microchaetaceae</i>
			<i>Rivulariaceae</i>
		Stigonematales	<i>Capsosiraceae</i>
			<i>Pulvinulariaceae</i>
			<i>Nostochopsidaceae</i>
			<i>Diplonemataceae</i>
			<i>Mastigocladaceae</i>
			<i>Mastigocladopsidaceae</i>
			<i>Stigonemataceae</i>

ที่มา : Desikachary (1959)

Rippka (1988 b) ได้รายงานไว้ว่า ไม่ว่าจะการจัดจำแนกไซยาโนแบคทีเรียแบบนักพฤกษศาสตร์หรือแบคทีเรียวิทยา จะเป็นแบบใดก็ตามได้มีหลักการต่าง ๆ ที่นิยมใช้ในการจำแนก ดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 สิ่งที่ใช้ในการพิจารณาในการจัดจำแนกไซยาโนแบคทีเรีย

Cell Morphology	Physiology / biochemistry
● Cell shape, polarity ● Cell dimensions (diameter , length) ● Number and regularity of planes of fission or of budding ● Color of cells and cell suspension If present : ● Sheath or glycocalyx description ● Location of “chromatoplasm” ● Gas vacuoles (location) ● Baeocyte (“endospore”) description ● Heterocyst and akinete description (dimension, shape, etc.) Ultrastructure ● Thylakoid arrangement ● Cell wall structural appearance ● Sheat structure ● Cell inclusion types (identification of storage granules)	● Absorption spectrum (“in vivo”) ● Types of phycobilin pigments present ● Capacity for chromatic adaptation ● Temperature optimum and upper limit ● Capacity for dark chemoheterotrophy (aerobic vs. anaerobic) and photoheterotrophy (with DCU) ; substrates used ● Motility (speed, rotation, smoothness) ● Growth and/or acetylene reduction in aerobic or anaerobic condition free of combined nitrogen and in light ● Salinity tolerance ● Vitamin requirements ● Morphological responses to deficiencies of phosphate and combined nitrogen ● Sensitivity to soluble sulfide ; sulfide-dependent anoxygenic photosynthetic capacity ● Calcium carbonate deposition

ตารางที่ 2.3 สิ่งที่ใช้ในการพิจารณาในการจัดจำแนกไซยาโนแบคทีเรีย (ต่อ)

Cell Morphology	Physiology / biochemistry
Colony or Trichome Morphology ● Colony or thallus shape, arrangement and symmetry ● Trichome type : tapered, straight or helical ; constricted at septa ; false or true branching ; shape of terminal cell ; terminal hair formation ; dimension and characteristics of hormogonia ● Location and pattern of heterocysts and akinetes Genetic Characteristics ● DNA base composition (mol% G+C) ● DNA/DNA or DNA/RNA hybridization data with other species ● Partial or complete sequence data for 16S rRNA ● Complete sequences for 5S rRNA	Culture Conditions ● Specifics of medium, temperature , light intensity, isolation method , stain history And conservation of cultures including the type strain Habitat / Ecology ● General description of habitat (e.g.marine , brackish water , Freshwater , Terrestrial ; eutrophic, oligotrophic ; flowing or static waters ; temperature ; depth ; aerobic or anaerobic ; high or low light intensity ; associated organisms ; Possible symbiotic situations) ● Growth habit (planktonic ; fascicles , clusters, nonaggregated ; attached ; streamers, tufted , crustose , nodular, etc.

ที่มา : Rippka (1988 b)

ที่อยู่อาศัย

สาหร่ายสีเขียวในแกมน้ำเงินสามารถขึ้นได้มีแหล่งต่าง ๆ เช่น ในน้ำจืด ได้แก่ ทางน้ำหรือแม่น้ำ (upper water zone) ในน้ำเค็มพบ *Oscillatoria erythraea* ในดิน สุวรรณ (2542) ได้ศึกษาการแพร่กระจายของสีเขียวในแกมน้ำเงินในดินนาในประเทศไทย พบว่า ภาคเหนือมีการแพร่กระจายของ สาหร่ายสีเขียวในแกมน้ำเงินมากที่สุด ดินนาที่เป็นกรดเล็กน้อย (pH 5.5-6.5) เป็นดินเหนียวมีการแพร่กระจายมากที่สุด โดยพบว่าสกุลที่มีการแพร่กระจายมาก ได้แก่ *Anabaena* sp. , *Nostoc* sp. และ *Calothrix* sp. ในดินที่มี pH สูงนั้นจะมีแนวโน้มที่ *Anabaena* เจริญได้ดี และในสภาพที่มี pH ต่ำ *Nostoc* มีแนวโน้มเจริญดี เมื่อจำแนก สาหร่ายสีเขียวในแกมน้ำเงินที่ตรึงไนโตรเจนได้ 18 สกุล 116 ชนิด watanabe (1951) รายงานพบว่า สาหร่ายสีเขียวในแกมน้ำเงินกระจายอยู่ทั่วไปในดินนาของสุมาตรา บอร์เนียว ฟิลิปปินส์ มลายู อินโดจีน พม่า พอร์โมซา ญี่ปุ่น จีน และประเทศไทย นอกจากนี้ยังพบสีเขียวในแกมน้ำเงินที่ผนังกำแพง น้ำพุร้อน ทั้งนี้เพราะสามารถทนต่อสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ได้ดี บางชนิดอาศัยอยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ เช่น *Gloeocapsa* , *Nostoc* บางชนิดอาศัยอยู่กับราเรียกว่า lichens สำหรับ *Nostoc* บางชนิดอาศัยอยู่ใน thallus ของ liverworts (ธงชัย , 2546) และ *Anabaena azollae* อาศัยอยู่ในโพรงใบของแหวนแดง (Janet , 1979 ; Ruschel and Vose , 1984)

ขนาดของเซลล์ของ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

ขนาดเซลล์แตกต่างกันตามรูปร่างของแต่ละสายพันธุ์ เช่น *Synechococcus* และ *Gloeocapsa* เซลล์มีรูปร่างกลม (coccus) หรือรีมีขนาดกว้าง 2-5 μm *Oscillatoria* เซลล์เป็นแบบเส้นสายกว้าง 8-12 μm *Cylindrospermum majus* มีเซลล์กว้าง 3-5 μm (บรรหาญ , 2545)

การเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรีย (Becker, 1994)

ไซยาโนแบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตที่พบกันได้ง่ายทั่วไปในธรรมชาติ โดยเฉพาะในฤดูร้อน มีการอาศัยรวมกันเป็นกลุ่มก้อน โดยอาศัยอยู่รวมกันกับสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ หรืออาจอยู่รวมกันเป็นโคโลนีใหญ่ ๆ ตามที่ชื้นแฉะ ผิวดิน ใบไม้ผุ ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงจำเป็นต้องการผ่านกระบวนการ ดังต่อไปนี้

(1) การแยกไซยาโนแบคทีเรียจากธรรมชาติ

ไซยาโนแบคทีเรียที่พบในธรรมชาติมักจะอยู่เดี่ยว ๆ หรือเป็นกลุ่มก้อน เป็นอิสระหรืออยู่รวมกันกับสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ พบได้ตามพื้นดิน ก้อนหิน ใบไม้ผุ ในน้ำ เป็นต้น ถ้าเป็นไซยาโนแบคทีเรียที่อยู่บนผิวดินหรือก้อนหิน เก็บตัวอย่างจากดินหรือก้อนหินนั้นมาเก็บไว้ในที่มืด แต่ถ้าอาศัยในแหล่งน้ำ ทะเลสาบหรือน้ำบ่อ ก็ให้เก็บตัวอย่างน้ำมา 200-500 มิลลิลิตร ใส่ในขวดนำมาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบประมาณ 3,000-5,000 รอบต่อนาที ไซยาโนแบคทีเรียก็จะตกตะกอนแล้วนำมาเก็บไว้ในอุณหภูมิ 20-25 องศาเซลเซียส ถ้าเป็นไซยาโนแบคทีเรียในเขตร้อนเก็บไว้ในห้อง

อุณหภูมิประมาณ 15 องศาเซลเซียส ถ้าตัวอย่างที่เก็บมาจากที่เย็น อาจทำให้แข็งก็ได้แต่ต้องไม่ทำให้เซลล์แตก ถ้าการเก็บรักษาดีหรือถ้าเก็บมาจากน้ำพุร้อนก็ให้เลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งมีผลทำให้เชื้อมีชีวิตรอดได้หลายสัปดาห์หรือหลายเดือน หลังจากนั้นนำมาเลี้ยงลงในจานที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมกับไซยาโนแบคทีเรียแต่ละชนิด ภายใต้สภาพของแสงและอุณหภูมิที่เหมาะสม

Rippka และคณะ (1981) ได้รายงานว่ามีปัจจัยเกี่ยวข้องหลายอย่างที่ทำให้การเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียไม่สำเร็จ สิ่งที่สำคัญคือ คุณภาพของน้ำที่นำมาใช้จะต้องเป็นน้ำธรรมชาติที่ทำให้บริสุทธิ์โดยผ่านเครื่องกรองที่สามารถกรองจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ มากมาย , สามารถดักจับไอออนโดยใช้ ion-exchange resins , ฟอกสีของน้ำ และสามารถลดการปนเปื้อนของสารที่มีอยู่ในน้ำ โดยเฉพาะฟอสเฟตที่มีความเข้มข้นสูงที่มาจากผงซักฟอกได้

Rippka (1988 a) ยังพบว่าอาหารที่ใช้เลี้ยงหรือใช้ไซยาโนแบคทีเรียในดินและในน้ำจืดมีอยู่หลายสูตร ได้แก่ อาหารเลี้ยงเชื้อ NO.11 , ASM-1 , Z 8 และ BG 11 พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อ ASM มีข้อเสียบางอย่างคือ ไม่มีซิเตรท ซึ่งเมื่อนำอาหารไปนิ่งฆ่าเชื้อเกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ซึ่งเป็นพิษต่อไซยาโนแบคทีเรียบางชนิด เช่น *Anacystis nidulans* อาหารเลี้ยงเชื้อ Z8 มีข้อดี คือ มีธาตุอาหารเสริมบางธาตุที่ไม่มีใน ASM และ BG11 เหมาะสำหรับไซยาโนแบคทีเรียบางชนิด และในขณะเดียวกัน ASM ไม่มีโบลิดีนัมอยู่เลย ในขณะที่ Z8 ที่สำคัญเกี่ยวข้องกับการสร้างเอนไซม์ nitrate reductase และไนโตรจีเนส

ความเข้มของแสงได้มาจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ (เช่น Cool white , Warm White , Day light) ซึ่งทำให้การเพาะเลี้ยงสำเร็จมากขึ้น ในการแยกและการทำให้บริสุทธิ์ ต้องการความเข้มของแสงต่ำ (น้อยกว่า 500 ลักซ์) ก็พอเพียงแล้ว การเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรีย ถ้ามีการให้แสงสว่างช่วงเวลาหนึ่งและหยุดการให้แสงช่วงเวลาหลัง จะทำให้การเลี้ยงได้ผลดีกว่าการให้แสงติดกันตลอดเวลา ช่วงแสงสว่างที่นิยมใช้ คือ 12 ชั่วโมงให้แสง 12 ชั่วโมงหยุดการให้แสง แต่บางแห่งนิยมใช้วงจรแสงสว่าง 16 ชั่วโมง 8 ชั่วโมงมืด

อุณหภูมิมีผลต่อการแยกสกุลของไซยาโนแบคทีเรีย โดยมีความต้องการอยู่ในช่วงที่ต่ำมาก อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มตั้งแต่ช่วงแรกของการแยกเชื้อ จนกระทั่งถึงการเลี้ยงตามปกติต้องใช้ อุณหภูมิอย่างน้อย 2 ช่วง ซึ่งห่างกันประมาณ 10° C เช่น 20° C และ 30° C , 35° C และ 45° C ไซยาโนแบคทีเรีย บางชนิดไม่สามารถทนอุณหภูมิที่สูงกว่า 30° C หรือต่ำกว่า 20° C

Song และคณะ (1998) รายงานว่า อุณหภูมิและ pH มีผลต่อการแพร่กระจายของไซยาโนแบคทีเรีย สกุล *Microcystin viridis* ซึ่งพบว่า ที่อุณหภูมิ 25° C ที่ pH 7 และ 9.2 ที่ความเข้มข้นของแสง 15 $\mu\text{E/วินาที/ตารางเมตร}$ ทำให้ไซยาโนแบคทีเรียสกุลดังกล่าวเจริญเติบโตได้สูงสุด

(2) เทคนิคของการทำให้บริสุทธิ์

เป็นวิธีการเพื่อให้ได้ไซยาโนแบคทีเรียที่เป็นชนิดเดียวกันทั้งหมด หรือเป็นการเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียเพียงชนิดเดียว (unialgal) ควรตั้งต้นจากไซยาโนแบคทีเรีย 1 สายเซลล์ , 1 เซลล์หรือ

2-3 เซลล์ ที่เรียกว่า โคลน (clone) ดังนั้น จึงอาจเรียกไฮยาโนแบคที่เรียที่ได้จากการเลี้ยงแบบนี้ว่า clone culture

Stein (1973) กล่าวว่า วิธีการแยกเชื้อไฮยาโนแบคที่เรียที่มีขนาดเล็กให้บริสุทธิ์ในระดับ unialgal ทำได้หลายวิธี คือ

(1) แคมปิลลารีปิเปต (capillary pipette)

(2) แคมปิลลารีปิเปตอย่างง่าย

(3) การเขี่ยเชื้อลงจานเพาะเชื้อ

(4) การพ่นเชื้อลงบนจานเพาะเชื้อ

(5) การแยกเชื้อจากอาหารวุ้น

(6) แยกเชื้อให้บริสุทธิ์โดยการกรองอากาศ

วิธีในระดับปลอดจากเชื้อจุลินทรีย์อื่น ๆ ทำได้ 4 วิธี คือ

(1) โดยการล้าง

(2) โดยการสั่นสะเทือน

(3) โดยการใช้ยาปฏิชีวนะ

(4) โดยการใช้โปตัสเซียม เทลลูไรท์ (potassium tellurite)

ปัญหาที่พบในการแยกเชื้อไฮยาโนแบคที่เรียให้บริสุทธิ์ คือการปะปนไฮยาโนแบคที่เรียชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ต้องการ เช่น ไดอะตอม ก็สามารถใช้ 1-10 มิลลิกรัม/กรัมของเจอร์เมเนียมไดออกไซด์ (germanium dioxide) ใส่ลงไปในการเลี้ยงเชื้อ แต่ทั้งนี้ต้องคำนึงถึงเรื่องของระยะเวลาที่ใช้ด้วย หลังจากได้ไฮยาโนแบคที่เรียที่ปลอดจากเชื้อจุลินทรีย์อื่น ๆ แล้วก็สามารถทดสอบว่ามีการปนเปื้อนของสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ หรือไม่ โดยการทดสอบด้วย nutrient broth , peptone glucose ในบางครั้งมีสิ่งปนเปื้อนมากก็ต้องนำเอาไปปั่นแยกโดยใช้ขนาดของความแตกต่างเป็นหลัก เช่น ถ้าสิ่งปนเปื้อนมีขนาดใหญ่ในไฮยาโนแบคที่เรียที่เป็นเส้นสาย ก็ให้กรองผ่าน filter ที่ฆ่าเชื้อแล้วที่มีขนาด 8 μm ของ Millipore filter และล้างอีกครั้งในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เพื่อลดปริมาณของแบคทีเรียที่ปนเปื้อน

เมื่อแยกได้ดีแล้วก็นำไปเขี่ยไปมาบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และควรเก็บไว้ในตู้บ่มเชื้อที่มีอุณหภูมิและแสง ควรมีการตรวจสอบจานอาหารที่มีการเขี่ยเชื้อลงไปทุกขั้นตอนด้วยกล้องจุลทรรศน์ และควรแยกเซลล์เดี่ยว ๆ หรือโคโลนีบริสุทธิ์ก่อนที่จะมีการปนเปื้อนจุลินทรีย์อื่น ๆ ที่มองเห็นได้จากกล้องจุลทรรศน์ อาจสังเกตได้จากการเกิดวงควัตถุ ควรจะเก็บและแยกโดยใช้ Pasteur pipette ที่มีขนาด 0.1-0.2 nm. ซึ่งทำให้เย็นและฆ่าเชื้อแล้ว ถ่ายโคโลนีลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อใบใหม่หยดอาหารเหลวลงทับ และเขี่ยลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่อีกครั้งทำงานกระทั่งได้โคโลนีบริสุทธิ์ใช้เข็มเขี่ยเชื้อเก็บโคโลนีเฉพาะโคโลนีเดียวที่แยกบริสุทธิ์ได้ให้ปลอดภัย

ไซยาโนแบคทีเรียบางชนิด เกาะติดเป็นแผ่นแน่น ต้องทำให้แยกออกจากกันก่อนที่จะนำไปเขียนจานอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ โดยใช้ Pasteur pipette เก็บเชื้อและใช้เขียนเชื้อใหม่อีกครั้ง จำเป็นต้องแยกในอาหารเหลวให้ไซโมจิโนเซอร์ และนำไปเขียนใหม่อีกครั้ง

ไซยาโนแบคทีเรียที่เป็นลักษณะเส้นสายมีขนาดใหญ่ อยู่เดี่ยว ๆ และเคลื่อนที่ได้ เมื่อเจริญอยู่บนอาหารแข็งให้ใช้ platinum spade ตัดผิวรอบ ๆ นำเอา เฉพาะตรงกลางไปวางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อจานใหม่ บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องสักระยะหนึ่ง หลังจากนั้นจะมีสายเซลล์เล็ก ๆ บาง ๆ เจริญออกมารอบ ๆ ซึ่งสายเซลล์เหล่านี้ปราศจากการปนเปื้อนก็นำไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อจานใหม่ ก็จะได้ไซยาโนแบคทีเรียที่บริสุทธิ์

ในกรณีที่ไซยาโนแบคทีเรียที่เป็นเส้นสายขนาดใหญ่แต่ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ (non-motile) ก็ยากที่จะทำให้บริสุทธิ์ต้องใช้วิธีพิเศษ ทั้งที่เคลื่อนที่ได้และเคลื่อนที่ไม่ได้ โดยทั่วไปมีเส้นผ่าศูนย์กลางอย่างน้อย 3 μm

ปัญหาที่พบในการทำให้เซลล์บริสุทธิ์ ในบางกลุ่มของไซยาโนแบคทีเรียที่จำเป็นต้องใช้วิธีพิเศษ ได้แก่ พวกที่มีช่องว่างเก็บก๊าซในปริมาณสูง ซึ่งเป็นแหล่งตอนพืชมีประมาณ 5 สายพันธุ์ คือ 2 สายพันธุ์ของ *Microcystis aeruginosa* และ 3 สายพันธุ์ของ *Oscillatoria agardhii*

Howshaw และ Rosowski (1973) ได้ศึกษาการเลี้ยงแบบปลอดเชื้อของไซยาโนแบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจนได้ โดยการเก็บตัวอย่างมาเขียนบนอาหารแข็งแล้วนำไปบ่มที่ 26 °C ความเข้มของแสง 4,000-6,000 ลักซ์ของหลอดฟลูออเรสเซนต์สีขาว เมื่อเชื้อเจริญเติบโตก็ให้เก็บเป็นสต็อกเพื่อจะทำให้บริสุทธิ์ การทำให้บริสุทธิ์แบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนแรกทำให้เชื้ออยู่ในสภาพที่เป็น uni-strain คือ มี เฉพาะไซยาโนแบคทีเรียเพียงชนิดเดียว หลังจากนั้นจึงทำให้เชื้อนั้นปราศจากแบคทีเรีย หลักการที่ทำให้มีไซยาโนแบคทีเรียเพียงสายพันธุ์เดียว โดยการใช้เข็มเขียนเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วแตะไปที่กลุ่มของไซยาโนแบคทีเรีย แล้วนำมาวางบนแผ่นสไลด์และกดจนกระทั่งแยกออกจากกันเป็นชิ้นเล็ก ๆ หลังจากนั้นนำไปล้างในน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้วเจือจางเซลล์ไปเรื่อย ๆ ในอัตราส่วน 1:10 แล้วนำไป spread plate บนอาหารแข็ง นำไปบ่มไว้ หลังจากที่เกิดเป็นโคโลนีนำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์เพื่อคัดเลือกโคโลนีที่ปราศจากเชื้อแบคทีเรียและมีการปนเปื้อนน้อยที่สุด หลังจากคัดเลือกได้แล้วก็ทำซ้ำเดิมอีกครั้งหนึ่ง จะได้ไตรโคมที่มีขนาดเล็กมากเพียง 1 ทรียโคม (single trichome isolate)

ส่วนขั้นตอนการเพาะเลี้ยงให้ปราศจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์อื่นนั้น ทำได้โดยใช้ความร้อน ยาปฏิชีวนะเข้าร่วม คือ หลังจากได้เชื้อเพียง 1 สายพันธุ์ นำไปบ่มที่ 50-60 °C เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นถ่ายเชื้อลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเพนนิซิลินผสมอยู่ (1,000-5,000 หน่วย/มิลลิลิตร) บ่มที่ 30 °C ในที่มืดเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำเช่นนี้อีกจนกระทั่งได้โคโลนีของไซยาโนแบคทีเรียที่ปราศจากการปนเปื้อนของแบคทีเรีย ไซยาโนแบคทีเรียบางชนิดทนความเข้มข้นของเพนนิซิลินอัตราสูงไม่ได้ก็ให้ลดลงอยู่ในช่วง 100-500 หน่วย/มิลลิลิตร

ลักษณะการเจริญเติบโตโดยทั่วไป ไชยาโนแบคทีเรียจัดว่าเป็นจุลินทรีย์ที่มีการเจริญเติบโตช้ามาก ช่วงเวลาที่เพิ่มจำนวนเซลล์เป็น 2 เท่า มีค่าประมาณ 12-24 ชั่วโมง *Gloeobacter violaceus* และ *Gloeotheca* spp. มี generation time ประมาณ 50 ชั่วโมงหรือมากกว่า ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับว่าเชื้อที่ใส่ลงไปในฟลasks นั้นเป็นสายเซลล์เพียง 1 หรืออยู่ในกลุ่มใหญ่แบบโคโลนี ซึ่งอาจใช้เวลาเลี้ยงประมาณ 2-3 เดือน จึงจะมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

การทดสอบความบริสุทธิ์ ทำได้โดยเอาไชยาโนแบคทีเรียที่เลี้ยงในอาหารเหลวหยดบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วย 0.5% (w/v) glucose และ 0.02-0.05% (w/v) casamino acid บ่มในที่มืด 3-5 วัน ถ้ามีจุลินทรีย์ที่ปะปนก็จะเจริญเติบโตคลุมพื้นที่ทั้งหมด แต่ถ้าไม่มีไชยาโนแบคทีเรียก็เจริญเป็นโคโลนีเดี่ยว ๆ

(3) การเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์

ทำได้โดยนำเอาหัวเชื้อไชยาโนแบคทีเรีย (stock culture) ที่บ่มไว้ภายใต้ความเข้มข้นแสงไม่เกิน 500 ลักซ์และในช่วงอุณหภูมิที่พอเหมาะ และเมื่อเจริญเติบโตเต็มที่ก็ควรเก็บไว้ในตู้เย็น ในปัจจุบันนิยมเก็บเชื้อบริสุทธิ์ในหลอดทดลองที่บรรจุอาหารแข็งเป็นส่วนใหญ่ สายพันธุ์ใหม่ ๆ ที่มีช่องว่างเก็บก๊าซขนาดใหญ่ พวกที่เป็นแพลงตอนในน้ำหรือพวกที่เป็นเส้นสายก็สามารถเก็บคลานได้อย่างรวดเร็ว มักจะเลี้ยงในอาหารเหลว การเลี้ยงแบบปลอดเชื้อไว้ในจานอาหาร มักจะหลีกเลี่ยงไม่กระทำกันเพราะเสี่ยงต่อการปนเปื้อน

Rippka (1988a) ได้ทำการทดลองเพื่อหาจุดวิกฤติในการเก็บรักษาในสภาพที่มีอากาศ และเป็นพวกที่ตรึงไนโตรเจนได้ ได้แก่ *Gloeotheca* spp. และพวกที่มีการสร้างเฮเทอโรซิสท์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากธาตุไนโตรเจน พบว่าสายพันธุ์ที่มีการสร้างเฮเทอโรซิสท์เกิดการสูญเสียความสามารถในการตรึงไนโตรเจนได้เพราะเฮเทอโรซิสท์ไม่ทำงาน หรือเกิดการสูญหายของเฮเทอโรซิสท์ไปเลย ถ้าทดลองโดยบ่มนาน 4-6 เดือนในอาหารเหลวที่ไม่มีไนโตรเจน เมื่อนำมาเลี้ยงลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากธาตุไนโตรเจน

Marsac (1995) ได้แนะนำวิธีการเก็บเชื้อไว้ในระยะเวลานานกว่าอาจเก็บไว้ในทรายที่ฆ่าเชื้อแล้ว โดยนำทรายที่ได้จากการตกตะกอนใส่ในหลอดทดลอง นึ่งฆ่าเชื้อ หลังจากนั้นทิ้งไว้ให้เย็น เติมน้ำละลายอนินทรีย์ฟอสเฟตความเข้มข้น 0.001% ให้สูงจากทรายประมาณ 0.1-0.2 เซนติเมตร เชื้อเชื้อใส่ นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องภายใต้ความเข้มข้นแสงประมาณ 100 ลักซ์ เมื่อจะนำไปใช้ก็นำไปเลี้ยงบนอาหารแข็ง แต่ถ้าเก็บไว้บนอาหารแข็งจะต้องเชื้อเชื้อใหม่ทุก ๆ เดือน

ถ้าต้องการเก็บรักษาในเวลานาน ทำได้โดยการเก็บรักษาในรูปการทำแห้งแบบแช่แข็ง (lyophilize) แต่พบว่าไม่ประสบผลสำเร็จ ทั้งนี้เพราะไชยาโนแบคทีเรียแต่ละชนิดมีลักษณะที่ต่างกันและมีการเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามพบว่า ไชยาโนแบคทีเรียสามารถเก็บรักษาไว้ได้เป็นอย่างดีเป็นเวลาหลายปีในอาหารเหลวที่เข้มข้น ซึ่งมี DMSO 5% (v/v) ผสมอยู่ด้วย และบรรจุลงไปในหลอดแอมพุที่มีขนาดเล็ก (ประมาณ 5 มล.) เก็บทันทีในไนโตรเจนเหลว ที่ -

25 °C ไชยาโนแบคทีเรียที่มีช่องว่างเก็บก๊าซขนาดใหญ่ก็เก็บโดยวิธีนี้ เมื่อนำมาใช้ก็นำไปทำให้ละลายที่ 37 °C

Mori และคณะ (1998) รายงานว่า ไชยาโนแบคทีเรียถ้ามีการต่อเชื้อในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ (sub culture) ไปเรื่อย ๆ ทำให้เชื้ออ่อนแอลงไปเรื่อย ๆ และในที่สุดอาจจะตายหรือเกิดการผ่าเหล่าได้ วิธีที่แนะนำคือ การเก็บรักษาโดยวิธี cryopresservative โดยการใช้ 3% DMSO เป็นสารที่เข้ามาป้องกันไม่ให้เซลล์แตก จะทำให้เก็บไชยาโนแบคทีเรียได้เป็นเวลานาน ๆ ซึ่งจากการทดลองพบว่า ไชยาโนแบคทีเรีย 48 ชนิด 144 สายพันธุ์ เมื่อเก็บด้วยวิธีนี้ทำให้ 39 ชนิด 139 สายพันธุ์ มีชีวิตรอดหลังจากการทำ freezing และ thawing

(4) การเพาะเลี้ยงในระดับปฏิบัติการ

ลัดดา (2539) กล่าวว่า การเพาะเลี้ยงไชยาโนแบคทีเรียเซลล์เดี่ยวทั้งชนิดที่เป็น กลุ่มหรือเป็นเส้นสายมีการเลี้ยง 2 ประเภท คือ การเลี้ยงระยะยาวและการเลี้ยงระยะสั้น การเลี้ยงระยะยาวทำเพื่อเก็บหัวเชื้อ (stock culture) ไชยาโนแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงต่อไป อาหารที่ใช้เลี้ยงมักจะเป็นอาหารวุ้น และการเลี้ยงต้องเลี้ยงแบบปลอดเชื้อ ซึ่งมีสูตรต่าง ๆ กัน เช่น อาหารที่นิยมใช้เลี้ยงไชยาโนแบคทีเรีย ได้แก่ สูตร BG11, Allen Blue-Green Medium, Chu No.10 medium เป็นต้น สารอาหารที่นิยมใช้ก็มีสารละลายจากดิน (Soil-water medium) ซึ่งเตรียมมาจากดินล้วน ๆ หรือเติมสารอื่น ๆ เข้าไป สิ่งที่ต้องคำนึงถึงในการเลี้ยงระยะยาว คือ อุณหภูมิ ควรจะลดต่ำกว่าปกติ 5-8 °C และลดความเข้มของแสงลงครึ่งหนึ่ง ทั้งนี้เพื่อลดการเจริญเติบโตของไชยาโนแบคทีเรียที่เลี้ยง ส่วนวัตถุประสงค์อีกอย่างหนึ่งของการเลี้ยงระยะยาว คือ การเลี้ยงเพื่อผลิตเป็นอุตสาหกรรม ซึ่งมีการเลี้ยงแบบเก็บเกี่ยวครั้งเดียว และการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง

การเลี้ยงระยะสั้น (short term culture) เป็นการเลี้ยงเพื่อการศึกษาในห้องปฏิบัติการซึ่งมักทำเป็นครั้งคราว เช่น การศึกษารูปร่างลักษณะ (morphology) เป็นต้น เกี่ยวข้องกับกรณีที่ต้องการเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณเซลล์ให้มากขึ้นในระดับปลอดเชื้อก็ให้ใช้ fernbach flasks ที่มีขนาดบรรจุ 1-5 ลิตร หรือขวด carboys ขนาดบรรจุ 10 ลิตร โดยมีวิธีการทำ คือ

ขั้นแรกเตรียมหัวเชื้อจำนวน 400 มิลลิลิตร ในฟลาสก์บรรจุอาหารเหลว โดยหัวเชื้อได้จาก agar slant ถ้าจะให้ปลอดภัยและเหมาะสม อัตราที่ใช้ของหัวเชื้อ : ปริมาตรที่ต้องการเท่ากับ 1 : 10-40 โดยปริมาตรหัวเชื้อ 40 มิลลิลิตร ใช้เวลาเลี้ยงประมาณ 4-6 สัปดาห์ หลังจากนั้นใส่หัวเชื้อที่เลี้ยงไว้ลงไปใน fernbach flasks ขนาดบรรจุ 1.5 ลิตร เลี้ยงอีก 4-6 สัปดาห์แล้วถ่ายลงในขวด carboys ความลึกของอาหารเลี้ยงเชื้อต้องจำกัด เพราะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เพื่อให้เซลล์สามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วต้องให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลงไปด้วย โดยให้มีส่วนผสมของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 1% (v/v) ในอากาศที่ผ่านเข้าไปใน Pasteur pipette ที่ฆ่าเชื้อแล้ว จุกสำลิตที่ใช้ไม่ควรขึ้นเพราะหลีกเลี่ยงการปนเปื้อน การเพิ่มก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลงไปมีผลทำให้ pH ลดลงจาก 7.0 จึงต้องใส่ Na₂CO₃ เพิ่มขึ้นประมาณ 20 เท่า ซึ่ง

ควรทำหลังจากฆ่าเชื้ออาหารแล้วคนด้วยแท่งกวนแม่เหล็ก ทำให้เกิดการหมุนเวียนของก๊าซภายในขวดดีขึ้น และทำให้สารละลายเป็นอันหนึ่งอันเดียวกัน และให้แสงเต็มที่

การเจริญของสาหร่ายสีเขียวในแกมน้ำเงิน

ระยะการเจริญเติบโต

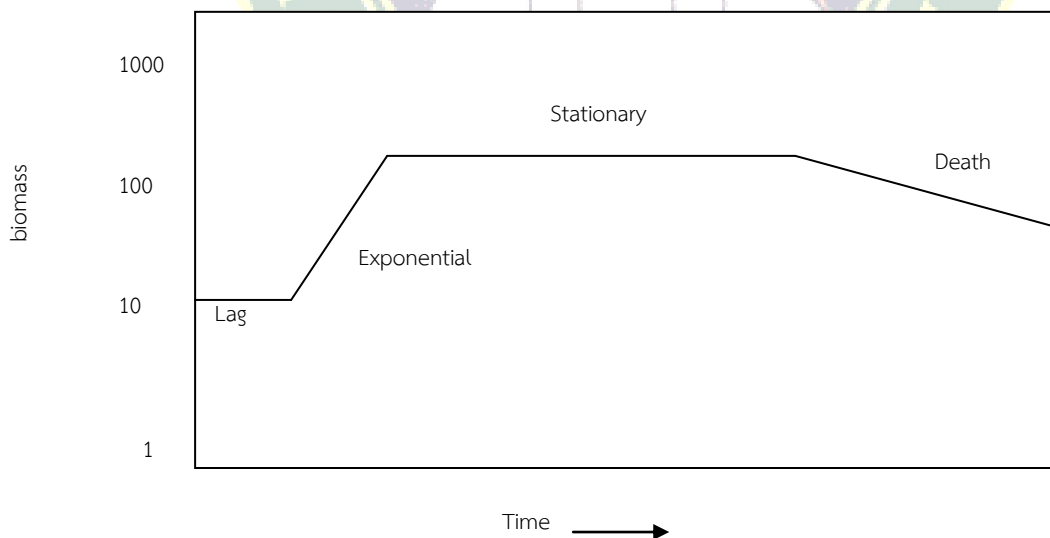
การเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในห้องปฏิบัติการแบบปิด สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจะเจริญเติบโตดังภาพที่ 2.4 โดยแบ่งเป็น 4 ระยะ คือ

ระยะที่ 1 Lag phase เป็นระยะที่เริ่มทำการเพาะเลี้ยงเชื้อในถังหมัก ในระยะนี้ไม่มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์ เป็นระยะที่เซลล์กำลังปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อม

ระยะที่ 2 Exponential phase (log phase) เป็นระยะที่เซลล์มีการแบ่งตัว และเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้ภายในถังเพาะเลี้ยงมีการเปลี่ยนแปลงทั้งทางด้านเคมี ชีวภาพ และกายภาพ

ระยะที่ 3 Stationary phase เป็นระยะที่เซลล์ไม่มีการเพิ่มจำนวนแต่เซลล์ยังคงมีความต้องการพลังงานเพื่อการอยู่รอด ซึ่งระยะนี้พลังงานมีผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์เป็นอย่างมาก

ระยะที่ 4 Death phase เป็นระยะที่เซลล์ที่มีชีวิตรอดเริ่มมีปริมาณลดลง เนื่องจากการขาดแคลนของพลังงาน หรือสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีพ



ภาพที่ 2.4 การเจริญของสาหร่ายสีเขียวในแกมน้ำเงินในการเพาะเลี้ยงแบบครั้งคราว
ที่มา : Richmond (1986)

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

Venkataraman , 1981 แบ่งปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต ดังนี้

(1) ปัจจัยทางกายภาพ (physical factor)

1.1 แสง สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการแสงสว่างในการเจริญเติบโตปกติจะเจริญอยู่ในดินความลึกไม่เกิน 0.5 เซนติเมตร หรือในพื้นที่ที่มีน้ำขัง ความเข้มของแสงจะเปลี่ยนแปลงไปขึ้นกับฤดูกาล พืชที่เจริญปกคลุมอยู่ตลอดจนความขุ่นของน้ำ ในนาข้าวจะพบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินลอยอยู่บนผิวน้ำ หรืออยู่รวมกันเป็นกลุ่มในเวลากลางวัน เนื่องมาจากการเกิดก๊าซออกซิเจนจากกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเอง จุลินทรีย์ชนิดนี้มีความทนทานต่อแสงได้แตกต่างกันแล้วแต่ชนิดและสายพันธุ์ (ธงชัย , 2546) นอกจากนี้แสงจะเป็นตัวคัดเลือกชนิดของไซยาโนแบคทีเรีย (Venkataraman , 1981) Ruschel and Vose (1984) กล่าวว่าความเข้มแสง (light intensity) เป็นปัจจัยภูมิอากาศ (climatic factor) ที่สำคัญ เนื่องจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจะไวต่อความเข้มแสงสูง

1.2 ความชื้น สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีความทนทานต่อความแห้งแล้งได้สูง Materasi and Bolloni (1965) รายงานว่าพบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเพียง 30% ในดินนาของประเทศอิตาลีที่ตรึงไนโตรเจนได้ ส่วนในประเทศเซเนกัลซึ่งมีช่วงแห้งแล้งนานถึง 8 เดือนยังสามารถพบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 95 เปอร์เซ็นต์ก่อนสิ้นฤดูแล้ง พื้นที่ลุ่มในอินเดียที่มีความชื้นสูงจะมีสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินอยู่มาก แต่เมื่อความชื้นที่เหมาะสมจะมีสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมากตามมาและทนทานได้นานต่อสภาพความแห้งแล้งในนาข้าวโดยจะพบ *Cylindrospermum* sp. มาก ซึ่งสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่แห้งแล้งได้ดีเมื่อสิ้นสุดฤดูปลูกข้าว ในญี่ปุ่นก็มีรายงานว่าพบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในปริมาณสูงในดินที่มีสภาพน้ำขังตลอดไป

1.3 อุณหภูมิ (temperature) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินอยู่ในช่วง 30-35 องศาเซลเซียส (ธงชัย , 2535 ; Roger and Kulasoorya , 1980) Roger and Kulasoorya (1980) กล่าวว่าอุณหภูมิมีอิทธิพลต่อชีวมวล (biomass) และความสามารถในการให้ผลผลิต (productivity)

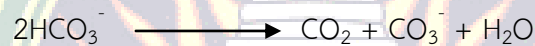
1.4 ความขุ่นของน้ำ ถ้าน้ำขุ่นมากมีผลให้แสงผ่านน้ำได้น้อยลง จึงอาจพบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่ตรึงไนโตรเจนบางครั้ง ในบางครั้งฝนอาจทำให้เกิดการคลุกเคล้ากันระหว่าง

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินและดิน ทำให้กิจกรรมการตรึงไนโตรเจนของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินลดลงเกือบทั้งหมดได้ (ธงชัย , 2546)

1.5 ลม กรณีที่ไม่มีสิ่งกีดขวางหรือต้นข้า วังกระแสมเอาไว้ ลมก็อาจจะพัดเอาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินไปรวมกัน (ธงชัย , 2546)

(2) ปัจจัยทางเคมี (chemical factor)

2.1 คาร์บอน เป็นธาตุอาหารที่ไซยาโนแบคทีเรียทุกชนิดต้องการ ส่วนใหญ่ได้มาจากอากาศซึ่งมีอยู่ประมาณ 0.03% แต่ปรากฏว่าไม่เพียงพอต่อความต้องการ จึงจำเป็นต้องให้เพิ่มในรูปของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ไบคาร์บอเนต คาร์บอเนต ซึ่งปกติในน้ำจืดจะมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในรูปอิสระ ซึ่งไซยาโนแบคทีเรียสามารถนำไปใช้ได้ ถ้ารูปอิสระหมดจึงจะมีการใช้ ในรูปก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อื่น ๆ เช่น ไบคาร์บอเนต คาร์บอเนต ซึ่งถ้าไซยาโนแบคทีเรียนำเอาไบคาร์บอเนตมาใช้ทำให้เกิดการตกตะกอนของคาร์บอเนต ส่งผลให้มีหินปูนเกิดขึ้น ดังสมการ



และในขณะเดียวกัน pH ก็จะเป็นตัวกำหนดสภาพของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำด้วยว่าจะอยู่ในรูปใด ฉะนั้นการปรับ pH ช่วยให้ ไซยาโนแบคทีเรียสามารถนำเอาก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น เพราะก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จำเป็นต่อการสังเคราะห์แสง ซึ่งเมื่อนำเอาไซยาโนแบคทีเรียไปทำให้แห้ง พบว่ามีองค์ประกอบของคาร์บอนประมาณ 50% แต่ถ้ามีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มากเกินไปกว่า 10% จะชะงักการเจริญเติบโต

2.2 ไนโตรเจน เป็นอีกธาตุหนึ่งที่มีความสำคัญ ไซยาโนแบคทีเรียสามารถใช้ได้ทั้งในรูปของ NO_3^- , NH_4^+ และอินทรีย์ไนโตรเจน เช่น ยูเรีย ซึ่งสามารถนำไปใช้ได้แต่ต้องระวังในเรื่องของความเป็นพิษถ้าใช้ในอัตราที่มีความเข้มข้นสูง ไซยาโนแบคทีเรียสามารถใช้ไนโตรเจนได้จากบรรยากาศแล้วนำมาเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของแอมโมเนียมและยูเรีย แต่อย่างไรก็ตาม ในอาหารเลี้ยงเชื้อใส่ไนโตรเจนในรูปของไนเตรทหรือเกลือแอมโมเนียม แต่ไซยาโนแบคทีเรียจะใช้ในรูปของแอมโมเนียมหมดก่อนจึงจะใช้ในรูปของไนเตรท แอมโมเนียมถูกเปลี่ยนไปเป็นสารอินทรีย์ ไนโตรเจนในเซลล์ในรูปของกรดกลูตามิก แต่ในไซยาโนแบคทีเรียผลผลิตตัวแรกของแอมโมเนียม คือ กลูตามีน (glutamine) ซึ่งได้มาจากการทำงานของเอนไซม์ไนโตรจีเนส และในขณะเดียวกันการให้แอมโมเนียมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นการขัดขวางการตรึงไนโตรเจนด้วย

2.3 ฟอสฟอรัส เป็นธาตุอาหารที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียโดยทั่วไป เกี่ยวข้องกับกระบวนการต่าง ๆ ภายในเซลล์ เช่น การสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก การเคลื่อนย้ายพลังงานต่าง ๆ เป็นต้น ในสภาพธรรมชาติปริมาณฟอสฟอรัส

เป็นตัวจำกัดการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย แต่ถ้าในน้ำธรรมชาติมีฟอสฟอรัสปริมาณสูง จะทำให้เกิดวอเตอร์บลูมของไซยาโนแบคทีเรียได้

2.4 กำมะถัน ไซยาโนแบคทีเรียสะสมกำมะถันไว้ในช่องว่างเก็บก๊าซและพบทั่วไปในเซลล์ รูปสัลเฟอร์ที่นำไปใช้ได้ คือ ซัลเฟต (SO_4^-) ในแหล่งน้ำขาดออกซิเจน กำมะถันก็จะอยู่ในรูปของซัลไฟด์ (H_2S) และจะหลุดเป็นฟองขึ้นมาบนผิวน้ำ เช่น ในแหล่งน้ำที่มีการทับถมของใบไม้ ในน้ำพุร้อน ไซยาโนแบคทีเรียสามารถแยกกำมะถันออกมาใช้ประโยชน์ได้ จึงทำให้เห็นเป็นคราบสีเหลืองในน้ำพุร้อน ไซยาโนแบคทีเรียต้องการกำมะถันเพราะกำมะถันเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของกรดอะมิโนที่จำเป็น เช่น methionine , cysteine , cystine เป็นต้น วิตามิน และ sulfolipid

2.5 แคลเซียม ไซยาโนแบคทีเรียต้องการแคลเซียมเพียงเล็กน้อยเท่านั้นเพื่อใช้เสริมสร้างความแข็งแรงของผนังเซลล์ แต่บางชนิดก็มีการสะสมเพื่อทำให้โครงสร้างของเซลล์แข็งแรงขึ้น ไซยาโนแบคทีเรียใช้ในรูปของแคลเซียมคาร์บอเนต ในผนังเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียพบแคลเซียมในรูปของแคลไซต์ (calcite) หรืออะราโกไนท์ (aragonite) และในไซยาโนแบคทีเรียบางชนิดสามารถใช้สตรอนเทียม (strontium) ทดแทนแคลเซียมได้ ในไซยาโนแบคทีเรียรูปแคลเซียมที่นำไปใช้คือ แคลเซียมไอออน (Ca^{2++}) เพื่อเป็นองค์ประกอบในพลาสมาเมมเบรน (plasmamembrane) องค์ประกอบของเกลือในสารประกอบพวกคอลลอยด์ และผนังเซลล์ และตกตะกอนในรูปของแคลเซียมคาร์บอเนต

2.6 แมกนีเซียม เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์แสง ไซยาโนแบคทีเรียต้องการในอัตราที่มากกว่าแคลเซียม เพราะแมกนีเซียมเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของคลอโรฟิลล์ บางครั้งพบว่าอยู่รวมกันเป็นกลุ่มในไรโบโซมเพื่อทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา catalase ปริมาณที่ต้องการในอาหารเลี้ยงเชื้อมากกว่า 0.1 mg/l ในสาหร่ายสีเขียว *Chlorella* พบว่า ที่ความเข้มข้น 480 mg/l จะไปยับยั้งการเจริญเติบโต แต่ถ้าได้รับน้อยเกินไปก็จะมีผลในการแบ่งเซลล์ และใน *Chlorella pyrenoidosa* แมกนีเซียมสามารถทดแทนด้วยโซเดียม และโปตัสเซียมได้

2.7 โซเดียม เป็นธาตุอาหารที่ไซยาโนแบคทีเรียต้องการใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสง กระบวนการเคลื่อนย้ายไอออนคาร์บอเนต เกี่ยวข้องกับกระบวนการเปลี่ยนแปลง pH ภายในเซลล์ การเปลี่ยนแปลงความเป็นต่าง และเกี่ยวข้องกับกระบวนการในเตร็ดดักชั้นด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าโซเดียมเกี่ยวข้องกับกระบวนการตรึงไนโตรเจนด้วย

ไซยาโนแบคทีเรียมีความต้องการโซเดียมมากกว่าสารประกอบพวกซิลิโคน ซึ่งใช้ในปริมาณเล็กน้อยในการควบคุมการสังเคราะห์โปรตีนและคาร์โบไฮเดรต และจากการทดลองกับ *Anacystis nidulans* พบว่า การเพิ่มซิลิโคนไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณของเซลล์แต่อย่างใด ถ้าในเซลล์นั้นมีโซเดียมและโปตัสเซียมอย่างเพียงพอ

2.8 โปตัสเซียม ไซยาโนแบคทีเรียทุกชนิดต้องการโปตัสเซียมเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต กระบวนการสังเคราะห์แสงและกระบวนการหายใจ ถ้าได้รับไม่เพียงพอมีผลทำให้การ

สังเคราะห์แสงลดลง การหายใจมากขึ้น นอกจากนี้โปตัสเซียมก็เป็น co-factor ของเอนไซม์หลายชนิด และควบคุมเกี่ยวกับการสังเคราะห์โปรตีนต่าง ๆ และเกี่ยวข้องกับกระบวนการ osmotic pressure ของเซลล์ด้วย ในไซยาโนแบคทีเรียบางชนิดไซโตเคียมสามารถทำงานทดแทนโปตัสเซียมได้

2.9 เหล็ก เป็นธาตุที่สำคัญในกระบวนการเมแทบอลิซึมโดยเป็นองค์ประกอบอยู่ใน cytochromes เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ และไฟโคไซยานิน ถ้าไซยาโนแบคทีเรียได้รับไม่เพียงพอจะมีสีเหลือง ในอาหารเลี้ยงเชื้อมักจะให้ในรูปของเกลืออนินทรีย์ซึ่งง่ายแก่การตกตะกอน จึงทำให้ไซยาโนแบคทีเรียไม่สามารถนำเอาธาตุเหล็กไปใช้ได้ ดังนั้นจึงมักจะให้ธาตุเหล็กลงไปในรูปแบบของ FeEDTA ซึ่งสามารถละลายออกมาเป็นประโยชน์ได้

ธาตุอาหารเสริม (trace element) เป็นธาตุอาหารที่ไซยาโนแบคทีเรียแต่ละชนิดต้องการไม่เท่ากันและต้องการในปริมาณน้อย ได้แก่ แมงกานีส นิเกิล โบรอน วานาเดียม โคบอลต์ และโมลิบดีนัม

(3) ปัจจัยทางชีวภาพ (biological factor)

แบคทีเรียไวรัสและเชื้อราบางชนิดที่เป็นเชื้อโรคของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Venkataraman,1981)ซึ่งจะมีความเฉพาะเจาะจงต่อสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน Venkataraman(1961) รายงานว่าเมื่อมีการพัฒนาประชากร Zooplankton โดยเฉพาะ Cladocerans , Copepods , Ostracods และตัวอ่อนขนาดเล็กจะขัดขวางการเจริญเติบโตของสาหร่ายในช่วง 1-2 สัปดาห์

(4) ปัจจัยดิน (soil factor)

Ruschel and Vose (1984) กล่าวว่าสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเจริญเติบโตได้ดีในดินที่เป็นด่าง Venkataraman (1981) กล่าวว่า pH ที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 5.5-8.5 เมื่อทดลองในดินนาข้าวที่มีไนโตรเจนในดินต่ำจะพบความสัมพันธ์ทางบวกระหว่าง pH ของน้ำ และปริมาณสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ถ้ามี pH สูง เช่น การเติมปูนจะเพิ่มการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Roger and Kulasoorya , 1980) แต่การเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจะดีที่สุดถ้า pH เป็นกลางหรือใกล้กลาง (6.5-7.5) (Okuda and Yamaguchi , 1952)

การวัดการเจริญเติบโตของ ไซยาโนแบคทีเรีย

โดยทั่วไปมักจะใช้วิธีการวัดการเพิ่มปริมาณของเซลล์ ปริมาณโปรตีน รงควัตถุ เป็นต้น ซึ่งแต่ละวิธีมีรายละเอียดดังนี้

(1) การนับเซลล์

1.1 การนับเซลล์โดยตรง (Direct Microscopic Counting) เป็นวิธีที่ใช้กันทั่วไปในการศึกษาการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย วิธีนี้เหมาะกับการนับไซยาโนแบคทีเรียจากธรรมชาติ ต้องคัดเลือกภาชนะบรรจุที่เหมาะสม สารละลายที่เจือจางที่เหมาะสมที่จะนับเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ ก่อนที่จะนำภาชนะบรรจุใช้ต้องทำความสะอาดและทำให้แห้งก่อนทุกครั้ง ใส่ตัวอย่างไซยาโนแบคทีเรียที่จะนับก่อนประมาณ 4-6 นาที โดยเฉพาะถ้าไซยาโนแบคทีเรียที่มีขนาดเล็กที่บรรจุในภาชนะเล็ก

1.2 การนับโคโลนี (total plate counts) วิธีนี้โดยทั่วไปใช้กับแบคทีเรีย ถ้านำมาใช้กับไซยาโนแบคทีเรียเหมาะกับการศึกษาในระยะ stationary ที่ปฏิบัติกันทั่วไปโดยวิธีเลี้ยงเชื้อไซยาโนแบคทีเรียให้ทั่วทั้งจานเลี้ยงเชื้อ (spread plate) โดยใช้ปริมาตร 0.1 ml หลังจากทำการเจือจางแล้ว และ layered plate ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่เจือจาง 2-3 ml ใส่ลงในหลอดที่บรรจุวันเข้มข้น 0.6-0.8% ผสมกันและเทลงในจานเพาะเชื้อ เก็บไว้ 3-4 วัน ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมก่อนจะนำมานับโคโลนี

1.3 Electronic counting เหมาะกับไซยาโนแบคทีเรียทรงกลมที่ไม่ใช้พวกที่เป็นเส้นสาย โดยการเจือจางตัวอย่างให้เหมาะสม หลังจากนั้นบังคับให้ผ่านช่องที่เล็กมาก electrode ก็จะเป็นตัววัด ซึ่ง orifice ยิ่งเล็กมากแต่ก็ทนกระแสไฟฟ้าได้สูง เมื่ออนุภาคไซยาโนแบคทีเรียผ่าน orifice ค่าความต้านทานเหนี่ยวนำให้มีความต้านทานน้อยกว่าอาหาร เราสามารถคำนวณกลับได้ ปัญหาที่พบ คือยากที่จะควบคุมปริมาณของเซลล์ใหม่ที่เกิดขึ้น และสารละลายที่ใช้ความบริสุทธิ์มากและยากที่จะทำความสะอาด

(2) การวัดความเข้มข้น

เป็นวิธีวัดความเข้มข้นโดยใช้การเทียบสี (colorimeter) หรือสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) เป็นวิธีการวัดความเข้มข้นของมวลไซยาโนแบคทีเรียโดยใช้ optical density ที่แตกต่างกัน วิธีนี้ง่ายและนิยมใช้กันโดยทั่วไป แต่มักมีความคลาดเคลื่อนจากการซ้อนทับกันของเซลล์ขนาดของเซลล์ที่ไม่เท่ากัน รูปร่างและปริมาณสารต่าง ๆ ในไซยาโนแบคทีเรีย และยังขึ้นกับการแพร่กระจายของไซยาโนแบคทีเรียในสารละลายด้วย วิธีนี้อาจหลีกเลี่ยงการดูดกลืนแสงของรงควัตถุในไซยาโนแบคทีเรีย (photosynthetic pigments) ที่ใช้อยู่ที่ 550 nm แล้วเขียนกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนของแสงกับน้ำหนักแห้งที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ก็สามารถคำนวณค่าประมาณของมวลไซยาโนแบคทีเรียได้โดยประมาณ

(3) การหาค่าน้ำหนักแห้ง

เป็นวิธีการหาค่ามวลไซยาโนแบคทีเรียที่เพิ่มขึ้นโดยตรง บางครั้งก็อาจผิดพลาดเพราะของแข็งที่เกิดขึ้นอาจไม่ใช่เชื้อไซยาโนแบคทีเรีย แต่อาจเป็นแร่ธาตุที่แขวนลอยอยู่ในน้ำและรวมเข้ากับน้ำหนักของสารด้วย จึงต้องใช้แผ่นกรองแยกไซยาโนแบคทีเรียออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อก่อน

หรือใช้วิธีการตกตะกอนตัวอย่างไซยาโนแบคทีเรีย หรืออาจใช้วิธีการกรองผ่านแผ่นกรองที่มีขนาดแตกต่างกัน

วิธีที่ให้เกิดความผิดพลาดน้อยที่สุด คือ ล้างเซลล์ในบัฟเฟอร์หรือน้ำกลั่นเพื่อเอาเกลือออก ควรระวังในเรื่องของเซลล์แตกและสารที่ปนเปื้อน อาจจะทำ 2 ซ้ำและต้องไม่มีเซลล์สูญหายระหว่างที่แยกส่วน

(4) ปริมาตรของเซลล์ที่อัด

วิธีนี้รวดเร็วแต่หยาบ โดยการประมาณส่วนของของแข็งที่มีอยู่ ในตัวอย่างการวัดเซลล์ที่ถูกอัด ให้หลอดหมุนเหวี่ยงชนิดพิเศษซึ่งมีปริมาตร 5-10 ml ที่ข้างหลอดมีสเกลบอกความสูง หลังจากตกตะกอนตัวอย่าง (10 นาที ที่ $1,000 \times g$) มวลของไซยาโนแบคทีเรียบางส่วนอยู่ที่ก้นหลอด ประมาณได้ว่าเซลล์อยู่สูงเท่าใด คิดเป็นกึ่งเปอร์เซ็นต์ของปริมาตรตัวอย่างทั้งหมด

(5) ปริมาณของคลอโรฟิลล์

วิธีนี้จะใช้เมื่อการหาน้ำหนักแห้งไม่ได้ผล เพราะมีเซลล์ของแบคทีเรียหรือแพลงตอนเข้าไปปะปนในมวลของสาร ปริมาณของคลอโรฟิลล์ขึ้นอยู่กับแต่ละสายพันธุ์ของไซยาโนแบคทีเรีย โดยทั่วไปใช้อะซิโตน (acetone) เมทานอล (methanol) เอทานอล (ethanol) หรือไดเอทิลอีเทอร์ (diethylether) ในการสกัดรงควัตถุจากเซลล์ บางครั้งอาจต้องใช้ความร้อนบ้าง เพื่อให้การสกัดที่สมบูรณ์

(6) ปริมาณของรงควัตถุที่ละลายได้ในน้ำ

รงควัตถุที่ละลายในน้ำมีไฟโคไซยานิน และไฟโคอีรีทริน ซึ่งอาจจะพบในบางสายพันธุ์ของไซยาโนแบคทีเรีย ส่วนใหญ่พบในไซยาโนแบคทีเรียเท่านั้น หาได้ทั้งวัดปริมาณและคุณภาพ รงควัตถุที่พบมีไฟโคอีริทรอยไซยานิน (PE) อัลโลไฟโคไซยานิน (APC) ซีไฟโคไซยานิน (PC) โดยการทำให้เซลล์แตกด้วยโซเดียมคลอไรด์ และหมุนเหวี่ยงเซลล์ให้ตกตะกอน นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 565 , 620 และ 650 nm ตามลำดับ

(7) วิธีวิเคราะห์โปรตีน

มีหลายวิธีที่แตกต่างกันแต่ที่ใช้อย่างกว้างขวางในการหาโปรตีนของไซยาโนแบคทีเรียมี 3 วิธีด้วยกัน คือ Biuret reaction , วิธีของ Lowry และคณะ , วิธีของ Bradford ซึ่งทุกวิธีต้องมีกราฟมาตรฐานความเข้มข้นของโปรตีน โดยใช้ซีรัมอัลบูมิน (serum albumin)

2.3 ความหมายของคำว่า “ปุ๋ย”

ปุ๋ย หมายถึง วัสดุหรือสารที่ใส่ลงไปในดิน ใส่ในวัสดุปลูกพืช พ่นบนส่วนเหนือดินของพืชหรือใส่ในต้นพืช โดยมีความประสงค์ที่จะทำให้พืชได้รับธาตุอาหาร เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมเพิ่มขึ้น เพื่อให้พืชได้รับธาตุอาหารดังกล่าวเป็นปริมาณที่เพียงพอและสมดุลตามที่พืชต้องการ และให้ได้ผลผลิตสูงขึ้นหรือมีคุณภาพตามที่ต้องการ ในพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 ได้ให้คำจำกัดความไว้ว่า

ปุ๋ยหมายถึง สารอินทรีย์หรือสารอนินทรีย์ไม่ว่าจะเกิดขึ้นโดยธรรมชาติหรือทำขึ้นก็ตาม สำหรับใช้เป็นธาตุอาหารแก่พืชได้ ไม่ว่าจะโดยวิธีใด หรือทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีเพื่อบำรุงความเติบโตของพืช

2.4 การจำแนกปุ๋ย

ปุ๋ย อาจแบ่งได้เป็น 3 ชนิด คือ ปุ๋ยอนินทรีย์ ปุ๋ยอินทรีย์ และปุ๋ยชีวภาพ

ปุ๋ยอนินทรีย์ หมายถึง ปุ๋ยที่เป็นสารอนินทรีย์ แบ่งออกได้เป็น 2 พวกใหญ่ ๆ คือ ปุ๋ยอนินทรีย์ธรรมชาติและปุ๋ยอนินทรีย์สังเคราะห์ ปุ๋ยอนินทรีย์ธรรมชาติ หมายถึง ปุ๋ยที่มีส่วนประกอบเป็นสารอนินทรีย์ เช่น หินฟอสเฟตบดและแร่อิลไมท์ (ปุ๋ยโพแทสเซียม) เป็นต้น ส่วนปุ๋ยอนินทรีย์สังเคราะห์ หมายถึง ปุ๋ยอนินทรีย์ที่มนุษย์ทำขึ้นจากวิธีทางเคมี เช่น ปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟต และปุ๋ยทริเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต เป็นต้น เนื่องจากปุ๋ยอนินทรีย์สังเคราะห์ได้มาจากการผลิตโดยวิธีเคมี จึงถูกจัดว่าเป็นปุ๋ยเคมี ดังนั้น จะเห็นได้ว่าปุ๋ยอนินทรีย์อาจเป็นปุ๋ยเคมีสังเคราะห์หรือปุ๋ยธรรมชาติก็ได้

ปุ๋ยอินทรีย์ หมายถึง ปุ๋ยที่มีส่วนประกอบเป็นสารอินทรีย์ แบ่งออกได้เป็นสองพวกใหญ่ ๆ คือ ปุ๋ยอินทรีย์ธรรมชาติ หมายถึง ปุ๋ยที่มีส่วนประกอบเป็นสารอินทรีย์ที่ได้มาจากสิ่งมีชีวิต ที่รู้จักกันดีมีอยู่ 3 ชนิด คือ ปุ๋ยคอก ปุ๋ยหมัก และปุ๋ยพืชสด นอกจากนี้ยังรวมไปถึงซากพืช ซากสัตว์ ของเหลือทิ้งและผลพลอยได้จากโรงงานอุตสาหกรรม ตะกอนน้ำทิ้งและของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมและจากครัวเรือน ซึ่งหากนำมาใช้เป็นปุ๋ยก็ถูกจัดว่าเป็นปุ๋ยอินทรีย์ เพราะมีสารอินทรีย์เป็นส่วนประกอบในสัดส่วนที่สูง ส่วนปุ๋ยอินทรีย์สังเคราะห์ หมายถึง ปุ๋ยที่มีส่วนประกอบเป็นสารอินทรีย์ ซึ่งได้มาจากการสังเคราะห์โดยวิธีทางเคมี คือ ปุ๋ยยูเรีย ซึ่งถูกจัดว่าเป็นปุ๋ยเคมีชนิดหนึ่ง

ปุ๋ยชีวภาพ (biofertilizer) หมายถึง วัสดุที่มีจุลินทรีย์เป็นตัวออกฤทธิ์ (active ingredient) ในการก่อให้เกิดปฏิกิริยาที่ทำให้พืชได้รับธาตุอาหารมากขึ้น ปุ๋ยชีวภาพที่แนะนำให้ใช้กันอยู่ในปัจจุบัน ได้แก่ ปุ๋ยที่มีเชื้อแบคทีเรียบางชนิด เชื้อราบางชนิด และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางชนิดเป็นตัวออกฤทธิ์

2.5 ปริมาณธาตุอาหารพืช สารอื่น ๆ สมบัติของปุ๋ยและสิ่งอื่น ๆ ที่นำมาใช้เป็นปุ๋ย

2.5.1 สารอนินทรีย์ธรรมชาติที่อาจใช้เป็นปุ๋ยหรือใช้ผลิตปุ๋ย สารอนินทรีย์ธรรมชาติมีปริมาณธาตุปุ๋ยผันแปรตั้งแต่ประมาณร้อยละ 2 ไปจนถึงมากกว่าร้อยละ 60 โดยน้ำหนัก ปริมาณธาตุปุ๋ยในสารอนินทรีย์ธรรมชาติที่อาจเป็นปุ๋ยหรือผลิตปุ๋ย

2.5.2 ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยเคมีแต่ละชนิดมีธาตุปุ๋ยแต่ละธาตุแตกต่างกัน แต่มักจะมีปริมาณธาตุปุ๋ยรวมทุกธาตุร้อยละ 20 โดยน้ำหนักขึ้นไป ปริมาณธาตุปุ๋ยในปุ๋ยเคมีชนิดต่าง ๆ

2.5.3 ปุ๋ยอินทรีย์ สมบัติและปริมาณธาตุต่าง ๆ ในปุ๋ยอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ผันแปรอย่างมาก ดังจะเห็นได้จากสมบัติบางประการ และปริมาณธาตุต่าง ๆ ในปุ๋ยคอกชนิดต่าง ๆ ปุ๋ยหมักจากแหล่งต่าง ๆ ผลพลอยได้จากโรงงานแปรรูปผลผลิตทางการเกษตร และตะกอนน้ำเสีย (sludge) จากโรงงานอุตสาหกรรมและจากครัวเรือนที่แสดงในตารางที่ 2.3-2.6 นอกจากนั้นปุ๋ยอินทรีย์ยังมีปริมาณธาตุอาหาร

ต่ำกว่าปุ๋ยเคมีมาก แม้จะบอกเป็นปริมาณทั้งหมดของธาตุอาหารแทนที่จะบอกเฉพาะส่วนที่เป็นประโยชน์ต่อพืช ซึ่งโดยแท้จริงแล้วส่วนใหญ่ของธาตุไนโตรเจนในปุ๋ยอินทรีย์อยู่ในรูปที่จะถูกปลดปล่อยให้พืชได้อย่างช้า ๆ โดยการสลายตัวของปุ๋ย ดังนั้นจึงปรากฏว่าปุ๋ยอินทรีย์จะให้ธาตุอาหารแก่พืชได้น้อยและช้ากว่าปุ๋ยเคมีมากเมื่อใช้ในปริมาณเท่า ๆ กัน และหากต้องการให้พืชได้รับธาตุอาหารเท่ากับปุ๋ยเคมีจะต้องใส่ปุ๋ยอินทรีย์ในปริมาณมากกว่าปุ๋ยเคมีหลายเท่า

ปริมาณธาตุโลหะหนักต่าง ๆ ในตะกอนน้ำทิ้งผันแปรมาก กล่าวคือ ตัวอย่างตะกอนน้ำทิ้งมีปริมาณธาตุโลหะหนักต่าง ๆ กันเป็นพันเป็นหมื่นเท่า ทำให้การนำตะกอนน้ำทิ้งมาใช้เป็นปุ๋ยไม่ปลอดภัยในบางกรณี ดังนั้น หากจะนำตะกอนน้ำทิ้งมาใช้เป็นปุ๋ยจึงมีความจำเป็นที่จะต้องตรวจสอบปริมาณธาตุต่าง ๆ ในตะกอนเพื่อป้องกันมิให้พืชดูดธาตุโลหะหนักเข้าไปมาก และหรือเกิดการสะสมโลหะหนักในดินจนเกินระดับที่ปลอดภัย

2.5.4 ปุ๋ยชีวภาพ จุลินทรีย์ที่ได้รับความสนใจทำการวิจัยเพื่อหาทางนำมาใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพแยกตามกิจกรรมที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช สรุปไว้ในตารางที่ 2.7 อธิบายได้ดังนี้

1) จุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจนร่วมกับพืชตระกูลถั่ว สิ่งมีชีวิตทุกชนิดจำเป็นต้องใช้ในไนโตรเจนเพื่อการดำรงชีวิต เพราะไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบของกรดอะมิโนซึ่งเป็นสารพื้นฐานสำหรับสิ่งมีชีวิต ไนโตรเจนที่สิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่จะนำไปสร้างกรดอะมิโนจะต้องเป็นไนโตรเจนที่อยู่ในรูปที่รวมกับอะตอมของธาตุอื่นเกิดเป็นไอออน เช่น แอมโมเนียม (NH_4^+) และไนเตรต (NO_3^-) เท่านั้น แหล่งใหญ่ที่สุดของไนโตรเจนในโลกนี้ คือ ก๊าซไนโตรเจน (N_2) ในบรรยากาศ ซึ่งมีปริมาณทั้งหมดคิดเป็นร้อยละ 80 ของปริมาณก๊าซในบรรยากาศ ก๊าซไนโตรเจนเป็นแหล่งสำคัญของไนโตรเจนสำหรับสิ่งมีชีวิตที่สามารถใช้ไนโตรเจนที่อยู่ในรูปก๊าซไนโตรเจนได้ โดยอาศัยกระบวนการตรึงไนโตรเจน

การตรึงไนโตรเจน (nitrogen fixation) หมายถึง กระบวนการเปลี่ยนก๊าซไนโตรเจน (N_2) ในบรรยากาศเป็นไนโตรเจนในรูปแอมโมเนีย ดังนั้น กระบวนการตรึงไนโตรเจนจึงเป็นกระบวนการที่เปลี่ยนก๊าซไนโตรเจนซึ่งพืชใช้ประโยชน์โดยตรงไม่ได้ ให้ไปอยู่ในรูปที่สิ่งมีชีวิตนำไปใช้ในการสร้างกรดอะมิโนได้ กระบวนการเปลี่ยนรูปของไนโตรเจนอาจจะเกิดขึ้นได้โดยปฏิกิริยาเคมี หรือโดยการกระทำของสิ่งมีชีวิตบางชนิด

แบคทีเรียในกลุ่มที่รวมเรียกว่า ไรโซเบียม (rhizobium) เท่านั้นที่สามารถตรึงไนโตรเจนร่วมกับพืชตระกูลถั่ว แบคทีเรียพวกนี้สามารถเข้าไปอยู่ในรากถั่วแล้วทำให้เกิดปมที่รากถั่ว [ยกเว้นกรณีโสนแอฟริกันและถั่วในสกุลแอชีโนมีน (*Aechynomene* spp.) ซึ่งสร้างปมได้ทั้งที่รากและลำต้น] ในปมนี้ไรโซเบียมทำการตรึงไนโตรเจนร่วมกับถั่ว การตรึงไนโตรเจนเกิดขึ้นโดยไรโซเบียมในปมรากถั่วเปลี่ยนก๊าซไนโตรเจนไปเป็นแอมโมเนีย แล้วแอมโมเนียที่เกิดขึ้นรวมตัวกับสารประกอบคาร์โบไฮเดรตที่ถั่วสร้างขึ้นทำให้ได้กรดอะมิโน ส่วนหนึ่งของกรดอะมิโนที่เกิดขึ้นไรโซเบียมใช้ไปในการเจริญเติบโตของมันเอง ส่วนที่เหลือถั่วใช้ไปในการเจริญเติบโต ดังนั้น การตรึงไนโตรเจนแบบนี้จึงเป็นการตรึงไนโตรเจนแบบที่สิ่งมีชีวิต

ทำร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัยกัน (ไรโซเบียมได้รับสารคาร์โบไฮเดรตซึ่งให้พลังงานและได้ธาตุอาหารอื่น ๆ จาก ถั่ว ส่วนถั่วได้รับกรดอะมิโนที่เกิดขึ้น)จึงเรียกรวมการตรึงไนโตรเจนแบบนี้ว่า “symbiotic nitrogen fixation” ซึ่งอาจเรียกเป็นภาษาไทยว่า “การตรึงไนโตรเจนโดยสิ่งมีชีวิตที่พึ่งพาอาศัยกัน”

2) จุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจนร่วมกับพืชที่ไม่ใช่พืชตระกูลถั่ว จุลินทรีย์ที่มีกิจกรรม ประเภทนี้ คือ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่อาศัยอยู่กับแหนแดงและแอคติโนมัยสีท

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่อาศัยอยู่กับแหนแดง สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue-green algae) หรือไซยาโนแบคทีเรีย (cyanobacteria) มีทั้งที่เป็นเซลล์เดี่ยว ๆ และหลายเซลล์ต่อกันเป็น เส้นสามารถจำแนกได้ 26 สกุล ดังแสดงในตารางที่ 2.4 สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินชนิดอนาบินา อโซลลี (*Anabaena azollae*) มักอาศัยอยู่ในโพรงใต้ใบของแหนแดง (*Azolla* spp.) ซึ่งเป็นเฟิร์นชนิดหนึ่งที่มัก ลอยอย่างอิสระอยู่บนผิวน้ำ การตรึงไนโตรเจนร่วมกันระหว่างแหนแดงกับอนาบินาเกิดขึ้นโดยอนาบินา อโซลลีทำหน้าที่เปลี่ยนก๊าซไนโตรเจนเป็นแอมโมเนีย แล้วแอมโมเนียที่เกิดขึ้นรวมตัวกับสารประกอบ คาร์โบไฮเดรตที่แหนแดงสร้างขึ้นทำให้ได้กรดอะมิโน ส่วนหนึ่งของกรดอะมิโนที่เกิดขึ้นอนาบินาอโซลลี นำไปใช้ในการเจริญเติบโตของมันเอง ส่วนที่เหลือของกรดอะมิโนในแหนแดงใช้ไปในการเจริญเติบโต ดังนั้น การตรึงไนโตรเจนแบบนี้จึงเป็นการตรึงไนโตรเจนโดยสิ่งมีชีวิตที่พึ่งพาอาศัยกัน

ตารางที่ 2.4 จุลินทรีย์ที่ได้รับความสนใจทำการวิจัยเพื่อนำมาใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพ แยกตาม กิจกรรมที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (อำนาจ, 2548)

1. จุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจน

1.1 แบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจนร่วมกับพืชตระกูลถั่ว

แบคทีเรียในสกุลไรโซเบียม (*Rhizobium* spp.) ซึ่งสร้างปมเพื่อตรึงไนโตรเจนที่รากพืชตระกูลถั่ว แบคทีเรียอโซไรโซเบียม คอลินอดันส์ (*Azorhizobium caulinodans*)^{2/} ซึ่งสร้างปมตรึง ไนโตรเจนบนลำต้นโสนแอฟริกัน (*Sesbania rostrata*)

1.2 จุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจนร่วมกับพืชที่ไม่ใช่พืชตระกูลถั่ว

แบคทีเรียบางสกุลในสกุลแฟรงเกีย (*Frankia* spp.) ซึ่งเป็นแบคทีเรียในกลุ่มแอคติโนมัยสีท (actinomycete) ที่สามารถตรึงไนโตรเจนร่วมกับพืชชั้นสูงบางชนิดที่ไม่ใช่พืชตระกูลถั่ว ได้แก่ พืชบาง ชนิดในสกุลอัลนัส (*Alnus* spp.) ไมริกา (*Myrica* spp.) อัลโลแคซวรีนา (*Allocasuarina* spp.) และแคซวรีนา (*Casuarinas* spp.) เช่น สนประติพัทธ์ (*Casuarina junghuhniana*) เป็นต้น

ไซยาโนแบคทีเรีย อนาบินา อโซลลี (*Anabaena azollae*)^{5/} ซึ่งเป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue-green algae) หรือไซยาโนแบคทีเรีย (cyanobacteria) ที่ตรึงไนโตรเจนร่วมกับแหนแดง

1.3 จุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจนอย่างอิสระ (free-living N₂-fixing microorganisms)

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินหรือไวอาโนแบคทีเรีย เช่น สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางชนิดในสกุล

นาปีนาออสซิส (<i>Anabaenopsis</i> spp.) อฟาโนธีส (<i>Aphanothece</i> spp.) ออโลสิรา (<i>Aulosira</i> spp.) คาโลธริค (<i>Calothrix</i> spp.) ไชลินโดรสเปอร์มัม (<i>Cylindrospermum</i> spp.) ฟิสเชอเรลลา (<i>Fischerella</i> spp.) โกลอีโอธีส (<i>Gloeotheca</i> spp.) โกลอีโอทริเชีย (<i>Gloeotrichia</i> spp.) แฮสซาลเลีย (<i>Hassalia</i> spp.) นอสตอค (<i>Nostoc</i> spp.) ริวูลาเรีย (<i>Rivularia</i> spp.) ซีสโตเนมา (<i>Scytonema</i> spp.) สติโกเนมา (<i>Stigonema</i> spp.) โทลีโอพทริค (<i>Tolypothrix</i> spp.) และเวสทีแอลลอพซิส (<i>Westiellopsis</i> spp.) โฟโตซินเทติกแบคทีเรีย (photosynthetic bacteria) เช่น แบคทีเรียบางชนิดในสกุลโรโดซูดโมแนส (<i>Rhodopseudomonas</i> spp.) โรโดสไพริลลัม (<i>Rhodospirillum</i> spp.) โรโดไซคลัส (<i>Rhodocyclus</i> spp.) และโรโดไมโครเบียม (<i>Rhodomicrobium</i> spp.) แบคทีเรียในกลุ่มอื่น ๆ เช่น แบคทีเรียบางชนิดในสกุลอะโซโตแบคเตอร์ (<i>Azotobacter</i> spp.) ไบเจอรินเจีย (<i>Beijerinckia</i> spp.) คลอสทริเดียม (<i>Clostridium</i> spp.) และเดอร์เซีย (<i>Derxia</i> spp.)
1.4 จุลินทรีย์ที่มีความสัมพันธ์กับพืช (associative N₂-fixing microorganisms) แบคทีเรีย เช่น แบคทีเรียบางชนิดในสกุลอะโซสไพริลลัม (<i>Azospirillum</i> spp.) อะซิโตแบคเตอร์ (<i>Acetobacter</i> spp.) พิวโดโมนาส (<i>Pseudomonas</i> spp.) อัลคาลิเจเนส (<i>Alcaligenes</i> spp.) และเคลบเซลลา (<i>Klebsiella</i> spp.)
2. จุลินทรีย์ที่ช่วยละลายฟอสเฟต (phosphate-solubilizing microorganisms) แบคทีเรีย เช่น แบคทีเรียบางชนิดในสกุลบาซิลลัส (<i>Bacillus</i> spp.) เบอริคโคเดเรีย (<i>Burkholderia</i> spp.) เออร์วินเนีย (<i>Ervinia</i> spp.) พิวโดโมนาส (<i>Pseudomonas</i> spp.) ไธโอบาซิลลัส (<i>Thiobacillus</i> spp.) และสเตรปโตไมซีส (<i>Streptomyces</i> spp.) รา เช่น ราแอสเพอร์จิลลัส ไนเกอร์ (<i>Aspergillus niger</i>) เป็นต้น
3. จุลินทรีย์ที่ช่วยรากพืชดูดธาตุอาหาร ราไมคอร์ไรซา (mycorrhiza fungi) ซึ่งทำให้เกิดไมคอร์ไรซา (mycorrhiza) ไมคอร์ไรซาที่รู้จักกันในปัจจุบันมี 7 แบบ คือ อาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (arbuscular mycorrhiza) หรือราเอไมคอร์ไรซา เอกโตไมคอร์ไรซา (ectomycorrhiza) เอกเทนโดไมคอร์ไรซา (ectendomycorrhiza) อาร์บุดอยด์ไมคอร์ไรซา (arbutoid mycorrhiza) โมโนพอยด์ไมคอร์ไรซา (monopoid mycorrhiza) อีริคอยด์ไมคอร์ไรซา (ericoid mycorrhiza) และออร์คิดไมคอร์ไรซา (orchid mycorrhiza) ไมคอร์ไรซาชนิดนี้พบแล้วมีอยู่ 150 ชนิดในสกุลออคอสปอรา (<i>Acaulospora</i> spp.) เอนโทรฟอสปอรา (<i>Entrophospora</i> spp.) ไกกาสปอรา (<i>Gigaspora</i> spp.) โกลมัส (<i>Glomus</i> spp.) สคลอโรซิสติส (<i>Sclerocystis</i> spp.) และสคูเทลโลสปอรา (<i>Scutellospora</i> spp.)

3) จุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจนอย่างอิสระ จุลินทรีย์ที่มีกิจกรรมประเภทนี้ คือ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินหรือไซยาโนแบคทีเรียและแบคทีเรียที่อยู่อย่างอิสระ (free-living bacteria)

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่อยู่อย่างอิสระ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีคลอโรพิลล์และทำการสังเคราะห์แสงได้จึงสามารถเจริญเติบโตได้โดยไม่ต้องอาศัยสิ่งมีชีวิตอื่น สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางชนิดในสกุลต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 2.8 สามารถตรึงไนโตรเจนได้ มักพบในน้ำขัง แต่อาจพบเป็นจำนวนมากในดินดอนเพราะสาหร่ายพวกนี้ทนความแห้งแล้งและอุณหภูมิสูง ปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้โดยสาหร่ายพวกนี้เฉลี่ยประมาณ 4.3 กิโลกรัมต่อไร่ และอาจสูงถึง 12.8 กิโลกรัมต่อไร่ ในการปลูกข้าวหนึ่งครั้ง

แบคทีเรียที่อยู่อย่างอิสระ แบคทีเรียที่อยู่อย่างอิสระหลายสกุลสามารถตรึงไนโตรเจนได้ เช่น แบคทีเรียในสกุลออสโตริลัม (*Azospirillum* spp.) อโซโตแบคเตอร์ (*Azotobacter* spp.) บาซิลลัส (*Bacillus* spp.) ไบเจอริงเกีย (*Beijerinckia* spp.) เดอร์เซีย (*Derxia* spp.) เป็นต้น แบคทีเรียพวกนี้เมื่ออยู่อย่างอิสระสามารถตรึงไนโตรเจนได้น้อยมาก จึงมักถือกันว่าไม่มีความสำคัญในแง่การเพิ่มไนโตรเจนได้ในปริมาณที่ควรค่าแก่การให้ความสนใจเมื่ออยู่ในดินแบบมีความสัมพันธ์กับพืช

4) จุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจนแบบสัมพันธ์กับพืช (associative N_2 -fixing microorganisms) ปกติดินในบริเวณที่มีอิทธิพลของรากพืช (rhizosphere) จะมีจุลินทรีย์มากกว่าดินที่อยู่ห่างไกลจากรากพืช ทั้งนี้เพราะดินในบริเวณที่มีอิทธิพลของรากพืชมีปริมาณคาร์บอน ที่จุลินทรีย์จะใช้ประโยชน์ได้มากกว่าดินในบริเวณที่ห่างไกลจากรากพืช จึงทำให้จุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ แ่งแย่งไนโตรเจนซึ่งเป็นอีกธาตุหนึ่งซึ่งจำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ดังนั้นจุลินทรีย์ที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้อย่างอิสระจึงสามารถแข่งกับจุลินทรีย์อื่น ๆ ได้ดี แบคทีเรียที่อยู่อย่างอิสระและตรึงไนโตรเจนได้บางชนิดชอบอาศัยอยู่ในดินบริเวณที่มีอิทธิพลของราก (rhizosphere) ธัญพืช (cereals) และพืชตระกูลหญ้า (grasses) มากกว่าที่จะอยู่ในดินที่ห่างไกลจากรากพืชและการอยู่ในสภาพนี้ทำให้มันสามารถตรึงไนโตรเจนได้มากกว่าเมื่ออยู่ในดินบริเวณที่ไม่มีอิทธิพลของรากพืช ปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้อาจสูงถึง 384 กรัมต่อไร่ต่อวัน

5) จุลินทรีย์ที่ช่วยละลายฟอสเฟต แบคทีเรียบางชนิด และราบางชนิดช่วยให้ฟอสเฟตในดินในรูปที่ไม่ละลายน้ำละลายออกมาให้กับพืชใช้ได้มากขึ้น จุลินทรีย์เหล่านี้ทำให้ฟอสเฟตในดินละลายน้ำได้มากขึ้นโดยการปลดปล่อยกรดโปรตอนหรือสารคีเลต (chelating compounds) ทำปฏิกิริยากับสารประกอบฟอสเฟตในดินทำให้ฟอสเฟตถูกเปลี่ยนเป็นรูปที่ละลายน้ำได้มากขึ้น

6) จุลินทรีย์ที่ช่วยรากพืชดูดธาตุอาหาร จุลินทรีย์ประเภทนี้มีเพียงรา (fungi) เท่านั้นราบางชนิดอาศัยอยู่กับรากพืชโดยบางส่วนของเส้นใยของราอยู่ในรากพืชและบางส่วนอยู่นอกรากพืช ส่วนที่อยู่นอกรากพืชเป็นเสมือนรากขนอ่อนของรากพืช ทำให้รากพืชดูดธาตุอาหารและน้ำได้มากขึ้น ส่วนรากที่ขึ้นอยู่กับรากพืชนั้นก็ได้รับสารประกอบคาร์บอนจากการสังเคราะห์แสงของพืชเป็นอาหาร ราและรากพืชดังกล่าวจึงอยู่ด้วยกันแบบพึ่งพาอาศัยกัน รากพืชที่ราอาศัยอยู่แบบพึ่งพาอาศัยกันนี้เรียกว่า “ไมคอร์ไรซา (mycorrhiza)” และราพวกนี้ถูกเรียกว่า “ราไมคอร์ไรซา (mycorrhiza fungi)”

2.6 การผลิตปุ๋ยชีวภาพ

หลักการผลิตปุ๋ยชีวภาพ คือ การผลิตเชื้อจุลินทรีย์ประเภทต่าง ๆ ในปริมาณที่มากพอที่จะนำไปใช้ประโยชน์ได้ จุลินทรีย์ที่สามารถนำมาใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพมีมากมายหลายชนิด ซึ่งแต่ละชนิดจะมีวิธีการเลี้ยงขยายเพื่อเพิ่มจำนวนแตกต่างกันไป จุลินทรีย์ที่สามารถเลี้ยงให้สามารถเจริญเติบโตได้เร็วในอาหารเลี้ยงเชื้อ จะสามารถผลิตได้ในปริมาณมากในระยะเวลาอันสั้นและยุ่งยากน้อยกว่าพวกที่ไม่สามารถเลี้ยงให้เจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อ การผลิตให้ได้เชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิด จะมีวิธีการและขั้นตอนแตกต่างกันไป

สิ่งที่ต้องคำนึงในการผลิตปุ๋ยชีวภาพ คือ

- 1) ใช้หัวเชื้อที่จะนำมาผลิตที่บริสุทธิ์ ปราศจากการปนเปื้อน
- 2) เชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาผลิตได้ผ่านการทดสอบแล้วว่าเป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพ
- 3) เลือกใช้ชนิดอาหารที่เหมาะสมกับจุลินทรีย์แต่ละชนิด
- 4) กำจัดสารปนเปื้อนที่จะเกิดขึ้นในทุกขั้นตอนของการผลิต
- 5) ผลิตให้ได้ปริมาณที่เพียงพอในการที่จะนำไปใช้ต่อไป ปุ๋ยชีวภาพที่มีการผลิตเพื่อ

จำหน่าย ได้แก่ เชื้อไมคอร์ไรซา จุลินทรีย์อิสระ เชื้อย่อยละลายหินฟอสเฟต และหัวเชื้อจุลินทรีย์เพื่อทำปุ๋ยหมัก

2.6.1 สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue green algae)

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เป็นจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่งที่อยู่อย่างอิสระซึ่งมีทั้งคลอโรฟิลล์ และไนโตรเจนเอนไซม์ ทำให้จุลินทรีย์ชนิดนี้สามารถสังเคราะห์แสง และตรึงไนโตรเจนได้ จึงนับว่าสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีประโยชน์อย่างมาก โดยสามารถเปลี่ยนวัตถุดิบที่มีอยู่ในอากาศมาเป็นสารอินทรีย์ และเมื่อสลายตัวลงก็จะปลดปล่อยสารประกอบนี้ให้กับพืชที่ปลูกตามมาได้ นับว่าเป็นแหล่งผลิตปุ๋ยที่มีราคาถูกมาก

ประโยชน์ของปุ๋ยชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

- 1) เพิ่มธาตุอาหารไนโตรเจนให้แก่ดินและพืชทำให้ลดการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนลงได้บางส่วน
- 2) ช่วยทำให้สิ่งมีชีวิตที่มีประโยชน์ต่อดินสามารถเจริญเติบโตได้ดี และช่วยให้ดินอุดมสมบูรณ์
- 3) ทำให้ดินมีคุณสมบัติที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช

การใช้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในนาข้าว

1) ปรับแต่งดินนาอย่าให้น้ำรั่วไหลได้เพื่อป้องกันการสูญหายของปุ๋ยที่ไหลตามน้ำ
เมื่อมีฝนตก

2) ใส่ปุ๋ยเคมี อัตรา 20-25 กิโลกรัมต่อไร่ในนาดินเหนียว ใช้ปุ๋ยเคมีสูตร 16-20-0 และในนาดินทราย ใช้ปุ๋ยเคมีสูตร 16-16-8 โดยหว่านให้ทั่วพื้นที่ ในนาดำใส่ก่อนปักดำข้าว 1 วัน หรือหลังปักดำ 7-10 วัน ในนาหว่านใส่ปุ๋ยเคมีหลังข้าวงอก 20-25 วัน

3) ใส่ปุ๋ยชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน อัตรา 20 กิโลกรัมต่อไร่ โดยหว่านให้ทั่วแปลงนา ในนาดำช่วง 1-30 วัน หลังปักดำข้าว และในนาหว่านหลังจากข้าวงอกแล้ว 7-30 วัน

4) ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 46-0-0 อัตรา 3-7 กิโลกรัม/ไร่หรือปุ๋ยเคมีสูตร 21-0-0 อัตรา 7-15 กิโลกรัม/ไร่ โดยหว่านให้ทั่วแปลงในระยะข้าวเริ่มสร้างรวงอ่อนหรือก่อนข้าวตั้งท้อง หรือก่อนเก็บเกี่ยว ข้าว 60 วัน

ข้อควรระวัง

- 1) ไม่ควรหว่านปุ๋ยชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในขณะที่ฝนตก เพราะน้ำฝนจะไหลบ่าท่วมคันนาจะพาปุ๋ยชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินไปด้วย
- 2) เก็บรักษาปุ๋ยชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินไว้ในที่ร่ม และไม่ควรเปิดถุงปุ๋ยทิ้งไว้นาน ๆ เพราะจะทำให้ปุ๋ยแห้งเกินไป
- 3) ควรใช้ปุ๋ยชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินก่อนการหมอดอายุจุลินทรีย์ที่ช่วยให้พืชได้รับธาตุอาหารอื่น ๆ

ข้อแนะนำในการใช้สาหร่ายในนาข้าว

- 1) ถ้าไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน การใช้สาหร่ายจะได้ไนโตรเจนประมาณ 3.2-4.8 กก./ไร่
- 2) หว่านสาหร่ายแห้งลงในน้ำในนาข้าวอัตรา 1.6-2.4 กก./ไร่ หลังจากปักดำข้าวไปได้ประมาณ 1 สัปดาห์
- 3) การใช้สาหร่ายจำนวนมากไม่เป็นอันตรายและช่วยเพิ่มให้มีปริมาณสาหร่ายมากขึ้น
- 4) เลี่ยงสาหร่ายไว้ก่อนปักดำข้าวก็ได้
- 5) เมื่อมีการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนให้ลดการใช้ลง 4 กก./ไร่ และใช้สาหร่ายแทน
- 6) สาหร่ายสามารถใช้ร่วมกับการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราสูง ๆ ได้
- 7) สาหร่ายแห้งสามารถเก็บไว้ใช้ได้โดยไม่เสียคุณภาพ
- 8) ไม่ควรเก็บสาหร่ายไว้ให้ถูกกับปุ๋ยหรือสารเคมีอื่นโดยตรง
- 9) ใช้สาหร่ายอย่างน้อย 3 ถาดการปลูกติดต่อกัน
- 10) ใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ตามคำแนะนำเพื่อไม่ให้คุณสมบัติของสาหร่ายเสียไป

2.6.2 ไมคอร์ไรซา (Mycorrhiza)

ไมคอร์ไรซาเป็นเชื้อรากลุ่มหนึ่งที่อยู่ในดินอาศัยอยู่รวมกันกับรากพืชโดยไม่ทำอันตรายต่อพืชโดยทั่วไป เชื้อไมคอร์ไรซามีอยู่ 2 ชนิดใหญ่ ๆ คือ

- 1) เชื้อเอ็นโตไมคอร์ไรซา
- 2) เชื้อเอ็นโคไมคอร์ไรซา

การผลิตเชื้อไมคอร์ไรซา

วิธีการผลิตโดยวิธีการปลูกพืชทั้งในกระถาง เรียกว่า พอต คัลเชอ (pot culture) หรือปลูกในแปลงนา การจะผลิตในแปลงจะต้องผลิตในพื้นที่ขนาดเล็กเพื่อจะสามารถควบคุมสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ไม่ให้เกิดการปนเปื้อนต่อเชื้อที่จะผลิตขึ้นได้ วิธีการผลิตสามารถทำได้ไม่ยากนัก แต่จะต้องมีการดูแลอย่างใกล้ชิดตลอดระยะเวลาที่ปลูกในการขยายปริมาณเชื้อจะต้องใช้พืชอาศัยต่างชนิดกับพืชที่จะปลูกในไร่ ทั้งนี้เพื่อป้องกันการติดเชื้อบางชนิดที่จะต่อเนื่องได้ เช่น ถ้าจะใช้เชื้อ วิ-เอ ไมคอร์ไรซากับพืชตระกูลถั่ว จะต้องใช้พืชอาศัยเป็นพืชชนิดอื่นที่ไม่ใช่พืชตระกูลถั่ว

ประโยชน์

เชื้อไมคอร์ไรซา มีประโยชน์ต่อการมีชีวิตรอยู่และการเจริญเติบโตของต้นไม้ คือ

- 1) สามารถเพิ่มความเจริญเติบโตให้กับต้นพืช
- 2) เพิ่มพื้นที่ผิวรากที่จะสัมผัสกับดินทำให้การดูดธาตุอาหารของรากมากขึ้น
- 3) ช่วยพืชดูดและสะสมธาตุอาหารต่าง ๆ ไว้ เช่น ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และธาตุอื่น ๆ อีก ซึ่งเชื้อไมคอร์ไรซาจะดูดไว้และสะสมไว้มาก
- 4) ช่วยดูดธาตุอาหารจากหินแร่ที่ละลายตัวยาก พวกอินทรีย์วัตถุต่าง ๆ ที่ยังสลายตัวไม่หมดให้พืชนำไปใช้ได้
- 5) รากพืชที่มีเชื้อไมคอร์ไรซามีความต้านทานโรคพืชที่เกิดกับรากได้

2.6.3 ไรโซเบียม (Rhizobium)

เชื้อไรโซเบียมเป็นหนึ่งในกลุ่มจุลินทรีย์สำหรับผลิตปุ๋ยชีวภาพ นิยมนำเชื้อไรโซเบียมมาใช้คลุกเมล็ดถั่วก่อนปลูก ทั้งนี้ ได้มีการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมกับถั่วเขียวหรือถั่วเหลืองโดยเฉพาะ เมื่อเมล็ดถั่วเริ่มงอกต่อมากจะสร้างรากและลำต้น เชื้อไรโซเบียมจะเข้าอาศัยอยู่ในรากของต้นถั่ว โดยต่างพึ่งพาซึ่งกันและกัน ไรโซเบียมได้นำไนโตรเจนจากรากพืชเป็นอาหาร ขณะเดียวกันไรโซเบียมก็ทำหน้าที่ตรึงก๊าซไนโตรเจนจากอากาศเปลี่ยนให้อยู่ในสถานะที่ต้นพืชนำไปเป็นอาหารได้

ตัวไรโซเบียมมีขนาดเล็กมากมองด้วยตาเปล่าไม่เห็น มีรูปร่างเป็นแท่งยาว เมื่อเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่รูปจะเปลี่ยนแปลงไปบ้างเมื่ออาศัยอยู่ในบมถั่ว ไรโซเบียมต้องการอากาศและสามารถเคลื่อนไหวได้ด้วยตัวของมันเอง การจำแนกไรโซเบียมอาศัยการจำแนกตามความสัมพันธ์กับพืชตระกูลถั่วชนิดต่าง ๆ ดังตารางที่ 2.5 ดังนี้

ตารางที่ 2.5 การจำแนกไรโซเบียมอาศัยการจำแนกตามความสัมพันธ์กับพืชตระกูลถั่วชนิดต่าง ๆ

ชนิดไรโซเบียม	ชนิดของถั่วที่ต้องอาศัยอยู่
1. <i>Rhizobium Caponicum</i>	ถั่วเหลือง
2. <i>Rhizobium lyuminosarum</i>	ถั่วลันเตา ถั่วปากอ้า
3. <i>Rhizobium phaseoli</i>	ถั่วแดงหลวง ถั่วแขก(ฝัก)
4. <i>Rhizobium mepiloti</i>	ถั่วซัลฟาลฟา
5. <i>Rhizobium triflii</i>	ถั่วโคลเวอร์
6. <i>Rhizobium lupine</i>	ถั่วลูปีเนียม ถั่วอนิโทพัส
7. Cowpea miscellanous group	ถั่วเขียว ถั่วลิสง ถั่วแปบ ถั่วฝักยาว ฯลฯ

หลักการเพาะเชื้อไรโซเบียมเพื่อเพิ่มผลผลิตให้แก่พืชตระกูลถั่ว

- 1) ควรทำการเพาะเชื้อไรโซเบียมเมื่อจะทำการปลูกถั่วชนิดใดชนิดหนึ่งเป็นครั้งแรกเฉพาะในดินที่เปิดใหม่
- 2) ควรทำการเพาะเชื้อไรโซเบียม เมื่อจะปลูกถั่วในที่ที่เลิกร้างจากการปลูกถั่วชนิดนั้น ๆ มาเป็นเวลา 4-5 ปีแล้ว เพราะเชื้อไรโซเบียมในดินจะลดน้อยลง
- 3) ควรทำการเพาะเชื้อไรโซเบียม เมื่อดินมีสภาพไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช เช่น ดินที่ค่อนข้างเลว ดินทราย ดินเปรี้ยว ดินในเขตแห้งแล้ง หรือมีฝนตกชุก เพราะในสภาพดังกล่าวแม้จะได้ปลูกพืชตระกูลถั่วติดต่อกันมาเป็นเวลาหลาย ๆ ปีแล้วก็ตาม เชื้อไรโซเบียมที่เจริญเติบโตอยู่ในดินจะถูกลดปริมาณลงอยู่เสมอ จึงควรเพิ่มปริมาณโดยการเพาะเชื้อไรโซเบียมอยู่เรื่อย ๆ
- 4) ควรทำการเพาะเชื้อ เมื่อพบว่าถั่วที่ปลูกไว้ติดปมน้อย ขนาดปมเล็กและกระจัดกระจายอยู่ตามรากฝอย แต่เมื่อผ่าปมดูแล้วไม่มีสีชมพูหรือ ๆ เนื้อเยื่อภายในมีสีเขียว เพราะลักษณะปมดังกล่าวนี้แสดงถึงความเสื่อมประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนของเชื้อไรโซเบียมที่อยู่ในปมเหล่านี้ ลักษณะปมอันพึงประสงค์จะต้องมีขนาดใหญ่ ปมมีจำนวนมากและเกิดอยู่รอบ ๆ รากแก้วหรือโคนรากแขนง เมื่อผ่าหรือบีบดูสีของเนื้อเยื่อภายในปมจะมีสีชมพูถึงแดง

วิธีการใช้เชื้อไรโซเบียม

ต้นถั่วจะได้รับประโยชน์จากเชื้อไรโซเบียมได้สูงสุดจะต้องทำให้เชื้อไรโซเบียมที่ใส่ลงไปเข้าสู่ราก เพื่อสร้างปมให้มากที่สุด และการที่จะให้ประสบผลสำเร็จขึ้นอยู่กับวิธีการใช้เชื้อที่ถูกต้อง ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

- 1) นำเมล็ดถั่วที่ต้องการปลูกใส่ลงในภาชนะ
- 2) ใส่สารที่ช่วยให้เชื้อติดเมล็ด เช่น น้ำมันพืชการสังเคราะห์ 40% น้ำตาลทราย 30% และน้ำลงในในเมล็ดในอัตราที่กำหนด เช่น ใช้กับถั่วเหลือง 10 ก.ก. หรือถั่วลิสง 15 ก.ก.หรือถั่วเขียว 5 ก.ก.และเชื้อไรโซเบียม 200 กรัม คือ 300 ลบ.ซม. เทก้นหมดแล้วกวานเบา ๆ ให้เมล็ดเปียกทั่วกันหมด โดยไม่มีน้ำหรือสารนั้น ๆ เหลืออยู่ที่ก้นถัง ถ้ามีแสดงว่าใส่มากเกินไปก็เติมเมล็ดลงไปอีกหรือรินทิ้ง

3) ใส่เชื้อไรโซเบียมลงไปในอัตราที่กำหนด เช่น ถั่วเหลือง 10 กิโลกรัม หรือถั่วลิสง 15 กิโลกรัมหรือถั่วเขียว 5 กิโลกรัม คือ ใส่เชื้อไรโซเบียม 200 กรัม

4) คนเบา ๆ จนกระทั่งเมล็ดทุกเมล็ดมีผงเชื้อติดอย่างสม่ำเสมอ

2.6.4 แหนแดง

แหนแดงเป็นเฟิร์นที่เจริญเติบโตลอยอยู่บนผิวน้ำ สามารถตรึงไนโตรเจนได้โดยการตรึงร่วมกันกับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่อยู่ในโพรงใต้ใบของแหนแดง จึงได้มีการนำใบของแหนแดงมาใช้เป็นปุ๋ยพืชสดให้กับข้าวที่ปลูกในนาข้าวเพื่อเพิ่มไนโตรเจนให้กับดิน โดยปลูกแหนแดงก่อนการปลูกข้าวแล้วไถกลบแหนแดงในช่วงเตรียมดินเพื่อปลูกข้าว เมื่อแหนแดงเน่าเปื่อยลงก็จะปลดปล่อยไนโตรเจนและธาตุอาหารอื่น ๆ ออกมาในรูปอนินทรีย์สารให้แก่ข้าว เปรียบเทียบได้กับการปลูกพืชตระกูลถั่วเป็นปุ๋ยพืชสดสำหรับดินดอน การปลูกแหนแดงจะช่วยเพิ่มผลผลิตของข้าวที่ปลูกตามหลังได้มากขึ้นเพียงใด นอกจากจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์แหนแดงแล้ว ยังขึ้นอยู่กับสิ่งแวดล้อมที่ปลูกแหนแดง สิ่งแวดล้อมที่เกี่ยวกับดินที่สำคัญ คือ ปริมาณไนโตรเจนและธาตุอาหารอื่น ๆ ที่นอกเหนือจากไนโตรเจนในดินบริเวณที่ปลูกแหนแดง หากดินมีไนโตรเจนมากดินก็จะปลดปล่อยไนโตรเจนสู่น้ำมากขึ้น แหนแดงที่ขึ้นอยู่บนผิวน้ำก็จะใช้ไนโตรเจนจากน้ำแทนที่จะตรึงไนโตรเจนจากอากาศ ซึ่งจะมีผลทำให้การปลูกแหนแดงช่วยเพิ่มปริมาณไนโตรเจนให้แก่พื้นที่นั้นได้น้อย การปลูกแหนแดงก็จะช่วยเพิ่มผลผลิตของข้าวที่ปลูกตามหลังน้อย แต่หากดินมีธาตุอื่น ๆ ที่นอกเหนือจากไนโตรเจนมากก็จะส่งเสริมให้แหนแดงเจริญเติบโตและตรึงไนโตรเจนได้เต็มที่ ซึ่งจะส่งผลให้แหนแดงเพิ่มผลผลิตข้าวที่ปลูกตามหลังได้มาก

2.7 ข้อดี-ข้อด้อยและข้อควรระวังของปุ๋ยชีวภาพ

ข้อดีของปุ๋ยชีวภาพ ได้แก่

2.7.1 ไม่ต้องใส่บ่อย ๆ

เนื่องจากปุ๋ยชีวภาพมีตัวการที่ช่วยเพิ่มธาตุอาหารให้แก่พืชที่เป็นจุลินทรีย์ ดังนั้นเมื่อใส่ลงไปในดินและเกิดการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์แล้วจุลินทรีย์นั้นมักจะยังคงมีอยู่ในดินนั้นต่อไปหลังจากเก็บเกี่ยวพืชแล้ว จึงมักจะไม่มี ความจำเป็นต้องใช้ปุ๋ยชีวภาพนั้นอีกจนกว่าจำนวนจุลินทรีย์ที่ใส่ลดจำนวนลงไปในดินเหลือ น้อยมาก ข้อดีนี้ทำให้ประหยัดค่าใช้จ่ายในการใช้ปุ๋ยชีวภาพ

2.7.2 การใช้ปุ๋ยชีวภาพมีค่าใช้จ่ายน้อย

ปริมาณปุ๋ยชีวภาพที่ต้องใช้ต่อหน่วยพื้นที่มักจะน้อยกว่าปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยเคมีนับเป็นสิบเป็นร้อย หรือเป็นพันเท่า เช่น กรณีการใช้เชื้อไรโซเบียมสำหรับพืชตระกูลถั่ว มักจะใช้เชื้อไรโซเบียมน้อยกว่า 1 กิโลกรัมต่อไร่เมื่อเทียบกับปุ๋ยเคมีที่ต้องใช้นับเป็นสิบถึงเป็นร้อยกิโลกรัมต่อไร่ นอกจากนั้นปุ๋ยชีวภาพส่วนใหญ่ยังมีราคาถูกอีกด้วย ดังนั้นการใช้ปุ๋ยชีวภาพจึงประหยัดเงินค่าปุ๋ย ค่าขนส่งปุ๋ย และค่าแรงงานในการใส่ปุ๋ยมากกว่าปุ๋ยเคมีและปุ๋ยอินทรีย์

ข้อด้อยที่สำคัญของปุ๋ยชีวภาพ

2.7.1 เพิ่มความอุดมสมบูรณ์ได้เฉพาะบางธาตุ

ปุ๋ยชีวภาพชนิดหนึ่ง ๆ สามารถช่วยเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดินได้เฉพาะบางธาตุ เช่น ไโรโซเบียม และແແແແช่วยเพิ่มธาตุไนโตรเจน แบคทีเรียที่ช่วยละลายฟอสเฟตช่วยเพิ่มความเป็นประโยชน์ของ ฟอสเฟตในดิน และเชื้อราไมคอร์ไรซาช่วยให้พืชดูดซับธาตุ เช่น ฟอสฟอรัส และสังกะสีได้มากขึ้น จึงทำให้ต้องใช้ปุ๋ยชีวภาพหลายชนิดในกรณีที่ดินขาดธาตุอาหารหลายธาตุ ทำให้เกิดความยุ่งยากในการใช้

2.7.2 การเก็บรักษาปุ๋ยต้องใช้ความระมัดระวังเป็นพิเศษและเก็บไว้ได้ไม่นาน

เนื่องจากปุ๋ยชีวภาพเป็นปุ๋ยที่มีจุลินทรีย์เป็นตัวแสดงฤทธิ์ของปุ๋ย จุลินทรีย์เหล่านี้ต้องการสภาพที่เหมาะสมในการดำรงชีวิต ฉะนั้น การเก็บรักษาจึงต้องใช้ความระมัดระวังเป็นพิเศษ เช่น ต้องเก็บไว้ในที่เย็น ต้องป้องกันไม่ให้ถูกแสงแดด ต้องอยู่ในสภาพที่ความชื้นพอเหมาะ เป็นต้น นอกจากนั้นยังมีอายุการเก็บรักษาสั้นกว่าปุ๋ยเคมีและปุ๋ยอินทรีย์อีกด้วย

2.7.3 มีข้อจำกัดที่ทำให้การใช้ปุ๋ยยุ่งยาก

เนื่องจากปุ๋ยชีวภาพเป็นปุ๋ยที่มีจุลินทรีย์เป็นตัวแสดงฤทธิ์ และจุลินทรีย์มีการตอบสนองไวต่อสภาพที่ไม่เหมาะสม เช่น อุณหภูมิสูง สภาพแห้ง การมีสารเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ เช่น สารควบคุมแบคทีเรียที่เป็นศัตรูพืช และควบคุมเชื้อราที่เป็นศัตรูพืช เป็นต้น จึงทำให้เกิดความยุ่งยากในการใช้ปุ๋ยชีวภาพเหล่านี้ เช่น เมื่อฝนแล้งและอุณหภูมิของดินสูง เกิดการระบาดของโรคพืชและแมลงศัตรูพืช ซึ่งจำเป็นต้องมีการใช้สารป้องกันการระบาดของโรคและแมลงศัตรูพืช กรณีเหล่านี้อาจทำให้การใช้ปุ๋ยชีวภาพไม่ได้ผล

2.8 ผลการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการใช้ปุ๋ยชีวภาพ

ปุ๋ยชีวภาพมีบทบาทสำคัญในการช่วยเพิ่มธาตุอาหารให้กับพืช และช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการใช้ปุ๋ยเคมีเมื่อมีการใช้ร่วมกัน การใช้ปุ๋ยชีวภาพจะได้ผลเมื่อมีการใช้ชนิดของปุ๋ยให้เหมาะสมและถูกต้องกับชนิดของพืช จากการทดลองใช้เชื้อโรโซเบียมกับพืชตระกูลถั่วหลายชนิดและศึกษาผลการวิจัยติดต่อกันหลายปีของกลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กองปฐพีวิทยา สามารถสรุปได้ว่า เมื่อมีการใช้เชื้อโรโซเบียมที่เหมาะสมกับพันธุ์ถั่วแต่ละชนิดแล้ว เชื้อโรโซเบียมจะสามารถตรึงธาตุไนโตรเจนให้กับพืชอีก โดยเฉพาะในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ เช่น ดินในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ การใช้เชื้อโรโซเบียมจะเห็นผลได้ชัดเจนกว่าการใช้เชื้อในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ดีอยู่แล้ว เช่น จากผลการทดลองที่ได้ดำเนินการมา 10 ปี ในแหล่งต่าง ๆ เกือบทุกภาคของประเทศไทย พบว่าโดยเฉลี่ยแล้วการปลูกถั่วเหลืองโดยใส่เชื้อโรโซเบียม จะเพิ่มผลผลิตได้ในภาคกลาง 24% ภาคเหนือ 11% และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 122%

ตารางที่ 2.6 การเพิ่มผลผลิตของเชื้อโรโซเบียมต่อถั่วเหลืองที่ปลูกในภาคต่าง ๆ

แหล่งที่ปลูก	ไม่ใช้ไรโซเบียม	ไรโซเบียม	ผลผลิตเพิ่ม	เปอร์เซ็นต์เพิ่ม
ภาคกลาง	249	310	61	24
ภาคเหนือ	188	209	21	11
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	142	316	174	122

ที่มา : ผลการทดลองของกลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร

จากการประเมินผลทางเศรษฐกิจของการใช้ไรโซเบียมในถั่วเหลือง พบว่า การใช้ไรโซเบียมเป็นการลงทุนที่ต่ำมาก และให้ผลตอบแทนสูง เกษตรกรมีความเสี่ยงน้อย สำหรับกรณีที่ดินขาดธาตุอาหารที่สำคัญ เช่น ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม การใส่ปุ๋ยฟอสเฟตและโพแทสเซียมรวมไปกับเชื้อไรโซเบียม จะทำให้ได้ผลกำไรมากขึ้น

ได้มีวิธีการรวบรวมและคัดเลือกสายพันธุ์ไรโซเบียมที่เหมาะสมกับพืชตระกูลถั่วที่เป็นพืชอาหารสัตว์หลังจากประสบความสำเร็จในการนำไรโซเบียมไปใช้กับพืชตระกูลถั่วที่เป็นพืชเศรษฐกิจจากการวิจัยพบว่า ไรโซเบียมของพืชอาหารสัตว์ ได้แก่ ไมยราบ แกรมส์โตโล วินแคสเซีย และเซนโตรซิมามีประสิทธิภาพแตกต่างกันในความสามารถตรึงไนโตรเจน และพบว่าก่อนปลูกพืชอาหารสัตว์ควรใส่เชื้อไรโซเบียมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการให้ผลผลิตสูงขึ้น ซึ่งจะมีผลต่อเกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์ (สมศักดิ์และคณะ, 2541)

การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน พบว่า สาหร่ายชนิดนี้สามารถเพิ่มผลผลิตให้กับข้าวได้ สมพรและคณะ (2539) ทำการทดลองเพื่อหาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินและวิธีการใช้ที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มผลผลิตข้าว ในสภาพกระถางและแปลงทดลอง โดยปลูกข้าวในกระถางที่ใส่ดินนี้ซึ่งฆ่าเชื้อ ใส่เชื้อสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 5 ชนิด คือ *Anabaena oryzae* , *Aulosira* sp. , *Calothrix* sp. และ *Tolypothrix* sp. เปรียบเทียบกับไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนประมาณ 12-16% โดยน้ำหนักในสภาพแปลงทดลองใช้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินชุดเดียวกันกับการทดลองในกระถาง แต่เพิ่ม *Anabaena siamensis* อีกชนิดหนึ่ง

เมื่อเปรียบเทียบกับปุ๋ยชีวภาพของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีใช้ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตรา 12 กก./ไร่ พบว่า ปุ๋ยไนโตรเจนให้ผลผลิตข้าวสูงกว่าได้รับอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ ยกเว้นได้รับที่ใช้ *Tolypothrix* sp. และปุ๋ยชีวภาพ เป็นที่น่าสังเกตว่าได้รับที่ใช้ *Tolypothrix* sp. ให้ผลผลิตข้าวสูงกว่าได้รับที่ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนเล็กน้อย ทั้งในกระถางและสภาพแปลงทดลอง ในการทดลองเพิ่มเติมในปี 2533 และ 2534 ที่จังหวัดขอนแก่น และจังหวัดอุดรธานี ซึ่งประกอบด้วยการใช้สาหร่ายร่วมกับหญ้าหมักและไม่ใช้ปุ๋ยไนโตรเจน พบว่า การใช้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินให้ผลผลิตข้าวเพิ่มจากการไม่ใช้ปุ๋ยไนโตรเจนประมาณ 3% การใส่ปุ๋ยชีวภาพผลผลิตเพิ่มขึ้นประมาณ 5% การใส่ Silage ผสมกับสาหร่ายให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นประมาณ 6%

บรรหารและคณะ (2541) ได้คัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย ที่สามารถตรึงไนโตรเจนอย่างมีประสิทธิภาพ ให้กับข้าว จำนวน 6 ตัวอย่าง ข้าวโพด 6 ตัวอย่าง และข้าวฟ่าง 5 ตัวอย่าง มาทำการทดสอบ ประสิทธิภาพพร้อมกับการใช้ปุ๋ยไนโตรเจน พบว่า การใช้จุลินทรีย์แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนช่วยให้การ เจริญเติบโตและผลผลิตของข้าว ข้าวโพด และข้าวฟ่าง มากกว่าการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนอย่างเดียว การใส่เชื้อวี-เอ ไมโครไรซา ยังสามารถช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตและผลผลิตให้กับสับปะรด และช่วย เพิ่มประสิทธิภาพการใช้ปุ๋ยเคมี โดยสามารถลดปริมาณการใช้ปุ๋ยเคมีกับสับปะรดลงได้ นอกจากนี้จากการ ทดลองยังพบว่า เชื้อวี-เอ ไมโครไรซา ยังมีศักยภาพในการช่วยให้สับปะรดมีความต้านทานต่อโรครากเน่าได้ อีกด้วย (ออมทรัพย์และคณะ, 2541)

2.9 ข้อเสนอแนะในการใช้ปุ๋ยชีวภาพ

การใช้ปุ๋ยชีวภาพจะมีประโยชน์ในการเพิ่มการเจริญเติบโตและผลผลิตพืช แต่ถ้ามีการใช้ไม่ถูกต้อง ก็จะไม่เกิดประโยชน์ได้เต็มที่ ซึ่งการใช้ปุ๋ยชีวภาพจะต้องคำนึงถึงปัจจัยโดยรวม ดังนี้

2.9.1 ชนิดของปุ๋ยชีวภาพ

การใช้ปุ๋ยชีวภาพต้องคำนึงถึงชนิดของปุ๋ยชีวภาพเพื่อใช้ให้ถูกชนิดของพืช ปุ๋ยชีวภาพแต่ละชนิดจะมีคุณสมบัติในการก่อให้เกิดประโยชน์แก่พืชต่างกัน เช่น เชื้อไรโซเบียม จะใช้เฉพาะกับพืชตระกูลถั่วและ พืชตระกูลถั่วแต่ละชนิดจะต้องใช้สายพันธุ์ที่มีความสามารถเฉพาะตัว เช่น เชื้อไรโซเบียมถั่วเขียวจะใช้กับถั่วเขียว เชื้อไรโซเบียมกับถั่วเหลืองจะใช้ถั่วเหลืองจึงจะเกิดประสิทธิผลในการใช้ ถ้านำไรโซเบียมถั่วเหลือง ไปใช้กับการปลูกถั่วเขียวการใช้เชื้อก็จะได้ไม่ผล ปุ๋ยชีวภาพชนิดอื่นก็จะมีคุณลักษณะเฉพาะเช่นเดียวกันนี้

2.9.2 ชนิดของธาตุอาหารที่ต้องการเพิ่มในดิน

ปุ๋ยชีวภาพแต่ละชนิดจะมีคุณสมบัติในการให้ธาตุอาหารแตกต่างกันไป ซึ่งผู้ใช้งานจะต้องทราบถึง ความต้องการในชนิดของธาตุอาหารที่จะใส่ให้กับพืช โดยปุ๋ยชีวภาพซึ่งผลิตเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะมี คุณสมบัติต่างกัน ดังนี้

- 1) เชื้อไรโซเบียม มีคุณสมบัติในการช่วยตรึงไนโตรเจนจากอากาศให้พืชนำไปใช้ทดแทน การใช้ปุ๋ยไนโตรเจน ใช้เฉพาะกับพืชตระกูลถั่ว
- 2) เชื้อจุลินทรีย์อิสระ เช่น เชื้ออะโซลสปิริลล์ มีคุณสมบัติในการตรึงไนโตรเจนจาก อากาศให้พืชนำไปใช้ทดแทนการใช้ปุ๋ยไนโตรเจน ใช้กับข้าวและพืชไร่ เช่น ข้าวโพด อ้อย เป็นต้น
- 3) สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ได้แก่ พวกออะมิบา นอสท็อก สามารถตรึงไนโตรเจนจาก อากาศให้พืชนำไปใช้ทดแทนการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนใช้กับนาข้าว
- 4) เชื้อไมคอร์ไรซา มี 2 พวก คือ วี-เอ ไมคอร์ไรซา และเอ็ดโต ไมคอร์ไรซา สามารถดูด ขั้วธาตุอาหารในดินให้กับพืชนำไปใช้ได้ โดยเฉพาะธาตุฟอสฟอรัส ใช้ได้กับพืชหลายชนิดทั้งพืชไร่ ไม้ผล ไม้ดอก พืชผัก ยาง ไม้โตเร็ว และต้นสน

5) จุลินทรีย์ย่อยละลายหินฟอสเฟต เช่น พวกบาซิลลัส ซูโดโมแนส แอสเพอจีลัส เป็นต้น สามารถละลายธาตุฟอสฟอรัสจากหินฟอสเฟต ซึ่งมีราคาถูกมาใช้แทนปุ๋ยฟอสเฟตราคาแพงชนิดอื่น ๆ

6) จุลินทรีย์ย่อยเซลลูโลส เช่น พวกเชื้อรา แบคทีเรียบางชนิดสามารถนำมาผลิตเป็นหัวเชื้อปุ๋ยหมัก เพื่อใช้ในการทำปุ๋ยหมักใช้เป็นประโยชน์ต่อไป

2.9.3 คุณสมบัติของดิน

ก่อนใช้ปุ๋ยชีวภาพจะต้องรู้สมบัติของดินที่ทำการปลูกพืช เช่น ต้องรู้สภาพความเป็นกรดเป็นด่าง ความชื้น เป็นต้น เนื่องจากจุลินทรีย์บางชนิดมีความทนทานต่อสภาพความเป็นกรดเป็นด่างของดินต่างกัน เช่น ถ้าใช้เชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ที่เจริญได้ดีในสภาพเป็นกรด นำไปใส่ในดินที่เป็นด่างก็จะทำให้ประสิทธิภาพการใช้เชื้อมีน้อยลง สมบัติของดินทั้งทางเคมี กายภาพ และชีววิทยาต่างมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่มีในปุ๋ยชีวภาพ ในดินร่วนซุยจุลินทรีย์มักจะมีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าในดินเหนียว เป็นต้น

2.9.4 ปริมาณของจุลินทรีย์ในดิน

ถ้าในดินมีปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในชนิดที่ต้องการใช้อยู่แล้วก็ไม่มีความจำเป็นจะต้องใส่ปุ๋ยชีวภาพชนิดนั้นให้กับพืชอีก หรือบางครั้งถ้าดินมีจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายต่อปุ๋ยชีวภาพที่จะใส่เข้าไปก็ควรจะมีการทำลายเชื้อเหล่านั้นก่อน วิธีการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ดินที่มีอยู่ในธรรมชาติสามารถทำได้โดยการใช้ความร้อนจากพลังงานแสงอาทิตย์ทำลายเชื้อที่เป็นอันตรายก่อนที่จะใช้ปุ๋ยชีวภาพ

2.9.5 ปริมาณน้ำในดิน

ปริมาณน้ำในดินก็มีความสำคัญในการใช้ปุ๋ยชีวภาพจุลินทรีย์ที่ใช้ผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพบางชนิดสามารถอยู่ได้ในสภาพน้ำขัง เช่น แหนแดงจะเจริญได้ในที่มีน้ำขัง สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เจริญได้ดีในน้ำหรือที่ชื้นไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในที่แห้งแล้ง เชื้อไรโซเบียมและเชื้อไมคอร์ไรซาเจริญเติบโตได้ดีและไม่สามารถทำกิจกรรมในการตรึงธาตุอาหารในสภาพที่มีน้ำขัง ดังนั้นก่อนจะใช้ปุ๋ยชีวภาพจึงต้องคำนึงถึงปริมาณน้ำในดินที่จะทำการปลูกพืชด้วย

2.9.6 สารเคมีในการเกษตรเมื่อมีการใช้ปุ๋ยชีวภาพให้กับพืช

ข้อควรระวังในการใช้สารเคมีในการเกษตร ได้แก่ สารป้องกันกำจัดวัชพืช สารกำจัดแมลง สารกำจัดโรคพืช ซึ่งบางชนิดจะมีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่มีในปุ๋ยชีวภาพ เช่น ยากำจัดโรครากเน่า ซึ่งเกิดจากแบคทีเรียอาจจะมียากำจัดเชื้อไรโซเบียมซึ่งเป็นแบคทีเรียชนิดหนึ่ง หรือยากำจัดโรครากเน่า ซึ่งเกิดจากเชื้อราอาจจะมียากำจัดเชื้อไมคอร์ไรซาซึ่งเป็นเชื้อชนิดหนึ่งได้

2.9.7 ปริมาณธาตุอาหารพืชในดิน

ในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์มีปริมาณธาตุอาหารสูงอยู่แล้ว การใส่ปุ๋ยชีวภาพจะไม่เห็นการใช้เด่นชัด เช่น การปลูกถั่วในดินที่เปิดใหม่มีความอุดมสมบูรณ์ดี มีระดับไนโตรเจนสูง รากถั่วไม่เกิดปมและไม่มีการตรึงไนโตรเจนจากอากาศ ดังนั้น เมื่อใส่เชื้อไรโซเบียมก็ไม่จำเป็นต้องใส่ปุ๋ยไนโตรเจน เช่น

เดียวกับเชื้อไมคอร์ไรซา ถ้าดินมีปริมาณธาตุฟอสฟอรัสในปริมาณสูงมากและอยู่ในรูปที่พืชนำไปใช้ได้ก็ไม่จำเป็นต้องใส่เชื้อไมคอร์ไรซา แต่ถ้าดินมีปริมาณฟอสฟอรัสสูงแต่ถูกตรึงโดยอนุภาคของดินทำให้พืชนำไปใช้ไม่ได้ การใส่เชื้อไมคอร์ไรซาจะสามารถทำให้พืชนำฟอสฟอรัสที่มีในดินมาใช้ประโยชน์ได้ ผู้ใช้ปุ๋ยชีวภาพควรจะต้องปฏิบัติตามฉลากหรือคำแนะนำการใช้ที่มาพร้อมกับภาชนะใส่ปุ๋ยชีวภาพ เนื่องจากปุ๋ยชีวภาพแต่ละชนิดจะมีคุณสมบัติแตกต่างกันไป ดังนั้น ข้อบ่งชี้ใช้ปุ๋ยชีวภาพแต่ละชนิดจึงเป็นสิ่งสำคัญที่ผู้ใช้ควรจะได้ทราบโดยจะต้องทราบถึง

- 1) ชนิดของจุลินทรีย์ดินที่ใช้ผลิตปุ๋ยชีวภาพ
- 2) ปริมาณจุลินทรีย์ที่มี
- 3) วิธีการเก็บรักษาและวันสิ้นอายุของปุ๋ยชีวภาพ
- 4) วัสดุรองรับปุ๋ยชีวภาพ
- 5) วิธีการใช้ปุ๋ยชีวภาพ

2.10 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Metting (1998) รายงานว่า มีสาหร่ายที่มีขนาดเล็กสามารถเจริญเติบโตได้ในดินและเมื่อจำแนกออกมาพบว่า เป็นสกุลของไซยาโนแบคทีเรียเกือบทั้งสิ้น และมีความสามารถตรึงไนโตรเจนได้ด้วยทั้งที่เป็นเซลล์เดี่ยวและเป็นเส้นสาย ฉะนั้นจึงได้นำเอาไซยาโนแบคทีเรียเหล่านี้มาใช้ประโยชน์โดยนำมาเพาะเลี้ยงเป็นปุ๋ยชีวภาพ เพื่อเป็นแหล่งให้ธาตุอาหารไนโตรเจนแก่ดินและพืช โดยไซยาโนแบคทีเรียสามารถใช้ก๊าซไนโตรเจนจากอากาศซึ่งมีอยู่ 78% มาเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของแอมโมเนียและปลดปล่อยออกมานอกเซลล์ได้ และได้ทดลองเพาะเลี้ยงและนำมาใช้กับนาข้าว

Vantakaraman (1972) ; Stewart et al.; สมพรและคณะ (2535) และพงศ์เทพ และประเสริฐ (2538) พบว่า การใส่ไซยาโนแบคทีเรียที่มีความสามารถตรึงไนโตรเจนได้ช่วยเพิ่มปริมาณธาตุอาหารให้กับข้าวโดยเฉพาะธาตุไนโตรเจน และทำให้ผลผลิตของข้าวเพิ่มขึ้นทั้งน้ำหนักของเมล็ดและตอซัง แต่ปัญหาที่พบคือ จำเป็นต้องมีการคัดเลือกสกุลของไซยาโนแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพสูงและใช้ร่วมกับปุ๋ยเคมีทำให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น

การใช้ไซยาโนแบคทีเรียที่อยู่อย่างอิสระเป็นแหล่งของปุ๋ยไนโตรเจนในนาข้าว โดยใส่ในรูปของหัวเชื้อลงไปและกระตุ้นให้มีการตรึงไนโตรเจนได้อย่างอิสระ ได้มีผู้ทำการทดลองเช่นกัน โดย Watanabe et al., (1951) ทดลองเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียที่สร้างเฮเทอโรซิสท์ ได้แก่ *Tolypothrix tenuis* , *Calothrix brevissima*, *Nostoc* sp. และ *Anabaena* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีไนโตรเจนปรากฏว่า *Tolypothrix tenuis* มีการตรึงไนโตรเจนสูงสุด และเมื่อนำไปทดลองในนาข้าวก็ให้ผลในทำนองเดียวกัน และเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับการใช้ปุ๋ยเคมี พบว่า การตรึงไนโตรเจนโดยไซยาโนแบคทีเรียในดินนาโดยทั่วไปเท่ากับ 45.8% ของปุ๋ยไนโตรเจนทั้งหมดที่ข้าวนำมาใช้ในรอบปีหรือเท่ากับ 60 กิโลกรัมของปุ๋ยแอมโมเนียซัลเฟต

Wang et al., (1991) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของ *Anabaena* sp. หลายสกุลในแปลงนาขนาดใหญ่ในประเทศจีน (5,170 ตารางเมตร) เป็นเวลา 3 ปี เมื่อทำการทดสอบในเรือนทดลองได้น้ำหนัก 7-11 กรัม น้ำหนักแห้ง/ตารางเมตร และทดสอบในไร่นาได้ 22 กรัมต่อตารางเมตรในกลางฤดูร้อน เมื่อเปรียบเทียบแต่ละสกุลของ *Anabaena* พบว่าไม่แตกต่างกันการให้อากาศและการให้สารเร่งการเจริญเติบโต (growth regulator) เช่น 2,4-D NaHSO_3 และสารสกัดจากเห็ดนางรม ช่วยให้ผลผลิตสูงขึ้นและมีค่าใช้จ่ายประมาณ 0.75-1.0 ดอลลาร์ต่อกิโลกรัม

Sharma et al., (1986) พบว่า เมื่อมีการใช้ไซยาโนแบคทีเรีย (*Nostoc* , *Anabaena* , *Aulosira* , *Plectonema* และ *Tolypothrix*) เป็นเวลา 3 ปี จะให้ไนโตรเจนกับดิน 3.2-8 กก./ไร่ จะเพิ่มผลผลิตของข้าวโดยเฉลี่ย 12.94 เปอร์เซ็นต์

Harbans et al., (1986) พบว่า เมื่อมีการใช้ไซยาโนแบคทีเรีย (*Nostoc* , *Anabaena* , *Aulosira* , *Plectonema* และ *Tolypothrix*) ร่วมกับการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 2.4-7.2 กก./ไร่ จะให้ผลผลิตของข้าวมีความแตกต่างทางสถิติ กับการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนเดี่ยว ๆ (4.8 กก./ไร่)



บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง โดยมีวิธีการดำเนินการวิจัยดังนี้

3.1 วิธีดำเนินการวิจัย

ตอนที่ 1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของหนวดและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเพื่อเพิ่มผลผลิตข้าว

การทดลองที่ 1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของหนวด

การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง วางแผนการทดลองแบบ (Randomized Complete Block Design หรือ RCBD โดยกำหนดมี 2 ปัจจัย ประกอบด้วย 5 สิ่งทดลอง แต่ละสิ่งทดลองมี 3 ซ้ำ ๆ รวมจำนวนหน่วยทดลองทั้งหมด 30 หน่วยทดลอง

ชุดการทดลองที่ 1

- T1 = ชุดควบคุม (Control)
- T2 = K_2HPO_4 อัตรา 4 กรัม/กระถาง
- T3 = K_2HPO_4 อัตรา 6 กรัม/กระถาง
- T4 = K_2HPO_4 อัตรา 8 กรัม/กระถาง
- T5 = K_2HPO_4 อัตรา 10 กรัม/กระถาง

ชุดการทดลองที่ 2

- T6 = ชุดควบคุม (Control)
- T7 = มูลไก่ อัตรา 4 กรัม/กระถาง
- T8 = มูลไก่ อัตรา 6 กรัม/กระถาง
- T9 = มูลไก่ อัตรา 8 กรัม/กระถาง
- T10 = มูลไก่ อัตรา 10 กรัม/กระถาง

ขั้นตอนการทดลอง

1. การเตรียมเชื้อพันธุ์และการขยายพันธุ์หนวด

การที่จะใช้หนวดในนาข้าว ในเบื้องต้นจะต้องรู้จักหลักและวิธีการเลี้ยงขยายเชื้อพันธุ์หนวดก่อน การเพาะขยายหนวดเพื่อให้ได้ปริมาณตามต้องการภายในระยะเวลาที่กำหนดนั้น ขึ้นอยู่กับปริมาณของเชื้อพันธุ์ที่เริ่มต้น ขนาดพื้นที่เลี้ยงขยาย และระยะเวลาที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อโดยทั่วไป การเพาะขยายพันธุ์หนวดทำได้โดยใช้เชื้อพันธุ์เริ่มต้นประมาณ 500 กรัม/ตารางเมตร ใส่ปุ๋ยฟอสเฟต เพื่อเสริมสร้างการเจริญเติบโต

2. การเตรียมดินและการดูแลรักษา

นำดินที่จะใช้ในการทดลองมาผึ่งให้แห้งในที่ร่ม ทบแล้วผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน ใช้ดินกระถางละ 1 กิโลกรัม เติม K_2HPO_4 , มูลไก่ ตามตำรับการทดลองข้างต้น หลังจากนั้นจึงนำແໜແດງທີ່เตรียมไว้ปักประมาณ 15 นาที ชั่งน้ำหนักสด 3 กรัม ใส่ลงในอ่างที่มีอาหารเพาะเลี้ยง คนให้ແໜແດງกระจายภายในอ่างอย่างสม่ำเสมอ ในระยะที่ทำการเพาะเลี้ยงແໜແດງได้รับการระดับน้ำให้อยู่เหนือผิวดินประมาณ 5 เซนติเมตร

3. การวัดการเจริญเติบโตทุก 7 วัน ในช่วงเวลา 10.00-12.00 น. ใช้กระชอนตักແໜແດງในแต่ละหน่วยทดลองขึ้นจากอ่างเพาะเลี้ยง ปักไว้เป็นเวลา 15 นาที นำແໜແດງไปชั่งน้ำหนักสด บันทึกข้อมูล จากนั้นนำແໜແດງไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส บันทึกข้อมูลน้ำหนักแห้ง

การทดลองที่ 2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ทำการศึกษาอิทธิพลของปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน จำนวน 3 สายพันธุ์ ดังนี้

1. ผลของโซเดียมคลอไรด์ (NaCl)
2. ผลของ pH เริ่มต้น
3. ผลของความเข้มข้นแสง

ตอนที่ 2 การใช้ของเหลือทางการเกษตรในจังหวัดเพชรบูรณ์ เพื่อการผลิตปุ๋ยชีวภาพจากແໜແດງและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

ส่วนที่ 1 การศึกษาสูตรปุ๋ยชีวภาพที่ทำจากແໜແດງและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

1.1 การผสมสูตรปุ๋ยชีวภาพที่ทำจากແໜແດງและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน นำวัสดุอินทรีย์ที่คัดเลือกแล้ว ได้แก่ ฟางข้าว , เศษผัก , ก้านยาสูบ , ชั่งข้าวโพด มาผสมกับมูลไก่ , กากน้ำตาล , สารเร่งการสลายตัว (EM)

1.2 วิธีการตั้งกองปุ๋ย

- 1) นำวัสดุผสมที่เตรียมไว้มาผสมกันจนหมด รดน้ำให้ชุ่มแล้วคลุมกองปุ๋ยด้วยพลาสติก
- 2) เมื่อกองปุ๋ยได้ระยะหนึ่งแล้วให้ทำการกลับกองปุ๋ย เพื่อให้วัสดุผสมเกิดการสลายตัวได้อย่างทั่วถึง

โดยวิธีผสมปุ๋ยจะผสมตามอัตราส่วนดังตารางที่

3.1

ตารางที่ 3.1 การผสมสูตรปุ๋ยชีวภาพที่ทำจากແໜແດງและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

ตัวอย่าง	อัตราส่วน (กรัม)								
	ແໜ	สาหร่าย	ฟาง	เศษผัก	ก้าน	ชั่ง	มูลไก่	กากน้ำตาล	EM

	แดง		ข้าว		ยาสูบ	ข้าวโพด			
1	200	-	600	200	-	-	600	600	0.02
2	200	-	600	-	200	-	600	600	0.02
3	200	-	600	-	-	200	600	600	0.02
4	-	200	600	200	-	-	600	600	0.02
5	-	200	600	-	200	-	600	600	0.02
6	-	200	600	-	-	200	600	600	0.02

หมายเหตุ สำหรับยีสี่เขียวแถมน้ำเงินนำมาคลุกภายหลังจากกระบวนการหมักสิ้นสุดลงแล้ว

ส่วนที่ 2 การศึกษาสมบัติทางกายภาพของปุ๋ยชีวภาพจากเห็ดแดงและปุ๋ยชีวภาพจากสาหร่าย
สีเขียวแถมน้ำเงิน

2.1 ความชื้น

โดยในการวิจัยนี้จะทำการอบตัวอย่างปุ๋ยชีวภาพที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส
เป็นเวลานาน 6 ชั่วโมง

2.2 ปริมาณสารระเหยได้

โดยในการวิจัยนี้จะทำการเผาตัวอย่างปุ๋ยชีวภาพที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส
โดยเพิ่มอุณหภูมิให้ถึง 500 องศาเซลเซียส แล้วเผาท่อนาน 10 นาที

2.3 เถ้าและคาร์บอนคงตัว

เถ้าและคาร์บอนคงตัวสามารถคำนวณได้เมื่อทำการเผาตัวอย่างปุ๋ยที่อุณหภูมิ
950 องศาเซลเซียส โดยเพิ่มอุณหภูมิให้ถึง 950 องศาเซลเซียส แล้วเผาท่อนาน 10 นาที

2.4 คาร์บอนที่เป็นสารอินทรีย์

โดยการคำนวณปริมาณคาร์บอนที่เป็นสารอินทรีย์ได้จากการคำนวณต่อไปนี้
การคำนวณ

$$\% \text{สารอินทรีย์} = 100 - (\% \text{ความชื้น} + \% \text{เถ้า})$$

2.5 ความเป็นกรด-เบส (pH)

pH เป็นค่าบ่งบอกระดับความเป็นกรด (ไม่ใช่ปริมาณความเป็นกรด) ถ้าเข้มข้น
มากก็มีระดับความเป็นกรดมากหรือถ้าเจือจางก็มีระดับความเป็นกรดต่ำ

2.6 อุณหภูมิ

อุณหภูมิเป็นตัวแปรที่สำคัญในการประเมินคุณภาพและควบคุมการผลิตปุ๋ยชีวภาพ โดยในการวิจัยนี้ได้ทำการวัดอุณหภูมิขณะหมักปุ๋ยสัปดาห์ละ 1 ครั้ง

2.7 อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนกับไนโตรเจน (C/N ratio)

(C/N ratio) เป็นตรรกะที่สำคํญสำหรับการทำปุ๋ย โดยนำไปพิจารณาการได้มาของปุ๋ยและช่วยควบคุมอัตราการย่อยสลายระหว่างการหมักปุ๋ย

ส่วนที่ 3 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารของปุ๋ยชีวภาพจากແນແດງและปุ๋ยชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

3.1 การวิเคราะห์ไนโตรเจน (คณะกรรมการปรับปรุงมาตรฐานการวิเคราะห์ดิน พืช น้ำ และปุ๋ยเคมี, 2536)

วิธีการทดลอง

1) การย่อยตัวอย่างปุ๋ย : ชั่งตัวอย่างปุ๋ย 1 กรัมแล้วบดให้ละเอียดด้วยถ้วยบดสาร ใส่ใน Kjeldahl flask ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน catalyst ประมาณ 1 กรัม แล้วเติม conc. H_2SO_4 ปริมาณ 10-20 มิลลิลิตร ลงไปพร้อมทั้งเขย่าขวดเบา ๆ เพื่อให้ตัวอย่างกับกรดผสมเข้าด้วยกัน นำไปวางบนเตาย่อยด้วยไฟอ่อน ๆ ในระยะแรกแล้วเพิ่มไฟให้แรงขึ้น เมื่อของเหลวในขวดมีสีเริ่มใสให้ตั้งต่อไปอีกประมาณ 5-10 นาทีจึงยกขวดลงจากเตาย่อย ปล่อยให้ขวดค่อย ๆ เย็นลง รินน้ำกลั่นลงไปในขวดประมาณ 10-20 มิลลิลิตร ของเหลวในขวดจะร้อนขึ้นปล่อยให้ของเหลวเย็นลงแล้วถ่ายลงในขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร เมื่อของเหลวเย็นลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าขวดแล้วทิ้งไว้ให้ตกตะกอน นำของเหลวใสข้างบนไปทำการกลั่น ในการวิเคราะห์ทุกครั้งจะต้องมี blank ของตัวอย่างด้วยทุกครั้ง

2) การกลั่น : รินน้ำยา H_3BO_3 5.0 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปวางที่ใต้ก้าน condenser ของเครื่องกลั่น แล้วใช้ปิเปตดูดสารละลายที่ย่อยได้ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ลงใน distillation flask เติมน้ำยา NaOH จำนวน 30 มิลลิลิตร ลงไปกลั่นจนได้ของเหลวในขวดรูปชมพู่มีสีเขียวประมาณ 35 มิลลิลิตร

3) การไตเตรต : ไตเตรตของเหลวที่กลั่นได้ด้วย standard H_2SO_4 สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วงแดง ที่จุดเริ่มสีม่วงแดงนี้จะเป็นจุด end point บันทึกปริมาตรของกรดที่ใช้ในการไตเตรต Blank และตัวอย่าง

3.2 การวิเคราะห์ฟอสฟอรัส (คณะกรรมการปรับปรุงมาตรฐานการวิเคราะห์ดิน พืช น้ำ และปุ๋ยเคมี, 2536)

วิธีการทดลอง

- 1) ชั่งปุ๋ยซึ่งบดผ่านตะแกรงร่อนขนาด 2 มิลลิเมตรหนัก 1 กรัม ใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำยาสกัด 10 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 40 วินาที แล้วกรองทันทีด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1
- 2) ปิเปตสารละลายที่กรองได้ 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร แล้วเติม Ascorbic acid solution 5 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 25 มิลลิลิตร เขย่าสารละลายให้เข้ากัน ทิ้งไว้อย่างน้อย 10 นาที จะได้สารละลายสีน้ำเงิน (สีจะคงที่นาน 24 ชั่วโมง)
- 3) เตรียม Standard solution ความเข้มข้น 1, 2, 4, 6, 8 และ 10 ppm จาก Stock standard solution โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นละ 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร เขย่าสารละลายให้เข้ากัน ทิ้งไว้อย่างน้อย 10 นาที จะได้สารละลายสีน้ำเงิน (สีจะคงที่นาน 24 ชั่วโมง)
- 4) นำสารละลายของปุ๋ยไปวัดเทียบสีกับ Standard solution ด้วยเครื่อง UV/Vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 825 nm

3.3 การวิเคราะห์โพแทสเซียม (คณะกรรมการปรับปรุงมาตรฐานการวิเคราะห์ดิน พืช น้ำ และปุ๋ยเคมี, 2536)

วิธีการทดลอง

- 1) ชั่งตัวอย่างปุ๋ยซึ่งบดผ่านตะแกรงร่อนขนาด 2 มิลลิเมตร จำนวน 5 กรัม ใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 125 มิลลิลิตร
- 2) เติมน้ำยาสกัด NH_4OAc ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ปิดจุกยางเขย่าด้วยเครื่องเขย่านาน 30 นาที แล้วนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1
- 3) เตรียม standard solution 1, 2, 4, 6, 8 และ 10 ppm K จาก stock standard solution 1,000 ppm K
- 4) นำสารละลายที่กรองได้ไปวัดเทียบความเข้มข้นกับ Standard solution ด้วยเครื่อง Atomic absorption spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 768 nm

3.2 การเก็บรวบรวมข้อมูล

1) การวัดความหนาแน่นของเซลล์ (Optical density, O.D.)

นำตัวอย่างที่เก็บมาวัด O.D. ที่ความยาวคลื่น 900 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาอัตราการเจริญ (specific growth rate, μ) ดังนี้

$$\ln X_t/X_0 = \mu t$$

เมื่อ X_0, X_t = ปริมาณของมวลชีวภาพวัดที่เวลา 0 และ t

T = เวลาที่อยู่ระหว่าง 0 กับ t

2) การวิเคราะห์น้ำหนักแห้ง

นำสารยาสีเขียวแถมน้ำเงินที่เพาะเลี้ยงมาจำนวน 20 มิลลิลิตร กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman ก่อนการกรรอนำกระดาษกรองไปอบในตู้อบที่ 60 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ น้ำหนักแห้งหาได้จากผลต่างระหว่างน้ำหนักกระดาษก่อนและหลังการกรอง

3.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูล โดยวิธีเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple new rang test (DMRT)

3.4 สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการชั้น 4 อาคารสิรินธร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

3.5 ระยะเวลาทำการทดลอง

เมษายน – ตุลาคม 2554

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

ตอนที่ 1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเห่นแดงและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเพื่อเพิ่มผลผลิตข้าว

การทดลองที่ 1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเห่นแดง

เมื่อเพาะเลี้ยงเห่นแดงในสภาพกลางแจ้ง เป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่า เห่นแดงที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ 10 มีการเจริญเติบโตมากที่สุด (4.75 ± 0.53 กรัมต่อหน่วยทดลอง) รองลงมา คือ สูตรอาหารที่ 8 (4.54 ± 0.41 กรัมต่อหน่วยทดลอง) ส่วนเห่นแดงที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ 5 มีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด (3.31 ± 0.76 กรัมต่อหน่วยทดลอง) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติ พบว่า เห่นแดงที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร 1 , 2 , 4 และสูตรอาหาร 6 - 10 มีการเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเวลาผ่านไป 2 สัปดาห์ พบว่า เห่นแดงที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ 2 มีการเจริญเติบโตมากที่สุด (8.71 ± 2.32 กรัมต่อหน่วยทดลอง) รองลงมา คือ สูตรอาหารที่ 1 (7.80 ± 1.92 กรัมต่อหน่วยทดลอง) ส่วนเห่นแดงที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ 5 มีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด (3.95 ± 0.91 กรัมต่อหน่วยทดลอง) ในสัปดาห์ที่ 3 - 4 พบว่า เห่นแดงที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ 2 มีการเจริญเติบโตมากที่สุด (16.00 ± 3.00 และ 23.06 ± 6.42 กรัมต่อหน่วยทดลอง ตามลำดับ) และในสูตรอาหารที่ 5 เห่นแดงยังคงมีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด (5.45 ± 1.53 และ 6.59 ± 2.08 กรัมต่อหน่วยทดลอง ตามลำดับ) ดังแสดงในตารางที่ 4.1 ซึ่งแตกต่างจากซึ่งจากการทดลองของ Arora และ Singh (2003) พบว่า *A.microphylla* มีมวลน้ำหนักสดสูงสุด 5.86 กรัม โดยใช้เวลาในการเพิ่มมวลชีวภาพเป็นสองเท่าในช่วงเวลาสั้นที่สุด คือ 5.4 วัน อีกทั้งยังสามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาวะที่มีฟอสฟอรัสตั้งแต่ $1-20 \text{ mg kg}^{-1}$ (Arora and Saxena, 2005) และจากการทดลองของ Boonkerd et al. (n.d.) ที่ศูนย์วิจัยข้าวขอนแก่น พบว่า *A.microphylla* มีค่าน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ช่วงเวลาที่ใช้ในการเพิ่มมวลชีวภาพเป็น 2 เท่า สูงสุด คือ 1,866, 112.6 g m^{-2} และ 3.5 วัน ตามลำดับ และจากการทดลองของ Adhikary et al. (1977) พบการเพิ่มมวลชีวภาพสดและแห้งต่อวันมีค่าเฉลี่ย 97.6 และ 7.31 kg rai^{-1} ตามลำดับ ในขณะที่ ประพิศ และ พิชิต (2536) ได้ทำการทดลองนำเห่นแดงมาใช้ในการปรับปรุงดินเพื่อศึกษาระยะเวลาและอัตราการปลดปล่อยไนโตรเจน โดยทำการคลุกเห่นแดง(*A.microphylla*) อัตรา $3,000 \text{ kg rai}^{-1}$ ในดินนา พบว่า ดินชุดรังสิต มีการปลดปล่อยไนโตรเจน สูงสุด 7.4 kg rai^{-1} หลังจากคลุกในดิน 6 สัปดาห์ ส่วนดินชุดร้อยเอ็ด ปลดปล่อยไนโตรเจนสูงสุด 2.2 kg rai^{-1} ในสัปดาห์ที่ 3 หลังการคลุกลงไปดิน ซึ่งอัตราดังกล่าวเป็นการใช้เห่นแดงในอัตราสูง เกษตรกรจำเป็นจะต้องมีพื้นที่ในการเพาะเลี้ยงเห่นแดงก่อนการนำมาใช้ประโยชน์

ตารางที่ 4.1 อัตราการเจริญ ของแหนแดง (*Azolla* sp.) ระหว่างสัปดาห์ที่ 1-4

ดำรับ การทดลอง	อัตราการเจริญ (กรัม) ^{1/}			
	1	2	3	4
1	4.04±0.86 ^{ab}	7.80±1.92 ^{ab}	13.95±3.55 ^a	16.90±3.20 ^b
2	3.81±0.60 ^{ab}	8.71±2.32 ^a	16.00±3.00 ^a	23.06±6.42 ^a
3	3.49±0.19 ^b	6.39±1.32 ^{ab}	10.24±2.49 ^b	14.96±4.80 ^{bc}
4	4.00±0.72 ^{ab}	5.49±1.25 ^{bc}	8.51±0.70 ^{bc}	11.40±1.04 ^{cd}
5	3.31±0.76 ^b	3.95±0.91 ^c	5.45±1.53 ^c	6.59±2.08 ^d
6	4.44±0.20 ^a	5.74±0.72 ^{bc}	6.74±1.61 ^{bc}	8.29±0.91 ^d
7	4.48±0.54 ^a	6.52±0.25 ^{ab}	7.97±0.38 ^{bc}	10.60±1.44 ^{cd}
8	4.54±0.41 ^a	6.43±0.34 ^{ab}	8.06±1.25 ^{bc}	11.04±1.95 ^{cd}
9	4.14±0.25 ^{ab}	6.63±0.89 ^{ab}	8.41±0.92 ^{bc}	10.44±1.17 ^{cd}
10	4.75±0.53 ^a	6.79±0.68 ^{ab}	7.84±0.85 ^{bc}	9.25±0.87 ^d
Mean	4.10±0.60	6.44±1.60	9.32±3.52	12.25±2.28
F-test	*	*	*	*

หมายเหตุ * แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

^{1/}ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เมื่อเพาะเลี้ยงแหนแดงในสภาพกลางแจ้ง เป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่า แหนแดงที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ 2 มีการเจริญเติบโตมากที่สุด (28.94±5.14 กรัมต่อหน่วยทดลอง) รองลงมา คือ สูตรอาหารที่ 3 (20.27±7.02 กรัมต่อหน่วยทดลอง) ส่วนแหนแดงที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ 5 มีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด (8.34±3.89 กรัมต่อหน่วยทดลอง) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติ พบว่า แหนแดงที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารต่างกัน มีการเจริญเติบโตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเวลาผ่านไป 6 สัปดาห์ พบว่า แหนแดงที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ 2 มีการเจริญเติบโตมากที่สุด (38.01±8.15 กรัมต่อหน่วยทดลอง) รองลงมา คือ สูตรอาหารที่ 3 (32.35±12.20 กรัมต่อหน่วยทดลอง) ส่วนแหนแดงที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ 5 มีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด (9.00±1.44 กรัมต่อหน่วยทดลอง)

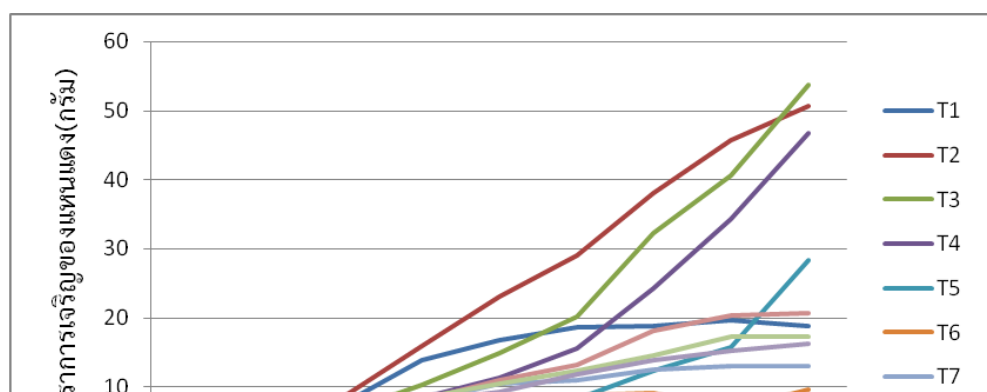
ทดลอง) ในสัปดาห์ที่ 7 - 8 พบว่า แหนแดงที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ 2 มีการเจริญเติบโตมากที่สุด (45.66 ± 6.92 และ 53.71 ± 7.25 กรัมต่อหน่วยทดลอง ตามลำดับ) และในสูตรอาหารที่ 5 แหนแดงยังคงมีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด (6.68 ± 5.75 และ 9.57 ± 1.73 กรัมต่อหน่วยทดลอง ตามลำดับ) ดังแสดงในตารางที่ 4.2 เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติ พบว่า แหนแดงที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารต่างกัน มีการเจริญเติบโตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 4.2 อัตราการเจริญ ของแหนแดง (*Azolla* sp.) ระหว่างสัปดาห์ที่ 5-8

ลำดับ การทดลอง	อัตราการเจริญ (กรัม) ^{1/}			
	5	6	7	8
1	18.65 ± 3.52^{bc}	18.90 ± 4.06^{cd}	19.75 ± 4.33^{bc}	18.85 ± 4.78^{bc}
2	28.94 ± 5.14^a	38.01 ± 8.15^a	45.66 ± 6.92^a	53.71 ± 7.25^a
3	20.27 ± 7.02^b	32.35 ± 12.20^{ab}	40.59 ± 12.32^a	50.60 ± 7.71^a
4	15.60 ± 2.20^{bcd}	24.23 ± 4.28^{bc}	34.33 ± 6.34^a	46.79 ± 3.21^a
5	8.34 ± 3.89^e	9.00 ± 1.44^d	6.68 ± 5.75^c	9.57 ± 1.73^c
6	8.80 ± 1.10^e	12.46 ± 7.56^{cd}	15.72 ± 9.03^{bc}	28.41 ± 15.34^b
7	11.12 ± 1.14^{de}	12.61 ± 0.69^{cd}	13.10 ± 0.75^{bc}	13.09 ± 1.30^c
8	13.15 ± 3.03^{cde}	18.18 ± 7.54^{cd}	20.32 ± 9.64^b	20.69 ± 9.57^{bc}
9	12.35 ± 1.76^{cde}	14.56 ± 3.27^{cd}	17.20 ± 5.52^{bc}	17.20 ± 5.37^{bc}
10	11.76 ± 1.56^{de}	13.81 ± 1.70^{cd}	15.12 ± 1.56^{bc}	16.19 ± 1.62^{bc}
Mean	14.90 ± 6.73	19.41 ± 10.42	22.85 ± 13.70	27.51 ± 17.06
F-test	*	*	*	*

หมายเหตุ * แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

^{1/}ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 4.1 อัตราการเจริญของแหนแดง (*Azolla* sp.) ระหว่างสัปดาห์ที่ 5-8

ตารางที่ 4.3 น้ำหนักแห้ง ของแหนแดง (*Azolla* sp.)

ดำรับการทดลอง	น้ำหนักแห้ง (กรัม) ^{1/}
1	1.13±0.29 ^{cd}
2	2.17±0.53 ^a
3	2.15±0.55 ^a
4	1.79±0.13 ^{ab}
5	0.45±0.10 ^e
6	1.47±0.29 ^{bc}
7	0.48±0.15 ^e
8	0.73±0.41 ^{de}
9	0.66±0.31 ^{de}
10	0.63±0.11 ^{de}
Mean	1.16±0.71
F-test	*

หมายเหตุ * แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

^{1/}ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เมื่อเวลาผ่านไป 8 สัปดาห์ นำແທນແດງໄປອບທີ່ອຸໂມງມີ 60 ອງສາເສລເຊຍສ ຈນນ້ຳພັກກະຕິ ພົບວ່າ ແທນແດງທີ່ເພາະເລີຍໃນສູຕຣາອາຫານທີ່ 2 ມີການເຈຣິຍູເຕີບໂຕມາກທີ່ສຸດ (2.17 ± 0.53 ກຣັມ) ຮອດລຸ່ມ ຄື ສູຕຣາອາຫານທີ່ 3 (2.15 ± 0.55 ກຣັມ) ສ່ວນແທນແດງທີ່ເພາະເລີຍໃນສູຕຣາອາຫານທີ່ 5 ມີການເຈຣິຍູເຕີບໂຕນ້ອຍທີ່ສຸດ (0.45 ± 0.10 ກຣັມ) ເມື່ອເບີຍົບເທິຍົບຄວາມແຕກຕ່າງທາງສະຖິຕິ ພົບວ່າ ແທນແດງທີ່ເພາະເລີຍໃນສູຕຣາອາຫານ ຕ່າງກັນ ມີການເຈຣິຍູເຕີບໂຕແຕກຕ່າງກັນອ່າຍນ້ຳສຳຄັນທາງສະຖິຕິທີ່ຣະດັບຄວາມເຊື່ອມັ້ນ 95% ໃນອາຫານ ເພາະເລີຍສູຕຣາທີ່ 5 ແທນແດງມີອັຕຣາການເຈຣິຍູເຕີບໂຕນ້ອຍທີ່ສຸດ ດັ່ງແສດງໃນຕາຣາງທີ່ 4.3 ເນື່ອງມາຈາກໃນ ອາຫານເພາະເລີຍສູຕຣາທີ່ 5 ນັ້ນມີປຣິມາຣາຕູອາຫານມາກເກີນໄປ ໂດຍພິເສດ $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPase ຢູ່ທີ່ເຍື່ອຫຸ້ມເສລັ ແລະເຍື່ອ Tonoplast (Taiz and Zeiger, 1991) ທຳພຳທີ່ສູບ Na^+ ອອກຈາກ Cytosol ໄປສະສມໄວ້ນອກເສລັ ແລະສູບຈາກ Cytosol ໄປເກັບໄວ້ໃນແວກົວໂອລແລະໃນຂະນະເດີຍວກັນກໍສູບ K^+ ເຂົ້າສູ່ Cytosol (Wolfe, 1995) ທຳ ໃຫ້ມີປຣິມາຣາ K^+ ເພີຍພອຢູ່ຕ່ອລອດເວລາ ຈຶ່ງຣ່ຽກຣະບວນການເມແທບອີເສີມທີ່ສຳຄັນໃນເສລັໄດ້ ເຊັ່ນ K^+ ຮວມຕົວ ກັບ Calmodulin ຣ່ຽກການທຳງານຂອງເອນໄຊມຫຼາຍຂົນຕີທີ່ຄວບຄຸມກະບວນການສັງເກຣາະທ້ດ້ວຍແສງແລະ ກະບວນການຫາຍໃຈ ການສັງເກຣາະທ້ໂປຣຕີນແລະແປັງ (Hopkins, 1995) ຄວບຄຸມແຣງດັນອອສໂມຊີສຂອງເສລັ (Moore, Clark and Stern, 1995) ໃນຂະນະເດີຍວກັນປຣິມາຣາ Mg^{2+} ທີ່ສະສມກໍມີບຳພາດໃນການສ້າງ ຄລອຣໂຟຣີລ ທຳໃຫ້ໂຣໂບໄຊມມີໂຄຣງສ້າງເສຣີຍຣາພ ທຳພຳທີ່ກະຕຸ້ນການທຳງານຂອງເອນໄຊມພວກ Ribulose biphosphate carboxylase ແລະ Phosphoenolpyruvate Carboxylase (Hopkins, 1995) ທຳໃຫ້ພິເສດເຈຣິຍູເຕີບໂຕໄດ້ດີ ແຕ່ຖ້າມີປຣິມາຣາມາກເກີນໄປຈະຖືກສະສມໃນຮູບຂອງເກຣືອນິນທຣີໄວ້ໃນ ແວກົວໂອລ ຈຶ່ງໄດ້ມີຜົນຕໍ່ການເຈຣິຍູເຕີບໂຕຂອງພິເສດ

ກຣາຟຕອດງທີ່ 2 ການສຶກສາສະຖາະທີ່ເໝາະສມຕໍ່ການເຈຣິຍູຂອງສາຫຼ່າຍສີເຊີຍແກມນ້ຳເຈີນ

ຈາກການສຶກສາການເຈຣິຍູຂອງສາຫຼ່າຍສີເຊີຍແກມນ້ຳເຈີນ ຈຳນວນ 3 ສາຍພັນຸ້ ຕາຣາງທີ່ 4.4 ໂດຍ ພິຈາຣາອັຕຣາການເຈຣິຍູ (specific growth rate, μ , day^{-1}) ແລະນ້ຳພັກແຫ້ງ ພົບວ່າ ມີຄວາມແຕກຕ່າງທາງ ສະຖິຕິຮ່ວງສາຍພັນຸ້ອ່າຍນ້ຳສຳຄັນທາງສະຖິຕິ ທີ່ຣະດັບຄວາມເຊື່ອມັ້ນ 95% ໂດຍສາຍພັນຸ້ *Nostoc* sp. ມີອັຕຣາການເຈຣິຍູມາກທີ່ສຸດເທົ່າກັບ 0.431μ , day^{-1} ຮອດລຸ່ມ ຄື ສາຍພັນຸ້ *Anabaena* sp. ແລະ *Calothrix* sp. ຕາມລຳດັບ ໂດຍມີອັຕຣາການເຈຣິຍູເທົ່າກັບ 0.387 ແລະ 0.293μ , day^{-1} ຕາມລຳດັບ ຈຶ່ງຜົນກຣາຟຕອດງທີ່ໄດ້ ຂັດແຍັງກັບຣາຍງານຂອງ Antarikanonda and Lorenzen (1983) ຈຶ່ງສຶກສາການເຈຣິຍູເຕີບໂຕຂອງໄຊຍາໂນ ແບກຕີເຣີຍຈາກນາຂ້າວໃນຫ້ອງປູບັດິການ ພົບວ່າ *Anabaena* sp. ມີ doubling time (5-8 ຂ້ວໂມງ) ນ້ອຍກວ່າ *Nostoc* sp. ແລະ *Fischerella* (12-14 ຂ້ວໂມງ) Boussiba (1995) ພົບວ່າ *Anabaena azollae* ເປັນ ໄຊຍາໂນແບກຕີເຣີຍສາຍພັນຸ້ທີ່ສາມາດເຈຣິຍູໄດ້ເຣີວ ($\mu=0.0675 \text{ hr}^{-1}$, doubling time = 10.2 hr) Antarikanonda and Sassanarakkit (1995) ໄດ້ທຳການຄັດເລືອກໄຊຍາໂນແບກຕີເຣີຍ 254 ສາຍພັນຸ້ໃນ 14 ສກຸລ ພົບໄຊຍາໂນແບກຕີເຣີຍສກຸລ *Calothrix* , *Anabaena* , *Hapalosiphon* ແລະ *Nostoc* ຈຶ່ງມີຄ່າຄຸງທີ່

การเจริญ (specific growth constant) เท่ากับ 0.28 , 0.20 , 0.39 และ 0.30 μ , day⁻¹ ตามลำดับ doubling time เท่ากับ 28 , 38 , 19 และ 24 ชั่วโมงตามลำดับ O.D.(optical density) อยู่ในช่วง 0.13 , 0.05 , 0.20 และ 0.09 μ , day⁻¹ ตามลำดับ มาริชา (2547) ได้คัดเลือกไซยาโนแบคทีเรียที่มีอัตราการเจริญและให้อัตราการตรึงไนโตรเจนสูงจากจำนวน 67 สายพันธุ์สามารถคัดเลือกได้ 9 สายพันธุ์ คือ N23 , H1 , ANCG1064 , ANCG1346 , ANCG1835 , ANCG718 , ANCG564 , ANCG707 และ ANCG750 ซึ่งมีอัตราการตรึงไนโตรเจนอยู่ในช่วง 97.596-401.142 μ mol N ml⁻¹ culture h⁻¹ ตามลำดับ

ตารางที่ 4.4 อัตราการเจริญ และน้ำหนักแห้งของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน จำนวน 3 สายพันธุ์

สายพันธุ์	อัตราการเจริญ ^{1/} (μ , day ⁻¹)	น้ำหนักแห้ง (กรัม/ลิตร)
<i>Anabaena</i> sp.	0.387±0.001 ^b	1.713±0.001 ^a
<i>Nostoc</i> sp.	0.431±0.000 ^a	1.538±0.001 ^b
<i>Calothrix</i> sp.	0.293±0.001 ^c	0.951±0.001 ^c
Mean	0.370±0.061	1.401±0.345
F-test	*	*

หมายเหตุ * แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันในแนวดิ่ง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากการทดลองเพื่อหาน้ำหนักแห้งของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจำนวน 3 สายพันธุ์ ตารางที่ 4.4 พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยสายพันธุ์ *Anabaena* sp. มีค่าน้ำหนักแห้งสูงที่สุดเท่ากับ 1.713 กรัม/ลิตร รองลงมา คือ สายพันธุ์ *Nostoc* sp. และ *Calothrix* sp. ตามลำดับ โดยมีน้ำหนักแห้งเท่ากับ 1.538 และ 0.951 กรัม/ลิตร จากลักษณะของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่เหมาะสมจะนำมาทำเป็นปุ๋ยชีวภาพนั้นต้องมีอัตราการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว และสามารถเพาะเลี้ยงได้ในปริมาณมาก มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน สามารถปลดปล่อยสารกระตุ้นการเจริญเติบโตและสารประกอบไนโตรเจนซึ่งพืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ทนต่อความแห้งแล้ง และสามารถตรึงไนโตรเจนได้ที่มีความชื้นหลายระดับ และมีความคงทนต่อสารเคมีทางการเกษตร (ธงชัย, 2546) ซึ่งสอดคล้องกับมาริชา (2547) ศึกษาการเจริญโดยพิจารณาอัตราการเจริญ น้ำหนักแห้ง และอัตราการตรึงไนโตรเจนของไซยาโนแบคทีเรียจำนวน 14 สายพันธุ์ ได้แก่ H1 , N23 , ANCG564 , ANCG265 , ANCG39 , ANCG707 , ANCG718 , ANCG750 , ANCG1064 , ANCG1346 , ANCG1711 , ANCG1835 , ANCG3113 และ ANCG3183 พบว่ามีไซยาโนแบคทีเรีย 9 สายพันธุ์ที่มีอัตราการเจริญและอัตราการตรึงไนโตรเจนที่สูง ได้แก่ H1 , N23 , ANCG564 , ANCG707 , ANCG718 , ANCG750 , ANCG1064 ,

ANCG1346 และ ANCG1835 มีอัตราการเจริญเติบโต และอัตราการตรึงไนโตรเจนสูง (ช่วง 97.596-401.142 $\mu\text{mole N ml}^{-1} \text{ culture h}^{-1}$) Boussiba (1995) พบว่า *Anabaena azollae* เป็นไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ที่เหมาะสม และสามารถนำมาผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพได้

ตารางที่ 4.5 ผลของโซเดียมคลอไรด์ระดับต่าง ๆ ต่ออัตราการเจริญ และน้ำหนักแห้งของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน จำนวน 3 สายพันธุ์

ตำรับการทดลอง	อัตราการเจริญ ^{1/} (μ , day ⁻¹)	น้ำหนักแห้ง (กรัม/ลิตร)
%NaCl		
0	0.37±0.02 ^a	1.02±0.19 ^a
0.5	0.30±0.05 ^b	0.91±0.19 ^{ab}
1.0	0.26±0.04 ^b	0.80±0.23 ^b
1.5	0.19±0.07 ^c	0.48±0.06 ^c
2.0	0.06±0.05 ^d	0.18±0.07 ^d
สายพันธุ์		
<i>Anabaena</i> sp.	0.25±0.08	0.81±0.45
<i>Nostoc</i> sp.	0.26±0.15	0.67±0.30
<i>Calothrix</i> sp.	0.20±0.11	0.56±0.24
Mean	0.24±0.11	0.68±0.34
F-test (NaCl)	*	*
F-test (สายพันธุ์)	ns	ns

หมายเหตุ * แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

^{1/}ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจำนวน 3 สายพันธุ์ที่ระดับโซเดียมคลอไรด์เพื่อศึกษาน้ำหนักแห้ง ตารางที่ 4.5 พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ในสภาวะที่มีโซเดียมคลอไรด์ 0 เปอร์เซ็นต์ ทำให้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีน้ำหนักแห้งมากที่สุด (1.02 กรัม/ลิตร) รองลงมาคือ โซเดียมคลอไรด์ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกับสภาวะที่มีโซเดียมคลอไรด์ 0 เปอร์เซ็นต์ (0.91 กรัม/ลิตร) Ashwani and Rai (2003) ซึ่งพบว่าการเติมโซเดียมคลอไรด์ 20 มิลลิโมลาร์ลงในอาหารเพาะเลี้ยงจะทำให้น้ำหนักแห้งของ *Azolla pinnata* และ *Anabaena azollae* ลดลง

เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักแห้งของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินกับความเค็ม พบว่า ไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ โดยสายพันธุ์ที่มีน้ำหนักแห้งมากที่สุดได้แก่ *Anabaena* sp. เท่ากับ 0.81 กรัม/ลิตร รองลงมาคือ *Nostoc* sp. และ *Calothrix* sp. เท่ากับ 0.67 และ 0.56 กรัม/ลิตร ตามลำดับ

ตารางที่ 4.6 ผลของ pH ระดับ 4.0 , 5.0 , 6.0 , 7.4 และ 8.5 ต่ออัตราการเจริญ และน้ำหนักแห้งของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน จำนวน 3 สายพันธุ์

ดำรับการทดลอง	อัตราการเจริญ ^{1/} (μ , day ⁻¹)	น้ำหนักแห้ง (กรัม/ลิตร)
pH		
4.0	0.30±0.12 ^b	0.36±0.24 ^c
5.0	0.38±0.10 ^{ab}	0.62±0.24 ^{bc}
6.0	0.41±0.07 ^a	1.00±0.23 ^a
7.4	0.43±0.04 ^a	0.96±0.20 ^a
8.5	0.41±0.06 ^a	0.92±0.30 ^{ab}
สายพันธุ์		
<i>Anabaena</i> sp.	0.46±0.02 ^a	0.97±0.18 ^a
<i>Nostoc</i> sp.	0.42±0.05 ^a	0.85±0.39 ^a
<i>Calothrix</i> sp.	0.28±0.08 ^b	0.49±0.22 ^b
Mean	0.38±0.09	0.77±0.34
F-test (pH)	ns	*
F-test (สายพันธุ์)	*	*

หมายเหตุ * แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

^{1/}ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันในแนวดิ่ง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

น้ำหนักแห้งของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเมื่อทำการทดลองตามดำรับข้างต้น พบว่า เมื่อ pH ต่างกันส่งผลให้น้ำหนักแห้งของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ตารางที่ 4.6 เมื่อพิจารณาที่ระดับของ pH ต่อน้ำหนักแห้งของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทั้ง 3 สายพันธุ์ส่วนใหญ่มีน้ำหนักแห้งสูงที่สุดที่ pH 6.0 เท่ากับ 1.00 กรัม/ลิตร ซึ่งใกล้เคียงกับ pH 7.4 และ 8.5 ซึ่งมีน้ำหนักแห้งเท่ากับ 0.96 และ 0.92 กรัม/ลิตร ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาน้ำหนักแห้งของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 3 สายพันธุ์ที่ระดับ pH ต่าง ๆ กัน ตารางที่ 4.6 พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยสายพันธุ์

Anabaena sp. มีน้ำหนักแห้งมากที่สุด เท่ากับ 0.97 กรัม/ลิตร ซึ่งใกล้เคียงกับสายพันธุ์ *Nostoc* sp. มีน้ำหนักแห้งเท่ากับ 0.85 และสายพันธุ์ *Calothrix* sp. มีน้ำหนักแห้งน้อยที่สุด เท่ากับ 0.49 กรัม/ลิตร

ตารางที่ 4.7 ผลของความเข้มแสง 40 , 60 และ 80 $\mu\text{mole quanta cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ต่ออัตราการเจริญของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน จำนวน 3 สายพันธุ์

ค่าการทดลอง	อัตราการเจริญ ^{1/} (μ, day^{-1})	น้ำหนักแห้ง (กรัม/ลิตร)
ความเข้มแสง		
40	0.36±0.05	0.57±0.14 ^b
60	0.37±0.04	0.60±0.11 ^b
80	0.41±0.04	0.90±0.27 ^a
สายพันธุ์		
<i>Anabaena</i> sp.	0.41±0.02 ^a	0.77±0.25 ^a
<i>Nostoc</i> sp.	0.40±0.02 ^a	0.80±0.23 ^a
<i>Calothrix</i> sp.	0.32±0.02 ^b	0.50±0.03 ^b
Mean	0.38±0.04	0.69±0.23
F-test (ความเข้มแสง)	ns	*
F-test (สายพันธุ์)	*	*

หมายเหตุ * แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

น้ำหนักแห้งเมื่อพิจารณาอันดับของความเข้มแสงต่อน้ำหนักแห้งของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 3 สายพันธุ์ พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ตารางที่ 4.7 ที่ความเข้มแสง 80 $\mu\text{mole quanta cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ส่งผลให้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีน้ำหนักแห้งสูงที่สุด เท่ากับ 0.90 กรัม/ลิตร และลดลงเมื่อความเข้มแสงเท่ากับ 60 และ 40 $\mu\text{mole quanta cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ซึ่งมีน้ำหนักแห้งเท่ากับ 0.60 และ 0.57 กรัม/ลิตร ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาผลของความเข้มแสงต่อสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 3 สายพันธุ์ พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ตารางที่ 4.7 สายพันธุ์ *Nostoc* sp. มีน้ำหนักแห้งสูงที่สุด เท่ากับ 0.80 กรัม/ลิตร ใกล้เคียงกับสายพันธุ์ *Anabaena* sp. โดยมีน้ำหนักแห้งเท่ากับ 0.77 กรัม/ลิตร

ตอนที่ 2 การศึกษาสมบัติทางกายภาพของปุ๋ยชีวภาพจากเห็ดแดงและปุ๋ยชีวภาพจาก
สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

ส่วนที่ 1 การศึกษาสูตรปุ๋ยชีวภาพที่ทำจากเห็ดแดงและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

นำวัสดุที่รวบรวมได้ทุกประเภทมาวิเคราะห์ธาตุอาหารหลัก เพื่อใช้ประกอบการเลือกวัสดุ
ที่เหมาะสมในการผลิตปุ๋ย ดังตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 ผลการวิเคราะห์ธาตุอาหารหลักในวัสดุผสม

วัสดุ	% total-N	% P ₂ O ₅	% K ₂ O
ฟางข้าว	0.72	0.10	0.87
แกนข้าวโพด	1.38	0.21	0.34
เศษผัก	5.21	0.14	2.00
ก้านยาสูบ	2.43	0.25	5.54
มูลไก่	1.68	0.64	0.92
กากน้ำตาล	1.00	2.40	0.50

จากการศึกษาและผสมสูตรปุ๋ยชีวภาพจากเห็ดแดงและปุ๋ยชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน
โดยนำวัสดุเหลือใช้ที่เลือก ได้แก่ ฟางข้าว แกนข้าวโพด เศษผัก ก้านยาสูบ มูลไก่ สารเร่งการย่อย
สลายและกากน้ำตาล โดยนำวัสดุดังกล่าวมาผสมกันตามอัตราส่วนที่ต้องการ เรียกว่า วัสดุผสม โดยทำ
การผสมวัสดุเหลือใช้รวมทั้งสิ้น 6 สูตรทดลอง ซึ่งการเลือกวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรดังกล่าวเพื่อ
นำมาใช้ประโยชน์ในการทำปุ๋ยชีวภาพ เนื่องจากในพื้นที่อำเภอหล่มสัก จังหวัดเพชรบูรณ์ มีการทำ
การเกษตรปลูกพืชดังกล่าวมาแล้วมากมาย ดังนั้นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรดังกล่าวถูกทิ้งเรี่ยราดตาม
ถนน ลำคลอง ส่งผลให้เกิดมลภาวะทั้งทางน้ำและทางอากาศ ส่งกลิ่นเหม็นรบกวน ดังนั้นในการวิจัยนี้จึง
ได้นำเอาวัสดุเหลือทิ้งดังกล่าวมาทำให้เกิดประโยชน์โดยการนำมาทำปุ๋ยชีวภาพ เพื่อช่วยขจัดปัญหามลพิษ
ด้านต่าง ๆ และเพื่อลดต้นทุนให้กับเกษตรกร จากตารางจะเห็นว่าเศษผักที่เกษตรกรทิ้งไปนั้นมีธาตุอาหาร

ไนโตรเจนสูงมาก (5.21 เปอร์เซ็นต์) รองลงมาคือ ก้านยาสูบ (2.43 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งแตกต่างกับปริมาณธาตุโพแทสเซียม ที่มีอยู่ในก้านยาสูบสูงที่สุด (5.54 เปอร์เซ็นต์) รองลงมาคือ เศษผัก (2.00 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งจากค่าดังกล่าวจะเห็นได้ว่า ควรมีการส่งเสริมให้เกษตรกรนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรดังกล่าวมาทำปุ๋ยหมักหรือนำไปทิ้งใส่ในพื้นที่ที่ทำการเพาะปลูก เพื่อใช้เป็นปุ๋ยพืชสดไปในตัวจะได้ช่วยเกษตรกรลดต้นทุนการผลิตได้

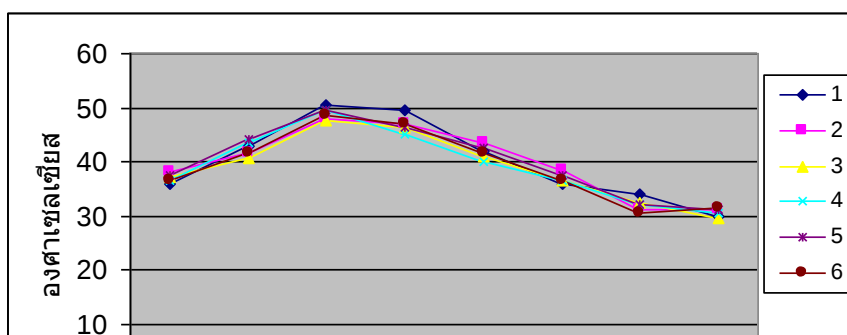
ส่วนที่ 2 การศึกษาสมบัติทางกายภาพของปุ๋ยชีวภาพจากเห็ดนางฟ้าและปุ๋ยชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

2.1 อุณหภูมิ

อุณหภูมิเป็นตัวแปรที่สำคัญในกระบวนการประเมินคุณภาพและควบคุมการผลิตปุ๋ย โดยในการวิจัยนี้ได้ทำการวัดอุณหภูมิขณะทำการหมักปุ๋ยสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ดังตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 อุณหภูมิที่เกิดขึ้นในการหมักปุ๋ยชีวภาพ

ตัวอย่าง	สัปดาห์ที่ (°C)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	36.0	43.0	50.5	49.5	42.0	36.0	34.0	30.0
2	38.0	41.5	48.0	47.0	43.5	38.5	31.0	31.0
3	37.0	40.5	47.5	46.5	41.0	36.5	32.5	29.5
4	36.5	43.5	49.5	45.0	40.0	36.5	32.0	30.5
5	37.5	44.0	49.5	46.5	42.5	37.5	32.0	31.0
6	36.5	41.5	48.5	47.0	41.5	36.5	30.5	31.5



ภาพที่ 4.1 อุณหภูมิภายในกองปุ๋ย

ภาพที่ 4.2 อุณหภูมิที่เกิดขึ้นในการหมักปุ๋ยชีวภาพ

2.2 สมบัติทางกายภาพของปุ๋ย

ผลการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของปุ๋ยที่ได้จากการหมักที่สมบูรณ์ ดังตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.10 ผลการวิเคราะห์ทางกายภาพของปุ๋ย (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)

ตัวอย่าง	ความชื้น (%)	ปริมาณสาร ระเหยง่าย (%)	ปริมาณเถ้า (%)	คาร์บอน คงตัว (%)	สารอินทรีย์ (%)	pH (25°C)
1	3.46	18.38	74.59	3.57	20.95	8.50
2	3.36	20.24	72.44	3.96	23.20	8.68
3	3.41	20.46	72.56	3.57	23.03	7.89
4	3.52	21.31	71.76	3.41	23.72	8.30
5	3.36	20.29	72.67	3.68	22.97	8.68
6	3.26	21.18	72.12	3.44	23.62	7.57

สมบัติทางกายภาพของปุ๋ยชีวภาพที่ได้ จะเห็นว่า ความชื้นของปุ๋ยที่ได้จากการทดลองจะอยู่ในช่วงร้อยละ 3-4 โดยน้ำหนักแห้ง ปริมาณสารระเหยง่ายของปุ๋ยที่ได้จากการทดลองจะอยู่ในช่วงร้อยละ 20-22 โดยน้ำหนักแห้ง ปริมาณเถ้าของปุ๋ยที่ได้จากการทดลองจะอยู่ในช่วงร้อยละ 71-75 โดยน้ำหนักแห้ง คาร์บอนคงตัวของปุ๋ยที่ได้จากการทดลองจะอยู่ในช่วง ร้อยละ 3.0-4.0 โดยน้ำหนักแห้ง สารอินทรีย์ของปุ๋ยที่ได้จากการทดลองจะอยู่ในช่วงร้อยละ 20-24 โดยน้ำหนักแห้ง และความเป็นกรด-ด่าง ของปุ๋ยที่ได้จากการทดลองจะอยู่ในช่วงร้อยละ 7-9 โดยน้ำหนักแห้ง ซึ่งจากการศึกษาสมบัติต่าง ๆ ดังกล่าวพบว่า สมบัติที่ดีเมื่อเปรียบเทียบกับปุ๋ยชีวภาพมาตรฐาน

ส่วนที่ 3 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารของปุ๋ยชีวภาพจากเห็ดแดงและปุ๋ยชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

3.1 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารของปุ๋ยชีวภาพจากเห็ดแดงและปุ๋ยชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

จากการวิเคราะห์ไนโตรเจนในปุ๋ยชีวภาพจากเห็ดแดงและปุ๋ยชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่ได้จากการหมัก พบว่า ปริมาณของไนโตรเจน ร้อยละ 2.0-3.0 ซึ่งเมื่อเทียบกับปุ๋ยหมักมาตรฐานที่มีปริมาณไนโตรเจนร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก เห็นได้ว่าปุ๋ยชีวภาพที่ได้จากการทดลองนี้มีปริมาณไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์ได้จริง ดังแสดงในตารางที่ 4.4

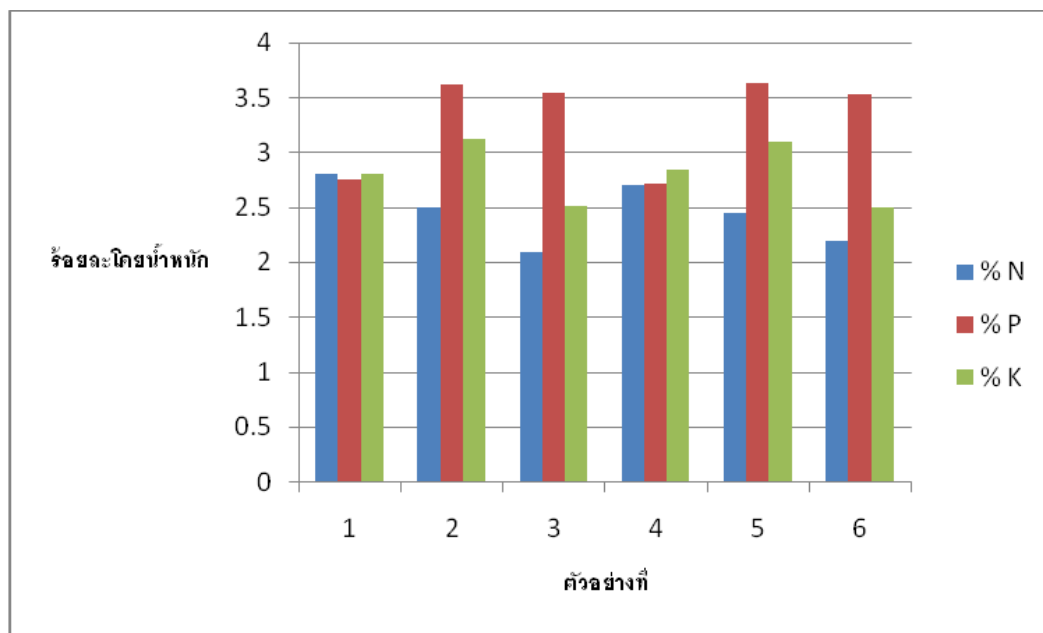
ผลจากการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสในปุ๋ยชีวภาพจากเห็ดแดงและปุ๋ยชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่ได้จากการหมัก พบว่า มีปริมาณฟอสฟอรัส ร้อยละ 2.50-3.70 โดยน้ำหนัก ซึ่งเมื่อเทียบกับปุ๋ยหมักมาตรฐานที่มีปริมาณฟอสฟอรัส ร้อยละ 0.35 โดยน้ำหนัก เห็นได้ว่าปุ๋ยชีวภาพที่ได้จากการทดลองนี้มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์ได้จริง ดังแสดงในตารางที่ 4.11

จากผลการวิเคราะห์โพแทสเซียมในปุ๋ยชีวภาพจากเห็ดแดงและปุ๋ยชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่ได้จากการหมัก พบว่า มีปริมาณโพแทสเซียม ร้อยละ 2.50-3.20 โดยน้ำหนัก ซึ่งเมื่อเทียบกับ ปุ๋ยหมักมาตรฐานที่มีปริมาณโพแทสเซียม ร้อยละ 1.5 โดยน้ำหนัก เห็นได้ว่าปุ๋ยชีวภาพที่ได้จากการทดลองนี้มีปริมาณโพแทสเซียมที่เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์ได้จริง ดังแสดงในตารางที่ 4.11

ตารางที่ 4.11 ผลการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารของปุ๋ยชีวภาพจากเห็ดแดงและปุ๋ยชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

ตัวอย่าง	% total-N	% P ₂ O ₅	% K ₂ O
1	2.80	2.75	2.80
2	2.50	3.62	3.12

3	2.10	3.54	2.51
4	2.70	2.72	2.85
5	2.45	3.63	3.10
6	2.20	3.53	2.50



ภาพที่ 4.3 ปริมาณธาตุอาหารของปุ๋ยชีวภาพจากเห็ดแดงและปุ๋ยชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

จากการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารของปุ๋ยชีวภาพจากเห็ดแดงและปุ๋ยชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน พบว่า ปุ๋ยที่ได้จากการทดลองมีปริมาณธาตุอาหารหลัก คือ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม มากเพียงพอเมื่อเปรียบเทียบกับปุ๋ยหมักมาตรฐานที่มีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม เฉลี่ยเท่ากับ ร้อยละ 1.0, 0.35 และ 1.50 โดยน้ำหนักตามลำดับ โดยที่ปุ๋ยชีวภาพที่ได้จากการทดลองมีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม เฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 2.0-3.0 , 2.50-3.70 และ 2.50-3.20 โดยน้ำหนักตามลำดับ อีกทั้งยังมีธาตุอาหารรองอื่น ๆ เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม แมงกานีส เหล็ก และโบรอนที่จำเป็นสำหรับพืช และในปุ๋ยดังกล่าวที่ได้จากการทดลองได้มีการเพิ่มจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์และสามารถนำไนโตรเจนที่อยู่ในอากาศมาใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อพืชอีกด้วย

3.2 อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจน (C/N ratio)

อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจนเทียบได้จากปริมาณคาร์บอนคงตัวกับปริมาณไนโตรเจนในปุ๋ยชีวภาพ ผลการวิเคราะห์ที่ได้แสดงในตารางที่ 4.12

ตารางที่ 4.12 อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจน (C/N ratio)

ตัวอย่าง	C/N ratio
1	1.27
2	1.58
3	1.70
4	1.26
5	1.50
6	1.56

จากผลการวิเคราะห์อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจนเทียบได้จากปริมาณคาร์บอนคงตัวกับปริมาณไนโตรเจนในปุ๋ยชีวภาพ พบว่า จะอยู่ในช่วง 1.20-1.70 ต่อ 1 ส่วน โดยเมื่อเปรียบเทียบกับปุ๋ยหมักมาตรฐานที่จะต้องม้อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจนต่ำกว่า 20 : 1 และถ้าอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนกับไนโตรเจนยิ่งมีค่าต่ำยิ่งดี สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้จริง

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

ตอนที่ 1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเห็ดนางฟ้าและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเพื่อเพิ่มผลผลิตข้าว

การทดลองที่ 1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเห็ดนางฟ้า

เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดนางฟ้าในสภาพกลางแจ้ง เป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่า เห็ดนางฟ้าที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ 10 มีการเจริญเติบโตมากที่สุด (4.75 ± 0.53 กรัมต่อหน่วยทดลอง) รองลงมา คือ สูตรอาหารที่ 8 (4.54 ± 0.41 กรัมต่อหน่วยทดลอง) ส่วนเห็ดนางฟ้าที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ 5 มีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด (3.31 ± 0.76 กรัมต่อหน่วยทดลอง) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติ พบว่า เห็ดนางฟ้าที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร 1, 2, 4, 6, 10 มีการเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเวลาผ่านไป 2 สัปดาห์ พบว่า เห็ดนางฟ้าที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ 2 มีการเจริญเติบโตมากที่สุด (8.71 ± 2.32 กรัมต่อหน่วยทดลอง) รองลงมา คือ สูตรอาหารที่ 1 (7.80 ± 1.92 กรัมต่อหน่วยทดลอง) ส่วนเห็ดนางฟ้าที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ 5 มีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด (3.95 ± 0.91 กรัมต่อหน่วยทดลอง) ในสัปดาห์ที่ 3 – 4 พบว่า เห็ดนางฟ้าที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ 2 มีการเจริญเติบโตมากที่สุด (16.00 ± 3.00 และ 23.06 ± 6.42 กรัมต่อหน่วยทดลองตามลำดับ) และในสูตรอาหารที่ 5 เห็ดนางฟ้ายังมีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด (5.45 ± 1.53 และ 6.59 ± 2.08 กรัมต่อหน่วยทดลองตามลำดับ) ในสัปดาห์ที่ 5 พบว่า เห็ดนางฟ้าที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ 2 มีการเจริญเติบโตมากที่สุด (28.94 ± 5.14 กรัมต่อหน่วยทดลอง) รองลงมา คือ สูตรอาหารที่ 3 (20.27 ± 7.02 กรัมต่อหน่วยทดลอง) ส่วนเห็ดนางฟ้าที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ 5 มีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด (8.34 ± 3.89 กรัมต่อหน่วยทดลอง) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติ พบว่า เห็ดนางฟ้าที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารต่างกัน มีการเจริญเติบโตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเวลาผ่านไป 6 สัปดาห์ พบว่า เห็ดนางฟ้าที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ 2 มีการเจริญเติบโตมากที่สุด (38.01 ± 8.15 กรัมต่อหน่วยทดลอง) รองลงมา คือ สูตรอาหารที่ 3 (32.35 ± 12.20 กรัมต่อหน่วยทดลอง) ส่วนเห็ดนางฟ้าที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ 5 มีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด (9.00 ± 1.44 กรัมต่อหน่วยทดลอง) ในสัปดาห์ที่ 7 – 8 พบว่า เห็ดนางฟ้าที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ 2 มีการเจริญเติบโตมากที่สุด (45.66 ± 6.92 และ 53.71 ± 7.25 กรัมต่อหน่วยทดลองตามลำดับ) และในสูตรอาหารที่ 5 เห็ดนางฟ้ายังมีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด (6.68 ± 5.75 และ 9.57 ± 1.73 กรัมต่อหน่วยทดลอง ตามลำดับ) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติ พบว่า เห็ดนางฟ้าที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารต่างกัน มีการเจริญเติบโตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เมื่อเวลาผ่านไป 8 สัปดาห์ นำແຂງໄປທົບທີ່ອຸນຫຼັກ 60 องศาเซลเซียส จนน้ำแห้งที่พบว่า แຂງที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ 2 มีการเจริญเติบโตมากที่สุด (2.17 ± 0.53 กรัม) รองลงมา คือ สูตรอาหารที่ 3 (2.15 ± 0.55 กรัม) ส่วนແຂງที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ 5 มีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด (0.45 ± 0.10 กรัม) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติ พบว่า แຂງที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารต่างกัน มีการเจริญเติบโตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตรที่ 5 แຂงมีอัตราการเจริญเติบโตน้อยที่สุด

การทดลองที่ 2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

จากการศึกษาการเจริญของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน จำนวน 3 สายพันธุ์ โดยพิจารณาอัตราการเจริญ (specific growth rate, μ , day^{-1}) น้ำหนักแห้ง พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างสายพันธุ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยสายพันธุ์ *Nostoc* sp. มีอัตราการเจริญมากที่สุดเท่ากับ 0.431μ , day^{-1} รองลงมา คือ สายพันธุ์ *Anabaena* sp. และ *Calothrix* sp. ตามลำดับ โดยมีอัตราการเจริญเท่ากับ 0.387 และ 0.293μ , day^{-1} ตามลำดับ จากการทดลองเพื่อหาน้ำหนักแห้งของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจำนวน 3 สายพันธุ์ พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยสายพันธุ์ *Anabaena* sp. มีน้ำหนักแห้งสูงที่สุดเท่ากับ 1.713 กรัม/ลิตร รองลงมา คือ สายพันธุ์ *Nostoc* sp. และ *Calothrix* sp. ตามลำดับ โดยมีน้ำหนักแห้งเท่ากับ 1.538 และ 0.951 กรัม/ลิตร

ผลของโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) จากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจำนวน 3 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบอิทธิพลของระดับโซเดียมคลอไรด์ พบว่า สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีอัตราการเจริญแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% คือ เมื่อใส่โซเดียมคลอไรด์ (0% NaCl) สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีการเจริญได้ดี โดยมีอัตราการเจริญเท่ากับ 0.37μ , day^{-1} รองลงมาที่ระดับโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 0.5 , 1.0 , 1.5 และ 2.0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยมีอัตราการเจริญเท่ากับ 0.30 , 0.26 , 0.19 และ 0.06μ , day^{-1} ตามลำดับ เมื่อพิจารณาอัตราการเจริญของสายพันธุ์สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในสภาพที่มีโซเดียมคลอไรด์ระดับต่าง ๆ กัน พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ สายพันธุ์ที่มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุด ได้แก่ *Nostoc* sp. มีอัตราการเจริญเท่ากับ 0.26μ , day^{-1} รองลงมาคือ *Anabaena* sp. และ *Calothrix* sp. มีอัตราการเจริญเท่ากับ 0.25 และ 0.20μ , day^{-1} ตามลำดับ

จากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจำนวน 3 สายพันธุ์ที่ระดับโซเดียมคลอไรด์เพื่อศึกษาน้ำหนักแห้ง พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ในสภาพที่มีโซเดียมคลอไรด์ 0 เปอร์เซ็นต์ทำให้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีน้ำหนักแห้งมากที่สุด (1.02 กรัม/ลิตร) รองลงมา คือ โซเดียมคลอไรด์ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกับสภาพที่มีโซเดียมคลอไรด์ 0 เปอร์เซ็นต์ (0.91 กรัม/ลิตร) เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักแห้งของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินกับความเค็มพบว่า ไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ โดยสายพันธุ์ที่มีน้ำหนักแห้งมากที่สุดได้แก่ *Anabaena* sp. เท่ากับ

0.81 กรัม/ลิตร รองลงมาคือ *Nostoc* sp. และ *Calothrix* sp. เท่ากับ 0.67 และ 0.56 กรัม/ลิตร ตามลำดับ

จากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจำนวน 3 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบอิทธิพลของพีเอช พบว่า สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีอัตราการเจริญที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินส่วนใหญ่มีอัตราการเจริญดีที่สุดที่ระดับ pH เท่ากับ 7.4 โดยมีอัตราการเจริญ $0.43 \mu, \text{day}^{-1}$ ใกล้เคียงกับ pH 6.0 และ 8.5 มีอัตราการเจริญเท่ากับ $0.41 \mu, \text{day}^{-1}$ รองลงมาคือ pH 5.0 และ 4.0 ตามลำดับ มีอัตราการเจริญเท่ากับ 0.38 และ $0.30 \mu, \text{day}^{-1}$ ตามลำดับ ด้านสายพันธุ์สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน พบว่า สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีอัตราการเจริญที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยสายพันธุ์ *Anabaena* sp. มีอัตราการเจริญสูงที่สุด เท่ากับ $0.46 \mu, \text{day}^{-1}$ เจริญได้ดีทุกช่วง (pH 4.0-8.5) รองลงมาคือ *Nostoc* sp. และ *Calothrix* sp. มีอัตราการเจริญเท่ากับ 0.42 และ $0.28 \mu, \text{day}^{-1}$ ตามลำดับ

น้ำหนักแห้งของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเมื่อทำการทดลองตามลำดับข้างต้น พบว่า เมื่อ pH ต่างกันส่งผลให้น้ำหนักแห้งของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อพิจารณาที่ระดับของ pH ต่อน้ำหนักแห้งของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทั้ง 3 สายพันธุ์ส่วนใหญ่มีน้ำหนักแห้งสูงที่สุดที่ pH 6.0 เท่ากับ 1.00 กรัม/ลิตร ซึ่งใกล้เคียงกับ pH 7.4 และ 8.5 ซึ่งมีน้ำหนักแห้งเท่ากับ 0.96 และ 0.92 กรัม/ลิตร ตามลำดับ เมื่อพิจารณาน้ำหนักแห้งของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 3 สายพันธุ์ที่ระดับ pH ต่าง ๆ กัน พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยสายพันธุ์ *Anabaena* sp. มีน้ำหนักแห้งมากที่สุด เท่ากับ 0.97 กรัม/ลิตร ซึ่งใกล้เคียงกับสายพันธุ์ *Nostoc* sp. มีน้ำหนักแห้งเท่ากับ 0.85 และสายพันธุ์ *Calothrix* sp. มีน้ำหนักแห้งน้อยที่สุด เท่ากับ 0.49 กรัม/ลิตร

ผลของความเข้มแสงต่อการเจริญของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ความเข้มแสง $80 \mu\text{mole quanta cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีอัตราการเจริญสูงที่สุดเท่ากับ $0.41 \mu, \text{day}^{-1}$ รองลงมาที่ความเข้มแสง 60 และ $40 \mu\text{mole quanta cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ มีอัตราการเจริญเท่ากับ 0.37 และ $0.36 \mu, \text{day}^{-1}$ ตามลำดับ เมื่อพิจารณาสายพันธุ์สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินต่ออัตราการเจริญ พบว่า มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% สายพันธุ์ *Anabaena* sp. มีอัตราการเจริญสูงที่สุดเท่ากับ $0.41 \mu, \text{day}^{-1}$ ซึ่งมีอัตราการเจริญใกล้เคียงกับ *Nostoc* sp. ซึ่งมีอัตราการเจริญเท่ากับ $0.40 \mu, \text{day}^{-1}$ และเมื่อพิจารณาแต่ละสายพันธุ์พบว่าสายพันธุ์ *Anabaena* sp., *Nostoc* sp. และ *Calothrix* sp.สามารถเจริญเติบโตสูงสุดที่ความเข้มแสง $80 \mu\text{mole quanta cm}^{-2} \text{s}^{-1}$

น้ำหนักแห้งเมื่อพิจารณาระดับของความเข้มแสงต่อน้ำหนักแห้งของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 3 สายพันธุ์ พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ตารางที่ 4.12 และ 4.13 ที่ความเข้มแสง $80 \mu\text{mole quanta cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ ส่งผลให้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีน้ำหนักแห้ง

สูงที่สุดเท่ากับ 0.90 กรัม/ลิตร และลดลงเมื่อความเข้มแสงเท่ากับ 60 และ 40 $\mu\text{mole quanta cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ ซึ่งมีน้ำหนักแห้งเท่ากับ 0.60 และ 0.57 กรัม/ลิตร ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาผลของความเข้มแสงต่อสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 3 สายพันธุ์ พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ตารางที่ 4.12 และ 4.13 สายพันธุ์ *Nostoc* sp. มีน้ำหนักแห้งสูงที่สุด เท่ากับ 0.80 กรัม/ลิตร ใกล้เคียงกับสายพันธุ์ *Anabaena* sp. โดยมีน้ำหนักแห้งเท่ากับ 0.77 กรัม/ลิตร

**ตอนที่ 2 การใช้ของเหลือทางการเกษตรในจังหวัดเพชรบูรณ์ เพื่อการผลิตปุ๋ยชีวภาพจาก
ແຫນແດງແລະສາหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน**

ส่วนที่ 1 การศึกษาสูตรปุ๋ยชีวภาพที่ทำจากແຫນແດງແລະສາหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

จากการศึกษาและผสมสูตรปุ๋ยชีวภาพจากແຫນແດງແລະปุ๋ยชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน โดยนำวัสดุเหลือใช้ที่เลือก ได้แก่ ฟางข้าว แกลบข้าวโพด เศษผัก ก้านยาสูบ มูลไก่ สารเร่งการย่อยสลายและกากน้ำตาล โดยนำวัสดุดังกล่าวมาผสมกันตามอัตราส่วนที่ต้องการ เรียกว่า วัสดุผสม โดยทำการผสมวัสดุเหลือใช้รวมทั้งสิ้น 6 สูตรทดลอง พบว่า เศษผักที่เกษตรกรทิ้งไปนั้นมีธาตุอาหารไนโตรเจนสูงมาก (5.21 เปอร์เซ็นต์) รองลงมาคือ ก้านยาสูบ (2.43 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งแตกต่างกับปริมาณธาตุโพแทสเซียม ที่มีอยู่ในก้านยาสูบสูงที่สุด (5.54 เปอร์เซ็นต์) รองลงมาคือ เศษผัก (2.00 เปอร์เซ็นต์)

**ส่วนที่ 2 การศึกษาสมบัติทางกายภาพของปุ๋ยชีวภาพจากແຫນແດງແລະปุ๋ยชีวภาพจากสาหร่าย
สีเขียวแกมน้ำเงิน**

2.1 อุณหภูมิ

อุณหภูมิเป็นตัวแปรที่สำคัญในกระบวนการประเมินคุณภาพและควบคุมการผลิตปุ๋ย โดยในการวิจัยนี้ได้ทำการวัดอุณหภูมิขณะทำการหมักปุ๋ยสัปดาห์ละ 1 ครั้ง อุณหภูมิในการหมักจะอยู่ระหว่าง 30-51 องศาเซลเซียส ระยะเวลาที่ใช้ในการหมักเพื่อให้ได้ปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์จะใช้เวลาประมาณ 2-3 เดือน

2.2 สมบัติทางกายภาพของปุ๋ย

สมบัติทางกายภาพของปุ๋ยชีวภาพที่ได้ จะเห็นว่า ความชื้นของปุ๋ยที่ได้จากการทดลองจะอยู่ในช่วง ร้อยละ 3-4 โดยน้ำหนักแห้ง ปริมาณสารระเหยง่ายของปุ๋ยที่ได้จากการทดลองจะอยู่ในช่วง ร้อยละ 20-22 โดยน้ำหนักแห้ง ปริมาณเถ้าของปุ๋ยที่ได้จากการทดลองจะอยู่ในช่วง ร้อยละ 71-75 โดยน้ำหนักแห้ง คาร์บอนคงตัวของปุ๋ยที่ได้จากการทดลองจะอยู่ในช่วง ร้อยละ 3.0-4.0 โดยน้ำหนักแห้ง สารอินทรีย์ของปุ๋ยที่ได้จากการทดลองจะอยู่ในช่วง ร้อยละ 20-24 โดยน้ำหนักแห้ง และความเป็นกรด-ด่าง ของปุ๋ยที่ได้จากการทดลองจะอยู่ในช่วง ร้อยละ 7-9 โดยน้ำหนักแห้ง ซึ่งจากการศึกษาสมบัติต่าง ๆ ดังกล่าวพบว่ามีสมบัติที่ดีเมื่อเปรียบเทียบกับปุ๋ยชีวภาพมาตรฐาน

ส่วนที่ 3 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารของปุ๋ยชีวภาพจากเห็ดแดงและปุ๋ยชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

3.1 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารของปุ๋ยชีวภาพจากเห็ดแดงและปุ๋ยชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

จากการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารของปุ๋ยชีวภาพจากเห็ดแดงและปุ๋ยชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน พบว่า ปุ๋ยที่ได้จากการทดลองมีปริมาณธาตุอาหารหลัก คือ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และ โพแทสเซียม มากเพียงพอเมื่อเปรียบเทียบกับปุ๋ยหมักมาตรฐานที่มีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และ โพแทสเซียม เฉลี่ยเท่ากับ ร้อยละ 1.0, 0.35 และ 1.50 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ โดยที่ปุ๋ยชีวภาพที่ได้จากการทดลองมีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม เฉลี่ยเท่ากับ ร้อยละ 2.0-3.0 , 2.50-3.70 และ 2.50-3.20 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ อีกทั้งยังมีธาตุอาหารรองอื่น ๆ เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม แมงกานีส เหล็ก และโบรอนที่จำเป็นสำหรับพืช และในปุ๋ยดังกล่าวที่ได้จากการทดลองได้มีการเพิ่มจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์และสามารถนำไนโตรเจนที่อยู่ในอากาศมาทำให้เกิดประโยชน์ต่อพืชอีกด้วย

3.2 อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจน (C/N ratio)

จากผลการวิเคราะห์อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจนเทียบได้จากปริมาณคาร์บอนคงตัวกับปริมาณไนโตรเจนในปุ๋ยชีวภาพ พบว่า จะอยู่ในช่วง 1.20-1.70 ต่อ 1 ส่วน โดยเมื่อเปรียบเทียบกับปุ๋ยหมักมาตรฐานที่ต้องมีอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจนต่ำกว่า 20 : 1 และถ้าอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนกับไนโตรเจนยังมีค่าต่ำยิ่งดี สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้จริง

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการเจริญเติบโตของเห็ดแดงและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินนั้น ควรคำนึงถึงปัจจัยอื่น ๆ นอกจากทำการทดลองไปแล้ว เช่น ปริมาณที่เหมาะสมของฟอสเฟต , ประเภทของเนื้อดิน หรือค่าความเป็นกรดต่างที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ดแดง และผลของอุณหภูมิ , ความชื้น และปริมาณธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน
2. การใช้ประโยชน์จากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในฤดูกาลปลูกนั้น ๆ ควรทำการเพาะเลี้ยงเซลล์สดและปล่อยเข้าไปในนา แต่การใช้ประโยชน์ปุ๋ยชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินนั้นความเป็นประโยชน์จะเพิ่มมากขึ้นหากนำมาใช้ติดต่อกันมากกว่า 1 ฤดูกาล
3. ในงานวิจัยครั้งนี้ยังไม่มีวิเคราะห์อัตราการรอดของเชื้อ ในครั้งต่อไปการผลิตปุ๋ยชีวภาพต่าง ๆ ควรมีการวิเคราะห์หาเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ที่ใส่เข้าไปในปุ๋ย พร้อมทั้งหาอัตราการรอดว่าเชื้อดังกล่าวที่พบในปุ๋ยชีวภาพแต่ละสูตรมีเชื้ออะไรบ้าง และสามารถมีชีวิตอยู่ได้นานเท่าใด

บรรณานุกรม

- กนกอร จารุจารีต, สุรียา สาสนรักกิจ, นวลพรรณ ณ ระนองและวีณา ชูโชติ. 2542. สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์ของไฮยาโนแบคทีเรีย. *งานวิจัยห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย* , กรุงเทพฯ.
- กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน. 2537. กรมวิชาการเกษตร ภายในบริเวณเกษตรกลางบางเขน กรุงเทพฯ 10900.
- จรงค์ จันทรเจริญสุข, 2541. ปุ๋ยอินทรีย์และวัสดุเหลือใช้. *ปฐพีวิทยาเบื้องต้น*. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพมหานคร.
- ธงชัย มาลา. 2546. *ปุ๋ยอินทรีย์และชีวภาพ*. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- นันทกร บุญเกิด, ประยูร สวัสดิ์ และอมรทรัพย์ นพอมรบดี. 2533. *การใช้จุลินทรีย์ดินเพื่อเพิ่มผลผลิตพืช*. คู่มือการปรับปรุงดินและการใช้ปุ๋ย. หน้า 288-309.
- บรรหาญ แดงฉำ. 2545. สหรัยสี่เขียวแถมน้ำเงิน. ใน *เอกสารวิชาการปุ๋ยชีวภาพ* กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ
- ประยูร สวัสดิ์. 2539. การใช้ประโยชน์จากเห็ดแดง ใน *เอกสารวิชาการเรื่อง ปุ๋ยชีวภาพ* กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กองปฐพี กรมวิชาการเกษตร. หน้า 148-166.
- ประเสริฐ สองเมือง, วิทยา ศรีทานันท์ และประยูร สวัสดิ์. 2536. *เลี้ยงเห็ดแดงร่วมกับปลาในนาข้าว*. กสิกร. 66(1) : 66-68.
- ปิยะ ดวงพัตรา, 2541. ปุ๋ยและการใช้ปุ๋ย. *ปฐพีวิทยาเบื้องต้น*. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพมหานคร.
- ปรัชญา รัตมีธรรมวงศ์. 2537. *108 สูตรการผลิตปุ๋ยชีวภาพ*. บริษัท สำนักพิมพ์ เพชรกระรัต จำกัด ขอเจริญสุข ถนนบรมราชชนนี เขตตลิ่งชัน กรุงเทพฯ 10170.
- มารีษา ภิรมย์แทน. 2547. *การคัดเลือกสายพันธุ์ไฮยาโนแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพสูงในการตรึงไนโตรเจนจากอากาศมาใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพ*. วิทยานิพนธ์ ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ยงยุทธ โอสดสภา. 2528. *หลักการผลิตและการใช้ปุ๋ย*. กรุงเทพฯ.
- โยธิน คนบุญ. 2542. ดินนาภาคตะวันออกเฉียงเหนือ : ปัญหาและแนวทางแก้ไข. *การสัมมนาวิชาการข้าวภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี และ ศูนย์วิจัยข้าวสกลนคร สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร*. หน้า 96-111.
- วรารณ วงศ์บุญ. 2551. *เห็ดแดงและการใช้ประโยชน์ในนาข้าว*. เกษตรกรรมธรรมชาติปีที่ 11 ฉบับที่ 3 (2551) หน้า 44-50.
- สถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. 2541. *คู่มือการใช้ปุ๋ยชีวภาพจากสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว*. สถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย , กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี

และพลังงาน, กรุงเทพฯ.

สมพร ชุนท์ลิขานนท์. 2542. *สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในปุ๋ยชีวภาพ*. กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร , กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ , กรุงเทพฯ.

สุรียา สาสนรักกิจ. 2542. *วท.สกัสดสารสัธรรมาตจากสาหร่ายทางเลือกใหม่เพื่อความปลอดภัยของ ผู้บริโภค*. จดหมายข่าว วท.

สุวรรณ สาสนรักกิจ. 2542. *การศัษาทางสัณฐานวิทยาและสัรวิทยาของไซยาโนแบคทีเรียของไทยที่ สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศ เพื่อนำมาใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพ* . วิทยานิพนธ์ ปริญญาเอก มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2550. *กระทรวงเกษตรและสหกรณ์*. (สืบค้นจาก www.oae.go.th เมื่อวันที่ 5 ตุลาคม 2553)

อาภารัตน์ มหาพันธ์. 2542. *สารสกัสดจากสาหร่ายกำจัดแมลงศัตรูพืช*. จดหมายข่าว วท.

อำนาจ สุวรรณฤทธิ์, ศาสตราจารย์เกียตติคุณ ดร. 2548. *ปุ๋ยกับการเกษตรและสิ่งแวดล้อม*. ภาควิชา ปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพมหานคร.

ออมทรัพย์ นพอมรบดี. 2537. *การใช้ปุ๋ยชีวภาพจากเชื้อไรโซเบียมและไมโคไรซา*. ปุ๋ยชีวภาพและพืช บำรุงดิน *เอกสารทางวิชาการ*. กลุ่มดินและปุ๋ยพืชไรนา, สถาบันพัฒนาและส่งเสริมปัจจัยการผลิต การส่งเสริมการเกษตร.

Abdullah, A.R., C.M. Bajet, M.A. Matin, D.D.Nham and A.H.Sulaiman. 1997. Ecotoxicology of pesticides in the tropical paddy field ecosystem. *Env. Toxi. Chem.*

Antarikanonda , P. and H, Lorenzen. 1983. *N₂-fixing blue green algae (Cyanobacteria) of high efficiency from paddy soils of Bangkok, Thailand : Characterisation of species and N₂-fixing capacity in laboratory*. Pflonzenphysiologische Institue der Universitat Gottingen, Gottingen, FR Germany.

Antarikanonda, P. and S.Sassanarakkit. 1995. Research—studied, production and field experience on the use of blue-green algae biofertilizer in Thailand, p.36-52. ใน *ผลงานวิจัยปุ๋ยชีวภาพจาก สาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว สาขาสุทธสาหรารรมเทคโนโลยีชีวภาพ*. สถาบันวิทยาศาสตร์และ เทคโนโลยีแห่งประเทศไทย , กรุงเทพฯ.

Ashwani, K.R. and V. Rai. 2003. Effect of NaCl on growth, nitrate uptake and reduction and nitrogenase activity of *Azolla pinnata*-*Anabaena azollae*. *Plant Science*.

Berman-F. I., Lundgren. P , Chen. Y-B., Kupper. H., Kolber. Z., Bergman. B and Falkowski, P. 2001. Segregation of nitrogen fixation and oxygenic photosynthesis in the marine cyanobacterium *Trichodesmium*. *Science*. 294 : 1534-1537.

- Borowitzka, M.A. 1995. Microalgae as sources of pharmaceuticals and other biologically-active compound . *J.Appl. Phycol.* 7(1) : 3-15.
- Boussiba, S. 1995. *Anabaena azollae as a Nitrogen Biofertilizer*. Microalgal biotechnology laboratory, Jacob Blaustein Institute for Desert Research Ben Gurion University, Sede Boker, Israel.
- Desikachary, T.V. 1959. *Cyanobacteria*. Indian Council of Agriculture Research, New Delhi.
- Fu, F.X. And P. R. Bell. 2003. Factor affecting N₂- fixation by the cyanobacterium et *Trichodesmium* sp. *Microbiology ecology*. 45 : 203-209.
- Janet,I.S. 1979. *The biological of nitrogen-fixing organism*. Plenum Press.
- Irisarri, P., S. Gonnet. And J. Monza. 2001. Cyanobacteria in Uruguayan rice fields : diversity, nitrogen fixing ability and tolerance to herbicides and combined nitrogen. *J. Biotech.* 91 : 95-103.
- Lewin, R.A. 1977. Rrechlorom, Type genus of the prochlorophyta. *Phycologia*.
- Lumpkin, T. A., and D. I. Plucknett. 1982. *Azolla as a Green Manure : Use and Management in Crop Production*. Westview press, Inc, USA.
- Materasi,R. and W. Bolloni. 1965. The observation present of microorganisms autothrophes fixator vary areas. *Ann.Inst. Pasteur, Parris*, 3. Suppl.
- Moreno, J., H. Hodriguez, M.A.Vargas, J. Rivas and M.G. Guerero. 1995. Nitrogen-fixing cyanobacteria as source of phycobiliprotein pigment, composition and growth performance of ten filamentous heterocyst strains. *J. of App. Phycology*.
- Mori, F., Y. Sakurai, M. Erata and M.M. Watanabe. 1998. Cryopreservation of Cyanobacteria and green algae in the NIE collection. Cited in *Asian Network on Microbial Researches Gadjah Mada University (GMU)*. The Institute of Physical and Chemical Research (RIKEN) Science and Technology Agency, Japan.
- Padhi, H, B. Rath and S.P. Adhikary. 1998. Tolerance of N₂-fixing cyanobacteria to NaCl. *Biologia-Plantarum*. Czech Republic.
- Richmond, A. 1986. *CRC Handbook of Microalgal Mass Culture*. CRC press Inc., Boca Raton, Florida, USA.
- Roger, P.A. and Kulasoorya, S.A. 1980. *Blue-green Algae and Rice*. The International Rice Research Institute, Los Banos, philippins.

Ruschel, A.P. and P.B, Vose. 1984. *Current Developments in Biological Nitrogen Fixation*. John Wiley and Sons.

Sukreeyapongse, O. 2001. *Accumulation of Heavy Metals in Vegetables and Soil Treated with Sludge*. Ph.D. Thesis, Graduate School, Kasetsart University.

U.S. Environmental Protection Agency. 1983. *Process Design Manual for Land Application of Municipal Sludge*. U.S. Environmental Protection Agency Center for Environmental Research Information, Cincinnati, OH.





ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

สูตรอาหาร BG11 มีรายละเอียดดังนี้

$K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$	0.040 g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.075 g
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0.036 g
Citric acid	0.006 g
Ferric ammonium citrate	0.006 g
Ethylenediaminetetra acetic acid (EDTA) (disodium magnesium salt)	0.001 g
Na_2O_3	0.020 g
*Trace metal mix	1.0 ml
Deionized water	1000 ml

After autoclaving and cooling, the pH of the medium should be 7.4

*Trace metal mix	Stock 1 litre
H_3BO_3	2.860 g
$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	1.810 g
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0.222 g
$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.390 g
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.079 g
$Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	0.0494 g

Omitting the nitrogen sources makes the medium suitable for cultivating N_2 -fixing cyanobacteria

ภาคผนวก ข

การวัดความหนาแน่นของเซลล์ (optical density, O.D.)

นำตัวอย่างที่เก็บมาวัด O.D. ที่ความยาวคลื่น 900 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาอัตราการเจริญ (specific growth rate, μ) ดังนี้

$$\ln X_t/X_0 = \mu t$$

เมื่อ X_0, X_t = ปริมาณของมวลชีวภาพวัดที่เวลา 0 และ t

T = เวลาที่อยู่ระหว่าง 0 กับ t

การวิเคราะห์น้ำหนักแห้ง

นำสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่เพาะเลี้ยงมาจำนวน 20 มิลลิลิตร กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman ก่อนการกรองนำกระดาษกรองไปอบในตู้อบที่ 60 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ น้ำหนักแห้งหาได้จากผลต่างระหว่างน้ำหนักกระดาษก่อนและหลังการกรอง



การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Atomic Absorption spectrophotometer (AAS)

การวิเคราะห์ธาตุต่าง ๆ ของปุ๋ยหมักที่ได้จากการหมักโดยทั่วไปจะใช้วิธี Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) โดยเทคนิคทาง AAS เป็นเทคนิควิเคราะห์ธาตุอาหารอย่างหนึ่ง สามารถทำได้ทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณวิเคราะห์ที่ได้รับความนิยมมาก เพราะเป็นเทคนิคที่ให้ความเที่ยงตรง ความแม่นยำ มีความไวสูง และเป็นเทคนิคที่เฉพาะดีมาก สามารถวิเคราะห์ธาตุต่าง ๆ ได้ถึง 67 ธาตุ นับว่ามากพอสมควรสำหรับเครื่องมือเพียงชนิดเดียว ทำให้การใช้งานเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ atomic absorption เป็นกระบวนการที่เกิดจากอะตอมเสรีของธาตุดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่นหนึ่งโดยเฉพาะ ซึ่งขึ้นกับชนิดของธาตุ ธาตุแต่ละธาตุจะมีระดับพลังงานแตกต่างกัน จึงมีการดูดกลืนพลังงานต่างกัน เช่น อะตอมของโซเดียมจะดูดกลืนแสงได้ดีที่มีความยาวคลื่น 589 nm เพราะแสงที่ยาวนี้เป็นแสงที่มีพลังงานพอดีที่จะทำให้อิเล็กตรอนของโซเดียมอะตอมเกิดการเปลี่ยนสถานะ จากสภาวะพื้นไปสู่สภาวะกระตุ้น ซึ่งแต่ละความยาวคลื่นจะจัดเป็น spectroscopic line ของอะตอมมิกสเปกตรัม ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะตัวของธาตุแต่ละชนิด

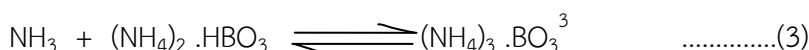
การทำให้อะตอมของธาตุในสารประกอบเกิดเป็นอะตอมเสรีได้นั้น ต้องมีการดูดกลืนพลังงานเข้าไป ซึ่งอาจอยู่ในรูปต่าง ๆ กัน เช่น พลังงานความร้อนจากเปลวไฟหรือความร้อนจากไฟฟ้า เป็นต้น ความร้อนจะทำให้กระบวนการแตกตัว (dissociation) หรือเปลี่ยนให้เป็นไอ (vaporization) หรืออาจแตก

ตัวเป็นอะตอมหรือทำให้อะตอมอยู่ในสภาวะกระตุ้นระเหยเป็นไอออนก็ได้ เทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์ด้วยวิธี AAS สามารถทำได้หลายวิธี คือ

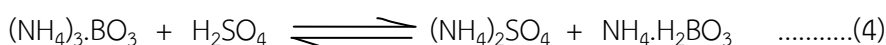
1. ใช้ Flame Atomization Technique โดยการทำให้สารตัวอย่างแตกตัวเป็นอะตอมด้วยเปลวไฟ (Flame) ที่เหมาะสม
2. ใช้ Flameless Technique หรือ Non-Flame Atomization Technique ซึ่งเป็นกระบวนการที่ทำให้สารตัวอย่างสลายตัวเป็นอะตอมได้ด้วยความร้อนจากกระแสไฟฟ้า (electro thermal- atomizer หรือ graphite furnace) โดยสามารถตั้งโปรแกรมให้อุณหภูมิการเผาไหม้ค่าต่าง ๆ กัน และใช้เวลาต่าง ๆ กันได้
3. ใช้ Hydride Generation Technique เนื่องจากธาตุบางชนิดไม่สามารถเปลี่ยนไปเป็นอะตอมโดยตรงโดยเทคนิคในข้อ 1 และ 2 ได้ แต่จำเป็นต้องใช้วิธีทำให้แตกตัวในบรรยากาศที่ปราศจากออกซิเจนเพื่อป้องกันการรวมตัวกับธาตุออกซิเจนของธาตุเหล่านี้ จึงต้องใช้วิธีทำให้ธาตุเหล่านี้กลายเป็นสารที่เป็นไอได้ง่าย ๆ ที่อุณหภูมิห้องด้วยการเป็นไฮไดรด์แล้วทำให้ไฮไดรด์นั้นผ่านเข้าไปในเปลวไฟไฮไดรเจน ความร้อนจากเปลวไฟไฮไดรเจนทำให้ธาตุเป็นอะตอมเสรีได้
4. ใช้ Cold Vapor Generation Technique ซึ่งเหมาะที่จะใช้วิเคราะห์ธาตุบางชนิดที่สามารถเปลี่ยนเป็นไอได้ง่าย ๆ ได้แก่ การวิเคราะห์ปรอทที่มีปริมาณโดยเฉพาะ

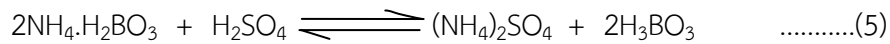
การวิเคราะห์ด้วยวิธี Kjeldahl test

การวิเคราะห์ไนโตรเจนด้วยวิธี Kjeldahl test ซึ่งเป็นวิธีการหาปริมาณ organic nitrogen ในสารตัวอย่าง ซึ่งมีพื้นฐานมาจาก wet combustion ของสารตัวอย่าง ด้วยการต้มกับกรดซัลฟิวริกเข้มข้น โดยใช้ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ เป็นตัวเร่งและใช้ K_2SO_4 เป็นตัวช่วยลดจุดเดือด ทำให้เกิดปฏิกิริยารีดักชันของ organic nitrogen ในสารตัวอย่างกลายเป็นก๊าซแอมโมเนีย ซึ่งยังอยู่ในสารละลายในรูปของ ammonium Borate ซึ่งจะใช้กรดบอริกเป็นตัวจับก๊าซแอมโมเนียไว้ ดังปฏิกิริยา



จากนั้นหาปริมาณแอมโมเนียจากการไตเตรตสารละลายผสมระหว่าง H_3BO_3 กับ $(\text{NH}_4)_3 \cdot \text{BO}_3$ ด้วยกรด H_2SO_4 มาตรฐาน โดยเปลี่ยนเกลือโบเรตให้กลับมาอยู่ในรูปกรด H_3BO_3 ให้หมดซึ่งปฏิกิริยาจะเกิดเป็นขั้นตอน ดังนี้





การวิเคราะห์ฟอสฟอรัสด้วยเครื่อง UV/VIS

การวิเคราะห์ฟอสฟอรัสด้วยเครื่อง UV/VIS การดูดกลืนแสงที่อยู่ในช่วงอัลตราไวโอเล็ตและวิสิเบิลอยู่ในช่วงความยาวคลื่นประมาณ 190-800 nm ส่วนใหญ่ใช้วิเคราะห์พวกสารอินทรีย์หรือสารประกอบเชิงซ้อนหรือสารอนินทรีย์ ทั้งที่มีสีและไม่มีสี ซึ่งเป็นวิธีที่ถูกต้องแม่นยำ มีสภาพไวสูง โดยหลักการ คือ สารเมื่อเกิดการดูดกลืนแสงในช่วง UV/VIS เข้าไปแล้ว จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานของอิเล็กตรอน (Electron transition) ซึ่งสารแต่ละชนิดจะดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่นเฉพาะค่า ซึ่งการทดลองนี้จะวิเคราะห์ธาตุฟอสฟอรัส โดยจะให้สารตัวอย่างเกิดสารเชิงซ้อน (complex) ให้เกิดสีกับ molybdovanadate ซึ่งมีการดูดกลืนแสงได้มากที่สุดที่ความยาวคลื่น 825 nm



ภาคผนวก ง

ภาพการทดลอง





เศษวัสดุทางการเกษตร

เศษผัก



