การพัฒนาปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพจากเศษผักและผลไม้เหลือทิ้ง ร่วมกับเชื้อรา *Trichoderma* 3 สปีชีส์

DEVELOPMENT OF BIO-ORGANIC FERTILIZER FROM VEGETABLE AND FRUIT WASTE WITH THREE SPECIES OF *Trichoderma*

โกวิท แก้วกียูร

ณัชพัฒน์ มากทอง

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2566

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

DEVELOPMENT OF BIO-ORGANIC FERTILIZER FROM VEGETABLE AND FRUIT WASTE WITH THREE SPECIES OF *Trichoderma*

KOWIT KAEWKEEYOON

NATCHAPHAT MAKTHONG

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF

THE REQUIREMENT FOR

THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)

DEPARTMENT OF BIOLOGY, SCHOOL OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2023

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การพัฒนาปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพจากเศษผักและผลไม้เหลือทิ้งร่วมกับเชื้อรา *Trichoderma* 3 สปีชีส์ Development of bio-organic Fertilizer from vegetable and fruit waste with three species of *Trichoderma*
ชื่อนักศึกษา	นายโกวิท แก้วกียูร รหัสนักศึกษา 63050450 นายณัชพัฒน์ มากทอง รหัสนักศึกษา 63050470
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2566
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ. ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2566

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ. ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม ประธานกรรมการ	
ผศ. ดร.นฤมล ตั้งธีระสุนันท์ กรรมการ	
รศ. ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การพัฒนาปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพจากเศษผักและผลไม้เหลือทิ้งร่วมกับเชื้อรา *Trichoderma* 3 สปีชีส์ Development of bio-organic Fertilizer from vegetable and fruit waste with three species of *Trichoderma*
ชื่อนักศึกษา	นายโกวิท แก้วกียูร รหัสนักศึกษา 63050450 นายณัชพัฒน์ มากทอง รหัสนักศึกษา 63050470
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2566
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ. ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม

บทคัดย่อ

การพัฒนาปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ แก้ไขปัญหาขยะอินทรีย์ที่มีจำนวนมาก โดยงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาการอยู่ร่วมกันของเชื้อรา *Trichoderma* และนำมาผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพจากเศษผักและผลไม้เหลือทิ้ง โดยศึกษาการอยู่ร่วมกันของเชื้อรา *Trichoderma* 3 สปีชีส์ ได้แก่ *T. harzianum, T. lixii* และ *T. capillare* ด้วยวิธี Dual culture พบว่าค่าเฉลี่ยร้อยละการยับยั้งอยู่ที่ 57.96, 43.89 และ 47.41 ตามลำดับ เมื่อศึกษาด้วยวิธี Tri culture พบว่าค่าเฉลี่ยร้อยละการยับยั้งอยู่ที่ 39.98, 31.72 และ 39.60 ตามลำดับ จึงอาจกล่าวได้ว่าเชื้อราทั้ง 3 สปีชีส์ สามารถเจริญเติบโตร่วมกันได้ เมื่อนำมาในการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ แบ่งเป็นปุ๋ยสูตรควบคุม จำนวน 3 สูตร และปุ๋ยสูตรที่เติมเชื้อราทั้ง 3 สปีชีส์ ในอัตราส่วนที่ต่างกัน จำนวน 2 สูตร โดยพบว่าปุ๋ยที่มีการเติมเชื้อราทั้ง 3 สปีชีส์ในอัตราส่วนที่ต่างกัน มีการยุบตัวที่เร็วกว่า ปุ๋ยสูตรควบคุมทุกสูตร เมื่อนำปุ๋ย มาวัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH), ค่าความเค็ม (Salinity), ค่าการนำไฟฟ้า (electrical conductivity : Ec) พบว่าอยู่ในเกณฑ์ จึงอาจกล่าวได้ว่า เชื้อราทั้ง 3 สปีชีส์ สามารถนำมาใช้พัฒนาปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพได้ นำไปสู่การลดปริมาณขยะอินทรีย์ และส่งเสริมการทำเกษตรอินทรีย์มากขึ้น

คำสำคัญ : เศษผัก และเศษผลไม้, ปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ, Tri culture, *Trichoderma capillare, Trichoderma harzianum, Trichoderma lixii*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Development of bio-organic Fertilizer from vegetable and fruit waste with three species of *Trichoderma*
Students	Mr.Kowit Kaewkeeyoon Student ID 63050450 Mr.Natchapat Makthong Student ID 63050470
Degree	Bachelor of Science (Industrial microbiology)
Department	Biology
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2023
Advisor	Assoc. Prof. Dr.Supattra Poeaim

Abstract

The development of bio-organic fertilizers aims to address the issue of excessive organic waste. This research aims to study the antagonistic ability of *Trichoderma* sp. and its use in developing bio-organic fertilizers from household vegetable and fruit waste. The study focused on the co-cultured of three species of *Trichoderma*: *T. harzianum*, *T. lixii*, and *T. capillare,* using the dual culture method. The percentage inhibition of radial growth of three *Trichoderma* species was 57.96%, 43.89%, and 47.41%, respectively. When using the tri-culture method, the percentage inhibition of three *Trichoderma* species was 39.98%, 31.72%, and 39.60%, respectively. These results indicated that those three *Trichoderma* species can grow together. When developing bio-organic fertilizer, it was divided into three controlled formulas and two treatment formulas incorporating the difference ratio of three *Trichoderma* species. It was found that fertilizers incorporating different ratios of the three fungal species decomposed faster than all the controlled formulas. Those five formulas were within the standard range (pH, salinity, and Ec). The bio-organic fertilizers' primary nutrients and organic carbon content were analyzed, and the second formula had the best results, with nutrient levels and organic matter content within standard ranges. Therefore, bio-organic fertilizers may be developed with the three *Trichoderma* species, effectively reducing organic waste and showing high potential for agricultural

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

use. This approach has lower costs, addresses fertilizer shortages, and promotes organic farming practices.

Keywords : Vegetable and fruit waste, Bio-organic fertilizer, Triculture*, Trichoderma capillare, Trichoderma harzianum, Trichoderma lixii*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ปีการศึกษา 2566 ที่สำเร็จและลุล่วงไปได้ด้วยดี ผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณ รศ. ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม อาจารย์ที่ปรึกษา ที่กรุณาเสียสละเวลา ทุ่มเทแรงกาย และแรงใจที่ให้คำปรึกษาแนะนำ ชี้แนะ ตลอดทั้งติดตามความก้าวหน้าในการดำเนินการทำโครงงานพิเศษและตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความเอาใจใส่ ผู้จัดทำรู้สึกซาบซึ้งในความเมตตาและความกรุณาเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ รศ. ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม ประธานกรรมการ และ ผศ. ดร.นฤมล ตั้งธีระสุนันท์ กรรมการ ที่กรุณาเสียสละเวลาให้คำแนะนำ ชี้แนะและแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ เพื่อให้โครงงานพิเศษเล่มนี้สำเร็จครบถ้วนสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ คุณ ชนาภรณ์ จาดตานิม ที่ช่วยแนะนำ และช่วยเหลือให้โครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ร่วมทั้งขอขอบพระคุณพี่ ๆ ปริญญาโท และปริญญาเอก ของห้องปฏิบัติการเชลล์สัตว์ และพี่เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่อำนวยความสะดวกด้านอุปกรณ์เครื่องมือ และสารเคมี ที่จำเป็นตลอดการทำโครงงานพิเศษ

อีกทั้งขอกราบขอบพระคุณ เจ้ากรมวิทยาศาสตร์ทหารเรือ และ น.ท. อนิวัตร ปัสสาโก หัวหน้าแผนกเคมีวิเคราะห์ ฯ กรมวิทยาศาสตร์ทหารเรือ ที่ให้ความอนุเคราะห์ตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบของปุ๋ยอินทรีย์ เพื่อนำผลมาประกอบทำโครงงานพิเศษเล่มนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอขอบพระคุณในความกรุณาเป็นอย่างสูง

สุดท้ายนี้ผู้จัดทำขอขอบพระคุณบิดา มารดา รวมทั้งเพื่อน ๆ ที่ให้การสนับสนุน และเป็นแรงผลักดันให้การทำโครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีในที่สุด

ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าโครงงานพิเศษเล่มนี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจไม่มากก็น้อย หากโครงงานพิเศษฉบับนี้มีข้อผิดพลาดประการใด ผู้จัดทำต้องกราบขออภัยไว้ ณ ที่นี้

โกวิท แก้วกียูร
ณัชพัฒน์ มากทอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ง
สารบัญ ..... จ
สารบัญตาราง ..... ซ
สารบัญรูป ..... ฌ
คำย่อ/สัญลักษณ์ ..... ฎ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ 2
1.2 วัตถุประสงค์ 2
1.3 ขอบเขต 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
2.1 ปุ๋ย 3
2.2 ปุ๋ยอินทรีย์ 3
2.2.1 ปุ๋ยคอก 3
2.2.2 ปุ๋ยหมัก 3
2.2.3 ปุ๋ยพืชสด 4
2.3 ปุ๋ยชีวภาพ 4
2.3.1 ปุ๋ยชีวภาพที่ประกอบด้วยจุลินทรีย์สร้างธาตุอาหารพืช 4
2.3.2 ปุ๋ยชีวภาพที่ประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่ช่วยให้ธาตุอาหารเป็นประโยชน์กับพืช 4
2.4 กระบวนการในการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ 5
2.4.1 การหมักปุ๋ยแบบใช้ออกซิเจน 5
2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการหมักปุ๋ย 5
2.5.1 ชนิดและขนาดของวัสดุหมัก 6
2.5.2 ค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 6
2.5.3 ค่า pH 6
2.6 ธาตุอาหารหลักที่พืชต้องใช้ในการเจริญเติบโต 7
2.6.1 ไนโตรเจน 7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

2.6.2 ฟอสฟอรัส 8
2.6.3 โพแทสเซียม 8
2.7 มาตรฐานกำหนดเกณฑ์ปุ๋ยอินทรีย์ 8
2.8 เซลลูโลส 10
2.9 *Trichoderma* spp 11
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 14
3.1 เชื้อราที่ใช้ในงานวิจัย 14
3.2 วัสดุอุปกรณ์ 14
3.3 สารเคมี 15
3.4 วัสดุในการหมักปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ 15
3.5 วิธีการทดลอง 16
3.5.1 การเพาะเลี้ยงและการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อรา *Trichoderma* 16
3.5.2 การทดสอบประสิทธิ์ภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา 16
3.5.3 การเพิ่มปริมาณเชื้อรา *Trichoderma* 19
3.5.4 การออกแบบและดัดแปลงกล่องหมัก 20
3.5.5 การเลือกสูตรและอัตราส่วนในการหมัก 20
3.5.6 การเตรียมวัสดุในการหมักปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ และการหมักปุ๋ยอินทรีย์ชีวภา 22
3.5.7 การส่งตรวจตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ 22
3.5.8 การวัดค่ามาตรฐานในปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ 22
3.5.9 การตรวจนับเชื้อรา *Trichoderma* ในปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ 24
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 25
4.1 ผลการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Trichoderma* 26
4.1.1 *Trichoderma harzianum* (SB17-17) 26
4.1.2 *Trichoderma lixii* (SB17-02) 28
4.1.3 *Trichoderma capillare* (VP2-03) 30
4.2 ผลการทดสอบประสิทธิ์ภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma* 32
4.2.1 Dual-culture 32
4.2.2 Tri-culture 36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

4.3 ผลการเพิ่มปริมาณหัวเชื้อรา *Trichoderma* 3 สปีชีส์ 39
4.4 ผลการศึกษาปริมาณธาตุอาหารและคุณสมบัติของปุ๋ยอินทรีย์ 40
4.4.1 อัตราการยุบตัวของปุ๋ย 40
4.4.2 การศึกษาลักษณะภายนอกของปุ๋ยที่หมักมีการย่อยสลายที่เสร็จสมบูรณ์ 43
4.4.3 การตรวจธาตุอาหารหลักด้วยชุดทดสอบปุ๋ยเคมี มก.5 47
4.4.4 คุณสมบัติของปุ๋ยหมักที่ระยะเวลา 30 วัน 48
4.5 ผลการตรวจสอบปริมาณเชื้อราในปุ๋ยหมัก 50
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 51
5.1 สรุปผลการวิจัย 51
5.2 ข้อเสนอแนะ. 51
เอกสารอ้างอิง 53
ภาคผนวก ก 59
ภาคผนวก ข 61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 รายการอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของวัสดุแต่ละชนิด 6
2.2 เกณฑ์มาตรฐานกำหนดปุ๋ยอินทรีย์ 9
3.1 อัตราส่วนและวัสดุที่ใช้ในการหมักปุ๋ย 21
4.1 การบ่งชี้เชื้อราด้วยการตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์เปรียบเทียบกับฐานข้อมูล GenBank 25
4.2 ขนาดของสปอร์เชื้อรา *Trichoderma* 3 สปีชีส์ 32
4.3 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของการเพาะเลี้ยงร่วมกันด้วยวิธี Dual-culture 36
4.4 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของการเพาะเลี้ยงร่วมกันด้วยวิธี Tri-culture 38
4.5 จำนวนสปอร์หัวเชื้อรา *Trichoderma* ที่ตรวจนับได้ในระดับความเจือจางที่ 10^{-2} 40
4.6 ค่าเฉลี่ยการยุบตัวของวัสดุในกองปุ๋ยหมักอินทรีย์ชีวภาพจำนวน 5 สูตร 41
4.7 ตารางค่าของธาตุอาหารหลักที่ตรวจด้วยชุดตรวจปุ๋ยเคมี มก.5 48
4.8 แสดงคุณสมบัติของปุ๋ยหมักที่ระยะเวลา 30 วัน 49
4.9 ปริมาณสปอร์ของเชื้อรา *Trichoderma* ในปุ๋ยที่หมักครบ 30 วัน 50
ข-1 ค่าขนาดของสปอร์เชื้อรา *Trichoderma* 3 สปีชีส์ 56
ข-2 ค่ารัศมีโคโลนีจานควบคุมของเชื้อรา *Trichoderma* 3 สปีชีส์ ด้วยวิธี Dual-culture 58
ข-3 ค่ารัศมีโคโลนีจานควบคุมของเชื้อรา *Trichoderma* 3 สปีชีส์ ด้วยวิธี Tri-culture 59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

3.1 การจำลองการยับยั้งประสิทธิภาพการเจริญของเชื้อรา ด้วยวิธีการ Dual-culture test 17
3.2 การจำลองการยับยั้งประสิทธิภาพการเจริญของเชื้อรา ด้วยวิธีการ Tri-culture test 18
4.1 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *T. harzianum* (SB17-17) บนอาหาร PDA ลักษณะโคโลนีด้านหน้าจานเพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 3 วัน (ก) ลักษณะโคโลนีด้านหลังจานเพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 3 วัน (ข) ผิวหน้าโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (ค) ผนังกั้นเส้นใย (ง) สปอร์ (จ) conidiophore ที่ย้อมด้วยสี lactophenol cotton blue ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (ฉ)..... 27
4.2 ลักษณะของสัณฐานวิทยาขอเชื้อรา *T. lixii* (SB17-02) ลักษณะโคโลนีด้านหน้าจานเพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 3 วัน (ก) ลักษณะโคโลนีด้านหลังจานเพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 3 วัน (ข) ผิวหน้าโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (ค) ผนังกั้นเส้นใย (ง) สปอร์ (จ) Conidiophore ที่ย้อมด้วยสี lactophenol cotton blue ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (ฉ) 29
4.3 ลักษณะของสัณฐานวิทยาขอเชื้อรา *T. capillare* (VP2-03) ลักษณะโคโลนีด้านหน้าจานเพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 3 วัน (ก) ลักษณะโคโลนีด้านหลังจานเพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 3 วัน (ข) ผิวหน้าโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (ค) ผนังกั้นเส้นใย(ง) สปอร์ (จ) Conidiophore ที่ย้อมด้วยสี lactophenol cotton blue ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (ฉ)..... 31
4.4 Dual culture บนอาหาร PDA คู่ที่ 1 ได้แก่ *T. harzianum* VS *T. lixii* ด้านหน้าเพลทเลี้ยงเชื้อ (ก) ด้านหลังเพลทเลี้ยงเชื้อ (ข)..... 33
4.5 Dual culture บนอาหาร PDA คู่ที่ 2 ได้แก่ *T. harzianum* VS *T. capillare* ด้านหน้าเพลทเลี้ยงเชื้อ (ก) ด้านหลังเพลทเลี้ยงเชื้อ (ข) 34
4.6 Dual culture บนอาหาร PDA คู่ที่ 3 ได้แก่ *T. lixii* VS *T. capillare* ด้านหน้าเพลทเลี้ยงเชื้อ (ก) ด้านหลังเพลทเลี้ยงเชื้อ (ข)..... 35
4.7 Tri culture บนอาหาร PDA จำนวน 1 กลุ่ม ได้แก่ *T. harzianum* VS *T. lixii* VS *T.* capillare ด้านหน้าเพลทเลี้ยงเชื้อ (ก) ด้านหลังเพลทเลี้ยงเชื้อ (ข)..... 37
4.8 การเปรียบเทียบลักษณะหัวเชื้อรา *Trichoderma* 3 สปีชีส์ บนข้าวสุก..... 39
4.9 กราฟแสดงการเปรียบเทียบการยุบตัวของวัสดุในขณะหมักปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 28..... 42
4.10 ลักษณะปุ๋ยหมักเริ่มการหมักปุ๋ยวันที่ 0 (ภาพด้านซ้าย)และลักษณะปุ๋ยหมักหลังการหมักปุ๋ยครบ 7 วัน (ภาพด้านขวา) ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 1 (ก) ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 2 (ข) ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 3 (ค) ปุ๋ยสูตรที่ 1 (ง) ปุ๋ยสูตรที่ 2 (จ)..... 44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ **หน้า**

4.11 ลักษณะปุ๋ยหมักหลังการหมักปุ๋ยครบ 14 วัน (ภาพด้านซ้าย)และลักษณะปุ๋ยหมักหลังการหมักปุ๋ยครบ 21 วัน (ภาพด้านขวา) ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 1 (ก) ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 2 (ข) ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 3 (ค) ปุ๋ยสูตรที่ 1 (ง) ปุ๋ยสูตรที่ 2 (จ)..... 45
4.12 ลักษณะปุ๋ยหมักหลังการหมักปุ๋ยครบ 28 วัน ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 1 (ก) ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 2 (ข) ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 3 (ค) ปุ๋ยสูตรที่ 1 (ง) ปุ๋ยสูตรที่ 2 (จ)..... 46
4.13 ค่าธาตุอาหารหลักของปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพที่ตรวจสอบด้วยชุดทดสอบปุ๋ยเคมี มก.5 47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	คำอธิบาย
K	Potassium
N	Nitrogen
P	Phosphorus
PDA	Potato dextrose agar
PIRG	Precent Inhibition of Radial Growth
SB17-02	*Trichoderma lixii*
SB17-17	*Trichoderma harzianum*
VP2-03	*Trichoderma capillare*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปุ๋ย (fertilizer) คือ วัสดุที่มีธาตุอาหารพืชเป็นองค์ประกอบ หรือสิ่งมีชีวิตที่ก่อให้เกิดธาตุอาหาร เมื่อใส่ลงไปในดินแล้วจะปลดปล่อย หรือสังเคราะห์ธาตุอาหารที่จำเป็นให้แก่พืช (อมรทิพย์และอำไพพงษ์, 2559) ซึ่งในปัจจุบันประเทศไทยกำลังประสบปัญหาด้านการขาดแคลนปุ๋ย และปุ๋ยราคาแพงจากสภาพปัญหาเศรษฐกิจโลก โดยหน่วยงานรัฐบาลได้มอบหมายงานด้านกรมปศุสัตว์เร่งส่งเสริมให้เกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์นำเอาปุ๋ยคอกมาใช้ในภาคการเกษตรเพิ่มมากขึ้น และกรมพัฒนาที่ดินส่งเสริมปุ๋ยอินทรีย์เพื่อทดแทนการใช้ปุ๋ยเคมี ช่วยเกษตรกรเข้าถึงปุ๋ยที่มีคุณภาพ อย่างเพียงพอ ทั่วถึง และใช้ปุ๋ยให้มีประสิทธิภาพสูงสุด (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2565) ในขณะเดียวกันประเทศไทยยังประสบปัญหาเรื่องขยะอินทรีย์ในครัวเรือนเหลือทิ้งเป็นจำนวนมาก จากผลการสำรวจองค์ประกอบขยะมูลฝอย ณ สถานที่กำจัดขยะมูลฝอย ปี 2564 พบว่า มีสัดส่วนขยะอาหารร้อยละ 38 คิดเป็นปริมาณขยะอาหารถึง 9.68 ล้านตัน ที่ถูกทิ้งไปยังสถานที่กำจัดขยะมูลฝอย คิดเป็น 146 กิโลกรัมต่อคนต่อปี โดยทั่วไปขยะอาหารจะประกอบด้วยส่วนที่รับประทานได้ (Edible) ร้อยละ 39.5 และ ส่วนที่รับประทานไม่ได้ (Inedible) ร้อยละ 60.5 เช่น กระดูก ก้าง และเปลือก (กรมควบคุมมลพิษ, 2565)

จากปัญหาทั้งสองกรณีที่กล่าวมา สามารถหาวิธีและการนำเศษผักและเศษผลไม้มาพัฒนาเป็นวัตถุดิบในกระบวนการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ เพื่อช่วยลดปริมาณขยะอินทรีย์อีกทั้งยังส่งเสริมการเข้าถึงปุ๋ยอินทรีย์ให้แก่เกษตรกร และช่วยลดต้นทุนในด้านต้นทุนการผลิต จากการใช้ปุ๋ยเคมี มาเป็นการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพแทน โดยในการศึกษาครั้งนี้ เราจะมุ่งเน้นด้านการศึกษากระบวนการพัฒนาปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพด้วยเชื้อรา *Trichoderma* 3 สปีชีส์ ได้แก่เชื้อรา *Trichoderma capillare*, *Trichoderma harzianum* และ *Trichoderma lixii* โดยงานวิจัยของ Adetunji และ Anani (2020) กล่าวว่า การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ได้รับการยอมรับว่าเป็นเครื่องมือทางเทคโนโลยีชีวภาพที่ยั่งยืน สำหรับการใช้ประโยชน์จำนวนมาก เพื่อกำจัดโรคเน่าในพืชและนำไปใช้ในกระบวนการหมักปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ นอกจากนี้เชื้อรา *Trichoderma* มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ cellulase โดยมีงานศึกษาก่อนหน้านี้อธิบายถึงการสร้างเอนไซม์ cellulases โดยเชื้อ *Trichcderma resei* และ สปีชีส์อื่น ๆ ได้ศึกษาขบวนการปลดปล่อย cellulase ของเชื้อรา *Trichoderma* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน โดยได้ทำแบบจำลองเริ่มต้นด้วยสปอร์ของเชื้อราสร้าง Cellobiohydrolses ออกมาสลายโมเลกุลของ cellulose (ฉวีวรรณ และคณะ, 2561)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะเห็นได้ว่าเชื้อรา *Trichoderma* สามารถย่อยสลาย cellulose และ hemicellulose ได้ ดังนั้นเราจึงมีแนวคิดที่จะศึกษาการเจริญเติบโตร่วมกันของเชื้อรา *Trichoderma* 3 สปีชีส์ และการนำเชื้อรา *Trichoderma* 3 สปีชีส์ มาใช้ในการหมักปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ เพื่อนำมาพัฒนาปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพให้ดียิ่งขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาการอยู่ร่วมกันของเชื้อรา *Trichoderma* จำนวน 3 สปีชีส์

1.2.2 เพื่อพัฒนาการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพจากเศษผักและผลไม้เหลือทิ้งร่วมกับเชื้อรา *Trichoderma* จำนวน 3 สปีชีส์

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 ศึกษาเชื้อรา *Trichoderma* จำนวน 3 สปีชีส์ ได้แก่ เชื้อรา *Trichoderma capillare, Trichoderma harzianum และ Trichoderma lixii*

1.3.2 ใช้เศษผักและผลไม้เหลือทิ้งที่ได้จาก โรงอาหารคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

1.3.3 ศึกษาปริมาณธาตุอาหาร และอินทรีย์คาร์บอนในปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ลดปริมาณขยะอินทรีย์ในครัวเรือนให้ลดน้อยลง และนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ปุ๋ย

ปุ๋ย (Fertilizer) ปุ๋ยส่วนใหญ่ที่นิยมใช้ในการเกษตรมีธาตุอาหารหลักของพืช ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยทั่วไปการใส่ปุ๋ยในดินมีจุดประสงค์ เพื่อเพื่อปรับปรุงคุณสมบัติทางกายภาพ ชีวภาพ และเคมีของดิน โดยคุณสมบัติทางกายภาพ ได้แก่ ความร่วนความพรุน และการดูดซึม คุณสมบัติทางชีวภาพมีความเกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในดิน คุณสมบัติทางเคมีสัมพันธ์กับค่า pH ของดิน และความพร้อมของธาตุอาหารให้กับพืช (Sharma และ Chetani, 2017)

2.2 ปุ๋ยอินทรีย์ (Organic fertilizer)

ปุ๋ยอินทรีย์ (Organic fertilizer) เป็นปุ๋ยที่มีส่วนประกอบเป็นสารอินทรีย์ ที่ได้มาจากการหมัก สับ บด ร่อน จากวัสดุอินทรีย์ และมีธาตุอาหารที่จำเป็นอยู่น้อยเมื่อเทียบกับปุ๋ยเคมี อีกทั้งพืชจะไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ทันทีต้องผ่านกระบวนการย่อยสลายของจุลินทรีย์ในดิน โดยปุ๋ยอินทรีย์สามารถแบ่งเป็นประเภทได้ตามแหล่งที่มาหรือวัสดุตั้งต้นได้ 3 ประเภท (ทวีทรัพย์ และคณะ, 2560)

2.2.1 ปุ๋ยคอก (Animal manures)

ปุ๋ยอินทรีย์ที่ได้จากสิ่งขับถ่ายของสัตว์หรือมูลสัตว์ต่าง ๆ เช่น โค กระบือ ไก่ โดยสามารถอยู่ในรูปแบบสด แบบแห้ง หรือนำไปย่อยให้เกิดการย่อยสลายก่อนนำไปใช้ (อมรทิพย์ และคณะ, 2559) โดยทั่วไปจะมีปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมอยู่ในปริมาณที่ค่อนข้างต่ำ (อมรทิพย์ และคณะ, 2558) ปุ๋ยคอกนอกจากช่วยเพิ่มปริมาณธาตุอาหารในดินแล้วยังช่วยทำให้ดินร่วนซุยทำให้การเตรียมดินทำได้ง่าย

2.2.2 ปุ๋ยหมัก (Farm manures)

ปุ๋ยอินทรีย์ที่ได้จากการนำซากเศษพืชหรือวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรมาหมักและผ่านกระบวนการย่อยสลายโดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ สามารถหมักได้ในรูปแบบของการกองซ้อนกันบนพื้น หรืออยู่ในหลุม มีการเติมตัวช่วยการย่อยสลาย เช่น กากน้ำตาล ดิน จนเปลี่ยนสภาพไปจากเดิมเป็นสารอินทรีย์วัตถุที่มีความคงทน ไม่มีกลิ่น มีสีน้ำตาลปนดำ (อมรทิพย์ และอำไพพงษ์, 2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3 ปุ๋ยพืชสด (Green manures)

ปุ๋ยอินทรีย์ที่ได้จากการปลูกพืชบำรุงดินได้แก่พืชตระกูลถั่วต่าง ๆ แล้วทำการไถกลบเมื่อพืชเจริญมากที่สุด ธาตุอาหารในพืชสดจะถูกย่อยสลายและปลดปล่อยให้พืชหลังจากผ่านการย่อยสลายในดิน (อมรทิพย์ และคณะ, 2558)

2.3 ปุ๋ยชีวภาพ (Bio fertilizer)

ปุ๋ยชีวภาพ (Bio fertilizer) คือปุ๋ยที่ประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่ยังมีชีวิตอยู่และมีคุณสมบัติพิเศษในการสังเคราะห์สารประกอบธาตุอาหารพืชได้ โดย อมรทิพย์ และอำไพพงษ์ (2559) กล่าวไว้ว่า ปุ๋ยชีวภาพแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ

2.3.1 ปุ๋ยชีวภาพที่ประกอบด้วยจุลินทรีย์สร้างธาตุอาหารพืช

ปุ๋ยที่มีจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างธาตุอาหารได้ในปัจจุบันเพียงกลุ่มเดียว คือ กลุ่มจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจน ประกอบด้วยแบคทีเรียและแอคทีโนมัยซีท และเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถสังเคราะห์สารประกอบอาหารพืชไนโตรเจนได้เอง ได้แก่ ไรโซเบียมที่อยู่ในปมรากพืชตระกูลถั่ว สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่อยู่ในโพรงใบของแหนแดง ที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศให้แก่พืชได้เช่นกัน (กองส่งเสริมการอารักขาพืชและจัดการดินปุ๋ย, 2558 ; อมรทิพย์ และอำไพพงษ์, 2559) ซึ่งปุ๋ยชีวภาพประเภทนี้สามารถแบ่งตามลักษณะความสัมพันธ์กับพืชอาศัยได้ 2 แบบ คือ

กลุ่มที่ 1 ปุ๋ยชีวภาพที่ประกอบด้วยแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่อาศัยอยู่ร่วมกับพืชแบบพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน (Symbiosis)

กลุ่มที่ 2 ปุ๋ยชีวภาพที่ประกอบด้วยแบคทีเรียตรึงไนโตเจน ที่อาศัยอยู่ร่วมกับพืชแบบอิสระ (Non-symbiotic N_2 -fixing bacteria) (กองส่งเสริมการอารักขาพืชและจัดการดินปุ๋ย, 2558)

2.3.2 ปุ๋ยชีวภาพที่ประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่ช่วยให้ธาตุอาหารเป็นประโยชน์กับพืช

ปุ๋ยกลุ่มจุลินทรีย์ที่ช่วยทำให้ธาตุอาหารพืชในดิน ละลายออกมาเป็นประโยชน์ต่อพืชมากขึ้น (กองส่งเสริมการอารักขาพืชและจัดการดินปุ๋ย, 2558 ; อมรทิพย์ และอำไพพงษ์, 2559) สามารถแบ่งปุ๋ยชีวภาพที่ประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่ช่วยให้ธาตุอาหารเป็นประโยชน์กับพืช 2 ประเภทคือ

1.ปุ๋ยชีวภาพแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช หรือ พีจีพีอาร์ (Plant Growth Promoting Rhizobacteria or PGPR)

2.ปุ๋ยชีวภาพที่ช่วยเพิ่มความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 กระบวนการในการผลิตปุ๋ยอินทรีย์

กระบวนการหมักปุ๋ยเป็นกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพของสารอินทรีย์โดยจุลินทรีย์หลายชนิด ภายใต้สภาวะที่มีสารอาหาร ความชื้น อุณหภูมิ และปัจจัยอื่น ๆ ที่เหมาะสมต่อการทำงานของจุลินทรีย์มากที่สุดจนได้ผลผลิตที่มีความคงตัว มีค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่ำไม่มีกลิ่น และสามารถนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านเกษตรกรรมได้

2.4.1 การหมักปุ๋ยแบบใช้ออกซิเจน (Aerobic Composting)

การหมักแบบจุลินทรีย์ชนิดใช้ออกซิเจนจะย่อยสลายสารอินทรีย์ (Organic Matter) ได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน เซลลูโลส กรดอะมิโน ฯลฯ ในสภาวะที่มีออกซิเจน และได้ผลิตภัณฑ์ที่เป็น สารคงตัวหรือฮิวมัส น้ำ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซอื่น ๆ เช่น แอมโมเนีย ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ และพลังงานความร้อน (โองการ, 2555) กระบวนการหมักปุ๋ยประกอบด้วยกลไกที่สำคัญ 2 ขั้นตอน ได้แก่

1) การย่อยสลายอย่างเข้มข้น (Intensive rotting phase) เกิดขึ้นในช่วง 24 ชั่วโมงแรกของการหมัก อุณหภูมิของการหมักจะสูงถึง 45 องศาเซลเซียสซึ่งเป็นช่วงที่เกิดการยอยสลายสารอินทรีย์โดยแบคทีเรียประเภทมีโซฟิลิค (Mesophilic) หลังจาก 24 ชั่วโมงแล้วอุณหภูมิของสารหมักจะสูงขึ้นจนถึงประมาณ 75 องศาเซลเซียสช่วงนี้การย่อยสลายสารอินทรีย์จะเกิดขึ้นเนื่องจากแบคทีเรียประเภทเทอร์โมฟิลิค (Thermophilic) (โองการ, 2555)

2) การย่อยสลายขั้นสุดท้าย (Final rotting phase) หลังจากที่การย่อยสลายอย่างเข้มข้นเสร็จสิ้นแล้วอุณหภูมิจะค่อย ๆ ลดลงเหลือประมาณ 30ºC อินทรีย์สารที่ย่อยสลายได้ยาก เช่น พวกเซลลูโลสจะถูกย่อยสลายในขั้นนี้ การย่อยสลายในขั้นตอนนี้จะมี กลุ่มจุลินทรีย์ และพวกเชื้อรา ได้แก่ ฟังไจ (fungi) และ แอคติโนมัยซีท (actinomycetes) ช่วยในการย่อยสลายสารที่ย่อยสลายได้ยากที่เหลืออยู่ด้วย (โองการ, 2555)

2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการหมักปุ๋ย

การย่อยสลายอินทรีย์วัตถุไปเป็นปุ๋ยนั้นเกิดขึ้นได้โดยอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์เป็นกุญแจสำคัญ ดังนั้นปัจจัยที่จะมีผลต่อการหมักปุ๋ยคือปัจจัยที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและดำรงชีพของจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.1 ชนิดและขนาดของวัสดุหมัก

วัสดุที่สามารถย่อยสลายได้เท่านั้นที่สามารถนำมาหมักได้ เช่น ฟาง หญ้าและใบไม้เขียว ผักและเปลือกผลไม้ วัชพืชที่ไม่มีเมล็ด เปลือกไข่ที่แตกหรือบดแล้ว เป็นต้น โดยทั่วไปขนาดที่เหมาะสมของวัสดุหมักคือวัสดุหมักที่มีโครงสร้างแข็งไม่อัดแน่นมาก ตัดให้มีขนาดอยู่ในช่วง 0.5 – 3 นิ้ว และขยะสดสีเขียวควรตัดให้มีขนาดอยู่ในช่วง 2-3 นิ้ว ขนาดของวัสดุหมักที่มีชิ้นเล็กจะเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสให้จุลินทรีย์เข้าทำการย่อยสลายได้ดียิ่งขึ้น (ทวีทรัพย์ และคณะ, 2560)

2.5.2 ค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน

จุลินทรีย์ที่ย่อยสลายอินทรีย์สารจะใช้คาร์บอนเป็นแหล่งพลังงานภายในเซลล์ และใช้ไนโตรเจนเพื่อสร้างโครงสร้างของเซลล์ในการเจริญเติบโต ซึ่งถ้าในการหมักมีค่าสัดส่วนของ C/N สูง คือปริมาณไนโตรเจนไม่เพียงพอ จุลินทรีย์เจริญเติบโตได้ช้าส่งผลให้อัตราการย่อยสลายต่ำ แต่ถ้าวัสดุหมักมีค่าสัดส่วนของ C/N ต่ำคือมีปริมานไนโตรเจนมากทำให้การเจริญเติบโตและการย่อยสลายเกิดขึ้นอยางรวดเร็วซึ่งถ้ากองปุ๋ยมีการเติมอากาศไม่เพียงพออาจทำให้เกิดสภาพแอนแอโรบิคได้และหากปริมาณไนโตรเจนมีมากเกินจะถูกเปลี่ยนเป็นก๊าซแอมโมเนียซึ่งจะเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ค่าสัดส่วนของ C/N ที่นิยมใช้กันทั่วไปสำหรับวัสดุหมักที่เป็นสารอินทรีย์มีค่าอยู่ในช่วง 25-30 โดยอัตราส่วน C/N ของเศษผักและผลไม้ ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1: รายการอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของวัสดุแต่ละชนิด

ชนิดของวัตถุดิบ	อัตราส่วน C/N
ผัก	24:1
เปลือกผลไม้	35:1

ที่มา : Hamid และคณะ. (2018)

2.5.3 ค่า pH

ในระหวางการหมักค่า pH จะอยู่ระหว่าง 6.0-9.0 โดยที่แบคทีเรีย และเชื้อราจะเจริญเติบโตได้ดีที่ pH 6.0-7.5 และ 5.5-8.0 ตามลำดับ การที่กองปุ๋ยหมักมีค่าพีเอชต่ำเนื่องจากปริมาณออกซิเจนไม่เพียงพอ เกิดกรดอินทรีย์จากกระบวนการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจนแต่ถ้ากองปุ๋ยมีค่าพีเอชสูงเกินไปนั้นเกิดจากแอมโมเนียมกลายเป็นแอมโมเนีย ซึ่งเป็นพิษต่อจุลินทรีย์และอาจก่อให้เกิดกลิ่นเหม็น (โองการ, 2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานวิจัยของ Puntsag และคณะ (2022) ทำการทดลองทำปุ๋ยหมักจากเศษผักโดยหมักเป็นเวลา 60 วัน ผลการทดลองที่ได้พบสารอาหารหลัก ได้แก่ ไนโตรเจน (0.5-1.5%) ฟอสฟอรัส (0.1-0.2%) โพแทสเซียม (0.4-0.8%) ตัวชี้วัดธาตุอาหาร จุลธาตุ และคุณภาพสารอาหารของปุ๋ยหมักเป็นที่ยอมรับจากผลการวิจัยพบความเป็นไปได้ที่จะสร้างปุ๋ยหมักจากเศษผักใน 60 วัน

งานวิจัยของ Hamid และคณะ (2018) ศึกษาการหมักปุ๋ยจากเศษอาหารในถังหมักแบบหมุนที่ออกแบบมาสำหรับการทำปุ๋ยหมักแบบใช้ออกซิเจน เมื่อสิ้นสุดกระบวนการทำปุ๋ยหมักอุณหภูมิของปุ๋ยหมักจะอยู่ที่อุณหภูมิเดียวกับสภาพแวดล้อมและมีค่า pH อยู่ที่ 7.5 ผลการศึกษาพบว่าปุ๋ยหมักที่ผลิตได้ประกอบด้วยไนโตรเจนทั้งหมดเป็น 0.9% ฟอสฟอรัสทั้งหมด 0.8% และโพแทสเซียมทั้งหมด 0.4% มีกลิ่นคล้ายดินและมีสีน้ำตาลเข้ม

งานวิจัยของ Ramamoorthy และคณะ (2024) ศึกษาการแปลงขยะอาหารซึ่งรวมถึงขยะผักและผลไม้ให้เป็นปุ๋ยอินทรีย์ที่เป็นของแข็ง และของเหลว และประเมินอิทธิพลของปุ๋ยในการเจริญเติบโต (การงอก สารพฤกษเคมี และชีวโมเลกุล) ของมะเขือเทศ และพริกหยวก พบว่าเมื่อทดลองในกระถางเป็นเวลา 30 วันด้วยการใช้ปุ๋ยต่าง ๆ แสดงให้เห็นในการช่วยเพิ่มชีวมวลสดและน้ำหนักแห้งต่อพืชทดสอบอย่างมีนัยสำคัญ

2.6 ธาตุอาหารหลักที่พืชต้องใช้ในการเจริญเติบโต

ธาตุอาหารหลัก คือ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ซึ่งเป็นธาตุอาหารที่พืชต้องการปริมาณมากจึงจะเพียงพอต่อความต้องการปกติ ซึ่งมีความสำคัญต่อกระบวนการทางสรีระวิทยาต่าง ๆ ในพืช ทำให้พืชมีการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตสูง (เสาวณี. 2545 ; ยงยุทธ. 2534)

2.6.1 ไนโตรเจน (Nitrogen : N)

เสาวณี (2545) กล่าวไว้ว่า ไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบของโปรตีน เอนไซม์ กรดนิวคลีอิก และ คลอโรฟิลล์ ซึ่งเป็นสารที่มีความสำคัญต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของพืช ช่วยกระตุ้นให้พืชมีการเจริญเติบโตและมีความแข็งแรงควบคุมการออกดอกของพืช และขยายเพิ่มผลผลิตในพืชที่ให้ผลผลิต ที่มีความสำคัญต่อการเจริญในด้านลำต้น การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตราสูงทำให้การเจริญทางลำต้น ใบ มากเกินไป เป็นสาเหตุทำให้ผลและรากชะงักการเจริญเติบโต และเป็นสาเหตุให้ต้นพืชตายได้ ในกรณีที่พืชยังไม่เหี่ยวอาจจะแก้ไขด้วยการให้น้ำ ควบคุมอุณหภูมิ และความเข้มแสงต่อการคายน้ำ พืชที่ขาดไนโตรเจน จะมีลำต้นขนาดเล็ก ใบขนาดเล็ก บาง สีซีด ใบแก่จะแสดงอาการก่อน มีสีเขียวปนเหลือง ใบอ่อนจะชะงักการเจริญเติบโต ผลมีลักษณะสั้นหนา บิดงอ และเหี่ยว (จุฑามาศ, 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.2 ฟอสฟอรัส (Phosphorus : P)

เสาวณี (2545) ได้กล่าวถึงฟอสฟอรัสไว้ว่า เป็นส่วนประกอบของฟอสโฟลิปิด กรดนิวคลีอิก นิวคลีโอโปรตีน และโคเอนไซม์ จำเป็นต่อกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงไกลโคลิซีส การหายใจและการสร้างกดไขมันและเป็นธาตุอาหารสำคัญสำหรับไม้ผล

กรมพัฒนาที่ดิน (2553) กล่าวว่า ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารหลักที่พืชต้องการเป็นปริมาณมาก และมีหน้าที่เกี่ยวกับการถ่ายทอดพลังงาน ที่พืชได้รับจากการสังเคราะห์ด้วยแสงหรือกระบวนการเมตาบอลิซึมของสารประกอบคาร์โบไฮเดรตโดยจะเก็บอยู่ในรูปฟอสเฟต และเป็นส่วนประกอบของนิวคลีโอไทด์และไลปิด ระยะแรกฟอสฟอรัสจะมีความจำเป็นต่อการเจริญของรากโดยเฉพาะเมื่ออุณหภูมิต่ำ และยังมีส่วนช่วยในการเจริญเติบโตของลำต้น ใบ ดอก และผล เม็ดดินจะยึดจับฟอสฟอรัสได้ดี แต่จะถูกชะล้างได้ง่ายในสารละลาย พืชที่ขาดฟอสฟอรัสในขั้นแรกจะหยุดการเจริญเติบโต ใบอ่อนจะมีขนาดเล็ก หนา สีเขียวปนเทา ใบแก่จะเกิดแผลช้ำที่ใบ (จุฑามาศ 2556)

2.6.3 โพแทสเซียม (Potassium : K)

โพแทสเซียมเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ในกระบวนการไกลโคลิซิส ไนเตรทรีดักเทส การสังเคราะห์แป้ง โปรตีน และทำให้เกิดการเคลื่อนย้ายแป้งและน้ำตาลในพืช รักษาสภาพความแก่ของเซลล์ควบคุมการเปิดปิดของปากใบและช่วยในการสร้างเซลลูโลสในผนังเซลล์ทำให้พืชแข็งแรงลดการหักล้มของต้นและช่วยให้มีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของโรคแมลงและทนแล้งได้ดี โพแทสเซียมเป็นธาตุที่จำเป็นต่อสรีระวิทยาของพืช เป็นธาตุอาหารที่เคลื่อนย้ายในพืชได้ดี พืชต้องการในปริมาณสูง ประสิทธิภาพของโพแทสเซียมขึ้นอยู่กับความสัมพันธ์กับแร่ธาตุต่าง ๆ เช่น ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส ส่วนแคลเซียมมีผลในกรณีที่พืชขาดแคลเซียม แอมโมเนียมจะจำกัดการนำโพแทสเซียมไปใช้ประโยชน์ และการขาดโพแทสเซียมมีแนวโน้มที่จะขาดธาตุเหล็ก ในกรณีที่พืชขาดธาตุโพแทสเซียมระยะแรกจะแสดงอาการที่ใบก่อน และขยายจากล่างสุดไปบนสุด พืชจะชะงักการเจริญเติบโต ใบจะมีขนาดเล็ก ขอบใบแก่แห้ง งอม้วนลง (เสาวณี 2545)

2.7 มาตรฐานกำหนดเกณฑ์ปุ๋ยอินทรีย์

กรมวิชาการเกษตรกำหนดมาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ พ.ศ.2548 ขึ้น เพื่อให้การผลิตปุ๋ยอินทรีย์เป็นไปอย่างถูกต้องตามมาตราฐาน และเป็นการรักษาผลประโยชน์ของเกษตรกร โดยประกอบด้วยรายละเอียดกำหนดคุณสมบัติของปุ๋ยอินทรีย์ ดังตารางที่ 2.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 เกณฑ์มาตรฐานกำหนดปุ๋ยอินทรีย์

ลำดับที่	คุณลักษณะ	เกณฑ์ที่กำหนด
1	ขนาดของปุ๋ย	ไม่เกิน 12.5x12.5 มิลลิเมตร
2	ปริมาณความชื้นที่ระเหยได้	ไม่เกิน 35 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
3	ปริมาณหิน และ กรวด	ขนาดใหญ่กว่า 5 มิลลิเมตร ไม่เกิน 5 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก
4	พลาสติก แก้ว วัสดุมีคมและโลหะอื่น ๆ	ต้องไม่มี
5	ปริมาณอินทรีย์วัตถุ	ไม่น้อยกว่า 30 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
6	ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)	5.5-8.5
7	อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N)	ไม่เกิน 20:1
8	ค่าการนำไฟฟ้า (EC : Electrical Conductivity)	ไม่เกิน 6 เดซิซีเมน/เมตร
9	ปริมาณธาตุอาหารหลัก	-ไนโตรเจน (total N) ไม่น้อยกว่า 0.1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก -ฟอสฟอรัส (total P_2O_5) ไม่น้อยกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก -โพแทสเซียม (total K_2O) ไม่น้อยกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
10	การย่อยสลายที่สมบูรณ์	มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์
11	สารหนู (Arsenic)	ไม่เกิน 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
	แคดเมียม (Cadmium)	ไม่เกิน 5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
	โครเมียม (Chromium)	ไม่เกิน 300 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
	ทองแดง (Copper)	ไม่เกิน 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
	ตะกั่ว (Lead)	ไม่เกิน 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
	ปรอท (Mercury)	ไม่เกิน 2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

ที่มา : กรมวิชาการเกษตร, (2548)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 เซลลูโลส

เซลลูโลสเป็นสารคาร์โบไฮเดรตที่เป็นองค์ประกอบหลักของผนังเซลล์พืชทุกชนิดโดยมีสารอื่นร่วมเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย เช่น เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) เพกติน (Pectin) และลิกนิน (Lignin) โดยเซลลูโลสอยู่ในชั้นในสุดของผนังเซลล์พืช ซึ่งจัดเรียงตัวอยู่ในชั้นไมโครไฟบริล (Microfibril) ที่ห่อหุ้มด้วยร่างแห (Matrixs) ของเฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ซึ่งมีลักษณะแข็งหุ้มอยู่ชั้นนอกสุดของผนังเซลล์พืช โดยเซลลูโลสทำหน้าที่ให้ความแข็งแรงกับพืช เซลลูโลสที่บริสุทธิ์ในธรรมชาติคือ ใยฝ้ายหรือสำลี ซึ่งประกอบด้วยเซลลูโลส ที่เรียกว่า α-cellulose ประมาณ 98 เปอร์เซ็นต์ ในไม้ยืนต้นมีเซลลูโลสประกอบอยู่ประมาณ 40-50 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ในต้นหญ้าและต้นถั่วที่มีอายุน้อยจะมีเซลลูโลสอยู่ประมาณ 15 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้งนอกจากนี้เซลลูโลสยังได้จากวัสดุทางการเกษตรต่าง ๆ (จิราภรณ์, 2553)

การย่อยสลายเซลลูโลสทำได้ 2 วิธี

1.วิธีการทางเคมีหรือการย่อยสลายด้วยกรดเข้มข้นหรือเจือจาง (Acid hydrolysis) เช่น กรดซัลฟูริก และกรดไฮโดรคลอริก ซึ่งต้องทำภายใต้อุณหภูมิสูง

2.วิธีการทางชีวภาพหรือการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (Enzyme hydrolysis) ปฏิกิริยาย่อยสลายจะเกิดในสภาวะที่ไม่รุนแรงคือที่อุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส ณ ความดันบรรยากาศ โดยพืช สัตว์ และจุลินทรีย์สามารถผลิตเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสได้ พืช ได้แก่ ข้าว ข้าวบาร์เลย์ สัตว์ ได้แก่ ไส้เดือนบางชนิด และปลวก จุลินทรีย์ ได้แก่ เชื้อรา เช่น *Trichderma* spp. (รัฐพร, 2555)

จากงานวิจัยของ วิทวัส (2562) กล่าวไว้ว่า เชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium* สามารถเจริญร่วมกับ เชื้อรา *Trichoderma reesei* ได้ แล้วพบว่าเชื้อรา *P. chrysosporium* ยังช่วยส่งเสริมให้เชื้อรา *T. reesei* ทำงานได้อย่างประสิทธิ์ภาพในการย่อยเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส พบว่าน้ำเสียตัวอย่างเริ่มต้น มีปริมาณของสารแขวนลอย เริ่มต้นที่ 2,751 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า COD อยู่ที่ 10,667 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งหลังจากการบำบัดน้ำเสียด้วยเชื้อรา พบว่า สามารถลดค่า COD เหลือเพียง 4% (533 มิลลิกรัมต่อลิตร)

งานวิจัยของ de Souza และคณะ (2018) ศึกษาการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดยเชื้อรา *Trichoderma* ที่คัดแยกได้จากป่าอเมซอนของบราซิล เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อราอ้างอิง *Trichoderma reesei* RUT C-30 พบว่า *Trichoderma harzianum* ที่คัดแยกได้แสดงการทำงานของเซลลูเลสทั้งหมด 1.63 FPU/mL ซึ่งสูงกว่าที่วัดได้จาก *T. reesei* RUT C-30 และ *T. harzianum* ยังสร้าง β-glucosidase สูงถึง 3.55 BGU/mL

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9 *Trichoderma*

โดเมน (Domain) : Eukaryote

อาณาจักร (Kingdorm) : Fungi

ไฟลัม (Phylum) : Ascomycota

ชั้น (Calss) : Sordariomycetes

อันดับ (Order) : Hypocerales

วงศ์ (Family) : Hypocreaceae

สกุล (Genus) :*Trichoderma*

ที่มา : โชษิตา (2564)

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Trichoderma* spp. มีโคโลนีเจริญเร็วและสร้างสปอร์ที่อุณหภูมิมากกว่าหรือเท่ากับ 35 องศาเซลเซียส อาจมีการสร้างรงควัตถุสีเหลืองบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) เส้นใยมีผนังกั้น แตกแขนงมาก Condidiophores มีสีจางหรือไม่มีสี พบ Phialides เกิดเดี่ยว ๆ หรือเป็นกลุ่ม รูปร่างสปอร์เป็นแบบเซลล์เดียวรูปไข่ ไม่มีสีเกิดเป็นกลุ่มเล็ก ๆ ที่ปลาย Phialides (Samuels และคณะ, 2012)

เชื้อรา *Trichoderma* เป็นเชื้อราชั้นสูงที่อาศัยอยู่ในดินอาศัยซากพืชซากสัตว์และอินทรียวัตถุ เป็นแหล่งอาหารสามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อราหลายชนิด มีเส้นใยสีขาว และมีส่วนขยายพันธุ์ที่เรียกว่า “Conidia” หรือ “สปอร์”จำนวนมากรวมเป็นกลุ่มหนาแน่น จนเห็นเป็นสีเขียว (ทวีทรัพย์ และกัญชลิกา, 2561 ; กรมส่งเสริมการเกษตร)

เชื้อรา *Trichoderma* เป็นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์หรือเป็นศัตรูต่อเชื้อราโรคพืชหลายชนิด โดยสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพืช เช่น *T. hazianum*, *T. koningi*, *T. longibrachiatum*, *T.virens* และ *T. viride* (ทวีทรัพย์ และกัญชลิกา, 2561) เชื้อบางสายพันธุ์สามารถเป็นปรสิต (Parasite) โดยการพันรัดเส้นใยเชื้อราสาเหตุของโรคแล้วสร้างเอนไซม์เช่น ไคติเนส (Chitinase) โปรติเอส (Protease) เบต้า-1,3 กลูคาเนส (β-1,3-glucanase) และเซลลูเลส (Cellulase) ซึ่งมีคุณสมบัติในการย่อยสลายเส้นใยของเชื้อโรคจากนั้นจึงแทงเส้นใยเข้าไปเจริญอยู่ภายในเส้นใยเชื้อโรคพืช (แก้วฉาย, 2555) นอกจากนี้ยังสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและฟื้นฟูสภาพดินที่เสื่อมโทรม เป็นเพราะเชื้อรา *Trichoderma* สามารถเจริญเติบโตพร้อมกับระบบรากของพืชทำให้รากพืชถูกปกป้องคุณสมบัติพิเศษของเชื้อรา *Trichoderma* คือ สามารถช่วยละลายธาตุอาหารให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืชมีส่วนช่วยส่งเสริมให้พืชเจริญเติบโต (Zin และ Badaluddin, 2020 ; ทวีทรัพย์ และกัญชลิกา, 2561)

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Cai และคณะ (2013) พบว่า *T. harzianum* สายพันธุ์ SQR-T037 ปล่อยสารทุติยภูมิชื่อ harzianolide ผลการวิจัยพบว่า harzianolide กระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นกล้ามะเขือเทศ ในระบบไฮโดรโพนิกหรือในดินอย่างมีนัยสำคัญ ที่ความเข้มข้น 0.1 ppm และ 1 ppm ผลการศึกษาเพิ่มเติมระบุว่า harzianolide มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของพืชในระยะแรก โดยการเพิ่มความยาวของรากและปลายราก และช่วยส่งเสริมการพัฒนาของรากที่ดีขึ้น

Promwee และคณะ (2014) พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* สามารถละลายฟอสเฟตที่ไม่ละลายน้ำให้เป็นฟอสเฟตโดยผ่านการผลิตกรดอินทรีย์และสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นยางพาราภายใต้สภาวะเรือนกระจกโดยสามารถเพิ่มความสูงของต้น (22.19%) เส้นรอบวงลำต้น (13.81%) จำนวนใบ (71.43%) เพิ่มน้ำหนักสดของยอด (43.95%) น้ำหนักสดของราก (19.36%) น้ำหนักแห้งของยอด (39.96%) และน้ำหนักแห้งของราก (21.13%) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และทำให้ฟอสฟอรัสทั้งหมดในใบยางมากกว่ากลุ่มควบคุมอยู่ที่ 18.90%

ภาวนา และคณะ (2553) ศึกษาการผลิตปุ๋ยอินทรีย์โดยการเพิ่มเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อเสริมความแข็งแรงของพืชพบว่าเชื้อรา *Trichoderma* สามารถช่วยย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ที่ใช้ในการทำปุ๋ยหมักได้และการผสมเชื้อราในข้าวฟ่าง 300 กรัม กับปุ๋ยหมัก 1 กิโลกรัม สามารถช่วยให้กล้ามะเขือเทศรอดตายจากโรครากเน่าได้โดยใช้อัตราส่วนตั้งแต่ 1-10 เปอร์เซ็นต์

เฉลิมชัย และคณะ (2557) ศึกษาปริมาณธาตุอาหารพืชจากปุ๋ยหมักผักตบชวาที่ย่อยสลายโดยเชื้อรา *Trichoderma* sp. Strain UPPY19 พบว่าปุ๋ยจากผักตบชวาที่ย่อยสลายด้วยเชื้อรา *Trichoderma* sp. มีคุณภาพดีกว่าปุ๋ยหมักที่ไม่มีเชื้อรา *Trichoderma* sp. ทั้งในด้านลักษณะภายนอก และปริมาณธาตุอาหารหลัก มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ปริมาณของธาตุฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ ธาตุโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์เท่ากับ 21.03 กรัมต่อกิโลกรัม, 46.65 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ 33.67 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ มีปริมาณเอนไซม์เซลลูเลส ไซแลนเนส โปรติเอส และยูรีเอส อยู่ในช่วง 122.50-636.04, 469.49-1,447.77, 198.96-283.26 และ 5.33-6.56 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

Ji และคณะ (2020) แยกเชื้อรา *Trichoderma* 4 สายพันธุ์มาทำเป็นปุ๋ยชีวภาพ หลังการทดลองด้วยปุ๋ยชีวภาพเป็นเวลา 30 วันในผักกาดขาวพบว่าอัตราการงอกเพิ่มขึ้น 22.5% ความสูงเพิ่มขึ้น 24.4% น้ำหนักสดเพิ่มขึ้น 41.7% และผลผลิตเพิ่มขึ้น 37.4% เมื่อเทียบกับผักกาดขาวในชุดควบคุม นอกจากนี้ปุ๋ยชีวภาพยังช่วยให้การทำงานของเอนไซม์ในดินเพิ่มขึ้นในวันที่ 30 ซึ่งรวมถึงยูรีเอส (25.1%) ฟอสฟาเตส (13.1%) และคาตาเลส (14.0%) ทำให้ดินมี N และ P มากขึ้น

Ye และคณะ (2020) ตรวจสอบความเป็นไปได้ของเชื้อรา *Trichoderma* สายพันธุ์ที่เป็นประโยชน์ต่อพืชและผลิตภัณฑ์ปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพในการประหยัดการใช้ปุ๋ยเคมีและในการปรับปรุงคุณภาพพืช จึงได้ทำการทดลองในกระถางแบบต่อเนื่องกับมะเขือเทศ พบว่าอัตราการใส่ปุ๋ยเคมีที่ลดลงบวกกับปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพทำให้ได้ผลผลิตมะเขือเทศเทียบเท่ากับปุ๋ยเคมีที่ได้รับ 100% อย่างไร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก็ตาม การใช้หัวเชื้อเพียงอย่างเดียว หรือใช้ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์เพียงอย่างเดียวทำให้ผลผลิตลดลง 6–38% และ 9–35% ตามลำดับ

จากงานวิจัยของ Omara และ El-maghraby (2023) *T. lixii* ถูกนำไปใช้กับเมล็ดถั่วพุ่มที่ปลูกในดินเหนียวที่ติดเชื้อ *Fusarium oxysporum* เพื่อตรวจสอบผลกระทบต่อความยาวของต้นกล้าและดัชนีความแข็งแรงสำหรับการทดลองทั้งหมดต้นกล้าที่ใช้ *T. lixii* จะมีความสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมาก ความยาวของต้นกล้าเพิ่มขึ้นจาก 10.21 เซนติเมตร เป็น 18.43 เซนติเมตร และลดสัดส่วนการติดเชื้อในดินด้วย *F. oxysporum* อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เชื้อราที่ใช้ในงานวิจัย

เชื้อรา *Trichoderma* 3 สายพันธุ์ ที่ใช้ในงานวิจัย ได้รับความอนุเคราะห์จาก รศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม

3.1.1 *Trichoderma capillare* (VP2-03)

3.1.2 *Trichoderma harzianum* (SB17-17)

3.1.3 *Trichoderma lixii* (SB17-02)

3.2 วัสดุอุปกรณ์

3.2.1 จานเพาะเชื้อ (Petri Dish)

3.2.2 Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

3.2.3 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)

3.2.4 หม้อนึ่งแรงดันไอ (Autoclave)

3.2.5 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)

3.2.6 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol Burner)

3.2.7 กระบอกฉีดยา (Syringe)

3.2.8 เข็มฉีดยา (Needle)

3.2.9 ขวด Duran 500 มิลลิลิตร.

3.2.10 ขวด Duran 250 มิลลิลิตร.

3.2.11 ไมโครปิเปตทิป (Micro pipette tip)

3.2.12 หลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร (Tube 1.5 Milliliter)

3.2.13 Erlenmeyer Flask ขนาด 250 มิลลิลิตร

3.2.14 ปิเปตแก้ว (Glass Pipettes)

3.2.15 แผ่นฟิล์มพลาสติกขนาด 9 เซนติเมตร. (Plastic Films 9 Centimeter)

3.2.16 กระดาษทิชชู (Tissue Papers)

3.2.17 แท่งแก้วคนสาร (Stirring Rod)

3.2.18 บีกเกอร์ (Beaker)

3.2.19 กรวย (Funnel)

3.2.20 กระบอกตวง (Glass Measuring Cylinder)

3.2.21 กระดาษกรอง (Filter Papers)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.22 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH Meter)

3.2.23 เครื่องชั่งทศนิยม 3 ตำแหน่ง (Analytical Balance 3 Digits)

3.2.24 กระจกสไลด์ (Microscopic slide)

3.2.25 กระจกปิดสไลด์ (Glass Cover Slips)

3.2.26 กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (Stereo Microscope)

3.2.27 กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Compound light Microscope)

3.2.28 เวอร์เนีย คาลิปเปอร์ ดิจิตอล (Digital Vernier caliper)

3.2.29 ลูกยาง (Pipette Bulb)

3.2.30 คีมคีบ (Forceps)

3.2.31 ชุดตรวจสอบปุ๋ย มก.5

3.2.32 เครื่อง Multi-function 5 in 1 (สามารถวัด SALINITY, TDS, pH, EC, TEMP)

3.2.33 ไมโครปิเปต (Micro pipette)

3.3 สารเคมี

3.3.1 วุ้น (Agar)

3.3.2 Potato dextrose agar

3.3.3 มันฝรั่ง (Potato)

3.3.4 แอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70% (Alcohol 70%)

3.3.5 แอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95% (Alcohol 95%)

3.3.6 น้ำตาลกลูโคส (Glucose)

3.3.7 น้ำกลั่น

3.3.8 ข้าวสาร

3.3.9 Lactophenol cotton blue

3.3.10 Immersion oil

3.3.11 เปปโตน (Peptone)

3.3.12 ทวีน-80 (Tween-80)

3.4 วัสดุในการหมักปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ

เศษผักและผลไม้ ได้แก่ เศษแครอท เศษต้นหอม เศษคะน้า เศษผักบุ้ง เปลือกแตงโม เปลือกมะม่วง เปลือกแคนตาลูป เศษชมพู่ และเศษฝรั่ง ได้มาจาก โรงอาหารคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5 วิธีการทดลอง

3.5.1 การเพาะเลี้ยง และการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อรา *Trichoderma*

นำเชื้อรา *Trichoderma* 3 สปีชีส์ ที่เก็บรักษาใน stock culture ได้แก่ *T. capillare, T. harzianum* และ *T.lixii* มาทำการเพาะเลี้ยงบนหน้าอาหาร PDA โดยย้ายชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้อราลงบนอาหาร PDA แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน เมื่อครบกำหนด นำ Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เจาะลงบนปลายเส้นใยของเชื้อรา และแบ่งเชื้อรา *Trichoderma* 3 สปีชีส์ ไว้เป็น stock culture และสำหรับการศึกษา

ตัดปลายเส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma* แต่ละสปีชีส์ แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน เมื่อครบเวลาที่กำหนด แล้วศึกษาลักษณะของโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอแบบแสง จากนั้นใช้เข็มตัดปลายเส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma* แต่ละสปีชีส์ มาทำ slide culture โดยนำปลายเส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma* แต่ละสปีชีส์ มาวางลงบนขอบด้านข้างของชิ้นอาหาร PDA ที่มีขนาด 1×1 เซนติเมตร สไลด์ละ 1 สปีชีส์ จากนั้นนำสไลด์ไปว่างในจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีกระดาษทิชชู และแท่งแก้วงอรอง เติมน้ำกลั่นลงบนจานเพาะเลี้ยงเชื้อปริมาณ 5 มิลลิลิตร ระวังอย่าให้น้ำกลั่นโดนสไลด์ บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน ครบเวลาแล้ว นำชิ้นวุ้นที่อยู่บนสไลด์ออก แล้วศึกษาเชื้อราที่เจริญเติบโตติดอยู่บนสไลด์และกระจกปิดสไลด์ ด้วยการนำมาย้อมสี Lactophenol cotton blue ศึกษาลักษณะโครงสร้างของเชื้อรา ได้แก่ ลักษณะของเส้นใย ขนาดของสปอร์ และลักษณะ conidiophore ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

3.5.2 การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma*

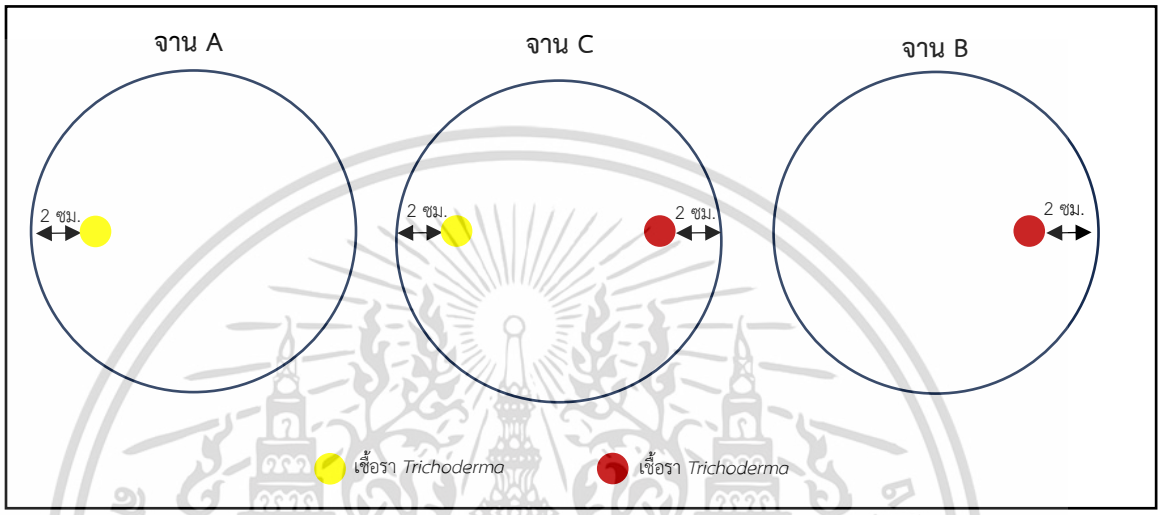
วิธี Dual culture test เพาะเลี้ยงเชื้อรา *Trichoderma* แต่ละสปีชีส์ลงบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน เมื่อครบเวลาแล้ว ตัดปลายเส้นใยเชื้อรา *Trichoderma* แต่ละสปีชีส์ด้วย Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร จากนั้นนำชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเจริญวางลงบนหน้าอาหาร PDA โดย จาน A จะวางชิ้นวุ้น 1 ชิ้น ระยะห่างจากขอบจานทางด้านซ้าย 2 เซนติเมตร จาน B จะวางชิ้นวุ้น 1 ชิ้น ระยะห่างจากขอบจานทางด้านขวา 2 เซนติเมตร และจาน C จะวางชิ้นวุ้น 2 ชิ้น ระยะห่างจากขอบจานทางด้านซ้าย และด้านขวา 2 เซนติเมตร (รูปที่ 3.1) ซึ่งสามรถแบ่งเป็น 3 คู่ คือ SB17-17 VS SB17-02, SB17-17 VS VP2-03 และ SB17-02 VS VP2-03 จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน แล้วนำมาคำนวณประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma* หรือ Precent Inhibition of Radial Growth (PIRG) โดยใช้สมการการคำนวณดังต่อไปนี้ (ดัดแปลงวิธีจาก Rahman และคณะ, 2009)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$PIRG = \left(\frac{R_1 - R_2}{R_1}\right) \times 100$$

R_1 = ค่าเฉลี่ยของรัศมีเชื้อรา *Trichoderma* ในจานอาหารชุดควบคุม

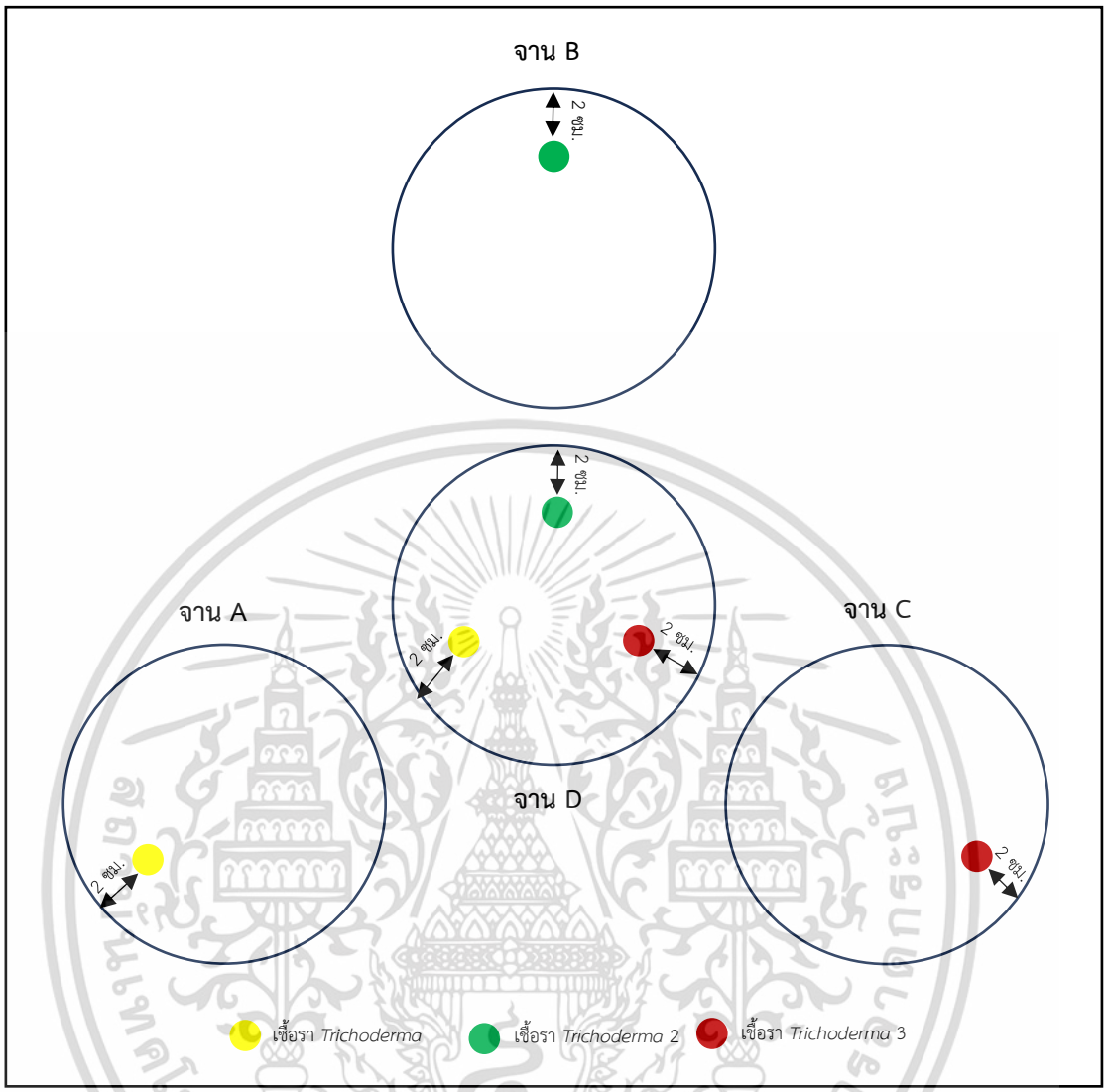
R_2 = ค่าเฉลี่ยของรัศมีเชื้อรา *Trichoderma* ในจานอาหารชุดเลี้ยงเชื้อร่วม



รูปที่ 3.1 การจำลองการยับยั้งประสิทธิภาพการเจริญของเชื้อรา ด้วยวิธีการ Dual culture test
ที่มา : ดัดแปลงวิธีจาก Rahman และคณะ (2009)

วิธี tri culture test เพาะเลี้ยงเชื้อรา *Trichoderma* แต่ละสปีชีส์ลงบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน เมื่อครบเวลาแล้ว ตัดปลายเส้นใยเชื้อรา *Trichoderma* แต่ละสปีชีส์ด้วย Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร จากนั้นนำชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเจริญวางลงบนหน้าอาหาร PDA โดย จาน A จะวางชิ้นวุ้น 1 ชิ้น ระยะห่างจากขอบจานทางด้านซ้าย 2 เซนติเมตร จาน B จะวางชิ้นวุ้น 1 ชิ้น ระยะห่างจากขอบจานทางด้านบน 2 เซนติเมตร จาน C จะวางชิ้นวุ้น 1 ชิ้น ระยะห่างจากขอบจานทางด้านขวา 2 เซนติเมตร และจาน D จะวางชิ้นวุ้น 3 ชิ้น ระยะห่างจากขอบจานทางด้านซ้าย ด้านบน และด้านขวา 2 เซนติเมตร (รูปที่ 3.2) ซึ่งสามารถแบ่งเป็น 1 กลุ่ม คือ SB17-17 VS SB17-02 VS VP2-03 จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน แล้วนำมาคำนวณประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma* หรือ Precent Inhibition of Radial Growth (PIRG) โดยใช้สมการการคำนวณดังต่อไปนี้ (ดัดแปลงวิธีจาก Rahman และคณะ, 2009)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.2 การจำลองการยับยั้งประสิทธิภาพการเจริญของเชื้อรา ด้วยวิธีการ Tri culture test

ที่มา : ดัดแปลงวิธีจาก Rahman และคณะ (2009)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.3 การเพิ่มปริมาณหัวเชื้อรา *Trichoderma*

ดัดแปลงวิธีการตามจิระเดช และวรรณวิไล (2545) โดยชั่งข้าวสาร 150 กรัม ใส่ลงในขวดแก้ว แล้วล้างข้าวสารให้สะอาดด้วยน้ำเปล่า อย่างน้อย 5 ครั้ง เติมน้ำกลั่นในอัตราส่วนข้าว 3 ส่วนต่อน้ำ 1 ส่วน จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เมื่อข้าวสุกนำออกมาซุยให้ทั่วแล้ว พักให้อุณหภูมิเย็นลงโดยใช้หลังมือแตะให้ร้อนพอทนได้ ใช้ Cork borer ขนาด 5 มิลลิเมตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเจาะลงบนอาหาร PDA ที่มีเชื้อรา *Trichoderma* เจริญอยู่ด้วยวิธีการปราศจากเชื้อ จากนั้นย้ายชิ้นวุ้นใส่ลงในข้าวสุกประมาณ 4-5 ชิ้น คลุกเคล้าให้เข้ากันปิดปากขวดแก้วด้วยฟรอยด์ โดยเจาะรูให้อากาศเข้าด้วยเข็มประมาณ 10-20 รู ตั้งทิ้งไว้ในที่อากาศถ่ายเท มีแสงสว่าง เมื่อผ่านไป 3 วัน ทำการเขย่าเพื่อกระตุ้นการสร้างสปอร์ เมื่อครบ 7 วัน นำหัวเชื้อราที่ได้ไปอบที่ 40°C จนแห้ง

3.5.3.1 การตรวจนับปริมาณสปอร์ของหัวเชื้อรา

ชั่งตัวอย่างหัวเชื้อที่ได้หลังจากอบแห้งแต่ละสปีชีส์มาปริมาณ 1 กรัม เจือจางด้วยน้ำกลั่นที่มีการผสม Tween-80 ปริมาณ 9 มิลลิลิตร ด้วยวิธีปราศจากเชื้อ ที่ระดับความเจือจาง 10^{-1} - 10^{-2} จากนั้นใช้ micro pipette ดูดตัวอย่างหัวเชื้อราที่ระดับความเจือจาง 10^{-2} มาปริมาณ 10 ไมโครลิตร. วางกระจกปิดสไลด์ลงบนหลุม Hemacytometer จากนั้นหยดตัวอย่างลงบนช่องโหลด แล้วนำไปตรวจนับและบันทึกจำนวนสปอร์ ภายใต้กล้อง

3.5.3.2 การวัดการเจริญของหัวเชื้อราด้วยวิธีการ Pour plate

ชั่งตัวอย่างหัวเชื้อราได้หลังจากอบแห้งแต่ละสปีชีส์มาปริมาณ 1 กรัม เจือจางด้วยน้ำกลั่น ที่ผสม Tween-80 ปริมาณ 9 มิลลิลิตร ด้วยวิธีการปราศจากเชื้อ ที่ระดับความเจือจาง 10^{-1} - 10^{-3} จากนั้นใช้ micro pipette ดูดตัวอย่างหัวเชื้อราที่ความเจือจาง 10^{-3} มาปริมาณ 1 ไมโครลิตร. จากนั้นหยดลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และ เทอาหาร PDA ที่ปริมาณ 15 มิลลิลิตร โดยขยับจานเพาะเลี้ยงเชื้อขึ้นลงเบา ๆ รออาหารเซ็ตตัว จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8-12 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการตรวจนับและบันทึกผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.4 การออกแบบและดัดแปลงกล่องหมัก

กล่องพลาสติกที่ใช้สำหรับหมักมีขนาด 20x13.5x8 เซนติเมตร ถูกนำมาเจาะรู เพื่อให้อากาศสามารถเข้าได้โดยเจาะด้านละ 9-10 รู และเจาะด้านล่างเพื่อให้ของเหลวที่เกิดขึ้นในจากกระบวนการหมักสามารถระบายออกมาได้

3.5.5 การเลือกสูตรและอัตราส่วนในการหมัก

อัตราส่วนที่ใช้ถูกดัดแปลงมาจาก การผลิตปุ๋ยหมักชีวภาพของกรมวิชาการเกษตร โดยในการทดลองจะมีทั้งหมด 5 สูตร

จากนั้นนำมาเริ่มกระบวนการหมักปุ๋ยอินทรีย์ด้วยเศษผักและผลไม้โดยใช้เชื้อรา *Trichoderma* ร่วมด้วย ในกล่องพลาสติกโดยใช้อัตราส่วนในการหมัก 2 อัตราส่วน ได้แก่ ปุ๋ยสูตรที่ 1 คือ อัตราส่วน 7:1:1:1 (ใช้เศษผักและผลไม้ 7 ส่วน แหนแดง 1 ส่วน มูลวัว 1 ส่วน และหัวเชื้อรา 1 ส่วน) และ ปุ๋ยสูตรที่ 2 อัตราส่วน 8:1:1:0.1 (ใช้เศษผักและผลไม้ 8 ส่วน แหนแดง 1 ส่วน มูลวัว 1 ส่วน และหัวเชื้อรา 0.1 ส่วน) โดยในส่วนของปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 1 จะกำหนดให้ใส่แหนแดงและข้าวสุกแทนหัวเชื้อรา ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 2 จะกำหนดให้ใส่แหนแดงเพียงอย่างเดียว และ ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 3 จะกำหนดให้ใส่ข้าวสุกแทนเชื้อราเพียงอย่างเดียว จากนั้นนำไปหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 วัน ประเมินการยุบตัวลักษณะภายนอกของกองปุ๋ยทุก 7 วัน และตรวจวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารหลักหลังหมักครบ 30 วัน ดังแสดงในตารางที่ 3.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 อัตราส่วนและวัสดุที่ใช้ในการหมักปุ๋ย

สูตร	เศษผัก	เศษผลไม้	แหนแดง	ขี้วัว	ข้าวสุก	หัวเชื้อ
ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 1	+	+	+	+	+	-
ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 2	+	+	+	+	-	-
ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 3	+	+	-	+	+	-
ปุ๋ยสูตรที่ 1	+	+	+	+	-	+
ปุ๋ยสูตรที่ 2	+	+	+	+	-	+

หมายเหตุ เครื่องหมาย + (ใส่วัตถุดิบลงไปในการหมัก)

เครื่องหมาย – (ไม่ใส่วัตถุดิบลงไปในการหมัก)

3.5.6 การเตรียมวัสดุในการหมักปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ และการหมักปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ

วัสดุที่ใช้ในการหมักจะใช้เศษผักและเศษผลไม้ ได้แก่ เศษแครอท เศษต้นหอม เศษคะน้า เศษผักบุ้ง เปลือกแตงโม เปลือกมะม่วง เปลือกแคนตาลูป เศษชมพู่ และเศษฝรั่งจากโรงอาหารคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โดยนำเศษผัก และผลไม้มาหันให้มีขนาด 1x1 เซนติเมตร จากนั้นนำแหนแดงแห้ง ข้าวสุก และมูลวัวมาผสมในอัตราส่วนที่กล่าวตาม ข้อ 3.5.5

นำเศษผักและผลไม้มาผสมกันและแบ่งแบบสุ่มใส่ในกล่องที่เตรียมไว้ให้ได้น้ำหนักตามอัตราส่วนที่ต้องการ จากนั้นผสมวัสดุที่ใช้สำหรับหมัก ตามอัตราส่วนที่กำหนดไว้ รดน้ำเพื่อให้ความชุ่มชื้น จากนั้นปิดฝากล่องหมักปุ๋ยแล้วเขย่าส่วนผสมให้เข้ากัน นำไปตั้งไว้ในที่อากาศถ่ายเทเป็นเวลา 30 วัน ตรวจวัดสี กลิ่น ลักษณะภายนอก และการยุบตัวทุก ๆ 7 วัน

3.5.7 การส่งตรวจตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ

สำหรับการตรวจหาปริมาณอินทรียวัตถุ อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ปริมาณฟอสฟอรัส และปริมาณโพแทสเซียม ในตัวอย่างปุ๋ยทั้งหมด ได้รับความอนุเคราะห์การตรวจวิเคราะห์ผลจากแผนกเคมีวิเคราะห์ กรมวิทยาศาสตร์ทหารเรือ

3.5.8 การวัดค่ามาตรฐานในปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ

หลังจากหมักปุ๋ยครบ 30 วันนำตัวอย่างปุ๋ยที่ได้มาตรวจวัดค่ามาตรฐานต่าง ๆ

3.5.8.1 การยุบตัว และ สี

ตรวจวัดโดยการสังเกตด้วยการวัดขนาดความสูงของกองปุ๋ยทุก 7 วัน และเทียบสีด้วยแผ่นเทียบสี

3.5.8.2 การวัดขนาด

ตรวจวัดโดยการนำตัวอย่างปุ๋ยไปร่อนด้วยตะแกรงที่มีขนาดรูกว้างขนาดประมาณ 12 มิลลิเมตร

3.5.8.3 การวัดค่า pH

นำตัวอย่างปุ๋ย 1 กรัม ไปเจือจางด้วยน้ำกลั่น 199 มิลลิลิตร แล้ววัดด้วย pH meter และชุดตรวจ pH มก.5 ด้วยแถบเทียบสีมาตราฐานความเป็นกรด-ด่าง

3.5.8.4 การวัดค่าการนำไฟฟ้า (Electrolytic conductivity: Ec)

นำตัวอย่างปุ๋ย 1 กรัม ไปเจือจางด้วยน้ำกลั่น 199 มิลลิลิตรแล้ววัดค่าการนำไฟฟ้า ด้วยเครื่อง Multi-function 5 in 1 อ่านค่าและบันทึกผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.8.5 การวัดค่าความเค็ม (Salinity)

นำตัวอย่างปุ๋ย 1 กรัม ไปเจือจางด้วยน้ำกลั่น 199 มิลลิลิตร แล้ววัดค่าความเค็ม ด้วยเครื่อง Multi-function 5 in 1 อ่านค่าและบันทึกผล

3.5.8.6 การวัดค่าธาตุอาหารหลัก ด้วยชุดทดสอบปุ๋ยเคมี มก. 5

นำตัวอย่างปุ๋ยไปเจือจางอัตราส่วน 1:199 ด้วยน้ำกลั่นแล้วนำไปทดสอบ ดังนี้

ตรวจหาปริมาณยูเรียไนโตรเจน นำตัวอย่างปุ๋ย 1 กรัม ไปเจือจางด้วยน้ำกลั่น 199 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ดูดมาปริมาณ 0.25 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำสะอาด 0.5 มิลลิลิตร เติมน้ำยาเบอร์ 5, 6 และ 7 อย่างละ 1 หลอดดูด จากนั้นเขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที และเทียบแถบสีกับแผ่นเทียบสีมาตรฐาน

ตรวจหาปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน นำตัวอย่างปุ๋ย 1 กรัม ไปเจือจางด้วยน้ำกลั่น 199 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ดูดมาปริมาณ 0.25 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำสะอาด 3 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารเบอร์ 1ปริมาณ 1 ช้อนตวง และเติมน้ำยาเบอร์ 2 จำนวน 2 หยด เขย่าให้เข้ากันตั้งพักไว้ 5 นาที แล้วนำมาเทียบแถบสีกับแผ่นเทียบสีมาตรฐาน

ตรวจหาปริมาณไนเตรต-ไนโตรเจน นำตัวอย่างปุ๋ย 1 กรัม ไปเจือจางด้วยน้ำกลั่น 199 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ดูดมาปริมาณ 0.25 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำสะอาด 3 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำยาเบอร์ 3 จำนวน 1 หลอดดูด และเติมสารเบอร์ 4 ปริมาณ 1 ช้อนตวง และเขย่าให้เข้ากันตั้งพักไว้ 5 นาที แล้วนำมาเทียบแถบสีกับแผ่นเทียบสีมาตรฐาน

ตรวจหาปริมาณฟอสฟอรัส นำตัวอย่างปุ๋ย 1 กรัม ไปเจือจางด้วยน้ำกลั่น 199 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ดูดมาปริมาณ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำยาเบอร์ 8 จำนวน 2 หลอดดูด เขย่าให้เข้ากันตั้งพักไว้ 5 นาที แล้วนำมาเทียบแถบสีกับแผ่นเทียบสีมาตรฐาน

ตรวจหาปริมาณโพแทสเซียม นำตัวอย่างปุ๋ย 1 กรัม ไปเจือจางด้วยน้ำกลั่น 199 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ดูดมาปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำยาเบอร์ 9 จำนวน 2 หลอดดูด แล้วเติมน้ำยาเบอร์ 10 จำนวน 2 หยด และเติมน้ำยาเบอร์ 11 จำนวน 1 หลอดดูด เขย่าให้เข้ากันตั้งพักไว้ 5 นาที แล้วนำมาเทียบแถบสีกับแผ่นเทียบสีมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.9 การตรวจนับเชื้อรา *Trichoderma* ในปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ

3.5.3.2 การวัดการเจริญของหัวเชื้อราด้วยวิธีการ Pour plate

ชั่งตัวอย่างปุ๋ยสูตรที่ 1 และปุ๋ยสูตรที่ 2 มาปริมาณตัวอย่างละ 1 กรัม เจือจางด้วยน้ำกลั่น ที่ผสม Tween-80 ปริมาณ 9 มิลลิลิตร ด้วยวิธีการปราศจากเชื้อ ที่ระดับความเจือจาง 10^{-1} - 10^{-3} จากนั้นใช้ micro pipette ดูดตัวอย่างหัวเชื้อราที่ความเจือจาง 10^{-3} มาปริมาณ 1 ไมโครลิตร. จากนั้นหยดลงบนจานเพาะเลี้ยงเชื้อ และ เทอาหาร PDA ที่ปริมาณ 15 มิลลิลิตร โดยขยับจานเพาะเลี้ยงเชื้อขึ้นลงเบา ๆ รออาหารเซ็ตตัว จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8-12 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการตรวจนับและบันทึกผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

จากผลการศึกษาการจำแนกเชื้อราด้วยการตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ กัญญาพร และ ชนาภรณ์ (2563) ได้ระบุไว้ว่า ไอโซเลท SB17-17 คือ เชื้อรา *Trichoderma harzianum* เมื่อศึกษาเชื้อราด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ที่ตำแหน่ง ITS จากไพร์เมอร์ ITS5/ITS4 พบว่าเป็นเชื้อรา *T. harzianum* ตรงกับหมาเลข Accession KT336515 ค่าความเหมือน 100 เปอร์เซ็นต์ (ดังตารางที่ 4.1) และ ไอโซเลท SB17-02 คือ เชื้อรา *Trichoderma lixii* เมื่อศึกษาเชื้อราด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ที่ตำแหน่ง ITS จากไพร์เมอร์ ITS5/ITS4 พบว่าเป็นเชื้อรา *T. lixii* ตรงกับหมาเลข Accession HQ608121 ค่าความเหมือน 100 เปอร์เซ็นต์ (ดังตารางที่ 4.1) จากการศึกษาการจำแนกเชื้อราด้วยการตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ ชนาภรณ์ (2567) ระบุว่า ไอโซเลท VP2-03 คือ คือ เชื้อรา *Trichoderma capillare* เมื่อศึกษาเชื้อราด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ที่ตำแหน่ง ITS จากไพร์เมอร์ ITS5/ITS4 พบว่าเป็นเชื้อรา *T. capillare* ตรงกับหมาเลข Accession MK870957.1 ค่าความเหมือน 100 เปอร์เซ็นต์ (ดังตารางที่ 4.1)

ตารางที่ 4.1 การบ่งชี้เชื้อราด้วยการตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์เปรียบเทียบกับฐานข้อมูล GenBank

Isolate	Region	Primer	Identity species	Accession	Identity	อ้างอิง
SB17-17	ITS	ITS5/ITS4	*Trichoderma harzianum*	KT336515	100%	กัญญพร และ ชนาภรณ์ (2563)
SB17-02	ITS	ITS5/ITS4	*Trichoderma lixii*	HQ608121	100%	กัญญพร และ ชนาภรณ์ (2563)
VP2-03	ITS	ITS5/ITS4	*Trichoderma capillare*	MK870957.1	100%	ชนาภรณ์ (2567)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

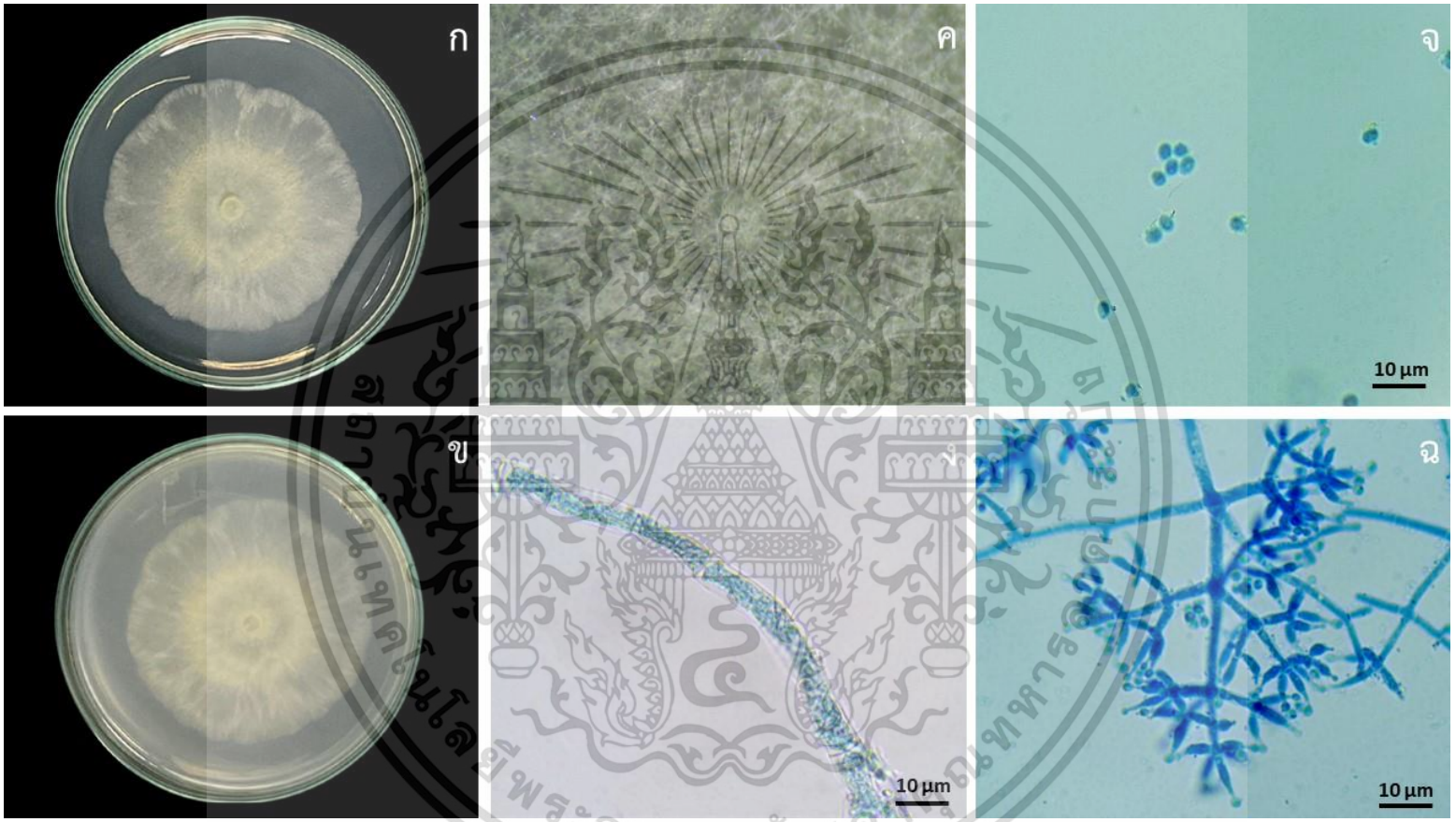
4.1 ผลการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Trichoderma*

จากผลการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Trichoderma* 3 สปีชีส์ คือ *T. harzianum* (SB17-17), *T. lixii* (SB17-02), และ*T. capillare* (VP2-03) บนอาหาร PDA มีลักษณะดังต่อไปนี้

4.1.1 *Trichoderma harzianum* (SB17-17)

เชื้อรามีการเจริญเติบโตเป็นวงอย่างรวดเร็วในระยะเวลา 2-3 วัน ด้านหน้าโคโลนีมีลักษณะเป็นรูปร่างกลม (Circular) ผิวหน้าโคโลนีมีลักษณะเป็นวงซ้อนกันเป็นชั้น และแตกแขนงออกเป็นแฉก ๆ ลักษณะของพื้นผิวโคโลนีเป็นแบบปุย (Cottony) เส้นใยบางมีสีขาว เมื่อเพาะเลี้ยงครบ 3 วัน (รูปที่ 4.1 ก และ รูปที่ 4.1 ข) มีการสร้างสปอร์สีเขียวเมื่อผ่านไป 4-5 วัน (รูปที่ 4.1 ค) เมื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบว่าเส้นใยมีผนังกั้น (รูปที่ 4.1 ง) พบ Conidiophore ที่บริเวณปลายมีสปอร์อยู่ (รูปที่ 4.1 ฉ.) มีรูปร่างกลมจนถึงรูปไข่ (Globose to ovoid) ขนาด 2.13±0.21 ไมโครเมตร (รูปที่ 4.1 จ.) แสดงในตารางที่ 4.2 ซึ่งสอดคล้องกับ (หฤษฎ์ นิ่มรักษา, 2561) ที่รายงานว่าบนอาหาร PDA เชื้อรามีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วระยะแรกบริเวณที่สร้างสปอร์มีสีเขียวปนขาวต่อมาเปลี่ยนเป็นสีเขียวสด Phialides เกิดขึ้นเป็นกลุ่มมีจำนวนถึง 5 อัน อาจเกิดเดี่ยว ๆ ตามด้านข้างของกิ่งก้านที่แตกออกมา มีลักษณะสั้น ส่วนฐานแคบกว้างตรงกลาง ส่วนบนเรียวจนถึงคอเป็นรูปกระสวยปลายแหลม สปอร์มีสีเขียวอ่อน รูปร่างกลม ขนาด 3 ไมโครเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

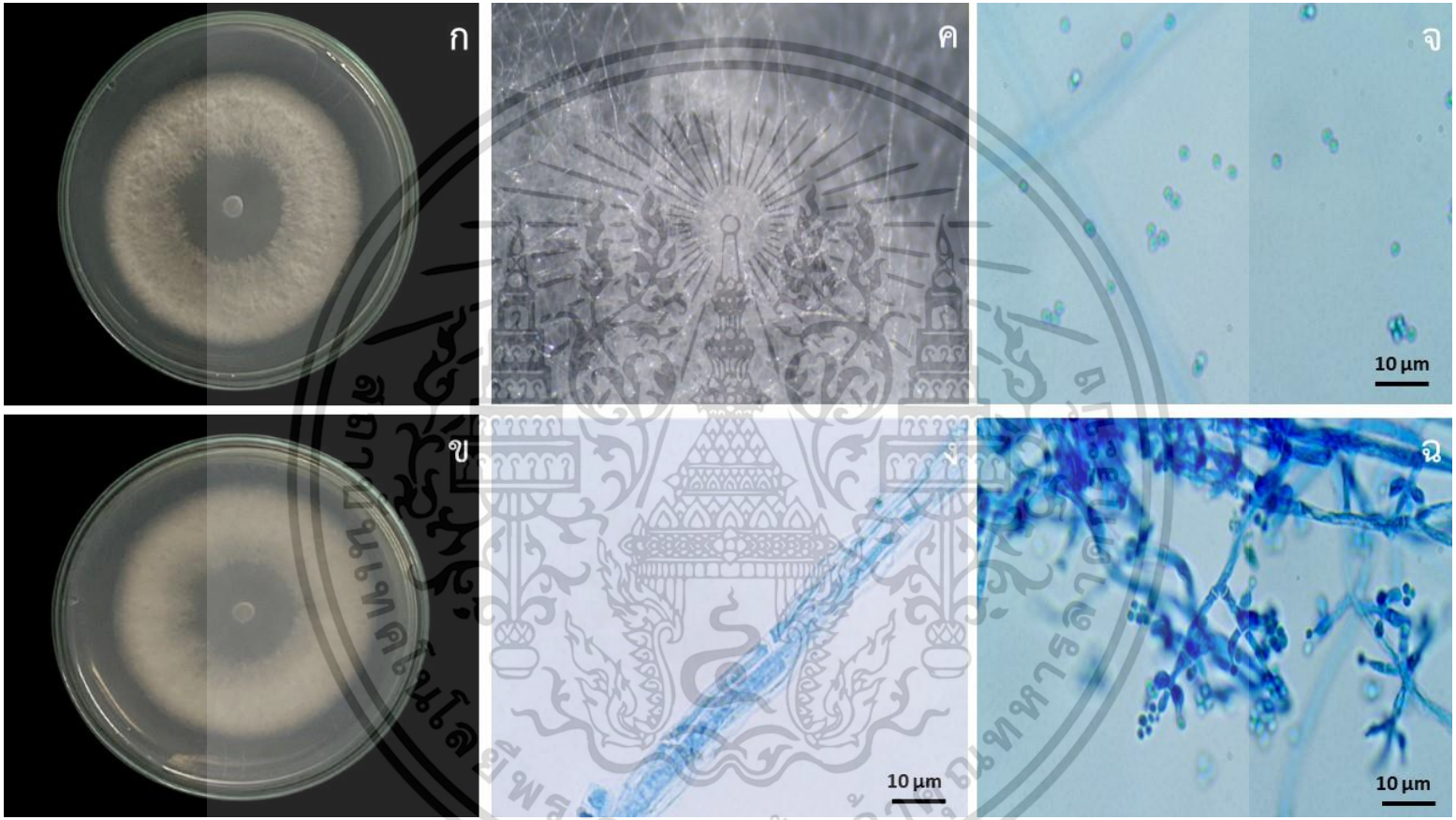


รูปที่ 4.1 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *T. harzianum* (SB17-17) บนอาหาร PDA ลักษณะโคโลนีด้านหน้าจานเพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 3 วัน (ก) ลักษณะโคโลนีด้านหลังจานเพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 3 วัน (ข) ผิวหน้าโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (ค) ผนังกั้นเส้นใย (ง) สปอร์ (จ) conidiophore ที่ย้อมด้วยสี lactophenol cotton blue ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (ฉ)

4.1.2 ***Trichoderma lixii*** **(SB17-02)**

มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในระยะเวลา 2-3 วัน โคโลนีมีลักษณะเป็นรูปร่างกลม (Circular) ผิวหน้ามีลักษณะเป็นวงซ้อนกันเป็นชั้น ลักษณะของพื้นผิวโคโลนีเป็นแบบปุย (Cottony) เส้นใยมีสีขาวโดยบริเวณวงด้านในจะมีเส้นใยเบาบางกว่าบริเวณวงด้านนอก (รูปที่ 4.2 ก และข) มีการสร้างสปอร์สีเขียวเมื่อผ่านไป 4-5 วันเมื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงพบว่าเส้นใยมีผนังกั้น (รูปที่ 4.2 ง) พบ Conidiophore ที่บริเวณปลายมีสปอร์อยู่ (รูปที่ 4.2 ฉ.) สปอร์มีรูปร่างกลมจนถึงรูปไข่ (Globose to ovoid) มีขนาด 2.21±0.20 ไมโครเมตร (รูปที่ 4.2 จ.) แสดงในตารางที่ 4.2 ซึ่งสอดคล้องกับ Katoch และคณะ (2019) ที่รายงานว่าเชื้อเจริญอย่างรวดเร็วบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีเส้นใยสีขาวมีลักษณะเรียบกระจายตัวเป็นระยะ ๆ มีการสร้างสปอร์สีเขียว เมื่อมองด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่ามี Conidiophores สปอร์มีรูปร่างกลมจนถึงรูปไข่ (Globose to ovoid)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

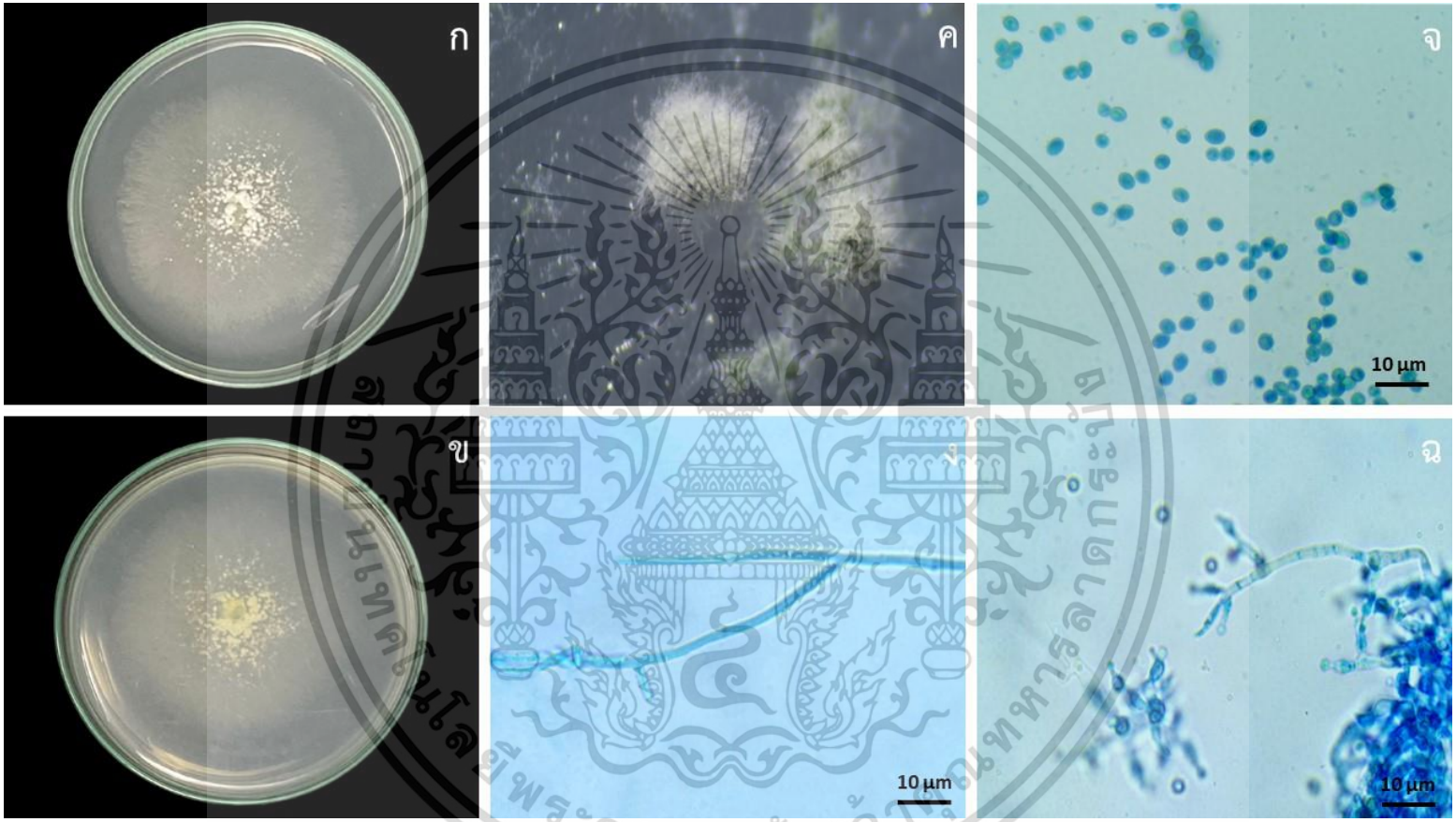


รูปที่ 4.2 ลักษณะของสัณฐานวิทยาขอเชื้อรา *T. lixii* (SB17-02) ลักษณะโคโลนีด้านหน้าจานเพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 3 วัน (ก) ลักษณะโคโลนีด้านหลังจานเพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 3 วัน (ข) ผิวหน้าโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (ค) ผนังกั้นเส้นใย (ง) สปอร์ (จ) Conidiophore ที่ย้อมด้วยสี lactophenol cotton blue ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (ฉ)

4.1.3 *Trichoderma capillare* (VP2-03)

เชื้อราเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในระยะเวลา 2-3 วันโคโลนีมีลักษณะเป็นรูปร่างกลมเส้นใยมีสีขาวเจริญเรียบไปกับจากเพาะเชื้อ จากนั้นเกิดกระจุกเส้นใยสีขาวขึ้น (Pustule) เมื่อผ่านไป 4-5 วัน กระจุกเส้นใยจะกลายเป็นสีเขียวซึ่งเกิดจากการสร้างสปอร์ของเชื้อรา (รูปที่4.3 ก และข) เมื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงพบว่าเส้นใยมีผนังกั้น (รูปที่ 4.3 ง) พบ Conidiophore ที่บริเวณปลายมีสปอร์อยู่มี Phialides lageniform (รูปที่ 4.3 ฉ.) สปอร์มีรูปร่างเป็นรูปไข่ (Ovoid) สปอร์มีขนาด 3.37±0.26 ไมโครเมตร (รูปที่ 4.3 จ) แสดงในตารางที่ 4.2 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Samuels และคณะ (2012) ที่ระบุไว้ว่า โคโลนีที่เจริญบนอาหาร PDA 1 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 25°C โคโลนีมีกระจุกเส้นใยเกิดขึ้นทั้งโคโลนี โดยกระจุกเส้นใยเกิดจากเส้นใยที่พันกัน Conidiophores ที่เกิดจากเส้นใยภายในกระจุกเส้นใยมีรูปร่างที่แตกต่างกันมาก เส้นใยมีผนังกั้น โค้งงอ มี Phialides lageniform เกือบเป็นทรงกระบอก สปอร์มีรูปร่างไข่ถึงทรงรีกว้าง (Subglobose to broadly ellipsoidal) สปอร์มีขนาดยาว 2.2–4.0 ไมโครเมตร กว้าง 2.5–3.5 ไมโครเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 ลักษณะของสัณฐานวิทยาขอเชื้อรา *T. capillare* (VP2-03) ลักษณะโคโลนีด้านหน้าจานเพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 3 วัน (ก) ลักษณะโคโลนีด้านหลังจานเพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 3 วัน (ข) ผิวหน้าโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (ค) ผนังกั้นเส้นใย(ง) สปอร์ (จ) Conidiophore ที่ย้อมด้วยสี lactophenol cotton blue ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (ฉ)

ตารางที่ 4.2 ขนาดของสปอร์เชื้อรา *Trichoderma* 3 สปีชีส์

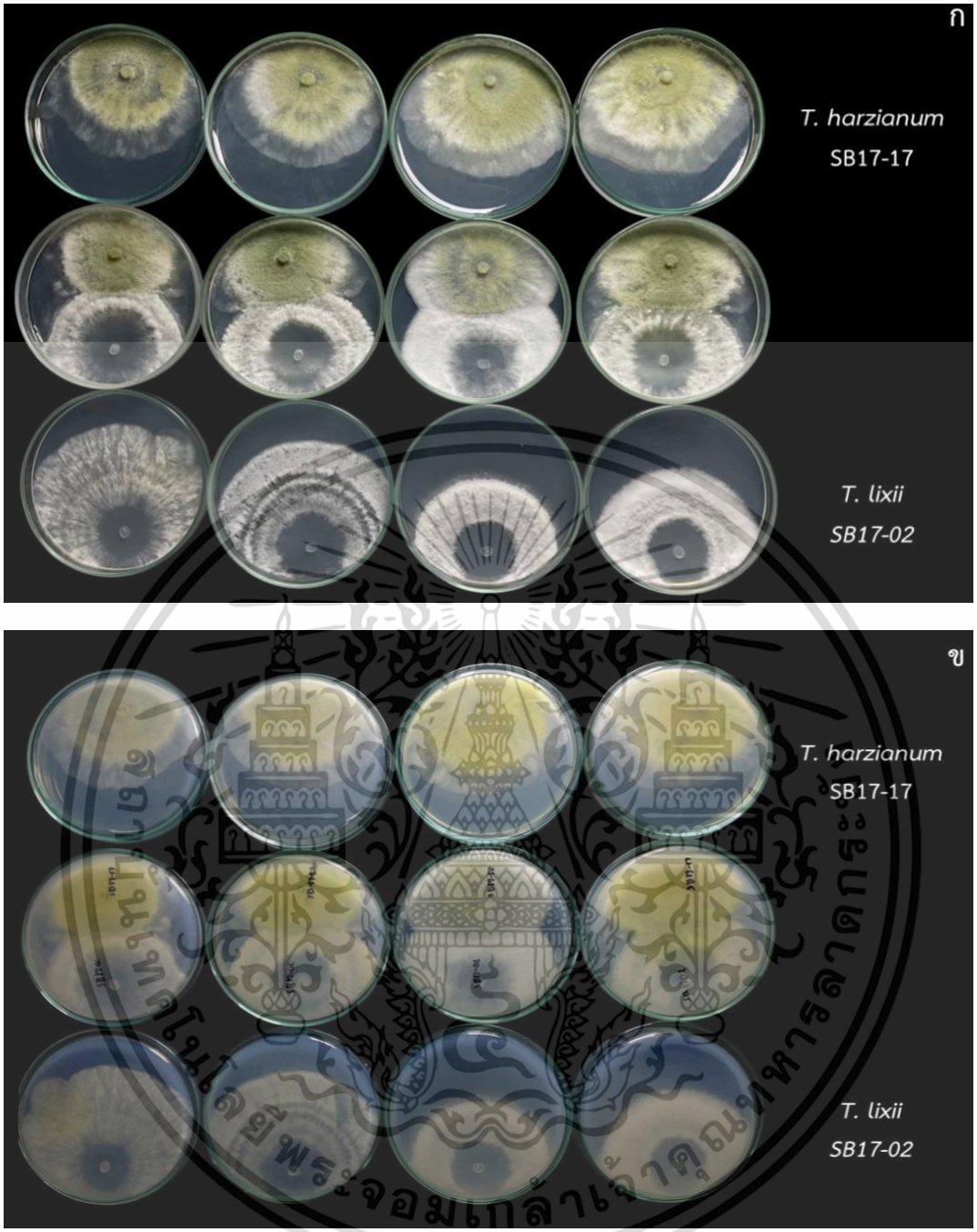
ลำดับ	สปีชีส์	ขนาดสปอร์
		ไมโครเมตร
1	*Trichoderma harzianum*	2.13±0.21
2	*Trichoderma lixii*	2.21±0.20
3	*Trichoderma capillare*	3.37±0.26

4.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma*

4.2.1 ผลการทดสอบ Dual-culture

ผลการทดสอบเชื้อรา *Trichoderma* 3 สปีชีส์ คือ *T. harzianum* (SB17-17), *T. lixii* (SB17-02), และ *T. capillare* (VP2-03) ด้วยวิธี Dual-culture เมื่อนำมาทดสอบโดยให้เจริญพบกันทุกสปีชีส์ได้จำนวน 3 คู่ ได้แก่ SB17-17 VS SB17-02, SB17-17 VS VP2-03 และ SB17-02 VS VP2-03 โดยแต่ละการทดลองทำซ้ำ 4 ซ้ำ โดยชุดควบคุมในแต่ละคู่จะเป็นเชื้อแต่ละสปีชีส์ที่เจริญบนจานเพาะเชื้อแบบเดี่ยว เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน เพื่อวัดประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา หรือที่เรียกว่า Precent Inhibition of Radial Growth (PIRG) ดังแสดงในรูปที่ 4.4 พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* ทั้ง 2 สปีชีส์ คือ SB17-17 VS SB17-02 สามารถเจริญอยู่ด้วยกันได้โดยเส้นใยมีการเจริญแบบชนกัน คือเส้นใยของทั้ง 2 สปีชีส์ ไม่รุกล้ำเข้าสู่อาณาเขตที่ถูกครอบครองโดยอีกฝ่าย เมื่อนำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา ค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพการยับยั้ง อยู่ที่ 57.96±1.36% แสดงในตารางที่ 4.3

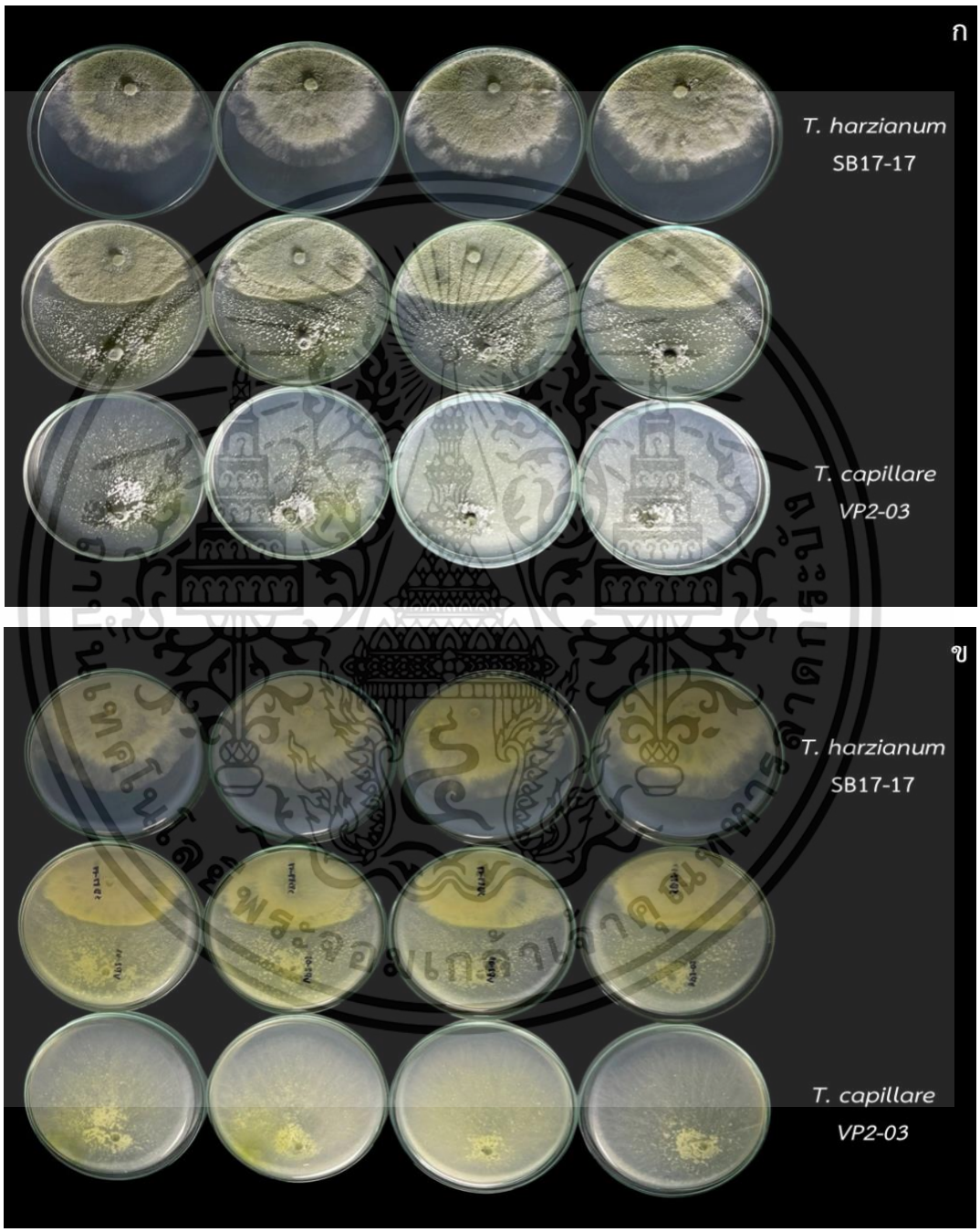
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 Dual culture บนอาหาร PDA คู่ที่ 1 ได้แก่ *T. harzianum* VS *T. lixii* ด้านหน้าเพลทเลี้ยงเชื้อ (ก) ด้านหลังเพลทเลี้ยงเชื้อ (ข)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

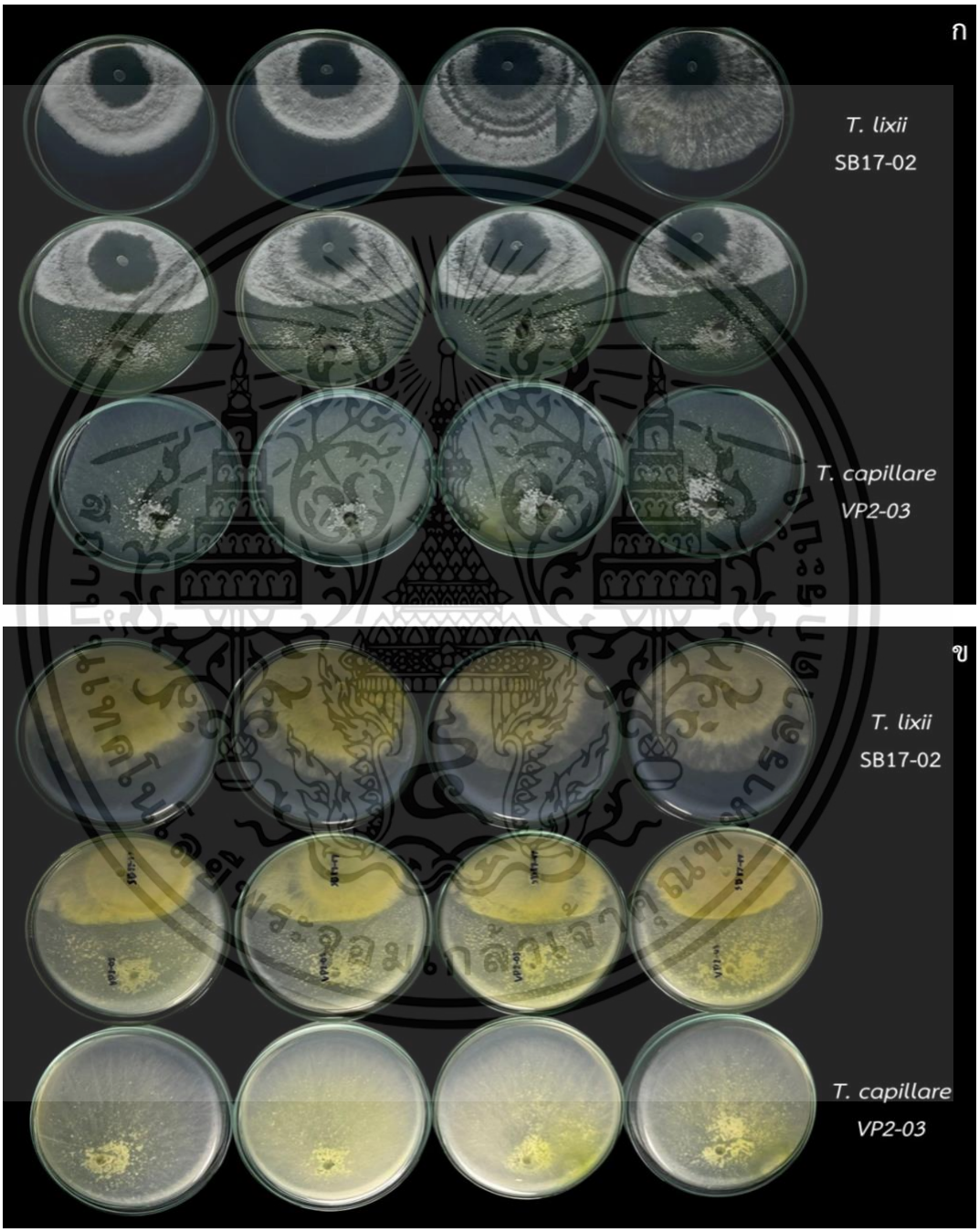
จากผลการทดลอง รูปที่ 4.5 แสดงให้เห็นว่าเชื้อรา *Trichoderma* ทั้ง 2 สปีชีส์ คือ SB17-17 VS VP2-03 สามารถเจริญอยู่ด้วยกันได้โดยเส้นใยมีการเจริญแบบชนกัน เมื่อนำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา ค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพการการยับยั้ง อยู่ที่ 43.89±0.94% แสดงในตารางที่ 4.3



รูปที่ 4.5 Dual culture บนอาหาร PDA คู่ที่ 2 ได้แก่ *T. harzianum* VS *T. capillare* ด้านหน้าเพลทเลี้ยงเชื้อ (ก) ด้านหลังเพลทเลี้ยงเชื้อ (ข)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลอง Dual culture รูปที่ 4.6 แสดงให้เห็นว่าเชื้อรา *Trichoderma* ทั้ง 2 สปีชีส์ คือ SB17-02 VS VP2-03 สามารถเจริญอยู่ด้วยกันได้โดยเส้นใยมีการเจริญแบบชนกัน เมื่อนำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิ์ภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา ค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพการการยับยั้ง อยู่ที่ 47.41±0.87% แสดงในตารางที่ 4.3



รูปที่ 4.6 Dual culture บนอาหาร PDA คู่ที่ 3 ได้แก่ *T. lixii* VS *T. capillare* ด้านหน้าเพลทเลี้ยงเชื้อ (ก) ด้านหลังเพลทเลี้ยงเชื้อ (ข)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลอง Dual culture จะเห็นได้ว่าเชื้อรา *Trichoderma* 3 สปีชีส์ เมื่อนำมาศึกษาการอยู่ร่วมกันของเชื้อรา *Trichoderma* ทั้งหมด 3 คู่ ได้แก่ SB17-17 VS SB17-02, SB17-17 VS VP2-03 และ SB17-02 VS VP2-03 จากนั้นนำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา ผลปรากฏว่าเชื้อรา *Trichoderma* ทั้ง 3 สปีชีส์ สามารถเจริญด้วยกันได้โดยเส้นใยของเชื้อรามีการเจริญแบบชนกันโดยเส้นใยของเชื้อราไม่เข้าสู่อาณาเขตที่อีกฝ่ายครอบครองอยู่ มีค่าการยับยั้งการเจริญเฉลี่ย เท่ากับ 57.96±1.36%, 43.89±0.94% และ 47.41±0.87% ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.3

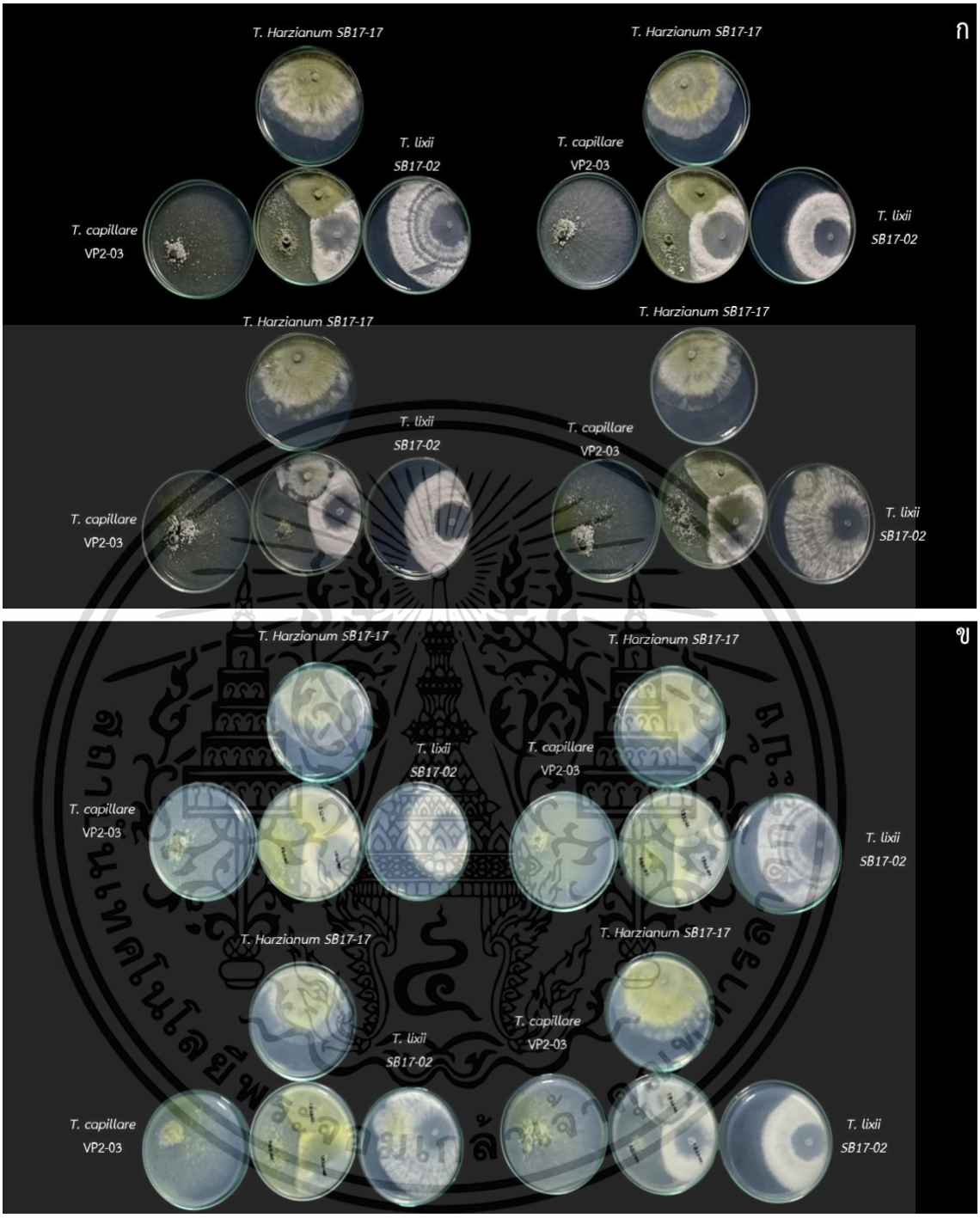
ตารางที่ 4.3 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของการเพาะเลี้ยงร่วมกันด้วยวิธี Dual culture จำนวน 3 คู่ ของเชื้อรา *Trichoderma*

เชื้อรา	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%)				ค่าเฉลี่ย
	ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่4	
SB17-17 VS SB17-02	56.76	57.74	57.44	59.90	57.96±1.36
SB17-17 VS VP2-03	44.20	42.62	43.86	44.86	43.89±0.94
SB17-02 VS VP2-03	47.25	48.29	46.27	47.85	47.41±0.87

4.2.2 ผลการทดสอบ Tri-culture

จากผลการทดลองที่ 4.2.1 ที่ศึกษาการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Trichoderma* บนอาหาร PDA ด้วยวิธี Dual-culture จำนวน 3 คู่ คือ SB17-17 VS SB17-02, SB17-17 VS VP2-03 และ SB17-02 VS VP2-03 สามารถเจริญด้วยกันได้ จึงทำการทดลองต่อเพื่อทดสอบว่าเมื่อนำเชื้อรา *Trichoderma* 3 สปีชีส์ มาทำการทดลองด้วยวิธีการ Tri-culture เพื่อทดสอบว่าเชื้อราทั้ง 3 สปีชีส์ยังคงสามารถเจริญร่วมกันได้หรือไม่โดยศึกษาการเจริญร่วมกันของเส้นใยและคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง ดังแสดงในรูปที่ 4.7 และตารางที่ 4.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7 Tri culture บนอาหาร PDA จำนวน 1 กลุ่ม ได้แก่ *T. harzianum* VS *T. lixii* VS *T.* capillare ด้านหน้าเพลทเลี้ยงเชื้อ (ก) ด้านหลังเพลทเลี้ยงเชื้อ (ข)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลอง Tri culture พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* 3 สปีชีส์ ได้แก่ SB17-17, SB17-02 และ VP2-03 เมื่อนำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา ค่าเฉลี่ยของวิธีทดสอบ Tri-culture อยู่ที่ 39.98±2.90%, 31.72±2.31% และ 39.60±1.34% ตามลำดับ ดังในตารางที่ 4.4 เมื่อเพาะเลี้ยงร่วมกันด้วยวิธี Dual-culture และ Tri- culture พบว่าเชื้อรามีการเจริญร่วมกันได้โดยที่เส้นของเชื้อรามีการเจริญแบบชนกัน เมื่อเปรียบเทียบ กับการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 8 ชนิด ของ *T. harzianum* ของ หฤษฎ์ นิ่มรักษา (2561) พบว่าเชื้อก่อโรคถูกยับยั้งโดยเชื้อรา *T. harzianum* ตั้งแต่ 76.19-90.17% พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* ทั้ง 3 สปีชีส์มีการยับยั้งกันเองที่ต่ำ และจากงานวิจัยของ Bhavika และคณะ, (2014) ลักษณะการอยู่ร่วมกันเป็นแบบ การชะงัก (Deadlock) คือเส้นใยของเชื้อราไม่สามารถเข้าสู่อาณาเขตที่ถูกครอบครองโดยอีกฝ่ายได้

ตารางที่ 4.4 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของการเพาะเลี้ยงร่วมกันด้วยวิธี Tri culture จำนวน 1 กลุ่ม ของเชื้อรา *Trichoderma*

สปีชีส์	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%)				ค่าเฉลี่ย
	ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่4	
T. harzianum (SB17-17)	38.41	43.97	37.40	40.16	39.98±2.90
T. lixi (SB17-02)	29.76	34.29	29.76	33.04	31.72±2.31
T. capillare (VP2-03)	39.92	37.99	39.27	41.21	39.60±1.34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลการทดลองการเพิ่มปริมาณหัวเชื้อ *Trichoderma*

จากการผลิตหัวเชื้อรา *Trichoderma* 3 สายพันธุ์ ด้วยข้าวสารที่หุงสุก พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* สามารถเจริญบนเมล็ดข้าวสุกได้เป็นอย่างดีโดยพบว่า จะเริ่มมีเส้นใยเกาะบนเมล็ดข้าวในวันที่ 2-3 และ เริ่มเห็นสปอร์สีเขียวอ่อน ๆ ในวันที่ 4-5 และเมื่อครบ 7 วันจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้ม แต่ SB17-02 มีการสร้างรงควัตถุสีเหลือง ดังแสดงในรูปที่ 4.8

จึงได้นำเมล็ดข้าวที่มีเชื้อราเจริญอยู่ไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหาร PDA ปรากฏว่ายังเป็นเชื้อรา *Trichoderma* เมื่อนำไปศึกษาใต้กล้องจุลทรรศน์ยังพบว่ามีลักษณะของ เส้นใยมีผนังกั้น พบ conidiophore และมีสปอร์รูปกลมจนถึงไข่ ซึ่งจะเห็นได้ว่าเชื้อที่เจริญยังเป็นเชื้อรา *Trichoderma* กล่าวได้ว่าอาจมีปัจจัยทางด้านสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ และสารอาหาร สามารถส่งผลต่อลักษณะการสร้างและเกิดรงควัตถุได้

รูปที่ 4.8 การเปรียบเทียบลักษณะหัวเชื้อรา *Trichoderma* 3 สปีชีส์ บนข้าวสุก

เมื่อมีการตรวจนับปริมาณสปอร์ จากการทำ serial dilution ความเจือจางที่ระดับ 10^{-2} จากนั้นนำมา 10 ไมโครลิตร หยดลงบน Hemacytometer พบว่า *T. harzianum* (SB17-17) มีจำนวนสปอร์ $1.43x10^{8}$ สปอร์/กรัม *T. lixii* (SB17-02) มีจำนวนสปอร์ $2.95x10^{8}$ สปอร์/กรัม และ *T. capillare* (VP2-03) มีจำนวนสปอร์ $1.85 x10^{8}$ สปอร์/กรัม จากนั้นนำเชื้อรา *Trichoderma* มาผสมเข้าด้วยกันทั้ง 3 สปีชีส์ ด้วยอัตราส่วน 1:1:1 โดยน้ำหนัก พบว่ามีจำนวนสปอร์ $5.75x10^{7}$ สปอร์/กรัม ดังตารางต่อที่ 4.5 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ จิระเดช และวรรณวิไล (2545) ที่ผลิตหัวเชื้อรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Trichoderma ชนิดสด ด้วยปลายข้าวที่หุ้งจนสุกด้วยหม้อไฟฟ้า โดยสังเกตเห็นเส้นใยในวันที่ 2 และพบสปอร์สีเขียวอ่อนภายใน 4 วัน และเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้มในวันที่ 7 โดยเชื้อราที่บ่มครบ 7 วัน แล้วมีปริมาณอยู่ประมาณ $1.6x10^9$ หน่วยโคโลนี (CFU)/เชื้อ 1 กรัม สามารถนำไปเก็บรักษาในอุณหภูมิ 8-10°C ได้สูงสุดถึง 30 วัน โดยที่ประสิทธิภาพไม่แตกต่างจากวันที่ 7

ตารางที่ 4.5 จำนวนสปอร์หัวเชื้อรา *Trichoderma* ที่ตรวจนับได้ในระดับความเจือจางที่ 10^{-2}

สปีชีส์	จำนวนสปอร์ สปอร์/กรัม
T. harzianum (SB17-17)	$1.43x10^8$
T. lixi (SB17-02)	$2.95x10^8$
T. capillare (VP2-03)	$1.85x10^8$

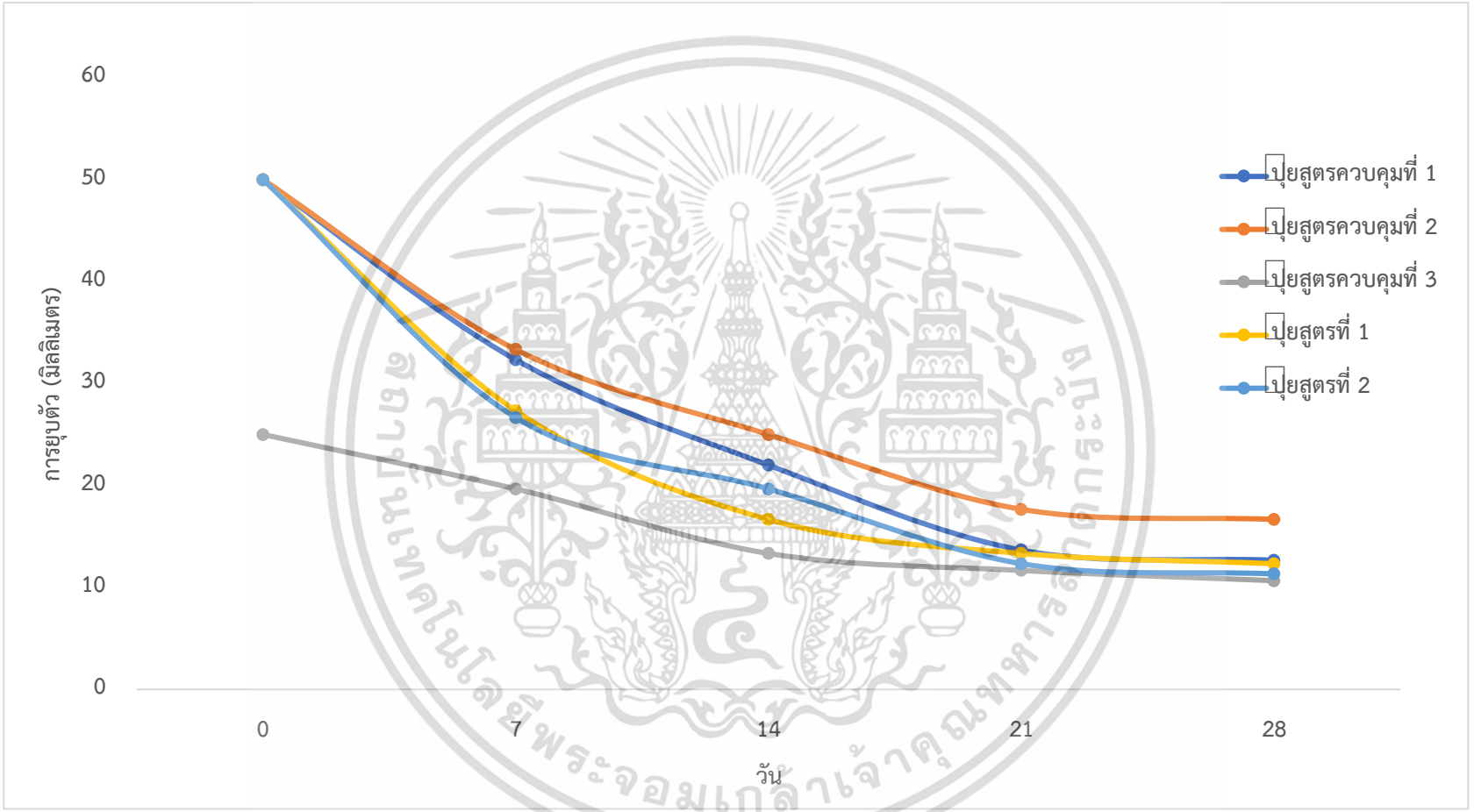
4.4.1 อัตราการยุบตัวของปุ๋ย

จากการดำเนินการหมักปุ๋ยในกล่องพลาสติกที่มีความกว้าง ความยาว และความสูงเป็น 13.5x20x8 เซนติเมตร โดยทำการหมัก 5 สูตร จำนวนสูตรละ 3 ซ้ำ ได้แก่ ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 1, ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 2, ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 3, ปุ๋ยสูตรที่ 1 และปุ๋ยสูตรที่ 2 เมื่อนำมาวัดความสูงของกองปุ๋ยทุก 7 วัน เริ่มที่วันที่ 0 ได้ค่าเฉลี่ยความสูงอยู่ 50, 50, 25, 50 และ 50 มิลลิเมตร วันที่ 7 ได้ค่าเฉลี่ยความสูงอยู่ที่ 30.33, 33.33, 19.67, 27.33 และ 26.67 มิลลิเมตร วันที่ 14 ได้ค่าเฉลี่ยความสูงอยู่ที่ 22.00, 25.00, 13.33, 16.67 และ 19.67 มิลลิเมตร วันที่ 21 ได้ค่าเฉลี่ยความสูงอยู่ที่ 13.67, 17.67, 11.67, 13.33 และ 12.33 มิลลิเมตร ส่วนวันที่ 28 ได้ค่าเฉลี่ยความสูงอยู่ที่ 12.67, 16.67, 10.67, 12.33 และ 11.33 มิลลิเมตร สามารถสรุปได้ว่าวัสดุที่ใช้ในการหมักเกิดการยุบตัว และความสูงของการยุบตัวของปุ๋ยเหลือปริมาณที่ใกล้เคียงกันในวันที่ 28 และจากการทดลองเห็นได้ว่าปุ๋ยสูตรที่ 1 และปุ๋ยสูตรที่ 2 มีอัตราการยุบตัวของวัสดุที่เร็วกว่า ปุ๋ยสูตรควบคุม ช่วงวันที่ 7, 14 และ 21 ดังแสดงในรูปที่ 4.9 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ปัญญาพร และคณะ (2557) ที่อธิบายไว้ว่าหากทำให้วัสดุที่ใช้ในการหมักมีขนาดเล็กลงก่อนหมัก จะทำให้พื้นผิวในการย่อย สลายเพิ่มขึ้นและเกิดการย่อยสลายได้รวดเร็วมากยิ่งขึ้น และ เฉลิมชัย และคณะ (2557) พบว่าในช่วงเริ่มต้นของกระบวนการหมักปุ๋ยจากผักตกชวาด้วยเชื้อรา *Trichoderma* sp. กิจกรรมเอนไซม์จะมีค่าสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องและจะมีค่ากิจกรรมเอนไซม์ลดลงเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มมากขึ้นทั้ง เซลลูเลส ไซแลนเนส โปรติเอส และยูรีเอส เนื่องจากจุลินทรีย์มีการผลิตปริมาณเอนไซม์ในช่วงแรกของการหมักเท่านั้น ทำให้ในช่วงแรกจะมีการยุบตัวได้อย่างรวดเร็ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ค่าเฉลี่ยการยุบตัวของวัสดุในกองปุ๋ยหมักอินทรีย์ชีวภาพจำนวน 5 สูตร

สูตร	ปริมาณความสูงของวัสดุในกองปุ๋ย (มิลลิเมตร)				
	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21	วันที่ 28
ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 1	50	32.33	22.00	13.67	12.67
ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 2	50	33.33	25.00	17.67	16.67
ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 3	25	19.67	13.33	11.67	10.67
ปุ๋ยสูตรที่ 1	50	27.33	16.67	13.33	12.33
ปุ๋ยสูตรที่ 2	50	26.67	19.67	12.33	11.33



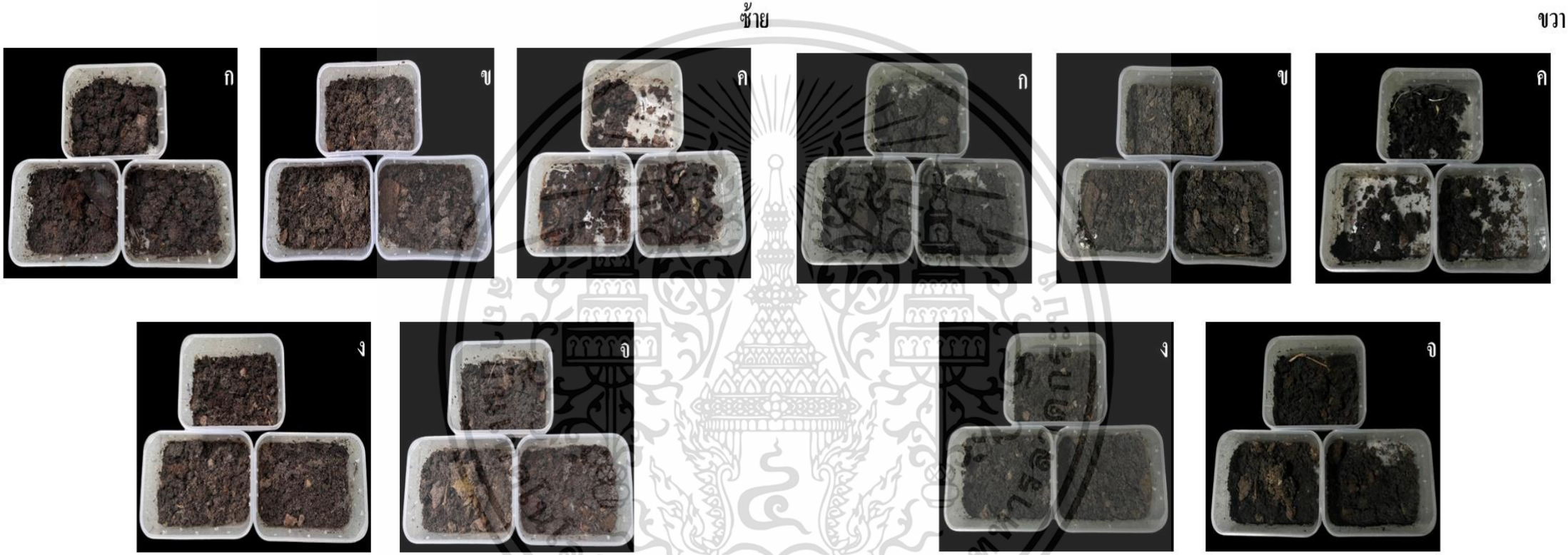
รูปที่ 4.9 กราฟแสดงการเปรียบเทียบการยุบตัวของวัสดุในขณะหมักปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 28

4.4.2 การศึกษาลักษณะภายนอกที่บ่งบอกว่าปุ๋ยที่หมักมีการย่อยสลายที่เสร็จสมบูรณ์

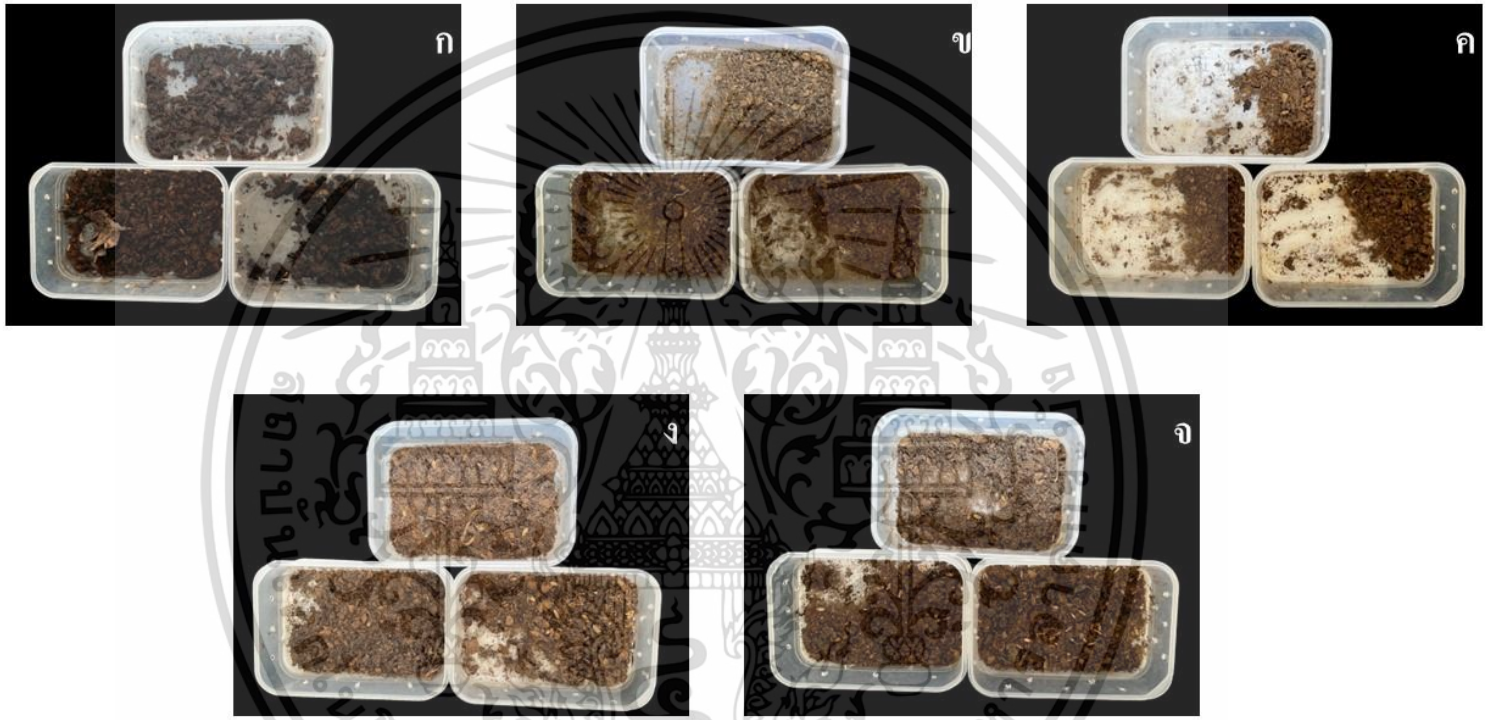
ในวันแรกที่เริ่มหมักไม่มีแส้นใยเชื้อราเกิดขึ้นเห็นสภาพวัสดุที่หมักได้ชัดเจน (รูปที่ 4.10 ภาพด้านซ้าย) 7 วันหลังการหมักปุ๋ยตัวอย่างที่มีการเติมหัวเชื้อราและตัวควบคุมที่ใส่แหนแดงและข้าวสุกมีสปอร์สีเขียวเกิดขึ้นบนชิ้นส่วนของเศษผักเศษผลไม้ยังมีขนาดใหญ่ (รูปที่ 4.10 ภาพด้านขวา) วันที่ 14 ของการหมักไม่พบสปอร์สีเขียวของเชื้อราในทุกตัวอย่างของ ปุ๋ยหมักมีสีดำขึ้นตัวควบคุมที่ใส่เพียงข้าวสุกพบหนอนเศษผัก และผลไม้เริ่มขนาดเล็กลง (รูปที่ 4.11 ภาพด้านซ้าย) วันที่ 21 ของการหมักกองปุ๋ยหมักมีสีดำและยังคงเปียกอยู่ ตัวควบคุมที่ใส่เพียงข้าวสุกไม่พบหนอนพบเศษผักและผลไม้เป็นชิ้นขนาดเล็ก (รูปที่ 4.11 ภาพด้านขวา) เมื่อหมักครบ 30 วันแล้วมีสีน้ำตาลเข้มถึงดำ มีกลิ่นคล้ายกับดิน เมื่อสัมผัสสามารถขาดออกจากกันได้อย่างง่าย (รูปที่ 4.12) เมื่อนำปุ๋ยทั้ง 5 สูตรไปร่อนผ่านตะแกรงขนาดรูกว้าง 5 มิลลิเมตร พบว่าตัวอย่างปุ๋ยทั้ง 5 สูตร สามารถผ่านได้แสดงว่ามีการย่อยเศษผักและผลไม้ได้ จึงสามารถบ่งบอกได้ว่ามีการย่อยสลายของเศษผักผลไม้ ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับตารางเกณฑ์มาตรฐานกำหนดปุ๋ยอินทรีย์ (ตารางที่ 2.2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.10 ลักษณะปุ๋ยหมักเริ่มการหมักปุ๋ยวันที่ 0 (ภาพด้านซ้าย)และลักษณะปุ๋ยหมักหลังการหมักปุ๋ยครบ 7 วัน (ภาพด้านขวา) ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 1 (ก) ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 2 (ข) ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 3 (ค) ปุ๋ยสูตรที่ 1 (ง) ปุ๋ยสูตรที่ 2 (จ)



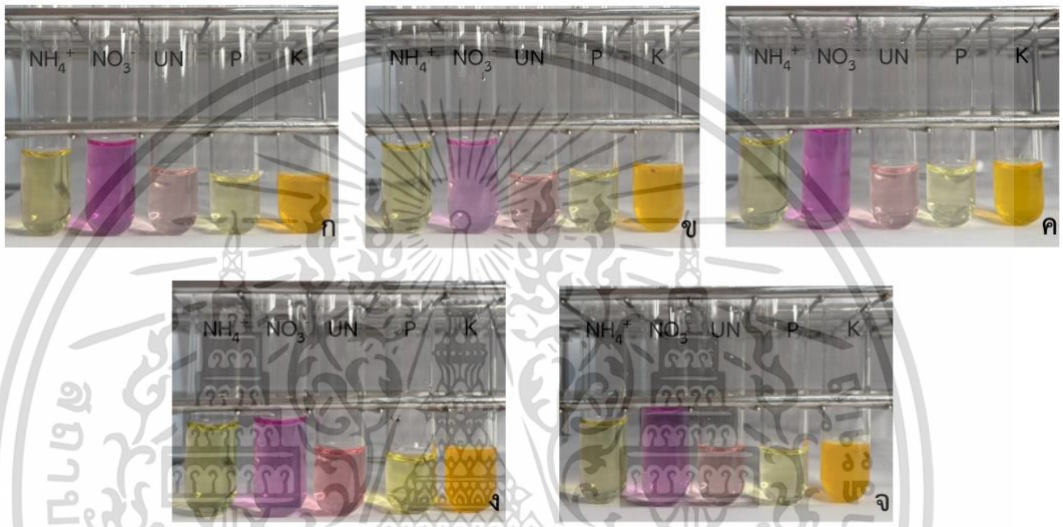
รูปที่ 4.11 ลักษณะปุ๋ยหมักหลังการหมักปุ๋ยครบ 14 วัน (ภาพด้านซ้าย)และลักษณะปุ๋ยหมักหลังการหมักปุ๋ยครบ 21 วัน (ภาพด้านขวา) ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 1 (ก) ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 2 (ข) ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 3 (ค) ปุ๋ยสูตรที่ 1 (ง) ปุ๋ยสูตรที่ 2 (จ)



รูปที่ 4.12 ลักษณะปุ๋ยหมักหลังการหมักปุ๋ยครบ 28 วัน ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 1 (ก) ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 2 (ข) ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 3 (ค) ปุ๋ยสูตรที่ 1 (ง) ปุ๋ยสูตรที่ 2 (จ)

4.4.3 การตรวจธาตุอาหารหลักด้วยชุดทดสอบปุ๋ยเคมี มก.5

จากการทดสอบได้ค่าธาตุอาหารหลักของปุ๋ยหมักที่ตรวจหลังจากการหมักเป็นเวลา 30 วัน จากรูปที่ 4.13 และตารางที่ 4.7 ผลการทดลองการตรวจหาธาตุอาหารหลักในปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ พบว่า ชุดตรวจสอบปุ๋ยเคมี มก.5 ที่ใช้ในการทดสอบสามารถบ่งบอกผลได้ในเชิงคุณภาพ ซึ่งไม่สามารถบ่งชี้ค่าในเชิงปริมาณได้ จึงต้องนำตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ ส่งวิเคราะห์ธาตุอาหารหลักกับทางห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์ทหารเรือ



รูปที่ 4.13 ค่าธาตุอาหารหลักของปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพที่ตรวจสอบด้วยชุดทดสอบปุ๋ยเคมี มก.5 ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 1 (ก) ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 2 (ข) ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 3 (ค) ปุ๋ยสูตรที่ 1 (ง) ปุ๋ยสูตรที่ 2 (จ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 ตารางค่าของธาตุอาหารหลักที่ตรวจด้วยชุดตรวจปุ๋ยเคมี มก.5

ลำดับ	สูตร	ค่าธาตุอาหารหลัก				
		ไนโตรเจน				
		แอมโมเนียม - ไนโตรเจน	ไนเตรท-ไนโตรเจน	ยูเรีย-ไนโตรเจน	ฟอสฟอรัส	โพแทสเซียม
1	ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 1	0-2%	0-2%	0-5%	0-5%	16-24%
2	ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 2	0-2%	0-2%	0-5%	0-5%	24%
3	ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 3	0-2%	0-2%	0-5%	0-5%	24%
4	ปุ๋ยสูตรที่ 1	0-2%	0-2%	0-5%	0-5%	16-24%
5	ปุ๋ยสูตรที่ 2	0-2%	0-2%	0-5%	0-5%	16-24%

4.4.4 คุณสมบัติของปุ๋ยหมักที่ระยะเวลา 30 วัน

จากตารางที่ 4.8 พบว่าปุ๋ยหมักอินทรีย์ชีวภาพจากทุกการทดลองมีค่า pH ที่ใกล้เคียงกัน คืออยู่ในช่วง 7.5-8.04 ค่า Ec อยู่ในช่วง 0.54-0.88 dS/m ค่าความเค็มอยู่ในช่วง 276.00-425.67 ppm. ซึ่งพบว่า มีค่าที่ไม่เกินค่ามาตรฐานเมื่อเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ ดังในตาราง 4.8 และตารางที่ 2.2 ซึ่งจากการวิเคราะห์ค่าธาตุอาหารหลักหลังจากส่งวิเคราะห์กับห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์ทหารเรือ พบว่าปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 1, 2, 3 และปุ๋ยสูตรที่ 1 และ 2 มีค่าไนโตรเจนอยู่ที่ (2.65, 2.44, 2.13, 2.66 และ 2.66 ร้อยละโดยน้ำหนักต่อน้ำหนักของน้ำหนักแห้ง), ค่าฟอสฟอรัสอยู่ที่ (14.35, 12.85, 14.39, 12.49 และ 12.66 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักแห้ง) ค่าโพแทสเซียมอยู่ที่ (20.66, 16.00, 10.96, 19.95 และ 19.63 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักแห้ง) และได้ค่าอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอยู่ที่ (35.17, 34.80, 33.46, 26.67 และ 31.84 ร้อยละโดยน้ำหนักต่อน้ำหนักของน้ำหนักแห้ง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 แสดงคุณสมบัติของปุ๋ยหมักที่ระยะเวลา 30 วัน

ลำดับที่	คุณลักษณะ	อัตราการเจือจาง	ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 1	ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 2	ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 3	ปุ๋ยสูตรที่ 1	ปุ๋ยสูตรที่ 2	ค่ามาตรฐาน
1	pH (pH meter)	200 เท่า	7.88	7.96	7.91	7.70	8.04	5.5-8.5
	pH (pH test kit มก.5)	200 เท่า	8	8	8	7.5	8	
2	Ec (dS/m)	200 เท่า	0.61	0.80	0.54	0.84	0.88	ไม่เกิน 6 dS/m
3	Salt (ppm.)	200 เท่า	303.67	403.33	276.00	421.33	425.67	น้อยกว่า 450 ppm.
4	อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน	-	7.70	8.27	9.11	5.82	6.94	ไม่เกิน 20:1
5	ปริมาณธาตุอาหารหลัก							N ไม่น้อยกว่า 0.1% โดยน้ำหนัก P ไม่น้อยกว่า 0.5% โดยน้ำหนัก K ไม่น้อยกว่า 0.1% โดยน้ำหนัก
	-ไนโตรเจน	-	2.65	2.44	2.13	2.66	2.66	
	-ฟอสฟอรัส		14.35	12.85	14.39	12.49	12.66	
	-โพแทสเซียม		20.66	16.00	10.96	12.66	19.63	

4.5 ผลการตรวจสอบปริมาณเชื้อราในปุ๋ยหมัก

หลังจากทำการหมักครบ 30 วันแล้วทำการตรวจนับสปอร์ของเชื้อราที่สามารถเจริญเติบโตได้บนอาหาร PDA โดยปุ๋ยสูตรที่ 1 (7:1:1:1) มีจำนวนสปอร์เท่ากับ $7.33x10^4$ CFU/กรัม ปุ๋ยสูตรที่ 2 (8:1:1:0.1) มีจำนวนสปอร์เท่ากับ $9.57x10^4$ CFU/กรัม ดังแสดงในตารางที่ 4.9 เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณสปอร์เฉลี่ยในหัวเชื้อก่อนหมักพบว่าสูตรที่1 มีปริมาณเชื้อราลดลง 1.3 เท่าและสูตรที่ 2 มีปริมาณลดลง 1.05 เท่า

ตารางที่ 4.9 การตรวจนับสปอร์ของเชื้อราสกุล *Trichoderma* ในปุ๋ยที่หมักครบ 30 วัน

ตัวอย่าง	อาหารเพาะเลี้ยง	จำนวนสปอร์ CFU/กรัม
ปุ๋ยสูตรที่ 1	PDA	$7.33x10^4$
ปุ๋ยสูตรที่ 2		$9.57x10^4$

จิระเดช และคณะ, (2545) พบว่า *Trichoderma* ผสมในปุ๋ยหมักมูลเป็ดที่ อัตราส่วน 1:100 โดยน้ำหนัก เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 29-38°C ในเดือนแรกจำนวนเชื้อรา จะลดลงประมาณ 1.6-1.8 เท่าในเดือนแรก หากมีปริมาณเชื้อราหลงเหลือในปุ๋ยหมักที่สามารถเจริญได้ ที่จะช่วยเพิ่มธาตุอาหารให้แก่พืช แล้วเมื่อเชื้อราเจริญเติบโตยังช่วยในการเจริญเติบโต และป้องกันโรคที่เกิดจากเชื้อก่อโรคพืช และหากต้องการเก็บปุ๋ยหมักที่ผสม *Trichoderma* มาไว้ควรเก็บในที่ร่มให้ห่างจากความร้อนจากแสงแดดและความชื้นจากฝน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาเชื้อรา *Trichoderma* 3 สปีชีส์ จากลักษณะสัณฐานวิทยา บนอาหาร PDA ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และลำดับนิวคลีโอไทด์ พบว่าเป็นเชื้อรา *Trichoderma* ทั้ง 3 สปีชีส์ โดยไอโซเลท SB17-17 ระบุได้ว่าเป็นเชื้อรา *T. harzianum* และ ไอโซเลท SB17-02 ระบุได้ว่าเป็นเชื้อรา *T. lixii* ส่วนไอโซเลท VP2-03 นั้น สามารถระบุได้ว่าเป็นเชื้อรา *T. capillare* เมื่อการอยู่ร่วมกันของเชื้อรา *Trichoderma* ทั้ง 3 สปีชีส์ โดยได้ศึกษาด้วยวิธี dual culture จำนวน 3 คู่ คือ SB17-17 VS SB17-02, SB17-17 VS VP2-03 และ SB17-02 VS VP2-03 พบว่าค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ที่ 57.96±1.36 43.89±0.94 และ 47.42±0.87 ตามลำดับ รวมทั้งศึกษาด้วยวิธีการ tri culture จำนวน 1 กลุ่ม คือ SB17-17 VS SB1702 VS VP2-03 พบค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ที่ 39.98±2.90, 31.72±2.31 และ 39.60±1.34 ตามลำดับ สามารถสรุปได้ว่าเชื้อรา *Trichoderma* ทั้ง 3 สปีชีส์ เจริญร่วมกันได้ และเมื่อนำเชื้อรา *Trichoderma* 3 สปีชีส์ มาใช้ในกระบวนการหมักปุ๋ยจากเศษผักและผลไม้ พบว่าปุ๋ยสูตรที่ 1 และปุ๋ยสูตรที่ 2 มีการยุบตัวที่ดี และไวกว่า ปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 1, 2 และ 3 ที่หมักเป็นเวลา 30 วัน จากนั้นนำปุ๋ยมาร่อนผ่านตะแกรงขนาดรูกว้าง 5 มิลลิเมตร พบว่าปุ๋ยสามารถผ่านได้ แสดงว่ามีการย่อยสลายเกิดขึ้น แล้วเมื่อนำปุ๋ยที่หมักได้มาวัดค่า pH พบว่าปุ๋ยหมักทุกสูตรมีค่าอยู่ในช่วง 7.70-8.04 ค่าการนำไฟฟ้าอยู่ในช่วง 0.54-0.88 dS/m ค่าความเค็มอยู่ในช่วง 276.00-425.67 ppm. ทั้ง 3 ค่าที่กล่าวมมาอยู่ในช่วงมาตรฐานเกณฑ์กำหนดปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ ของกรมวิชาการเกษตร พ.ศ. 2548 แล้วเมื่อนำตัวอย่างปุ๋ยหมักมา วัดค่าธาตุอาหารหลัก คือ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ด้วยชุดตรวจสอบปุ๋ยเคมี มก.5 พบว่า พบธาตุอาหารหลักในปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ แต่ไม่สามารถบอกปริมาณที่ชัดเจนได้ จึงต้องนำตัวอย่างปุ๋ยส่งตรวจกับทางห้องปฏิบัติการกรมวิทยาศาสตร์ทหารเรือ ได้ผลว่าปุ๋ยสูตรควบคุมที่ 1, 2, 3 และปุ๋ยสูตรที่ 1 และ 2 ค่าไนโตรเจนเท่ากับ (2.65, 2.44, 2.13, 2.66 และ 2.66 ร้อยละโดยน้ำหนักต่อน้ำหนักของน้ำหนักแห้ง) ค่าฟอสฟอรัส (14.35, 12.85, 14.39, 12.49 และ 12.66 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักแห้ง) ค่าโพแทสเซียมเท่ากับ (20.66, 16.00, 10.96, 19.95 และ 19.63 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักแห้ง) และได้ค่าอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยเท่ากับ (35.17, 34.80, 33.46, 26.67 และ 31.84 ร้อยละโดยน้ำหนักต่อน้ำหนักของน้ำหนักแห้ง) เมื่อพิจารณาจากค่าที่กล่าวมาสามารถสรุปได้ว่าปุ๋ยที่เติมเชื้อราร่วมด้วยในการหมักสูตรที่ 2 ในอัตราส่วน 8:1:1:0.1 มีประสิทธิภาพ และดีที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษานี้อาจนำไปสู่การปรับแล้วนำผลงานวิจัยไปผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ ในระดับเกษตรกรเพื่อลดต้นทุนทางการเกษตร และลดปัญหาด้านการขาดแคลนปุ๋ย และส่งเสริมการทำเกษตรอินทรีย์อีกด้วย

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรพัฒนาอุปกรณ์การหมัก และขนาดอุปกรณ์ให้มีขนาดที่ใหญ่ขึ้น และสามารถนำไปใช้ได้จริง

5.2.2 ควรนำปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพที่ได้จากการหมักไปทดลองใช้ในแปลงเกษตร หรือใช้กับพืชจริง

5.2.3 ควรปรับปรุงสูตรใหม่ โดยไม่เติมขี้วัวลงไปในสูตร เนื่องมาจากในขี้วัวมีเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยพวกเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กรมควบคุมมลพิษ. 2565. “แผนปฏิบัติการด้าน การจัดการขยะของประเทศ ฉบับที่ 2 (พ.ศ. 2565 - 2570).” กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม.

กรมพัฒนาที่ดิน. 2553. “คู่มือปฏิบัติการ กระบวนการวิเคราะห์ตรวจสอบดินทางเคมี.” แก้ไขครั้งที่ 01. กรมพัฒนาที่ดิน

กรมวิชาการเกษตร. 2551. “คู่มือวิเคราะห์ปุ๋ยชีวภาพ.” พิมพ์ครั้งที่ 1 กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา, กรมวิชาการเกษตร : ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.

กรมวิชาการเกษตร. 2548. “ปุ๋ยอินทรีย์ การผลิต การใช้ มาตรฐานและคุณภาพ.” พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ชุมชุนสหกรณ์การเกษตร์แห่งประเทศไทย จำกัด.

กองส่งเสริมการอารักขาพืชและจัดการดินปุ๋ย. 2558. “ปุ๋ยชีวภาพ.” เอกสารวิชาการดินและปุ๋ย. กลุ่มส่งเสริมการจัดการปุ๋ย กองส่งเสริมการอารักขาพืชและจัดการดินปุ๋ย, กรมส่งเสริมการเกษตร : กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

กัญญาพร คล่องแคล่ว และชนาภรณ์ จาดตานิม.“การคัดแยกเชื้อราจากกไม้ผุและการตรวจสอบเอนไซม์เบื้องต้นเพื่อใช้ย่อยสลายเยื่อกระดาษ.” วิทยาสาตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 2563.

จารุวรรณ มณีศรี. 2541. “การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากขี้เรื่อยโดยเชื้อราด้วยการหมักแบบอาหารแข็ง.” ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์นครศรีธรรมราช สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล

จิระเดช แจ่มสว่าง และวรรณวิไล อินทนู. 2545. “การผลิตเชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสดด้วยเทคนิคอย่างง่ายเพื่อใช้ควบคุมโรคเน่าระดับดินของถั่วฝักยาวที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii*.” หน้า 114-122. ใน การประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 40. กรุงเทพ : สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

จิระเดช แจ่มสว่าง, วรรณวิไล อินทนู และกรุง สีตะธนี. 2546. “ประสิทธิภาพของปุ๋ยอินทรีย์ที่ผสมด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มาในการควบคุมโรคเน่าระดับดินในถั่วฝักยาวที่เกิดจากเชื้อรา Sclerotium rolfsii.” หน้า 40-56 ใน รายงานการวิจัยโครงการวิจัยเพื่อพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตและการตลาดผักสู่ระบบเกษตรอินทรีย์. นครปฐม : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน คณะเกษตร กำแพงแสน.

จิราภรณ์ สอดจิตร์. 2553. “การสกัดและการใช้ประโยชน์ทางอาหารของใยอาหารและเซลลูโลสจากเปลือกกล้วย.” คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร : พิษณุโลก.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จุฑามาส หานุ. “ศึกษาปุ๋ยเคมีและปุ๋ยคอก (มูลไก่และมูลสุกร) ในอัตราส่วนที่แตกต่างกันต่อการเจริญเติบโตของแตงกวาญี่ปุ่นพันธุ์ เพรตตี้ สวอโล่ 279.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรตบัณฑิต สาขาวิชาเกษตรศาสตร์(เทคโนโลยีการผลิตพืช), มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์. 2556.

เฉลิมชัย แพะคำ, บุญร่วม คิดค้า, มนัส ทิตย์วรรณ และวิพรพรรณ์ เนื่องแม็ก. 2557. “การศึกษาปริมาณธาตุอาหารพืชจากปุ๋ยหมักผักตบชวาที่ย่อยสลาย โดยเชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท UPPY19.” แก่นเกษตร. 42(ฉบับพิเศษ 1).

ชนาภรณ์ จาดตานิม. “การพัฒนาปุ๋ยอินทรีย์ด้วยเชื้อราที่แยกจากป่าชายเลน สำหรับส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและควบคุมเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคพืช.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 2567.

โชษิตา อุบลสุข. “การระบุชนิดของรา Trichoderma species และการคัดกรองสายพันธุ์ที่สร้างเอนไซม์ไคติเนสเบื้องต้น.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 2564.

ทวีทรัพย์ ไชยรักษ์ และกัญชลิกา รัตนเชิดฉาย. 2561. “ประสิทธิภาพของปุ๋ยชีวภาพราไตรโคเดอร์มาเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคของพริก (*Capsicum flutescens Linn*) ในพื้นที่ดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ” มหาลัยราชภัฏมหาสารคาม.

ปัญญาพร อินทร์คง, รัชพล ประดิษฐ์พงษ์ และศศิธร เอมอำไพร. 2557. “การผลิตปุ๋ยหมักจากขยะอินทรีย์ของโรงงานผลิตอาหารและวัชพืชน้ำโดยวิธีเติมอากาศแบบซิมนีย์คอนเวคชัน.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเคมีสิ่งแวดล้อม. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 2557.

พราวมาส เจริญรักษ์, สุวรรณกาญจน์ สุพมาตรา และ ดาวรุ่ง วัชรินทรัตน์. 2564. “การใช้ชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดหอมชนิดบัตเตอร์เฮด.” แก่นเกษตร. 49 (ฉบับพิเศษ. 1) : 1055-1059.

ภาวนา ลิกขนานนท์, สุปรานี มั่นหมาย, ศิริลักษณ์ แก้วสุรลิขิต และธูปหอม พิเนตรเสถียร. 2553. “การผลิตปุ๋ยอินทรีย์โดยการเพิ่มเชื้อจุลินทรีย์เพื่อเสริมสร้างความแข็งแรงแก่พืช.” วารสารวิจัยและพัฒนา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร 2 : 44-55.

มาลัยพร เชื้อบัณฑิต. “ความหลากชนิดของเชื้อราปฏิปักษ์ Trichoderma spp. ในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ และการประยุกต์ใช้ในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาโรคพืชวิทยา. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 2548

ยงยุทธ โอสถสภา. 2534. “ธาตุอาหาร.” ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

รัฐพร จันทร์เดช. 2555. การแยกและคัดกรองแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูโลสจากมูล ช้าง ม้า แพะ และโคอาลา” คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิทวัส แจ้งเอี่ยม. 2562. “การพัฒนาการย่อยสลายสารอินทรีย์ประเภทเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน โดยใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพ.” ภาควิชาวิศวะกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

สมชาย ชคตระการ และอรรถกร พรมวี. 2553. “การใช้เชื้อรา Trichoderma spp. ที่แยกได้จากใบไผ่ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของคะน้าภายใต้สภาพโรงเรือนและแปลงปลูกพืช” วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 18(1) : 14-27.

สายทอง แก้วฉาย. 2555. “การใช้ไตรโคเดอร์มาในการควบคุมโรคพืช.” คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยนริวาสราชนครินทร์ 4(3).

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2565. “แผนบริหารจัดการมาตรการแก้ไขปัญหาปุ๋ยเคมีราคาแพงและไม่มีเสถียรภาพ ปี2565 – 2569.” ส่วนประชาสัมพันธ์ สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร.

เสาวณี หนูรักษา. 2545. “การหาปริมาณธาตุอาหารหลัก (N, P, K) ในปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพยี่ห้อต่าง ๆ ในเขต อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช.” คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันราชภัฏนครศรีธรรมราช.

หฤษฎ์ นิ่มรักษา. 2561. “การคัดเลือกเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma harzianum* เพื่อเป็นผลิตภัณฑ์ชีวภาพสำหรับควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช” วารสารวิจัยรามคำแหง (วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี) 21(1) : 13-28.

อมรทิพย์ ภิรมย์บูรณ์ และอำไพพงษ์ เกาะเทียน. 2559 “การจัดการการดินและปุ๋ยอย่างมีประสิทธิภาพ.” เอกสารคำแนะนำที่ 2. พิมพ์ครั้งที่ 1 กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ : ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.

อมรทิพย์ ภิรมย์บูรณ์, อุบลวรรณ อารยพงศ์ และอำไพพงษ์ เกาะเทียน. 2558 “ปุ๋ยอินทรีย์.” [แผ่นผับที่ 18] พิมพ์ครั้งที่ 1 กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ : ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.

โองการ เจริญสวัสดิ์. “การหมักปุ๋ยแบบกองแถวโดยมีโครงระบายอากาศรูปสามเหลี่ยมที่มีขนาดของพื้นที่หน้าตัดแตกต่างกัน.” วิทยานิพธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 2555.

Adetunji, C.O. and Anani, O.A. 2020 “Bio-fertilizer from *Trichoderma* : boom for agriculture production and management of soil and root-borne plant pathogens.” *Innovations in Food Technology*. : 245-256.

Cai, F., Yu, G., Wang, P., Wei, Z., Fu, L., Shen, Q. and Chen, W. 2013. “Harzianolide, a novel plant growth regulator and systemic resistance elicitor from *Trichoderma harzianum*.” *Plant Physiology and Biochemistry*. 73 : 106-113.

De Souza, M.F., Da Silva, A.S.A and Bon, E.P.S. 2018. “A novel *Trichoderma harzianum* strain from the Amazon Forest with high cellulolytic capacity.” *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 14 : 183-188.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Fan, L.T. and Lee, Y.H. 1983. Kinetic studies of enzymatic hydrolysis of insoluble cellulose: derivation of a mechanistic model. *Biotechnology Bioengineering*. 25(11) : 2707-2733.

Gams, W. and Bissett, J. 2002. "Morphology and identification of *Trichoderma*." 3-31. In Harman, G.H. and Kubicek, C.P. *Trichiderma* and Gliocladium. London : Taylor & Francis.

Hamid, H.A, Qi, H.A., Harun, H., Sunar, M.N., Ahmad, F.H., Muhamad, M.S. and Hamidon, N. 2019 "Development of Organic Fertilizer from Food Waste by Composting in UTHM Campus Pagoh." *Journal of Applied Chemistry and Natural Resources*. 1(1) ; 1-6

Hieu, D.M., Nhung D.T. and Inagaki, Y. 2023. "Bio-organic Fertilizers from food wastes induce changes in soil microbial community composition and the development of bok-choy (*Brassica rapa*)." *SOIL Science Annual*. 74(3) : 176694.

Katoch, M., Singh, D., Kapoor, K.K. and Vishwakarma, R.A. 2019. "*Trichoderma lixii* (IIIM-B4), an endophyte of Bacopa monnieri L. producing peptaibols." BMC Microbiology. 19 : 98.

Marsden, W.L., Gray, P.P. and Dunn, W.W. 1982. "Alternative pathway for glucose production from cellulose using Trichoderma reesei QM 9414 cellulase." Biotechnol. Lett. 4 : 589-594

Min, T.L. 2015. "Production of Fertilizer using Food Wastes of Vegetables and Fruits." Department of Plant Science and Environmental Ecology Faculty of Resource Science and Technology UNIVERSITI MALAYSIA SARAWAK.

Omara, A.E.D. and El-maghraby, F.M. 2023. "Novel Bioformulations with *Trichoderma lixii* to Improve the Growth Dynamics and Biocontrol of the Cowpea Damping-Off Disease Microb." Microbiol Res. 14(4) : 2041-2066

Pandya, B. and Albert, S. 2014. "Evaluation of *Trichoderma reesei* as a compatible partner with some white rot fungi for potential bio-bleaching in paper industry." *Scholars Research Library*. 5(4) : 43-51.

Promwee, A., Issarakraisila, M., Intana, W., Chamswarng, C. and Yenjit, P. 2014. "Phosphate Solubilization and Growth Promotion of Rubber Tree (*Hevea brasiliensis Muell. Arg.*) by *Trichoderma* Strains". *Journal of Agricultural Science*. 6(9) : 19169752

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Rahman, M.A., Begum, M.F. and Alam, M.F. 2009 “Screening of Trichoderma Isolates as a Biological Control Agent against Ceratocystis paradoxa Causing Pineapple Disease of Sugarcane.” *Mycobiology*. 37(4) : 277-285.

Samule, G.J., Ismaiel, A., Szakacs, G., Druzhinina, S.I., Kubicek, P.C. and Jaklitsch, M.W. 2012. “The Longibrachiatum Clade of *Trichoderma*: a revision with new species.” Fungal Diversity. 55 : 77-108.

Sharma, A. and Chetani. 2017. “A Review on the Effect of Organic and Chemical Fertilizers on Plants.” *Science and Engineering*. 5(2) : 2321-9653

Ye, L., Zhao, X., Bao, E., Li, J., Zou, Z. and Cao, K. 2020. “Bio-organic fertilizer with reduced rates of chemical fertilization improves soil fertility and enhances tomato yield and quality.” *Scientific Reports*. 10 : 177.

Zin, N.A. and Badaluddin, N.A. 2020. “Biological function of *Trichoderma* spp. For agriculture applications”. Annals of Agricultural Sciences. 65(2) : 168-178.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. อาหารเลี้ยง Potato dextrose agar (PDA)

มันฝรั่งหั่นขนาด 1x1x1 เซนติเมตร	200 กรัม
Dextrose	20 กรัม
Agar	15 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร

หั่นมันฝรั่งขนาด 1x1x1 เซนติเมตร ปริมาณ 200 กรัม และเตรียมน้ำกลั่นใส่หม้อ 1,000 มิลลิลิตร แล้วนำมันฝรั่งไปต้มเป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลาแล้วกรองเนื้อมันฝรั่งออก เติม Dextrose ลงไป 20 กรัม แล้วคนให้เข้ากัน นำไปปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร เติมวุ้น 15 กรัม คนให้เข้ากัน จากนั้นแบ่งใส่ขวดและนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

1. อาหารเลี้ยง Potato dextrose agar (PDA) สำเร็จรูป

Potato dextrose agar (PDA) สำเร็จรูป	36 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร

ชั่งอาหาร PDA สำเร็จรูป 36 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นสะอาด 1,000 มิลลิลิตร คนให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นแบ่งใส่ขวดและนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. Dilution facter

Tween-80	2 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

นำ Tween-80 ผสมกับน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ใช้ปิเปตดูดน้ำกลั่นที่ผสม Tween-80 มาปริมาณ 9 มิลลิลิตรใส่ลงในหลอดทดลอง แล้วปิดหลอดทดลองด้วยฟลอยด์ และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

4. น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ

น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

ตวงน้ำกลั่นปริมาณ 1000 มิลลิลิตร แล้วแบ่งใส่ลงยังขวดปริมาตร 500 มิลลิลิตรจำนวน 2 ขวด จากนั้นปิดฝาพอหลวม ๆ และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ขนาดของสปอร์ และขนาดรัศมีโคโลนีเชื้อราที่เจริญร่วมกัน

1. ขนาดของสปอร์เชื้อรา *Trichoderma* 3 สปีชีส์ ได้แก่ *T. harzianum* (SB17-17), *T. lixii* (SB17-02) และ *T. capillare* (VP2-03)

ตารางที่ ข-1 แสดงค่าขนาดของสปอร์เชื้อรา *Trichoderma* 3 สปีชีส์

ซ้ำที่	*T. harzianum* (SB17-17)	*T. lixii* (SB17-02)	*T. capillare* (VP2-03)
1	2.28	2.10	2.81
2	2.33	2.98	3.80
3	2.10	2.21	3.20
4	2.14	2.35	3.26
5	2.16	2.54	3.36
6	2.71	2.40	3.35
7	2.14	2.35	3.75
8	2.62	2.11	3.55
9	2.19	2.34	2.88
10	2.07	2.22	3.44
11	2.36	2.09	3.03
12	2.02	2.01	3.31
13	2.29	2.81	3.28
14	2.19	2.12	3.38
15	2.12	2.56	3.29
16	2.41	2.01	3.38
17	2.16	2.01	3.73
18	2.92	2.08	3.65
19	2.07	2.19	3.62
20	2.55	2.47	2.92

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-1 แสดงค่าขนาดของสปอร์เชื้อรา *Trichoderma* 3 สปีชีส์

ซ้ำที่	*T. harzianum* (SB17-17)	*T. lixii* (SB17-02)	*T. capillare* (VP2-03)
21	2.12	2.12	3.38
22	2.79	2.226	3.59
23	2.06	2.17	3.31
24	2.00	2.01	3.40
25	2.36	2.62	3.55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ขนาดรัศมีโคโลนีเชื้อรา *Trichoderma* 3 สปีชีส์ ที่เจริญร่วมกันด้วยวิธี Dual culture

ตารางที่ ข-2 แสดงค่ารัศมีโคโลนีจานควบคุมของเชื้อรา *Trichoderma* 3 สปีชีส์ ด้วยวิธี Dual culture (หน่วยวัดมิลลิเมตร)

No	Name	Method	Code	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 4	Plate 5	Plate 6
1	*Trichoderma harzianum*	Control	SB 17-17	57.4	55.75	66.72	57.64	58.78	57.46
2	*Trichoderma lixii*		SB 17-02	51.45	52.36	67.19	60.33	52.19	55.56
3	*Trichoderna capillare*		VP2-03	44.75	51.03	63.71	50.56	54.55	56.41
4	*T. harzianum* Inhibit *T. lixii*	Dual Culture	SB 17-17	25.83	27.04	25.34	28.2	27.97	27.58
			SB 17-02	22.83	22.87	23.31	22.35	22.51	21.21
5	*T. harzianum* Inhibit *T. capillare*		SB 17-17	21.71	17.15	20.9	21.49	20.55	20.13
			VP2-03	27.52	31.88	29.65	30.49	29.83	29.3
6	*T. lixii* Inhibit *T. capillare*		SB17-02	20.08	20.22	22.5	20.21	23.18	22.09
			VP2-03	29.5	28.03	27.48	28.55	27.71	26.37

3. ขนาดรัศมีโคโลนีเชื้อรา *Trichoderma* 3 สปีชีส์ ที่เจริญร่วมกันด้วยวิธี Tri culture

ตารางที่ ข-3 แสดงค่ารัศมีโคโลนีจานควบคุมของเชื้อรา *Trichoderma* 3 สปีชีส์ ด้วยวิธี Tri culture (หน่วยวัดมิลลิเมตร)

No	Name	Method	Plate 1			Plate 2			Plate 3			Plate 4			Plate 5			Plate 6		
			L	R	Average	L	R	Average	L	R	Average	L	R	Average	L	R	Average	L	R	Average
1	*T. harzianum*	Control	56.00	57.28	**56.64**	57.56	60.02	**58.79**	50.19	51.18	**50.69**	49.03	47.19	**48.11**	51.59	52.13	**51.86**	55.23	54.56	**54.90**
2	*T. lixii*	Control	54.48	55.56	**55.02**	43.58	45.95	**44.77**	56.91	58.14	**57.53**	45.21	45.99	**45.60**	54.70	55.44	**55.07**	56.79	56.63	**56.71**
3	*T. capillare*	Control	55.46	55.74	**55.60**	44.70	44.63	**44.67**	50.07	51.51	**50.79**	61.19	60.94	**61.07**	60.79	60.43	**60.61**	60.18	56.84	**58.51**
4	*T. harzianum*		28.41	40.01	**34.21**	28.12	34.11	**31.12**	25.17	26.98	**26.08**	23.73	33.22	**28.48**	31.53	38.05	**34.79**	28.15	38.33	**33.24**
5	*T. lixii*	Tri Culture	44.44	34.34	**39.39**	39.07	34.62	**36.85**	35.32	32.66	**33.99**	33.37	31.38	**32.38**	42.60	35.20	**38.90**	42.94	32.16	**37.55**
6	*T. capillare*		31.77	32.38	**32.08**	32.40	36.98	**34.69**	36.19	44.91	**40.55**	34.11	37.50	**35.81**	35.68	34.46	**35.07**	30.64	37.26	**33.95**

งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
คำรับรองเล่มโครงงานพิเศษ

วันที่ 13 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2567

ข้าพเจ้า นายโกวิท แก้วกียูร รหัสประจำตัว 63050450
นายณัชพัฒน์ มากทอง รหัสประจำตัว 63050470

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ภาควิชา ชีววิทยา ขอรับรองว่าโครงงานพิเศษ เรื่อง

ชื่อภาษาไทย การพัฒนาปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพจากเศษผักและผลไม้เหลือทิ้งร่วมกับเชื้อรา *Trichoderma* 3 สปีชีส์

ชื่อภาษาอังกฤษ DEVELOPMENT OF BIO-ORGANIC FERTILIZER FROM VEGETABLE AND FRUIT WASTE WITH THREE SPECIES OF *Trichoderma.*

ปีการศึกษา 2566

เป็นผลงานวิจัยที่มิได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่มโครงงานพิเศษฉบับสมบูรณ์แล้ว

โปรแกรมอักขราวิสุทธิ์ 3.16 %

ลงชื่อ.....
(นายโกวิท แก้วกียูร)
นักศึกษา

ลงชื่อ.....
(นายณัชพัฒน์ มากทอง)
นักศึกษา

ข้าพเจ้า รศ. ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ได้ตรวจสอบโครงงานพิเศษของนักศึกษาข้างต้น แล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ.....
(รศ. ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม)
อาจารย์ที่ปรึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้