บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม ปุ๋ยจึงเป็นปัจจัยที่สำคัญในการเพิ่มผลผลิต ปุ๋ยที่เกษตรกรใช้มากที่สุดคือปุ๋ยเคมี จากรายงานของกรมวิชาการเกษตรพบว่ามีปริมาณการนำเข้าปุ๋ยเคมีจากต่างประเทศสูงขึ้นทุกปี โดยในปี พ.ศ. 2556 มีการนำเข้ามากถึง 5.6 ล้านตัน คิดเป็นมูลค่า 83,947 ล้านบาท ปัญหาที่ตามมาจากการใช้ปุ๋ยเคมีในปริมาณมากคือ ทำให้ดินเสื่อมสภาพ ทำลายสิ่งแวดล้อมและยังส่งผลอันตรายต่อเกษตรกรเอง ปัจจุบันมีการรณรงค์ให้เกษตรกรลดการใช้สารเคมีโดยใช้ระบบเกษตรธรรมชาติ จึงทำให้ปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพเป็นที่นิยมสูงปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพหมายถึง สารธรรมชาติที่ได้จากกระบวนการหมักบ่มวัตถุดิบจากธรรมชาติต่างๆ ทั้งพืชและสัตว์จนสลายตัวสมบูรณ์เป็นฮิวมัส วิตามิน ฮอร์โมน และสารธรรมชาติต่างๆ ซึ่งเป็นทั้งอาหารของสิ่งมีชีวิตในดิน เป็นตัวเร่งการทำงานของสิ่งมีชีวิตเล็กๆ ที่อาศัยอยู่ในดินและปลายรากของพืช (แบคทีเรีย แอคติโนมัยซิส และเชื้อรา ฯลฯ) ที่สามารถสร้างธาตุอาหารที่จำเป็นให้แก่พืช ภายใต้หลักการกสิกรรมธรรมชาติที่ว่า “เลี้ยงดิน เพื่อให้ดินเลี้ยงพืช”

จังหวัดพัทลุงเป็นพื้นที่เกษตรกรรมที่สำคัญของไทย มีพื้นที่เพาะปลูกกว่า 1.2 ล้านไร่ คิดเป็นร้อยละ 58.30 ทำให้มีความต้องการใช้ปุ๋ยอย่างมาก ปุ๋ยเคมีเป็นปุ๋ยที่มีราคาแพง ทั้งยังมีแนวโน้มแพงขึ้นเรื่อยๆ เพราะต้องนำเข้าจากต่างประเทศ ทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้นและเพิ่มความเสี่ยงในการลงทุนให้กับเกษตรกร ปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพเป็นเทคโนโลยีชีวภาพที่สำคัญ เป็นแนวทางที่สามารถช่วยเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดินโดยอาศัยกิจกรรมของจุลินทรีย์ ซึ่งจะช่วยลดหรือทดแทนปุ๋ยเคมีทางการเกษตรได้ กอปรความใส่ใจในด้านสุขภาพและสิ่งแวดล้อม ทำให้เกิดความต้องการบริโภคสินค้าอินทรีย์มากขึ้น ซึ่งการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพสามารถสนับสนุนการผลิตพืชในระบบเกษตรอินทรีย์และยังสามารถเพิ่มผลผลิต เพิ่มคุณภาพและเป็นที่ยอมรับในการพัฒนาด้านเกษตรอินทรีย์ กอปรประเทศไทยของเรามีวัตถุดิบที่มีศักยภาพในการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ในประเทศไทยมีอยู่หลากหลาย เช่น วัสดุเหลือทิ้งจากโรงงานผงชูรส โรงงานน้ำตาลและโรงงานสุรา เศษพืชจากไร่นาและปุ๋ยคอกหลายชนิด เป็นต้น

การให้ความสำคัญของดินด้วยการเคารพบูชาดินเสมือน “แม่” ภูมิปัญญาดั้งเดิมในการดูแลรักษาดินที่เรียกว่า “พระแม่ธรณี” สังคมไทยได้พัฒนาการผลิตอาหารให้แก่ดิน หรือปัจจุบันเรียกว่าปุ๋ยไว้หลายรูปแบบ ด้วยเทคโนโลยีที่ลึกซึ้งแนบแน่นกับธรรมชาติซึ่งมีความหลากหลายและแตกต่างกันตามแต่ละชุมชน ดังนั้นการศึกษารวบรวมและคัดเลือกภูมิปัญญาที่เหมาะสมและให้

ประโยชน์สูงสุดกับพื้นที่มาพัฒนาและปรับปรุงให้ได้ผลดียิ่งๆ ขึ้นไปเพื่อใช้ในชุมชนนั้นๆ หรือได้คุณภาพตามเกณฑ์มาตรฐานของปุ๋ยอินทรีย์ตาม พระราชบัญญัติปุ๋ย 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติ (ฉบับที่ 2) พ.ศ.2550 ซึ่งจะสามารถผลิตในเชิงพาณิชย์ เป็นการสร้างรายได้ให้ชุมชน ซึ่งจะนำไปสู่การพัฒนาการเกษตรที่ยั่งยืน ตามแนวทางของปรัชญาเศรษฐกิจพอเพียง

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 รวบรวมภูมิปัญญาการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพโดยเกษตรกรในจังหวัดพัทลุง ทั้งเกษตรกรรายย่อยและกลุ่มเกษตรกร ตลอดจนวิเคราะห์ปัญหา อุปสรรคของการผลิต

1.2.2 วิเคราะห์ชนิดของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ ตลอดจนธาตุอาหารเพื่อเป็นตัวชี้วัดคุณภาพและมาตรฐานของปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพที่ผลิตโดยเกษตรกรในจังหวัดพัทลุง

1.2.3 คัดเลือกและรวบรวมสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีศักยภาพสูงสำหรับใช้เป็นหัวเชื้อในการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ เพื่อให้ได้ปุ๋ยอินทรีย์ที่มีคุณภาพดียิ่งขึ้น

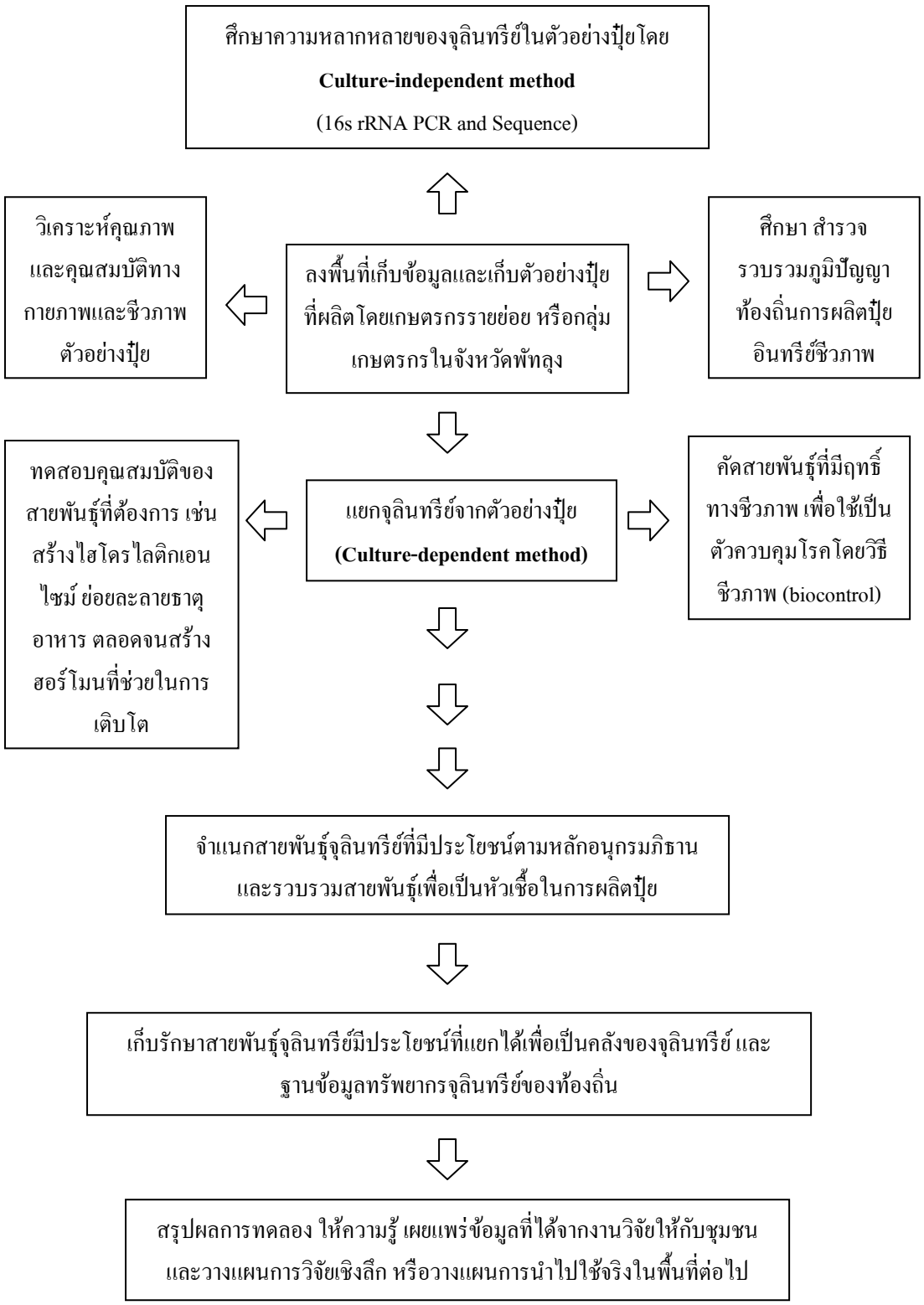
1.3 ขอบเขตการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการรวบรวมภูมิปัญญาการทำปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพของเกษตรกรในพื้นที่จังหวัดพัทลุง ตลอดจนวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและชีวภาพของปุ๋ยที่ผลิตได้ ตลอดจนคัดแยกสายพันธุ์จุลินทรีย์ท้องถิ่นที่มีประสิทธิภาพสูงเพื่อเป็นหัวเชื้อในการผลิตปุ๋ยให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น ซึ่งผลการศึกษาที่ได้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการปรับปรุงและพัฒนากระบวนการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพของเกษตรกรในจังหวัดพัทลุงหรือพื้นที่ใกล้เคียงต่อไปในอนาคต

1.4 ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวความคิดของการวิจัย

พื้นที่ส่วนใหญ่ของจังหวัดพัทลุงเป็นพื้นที่เกษตรกรรม ประชากรส่วนใหญ่ประกอบอาชีพเกษตรกร พืชหลัก คือ ยางพารา ข้าว และไม้ผล เป็นต้น ซึ่งแต่ละปีเกษตรกรต้องใช้ปุ๋ยเป็นจำนวนมาก ประกอบกับปุ๋ยเคมีเป็นปุ๋ยที่มีราคาแพง ทำให้ต้นทุนการผลิตสูง การใช้อย่างต่อเนื่องและเป็นปริมาณมาก อาจทำให้คุณภาพของดินเสื่อมโทรมลงอีกด้วย ทางเลือกหนึ่งที่สามารถทดแทนได้คือการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ ซึ่งมีจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อพืชหลายชนิดช่วยในการปรับปรุงดินทางชีวภาพ กายภาพ และทางชีวเคมี จุลินทรีย์จะช่วยย่อยสลายอินทรียวัตถุหรืออนินทรีย์วัตถุแล้วเปลี่ยนสภาพเป็นธาตุอาหารในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ การใช้ปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพในการเกษตรจะช่วยทดแทนการใช้ปุ๋ยเคมีและยังเป็นการลดต้นทุนการผลิต ตลอดจนช่วยรักษาระบบนิเวศวิทยาและอนุรักษ์ดินอีกด้วย ปัจจุบันเกษตรกรในจังหวัดพัทลุงมีการรวมกลุ่มกันเพื่อผลิตปุ๋ย

อินทรีย์ ปุ๋ยชีวภาพ ตลอดจนน้ำหมักชีวภาพเพื่อใช้เองภายในครัวเรือนและภายในชุมชน ทั้งที่ได้รับการสนับสนุนจากภาครัฐและจัดทำกันเองภายในชุมชนจากประสบการณ์ของเกษตรกรเองโดยตรง การรวบรวมภูมิปัญญาการผลิตปุ๋ยจากเกษตรกรรายย่อยหรือกลุ่มเกษตรกรต่างๆในพื้นที่จังหวัดพัทลุงยังไม่มีรายงาน ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะรวบรวมภูมิปัญญาเหล่านั้นเพื่อวิเคราะห์ขบวนการผลิต วัตถุดิบที่ใช้ ตลอดจนคุณภาพของผลผลิตที่ได้ และคัดแยกสายพันธุ์จุลินทรีย์ท้องถิ่น ที่มีศักยภาพดีที่สุดเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ ซึ่งการสำรวจรวบรวมภูมิปัญญาการทำปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพของเกษตรกรในพื้นที่ เพื่อเฟ้นหาภูมิปัญญาการผลิตที่ดีที่สุด เหมาะสมที่สุด ต้นทุนต่ำสุด เหมาะสมกับวัตถุดิบในชุมชน หรือนำภูมิปัญญาเหล่านั้นมาพัฒนาหรือปรับปรุงเพื่อให้ได้ปุ๋ยที่มีคุณภาพดี ต้นทุนต่ำเหมาะกับสิ่งแวดล้อมในท้องถิ่นนั้นๆ ต่อไป



ภาพที่ 1.1 กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

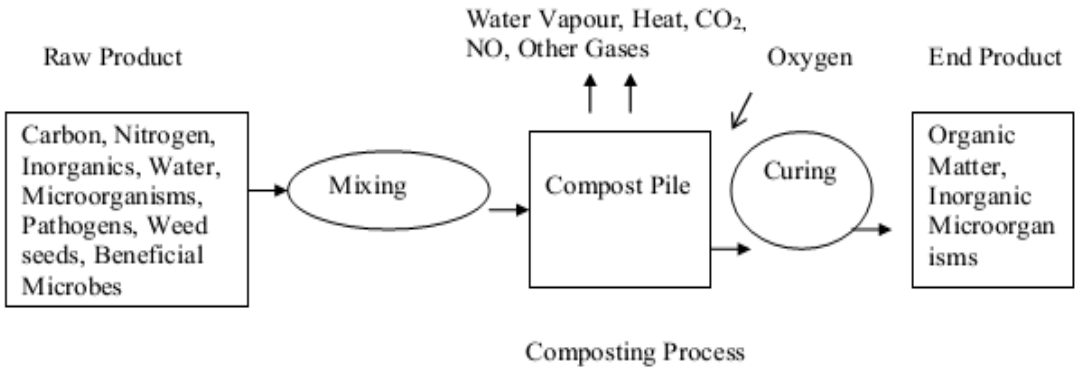
บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ

ภูมิปัญญาท้องถิ่น เป็นความรู้ที่เกิดจากประสบการณ์ในชีวิตของคน เป็นวิถีชีวิต วัฒนธรรม ขนบธรรมเนียมประเพณี ผ่านกระบวนการศึกษา สังเกต คิดวิเคราะห์จนเกิดปัญญาและตกผลึกเป็นองค์ความรู้ที่ประกอบกันขึ้นมาจากความรู้เฉพาะหลายๆเรื่อง จัดว่าเป็นพื้นฐานขององค์ความรู้สมัยใหม่ที่จะช่วยในการเรียนรู้ การแก้ปัญหาจัดการและการปรับตัวในการดำเนินชีวิตของคนเรา ภูมิปัญญาท้องถิ่นเป็นความรู้ที่มีอยู่ทั่วไปในสังคม ชุมชนและในตัวผู้รู้เอง

ปุ๋ย หมายถึง สารอินทรีย์หรืออนินทรีย์ไม่ว่าจะเกิดขึ้นโดยธรรมชาติหรือทำขึ้น สำหรับใช้เป็นอาหารแก่พืชหรือทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในดินเพื่อบำรุงความเติบโตแก่พืช สำหรับปุ๋ยอินทรีย์เป็นสิ่งที่มีอยู่ตามธรรมชาติ หรือเป็นผลพลอยด้านการเกษตร ประกอบด้วย ปุ๋ยหมัก มูลสัตว์ ปุ๋ยพืชสด เป็นต้น ส่วนปุ๋ยชีวภาพ คือ ปุ๋ยที่ประกอบไปด้วยสิ่งมีชีวิตเล็กๆ หรือจุลินทรีย์ที่มองด้วยตาเปล่าไม่เห็นที่ทำให้เกิดประโยชน์แก่ดินและพืช ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้จะเป็นตัวช่วยส่งเสริมให้ดินมีความอุดมสมบูรณ์ มีธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับพืชมากขึ้น รวมทั้งมีกิจกรรมที่สามารถช่วยให้รากพืชได้รับธาตุอาหารมากขึ้นด้วย ซึ่งปุ๋ยชีวภาพที่ใช้กันแพร่หลายขณะนี้ก็มี ไรโซเบียม สาหร่าย สีเขียวแกมน้ำเงิน ไมคอร์ไรซ่า และจุลินทรีย์ท้องถิ่นหรือจุลินทรีย์พื้นเมือง (Indigenous microorganism)

ปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ คือ ปุ๋ยอินทรีย์ชนิดหนึ่งที่เกิดจากการนำวัสดุอินทรีย์มาหมักรวมกันแล้วปรับสภาพให้เกิดกระบวนการย่อยสลาย โดยอาศัยกิจกรรมของจุลินทรีย์เป็นระยะเวลาหนึ่งจนกระทั่งได้วัสดุที่ผ่านการย่อยสลายแล้วเป็นเนื้อเดียวกัน ส่วนใหญ่มีสีน้ำตาลปนดำ และมีกลิ่นเหม็นลดลง ปุ๋ยอินทรีย์มีประโยชน์ในการปรับปรุงโครงสร้างของดินให้ดีขึ้น ทำให้ดินมีความพรุนมากขึ้น เกิดช่องว่างในดินช่วยในเรื่องการระบายน้ำและอากาศ ทำให้ระบบรากพืชแพร่กระจายตัวในดินได้ดี เพิ่มความสามารถในการดูดซับน้ำ นอกจากนี้ปุ๋ยอินทรีย์ยังเพิ่มปริมาณอินทรีย์วัตถุและธาตุอาหารต่างๆให้แก่ดิน วัสดุที่นำมาใช้ทำปุ๋ยอินทรีย์ ส่วนใหญ่มักจะใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว ซากพืช กากวัสดุต่างๆ แล้วแต่จะหาได้ในพื้นที่นั้นๆ นอกจากนี้อาจใช้มูลสัตว์ต่างๆมาผสมในการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ด้วยก็ได้ เนื่องจากมูลสัตว์เป็นแหล่งอาหารของจุลินทรีย์และมีจำนวนจุลินทรีย์อยู่มากมาย ซึ่งจะช่วยย่อยสลายวัสดุต่างๆที่ใช้ในการทำปุ๋ยอินทรีย์ได้อย่างรวดเร็ว



ภาพที่ 2.1 กระบวนการเปลี่ยนแปลงของวัสดุหมักในระหว่างการทำปุ๋ยหมักชีวภาพ
ที่มา: Oviasogie et al. (2010)

2.2 จุลินทรีย์ในปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ

จุลินทรีย์ในปุ๋ยหมักชีวภาพสามารถพบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม ในวัสดุทำปุ๋ยหมัก รวมทั้ง ดิน อากาศ น้ำ และเครื่องจักร ซึ่งวัตถุดิบได้สัมผัสกับจุลินทรีย์เหล่านี้ในระหว่างกระบวนการผลิต องค์ประกอบทางจุลชีววิทยาของปุ๋ยหมักประกอบไปด้วยแบคทีเรียและเชื้อรา จุลินทรีย์ที่มีบทบาท สำคัญในกระบวนการผลิตปุ๋ยหมัก คือ แบคทีเรียใช้ออกซิเจน ที่ทำงานได้ดีในสภาวะที่มีอากาศ หลายปัญหาที่เกี่ยวข้องกับการผลิตปุ๋ยหมัก อาจจะเกี่ยวข้องกับปริมาณออกซิเจนไม่เพียงพอให้เกิด การย่อยสลายวัสดุดิบในการผลิตปุ๋ยหมัก นอกจากนี้จุลินทรีย์ในปุ๋ยหมักยังต้องการสภาวะแวดล้อม ที่มีความชื้น เนื่องจากจุลินทรีย์เหล่านี้อาศัยอยู่บนแผ่นฟิล์มของน้ำรอบๆ อนุภาคสารอินทรีย์ในปุ๋ย หมัก ความชื้นที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิต คือร้อยละ 50-60 (Oviasogie *et al*., 2010)

2.2.1 เชื้อรา

เซลล์ของเชื้อรามีเส้นใยขนาดยาวยื่นออกมา เรียกว่า ไฮฟา (hyphae) ที่สามารถเจาะเข้าไป ภายในวัสดุทำปุ๋ยหมัก เกิดการย่อยสลายตัวของวัตถุดิบ และยังทำให้มวลของปุ๋ยหมักมีขนาดเล็ก เกิดการระบายน้ำและอากาศได้ดี จำนวนเชื้อราที่พบอยู่ระหว่าง 0.01-1 ล้าน propagules/กรัมดิน และพบสายพันธุ์ที่แตกต่างกันถึง 70,000 สายพันธุ์ ทั่วโลก แต่ยังมีอีกมากมายที่ยังไม่ถูกค้นพบและ ได้รับการศึกษา ซึ่งฟังไจมีบทบาทสำคัญต่อการย่อยสลายพืชที่ตายแล้ว

2.2.2 แบคทีเรีย

จุลินทรีย์ที่พบมากที่สุดในปุ๋ยหมัก คือ แบคทีเรีย ถึงแม้จะมีมากถึง 1 พันล้านเซลล์ต่อ กรัมดิน แบคทีเรีย (ไม่รวมแอคติโนมัยซีท) ทุกตัวไม่ได้มีส่วนร่วมในการทำงานต่อกระบวนการ ผลิตปุ๋ยหมัก แบคทีเรียมักเกี่ยวข้องกับการบริโภคสารอินทรีย์ย่อยสลายได้ง่าย เป็นประชากรเด่น ตลอดกระบวนการหมักปุ๋ย ในขณะที่เชื้อราและแอคติโนมัยซีทเพิ่มเข้ามาในระยะหลัง

2.2.3 แอคติโนมัยซีท

แอคติโนมัยซีทเป็นแบคทีเรียซึ่งมีรูปร่างคล้ายคลึงและสามารถสร้างเส้นใยได้เช่นเดียวกับเชื้อรา เส้นใยเหล่านี้แพร่กระจายไปทั่วทั้งกองปุ๋ยหมัก เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายสารประกอบที่ย่อยสลายได้ยาก จำนวนแอคติโนมัยซีทที่พบอยู่ระหว่าง 0.1-10 ล้าน propagules/กรัมดิน แอคติโนมัยซีทสามารถทนสภาวะความชื้นที่ต่ำได้ดีกว่าแบคทีเรียอื่นๆ เกี่ยวข้องกับการปลดปล่อยสาร geosmin ซึ่งเป็นสารเคมีที่เกี่ยวข้องกับกลิ่นอับของปุ๋ยหมัก (Oviasogie *et al*., 2010)

2.3 บทบาทของจุลินทรีย์ในการเจริญเติบโตของพืช

จุลินทรีย์ท้องถิ่น (Indigenous Microorganisms; IMOs) เป็นจุลินทรีย์ที่อาศัยในพื้นที่ดั้งเดิม มีความสามารถในการปรับตัวและอยู่รอดได้ดีในถิ่นที่อยู่อาศัยนั้นๆ จุลินทรีย์ท้องถิ่นเหล่านี้บางกลุ่มมีกิจกรรมการดำรงชีวิตที่มีประโยชน์ทางการเกษตรตัวอย่างเช่น Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่มีความสามารถในการครอบครองรากพืช, Mycorrhiza เป็นกลุ่มเชื้อราที่มีความสัมพันธ์กับรากพืช โดยในขั้นตอนการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์เหล่านี้ทำให้เกิดบทบาทในการสร้างประโยชน์ให้เกิดขึ้นแก่ดิน เช่น ความสามารถในการตรึงไนโตรเจน (Nitrogen Fixing Microorganisms) ทำให้เกิดกระบวนการเพิ่มไนโตรเจนในรูปที่พืชสามารถใช้ได้ลงสู่ดิน ได้แก่ กลุ่มแบคทีเรียและกลุ่มแอกทิโนมัยซีท จุลินทรีย์ที่ย่อยสลายสารอินทรีย์หรือเซลล์ลูโลส (Cellulolytic Microorganisms หรือ Cellulolytic Decomposers) ซึ่งเป็นพวกที่ย่อยสลายซากพืชซากสัตว์ ประกอบไปด้วย กลุ่มแบคทีเรีย กลุ่มแอกทิโนมัยซีท และกลุ่มรา กิจกรรมของจุลินทรีย์กลุ่มนี้ทำให้เกิดปุ๋ยอินทรีย์ชนิดต่างๆ ได้ นอกจากนี้ยังมีจุลินทรีย์ที่สามารถละลายฟอสเฟตและธาตุอาหารอื่นๆ (Phosphate and Other Nutrient Elements Solubilizing) โดยจุลินทรีย์เหล่านี้ทำให้ธาตุอาหารพืชหลายชนิด เช่น ฟอสฟอรัส เหล็ก สังกะสี ทองแดง และ แมงกานีส ที่มักอยู่ในรูปที่พืชไม่สามารถนาไปใช้ได้ ละลายออกมาอยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ (อานัฐ ตันโช, 2549) สำหรับธาตุอาหารที่พืชได้จากกิจกรรมของจุลินทรีย์ สามารถแบ่งตามกิจกรรมของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ดังนี้ (ออมทรัพย์ นพอมรบดี, 2545)

2.3.1 กิจกรรมของจุลินทรีย์ที่ให้ธาตุไนโตรเจน

จุลินทรีย์กลุ่มนี้จะมีเอนไซม์ไนโตรจีเนส (nitrogenase) สามารถเปลี่ยนแก๊สไนโตรเจนให้เป็นกรดอะมิโนและสารประกอบไนโตรเจนอื่นๆ ที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ กลุ่มจุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจนได้จากอากาศโดยต้องอาศัยอยู่ร่วมกับพืช เช่น *Rhizobium* sp., *Frankia* sp. และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางชนิด และกลุ่มที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้เองอย่างอิสระ ไม่จำเป็นต้องอาศัยอยู่ร่วมกับพืช เช่น *Azotobacter* sp. และ *Azospirillium* sp. เป็นต้น

2.3.2 กิจกรรมของจุลินทรีย์ที่ให้ฟอสฟอรัส

ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารหลักของพืช บางครั้งพืชอาจได้รับฟอสฟอรัสไม่เพียงพอ ทั้งที่ในดินมีฟอสฟอรัสอยู่เป็นจำนวนมาก เพราะเนื่องจากฟอสฟอรัสละลายน้ำได้ไม่ดี และมักอยู่ในรูปที่ไม่เป็นประโยชน์แก่พืช หากดินมีความเป็นกรด-ด่างมากเกินไป นอกจากนี้ฟอสฟอรัสมีการเคลื่อนที่ในดินได้น้อยมาก พืชที่มีระบบรากไม่ดีจะได้รับฟอสฟอรัสไม่เพียงพอ กลุ่มจุลินทรีย์ที่ช่วยให้พืชได้รับฟอสฟอรัส ได้แก่ เชื้อราในกลุ่มไมคอร์ไรซา (mycorrhiza) ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่บริเวณและในรากพืช นอกจากนั้นยังมีจุลินทรีย์อื่นๆที่สามารถย่อยละลายหินฟอสเฟตและปลดปล่อยฟอสฟอรัสในรูปที่พืชนำไปใช้ประโยชน์ได้ เช่น *Bacillus megaterium, Pseudomonas* sp., *Thiobacillus* sp., *Aspergillus* sp., และ *Penicillium* sp. เป็นต้น

2.3.3 กิจกรรมของจุลินทรีย์ที่ให้ธาตุโพแทสเซียม

โพแทสเซียมมีบทบาทสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์สารพวกโปรตีน แป้ง และไขมันของพืช โดยพบว่า *Bacillus mucilaginous* สามารถช่วยย่อยสลายทำให้พืชสามารถนำธาตุโพแทสเซียมไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และใช้ได้ดีกับทั้งพืชไร่และพืชสวน โดยเฉพาะไม้ผลจะช่วยให้มีคุณภาพผลผลิตดีขึ้น

2.3.4 กิจกรรมของจุลินทรีย์ที่ให้ธาตุอื่นๆ

ธาตุอาหารอื่นๆเช่น แคลเซียม เหล็ก สังกะสี มักมีอยู่ในดินในรูปที่พืชไม่สามารถนำไปใช้ได้ การใช้จุลินทรีย์ช่วยในการย่อยสลายจะทำให้ธาตุเหล่านี้ที่มีอยู่แล้วในดิน เป็นประโยชน์แก่พืชมากขึ้น เช่น เชื้อราในกลุ่มไมคอร์ไรซา สามารถช่วยดูดซับแร่ธาตุอื่นๆ ที่พืชต้องการได้ ส่วนจุลินทรีย์พวก silicate bacteria สามารถละลายซิลิคอน ให้พืชนำไปใช้ประโยชน์ได้ กิจกรรมของจุลินทรีย์ในดินนอกจากจะทำให้เกิดการปลดปล่อยธาตุอาหารพืชแล้ว บางชนิดยังทำให้เกิดการสังเคราะห์สารอินทรีย์ต่างๆ เช่นฮอร์โมนและสารกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชอีกด้วย

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ

วรรณลดา สุนันทพงศ์ศักดิ์ และเสียงแจ๋ว พิริยะพฤนต์ (2546) ได้ศึกษาผลของปุ๋ยอินทรีย์น้ำที่มีผลต่อดินและการเจริญเติบโตของพืช พบว่าปุ๋ยอินทรีย์มีผลเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในดินที่เป็นประโยชน์ เนื่องจากปุ๋ยอินทรีย์น้ำมีแหล่งของสารอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญ เพิ่มจำนวน และกิจกรรมของจุลินทรีย์ นอกจากนั้นยังทำให้สมบัติทางกายภาพของดินดีขึ้น มีฟอสฟอรัสและธาตุอาหารในดินเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากจุลินทรีย์บางกลุ่มสามารถแปรสภาพธาตุอาหารในดินให้ออกมาในรูปที่เป็นประโยชน์มากขึ้น นอกจากนั้นจุลินทรีย์บางประเภทยังปลดปล่อยฮอร์โมนหรือวิตามินได้อีกด้วย ทำให้อัตราการเจริญเติบโตของพืชดีขึ้น

สมพร ชุนลือชานนท์ (2549) รวบรวมจุลินทรีย์ที่แยกได้จากดินที่ทำการเกษตรในภูมิภาคต่างๆ ที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจน ย่อยละลายฟอสเฟต แล้วนำไปใส่ในปุ๋ยหมักที่ทำจากกากหม้อกรองน้ำตาลและเปลือกข้าว เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนและย่อยละลายหินฟอสเฟต พบว่าสามารถทำให้ปุ๋ยที่ได้มีธาตุไนโตรเจนเพิ่มขึ้นร้อยละ 2-15 และฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นร้อยละ 139 เมื่อนำปุ๋ยนี้ไปทดสอบการตอบสนองของข้าว ข้าวโพด และอ้อยในแปลงทดลองดินเนื้อหยาบ พบว่าพืชมีผลผลิตเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน นอกจากนั้นยังพบอีกว่าดินนั้นมีธาตุอาหารพืช อินทรีย์วัตถุ และมวลจุลินทรีย์ เพิ่มมากขึ้นกว่าดินที่ใช้ปุ๋ยเคมีอีกด้วย และเมื่อนำปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพที่ปรับปรุงคุณภาพไปพัฒนาให้สะดวกต่อการใช้และการขนส่ง โดยการอัดเม็ด พบว่าคุณภาพของปุ๋ยหลังจากการอัดเม็ดไม่แตกต่างจากปุ๋ยที่ไม่ได้อัดเม็ด และการอัดเม็ดไม่ทำให้ปริมาณจุลินทรีย์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากปุ๋ยที่ไม่ได้อัดเม็ด

Arkhipchenko *et al.,* (2005) ทดลองผลิตปุ๋ยชีวภาพจากมูลสุกรในถุงเติมอากาศ ปุ๋ยชีวภาพจากมูลไก่ที่สภาวะมีออกซิเจน และปุ๋ยชีวภาพจากมูลไก่ในสภาวะไร้ออกซิเจน จากการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารพืช พบว่าปุ๋ยชีวภาพที่ได้จากมูลสุกรในถุงเติมอากาศมีไนโตรเจนสูงสุดถึงร้อยละ 5 รองลงมาเป็นปุ๋ยชีวภาพจากมูลไก่ในสภาวะที่มีออกซิเจนเท่ากับร้อยละ 3.6 ขณะที่ปุ๋ยชีวภาพจากมูลไก่ในสภาวะที่ไร้ออกซิเจน มีไนโตรเจนเท่ากับร้อยละ 1.6 และวิเคราะห์จุลินทรีย์ในทุกสูตร พบว่ามีแบคทีเรียจีนัส *Bacillus* ร้อยละ 20-35 และเมื่อทำการแยกแบคทีเรียที่โดดเด่นในตัวอย่างปุ๋ยชีวภาพไปทดสอบการควบคุมการเจริญของเชื้อราก่อโรคในพืช ได้แก่ *Bipolaris sorokiniana, Fusarium culmorum* และ *Sclerotium bataticola* พบว่าแบคทีเรียที่แยกได้จากปุ๋ยชีวภาพที่ผลิตได้ มีความสามารถในการยับยั้งหรือลดการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคในพืชได้ถึงร้อยละ 27-100 และนอกจากนี้ยังพบว่าปุ๋ยชีวภาพดังกล่าวยังช่วยลดการระบาดจากแมลงศัตรูพืชในไร่ถั่วอีกด้วย โดยจากการทดลองภาคสนามพบว่าแปลงที่ไม่ใช่ปุ๋ยชีวภาพ จะถูกแมลงทำลายร้อยละ 11.4 ขณะที่แปลงที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพถูกแมลงทำลายร้อยละ 2.9-5.5 เท่านั้น โดยปุ๋ยชีวภาพจากมูลสุกรที่ผลิตในถุงเติมออกอากาศช่วยลดการทำลายจากแมลงศัตรูพืชได้มากที่สุด

Siddiqui (2004) ได้ศึกษาผลของปุ๋ยชีวภาพซึ่งใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ต่อการเพิ่มจำนวนไส้เดือนฝอย และการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ โดยทดลองปลูกมะเขือเทศในเรือนกระจกและกำหนดให้สิ่งที่ทดลองได้รับอิทธิพลของเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ *Pseudomonas fluorescens, Azotobacter chroococcum* และ *Azospirillum brasilense* และอิทธิพลของปุ๋ยอินทรีย์ได้แก่ มูลโค มูลม้า มูลแพะ และมูลไก่ อย่างเดียวและร่วมกัน ต่อการเพิ่มจำนวนไส้เดือนฝอยและการเติบโตของมะเขือเทศ พบว่า *P. fluorescens* ให้ผลส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ และลดการเพิ่มจำนวนของไส้เดือนฝอย ดีกว่าเชื้อจุลินทรีย์ *A. chroococcum* และ *A.*

brasilense ในกลุ่มของปุ๋ยอินทรีย์พบว่า ปุ๋ยจากมูลไก่ให้ผลในการลดการเพิ่มจำนวนของไส้เดือนฝอยน้อยกว่าที่พบในปุ๋ยจากมูลแพะ อย่างไรก็ตามปุ๋ยจากมูลแพะให้ผลในการลดการเพิ่มจำนวนของไส้เดือนฝอยและส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศได้ดีกว่าปุ๋ยจากมูลม้า ปุ๋ยจากมูลโคให้ผลในการลดการเพิ่มจำนวนของไส้เดือนฝอยน้อยที่สุด การใช้ปุ๋ยอินทรีย์จากมูลไก่ร่วมกับเชื้อ *P. fluorescens* ให้ผลดีที่สุดในการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์เพื่อควบคุมการเพิ่มจำนวนของไส้เดือนฝอย และส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ อย่างไรก็ตามการใช้ปุ๋ยอินทรีย์จากมูลแพะร่วมกับ *P. fluorescens* หรือมูลไก่ร่วมกับ *A. chroococcum* สามารถควบคุมการเพิ่มจำนวนของไส้เดือนฝอยได้เช่นกัน

ปราโมย์ สฤษดิ์นิรันดร์ (2552) ศึกษาผลของปุ๋ยชีวภาพ 3 สูตร ได้แก่ ปุ๋ยชีวภาพชนิดน้ำ ปุ๋ยชีวภาพชนิดน้ำสำหรับปรับสภาพดิน และปุ๋ยชีวภาพชนิดสำหรับป้องกัน และกำจัดโรคพืชที่มีผลต่อการสร้างผลผลิตของคะน้า โดยเปรียบเทียบกับการใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 30 กก./ไร่ ร่วมกับปุ๋ยยูเรีย อัตรา 25 กก./ไร่ และการไม่ใส่ปุ๋ย พบว่าผลผลิตของคะน้ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยการใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 ร่วมกับปุ๋ยยูเรียมีผลผลิตมากที่สุด คะน้าที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพ 3 สูตร และที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพร่วมกันทั้ง 3 สูตร ให้ผลผลิตไม่มีความแตกต่างกับคะน้าที่ไม่ใส่ปุ๋ย การใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 ร่วมกับปุ๋ยยูเรียทำให้คะน้ามีน้ำหนักผลผลิตก่อนตัดแต่ง และหลังตัดแต่งมากที่สุดคือ 1,200 และ 1,083.3 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ส่วนน้ำหนักต่อต้นก่อน และหลังตัดแต่ง พบว่า การใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 ร่วมกับปุ๋ยยูเรียทำให้คะน้ามีน้ำหนักเฉลี่ยต่อต้นสูงที่สุดคือ 26.7 และ 24.05 กรัมต่อต้นตามลำดับ การใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 ร่วมกับปุ๋ยยูเรียทำให้คะน้ามีความยาวลำต้นถึงปลายใบ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น ความกว้างใบ ความยาวใบมากที่สุด ส่วนผลผลิตของคะน้าที่ได้จากการใส่ปุ๋ยชีวภาพ 3 สูตร และที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพรวมกันทั้ง 3 สูตร มีน้ำหนักสด เฉลี่ยต่อต้น ความยาวลำต้นถึงปลายใบ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นความกว้างใบ ความยาวใบ ให้ผลไม่มีความแตกต่างกันกับการไม่ใส่ปุ๋ย

บริษัทรุ่งเรืองอุตสาหกรรม 1994 และ สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ (2552-2553) พัฒนาแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่เป็นส่วนประกอบหลักในปุ๋ยอินทรีย์นั้นสามารถช่วยเพิ่มผลผลิตข้าวได้มากถึงไร่ละร้อยละ 10 – 20 เนื่องจากดินในบริเวณรากข้าวในระยะข้าวตั้งท้องจะมีสภาวะแบบไม่มีออกซิเจนทำให้แบคทีเรียที่ในกลุ่มแอนแอโรบิกแบคทีเรียเจริญได้ดี สร้างก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ซึ่งมีผลไปยับยั้งกระบวนการสร้างเมตาโบลิซึมของรากข้าว แต่เมื่อนำแบคทีเรียสังเคราะห์แสงมาใส่ลงในดินในระยะเวลาดังกล่าว แบคทีเรียสังเคราะห์แสงจะเปลี่ยนไฮโดรเจนซัลไฟด์ให้อยู่ในรูปสารประกอบซัลเฟอร์ที่ไม่เป็นพิษต่อรากจึงมีผลให้รากของต้นข้าวเจริญงอกงามมากขึ้นอย่างเห็นได้ชัดและลักษณะของต้นข้าวก็มีความแข็งแรง นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มปริมาณผลผลิต

คุณภาพทั้งความหวานของผลไม้ (เพิ่มปริมาณน้ำตาล) สีสันมันวาว กลิ่นหอมยืดอายุการเก็บรักษาให้นานขึ้น และปรับปรุงดินที่เสื่อมจากการปลูกพืชซ้ำ ยับยั้งโรคพืช และไวรัสพืชอย่างเห็นได้ชัด เช่น ปุ๋ยชีวภาพที่ผลิตจากแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่มีรงควัตถุ (Pigment) ประเภทแคโรทีนอยด์ (carotenoid) เป็นส่วนประกอบภายในเซลล์ เมื่อนำมาใช้จะช่วยเพิ่มปริมาณ carotene ในพืช เช่นต้นส้มจีน ต้นพลัม ต้นมะเขือเทศ และ ต้นข้าวโพด และยังสามารถเพิ่มผลผลิตของข้าวได้มากกว่าเมื่อเทียบกับการใช้ปุ๋ยชีวภาพที่ไม่มีแบคทีเรียสังเคราะห์แสง

2.5 ตัวอย่างการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพในจังหวัดพัทลุง

นายสมนึก เพชรมณี ปัจจุบันอายุ 57 ปี อยู่บ้านเลขที่ 61 หมู่ที่ 4 ตำบลพนาตุง อำเภอควนขนุน จังหวัดพัทลุง เป็นผู้มีองค์ความรู้ทางด้านการเกษตร การขยายพันธุ์พืชผักในท้องถิ่น ผ่านการอบรมหลักสูตรวิทยากรเกษตร ศูนย์บริการและถ่ายทอดเทคโนโลยีการเกษตรประจำตำบล รุ่นที่ 1 ได้เรียนรู้ถึงวิธีการปลูกผักเกษตร และผักสวนครัว พืชผักที่ถนัดคือ พริก อ้อย ผักตระกูลผักกาดและกระหล่ำปลี เป็นคนแรกของตำบลพนานุง ที่มีความคิดริเริ่มในการทำปุ๋ยหมักชีวภาพใช้ในพื้นที่หมู่ที่ 4 โดยใช้หอยเชอรี่ เศษก้างปลา กากน้ำตาล ผักต่างๆ เช่น มะละกอ กล้วย ผักบุ้ง นำมาหมักรวมกันประมาณ 1 เดือน แล้วนำมาผสมกับหัวเชื้อ (สารเร่ง พด.2) หลังจากนั้นหมักทิ้งไว้ประมาณ 1 คืน ก็นำปุ๋ยมาผสมน้ำใช้ได้ (วิทยาลัยภูมิปัญญาชุมชนและสถาบันทักษิณคดีศึกษา, 2550)

เกษตรกร หมู่ที่ 5 ตำบลพญาขัน อ.เมือง จังหวัดพัทลุง ได้รวมกลุ่มกันตั้งเป็นกลุ่มผลิตปุ๋ยหมักชีวภาพในกลุ่มปลูกผักปลอดสารพิษ เพื่อผลิตปุ๋ยหมักชีวภาพใช้กันเองภายในกลุ่มและจำหน่ายให้เกษตรกรในหมู่บ้านใกล้เคียง ซึ่งกลุ่มเกษตรกรนี้ได้รับการถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตจากเจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตร ตั้งแต่ปี 2542 เดิมทีเดียวเกษตรกรในพื้นที่มีการใช้ปุ๋ยเคมีค่อนข้างสูง แต่หลังจากเปลี่ยนมาใช้ปุ๋ยหมักชีวภาพที่ผลิตกันเองในกลุ่มแล้วสามารถสรุปผลกระทบต่อตัวเกษตรกร ชุมชน และสิ่งแวดล้อม ได้ดังนี้ คือ สามารถลดต้นทุนการผลิตข้าว ผัก ไม้ผล เกิดรายได้เพิ่มจากการลดต้นทุน และได้กำไรจากการจำหน่ายปุ๋ยหมักชีวภาพ เกษตรกรมีความรู้ความเข้าใจในแนวทางการทำเกษตรแบบยั่งยืน เกิดความหลากหลายทางชีวภาพเพิ่มขึ้น เกิดกระบวนการบริหารจัดการกลุ่มที่ดี สภาพดินอุดมสมบูรณ์เพิ่มขึ้น สุขภาพร่างกายเกษตรกรและคนในชุมชนแข็งแรง และมีสิ่งมีชีวิตในดินเพิ่มขึ้น

นายสมศักดิ์ ทองใส ผู้ใหญ่บ้านหมู่ที่ 15 ต.ควนมะพร้าว อ.เมืองพัทลุง ได้รวบรวมชาวบ้านเพื่อผลิตปุ๋ยหมักชีวภาพใช้ในนาข้าวทดแทนการซื้อปุ๋ยเคมี เป็นการลดต้นทุนการผลิต โดยสมาชิกได้ร่วมกันหาวัสดุเช่น มูลวัว แกลบดำ แกลบขาว รำข้าว ในขณะที่น้ำหมัก ชีวภาพทางกลุ่มได้ร่วมกันผลิตเอง จากนั้นนำมาผสมตามอัตราส่วน แล้วบรรจุกระสอบเก็บไว้ในโรงเรือน 21 วัน

สามารถนำไปใส่นาข้าว ไม้ผล และพืชผักอื่นๆได้ และพบว่าผลดีของการใช้ปุ๋ยชีวภาพของชาวนาในปีแรก พื้นที่นา 1 ไร่ ใส่ปุ๋ยชีวภาพ ประมาณ 100-200 กิโลกรัม ต้นทุนประมาณ 300-400 บาท ผลผลิตข้าวที่ได้ประมาณ 480 กิโลกรัม ปีที่ 2 ใช้ปุ๋ยเท่าเดิมผลผลิตข้าวเพิ่มเป็น 500 กิโลกรัม และดินเริ่มร่วนซุย หากใช้ปุ๋ยเคมี พื้นที่นา 1 ไร่ ต้นทุนค่าปุ๋ยประมาณ 800-1000 บาท ผลผลิตข้าวที่ได้ประมาณ 520 กิโลกรัม แต่ดินแข็งกระด้าง ไม่ร่วนซุย เพราะไม่มีจุลินทรีย์ ซึ่งชาวนาในหมู่ที่ 15 ตำบลควนมะพร้าว ได้ทดลองด้วยตนเอง และเห็นว่าการใช้ปุ๋ยชีวภาพจะดีกว่าใช้ปุ๋ยเคมี จึงได้มีการรวมกลุ่มผลิตปุ๋ยชีวภาพใช้เองเพื่อลดต้นทุนการผลิตในการทำนา (ASTVผู้จัดการออนไลน์ 26 เมษายน 2551)

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 รวบรวมข้อมูลภูมิปัญญาเกี่ยวกับการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ จากกลุ่มเกษตรกร หรือเกษตรกรรายย่อยในพื้นที่จังหวัดพัทลุง

ค้นคว้าและรวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการผลิตปุ๋ยหมักชีวภาพภายในจังหวัดพัทลุงจากอินเตอร์เน็ตและสถานีพัฒนาที่ดิน ลงพื้นที่เก็บข้อมูลแหล่งผลิตและวิธีการผลิตปุ๋ยหมักชีวภาพ และทำการบันทึกตำแหน่งของสถานที่ผลิตปุ๋ยหมักชีวภาพด้วยเครื่อง GPS ทำการดึงข้อมูลโดยใช้ Program DNR Garmin และ Program Arc GIS เพื่อนำมาจัดทำเป็นฐานข้อมูลสถานที่ผลิตปุ๋ยหมักชีวภาพภายในจังหวัดพัทลุงในรูปแบบของแผนที่ โดยการใช้แบบสอบถามประกอบกับการสัมภาษณ์

3.2 การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ

นำตัวอย่างปุ๋ยหมักชีวภาพที่เก็บตัวอย่างในจังหวัดพัทลุงมาวิเคราะห์ โดยการสุ่มหนึ่งตัวอย่างต่อหนึ่งอำเภอ (โดยมีหลักเกณฑ์ คือ ใช้ต้นทุนในการผลิตน้อย วัตถุดิบสามารถหาได้ในท้องถิ่น วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตมีน้อยชนิด กรรมวิธีในการผลิตไม่ยุ่งยากและใช้เวลาไม่นาน มีอุปสรรคที่เกิดขึ้นในการผลิตน้อย เช่น สถานที่ แรงงาน และกำลังในการผลิต) เพื่อหาค่า pH อุณหภูมิ ความชื้น ปริมาณธาตุอาหาร ได้แก่ แอมโมเนีย ไนเตรท ออโธฟอสเฟต และโพแทสเซียม ในห้องปฏิบัติการ โดยวัดปริมาณความชื้นปุ๋ยหมักชีวภาพตามวิธีของ AOAC (AOAC, 1990) วิเคราะห์ปริมาณไนเตรทและปริมาณแอมโมเนียด้วยวิธีตามวิธีของ Strickland และ Persons (Strickland and Parsons, 1972) การวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสในรูปของ Orthophosphate ด้วยวิธี Ascorbic acid (Strickland and Parsons, 1972) ปริมาณโพแทสเซียมในตัวอย่างปุ๋ยหมักชีวภาพส่งไปวิเคราะห์ที่ศูนย์ปฏิบัติการวิเคราะห์กลาง คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

3.3 การศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพของปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ

3.3.1 เปรียบเทียบโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์ในปุ๋ยหมักโดยวิธี Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE)

(1) การสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างปุ๋ย

ชั่งตัวอย่างปุ๋ย 0.2 กรัม แล้วเติม TENS buffer 500 µl หลังจากนั้นเติม 50 ng/ml lysozyme ปริมาณ 40 µl เขย่าให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง แล้วนำไปบ่มที่ -20 °C เป็นเวลา 4 นาที จากนั้นบ่มต่อที่ 60 °C อีก 4 นาที บ่มสลับไปสลับมาระหว่างอุณหภูมิ -20 และ 60 °C จำนวน 3 รอบ จากนั้นเติมร้อยละ 10 SDS 200 µl และ 20 ng/ml proteinase K 50 µl ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มที่ 60 °C เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง เติม phenol/chloroform/ isoamyl alcohol 600 µl ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 rpm นาน 5-10 นาที หลังจากปั่นเหวี่ยงเทส่วนใสใส่หลอดใหม่และตกตะกอนด้วย 3 M โซเดียมอะซิเตท 100 µl และ absolute ethanol 1 ml นำไปบ่มที่ -20 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 rpm 10 นาที ล้างด้วย 70% เอทานอล 1 ml แล้วปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง ทิ้งตะกอนให้แห้ง แล้วละลายตะกอนใน TE Buffer 30 µl เก็บไว้ที่ -20 °C สำหรับใช้เป็น PCR Template (Ausubel *et al*., 1995)

(2) การเพิ่มปริมาณ 16S rDNA โดยวิธี PCR

สำหรับการทำ PCR ครั้งแรก reaction mixture ประกอบด้วย Taq PCR Master Mix Kit 25 µl, RNase free water 16 µl, 10X CoralLoaad concentrate 5 µl, universal primer 1492r และ 27f (10 pmole) 2 µl และ DNA extract 2 µl โปรแกรม PCR แรกประกอบด้วย pre-denaturation ที่ 95 °C นาน 5 นาที สำหรับ denaturation at 95 °C เป็นเวลา 30 วินาที annealing ที่ 52 °C เป็นเวลา 40 วินาที elongation ที่ 72 °C เป็นเวลา 90 วินาที รวมทั้งหมด 25 cycles และ post-elongation ที่ 72 °C เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นตรวจสอบ PCR product ใน 1.5% agarose gel และนำ PCR Product ดังกล่าวไปใช้ในการทำ PCR ครั้งที่สองโดยใช้ไพรเมอร์ 518r and 357f (ที่มี 40 bp GC clamp ที่ปลาย 5') (Muyzer *et al*., 1993) สำหรับแบคทีเรีย และใช้ไพรเมอร์ Arch-109-F และ Uni-515-GC-R สำหรับอาร์เคีย โดยโปรแกรม PCR ประกอบด้วย อุณหภูมิ 94 °C เป็นเวลา 1 นาที อุณหภูมิ 65 °C เป็นเวลา 75 วินาที และอุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 1 นาที รวม 20 รอบ และที่อุณหภูมิ 94 °C เป็นเวลา 1 นาที อุณหภูมิ 55 °C เป็นเวลา 75 วินาที และ72 °C เป็นเวลา 1 นาที รวม 10 รอบ ตามด้วยขั้นสุดท้ายที่ 72 °C เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นนำ PCR products ไปวิเคราะห์บน 1.5% agarose gel ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วย DGGE ต่อไป (Kongjan *et al*., 2010)

(3) ศึกษาโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค DGGE

ใช้เทคนิค DGGE ตามวิธีการทำของ Kongjan และคณะ (2010) โดยใช้ PCR products ครั้งที่สองวิเคราะห์บน 8% (v/v) polyacrylamide gels, denaturant gradient 40-70%, electrophoresis ที่ 70 โวลต์ นาน 16 ชั่วโมง ใน 0.5x TAE buffer ที่ 60 ^{o}C ย้อมสี DGGE gels ด้วย SYBR Green นาน 15 นาที แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GelDoc รุ่น XR 1708170 (Bio-Rad Laboratories, UK) ตัดแถบแบนดีเอ็นเอเด่นจากเจล DGGE และทำให้บริสุทธิ์ด้วย E.Z.N.A Cycle Pure Kit (Omega Bio-tek, USA) นำไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธี PCR ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น แล้วส่งไปวิเคราะห์ลำดับเบสนิวคลีโอไทด์ ผลที่ได้นำไปเปรียบเทียบกับลำดับเบสของจุลินทรีย์อ้างอิง โดยใช้โปรแกรม SeqMatch ในฐานข้อมูล ribosomal database project (http://rdp.cme.msu.edu/) และ NCBI web interface (http://www.ncbi.nlm.nih.gov)

3.4 การแยกสายพันธุ์จุลินทรีย์จากตัวอย่างปุ๋ย ศึกษาคุณสมบัติ และคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูง (cultured-dependent method) เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการผลิตและปรับปรุงคุณภาพปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพให้ดียิ่งขึ้น

3.4.1 การแยกสายพันธุ์แอคติโนมัยสีทจากตัวอย่าง

ทำการคัดแยกสายพันธุ์แอคติโนมัยสีทจากตัวอย่างปุ๋ยหมักชีวภาพ โดยเจือจางตัวอย่างปุ๋ย 5 กรัมในน้ำกลั่นปริมาตร 45 ml ดูดตัวอย่างที่เจือจางแล้ว 1 ml ใส่ในสารละลายที่มีส่วนประกอบของน้ำกลั่นปริมาตร 8 ml , 0.05% SDS ปริมาตร 50 µl และ 6% yeast extract ปริมาตร 1 ml นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 40 oC เป็นเวลา 20 นาที ทำการเจือจางต่อจนถึงระดับความเจือจางที่ 10^{-3},10^{-4},10^{-5} ดูดตัวอย่างปุ๋ยที่ทำการเจือจางแล้ว 0.1 ml มา spread บน starch casein agar (SCA) ที่มียา nystatin และ nalidixic acid บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7-14 วัน นับจำนวนและคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสีท แยกเชื้อให้บริสุทธิ์บนอาหาร ISP2 ถ่ายเชื้อลงในอาหารวุ้นเอียง ISP2 แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิห้อง หรือเก็บใน 20 % Glycerol ที่อุณหภูมิ -80 ^{o}C สำหรับการเก็บรักษาระยะยาว

3.4.2 การคัดกรองสายพันธุ์แอคติโนมัยสีทที่สามารถสร้างไฮโดรไลติกเอนไซม์

นำเชื้อแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกไว้มาเลี้ยงบนอาหาร ISP2 ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 วัน ใช้ cork borrer ขนาด 0.6 cm เจาะเชื้อในอาหาร ISP2 แล้วนำมาวางบนอาหาร CMC agar, Avicel agar, Skimmed milk agar, Starch agar และ Tributyrin agar สำหรับการทดสอบการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส (CMCase และ Avicelase) โปรติเอส อะไมเลส และ ไลเปส ตามลำดับ บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5-7 วัน ราดด้วยสารละลาย Lugol's iodine บนอาหารสำหรับการทดสอบเซลลูเลส (Kasana *et*

al., 2008) และอะไมเลส ทิ้งไว้ 10 นาที แล้วเทสารละลายออก แล้วสังเกตบริเวณของการเกิดวงใส เพื่อคำนวณค่าดัชนีเอนไซม์ (enzyme index) จากสูตร ขนาดของวงใส/ขนาดของโคโลนี

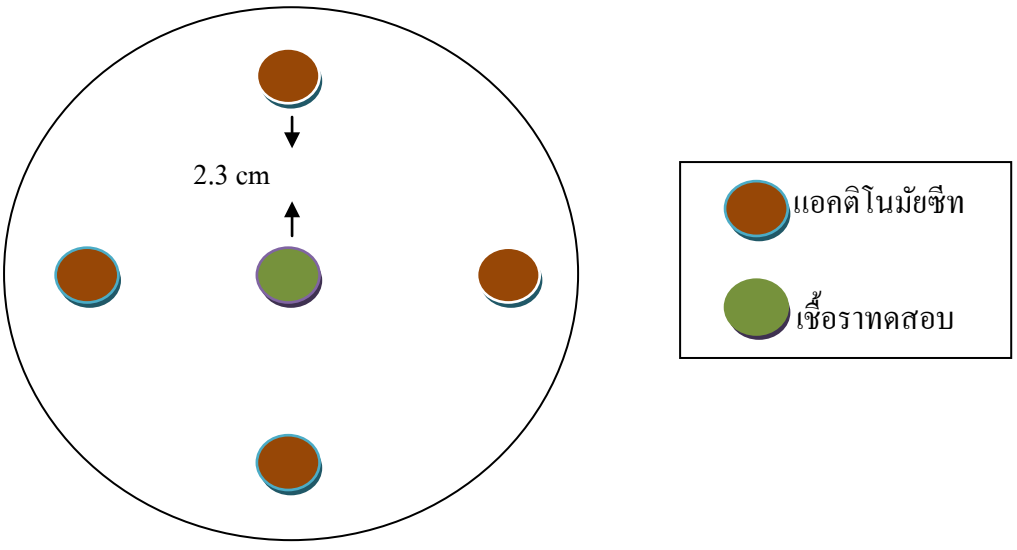
3.4.3 การคัดกรองสายพันธุ์แอคติโนมัยสีทที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรค

ทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของราก่อโรคด้วยวิธี dual culture โดยนำชิ้นวุ้นของราก่อโรคที่เป็นเชื้อทดสอบ 4 ชนิด คือ *Fusarium* sp. *Alternaria* sp. *Curvularia* sp. และ *C. gloeosporioides* โดยการตัดชิ้นวุ้นให้มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร วางบนตรงกลางของอาหาร PDA จากนั้นนำชิ้นวุ้นของแอคติโนมัยสีทที่แยกได้ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร วางในระนาบเดียวกันให้ห่างกันประมาณ 3 เซนติเมตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 5 วัน วัดระยะที่เส้นใยของราทดสอบที่ถูกยับยั้งการเจริญเปรียบเทียบกับเชื้อราในจานอาหารปกติ (ดังภาพที่ 3.1) คำนวณค่า % การยับยั้งจากสูตร

$$\% \text{ การยับยั้ง} = \frac{(R_1 - R_2) \times 100}{R_1}$$

โดย R_1 = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราในชุดควบคุม

R_2 = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราในจานเลี้ยงเชื้อร่วม



ภาพที่ 3.1 การทดสอบความสามารถของแอคติโนมัยสีทในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโดยวิธี Dual culture

3.4.4 การแยกสายพันธุ์ *Bacillus* sp. จากตัวอย่าง

ทำการคัดแยกสายพันธุ์บาซิลลัสจากตัวอย่างปุ๋ยหมักชีวภาพ โดยเจือจางตัวอย่างปุ๋ย 5 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 45 ml ดูดตัวอย่างที่เจือจางแล้ว 1 ml ใส่ในสารละลายที่มีส่วนประกอบของน้ำกลั่นปริมาตร 9 ml ทำการเจือจางต่อจนถึงระดับความเจือจางที่ 10^{-3},10^{-4},10^{-5} ดูดตัวอย่างปุ๋ยที่ทำการเจือจางแล้ว 0.1 ml มา spread บนอาหาร Nutrient Agar บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1-2 วัน คัดเลือกเชื้อ *Bacillus* sp. แยกเชื้อให้บริสุทธิ์บนอาหาร NA แล้วถ่ายเชื้อลงในอาหารวุ้นเอียง แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิห้อง หรือเก็บใน 20 % Glycerol ที่อุณหภูมิ -80 ^{o}C สำหรับการเก็บรักษาระยะยาว

3.4.5 การคัดเลือกสายพันธุ์ *Bacillus* sp. ที่สามารถสร้างไฮโดรไลติกเอนไซม์

นำเชื้อแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกไว้มาเลี้ยงบนอาหาร NA ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน หลังจากนั้นปรับความขุ่นของเชื้อให้ได้เท่ากับสารละลาย McFarland No.0.5 จากนั้นดูดสารละลายเชื้อที่ปรับความขุ่นแล้วปริมาตร 20 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษกรองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มม. แล้วนำมาวางบนอาหาร CMC agar, Avicel agar, Skimmed milk agar, Starch agar และ Tributyrin agar สำหรับการทดสอบการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส (CMCase และ Avicelase) โปรติเอส อะไมเลส และ ไลเปส ตามลำดับ บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3-5 วัน ราดด้วยสารละลาย Lugol's iodine บนอาหารสำหรับการทดสอบเซลลูเลส (Kasana *et al*., 2008) และอะไมเลส ทิ้งไว้ 10 นาที แล้วเทสารละลายออก แล้วสังเกตบริเวณของการเกิดวงใส วัดขนาดวงใสและขนาดของโคโลนี เพื่อคำนวณค่าดัชนีเอนไซม์ (enzyme index) จากสูตร ขนาดของวงใส/ขนาดของโคโลนี

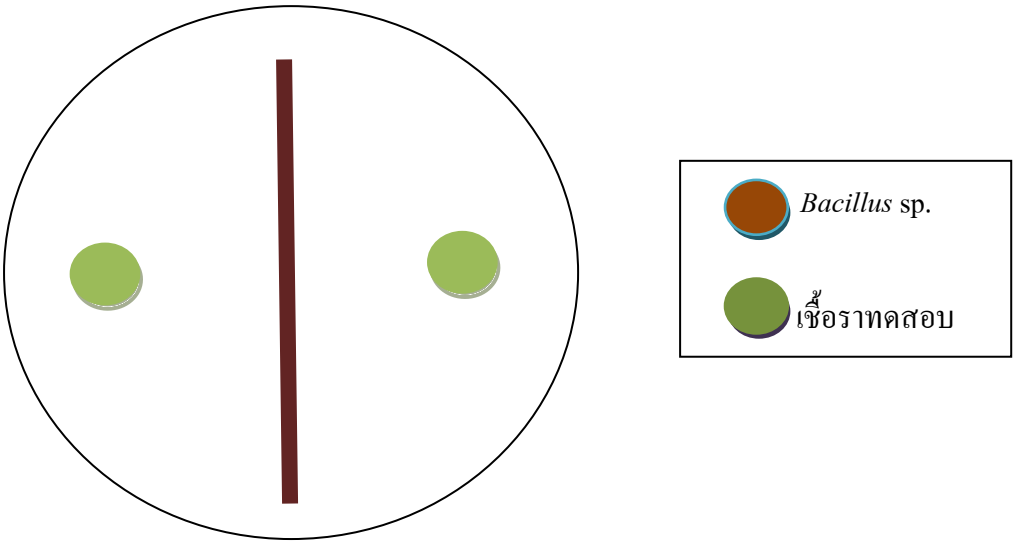
3.4.6 การคัดกรองสายพันธุ์ *Bacillus* ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรค

ทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของราก่อโรคด้วยวิธี dual culture โดยนำเชื้อที่คัดแยกไว้มาเลี้ยงบนอาหาร NA ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน ใช้ห่วงเขี่ยเชื้อขีดเชื้อเป็นแนวยาวกึ่งกลางของจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 3 วัน จากนั้น นำชิ้นวุ้นของราก่อโรคที่เป็นเชื้อทดสอบ 4 ชนิด โดยการตัดชิ้นวุ้นให้มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร วางให้ห่างจากเส้นที่ขีดไว้ประมาณ 3 เซนติเมตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 วัน วัดระยะที่เส้นใยของราทดสอบที่ถูกยับยั้งการเจริญเปรียบเทียบกับเชื้อราในจานอาหารปกติ (ดังภาพที่ 3.2)

คำนวณค่า % การยับยั้งจากสูตร % การยับยั้ง $= \frac{(R_1 - R_2) \times 100}{R_1}$

โดย R_1 = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราในชุดควบคุม

R_2 = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราในจานเลี้ยงเชื้อร่วม

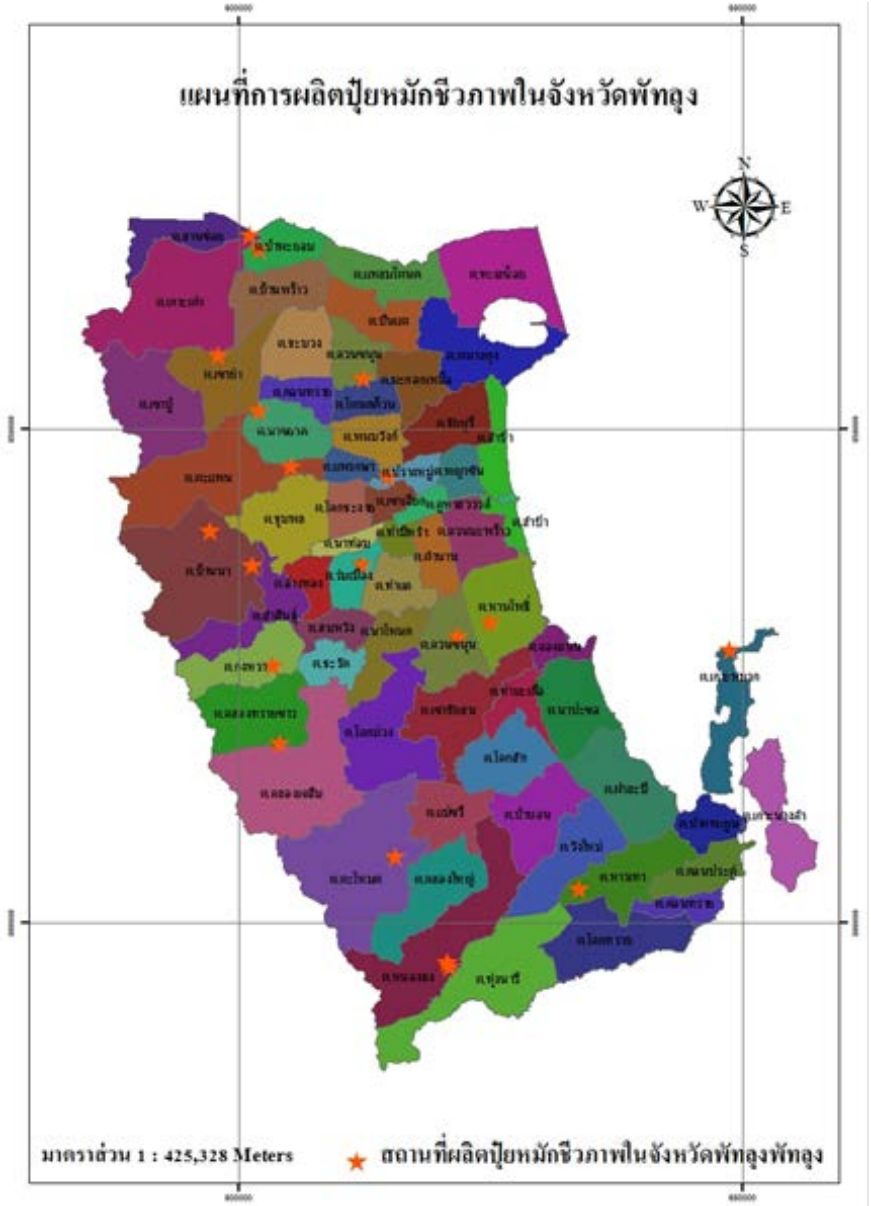


ภาพที่ 3.2 การทดสอบความสามารถของ *Bacillus* sp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโดยวิธี Dual culture

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ภูมิปัญญาการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพของเกษตรกรในจังหวัดพัทลุง

จากการศึกษาพบว่าจังหวัดพัทลุงมีการผลิตปุ๋ยหมักชีวภาพทั้ง 11 อำเภอ จึงได้ทำการวิจัยและเก็บข้อมูลและตัวอย่างจากพื้นที่ดังกล่าว ซึ่งแสดงเครื่องหมายและพิกัด ดังภาพที่ 4.1



ภาพที่ 4.1 แผนที่แหล่งผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพในจังหวัดพัทลุง

โดยพบว่าการผลิตปุ๋ยหมักชีวภาพส่วนใหญ่จะผลิตเพื่อขายหรือใช้ในการเกษตร เนื่องจากประชากรในจังหวัดพัทลุงได้ประกอบอาชีพเพาะปลูกและเลี้ยงสัตว์ ซึ่งจะง่ายต่อการหาวัตถุดิบที่นำมาผลิตปุ๋ยหมักสามารถหาได้ง่ายภายในท้องถิ่น เช่น มูลวัว มูลสุกร มูลไก่ แกลบ รำ เศษพืช และเศษผลไม้ เป็นต้น ซึ่งสอดคล้องกับกระทรวงพลังงานจังหวัดพัทลุง (2551) ที่ได้กล่าวไว้ว่าจังหวัดพัทลุงมีเนื้อที่เพาะปลูกพืชเศรษฐกิจ ได้แก่ ยางพารา ข้าวนาปี ข้าวนาปรังมะพร้าว ปาล์ม และ ถั่วลิสง นอกจากนี้จังหวัดพัทลุงมีการเลี้ยงสัตว์ประเภทต่าง ๆ ได้แก่ โคเนื้อ โคนม กระบือ สุกร แพะ ไก่ไข่ ไก่เนื้อ และเป็ด ซึ่งการทำเกษตรเหล่านี้จะมีวัสดุเศษเหลือและสามารถนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตปุ๋ยหมักชีวภาพได้ จึงทำให้จังหวัดพัทลุงมีการผลิตปุ๋ยหมักชีวภาพในทุกอำเภอ จากการสำรวจ สัมภาษณ์และแบบสอบถามกลุ่มตัวอย่างที่ผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพในจังหวัดพัทลุง (ภาพที่ 4.1) สามารถเก็บตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพได้ทั้งหมด 21 ตัวอย่าง จาก 21 ตำบล ใน 11 อำเภอ

ตารางที่ 4.1 กลุ่มตัวอย่างที่ผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพในจังหวัดพัทลุง

แหล่งผลิต	ที่มาของวิธีการทำปุ๋ยหมัก	วัสดุที่ใช้ในการทำปุ๋ย	ปัญหาและอุปสรรค
อ. ป่าพะยอม			
ต. ป่าพะยอม	กรมพัฒนาที่ดิน, กศน.	ผัก ผลไม้ ยางพารา	วัตถุดิบหายาก, ต้องการความรู้เพิ่มเติม
ต. เกาะเต่า	กรมพัฒนาที่ดิน	ผัก ยางพารา	อัตราส่วนไม่แน่นอน, นำไปใช้ยาก (ฟุ้งกระจาย)
ต. ลานข่อย	กรมพัฒนาที่ดิน	ยางพารา	-
ต. บ้านพร้าว	กรมพัฒนาที่ดิน	ผัก ยางพารา ปาล์ม	ต้องการทราบสมบัติของปุ๋ยที่ผลิตได้
อ. ควนขนุน			
ต. พนางตุง	เครือข่ายเกษตรทางเลือก	- ผัก ข้าว ยางพารา พริก	ขาดแคลนเครื่องมือที่ใช้ผลิต (เครื่องผสม อัดเม็ด)
ต. แหลมโตนด	อบรม EM (สระบุรี), วว.	- ข้าว ปาล์ม	-
ต. ควนขนุน	อบรมจากเกษตรธรรมชาติ EM (สระบุรี)	- ผลไม้ ยางพารา ปาล์ม	ขาดแคลนน้ำ, ไม่เป็นที่นิยมในชุมชน
ต. นาขยาด	ภูมิปัญญา, กรมพัฒนาที่ดิน	- ผัก ผลไม้ ปาล์ม	-

ตารางที่ 4.1 กลุ่มตัวอย่างที่ผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพในจังหวัดพัทลุง (ต่อ)

แหล่งผลิต	ที่มาของวิธีการทำปุ๋ยหมัก	วัสดุที่ใช้ในการทำปุ๋ย	ปัญหาและอุปสรรค
อ. ศรีบรรพต			
ต. ตะแพน	สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรที่ 8 พัทลุง, วว.	ผัก ข้าว ยางพารา	งบประมาณไม่เพียงพอ
ต. เขาย่า	กรมพัฒนาที่ดิน	ผัก (มะนาว) ยางพารา	เห็นผลช้า และใช้งานยาก
อ. เมือง			
ต. ปรางหมู่	กรมพัฒนาที่ดิน,	ผัก มังคุด ยางพารา	วัตถุดิบในการผลิตหายาก
ต. ร่มเมือง	อ. จำนง แรกพินิจ	ยางพารา ผลไม้	กลุ่มทำงานไม่เข้มแข็ง สวัสดิการต่ำ
อ. ศรีนครินทร์			
ต. ลำสินธุ์	กรมพัฒนาที่ดิน	ผัก ผลไม้ ยางพารา	ต้องการทราบคุณสมบัติปุ๋ยที่ผลิตได้
ต. บ้านนา	ภูมิปัญญา และทดลองเอง	ผัก ผลไม้ สมุนไพร ยางพารา	ขาดแคลนน้ำ
อ. กงหรา			
ต. กงหรา	กรมพัฒนาที่ดิน	ขมิ้น ตะไคร้ ยางพารา	-
ต. คลองทรายขาว	กรมพัฒนาที่ดิน	ผัก ผลไม้ ยางพารา	-
ต. ชะรัด	ภูมิปัญญา, กรมพัฒนาที่ดิน	ผัก ข้าว ยางพารา	วัตถุดิบหายาก, ใช้เวลานาน
ต. สมหวัง	ดร. สุริยา (วว.)	ยางพารา	วัตถุดิบหายาก
ต. คลองเฉลิม	วว.	ข้าว ยางพารา	ดินในพื้นที่เป็นกรด
อ. เขาชัยสน			
ต. หานโพธิ์	คิดค้นเอง	พืชหลายชนิด	-
ต. ควนขนุน	ธกส., ภูมิปัญญา	ผลไม้ ข้าว ยางพารา	วัตถุดิบหายาก
อ. ตะโหมด			
ต. ตะโหมด	ภูมิปัญญา, กรมพัฒนาที่ดิน	ยางพารา	วัตถุดิบหายาก
อ. ป่าบอน			
ต. หนองธง	- ภูมิปัญญา	ผัก (มะเขือ, คะน้า) ผลไม้ (มะละกอ)	มูลวัวหายาก
อ. บางแก้ว			
ต. นาปะขอ	กรมพัฒนาที่ดิน	ผัก (มะนาว) ยางพารา	วัตถุดิบหายาก, พื้นที่ลุ่ม น้ำท่วมขัง

ตารางที่ 4.1 กลุ่มตัวอย่างที่ผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพในจังหวัดพัทลุง (ต่อ)

แหล่งผลิต	ที่มาของวิธีการทำปุ๋ยหมัก	วัสดุที่ใช้ในการทำปุ๋ย	ปัญหาและอุปสรรค
อ. ปากพะยูน			
ต. หารเทา	ศูนย์ EM (สระบุรี)	ผัก ผลไม้ ยางพารา ปาล์ม	ต้องการทราบคุณสมบัติปุ๋ยที่ผลิตได้
ต. เกาะหมาก	ภูมิปัญญา, อบรมกับหน่วยงานรัฐ	ผักสวนครัว (พริก, ตะไคร้) ผลไม้ (มะละกอ)	ไม่เป็นที่นิยมใช้เนื่องจากเห็นผลช้า

สำหรับการศึกษาองค์ประกอบและวิธีการผลิตปุ๋ยหมักชีวภาพของเกษตรกร ภายในจังหวัดพัทลุง พบว่าปุ๋ยหมักชีวภาพภายในจังหวัดพัทลุงเป็นปุ๋ยคอก เพราะวัตถุดิบหลักในการผลิตปุ๋ยหมักชีวภาพคือมูลสัตว์ เช่น มูลสุกร มูลวัว และมูลไก่ ซึ่งมีการหมักร่วมกับหัวเชื้อจุลินทรีย์ และปุ๋ยน้ำหมักที่ผลิตขึ้นเอง ซึ่งสอดคล้องกับหฤษฎี (2538) ที่กล่าวไว้ว่า ปุ๋ยคอก คือ ปุ๋ยที่ได้จากมูลสัตว์ต่างๆ ซึ่งสัตว์ขับถ่ายออกมาในรูปของแข็งและของเหลว รวมไปถึงสิ่งที่ปูหรือรองให้สัตว์ซึ่งซับส่วนที่เป็นของเหลวไว้ โดยสิ่งต่างๆ เหล่านี้ต้องผ่านขบวนการหมักสลายตัวก่อนนำไปใช้ประโยชน์ ทั้งนี้จึงสรุปได้ว่าปุ๋ยหมักชีวภาพภายในจังหวัดพัทลุงที่ได้ทำการศึกษาเป็นปุ๋ยหมักชีวภาพที่อยู่ในประเภทปุ๋ยคอก ซึ่งองค์ความรู้ในการผลิตปุ๋ยหมักชีวภาพส่วนมากได้รับการถ่ายทอดจากการเข้ารับการอบรมจากกรมพัฒนาที่ดินเป็นหลัก และวัตถุดิบหลักในการผลิต เช่น มูลสัตว์ แกลบ และรำข้าว สามารถหาได้ง่ายในท้องถิ่นเพราะว่าจังหวัดพัทลุงมีเศษเหลือเหล่านี้จากการทำการเกษตร และวัตถุดิบบางอย่างก็มีการส่งเสริมจากองค์กรต่างๆ เช่น หัวเชื้อ และกากน้ำตาลจากกรมพัฒนาที่ดิน ส่วนวัตถุดิบที่ไม่มีในท้องถิ่นและต้องซื้อ เช่น โดโลไมด์ ฟอสเฟต และยูเรีย ทั้งนี้เพราะว่าวัตถุดิบเหล่านี้เกษตรกรไม่สามารถผลิตขึ้นใช้ได้ด้วยตัวเอง จากผลการศึกษา รวบรวมวัตถุดิบและสูตรที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพทั้ง 21 ตัวอย่าง สามารถนำมาจัดกลุ่มโดยใช้ชนิดของหัวเชื้อในการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพเป็นเกณฑ์ ได้ 3 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่มที่ใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอง หัวเชื้อจุลินทรีย์จากกรมพัฒนาที่ดิน (พด.1, 2 และ 3) และหัวเชื้อจุลินทรีย์ EM

ตารางที่ 4.2 วัตถุดิบในการหมักหัวเชื้อจุลินทรีย์เพื่อผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ

วัตถุดิบ / แหล่งผลิต	น้ำ	กากน้ำตาล	ผลไม้สุก	เปลือกผลไม้	เศษอาหาร	หอยเชอรี่	เครื่องในปลา	น้ำตาลทราย	น้ำมะพร้าว	ยอดไม้	น้ำส้มควันไม้	กล้วย	พด. 1	พด. 2	พด. 3	EM	ทำหัวเชื้อเอง
1. ต. ป่าพะยอม	√	√	√														√
2. ต. เกาะเต่า	√	√														√	
3. ต. ลานข่อย	√	√													√		
4. ต. บ้านพร้าว	√	√	√														√
5. ต. พนางตุง	√	√	√			√								√			
6. ต. แหลมโตนด	√							√								√	
7. ต. ควนขนุน	√	√					√									√	
8. ต. นาขยาด	√	√		√	√											√	
9. ต. ตะแพน	√	√	√														√
10. ต. เขาย่า	√	√	√				√							√			
11. ต. ปรางหมู่	√	√				√	√		√						√	√	
12. ต. ร่มเมือง	√	√			√									√			
13. ต. ลำสินธุ์	√	√	√											√			

ตารางที่ 4.2 วัตถุดิบในการหมักหัวเชื้อจุลินทรีย์เพื่อผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ (ต่อ)

วัตถุดิบ / แหล่งผลิต	น้ำ	กากน้ำตาล	ผลไม้สุก	เปลือกผลไม้	เศษอาหาร	หอยเชอรี่	เครื่องในปลา	น้ำตาลทรายแดง	น้ำมะพร้าว	ยอดไม้	น้ำส้มควันไม้	กล้วย	พด. 1	พด. 2	พด. 3	EM	ทำหัวเชื้อเอง
14. ต. บ้านนา	√		√					√									
15. ต. กงหรา	√	√	√										√				
16. ต. คลองทรายขาว	√	√	√				√							√			
17. ต. ชะรัด	√	√				√								√			
18. ต. สมหวัง	√		√										√				
19. ต. คลองเฉลิม	√		√				√			√				√			
20. ต. หานโพธิ์	√	√	√										√	√	√		
21. ต. ควนขนุน	√	√					√							√			
22. ต. ตะโหมด	√	√	√											√			
23. ต. หนองธง	√	√														√	
24. ต. นาปะขอ	√	√	√			√								√			
25. ต. หารเทา	√	√	√				√				√					√	
26. ต. เกาะหมาก	√	√										√					√

ตารางที่ 4.3 วัตถุดิบในการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ

วัตถุดิบ / แหล่งผลิต	ใบยาสูบ	ยาสูบ	ใบชา	ใบสูบ	ขยะเปียก	ขยะแห้ง	ขยะเศษอาหาร	ขยะเศษผัก	ขยะเศษผลไม้	ถั่วเหลือง	ถั่วเขียว	ถั่วแดง	ถั่วดำ	ถั่วลิสง	ถั่วเหลือง	ถั่วเขียว	ถั่วแดง	ถั่วดำ	ถั่วลิสง	ถั่วเหลือง	ถั่วเขียว	ถั่วแดง	ถั่วดำ	ถั่วลิสง	ถั่วเหลือง	ถั่วเขียว	ถั่วแดง	ถั่วดำ	ถั่วลิสง	ถั่วเหลือง	ถั่วเขียว	ถั่วแดง	ถั่วดำ	ถั่วลิสง	ถั่วเหลือง	ถั่วเขียว	ถั่วแดง	ถั่วดำ	ถั่วลิสง	พด 1	พด 2	พด 3
1. ต. ป่าพะยอม	√				√		√		√									√	√																	√	√	√
2. ต. เกาะเต่า	√	√	√	√				√	√										√			√													√	√	
3. ต. ลานข่อย	√	√							√				√						√																	√	√	
4. ต. บ้านพร้าว	√				√		√	√	√										√																	√	√	
5. ต. พนางตุง	√						√	√	√										√		√			√		√			√	√					√	√	
6. ต. แหลมโตนด	√								√							√			√																	√		
7. ต. ควนขนุน		√					√		√										√																	√		
8. ต. นาขยาด		√	√	√				√														√	√						√						√		
9. ต. ตะแพน			√					√	√										√																√		
10. ต. เขาย่า	√	√	√						√										√				√												√	√	
11. ต. ปรางหมู่	√	√	√			√		√	√										√			√						√						√		
12. ต. ร่มเมือง	√	√							√										√		√		√						√						√		

ตารางที่ 4.3 วัตถุดิบในการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ (ต่อ)

วัตถุดิบ / แหล่งผลิต	ใบยาง	ใบปาล์ม	ใบมันสำปะหลัง	ใบสับปะรด	ใบอ้อย	ใบกล้วย	ขี้เลื่อย	ขี้กบ	ขี้เถ้าแกลบ	ขี้เถ้าไม้ยางพารา	ขี้เถ้าไม้ยูคาลิปตัส	ขี้หมูสับ	ขี้หมูสด	ขี้ไก่สับ	ขี้ไก่สด	ขี้วัวสับ	ขี้วัวสด	ขี้ค้างคาว	ขี้เป็ดสับ	ขี้เป็ดสด	ขี้ม้าสับ	ขี้ม้าสด	ขี้ควายสับ	ขี้ควายสด	ขี้ปลา	ขี้หมู	ขี้ไก่	ขี้วัว	ขี้เป็ด	ขี้ม้า	ขี้ควาย	ขี้ค้างคาว	ขี้ปลา	พด. 1	พด. 3	
13. ต. ลำสินธุ์	√	√					√	√	√										√															√	√	
14. ต. บ้านนา	√	√		√													√																	√		
15. ต. กงหรา	√								√								√		√	√		√	√	√				√	√					√		
16. ต. คลองทรายขาว				√			√										√	√																√	√	
17. ต. ชะรัด	√						√									√	√																	√	√	
18. ต. สมหวัง	√	√	√														√				√													√		
19. ต. คลองเฉลิม		√															√				√													√		
20. ต. หานโพธิ์	√									√	√			√																				√		
21. ต. ควนขนุน	√	√							√								√			√														√	√	
22. ต. ตะโหมด	√								√				√								√													√		
23. ต. หนองธง	√																				√													√		
24. ต. นาปะขอ	√	√													√		√				√													√	√	
25. ต. หารเทา	√	√						√	√	√	√				√								√	√										√		

ตารางที่ 4.4 การจัดกลุ่มในผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพโดยใช้ชนิดของหัวเชื้อในการผลิตและรูปแบบของการผลิตปุ๋ยเป็นเกณฑ์

ชนิดของหัวเชื้อ	**กลุ่มตัวอย่างที่ผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ**
- หัวเชื้อผลิตเอง	- ต. ป่าพะยอม ต. บ้านพร้าว ต. ตะแพน ต. เกาะหมาก
- หัวเชื้อจากสถานีพัฒนาที่ดิน คือ พด. 1 2 และ 3	- ต. เกาะเต่า ต. ลานข่อย ต. เขาย่า ต. ปรางหมู่ ต. ร่มเมือง ต. กงหรา ต. คลองทรายขาว ต. ชะรัต ต. สมหวัง ต. คลองเฉลิม ต. หานโพธิ์ ต. ตะโหมด ต. ควนขนุน (อ. เขาชัยสน) ต. นาปะขอ
- หัวเชื้อ EM	- ต. แหลมโตนด ต. ควนขนุน (อ. ควนขนุน) ต. นาขยาด ต. ปรางหมู่ ต. หนองธง ต. หารเทา
รูปแบบของการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ	**กลุ่มตัวอย่างที่ผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ**
- ผลิตเพื่อใช้เอง	- ต. ลายข่อย ต. บ้านพร้าว ต. บ้านนา ต. ลำสินธุ์ ต. ควนขนุน (อ. ควนขนุน)
- รวมกลุ่มในการผลิต แล้วแจกจ่ายใช้กันเองภายในกลุ่ม	- ต. ป่าพะยอม ต. เขาย่า ต. ปรางหมู่ ต. พนางตุง - ต. กงหรา ต. คลองทรายขาว ต. ชะรัต ต. ปรางหมู่ ต. คลองเฉลิม ต. หานโพธิ์ ต. ตะโหมด ต. ควนขนุน (อ. เขาชัยสน) ต. นาปะขอ
- ผลิตเพื่อขายโดยทั่วไป	- ต. เกาะเต่า ต. แหลมโตนด ต. นาขยาด ต. ร่มเมือง ต. สมหวัง ต. หนองธง ต. หารเทา ต. เกาะหมาก

4.2 การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและเคมี (ความชื้น pH ธาตุอาหารหลัก) ของปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ

เมื่อนำตัวอย่างปุ๋ยจาก 21 ตำบล ของ 11 อำเภอในจังหวัดพัทลุง มาวิเคราะห์ pH อุณหภูมิ ความชื้น และปริมาณธาตุอาหารในปุ๋ยหมักชีวภาพ ซึ่งผลการวิเคราะห์ (ตารางที่ 4.5) พบว่า

4.1.1 pH

จากการศึกษาพบว่าปุ๋ยหมักชีวภาพจำนวน 12 ตัวอย่างมีค่า pH อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน และปุ๋ยหมักชีวภาพจากตำบลตะแพน ตำบลลำสินธุ์ ตำบลคลองทรายขาว ตำบลหานโพธิ์ และตำบลนาขยาด มีค่า pH ที่เหมาะสมที่สุดคือ 6.8 6.9 7.0 7.0 และ 7.3 ตามลำดับ ทั้งนี้เป็นเพราะว่าปุ๋ยหมักจากตำบลลำสินธุ์ ตำบลตะแพน และตำบลนาขยาดใช้วัตถุดิบแกลบดำในการผลิตเหมือนกัน ซึ่งมีผลต่อค่า pH ของปุ๋ยหมัก ซึ่งสอดคล้องกับทัศนีพร (2552) ที่ได้ทำการศึกษาเรื่อง

การทำปุ๋ยหมักจากขยะมูลฝอยตลาดสดเทศบาลนครขอนแก่นร่วมกับเถ้าแกลบดำ โดยพบว่า แกลบดำมีองค์ประกอบจำพวก อลูมิเนียม แมกนีเซียมผสมอยู่ ซึ่งสารดังกล่าวเมื่อรวมตัวกับน้ำจะทำให้เกิดค่าความเป็นด่าง ดังนั้นผลของค่าความเป็น pH ที่เพิ่มขึ้นจึงอาจส่งผลมาจากปริมาณของอลูมิเนียมและแมกนีเซียม ที่เป็นองค์ประกอบทางเคมีในแกลบดำ ทั้งนี้เพราะส่วนผสมของแกลบดำในปุ๋ยหมักจากตำบลลำสินธุ์ ตำบลตะแพน และตำบลนาขยาดจึงทำให้ค่า pH เป็นอยู่ในช่วงกรดอ่อนและใกล้เคียงกับความเป็นด่าง

4.1.2 อุณหภูมิ

จากการศึกษาพบว่าปุ๋ยหมักชีวภาพจากทุกตำบลมีอุณหภูมิอยู่ในช่วง 30 – 32 ºC ทั้งนี้เป็นเพราะว่า วัตถุดิบที่นำมาใช้ในกระบวนการผลิตเช่น แกลบ เศษกิ่งไม้ ขุยมะพร้าว และฟางข้าว ซึ่งมีผลต่อกระบวนการหมักโดยเฉพาะแกลบ ที่มีอยู่ในสูตรปุ๋ยหมักแทบทุกสูตร ซึ่งสอดคล้องกับทัศนีพร ยศพล (2552) ที่ได้ทำการศึกษาเรื่อง การทำปุ๋ยหมักจากขยะมูลฝอยตลาดสดเทศบาลนครขอนแก่นร่วมกับเถ้าแกลบดำ โดยพบว่าแกลบทำหน้าที่เป็นตัวช่วยรักษาโครงสร้างของกองปุ๋ยหมัก และเพิ่มช่องว่างหรือรูพรุนให้กับกองปุ๋ยหมักซึ่งทำให้กระบวนการหมักมีการระบายอากาศและระบายความร้อนได้ดี ทั้งนี้จึงทำให้ปุ๋ยหมักที่มีแกลบจะมีอุณหภูมิไม่สูงมาก

4.1.3 ความชื้น

จากการศึกษาพบว่าปุ๋ยหมักชีวภาพจำนวน 11 ตัวอย่างมีค่าปริมาณความชื้นที่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน และตัวอย่างปุ๋ยที่มีค่าปริมาณความชื้นสูงแต่ไม่เกินเกณฑ์มาตรฐานคือตัวอย่างปุ๋ยหมักจากตำบลเกาะเต่าที่มีปริมาณความชื้นร้อยละ 33.7 เพราะว่าใช้แกลบเป็นวัตถุดิบในการผลิต ซึ่งสอดคล้องกับทัศนีพร ยศพล (2552) ที่ได้ทำการศึกษาเรื่อง การทำปุ๋ยหมักจากขยะมูลฝอยตลาดสดเทศบาลนครขอนแก่นร่วมกับเถ้าแกลบดำ โดยพบว่าแกลบดำที่ผสมอยู่ในปุ๋ยทำให้ค่าความชื้นลดลงเนื่องจากแกลบดำจะไปทำให้เกิดช่องว่างและความพรุนในปุ๋ย ซึ่งช่วยให้การระเหยตัวของน้ำในอากาศของกองปุ๋ยดีขึ้น จึงส่งผลให้ค่าความชื้นตัวอย่างปุ๋ยหมักจากตำบลเกาะเต่ามีค่าลดลงโดยที่ไม่เกินมาตรฐาน

4.1.4 ปริมาณธาตุอาหาร

4.1.4.1 ไนโตรเจน

ในการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้ทำการวัดค่าไนโตรเจนทั้งหมด แต่วัดค่าไนโตรเจนที่อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ คือ แอมโมเนีย และไนเตรท ซึ่งสามารถทำการเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานไนโตรเจนทั้งหมดได้โดยการนำผลรวมของแอมโมเนียและไนเตรทมาเปรียบเทียบกับมาตรฐาน ซึ่งจากการศึกษาพบว่าปุ๋ยหมักชีวภาพจากตำบลเกาะหมากมีผลรวมปริมาณแอมโมเนียและไนเตรทสูงสุดคือร้อยละ 1.256 พบว่าวัตถุดิบหลักที่ใช้ในการผลิตคือ มูล

สัตว์ รำข้าว แกลบ และ EM ซึ่งสอดคล้องกับศิริลักษณ์ ใจบุญทา (2550) ที่ได้ทำการศึกษาเรื่อง ผลของรำข้าวต่อการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ในกระบวนการผลิตปุ๋ยหมัก โดยพบว่าการผลิตปุ๋ยหมักแกลบใช้ร่วมกับรำข้าวเป็นแหล่งไนโตรเจนจะให้ค่าไนโตรเจนร้อยละ 0.94 ซึ่งจะเห็นได้ว่าวัตถุดิบที่นำผลิตปุ๋ยหมักจากตำบลเกาะหมากและการศึกษาของศิริลักษณ์ ใจบุญทา (2550) มีความใกล้เคียงกัน คือ แกลบ และรำข้าว ซึ่งวัตถุดิบทั้งสองชนิดจะมีผลต่ออัตราการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการสูญเสียไนโตรเจนไปในระหว่างกระบวนการหมักน้อยลง นอกจากนี้มูลโคที่นำมาผลิตปุ๋ยอาจมีผลต่อปริมาณแอมโมเนียของปุ๋ยหมักด้วย ซึ่งสอดคล้องกับหฤษฎี (2538) ที่ได้กล่าวไว้ว่ามูลโคสามารถให้ไนโตรเจนอยู่ในช่วงร้อยละ 0.86 - 1.32 รวมไปถึงการนำมูลนกกระทามาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตปุ๋ยโดยที่มูลนกกระทาจะให้ค่าไนโตรเจนที่สูง ซึ่งสอดคล้องกับ กองเกษตรเคมี กรมวิชาการเกษตร ที่ถูกกล่าวในฟาร์มเกษตร (2551) ว่า ปริมาณธาตุอาหารหลักไนโตรเจนในมูลนกกระทามีร้อยละ 4.15 ทั้งนี้จึงทำให้ปุ๋ยหมักชีวภาพจากตำบลเกาะหมากมีค่าผลรวมปริมาณแอมโมเนียและไนเตรทสูง

4.1.4.2 ออโธฟอสเฟต

จากการศึกษาพบว่าปุ๋ยหมักชีวภาพจากตำบลปรางหมู่มีค่าปริมาณออโธฟอสเฟตสูงที่สุด ทั้งนี้เนื่องมาจากมีการนำหินฟอสเฟตมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิต ซึ่งสอดคล้องกับปุ๋ยอินทรีย์คุณภาพสูง สูตรกรมพัฒนาที่ดิน (2550) ที่ได้ให้ข้อมูลไว้ว่าปริมาณธาตุฟอสฟอรัสในหินฟอสเฟตมีปริมาณร้อยละ 15 – 17 นอกจากนี้มีการใช้รำข้าวในการผลิตปุ๋ยหมักด้วยจึงทำให้ปุ๋ยหมักมีค่าปริมาณฟอสฟอรัสสูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับศิริลักษณ์ ใจบุญทา (2550) ที่ได้ทำการศึกษาเรื่อง ผลของรำข้าวต่อการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ในกระบวนการผลิตปุ๋ยหมัก โดยพบว่า ในปุ๋ยหมักแกลบที่ใส่รำข้าวร้อยละ 100 มีปริมาณฟอสฟอรัสสูงสุด และปุ๋ยหมักที่ใส่รำข้าวร้อยละ 50 มีปริมาณฟอสฟอรัสสูงรองลงมา เป็นผลเนื่องมาจากรำข้าวมีองค์ประกอบของฟอสฟอรัสอยู่ถึร้อยละ 2.52 โดยประมาณ จึงทำให้ตำรับที่ใส่รำข้าวมีปริมาณฟอสฟอรัสสูงสุด

4.1.4.3 โพแทสเซียม

จากการศึกษาพบว่าปุ๋ยหมักชีวภาพจากตำบลร่มเมืองมีปริมาณโพแทสเซียมสูงสุดที่ร้อยละ 17.2 ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าวัตถุดิบที่ใช้มีทั้งมูลไก่และมูลวัวซึ่งจะให้ค่าโพแทสเซียมสูง ซึ่งสอดคล้องกับหฤษฎี (2538) ที่ได้กล่าวไว้ว่า มูลไก่เป็นปุ๋ยคอกที่ให้ธาตุอาหารในปริมาณสูงกว่าปุ๋ยคอกชนิดอื่นๆ และสามารถให้ค่าโพแทสเซียมอยู่ในช่วงร้อยละ 0.51 - 3.52 และเสาวนิตย์ แดงทองดี (2549) ที่ได้ทำการศึกษาเรื่อง การศึกษาการทำปุ๋ยหมักจากเศษผัก โดยพบว่ามูลวัวให้ค่าปริมาณโพแทสเซียมร้อยละ 1.60 นอกจากนี้ในปุ๋ยหมักชีวภาพจากตำบลร่มเมืองมีการใช้รำข้าวมาใช้เพื่อเพิ่มปริมาณโพแทสเซียมอีกด้วย ซึ่งสอดคล้องกับศิริลักษณ์ ใจบุญทา (2550) ที่ได้

ทำการศึกษาเรื่อง ผลของรำข้าวต่อการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ในกระบวนการผลิตปุ๋ยหมัก โดยพบว่าในปุ๋ยหมักตำรับที่ใส่รำข้าวร้อยละ 100 มีปริมาณโพแทสเซียมสูงสุด และปุ๋ยหมักที่ใส่รำข้าวร้อยละ 50 มีปริมาณ โพแทสเซียมสูงรองลงมา ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากรำข้าวมีองค์ประกอบของโพแทสเซียมอยู่ถึงร้อยละ 2.09 โดยประมาณ จึงทำให้ปุ๋ยหมักตำรับที่ใส่รำข้าวมีปริมาณโพแทสเซียมสูงกว่าตำรับการทดลองอื่น

ผลการศึกษาและวิเคราะห์สมบัติของปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพที่ผลิตได้ในจังหวัดพัทลุง (ตารางที่ 4.5) สามารถสรุปได้ว่า สูตรของ ต. เกาะหมาก อ. ปากพะยูน เป็นสูตรที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากมีค่าความเป็นด่างอ่อน ความชื้นอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน (ไม่เกินร้อยละ 30) มีปริมาณแอมโมเนีย และไนเตรท สูงที่สุด เนื่องจากวัตถุดิบหลักที่ใช้คือ มูลวัว และมูลนก ส่วนปริมาณฟอสเฟตมีค่าเป็นอันดับที่ 3 รองจาก ต. ปรางหมู่ และ ต. กงหรา ซึ่งมีหินฟอสเฟตเป็นองค์ประกอบ ในขณะที่ปริมาณโพแทสเซียมมีค่าเป็นอันดับที่ 5 คือร้อยละ 1.44 นอกจากนั้นเมื่อพิจารณาในด้านของหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพพบว่า ต. เกาะหมากนี้ทำการหมักหัวเชื้อจุลินทรีย์เอง แล้วจึงนำมาผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพเพื่อแจกจ่ายใช้ภายในกลุ่มที่จัดตั้งขึ้นในชุมชน

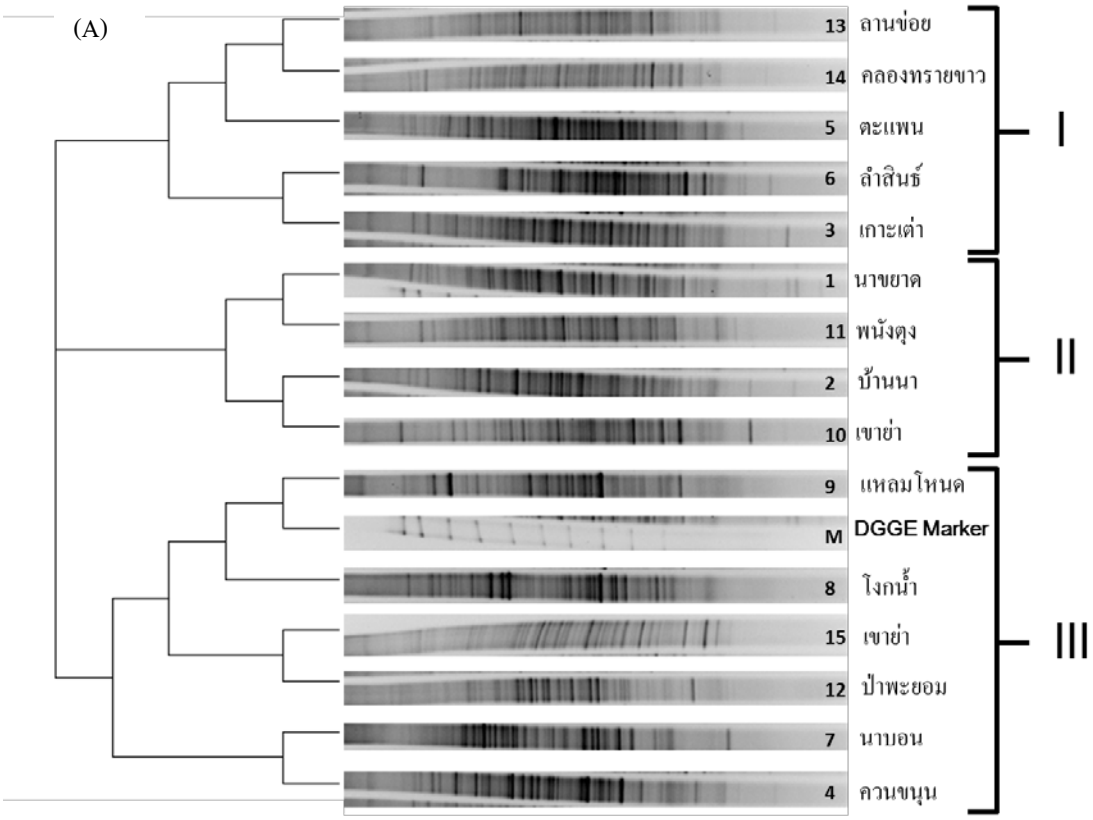
ตารางที่ 4.5 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพของปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพจากแหล่งต่างๆ

ตัวอย่าง	pH	อุณหภูมิ (°C)	ความชื้น (ร้อยละ)	แอมโมเนีย (µg/g)	ไนเตรท (µg/g)	ฟอสเฟต (µg/g)	โพแทสเซียม (ร้อยละ)
1. ต. ป่าพะยอม	6.64	32	42.3	121.63	0.513	28.51	1.74
2. ต. เกาะเต่า	6.67	32	33.7	103.07	0.017	20.73	1.27
3. ต. ลานข่อย	7.21	32	54.4	23.35	0.002	15.99	0.19
4. ต. บ้านพร้าว	7.38	32	48.3	57.78	0.023	38.37	0.73
5. ต. พนางตุง	8.36	32	31.7	74.39	0.007	7.39	0.59
7. ต. ควนขนุน	8.69	32	37.9	3,088.14	0.240	26.13	2.21
8. ต. นาขยาด	7.26	30	11.8	33.59	0.640	40.91	0.74
9. ต. ตะแพน	6.75	32	32.6	2,765.23	0.466	16.55	2.57
10. ต. เขาย่า	7.94	32	46.3	65.44	0.014	22.36	1.25
11. ต. ปรางหมู่	8.87	31	54.12	87.91	0.567	124.47	0.90
12. ต. ร่มเมือง	7.82	31	17.1	2,976.92	0.483	17.12	1.72
13. ต. ลำสินธุ์	6.85	32	44.7	24.98	0.011	37.92	0.76
14. ต. บ้านนา	6.09	31	30.2	14.95	0.024	51.13	0.45
15. ต. กงหรา	8.16	32	4.09	991.94	1.012	84.40	1.16
16. ต. คลองทรายขาว	6.98	31	41.23	19.01	6.00	0.02	0.47
17. ต. หานโพธิ์	7.02	31	11.06	145.06	0.17	11.51	0.55
18. ต. ตะโหมด	9.00	32	13.27	738.46	16.76	35.00	1.09
19. ต. หนองธง	9.39	32	13.04	918.68	11.19	38.16	1.35
20. ต. หารเทา	8.70	32	1.19	2,838.10	0.366	18.27	0.85
21. ต. เกาะหมาก	8.33	32	11.00	12,556.78	20.98	45.47	1.44

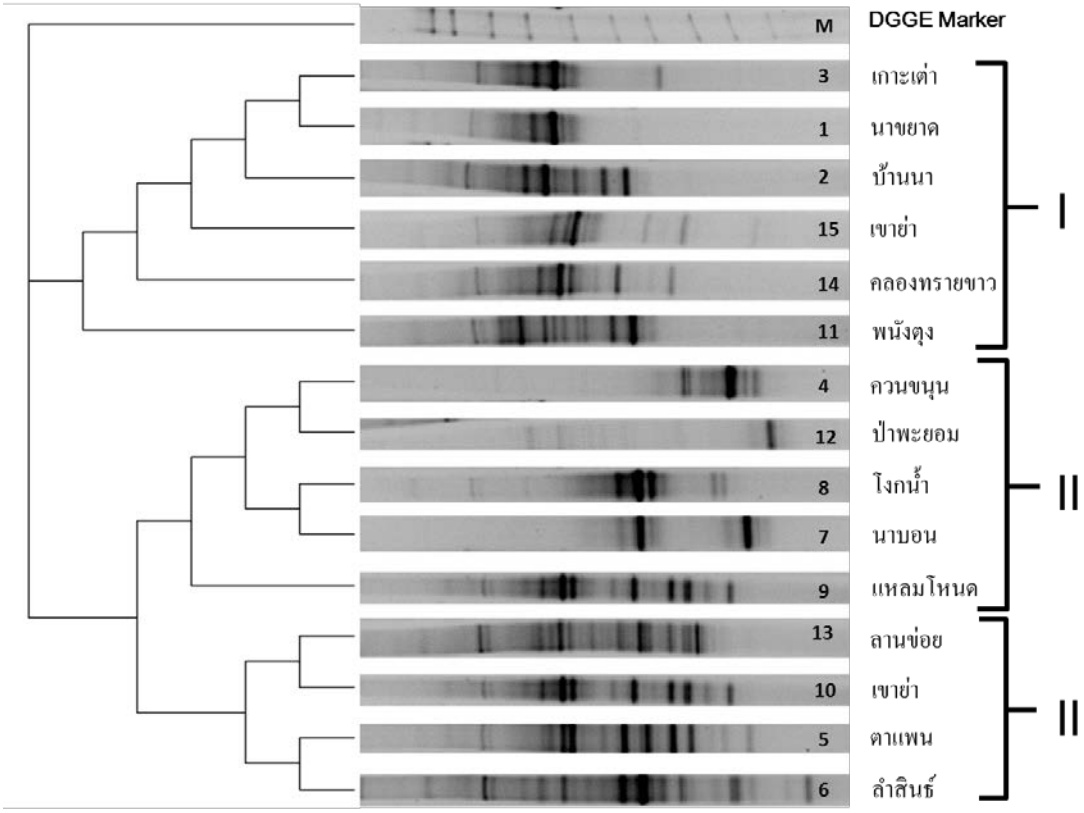
4.3 การศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพของปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ โดยการเปรียบเทียบโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์ในปุ๋ยหมัก ด้วยเทคนิค DGGE

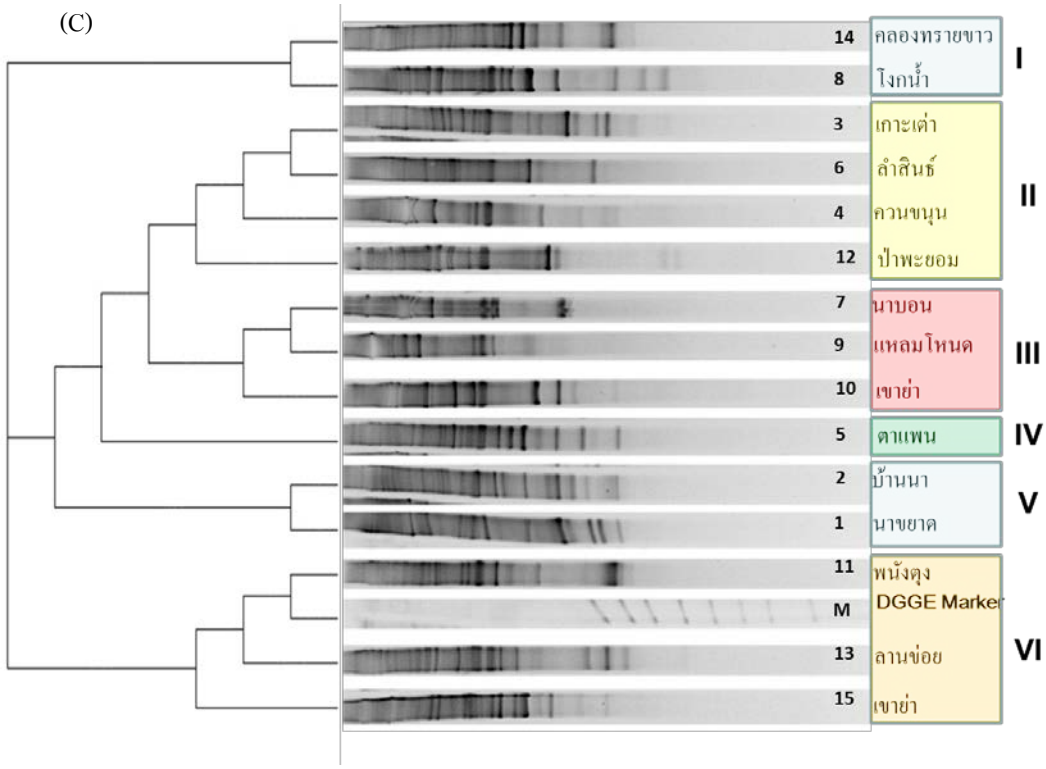
จากการเปรียบเทียบรูปแบบของสารพันธุกรรมของกลุ่มจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค DGGE ของปุ๋ยหมักจำนวน 16 ชนิด สามารถแบ่งปุ๋ยหมักตามความเหมือนของโครงสร้างประชากรแบคทีเรียได้สามกลุ่ม (ภาพที่ 4.2A) กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยปุ๋ยหมักจาก ลานข่อย คลองทรายขาว ตะแพน ลำสินธ์ เกาะเตา ซึ่งเด่นด้วยแบคทีเรียในกลุ่ม Betaproteobacteria Bacillus และ Clostridium กลุ่มที่ 2 นาขยาด พนังตุง เขาย่า บ้านนา แหลมโหนด ซึ่งเด่นด้วยแบคทีเรียในกลุ่ม Thiorhodococcus Clostridium Betaproteobacteria และ Gammaproteobacteria กลุ่มที่ 3 โงกน้ำ เขาย่า ป่าพะยอม นาบอน ควนขนุน ซึ่งเด่นด้วยแบคทีเรียในกลุ่ม Actinobacteria Bacillus และ Clostridium โครงสร้างประชากรแบคทีเรียที่สอดคล้องกับปุ๋ยหมักคุณภาพดีคือกลุ่มที่สามประกอบด้วย Actinobacteria Bacillus และ Clostridium (Ishii *et al*., 2000) โครงสร้างประชากรจุลินทรีย์ในปุ๋ยหมักไม่มีความสัมพันธ์กับชนิดของหัวเชื้อที่ใช้ในการผลิต จากการศึกษาเบื้องต้นแบ่งปุ๋ยหมักตามชนิดการใช้ของหัวเชื้อที่ใช้ในการผลิตในการผลิตได้เป็นสามกลุ่ม คือ กลุ่มที่ผลิตหัวเชื้อเอง (ต. ป่าพะยอม ต. บ้านพร้าว ต. ตะแพน ต. เกาะหมาก) กลุ่มใช้หัวเชื้อจากสถานีพัฒนาที่ดิน คือ พด. 1 2 และ 3 (ต. เกาะเต่า ต. ลานข่อย ต. เขาย่า ต. ปรางหมู่ ต. ร่มเมือง ต. กงหรา ต. คลองทรายขาว ต. ชะรัด ต. สมหวัง ต. คลองเฉลิม ต. หานโพธิ์ ต. ตะโหมด ต. ควนขนุน (อ. เขาชัยสน) ต. นาปะขอ) และ กลุ่มที่ใช้ หัวเชื้อ EM (ต. แหลมโตนด ต. ควนขนุน (อ. ควนขนุน) ต. นาขยาด ต. ปรางหมู่ ต. หนองธง ต. หารเทา)

โครงสร้างประชากรอาเคียของปุ๋ยหมักจำนวน 16 ชนิด สามารถแบ่งปุ๋ยหมักตามความเหมือนของโครงสร้างประชากรอาเคียได้สามกลุ่ม (ภาพที่ 4.2B) กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยปุ๋ยหมักจาก เกาะเตา นาขยาด บ้านนา เขาย่า คลองทรายขาว พนังตุง ซึ่งเด่นด้วยอาเคียในกลุ่ม Thermoprotei กลุ่มที่ 2 ควนขนุน ป่าพะยอม โงกน้ำ นาบอน ซึ่งเด่นด้วยอาเคียในกลุ่ม Halobacteria Thermoprotei และ Methanomicrobia กลุ่มที่ 3 แหลมโหนด ลานข่อย เขาย่า ตาแพน ลำสินธ์ ซึ่งเด่นด้วยอาเคียในกลุ่ม Methanomicrobia และ Thermoprotei


(A)
13 ลานข่อย
14 คลองทรายขาว
5 ตะแพน
6 ลำสินธ์
3 เกาะเต่า
1 นาขยาด
11 พนังตุง
2 บ้านนา
10 เขาย่า
9 แหลมโหนด
M DGGE Marker
8 โงกน้ำ
15 เขาย่า
12 ป่าพะยอม
7 นาบอน
4 ควนขนุน
I
II
III

(B)


M
DGGE Marker
3
เกาะเต่า
1
นาขยาด
2
บ้านนา
15
เขาย่า
14
คลองทรายขาว
11
พนังตุง
I
4
ควนขนุน
12
ป่าพะยอม
8
โงกน้ำ
7
นาบอน
9
แหลมโหนด
II
13
ลานข่อย
10
เขาย่า
5
ตาแพน
6
ลำสินธ์
II



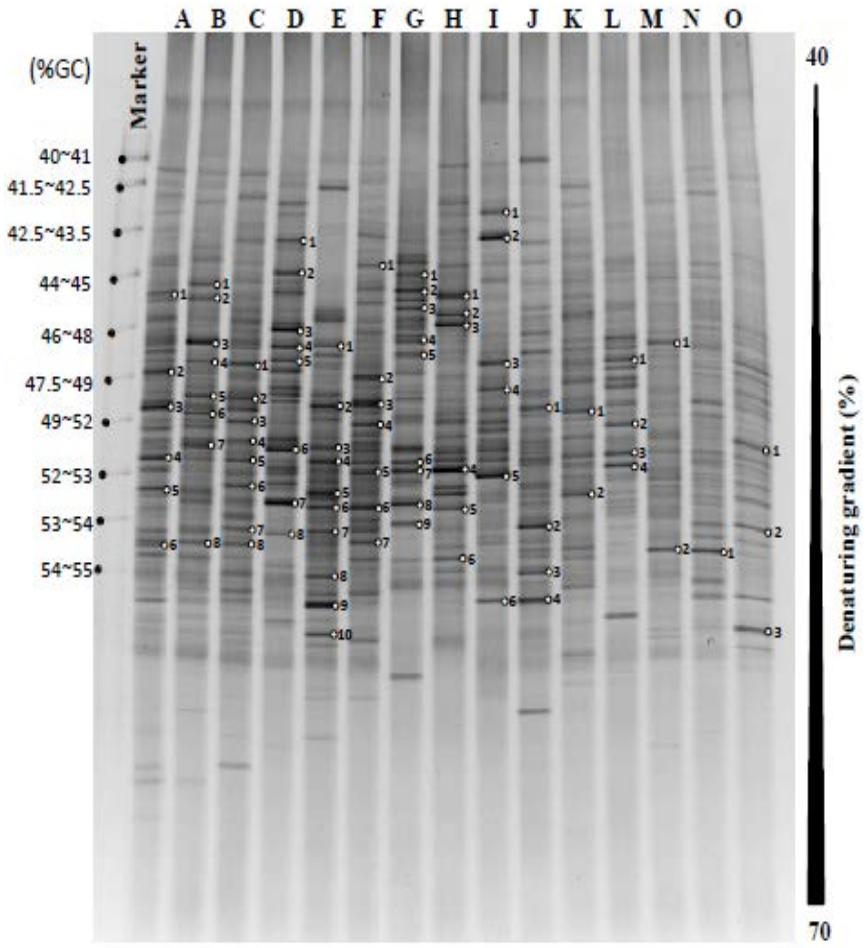
ภาพที่ 4.2 การเปรียบเทียบความเหมือนของโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์ในปุ๋ยหมักแต่ละชนิด (A) โครงสร้างประชากรแบคทีเรีย (B) โครงสร้างประชากรอาเคีย (C) โครงสร้างประชากรยูคาเรีย

โครงสร้างประชากรยูคารีโอตของปุ๋ยหมักจำนวน 16 ชนิด สามารถแบ่งปุ๋ยหมักตามความเหมือนของโครงสร้างประชากรอาเคียได้หกกลุ่ม (ภาพที่ 4.2B) กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยปุ๋ยหมักจากคลองทรายขาว และ โงกน้ำ ซึ่งเด่นด้วยยูคารีโอตในกลุ่ม กลุ่มที่ 2 เกาะเตา ลำสินธ์ ควนขนุน และป่าพะยอม ซึ่งเด่นด้วยยูคารีโอตในกลุ่ม กลุ่มที่ 3 นาบอน แหลมโหนด เขาย่า ซึ่งเด่นด้วยยูคารีโอตในกลุ่ม กลุ่มที่ 4 ตาแพน ซึ่งเด่นด้วยยูคารีโอตในกลุ่ม กลุ่มที่ 5 บ้านนา และ นาขยาด ซึ่งเด่นด้วยยูคารีโอตในกลุ่ม กลุ่มที่ 6 พนังตุง ลานข่อย และ เขาย่า ซึ่งเด่นด้วยยูคารีโอตในกลุ่ม

4.2.1 โครงสร้างประชากรแบคทีเรียในปุ๋ยหมัก

ปุ๋ยหมักจากแหล่งผลิตนาบอนประกอบด้วยด้วยแบคทีเรีย Betaproteobacteria Gammaproteobacteria Clostridia และ Acidobacteria_Gp3 เด่นด้วยแบคทีเรียในกลุ่ม Clostridia และ Acidobacteria_Gp3 ปุ๋ยหมักจากแหล่งผลิตบ้านนาประกอบด้วยด้วยแบคทีเรีย Betaproteobacteria Gammaproteobacteria Clostridia และ Alphaproteobacteria เด่นด้วยแบคทีเรีย

ในกลุ่ม Gammaproteobacteria และ Alphaproteobacteria ปุ๋ยหมักจากแหล่งผลิตเกาะเตาประด้วย ด้วยแบคทีเรีย Betaproteobacteria Gammaproteobacteria Clostridia Acidobacteria_Gp3 และ Alphaproteobacteria เด่นด้วยแบคทีเรียในกลุ่ม Gammaproteobacteria และ Alphaproteobacteria



ภาพที่ 4.3 แสดงโครงสร้างประชากรแบคทีเรียในปุ๋ยหมักจากแหล่งผลิตต่างในจังหวัดพัทลุง A (นาบอน) B (บ้านนา) C (เกาะเตา) D (ควนขนุน) E (ตะแพน) F (ลำสินธ์) G (นาบอน) H (โงกน้ำ) I (แหลมโหนด) J (เขาย่า) K (พะนังตุง) L (ป่าพะยอม) M (ลานข่อย) N (คลองทรายขาว) O (เขาย่า)

ตารางที่ 4.6 แสดงผลการการเปรียบเทียบลำดับทางพันธุกรรมของแบคทีเรียแต่ละแบนที่ตัดจาก DGGE เจลกับฐานข้อมูล RDP

ปุ๋ยหมัก	Band no.	Closest relative	Coverage (%)	Identity (%)	Accession no.	Phylogenetic affiliation	
A	A-1	Uncultured beta proteobacterium	97	81	GQ863474	Proteobacteria	Betaproteobacteria
	A-2	Uncultured beta proteobacterium	96	77	GQ863474	Proteobacteria	Betaproteobacteria
	A-3	Uncultured bacterium	82	83	JF728107	Proteobacteria	Gammaproteobacteria
	A-4	Uncultured Clostridium sp.	81	87	FR682897	Firmicutes	Clostridia
	A-5	Uncultured Acidobacteria bacterium	84	97	HQ397139	Acidobacteria	Acidobacteria_Gp3
	A-6	Uncultured bacterium	80	85	EU225876	Firmicutes	Clostridia
B	B-1	Uncultured beta proteobacterium	97	80	GQ863474	Proteobacteria	Betaproteobacteria
	B-2	Uncultured Clostridium sp.	81	83	FR682897	Firmicutes	Clostridia
	B-3	Thiorhodococcus bheemlicus	98	95	FN824811	Proteobacteria	Gammaproteobacteria
	B-4	Clostridium thermopalmarium	96	94	EF639852	Firmicutes	Clostridia
	B-5	Rhodopseudomonas sp.	83	91	GU370103	Proteobacteria	Alphaproteobacteria
	B-6	Uncultured Clostridium sp.	100	87	FR682897	Firmicutes	Clostridia
	B-7	Clostridium thermopalmarium	97	94	EF639852	Firmicutes	Clostridia
	B-8	Uncultured beta proteobacterium	97	88	GQ863474	Proteobacteria	Betaproteobacteria

ตารางที่ 4.6 แสดงผลการการเปรียบเทียบลำดับทางพันธุกรรมของแบคทีเรียแต่ละแบนที่ตัดจาก DGGE เจลกับฐานข้อมูล RDP (ต่อ)

ปุ๋ยหมัก	Band no.	Closest relative	Coverage (%)	Identity (%)	Accession no.	Phylogenetic affiliation	
C	C-1	Clostridium thermopalmarium	96	94	EF639852	Firmicutes	Clostridia
	C-2	Rhodopseudomonas sp.	83	91	GU370103	Proteobacteria	Alphaproteobacteria
	C-3	Uncultured Clostridium sp.	84	93	FR682897	Firmicutes	Clostridia
	C-4	Uncultured bacterium	84	91	HQ496056	Proteobacteria	Alphaproteobacteria
	C-5	Uncultured Clostridium sp.	81	87	FR682897	Firmicutes	Clostridia
	C-6	Uncultured Acidobacteria bacterium	84	97	HQ397139	Acidobacteria	Acidobacteria_Gp3
	C-7	Uncultured bacterium	97	92	GQ351376	Proteobacteria	Alphaproteobacteria
	C-8	Uncultured beta proteobacterium	97	96	GQ863473	Proteobacteria	Betaproteobacteria
D	D-1	Uncultured beta proteobacterium	94	91	GQ863473	Proteobacteria	Betaproteobacteria
	D-2	Uncultured Clostridium sp.	97	91	FR682897	Firmicutes	Clostridia
	D-3	Uncultured alpha proteobacterium	81	93	HM534233	Proteobacteria	Alphaproteobacteria
	D-4	Uncultured alpha proteobacterium	81	93	HM534233	Proteobacteria	Alphaproteobacteria
	D-5	Uncultured Clostridium sp.	95	83	FR682897	Firmicutes	Clostridia
	D-6	Halomonas hydrothermalis	97	99	JQ810979	Proteobacteria	Gammaproteobacteria

ตารางที่ 4.6 แสดงผลการการเปรียบเทียบลำดับทางพันธุกรรมของแบคทีเรียแต่ละแบนที่ตัดจาก DGGE เจลกับฐานข้อมูล RDP (ต่อ)

ปุ๋ยหมัก	Band no.	Closest relative	Coverage (%)	Identity (%)	Accession no.	Phylogenetic affiliation	
D	D-7	Uncultured Clostridium sp.	89	90	FR682897	Firmicutes	Clostridia
	D-8	Uncultured marine bacterium	76	94	FM210397	Proteobacteria	Alphaproteobacteria
	D-9	Clostridiales bacterium	84	98	AB678709	Firmicutes	Clostridia
E	E-1	Uncultured gamma proteobacterium	100	91	HQ433383	Proteobacteria	Gammaproteobacteria
	E-2	Uncultured bacterium	90	90	JF340740	Bacteroidetes	Bacteroidetes
	E-3	Uncultured beta proteobacterium	97	94	GQ863474	Proteobacteria	Betaproteobacteria
	E-4	Uncultured beta proteobacterium	98	90	GQ863473	Proteobacteria	Betaproteobacteria
	E-5	Uncultured beta proteobacterium	80	80	GQ863474	Proteobacteria	Betaproteobacteria
	E-6	Uncultured soil bacterium	51	97	GQ495264	Acidobacteria	Acidobacteria
	E-7	Uncultured bacterium	85	86	GQ351371	Proteobacteria	Alphaproteobacteria
	E-8	Uncultured bacterium	93	98	JF829537	Gemmatimonadetes	Gemmatimonadetes
	E-9	Uncultured bacterium	82	85	JQ337734	Gemmatimonadetes	
	E-10	Uncultured beta proteobacterium	97	90	GQ863473	Proteobacteria	Betaproteobacteria
F	F-1	Uncultured bacterium	82	88	AB703572	Thermotogae	Thermotogae
	F-2	Uncultured alpha proteobacterium	100	90	EU311586	Proteobacteria	Alphaproteobacteria

ตารางที่ 4.6 แสดงผลการการเปรียบเทียบลำดับทางพันธุกรรมของแบคทีเรียแต่ละแบนที่ตัดจาก DGGE เจลกับฐานข้อมูล RDP (ต่อ)

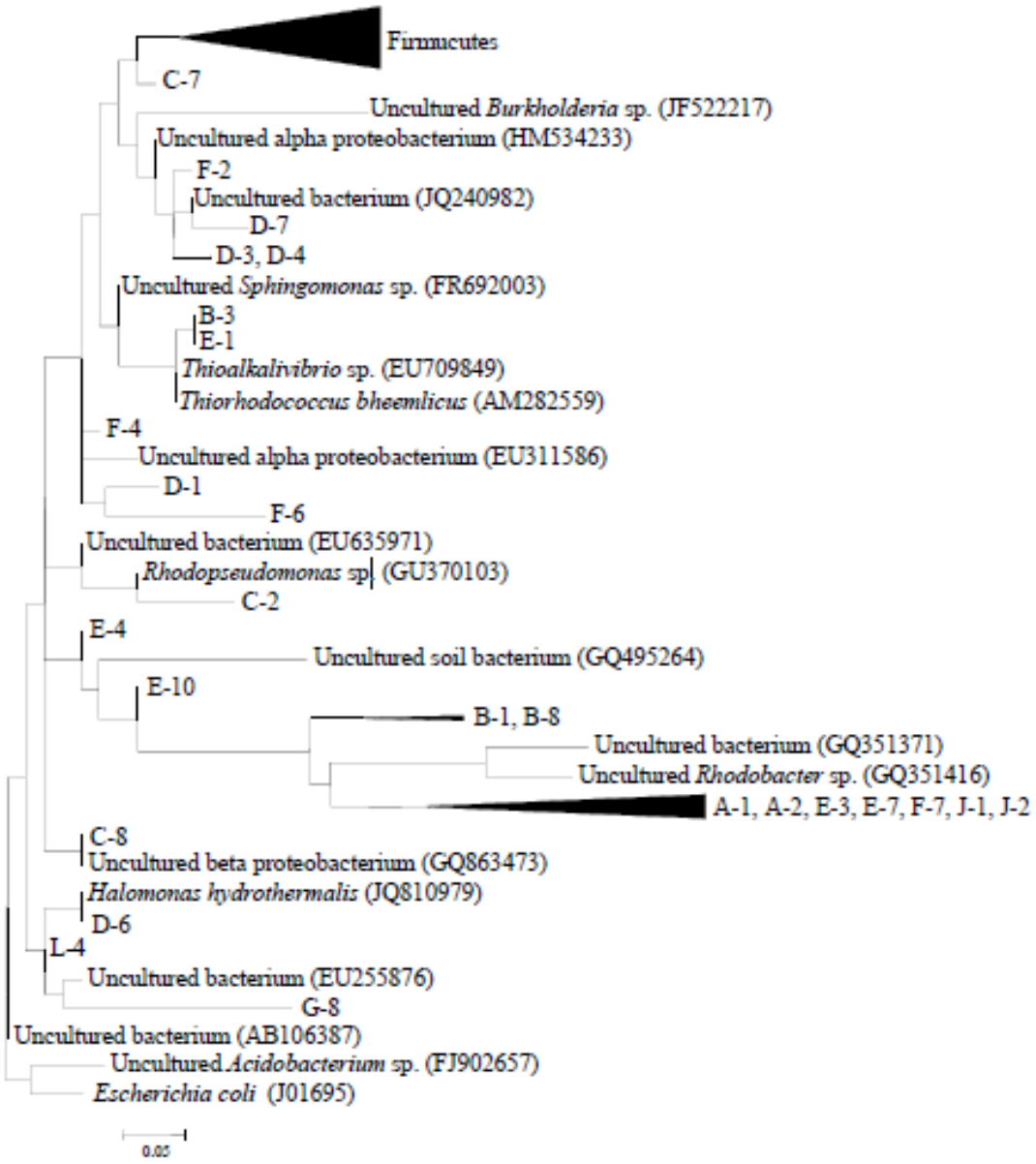
ปุ๋ยหมัก	Band no.	Closest relative	Coverage (%)	Identity (%)	Accession no.	Phylogenetic affiliation	
F	F-3	Uncultured bacterium	100	99	HQ120825	Firmicutes	Bacilli
	F-4	Uncultured alpha proteobacterium	95	89	EU311586	Proteobacteria	Alphaproteobacteria
	F-5	Uncultured Clostridium sp.	88	92	FR682897	Firmicutes	Clostridia
	F-6	Uncultured beta proteobacterium	97	86	GQ863473	Proteobacteria	Betaproteobacteria
	F-7	Uncultured bacterium	86	80	EU134898	Proteobacteria	Betaproteobacteria
G	G-1	Uncultured Bacillus sp.	98	81	EF674516	Firmicutes	Bacillales
	G-2	Uncultured bacterium	100	98	HQ120825	Firmicutes	Bacilli
	G-3	Uncultured bacterium	97	82	AY387366	Firmicutes	Bacilli
	G-4	Uncultured bacterium	98	82	GQ910991	Firmicutes	Bacilli
	G-5	Uncultured Bacillus sp.	98	90	EF370638	Firmicutes	Bacillales
	G-6	Bacillus sp.	99	86	JN162421	Firmicutes	Bacillales
	G-7	Bacillus sp.	100	93	FM180510	Firmicutes	Bacillales
	G-8	Uncultured beta proteobacterium	86	81	GQ863474	Proteobacteria	Betaproteobacteria
	G-9	Uncultured bacterium	97	80	JN707722	Firmicutes	Bacilli

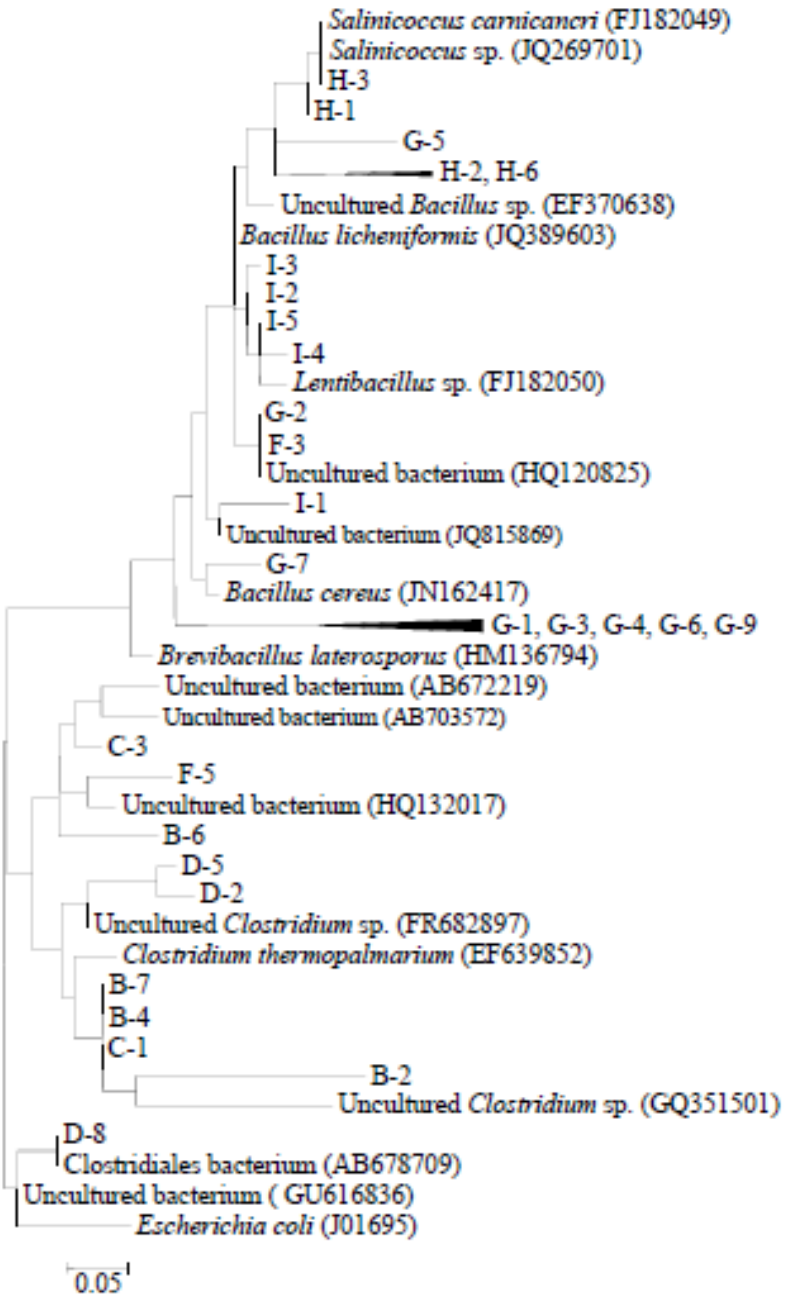
ตารางที่ 4.6 แสดงผลการการเปรียบเทียบลำดับทางพันธุกรรมของแบคทีเรียแต่ละแบนที่ตัดจาก DGGE เจลกับฐานข้อมูล RDP (ต่อ)

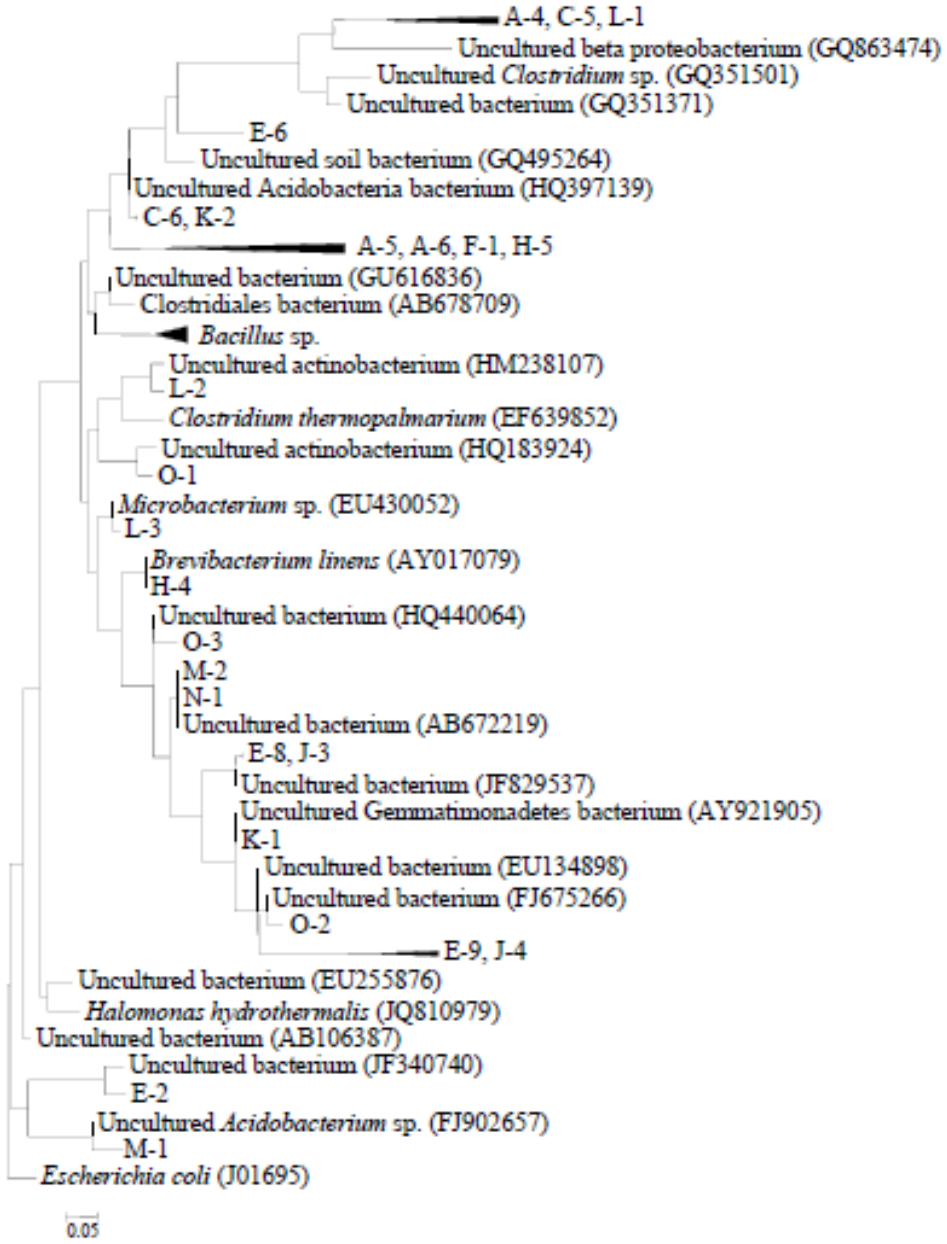
ปุ๋ยหมัก	Band no.	Closest relative	Coverage (%)	Identity (%)	Accession no.	Phylogenetic affiliation	
H	H-1	Salinicoccus carnicancri	97	98	FJ182049	Firmicutes	Bacillales
	H-2	Uncultured Bacillus sp.	76	90	GQ910997	Firmicutes	Bacillales
	H-3	Salinicoccus carnicancri	100	100	FJ182049	Firmicutes	Bacillales
	H-4	Brevibacterium sp.	87	100	AB698783	Actinobacteria	Actinobacteridae
	H-5	Brevibacterium sp.	73	93	AB698783	Actinobacteria	Actinobacteridae
	H-6	Bacillales bacterium	81	85	JQ259774	Firmicutes	Bacillales
I	I-1	Uncultured Bacillus sp.	100	95	JF411326	Firmicutes	Bacillales
	I-2	Bacillus licheniformis	98	96	JQ389603	Firmicutes	Bacillales
	I-3	Bacillus licheniformis	97	96	JQ389603	Firmicutes	Bacillales
	I-4	Bacillus sp.	91	96	FJ355964	Firmicutes	Bacillales
	I-5	Lentibacillus kapialis	97	97	AB231905	Firmicutes	Bacillales
J	J-1	Uncultured beta proteobacterium	97	84	GQ863474	Proteobacteria	Betaproteobacteria
	J-2	Uncultured bacterium	85	86	GQ351371	Proteobacteria	Alphaproteobacteria
	J-3	Uncultured bacterium	93	98	JF829537	Gemmatimonadetes	Gemmatimonadetes
	J-4	Uncultured bacterium	82	85	JQ337734	Gemmatimonadetes	Gemmatimonadetes

ตารางที่ 4.6 แสดงผลการการเปรียบเทียบลำดับทางพันธุกรรมของแบคทีเรียแต่ละแบนที่ตัดจาก DGGE เจลกับฐานข้อมูล RDP (ต่อ)

ปุ๋ยหมัก	Band no.	Closest relative	Coverage (%)	Identity (%)	Accession no.	Phylogenetic affiliation	
K	K-1	Uncultured Gemmatimonadetes bacterium	97	97	AY921905	Gemmatimonadetes	Gemmatimonadetes
	K-2	Uncultured Acidobacteria bacterium	84	97	HQ397139	Acidobacteria	Acidobacteria_Gp3
L	L-1	Uncultured bacterium	100	81	GQ351372	Actinobacteria	Actinobacteria
	L-2	Uncultured actinobacterium	87	95	HM238107	Actinobacteria	Actinobacteria
	L-3	Microbacterium sp.	86	96	EU430052	Actinobacteria	Actinomycetales
	L-4	Uncultured Bradyrhizobium sp.	82	99	DQ303358	Proteobacteria	Alphaproteobacteria
M	M-1	Uncultured Acidobacteria bacterium	83	92	JF829432	Acidobacteria	Acidobacteria_Gp10
	M-2	Uncultured Gemmatimonas sp.	96	100	HM438460	Gemmatimonadetes	Gemmatimonadales
N	N-1	Uncultured Gemmatimonas sp.	96	100	HM438460	Gemmatimonadetes	Gemmatimonadales
O	O-1	Uncultured actinobacterium	96	95	HQ183924	Actinobacteria	Actinobacteria
	O-2	Uncultured Gemmatimonadetes bacterium	100	93	AM935787	Gemmatimonadetes	Gemmatimonadales
	O-3	Uncultured Gemmatimonas sp.	97	95	HM447908	Gemmatimonadetes	Gemmatimonadales

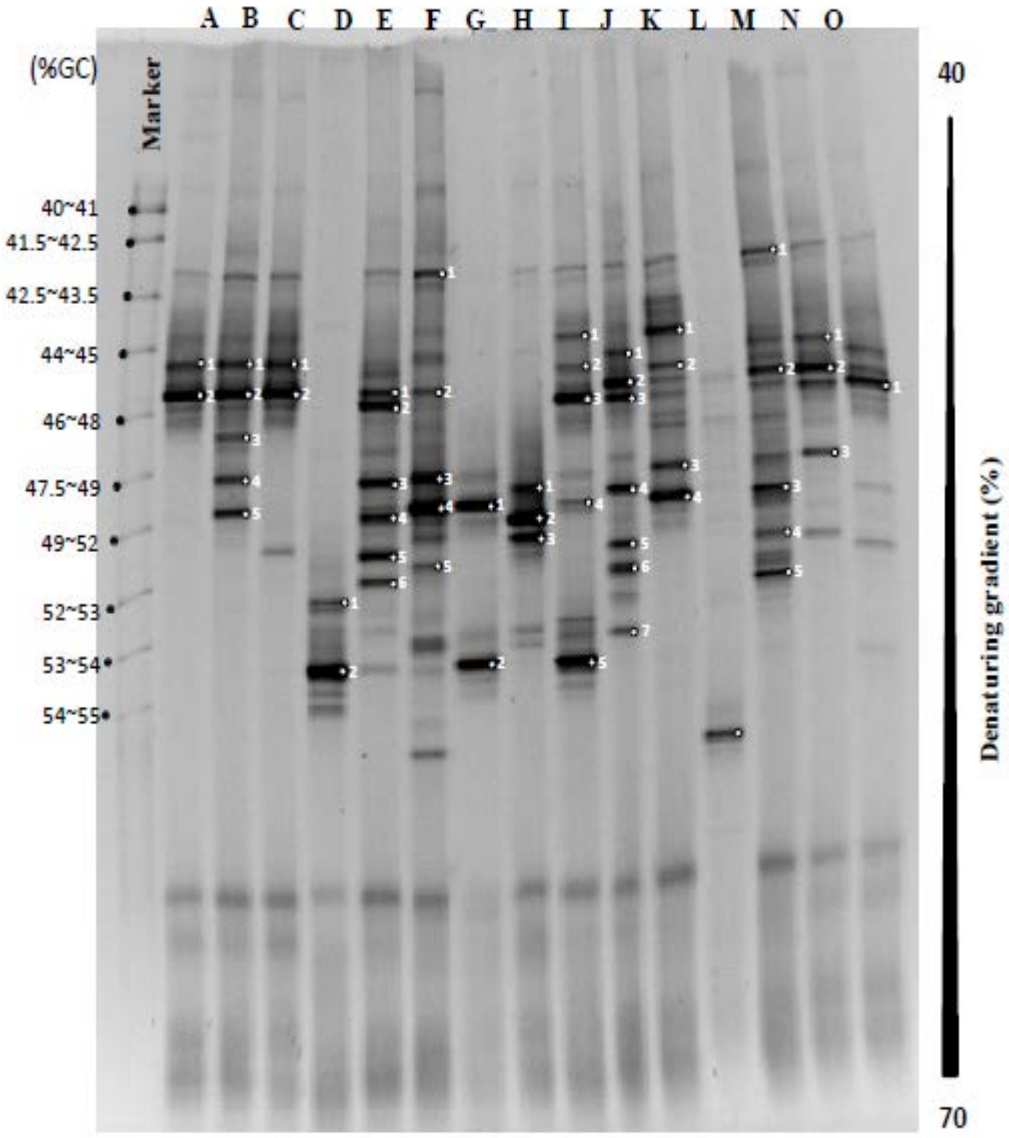

Firmicutes
C-7
Uncultured *Burkholderia* sp. (JF522217)
Uncultured alpha proteobacterium (HM534233)
F-2
Uncultured bacterium (JQ240982)
D-7
D-3, D-4
Uncultured *Sphingomonas* sp. (FR692003)
B-3
E-1
Thioalkalivibrio sp. (EU709849)
Thiorhodococcus bheemlicus (AM282559)
F-4
Uncultured alpha proteobacterium (EU311586)
D-1
F-6
Uncultured bacterium (EU635971)
Rhodopseudomonas sp. (GU370103)
C-2
E-4
Uncultured soil bacterium (GQ495264)
E-10
B-1, B-8
Uncultured bacterium (GQ351371)
Uncultured *Rhodobacter* sp. (GQ351416)
A-1, A-2, E-3, E-7, F-7, J-1, J-2
C-8
Uncultured beta proteobacterium (GQ863473)
Halomonas hydrothermalis (JQ810979)
D-6
L-4
Uncultured bacterium (EU255876)
G-8
Uncultured bacterium (AB106387)
Uncultured *Acidobacterium* sp. (FJ902657)
Escherichia coli (J01695)
0.05


Salinicoccus carnicancri (FJ182049)
Salinicoccus sp. (JQ269701)
H-3
H-1
G-5
H-2, H-6
Uncultured *Bacillus* sp. (EF370638)
Bacillus licheniformis (JQ389603)
I-3
I-2
I-5
I-4
Lentibacillus sp. (FJ182050)
G-2
F-3
Uncultured bacterium (HQ120825)
I-1
Uncultured bacterium (JQ815869)
G-7
Bacillus cereus (JN162417)
G-1, G-3, G-4, G-6, G-9
Brevibacillus laterosporus (HM136794)
Uncultured bacterium (AB672219)
Uncultured bacterium (AB703572)
C-3
F-5
Uncultured bacterium (HQ132017)
B-6
D-5
D-2
Uncultured *Clostridium* sp. (FR682897)
Clostridium thermopalmarium (EF639852)
B-7
B-4
C-1
B-2
Uncultured *Clostridium* sp. (GQ351501)
D-8
Clostridiales bacterium (AB678709)
Uncultured bacterium (GU616836)
Escherichia coli (J01695)
0.05



ภาพที่ 4.4 Phylogenetic tree ของแบคทีเรียที่พบในปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพที่ผลิตในจังหวัดพัทลุง

4.2.2 โครงสร้างประชากรอาเคียในปุ๋ยหมัก



ภาพที่ 4.5 แสดงโครงสร้างประชากรอาเคียในปุ๋ยหมักจากแหล่งผลิตต่างในจังหวัดพัทลุง A (นาบอน) B (บ้านนา) C (เกาะเตา) D (ควนขนุน) E (ตะแพน) F (ลำสินธ์) G (นาบอน) H (โงกน้ำ) I (แหลมโหนด) J (เขาย่า) K (พะนังตุง) L (ป่าพะยอม) M (ลานข่อย) N (คลองทรายขาว) O (เขาย่า)

ตารางที่ 4.7 แสดงผลการการเปรียบเทียบลำดับทางพันธุกรรมของอาเคียแต่ละแบนที่ตัดจาก DGGE เจลกับฐานข้อมูล RDP

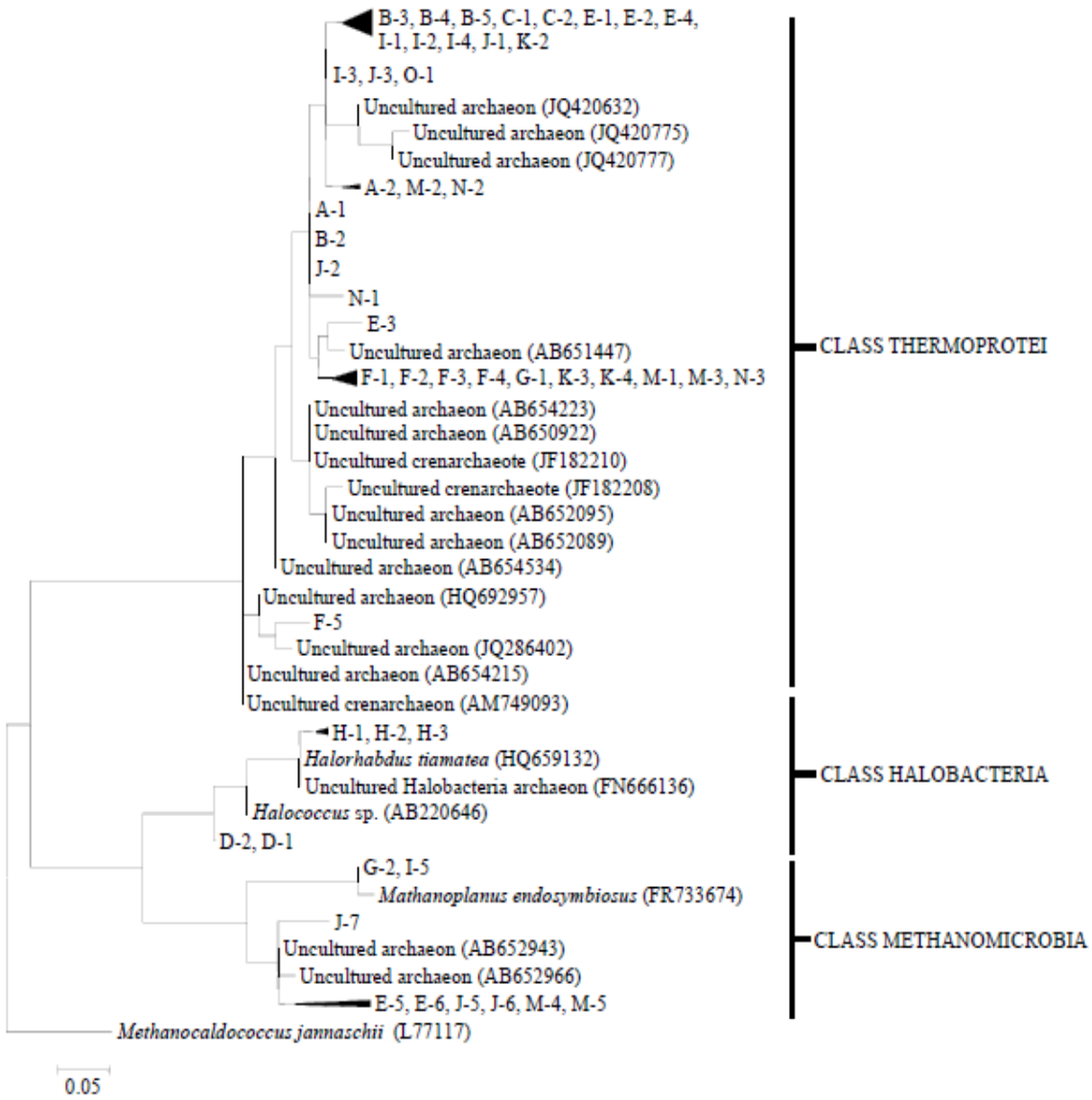
	Band no.	Closest relative	Identity (%)	Accession no.	Phylogenetic affiliation
A	A-1	Uncultured archaeon	94	JQ420632.1	Thermoprotei
	A-2	Uncultured archaeon	94	JQ420632.1	Thermoprotei
B	B-1	Uncultured crenarchaeote	95	FJ182210.1	Thermoprotei
	B-2	Uncultured crenarchaeote	95	FJ182210.1	Thermoprotei
	B-3	Uncultured archaeon clone	93	JQ420777.1	Thermoprotei
	B-4	Uncultured archaeon clone	92	JQ420777.1	Thermoprotei
	B-5	Uncultured archaeon	94	AB650922.1	Thermoprotei
C	C-1	Uncultured archaeon	92	JQ420775.1	Thermoprotei
	C-2	Uncultured archaeon	93	JQ420775.1	Thermoprotei
D	D-1	Uncultured haloarchaeon	83	FJ746880.1	Halobacteria
	D-2	*Halococcus* sp.	94	AB220646.1	Halobacteria
E	E-1	Uncultured crenarchaeote	93	FJ182208.1	Thermoprotei
	E-2	Uncultured archaeon	93	AB652095.1	Thermoprotei
	E-3	Uncultured archaeon	89	AB653213.1	Thermoprotei
	E-4	Uncultured archaeon clone	92	JQ420777.1	Thermoprotei
	E-5	Uncultured archaeon	94	AB652943.1	Methanomicrobia
	E-6	Uncultured archaeon	83	AB652966.1	Methanomicrobia
F	F-1	Uncultured archaeon	96	AB651447.1	Thermoprotei
	F-2	Uncultured archaeon	91	HQ692957.1	Thermoprotei
	F-3	Uncultured archaeon	88	AB654215.1	Thermoprotei
	F-4	Uncultured archaeon	93	AB654215.1	Thermoprotei
	F-5	Uncultured archaeon	93	JQ286402.1	Thermoprotei
G	G-1	Uncultured archaeon	93	AB654215.1	Thermoprotei
	G-2	*Methanoplanus endosymbiosus*	94	FR733674.1	Methanomicrobia

ตารางที่ 4.7 แสดงผลการการเปรียบเทียบลำดับทางพันธุกรรมของอาเคียแต่ละแบนที่ตัดจาก DGGE เจลกับฐานข้อมูล RDP (ต่อ)

	Band no.	Closest relative	Identity (%)	Accession no.	Phylogenetic affiliation
H	H-1	Halorhabdus tiamatea	94	HQ659132.1	Halobacteria
	H-2	Halorhabdus tiamatea	92	HQ659132.1	Halobacteria
	H-3	Uncultured Halobacteria archaeon	95	FN666136.1	Halobacteria
I	I-1	Uncultured archaeon	90	AB652089.1	Thermoprotei
	I-2	Uncultured archaeon	92	AB652089.1	Thermoprotei
	I-3	Uncultured archaeon	96	AB652089.1	Thermoprotei
	I-4	Uncultured archaeon	84	JQ420777.1	Thermoprotei
	I-5	Methanoplanus endosymbiosus	94	FR733674.1	Methanomicrobia
J	J-1	Uncultured archaeon	94	JQ420632.1	Thermoprotei
	J-2	Uncultured archaeon	96	AB650922.1	Thermoprotei
	J-3	Uncultured archaeon	96	AB652089.1	Thermoprotei
	J-4	Uncultured archaeon	89	AB651447.1	Thermoprotei
	J-5	Uncultured archaeon	95	AB652943.1	Methanomicrobia
	J-6	Uncultured archaeon	83	AB652966.1	Methanomicrobia
	J-7	Uncultured archaeon	94	AB652943.1	Methanomicrobia
K	K-1	Uncultured archaeon	90	AB652089.1	Thermoprotei
	K-2	Uncultured archaeon	90	AB650922.1	Thermoprotei
	K-3	Uncultured archaeon	88	AB654215.1	Thermoprotei
	K-4	Uncultured archaeon	95	AB654223.1	Thermoprotei
L	L-1	Uncultured bacterium	81	GQ351372	Actinobacteria
	L-2	Uncultured actinobacterium	95	HM238107	Actinobacteria
	L-3	Microbacterium sp.	96	EU430052	Actinomycetales
	L-4	Uncultured Bradyrhizobium sp.	99	DQ303358	Alphaproteobacteria

ตารางที่ 4.7 แสดงผลการการเปรียบเทียบลำดับทางพันธุกรรมของอาเคียแต่ละแบนที่ตัดจาก DGGE เจลกับฐานข้อมูล RDP (ต่อ)

	Band no.	**Closest relative**	**Identity (%)**	**Accession no.**	**Phylogenetic affiliation**
M	M-1	Uncultured archaeon	96	AB651447.1	Thermoprotei
	M-2	Uncultured crenarchaeote	91	FJ182210.1	Thermoprotei
	M-3	Uncultured crenarchaeon	94	AM749093.1	Thermoprotei
	M-4	Uncultured archaeon	83	AB652966.1	Methanomicrobia
	M-5	Uncultured archaeon	94	AB652943.1	Methanomicrobia
N	N-1	Uncultured archaeon	95	AB650922.1	Thermoprotei
	N-2	Uncultured crenarchaeote	91	FJ182210.1	Thermoprotei
	N-3	Uncultured archaeon	94	AB654534.1	Thermoprotei
O	O-1	Uncultured crenarchaeote	95	FJ182208.1	Thermoprotei



ภาพที่ 4.6 Phylogenetic tree ของอาเคียที่พบในปุ๋ยหมักผลิตในจังหวัดพัทลุง

4.3 การคัดแยกและคัดกรองสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์

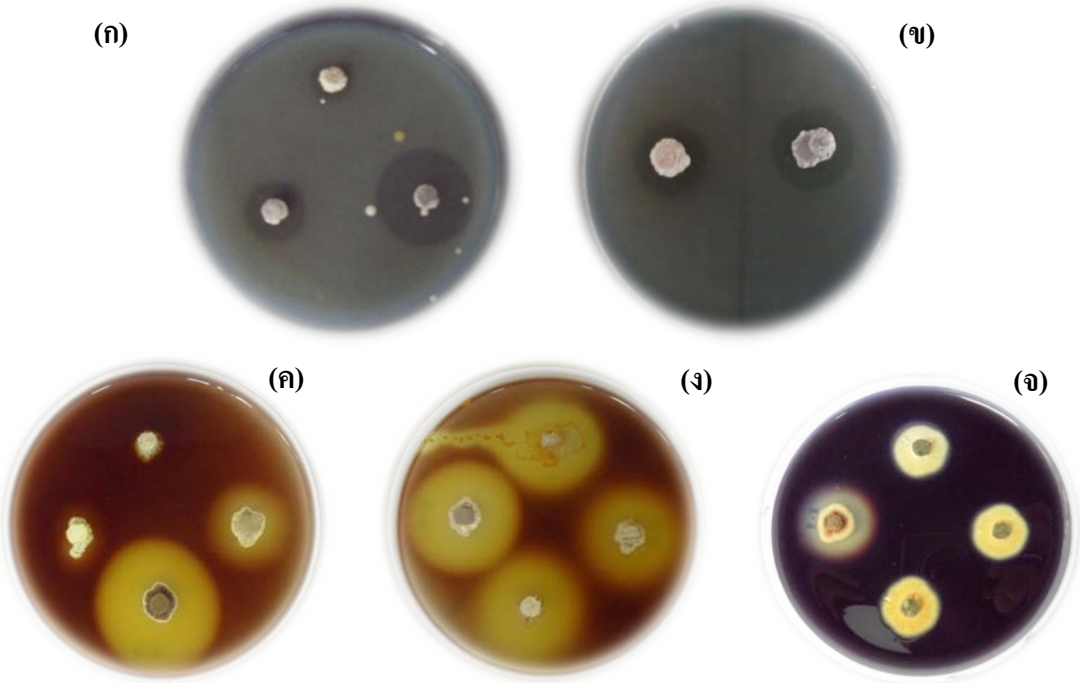
จากการคัดแยกแอคติโนมัยสีทจากตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพจำนวน 21 ตัวอย่าง พบว่า จำนวนแอคติโนมัยสีทในตัวอย่างปุ๋ยมีค่าอยู่ในช่วง 5.0×10^{3} ถึง 1.6×10^{7} cfu/g ซึ่งปริมาณของเชื้อในปุ๋ยขึ้นอยู่กับวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต เช่น การผลิตปุ๋ยหมักชีวภาพจากชานอ้อย พบว่ามีปริมาณแอคติโนมัยสีทประมาณ $2\text{-}3 \times 10^{8}$ cfu/g (Silva *et al.*, 2009) และจากการศึกษาตัวอย่างปุ๋ยหมักที่จำหน่ายในประเทศอียิปต์ ซึ่งผลิตจากพืชและมูลสัตว์ชนิดต่างๆ พบว่ามีจำนวนแอคติโนมัยสีทอยู่ระหว่าง 0.4-2.0

x 10^5 cfu/g (Sabet *et al.,* 2013) หลังจากนั้นคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสีทมาตัวอย่างละ 20 ไอโซเลท รวมทั้งสิ้น 420 ไอโซเลท และนำไปทดสอบความสามารถในการสร้างไฮโดรไลติกเอนไซม์ 4 ชนิด คือ เอนไซม์เซลลูเลส (CMCase และ Avicelase) ไลเปส อะไมเลส และเอนไซม์โปรติเอส (ภาพที่ 4.7) พบว่าสามารถคัดเลือกแอคติโนมัยสีทที่สามารถสร้างเอนไซม์ไลเปสได้จำนวน 98 ไอโซเลท คัดเลือกแอคติโนมัยสีทที่สร้างเอนไซม์โปรติเอสได้จำนวน 200 ไอโซเลต คัดเลือกแอคติโนมัยสีทที่สามารถสร้างอะไมเลสได้จำนวน 81 ไอโซเลท และแอคติโนมัยสีทที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลส (CMCase) ได้จำนวน 73 ไอโซเลท และ เซลลูเลส (Avicelase) ได้จำนวน 144 ไอโซเลท ซึ่งเกณฑ์ในการคัดเลือกจะคัดจากไอโซเลทที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ โดยมีค่าดัชนีเอนไซม์มากกว่า 2

ตารางที่ 4.8 การวิเคราะห์ปริมาณแอคติโนมัยสีทในปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพจากแหล่งต่างๆ

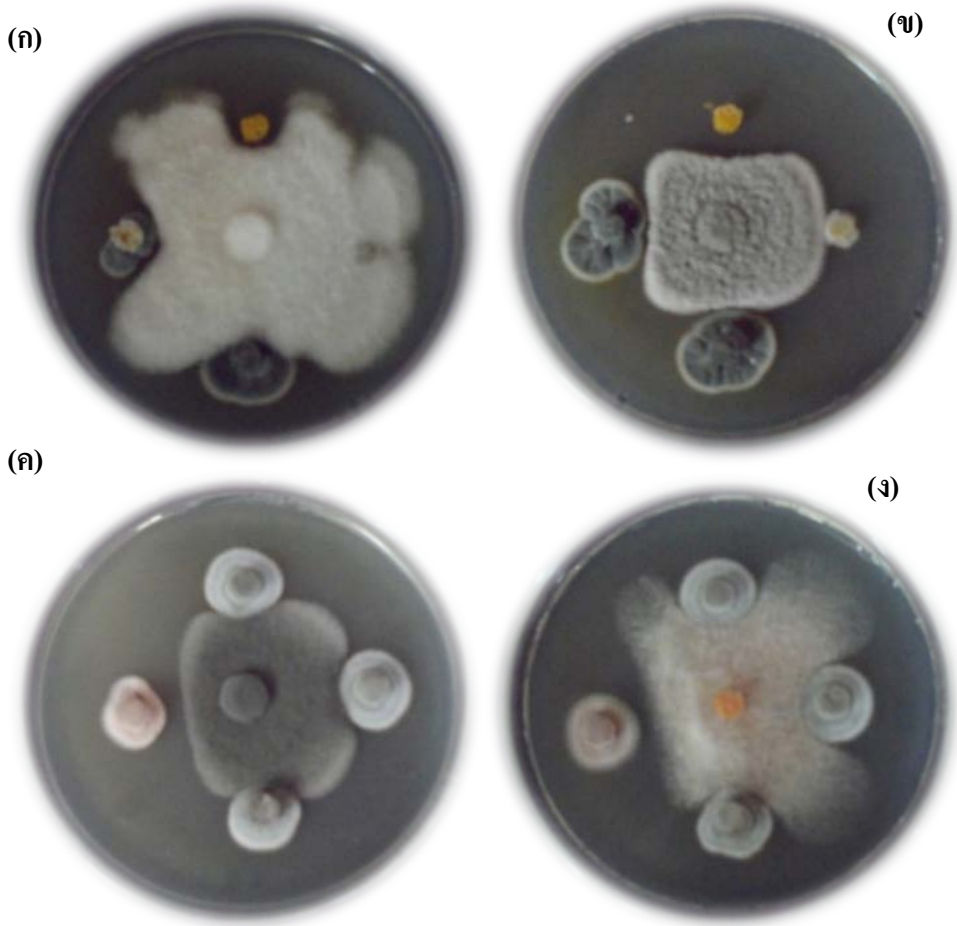
ตัวอย่าง (อำเภอ)	**จำนวนแอคติโนมัยสีท (CFU/g)**
ศรีบรรพรต	1.3 x 10^6
เมือง	1.4 x 10^6
เขาชัยสน	3.2 x 10^5
ตะโหมด	9.6 x 10^5
ป่าบอน	1.3 x 10^6
ปากพะยูน	1.6 x 10^7
ควนขนุน	5 x 10^3
คลองทรายขาว	2.5 x 10^5
ศรีนครินทร์	3.9 x 10^4
ป่าพะยอม	1.6 x 10^4

ภาพที่ 4.7 ลักษณะการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพบนอาหาร SCA จาก อ.ป่าบอน (ก) และ อ.ปากพะยูน (ข)



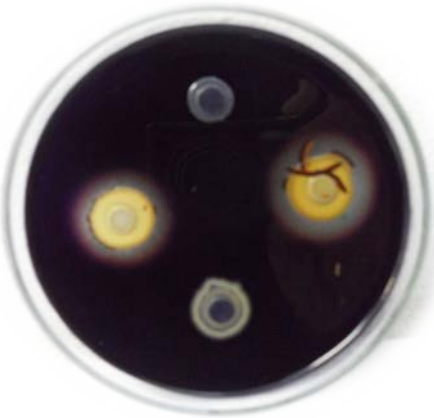
ภาพที่ 4.8 ความสามารถของแอคติโนมัยสีทในการสร้างไฮโดรไลติกเอนไซม์ โปรติเอสบนอาหาร Skimmed milk agar (ก), ไลเปสบนอาหาร tributyrin agar (ข), เซลลูเลส (CMCase) บนอาหาร CMC agar (ค), เซลลูเลส (Avicelase) บนอาหาร Avicel agar (ง) และ อะไมเลสบนอาหาร Starch agar (จ)

จากการศึกษาความสามารถของแอคติโนมัยสีทในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืช 4 ชนิดคือ *Fusarium* sp. *Alternaria* sp. *Curvularia* sp. และ *C. gloeosporioides* (รูปที่ 4.8) พบว่าสามารถคัดเลือกแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราทดสอบได้อย่างน้อย 1 ชนิด จำนวน 209 ไอโซเลท ซึ่งเกณฑ์ในการคัดเลือกจะคัดเลือกจากไอโซเลทที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราทดสอบได้มากกว่าร้อยละ 50

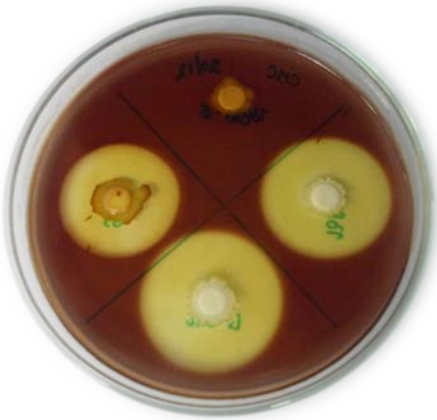


รูปที่ 4.9 ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืชของแอคติโนมัยสีท [*Fusarium* sp. (ก), *Alternaria* sp. (ข), *Curvularia* sp. (ค) และ *C. gloeosporioides* (ง)]

(ก)

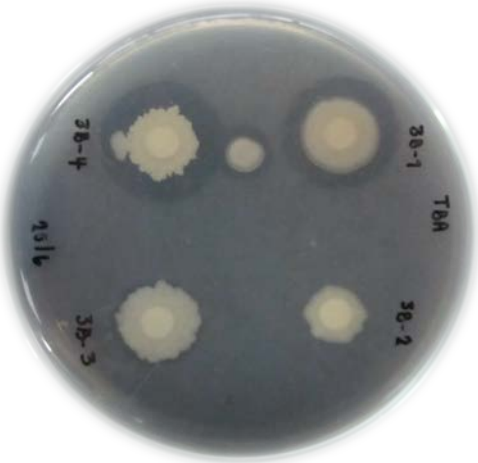


(ข)



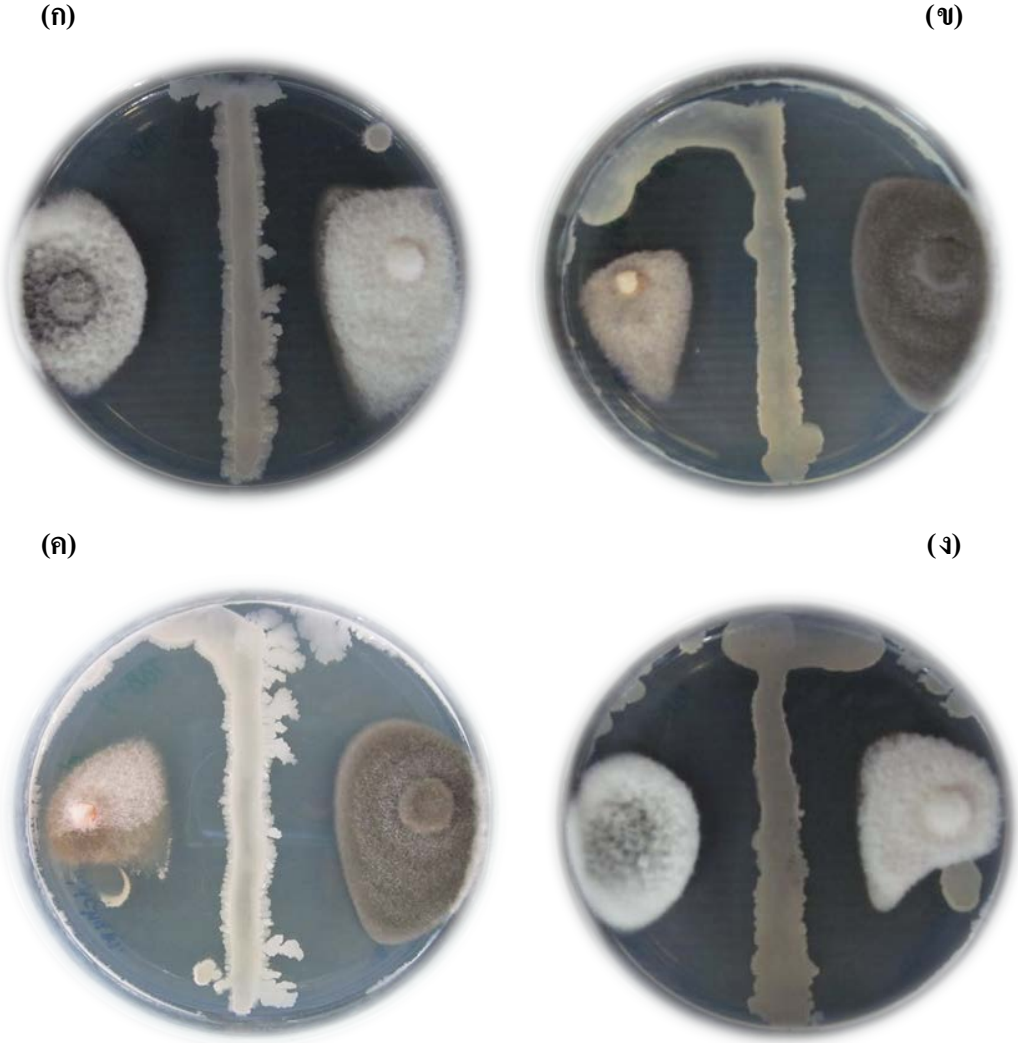
(ค)

(ง)



(จ)

ภาพที่ 4.10 ความสามารถของ *Bacillus* spp. ในการสร้างไฮโดรไลติกเอนไซม์ อะไมเลส (ก), เซลลูเลส (CMCase) (ข), เซลลูเลส (Avicelase) (ค), ไลเปส (ง) และ โปรติเอส (จ)



ภาพที่ 4.11 ความสามารถของ *Bacillus* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืช *Alternaria* sp. (ก ด้านซ้าย), *Culvularia* sp. (ข ด้านขวา), *C. gloeosporioides* (ค ด้านซ้าย) และ *Fusarium sp.* (ง ด้านขวา) ตามลำดับ

นอกจากนั้นยังสามารถแยก *Bacillus* sp. จากปุ๋ยตัวอย่าง และนำไปทดสอบความสามารถในการสร้างไฮโดรไลติกเอนไซม์ 4 ชนิด คือ เอนไซม์เซลลูเลส (CMCase และ Avicelase) ไลเปส อะไมเลส และเอนไซม์โปรติเอส (ภาพที่ 4.10) พบว่าสามารถคัดเลือกเชื้อที่สามารถสร้างเอนไซม์ไลเปส

ได้จำนวน 15 ไอโซเลท คัดเลือกเชื้อที่สร้างเอนไซม์โปรติเอสได้จำนวน 130 ไอโซเลต คัดเลือกเชื้อที่สามารถสร้างอะไมเลสได้จำนวน 22 ไอโซเลท และที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลส (CMCase) ได้จำนวน 122 ไอโซเลท และ เซลลูเลส (Avicelase) ได้จำนวน 110 ไอโซเลท ซึ่งเกณฑ์ในการคัดเลือกจะคัดจากไอโซเลทที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ โดยมีค่าดัชนีเอนไซม์มากกว่า 2

จากการศึกษาความสามารถ *Bacillus* sp. ที่แยกได้ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืช 4 ชนิดคือ *Fusarium* sp. *Alternaria* sp. *Curvularia* sp. และ *C. gloeosporioides* (รูปที่ 4.11) พบว่าสามารถคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราทดสอบได้อย่างน้อย 1 ชนิด จำนวน 38 ไอโซเลท ซึ่งเกณฑ์ในการคัดเลือกจะคัดเลือกจากไอโซเลทที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราทดสอบได้มากกว่าร้อยละ 50

การจัดจำแนกสายพันธุ์ของแอคติโนมัยสีท

จากการเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยสีทที่แยกได้บนอาหาร ISP2 เป็นเวลา 7 วัน เพื่อดูลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ ได้แก่ สีสปอร์ สีของเส้นใยอากาศ สีของเส้นใยอาหารและการสร้างสารสี พบว่าโคโลนีของเชื้อมีลักษณะเป็นปุยคล้ายกำมะหยี่ มีส่วนของเส้นใยที่ฝังแน่นลงไปใต้ผิวของอาหาร ซึ่งสามารถจำแนกแอคติโนมัยสีททั้ง 120 ไอโซเลทได้เป็น 11 กลุ่ม (ตารางที่ 4.9) ซึ่งส่วนใหญ่เป็นแอคติโนมัยสีทที่สร้างสปอร์สีขาว สีเทา สีเขียว สีเหลือง และสร้างเส้นใยอาหารสีเหลืองและสีน้ำตาล ส่วนใหญ่ไม่สร้างสารสีบนอาหาร ISP2 จากนั้นลองสุ่มตัวอย่างบางไอโซเลตมาศึกษาลักษณะเส้นใยและการเรียงตัวของสปอร์โดยใช้เทคนิคการปักกระจกปิดสไลด์ ย้อมด้วย crystal violet เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์จะเห็นเส้นใยและสปอร์มีลักษณะกลมต่อกันเป็นเส้นสาย บางชนิดสปอร์มีการเรียงตัวเป็นเกลียว (ภาพที่ 4.12) ลักษณะดังกล่าวอาจเป็นแอคติโนมัยสีทในสกุล *Streptomyces*

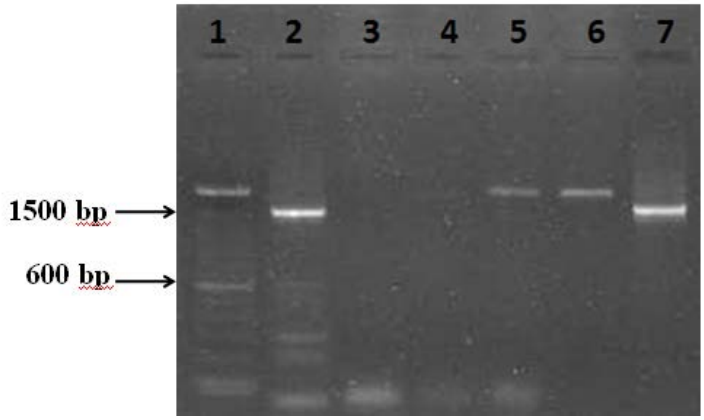
ภาพที่ 4.12 ลักษณะเส้นใยและการจัดเรียงตัวของสปอร์ของแอคติโนมัยสีท

ไอโซเลท VS1-4 (ก) และ VS2-14 (ข) ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

ตารางที่ 4.9 การจัดกลุ่มเชื้อแอคติโนมัยซีทตามลักษณะสีของโคโลนี สีของสปอร์ และการสร้างสารสีบนอาหาร ISP2

กลุ่มที่ 1	สีสปอร์	สีของเส้นใยอาหาร	การสร้างสารสี	จำนวนไอโซเลท
1	เหลือง	เหลือง	-	18
2	ขาว-เทา	เหลือง	-	25
3	เขียว-เหลือง	น้ำตาล	-	10
4	ขาว-เทา	น้ำตาล	-	20
5	ขาว-ส้ม	น้ำตาล	น้ำตาล	6
6	ขาว	เหลือง	ม่วง	2
7	ขาว-ชมพู	น้ำตาล	-	13
8	เขียวเข้ม	เหลือง	-	15
9	ขาว-เทา	น้ำตาล	ดำ	6
10	ดำ	ดำ	ดำ	2
11	ขาว-น้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล	3

จากการศึกษาการเพิ่มปริมาณยีน 16S rRNA โดยเทคนิค PCR ของแอคติโนมัยสีท เพื่อจำแนกชนิดของแอคติโนมัยสีทให้มีความถูกต้องแม่นยำยิ่งขึ้น โดยลองสุ่มแอคติโนมัยสีทมา 10 ไอโซเลต สกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีต้มในน้ำเดือด 10 นาที เพราะเป็นวิธีที่ง่าย สะดวก และประหยัด ผลการทดลองพบว่าได้แถบผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอที่มีขนาดประมาณ 1400 bp จำนวน 8 ไอโซเลท คิดเป็นร้อยละ 80 จากนั้นจะนำผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอที่ได้ส่งไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ แล้วจะนำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบกับข้อมูล 16S rDNA ของแบคทีเรียทั้งหมดที่อยู่ในฐานข้อมูล Genbank เพื่อจำแนกชนิดของแอคติโนมัยสีทดังกล่าวต่อไป



ภาพที่ 4.13 PCR product ขนาดประมาณ 1.4 kb จากการเพิ่มปริมาณของ 16S rDNA โดยเตรียม template DNA ด้วยการต้ม: หลุมที่ 1 คือ Marker DNA, หลุมที่ 2 คือ positive control, หลุมที่ 3 คือ blank control, หลุมที่ 4-7 คือแอคติโนมัยสีทที่แยกได้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

การศึกษาประสิทธิภาพปุ๋ยหมักชีวภาพภายในจังหวัดพัทลุงพบว่า เกษตรกรภายในจังหวัดพัทลุงมีการผลิตปุ๋ยหมักชีวภาพทั้ง 11 อำเภอ ซึ่งสามารถรวบรวมและทำเป็นแผนที่ได้จำนวน 17 ตำบล ทั้งนี้เนื่องจากเกษตรกรมีแหล่งวัตถุดิบในการผลิตปุ๋ยหมักชีวภาพจาก 2 แหล่ง คือ แหล่งวัตถุดิบจากเศษเหลือการทำเกษตรกรรม เช่น มูลวัว มูลสุกร และมูลไก่ และ แหล่งวัตถุดิบที่เกษตรกรต้องซื้อจากพื้นที่อื่น เช่น หินฟอสเฟต โดโลไมด์ ปูนมาร์ล ซึ่งองค์ความรู้ในการผลิตปุ๋ยหมักชีวภาพเกษตรกรได้รับการถ่ายทอดมาจากกรมพัฒนาที่ดิน สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ภูมิปัญญา หรือการคิดค้นเองและนำมาปรับปรุงหรือเปลี่ยนแปลงตามความเหมาะสม และเมื่อทำการวิเคราะห์คุณสมบัติปุ๋ยหมักชีวภาพและเปรียบเทียบกับเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ กรมวิชาการเกษตร พบว่าปุ๋ยหมักชีวภาพจากทุกตำบลจะมีค่าแอมโมเนียสูงกว่าค่าไนเตรท แต่มีปุ๋ยหมักชีวภาพจากตำบลเกาะหมากเพียงตัวอย่างเดียวที่มีปริมาณไนโตรเจนผ่านเกณฑ์มาตรฐาน ในขณะที่ตัวอย่างปุ๋ยหมักชีวภาพทุกตัวอย่างมีปริมาณออโธฟอสเฟตต่ำ แต่มีปริมาณโพแทสเซียมสูง สามารถสรุปได้ว่าปุ๋ยหมักชีวภาพภายในจังหวัดพัทลุงเป็นปุ๋ยหมักชีวภาพที่มีประสิทธิภาพ ซึ่งสามารถแนะนำให้เกษตรกรหรือบุคคลที่มีความสนใจได้นำไปใช้ในการทำเกษตรกรรมหลากหลายประเภท และจากการสัมภาษณ์ทำให้ทราบว่า กลุ่มผู้ผลิตปุ๋ยหมักชีวภาพยังคงต้องการความช่วยเหลือและแนะนำในด้านของวัตถุดิบ ความรู้และวิธีการวิเคราะห์ประสิทธิภาพของปุ๋ยหมักชีวภาพที่ผลิตได้

จากการศึกษาความหลากหลายของประชากรแบคทีเรียในปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ ที่ผลิตจากแหล่งต่างๆ ของจังหวัดพัทลุงด้วยเทคนิค DGGE-PCR พบว่ามีความหลากหลายของประชากรแบคทีเรียในกลุ่ม Actinobacteria, Fermicutes, Proteobacteria, Clostridia, Acidobacteria, Thermotogae และ Bacilli สอดคล้องกับรายงานของ Partanen และคณะ (2010) ซึ่งรายงานกลุ่มประชากรแบคทีเรียในกองปุ๋ยหมักในระยะต่างๆ พบว่าประกอบด้วยแบคทีเรียในกลุ่ม Actinobateria, Bacteroidetes, Fermicutes, Proteobacteria และ Deinococcs-Thermus (Partanen et al., 2010) และพบว่ากลุ่มประชากรอาร์เคียที่พบในตัวอย่างปุ๋ย ได้แก่ Halobacteria, Methanomicrobia และ Thermoprotie ซึ่งมีส่วนคล้ายกับรายงานของ Yamamoto และคณะ (2011) ซึ่งพบว่าอาร์เคียที่พบและมีบทบาทในกองปุ๋ยหมักคืออาร์เคียในกลุ่มเมธาโนเจน หรืออาร์เคียที่ผลิตมีเธน (methane-producing archaea) และ อาร์เคียกลุ่มที่ออกซิไดซ์แอมโมเนีย (ammonia-oxidizing archaea) (Yamamoto *et al*., 2011) นอกจากนั้นยังพบว่าปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพในกลุ่มที่ 3 ได้แก่ ต.โงกน้ำ ต.เขาย่า ต.ป่าพะยอม ต.นาบอน ต.ควนขนุน ซึ่งเด่นด้วยแบคทีเรียในกลุ่ม Actinobacteria, Bacillus และ Clostridium ซึ่งมีโครงสร้างประชากรแบคทีเรียที่สอดคล้องกับ

ปุ๋ยหมักคุณภาพดี ตามรายงานการวิจัยของ Ishii และคณะ (2000) ซึ่งพบว่าปุ๋ยหมักที่มีคุณภาพดีจะประกอบด้วยแบคทีเรียในกลุ่ม Actinobacteria Bacillus และ Clostridium (Ishii et al., 2000) การแบ่งปุ๋ยหมักอินทรีย์ชีวภาพตามชนิดของหัวเชื้อที่ใช้ในการผลิตในการผลิต สามารถแบ่งได้เป็นสามกลุ่ม คือ กลุ่มที่ผลิตหัวเชื้อเอง (ต.ป่าพะยอม ต.บ้านพร้าว ต.ตะแพน ต.เกาะหมาก) กลุ่มใช้หัวเชื้อจากกรมพัฒนาที่ดิน คือ พด. 1, 2 และ 3 (ต.เกาะเต่า ต.ลานข่อย ต.เขาย่า ต.ปรางหมู่ ต.ร่มเมือง ต.กงหรา ต.คลองทรายขาว ต.ชะรัต ต.สมหวัง ต.คลองเฉลิม ต.หานโพธิ์ ต.ตะโหมด ต.ควนขนุน ต.นาปะขอ) และ กลุ่มที่ใช้หัวเชื้อ EM (ต.แหลมโตนด ต.ควนขนุน ต.นาขยาด ต.ปรางหมู่ ต.หนองธง ต.หารเทา) แต่เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลจากผลของการทำ DGGE พบว่าโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์ในปุ๋ยหมักไม่มีความสัมพันธ์กับชนิดของหัวเชื้อที่ใช้ในการผลิต

จากการคัดแยกแอคติโนมัยสีทจากตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพในจังหวัดพัทลุง 21 ตัวอย่าง พบว่าสามารถคัดแยกแอคติโนมัยสีทได้ทุกตัวอย่าง ซึ่งไม่สอดคล้องกับผลของ DGGE ซึ่งอาจเกิดจากข้อจำกัดของการสกัด DNA จากตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพโดยตรง และ primers ที่ใช้ในการศึกษาอาจจะไม่เหมาะสมต่อแอคติโนมัยสีท ปริมาณแอคติโนมัยสีทในปุ๋ยตัวอย่างมีค่าอยู่ระหว่าง $5x10^3$ ถึง $1.6x10^7$ cfu/g จากการสุ่มคัดเลือกแอคติโนมัยสีทจากตัวอย่างๆ ละ 20 ไอโซเลท รวมทั้งสิ้น 420 ไอโซเลท และนำไปทดสอบความสามารถในการสร้างไฮโดรไลติกเอนไซม์ 4 ชนิด คือ เซลลูเลส (CMCase และ Avicelase) ไลเปส อะไมเลส และโปรติเอส สามารถคัดเลือกแอคติโนมัยสีทที่สามารถสร้างเอนไซม์ไลเปสได้ 98 ไอโซเลท คัดเลือกแอคติโนมัยสีทที่สร้างเอนไซม์โปรติเอสได้ 200 ไอโซเลต คัดเลือกแอคติโนมัยสีทที่สามารถสร้างอะไมเลสได้ 81 ไอโซเลท และแอคติโนมัยสีทที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลส (CMCase) ได้จำนวน 73 ไอโซเลท และ เซลลูเลส (Avicelase) ได้จำนวน 144 ไอโซเลท ซึ่งเป็นไอโซเลทที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ โดยมีค่าดัชนีเอนไซม์มากกว่า 2 นอกจากนั้นยังทำการคัดเลือกสายพันธุ์ของแอคติโนมัยสีทในที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืช 4 ชนิด คือ *Fusarium* sp. *Alternaria* sp. *Curvularia* sp. และ *C. gloeosporioides* จากการทดลองสามารถคัดเลือกแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราทดสอบได้อย่างน้อย 1 ชนิด จำนวน 209 ไอโซเลท ซึ่งเป็นไอโซเลทที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราทดสอบได้มากกว่าร้อยละ 50 อย่างไรก็ตามแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกและคัดเลือกมานั้นอาจจะมาจากหัวเชื้อของกรมพัฒนาที่ดิน คือ ซุปเปอร์ พด.1 และ พด.3 ก็เป็นไปได้ เพราะเกษตรกรบางรายมีการใช้หัวเชื้อชนิดนี้ในกระบวนการผลิต ซึ่ง พด.1 เป็นหัวเชื้อที่ประกอบด้วยแอคติโนมัยสีทและเชื้อราบางชนิดที่สามารถย่อยสลาย ไขมัน

และย่อยสารประกอบเซลลูโลส และ พด.3 ประกอบด้วยเชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรค (กรมพัฒนาที่ดิน, 2555) หรือแอคติโนมัยสีทที่คัดเลือกอาจจะเป็นแอคติโนมัยสีทที่แยกได้เองจากวัตถุดิบธรรมชาติที่ใช้ในการทำปุ๋ยก็เป็นไปได้ อย่างไรก็ตามเชื้อสายพันธุ์ที่ถูกคัดเลือกมานั้นล้วนแล้วแต่เป็นสายพันธุ์ที่สามารถเจริญได้ดีในสภาวะแวดล้อมของท้องถิ่นในจังหวัดพัทลุง นอกจากนั้นยังสามารถแยก *Bacillus* sp. จากปุ๋ยตัวอย่าง ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ไลเปสได้จำนวน 15 ไอโซเลท คัดเลือกเชื้อที่สร้างเอนไซม์โปรติเอสได้จำนวน 130 ไอโซเลต คัดเลือกเชื้อที่สามารถสร้างอะไมเลสได้จำนวน 22 ไอโซเลท และที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลส CMCase และ/หรือ Avicelase ได้จำนวน 160 ไอโซเลท นอกจากนั้นยังคัดเลือก *Bacillus* sp. ที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคได้อย่างน้อย 1 ชนิด จำนวน 38 ไอโซเลท ซึ่งไอโซเลทที่ถูกคัดเลือกทั้งหมดจะรวบรวมไว้เพื่อพัฒนาเป็นหัวเชื้อในการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพต่อไป

ข้อเสนอแนะ

การวิจัยนี้ศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์ในตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพที่ขบวนการหมักเสร็จสิ้นแล้ว ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในช่วงระยะเวลาที่แตกต่างกันของช่วงการหมักปุ๋ย ตั้งแต่เริ่มต้น จะสิ้นสุดกระบวนการหมัก ซึ่งจะทำให้ได้ข้อมูลความหลากหลายหรือการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในกองปุ๋ย ตลอดจนเพิ่มโอกาสในการคัดแยกจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่มีประโยชน์ได้มากขึ้น และในอนาคตควรมีการศึกษาความเป็นไปได้หรือศักยภาพของสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ที่แยกได้จากการศึกษาเหล่านี้ ในการเป็นหัวเชื้อในการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ

บรรณานุกรม

กรมพัฒนาที่ดิน. (2555). มหัศจรรย์พด. (ออนไลน์). สืบค้นจาก http://www.ldd.go.th [10 ตุลาคม 2555]

ทัศนีพร ยศพล. (2552). การทำปุ๋ยหมักจากขยะมูลฝอยตลาดสดเทศบาลนครขอนแก่นร่วมกับเถ้าแกลบดำ. วิทยานิพนธ์ สาธารณสุขศาสตรมหาบัณฑิต. มหาสารคาม : มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

บริษัทรุ่งเจริญอุตสาหกรรม 1994 และสำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ. (2553). องค์ความรู้และนวัตกรรมด้านเกษตรอินทรีย์ ปี 2552-2553. กรุงเทพฯ: สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.

ปราโมทย์ สฤษดิ์นิรันดร์. (2552). องค์ความรู้และนวัตกรรมด้านเกษตรอินทรีย์ ปี 2552-2553. กรุงเทพฯ: สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.

วรรณลดา สุนันทพงศ์ศักดิ์ และเสียงแจ๋ว พิริยะพฤนต์. (2546). การผลิตและประโยชน์ของปุ๋ยอินทรีย์น้ำ. กรุงเทพฯ: กองอนุรักษ์ดินและน้ำ กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

วิทยาลัยภูมิปัญญาชุมชน และ สถาบันทักษิณคดีศึกษา. สัมนาเรื่อง การจัดการภูมิปัญญาชาวบ้านรอบลุ่มทะเลสาบสงขลา 20-21 สิงหาคม 2550.

ศิริลักษณ์ ใจบุญทา. (2550). ผลของรำข้าวต่อการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ในกระบวนการผลิตปุ๋ยหมัก. วิทยานิพนธ์ สาธารณสุขศาสตรมหาบัณฑิต. เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สมพร ชุนลือชานนท์. (2549). รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ การผลิตปุ๋ยอินทรีย์-ชีวภาพเพื่อเพิ่มธาตุอาหารพืช. กรุงเทพฯ: สำนักงานกองทุนสนุบสนุนการวิจัย.

เสาวนิตย์ แดงทองดี. (2549). การศึกษาการทำปุ๋ยหมักจากเศษผัก. รายงานวิจัย. เพชรบูรณ์ : มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์.

ออมทรัพย์ นพอมรบดี. (2545). ปุ๋ยชีวภาพ. กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

อาณัฐ ตันโช. (2549). เกษตรธรรมชาติประยุกต์ หลักการ แนวคิด เทคนิคปฏิบัติในประเทศไทย. กรุงเทพฯ: ศูนย์หนังสือ สวทช.

A.O.A.C. (1990). Official methods of analysis of association of official chemists. 15thed. Verginia: The association of afficial analytical chemists.

Arkhipchenko, I.A., Salkinoja-Salonen, M.S., Karyakina, J.N. amd Tsitko, L. (2005). “Study of three fertilizers produced from farm waste”, Applid Soil Ecology. 30, 126-132.

Ausubel, F.M., Brent, R., Kingston, R.E., et al. (1995). Current Protocols in Molecular Biology. New York: John Wiley and Sons.

Ishii, K., Fukui, M. and Takii, S. (2000). "Microbial succession during a composting process as evaluated by denaturing gradient gel electrophoresis analysis", Journal of Applied Microbiology. 89, 768-777.

Kongjan, P., O-Thong, S., Kotay, M., Min, B., and Angelidaki I. (2010). "Biohydrogen production from wheat straw hydrolysate by dark fermentation using extreme thermophilic mixed culture", Biotechnology and Bioengineering. 105(5), 899-908.

Muyzer, G., De Waal, E.C. and Uitterlinden, A.G. (1993). "Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA", Applied and Environmental Microbiology. 59, 695-700.

Oviasogie, P.O., Aisueni, N.O. and Brown, G. E. (2010). "Oil palm composted biomass: A review of the preparation, utilization, handling and storage", African Journal of Agricultural Research. 5(13), 1553-1571.

Partanen, P., Hultman, J., Paulin, L., Auvinen, P., and Romantschuk, M. (2010). "Bacterial diversity at different stages of the composting process", BMC Microbiology. (http://www.biomedcentral.com/1471-2180/10/94)

Sabet, K.K., Saber, M.M., El-Naggar, M.A., El-Mougy, N.S., El-Deeb, H.M. and El-Shahawy, I.E. (2013). "Using Commercial Compost as Control Measures against Cucumber Root-Rot Disease", Journal of Mycology. 2013, 1-13. (http://dx.doi.org/10.1155/2013/324570)

Siddiqui, Z.A. (2004). "Effects of plant growth promoting bacteria and composed organic fertilizers on the reproduction of Meloidogyne incognita and tomato growth", Bioresource Technology. 95, 223-227.

Silva, C.F., Azevedo, R.S., Braga, C., da Silva, R., Dias, E.S. and Schwan, R.F. (2009). "Microbial diversity in a bagasse-based compost prepared for the production of *Agaricus brasiliensis*", Brazilian Journal of Microbiology. 40, 590-600.

Strickland, J.D.H. and Parsons, T.R.. (1972). A practical handbook of seawater analysis. Ottawa: Fisheries Research Board of Canada.

Yamamoto, N., Asano, R., Yoshii, H., Otawa, K., and Nakai, Y. (2011). "Archaeal community dynamics and detection of ammonia-oxidizing archaea during composting of cattle manure using culture-independent DNA analysis", Applied Microbiology and Biotechnology. 90, 1501-1510.

ภาคผนวก ก การลงพื้นที่เก็บข้อมูลในการผลิตปุ๋ยหมักชีวภาพ และการเก็บตัวอย่างปุ๋ยหมักชีวภาพ

ภาพผนวกที่ ก สถานที่ผลิตปุ๋ยหมักชีวภาพ (ก) ตำบลเกาะเต่า (ข) ตำบลป่าพะยอม (ค) ตำบลร่มเมือง (ง) ตำบลหานโพธิ์ (จ) ตำบลคลองทรายขาว (ฉ) ตำบลลำสินธุ์

ภาคผนวก ข แบบสอบถามในการสัมภาษณ์การผลิตปุ๋ยหมักชีวภาพของเกษตรกรในจังหวัดพัทลุง

แบบสอบถาม

ภูมิปัญญาการผลิตปุ๋ยหมักชีวภาพของเกษตรกรในจังหวัดพัทลุง

สอบถาม วันที่ ….. เดือน ……. พ.ศ. ……..

ข้อมูลทั่วไป

1. เพศ ☐ ชาย ☐ หญิง

2. อายุ ……..

3. อาชีพ…….....

4. ที่อยู่

……

……

ข้อมูลเฉพาะ

1. แรงจูงใจ หรือสาเหตุสำคัญที่ท่านต้องการผลิตปุ๋ย

☐ ต้นทุนการผลิตการเกษตรในปัจจุบันสูงขึ้น

☐ สิ่งแวดล้อม

☐ การส่งเสริม

☐ อื่นๆ……

2. ท่านทราบวิธีการทำปุ๋ยหมักชีวภาพได้อย่างไร

☐ ภูมิปัญญาท้องถิ่น

☐ เข้ารับการศึกษา อบรม จาก……..

☐ หนังสือ วารสาร โทรทัศน์ วิทยุ และสื่ออื่นๆ

☐ อื่นๆ……..

3. แหล่งที่มาของวัสดุในการผลิต

☐ ในท้องถิ่น หรือจากสมาชิกกลุ่ม

☐ รับมาจากที่อื่น……

4. ท่านทำปุ๋ยหมักมาแล้วเป็นระยะเวลาเท่าไร

☐ น้อยกว่า 1 ปี

☐ 1 – 3 ปี

☐ มากกว่า 3 ปี

5. ความถี่ในการผลิต

☐ ทุกเดือน/ครั้ง

☐ มากกว่า 2 – 3 เดือน/ครั้ง

☐ กำหนดตามความต้องการ

6. ปริมาณเฉลี่ยในการผลิตแต่ละครั้ง

☐ น้อยกว่า 1 ตัน (1,000 กิโลกรัม)

☐ 1 – 2 ตัน

☐ มาหกกว่า 2 ตัน

7. ท่านมีการรวมกลุ่ม องค์กร ฯลฯ หรือไม่

☐ ไม่มี

☐ มี……

……

……

8. การดำเนินการผลิตปุ๋ยหมักได้รับการสนับสนุนจากหน่วยงานภายนอกบ้างหรือไม่ อย่างไร

ไม่มี

มี โดยการสนับสนุนจาก ……..

……..

……..

9. พืชที่เหมาะสมกับปุ๋ยหมักชีวภาพของท่าน คือพืชชนิดใด

……

……

……

10. ความต้องการในการดำเนินงาน ปัญหาและอุปสรรคในการผลิตปุ๋ยหมักชีวภาพที่ต้องการขอความช่วยเหลือ (ทั้งกรณีของวัตถุดิบ ขั้นตอนการผลิต และคุณภาพปุ๋ยหมักชีวภาพ)

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

11. วัสดุและขั้นตอนในการผลิตปุ๋ยหมักชีวภาพ

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ขอขอบคุณที่เสียสละเวลาตอบแบบสอบถาม

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง

ประวัตินักวิจัยและคณะ

1. ดร.ชัยสิทธิ์ นิยะสม

1.	ชื่อ-สกุล ภาษาไทย	นายชัยสิทธิ์ นิยะสม
	ภาษาอังกฤษ	Mr. Chaisit Niyasom
2.	เลขบัตรประชาชน	3770600589992
3.	ที่อยู่	182/239 ม.8 นิรันดร์ซิตี้คอนโด ซอยหนองใหญ่ แขวง/เขตบางแค กทม. 10160
4.	หมายเลขโทรศัพท์	074-693992 ต่อ 2267 (ที่ทำงาน), 0864029830 (มือถือ)
5.	E-mail	nchaisit@yahoo.com
6.	ตำแหน่งปัจจุบัน	อาจารย์ประจำสาขาวิชาชีววิทยา
7.	สังกัด	คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ ต.บ้านพร้าว อ.ป่าพะยอม จ.พัทลุง 93110 โทรศัพท์/โทรสาร 074-693992
8.	ประวัติการศึกษา	
	พ.ศ. 2552	ปร.ด. (จุลชีววิทยาการแพทย์) มหาวิทยาลัยมหิดล
	ชื่อวิทยานิพนธ์	Functiona and immunogencity of HIV-1 tat protein
	พ.ศ. 2541	วท.ม. (จุลชีววิทยา) มหาวิทยาลัยมหิดล
	ชื่อวิทยานิพนธ์	Tn*4001*/Tn*4001*-like element and transposon-like structure Tn*4003* in methicillin-resistant and methicillin-sensitive staphylococci isolated from patient in Siriraj hospital
	พ.ศ. 2537	วท.บ. (จุลชีววิทยา) มหาวิทยาลัยบูรพา
	ชื่อโครงงานวิจัย	Effect of pH, temperature, incubation perioid and agitation on proteinase production of *Pseudomonas fluorescens* isolated from pasteurized milk
9.	รางวัล	
	พ.ศ. 2557	รางวัลรองชนะเลิศ การนำเสนอผลงานแบบโปสเตอร์ วิทยาศาสตร์วิจัย ครั้งที่ 6 มหาวิทยาลัยบูรพา
	พ.ศ. 2557	รางวัลชมเชย การนำเสนอผลงานแบบโปสเตอร์ งานประชุมวิชาการประจำปีมหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 24
10.	สาขาที่มีความชำนาญพิเศษ	การเฝ้าระวังโรคอุบัติใหม่/ อุบัติซ้ำ/ การดื้อยา

การคัดแยกจุลินทรีย์ (แบคทีเรีย/ แอคติโนมัยสีท) จากแหล่งธรรมชาติ และการใช้ประโยชน์

11. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

หัวหน้าโครงการวิจัย

1. การแยกและคัดเลือกแอคติโนมัยสีทที่สร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากดินบริเวณมหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง (2554)
2. เรื่อง การศึกษาความหลากหลายของอาร์เคียในอาหารหมักภาคใต้ของไทยที่มีปริมาณเกลือสูงด้วยเทคนิค 16S rDNA-DGGE และคุณสมบัติทางชีวภาพของอาร์คีโอซินที่ผลิตโดยอาร์เคียสายพันธุ์ที่ชอบเกลือ (2555-2556)
3. การประเมินความหลากหลายของแอคติโนมัยสีทเอนโดไฟท์ในข้าวพันธุ์พื้นเมืองของจังหวัดพัทลุงด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล และการคัดกรองสายพันธุ์ที่สร้างสารต้านจุลชีพ (2557)

ผู้ร่วมวิจัย

1. องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของลำต้นจำปีสิรินธร (2555)
2. การแปรรูปชีวมวลปาล์มน้ำมันเพื่อการผลิตผลิตภัณฑ์ชีวภาพและเชื้อเพลิงชีวภาพที่มีความคุ้มค่าทางด้านเศรษฐศาสตร์อย่างยั่งยืน (2556-2557)

ผลงานทางวิชาการที่เผยแพร่

Leelaporn A, Phengmak M, Eampoklap B, Manatsathit S, Tritilanunt S, Siritantikorn S, Nagayama K, Iida T, Niyasom C and Komolpit P. Shiga Toxin- and enterotoxin-producing *Escherichia coli* isolated from subjects with bloody and non-bloody diarrhea in Bangkok, Thailand. Diag Microbiol Infect Dis 2003; 46(3): 173- 80.

Niyasom C, Leelaporn A, Aswapokee N, *et. al*. Aminoglycoside resistance determinants carrying *accA-aphD* gene in staphylococci isolated from patients in Siriraj Hospital. Mahidol U J Pharm Sci 2004; 31(3-4): 35-43.

Niyasom C, Horthongkham N, Sreephiang A, *et. al.* HIV-1 subtype B *tat* gene activities and disease progression inHIV-1 CRF01_AE infection. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2009; 40(4): 748-58.

ชัยสิทธิ์ นิยะสม. 2553. โรคติดเชื้อที่มากับโลกร้อน (Global warming and the emergence of infectious disease). วารสารวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม ปีที่ 20 สิงหาคม 2553 หน้า 39-45.

มณฑล เลิศวรปรีชา และ ชัยสิทธิ์ นิยะสม. 2554. Enterohaemorrhagic *Escherichai coli* (EHEC): พยาธิกำเนิดและระบาดวิทยา. วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ ปีที่ 14 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม -ธันวาคม 2554 หน้า 109-117.

ยีสมานี เจ๊ะหะ และชัยสิทธิ์ นิยะสม. ความชุกและความไวต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อสแตฟฟิโลคอคคัสออเรียสที่ดื้อยาเมธิซิลลินซึ่งแยกได้จากโพรงจมูกของนิสิตมหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง. วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ 2555; 15(3): 24-32.

อังคณา ล่าแหละหมัน, ชัยสิทธิ์ นิยะสม และสมพงศ์ โอทอง. ผลของอุณหภูมิและการรับภาระสารอินทรีย์ต่อการผลิตมีเทนจากน้ำทิ้งหลังการผลิตไฮโดรเจนของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มดิบ. วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ 2555; 15(3): 24-32.

ตฤณกร เกตุกุลพันธ์ เยี่ยมศิริ มณีพิศมัย ปรานี ปิ่นเงิน อุษณีย์ ใบบัว ประภาพร ภูริปัญญาคุณ เพลินพิศ ยะสินธิ์ วีรนุช สระแก้ว ชัยสิทธิ์ นิยะสม และรัตนา เฉลิมกลิ่น. องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของแคฝรั่ง. วารสารจันทรเกษมสาร 2555; 18(35): 11-17.

ชัยสิทธิ์ นิยะสม จันทร์ฉาย กฤษณะทรัพย์ ปาริชาติ คงศรีทอง และ นูรอัยนี ดาโอ๊ะ. ความชุกและความไวต่อยาปฏิชีวนะของสแตฟฟิโลคอคคัสออเรียสที่แยกได้จากโพรงจมูกของเด็กก่อนวัยเรียนในจังหวัดพัทลุง. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา 2557; (in editing)

การนำเสนอผลงานทางวิชาการ

ยีสมานี เจ๊ะหะ และชัยสิทธิ์ นิยะสม. ความชุกและความไวต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อสแตฟฟิโลคอคคัสออเรียสที่ดื้อต่อยาเมธิซิลลินซึ่งแยกได้จากโพรงจมูกของนิสิตมหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง. งานประชุมวิชาการประจำปีมหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 22, 23-24 พฤษภาคม 2555. สงขลา (บรรยาย)

ชัยสิทธิ์ นิยะสม วิชุดา กล้าเวช และ สมพงศ์ โอทอง. การประเมินความหลากหลายของแบคทีเรียและอาร์เคียในปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพในจังหวัดพัทลุงด้วยเทคนิคพีซีอาร์-ดีจีจีอี และการคัดกรองสายพันธุ์แอคติโนมัยสีทที่มีประโยชน์. การประชุมวิชาการ “ความหลากหลายทางชีวภาพและภูมิปัญญาท้องถิ่น: บูรณาการองค์ความรู้สู่การพัฒนาท้องถิ่นอย่างยั่งยืน”, 9 - 10 พฤศจิกายน 2555. มรภ.เชียงราย, เชียงราย (บรรยาย)

ชัยสิทธิ์ นิยะสม วิชุดา กล้าเวช และสมพงศ์ โอทอง. ภูมิปัญญาการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพในจังหวัดพัทลุงและการคัดเลือกจุลินทรีย์ท้องถิ่นที่มีประสิทธิภาพสูงสำหรับพัฒนาเป็นหัวเชื้อในการผลิต. โครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษา ครั้งที่ 1, 21-23 มกราคม 2556. มรภ.พิบูลสงคราม, พิษณุโลก (โปสเตอร์)

ชัยสิทธิ์ นิยะสม_วรุณยุพา สิทธิมนต์ บุษรา บุตรสมัน ศุภชัย นิติพันธ์ และวิชุดา กล้าเวช. การสร้างเอนไซม์ไฮโดรไลติกและฤทธิ์ต้านเชื้อราของแอคติโนมัยสีที่แยกได้จากปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพในจังหวัดพัทลุง. งานประชุมวิชาการประจำปีมหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 23, 23-24 พฤษภาคม 2556. สงขลา (โปสเตอร์)

ชัยสิทธิ์ นิยะสม จันทร์ฉาย กฤษณะทรัพย์ ปาริชาติ คงศรีทอง และนูรอัยนี ดาโอ๊ะ. ความชุกและความไวต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อสแตฟฟิโลคอคคัสออเรียสที่แยกได้จากโพรงจมูกของเด็กก่อนวัยเรียนในจังหวัดพัทลุง. งานประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์วิจัย ครั้งที่ 6, 20-21 มีนาคม 2557. มหาวิทยาลัยบูรพา, ชลบุรี (โปสเตอร์)

ชัยสิทธิ์ นิยะสม สมพงศ์ โอทอง มัสตูรอ อาบู และมูตียารี ราพู. ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากตัวอย่างดินต่อ *Bacillus cereus* และ *S. aureus*. งานประชุมวิชาการประจำปีมหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 24, 21-22 พฤษภาคม 2557. สงขลา (โปสเตอร์)

2. ดร.วิชุดา เกตุใหม่

1.	ชื่อ-สกุล ภาษาไทย	นางสาววิชุดา เกตุใหม่
	ภาษาอังกฤษ	Miss Wichuda Katemai
2.	เลขบัตรประชาชน	3300101259346
3.	ที่อยู่	110 ม.9 ถ.มุขมนตรี ต.บ้านใหม่ อ.เมือง จ.นครราชสีมา
4.	หมายเลขโทรศัพท์	074-693992 ต่อ 2275 (ที่ทำงาน), 0891065206 (มือถือ)
5.	E-mail	w_katemai@hotmail.com
6.	ตำแหน่งปัจจุบัน	ผู้ช่วยศาสตราจารย์
7.	สังกัด	สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพและสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ ต.บ้านพร้าว อ.ป่าพะยอม จ.พัทลุง 93110 โทรศัพท์/โทรสาร 074-69399
8.	ประวัติการศึกษา	
	พ.ศ. 2551	ปร.ด. (เทคโนโลยีชีวภาพ) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
	ชื่อวิทยานิพนธ์	Screening of Biosurfactant-Producing Yeasts, Purification, Characterization and Application
	พ.ศ. 2546	วท. ม. (เทคโนโลยีชีวภาพ) สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ชื่อวิทยานิพนธ์ Studies on Production, Purification and Characterization of Glucoamylase from *Aspergillus niger* TISTR 3254

พ.ศ. 2543 วท. บ. (เทคโนโลยีชีวภาพ) มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ชื่อโครงงานวิจัย Study on optimum condition for ligninolytic enzymes production and growth of *Lentinus polychrous* Lev.

9. รางวัล นำเสนอโปสเตอร์ดีเด่น งานประชุมวิชาการ ม.ทักษิณ (2555)
10. สาขาที่มีความชำนาญพิเศษ การบำบัดมลพิษด้วยวิธีทางชีวภาพ เทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม เทคโนโลยีเอนไซม์
11. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

ประสบการณ์งานวิจัย

1. โครงการการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสโดยเชื้อราที่กลายพันธุ์ด้วยวิธีกายภาพ (2546)
2. โครงการการแยกและทำบริสุทธิ์โมโนเอซิลกลีเซอรอลจากน้ำมันปาล์มด้วยเอนไซม์ไลเปสตรึงรูป (2551)
3. โครงการวิจัยศักยภาพของคุณค่าทางโภชนาการและการออฤทธิ์ทางยาของสารสกัดจากผักพื้นบ้าน (2554)
4. ประโยชน์และองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันขันในพื้นที่ตำบลคลองเฉลิม และตำชะรัด อำเภอกงหรา จังหวัดพัทลุง (2554)

ผลงานทางวิชาการที่เผยแพร่

วิชุดา เกตุใหม่ เสาวภา แก้วสุกใส และลีซา แยนา. 2553. การคัดแยกจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้ว. วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ. ปีที่ 12 ฉบับที่ 3 (ต.ค. 52 – ม.ค. 53). หน้า 202-213.

Katemai, W., Maneerat, S., Kawai, F., Kanzaki, H., Nitoda, T. and H-Kittikun, A. 2008. Purification and Characterization of a Biosurfactant Produced by *Issatchenkia orientalis* SR4. Journal of General Applied Microbiology. 54: 79-82.

Katemai, W., Maneerat, S., Kawai, F. and H-Kittikun, A. 2006. Isolation and screening of biosurfactant producing-yeast from oil contaminated soils. AnnualReport2006. Research Institute for Bioresources, Okayama University. 55p.

Rittiboon, A. and Katemai, W. 2004. Production of Starch-Digesting Glucoamylase from *Aspergillus niger* ATCC 10864. KMITL Science and Technology Journal. 4 (1) : 10-16.

ทิพย์ทิวา สัมพันธมิตร เสาวลักษณ์ รุ่งตะวันเรืองศรี นันทิดา สุธรรมวงศ์ วิชุดา เกตุใหม่ และสมพงศ์ โอทอง. 2553. “การรวบรวมชนิดผักพื้นบ้านที่เกี่ยวข้องกับศักยภาพการใช้ประโยชน์ด้านการดูแลสุขภาพในพื้นที่อำเภอกงหรา จังหวัดพัทลุง”, โครงการจัดประชุมวิชาการระดับชาติ เครือข่ายสถาบันอุดมศึกษาทั่วประเทศ หัวข้อ “การพัฒนาเศรษฐกิจฐานรากด้วยแนวคิดเศรษฐกิจเชิงสร้างสรรค์. หน้า 284-288. ขอนแก่น : เครือข่ายบริหารการวิจัยและถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ชุมชน ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน มหาวิทยาลัยข่อนแก่น.

นันทิดา สุธรรมวงศ์ ทิพย์ทิวา สัมพันธมิตร เสาวลักษณ์ รุ่งตะวันเรืองศรี วิชุดา เกตุใหม่ สมพงศ์ โอทอง และนัยนา เทศนา. 2553. “ความหลากหลายและการใช้ประโยชน์ผักพื้นบ้านจากป่าในด้านอาหารในพื้นที่อำเภอกงหรา จังหวัดพัทลุง”, โครงการจัดประชุมวิชาการระดับชาติ เครือข่ายสถาบันอุดมศึกษาทั่วประเทศ หัวข้อ “การพัฒนาเศรษฐกิจฐานรากด้วยแนวคิดเศรษฐกิจเชิงสร้างสรรค์. หน้า 289-293. ขอนแก่น : เครือข่ายบริหารการวิจัยและถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ชุมชน ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน มหาวิทยาลัยข่อนแก่น.

วิชุดา เกตุใหม่ ทิพย์ทิวา สัมพันธมิตร นันทิดา สุธรรมวงศ์ และสมพงศ์ โอทอง 2553. “คุณค่าทางโภชนาการของผักพื้นบ้านในพื้นที่อำเภอกงหรา จังหวัดพัทลุง”, โครงการจัดประชุมวิชาการระดับชาติ เครือข่ายสถาบันอุดมศึกษาทั่วประเทศ หัวข้อ “การพัฒนาเศรษฐกิจฐานรากด้วยแนวคิดเศรษฐกิจเชิงสร้างสรรค์. หน้า 32-35. ขอนแก่น : เครือข่ายบริหารการวิจัยและถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ชุมชน ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน มหาวิทยาลัยข่อนแก่น.

การนำเสนอผลงานวิชาการ

Katemai, W., Maneerat, S., Kawai, F. and H-Kittikun, A. Isolation and Screening of Biosurfactant-Producing Yeast from Oil Contaminated soils. The 5th JSPS-NRCT Joint Seminar on Development of Thermotolerant Microbial Resources and Their Applications. Aisawan Resort & Spa, Chonburi, Thailand. November 7-10, 2006.

H-Kittikun, A., Maneerat, S, Katemai, W., Prommachan, O., Nitoda, T., Kanzaki, H. and Kawai, F. Isolation of biosurfactant producing microorganisms and their applications. JSPSNRCT Concluding Joint Seminar on Development of Thermotolerant Microbial Resources and Their Applications. Walailak University, Nakhon Si Thammarat, Thailand. 18-20 October, 2007.

Katemai, W., Maneerat, S., Kawai, F. and H-Kittikun, A. Screening of Biosurfactant-Producing Yeasts from Oil Contaminated Soils. The 2nd Science Research Conference. Naresuan University, Phitsanulok, Thailand. March 9-10, 2009. (Poster presentation)

Yongtalay, K. and Katemai, W. Biodegradation of Waste Lubricating Oil by *Serratia* sp. The 2nd Science Research Conference. Naresuan University, Phitsanulok, Thailand. March 9-10, 2009. (Poster presentation)

Kaewsuksai, S. and Katemai, W. Screening of Waste Lubricating Oil-Degrading Microorganisms from Oil Contaminated Soil. The 2nd Science Research Conference. Naresuan University, Phitsanulok, Thailand. March 9-10, 2009. (Poster presentation)

Yaena, L. and Katemai, W. Screening of Bioemulsifier-Producing Yeasts. The 2nd Science Research Conference. Naresuan University, Phitsanulok, Thailand. March 9-10, 2009. (Poster presentation)

Kaewpuak, O. and Katemai, W. Production of Yeast Single Cell Protein Isolated from Distilled Slop. The 2nd Science Research Conference. Naresuan University, Phitsanulok, Thailand. March 9-10, 2009. (Poster presentation)

Yeunyong, A. and Katemai, W. Screening of Biosurfactant – Producing Bacteria. The 2nd Science Research Conference. Naresuan University, Phitsanulok, Thailand. March 9-10, 2009. (Poster presentation)

Katemai, W., Maneerat, S., Kawai, F. and H-Kittikun, A. Application of biosurfactant from *Issatchenkia orientalis* SR4. Asian Core Program Joint Seminar on Capacity Building and Development of Microbial Potential and Fermentation Technology Towards New ERA. The Graduate School, Kasetsart University, Bangkok, Thailand. March 19-21, 2009. (Poster presentation)

วิชุดา เกตุใหม่ เสาวภา แก้วสุกใส และลีซา แยนา. การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้ว. การประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัย มหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 19 ณ โรงแรม เจ บี หาดใหญ่ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา. วันที่ 24-25 กันยายน 2552. (Oral presentation)

Katemai, W. and Yongtalay, K. Biodegradation of Waste Lubricating Oil by Microorganisms. 35th Congress on Science and Technology of Thailand. The Tide Resort (Bangsaen Beach), Chonburi, Thailand. October 15-17, 2009. (Poster presentation)

Wichuda Katemai and Kuamas Yongtalay. Waste Lubricating Oil-Biodegrading Microorganisms. Technology and Innovation for Sustainable Development International Conference (TISD2010). Royal Mekong Nongkhai Hotel, Nong Khai, Thailand, March 4-6, 2010. (Oral presentation)

Sampantamit Tiptiwa and Katemai Wichuda. Local Wisdom and Utilization of Khun (*Amesiodendron chinense* (Merr.) Hu) in Tambon Klongcha-lerm and Charad, Konghra District, Phatthalung Provice, Thailand. 4th International Indigenous Conference,Auckland, New Zealand. June 6-9, 2010. (Oral presentation)

3. ดร.สมพงศ์ โอทอง

1. ชื่อ-สกุล ภาษาไทย	นายสมพงศ์ โอทอง
ภาษาอังกฤษ	Mr. Sompong O-Thong
2. เลขประจำตัวประชาชน	3801300957791
3. ที่อยู่	132 หมู่ที่ 13 ต.ปลายพระยา อ.ปลายพระยา จ.กระบี่
4. หมายเลขโทรศัพท์	074-693992 ต่อ 2261 (ที่ทำงาน) 0858988655 (มือถือ)
5. E-mail	sompong.o@gmail.com
6. ตำแหน่งปัจจุบัน	อาจารย์ประจำภาควิชาชีววิทยา (พนักงานมหาวิทยาลัย)
7. สังกัด	ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ หมายเลขโทรศัพท์/โทรสาร 074-693992
8. ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2550	ปร. ด. (เทคโนโลยีชีวภาพ) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
ชื่อวิทยานิพนธ์	Optimization and microbial community analysis for production of biohydrogen from palm oil mill effluent by thermophilic fermentative process
พ.ศ. 2546	วท. ม. (เทคโนโลยีชีวภาพ) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
ชื่อวิทยานิพนธ์	Study on microbial consortiums from commercial and natural microbial inocula for treating shrimp farming wastewater by using molecular biological techniques
พ.ศ. 2544	วท. บ. (ชีววิทยา) ม.ทักษิณ เกียรตินิยมอันดับสอง

ชื่อโครงงานวิจัย Ammonia removal from saline wastewater by nitrifying bacteria in sequencing batch reactor.

9.รางวัล

พ.ศ. 2550	วิทยานิพนธ์ระดับดีเยี่ยม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
พ.ศ. 2550	วิทยานิพนธ์ระดับดีเด่น สมาคมเทคโนโลยีชีวภาพ แห่งประเทศไทย
พ.ศ. 2551	รับเชิญทำวิจัย ณ ประเทศ ญี่ปุ่น ด้วยทุน JSPS
พ.ศ. 2552	วิทยานิพนธ์ระดับดีเยี่ยม สภาวิจัยแห่งชาติ
พ.ศ. 2552	ผู้ที่มีผลงานวิจัยตีพิมพ์มีค่า impact factor สูงสุด มหาวิทยาลัยทักษิณ
พ.ศ. 2553	การแสดงผลงานแบบโปสเตอร์ระดับดีเยี่ยม Asian Biohydrogen ประเทศ Taiwan
พ.ศ. 2553	รางวัลกลุ่มวิจัยดีเยี่ยม (กลุ่มวิจัยพัฒนากระบวนการผลิตไฮโดรเจนจากวัตถุดิบมวลชีวภาพโดยจุลินทรีย์) จากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (ประจำปี 2553)
พ.ศ. 2554	TRF-CHE SCOPUS RESEARCHER AWAED 2011, Elsevier
พ.ศ. 2554	ผู้มีผลงานวิจัยได้รับการอ้างอิง (Citation) สูงสุด มหาวิทยาลัยทักษิณ
พ.ศ. 2554	การแสดงผลงานแบบโปสเตอร์ระดับดีเยี่ยม ICCE-2011 ประเทศ Taiwan
พ.ศ. 2555	ผู้มีผลงานวิจัยได้รับการอ้างอิง (Citation) สูงสุด มหาวิทยาลัยทักษิณ

10. สาขาวิชาที่มีความชำนาญพิเศษ เทคโนโลยีชีวภาพ กระบวนการหมัก เทคโนโลยีชีวภาพพลังงาน ผลิตพลังงานทดแทนจากมวลชีวภาพด้วยกระบวนการทางชีวภาพ เทคโนโลยีวภาพสิ่งแวดล้อม กระบวนการและระบบบำบัดน้ำเสีย การศึกษาแบคทีเรียชอบร้อน เทคนิคทางด้านอณูวิทยาทางด้านสิ่งแวดล้อม

11. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

10.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย:

1. นวัตกรรมจากภูมิปัญญาท้องถิ่นในมรดกทางวัฒนธรรมของการพัฒนาต้นเชื้อจุลินทรีย์เพื่อใช้ในการกระบวนการผลิตสีครามจากต้นครามและการเก็บรักษาสีครามในสภาพที่เหมาะสมต่อการใช้งาน (สกอ.54)

2. การผลิตไฮโดรเจนและมีเทน (ไบโอไฮเทน) จากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มโดยใช้กระบวนการหมักไร้อากาศแบบสองขั้นตอนที่อุณหภูมิสูงและการประยุกต์ใช้ไบโอไฮเทน (ต.ค. 2553-ต.ค. 2556)

3. การตรวจสอบสาเหตุของการเกิดโฟมและความไม่เสถียรของกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศผลิตมีเทนจากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มดิบ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (2555-2557)

4. การเพิ่มผลผลิตก๊าซมีเทนโดยใช้การย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศของน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มกับขี้เถ้าและของเสียกลีเซอรอลจากโรงงานไบโอดีเซล คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) (2555)

5. การแปรรูปชีวมวลปาล์มน้ำมันเพื่อการผลิตผลิตภัณฑ์ชีวภาพและเชื้อเพลิงชีวภาพที่มีความคุ้มค่าทางด้านเศรษฐศาสตร์อย่างยั่งยืน (สวก 2556)

10.2 ผู้ร่วมโครงการวิจัย:

1. การวิจัยและพัฒนาระบบบำบัดไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งแบบน้ำหมุนเวียน 2551-2553)

2. ศักยภาพการผลิตไฮโดรเจนและมีเทนจากซีรัมที่ได้จากการจับตัวน้ำยางตามหลักการไบโอรีไฟเนอ คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) (2555)

10.3 งานวิจัยที่ทำสำเร็จแล้ว:

1. การพัฒนากระบวนการผลิตพลังงานชีวมวลจากต้นปาล์มอย่างมีประสิทธิภาพ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) (2552-2553)

2. กลุ่มวิจัยเพื่อการพัฒนากระบวนการผลิตไฮโดรเจนจากวัตถุดิบมวลชีวภาพโดยจุลินทรีย์ (สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษาแห่งชาติ ปี พ.ศ. 2550-2553)

3. การพัฒนากระบวนการผลิตเอทานอลจากของเสียเศษอาหารโดยหมักร่วมยิสต์และแบคทีเรียภายใต้สภาวะไม่ฆ่าเชื้อ (2553-2554)

4. การพัฒนากระบวนการผลิตก๊าซชีวภาพแบบรวมศูนย์โดยการหมักร่วมของเสียอินทรีย์จากอุตสากรรมและเกษตรกรรมในจังหวัดพัทลุง (รายได้ 54)

5. การพัฒนาศักยภาพและคุณสมบัติในการเป็นฟังก์ชันแนลฟูดส์ เครือข่ายการวิจัยภาคใต้ตอนล่าง 52

6. ศักยภาพทางชีวภาพของจุลินทรีย์ชอบร้อนจากบ่อน้ำพุร้อนในเขตภาคใต้สำหรับการผลิตไบโอฟูเอล สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (2552-2554)

ผลงานทางวิชาการที่เผยแพร่

S. Sittijunda, A.F. Tomas, A. Reungsang, S. O-Thong and I. Angelidaki. 2013. Ethanol production from glucose and xylose by immobilized *Thermoanaerobacter pentosaceus* at 70 C in an up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor. Bioresour Technol. 143: 598-607.

A. Reungsang, S. Sittijunda and S. O-Thong. 2013. Bio-hydrogen production from glycerol by immobilized *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048 on heat-treated UASB granules as affected by organic loading rate. International Journal of Hydrogen Energy 38(17): 6970-6979.

T. Cjookaew, S. O-Thong and P. Prasertsan. 2013. Statistical optimization of medium components affecting simultaneous fermentative hydrogen and ethanol production from crude glycerol by thermotolerant *Klebsiella* sp. TR17. International Journal of Hydrogen Energy. http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2013.10.141

K. Boe, P.G. Kougias, F. Pacheco, S.O-Thong and I. Angelidaki. Effect of substrate and intermediate compounds on foaming in manure digestion systems. Water Science and Technology 2012;66(10)2146-2154. (Impact factor 1.12).

Kongjan P., O-Thong S. And Angelidaki I. Hydrogen and methane production from desugared molasses using a two-stage thermophilic anaerobic process. Eng Life Sci (2012), doi:10.1002/elsc.201100191. (Impact factor 1.925).

Chookaew T., O-Thong S., Prasertsan P. Fermentative production of hydrogen and soluble metabolites from crude glycerol of biodiesel plant by the newly isolated thermotolerant *Klebsiella pneumoniae* TR17. International Journal of Hydrogen Energy (2012), http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2012.06.022. (Impact factor 4.053).

Noparat P., Prasertsan P., O-Thong S. Potential for using enriched cultures and thermotolerant bacterial isolates for production of biohydrogen from oil palm sap and microbial community analysis, International Journal of Hydrogen Energy (2012), doi:10.1016/j.ijhydene.2012.02.103. (Impact factor 4.053).

Yossan S., O-Thong S., Prasertsan P. Effect of initial pH, nutrients and temperature on hydrogen production from palm oil mill effluent using thermotolerant consortia and corresponding

microbial communities, International Journal of Hydrogen Energy (2012), doi:10.1016/j.ijhydene.2012.03.151. (Impact factor 4.053).

Mamimin C., Thongdumyu P., Hniman A., Prasertsan P., Imai T., O-Thong S. Simultaneous thermophilic hydrogen production and phenol removal from palm oil mill effluent by *Thermoanaerobacterium*-rich sludge, International Journal of Hydrogen Energy (2012), doi:10.1016/j.ijhydene.2012.04.062. (Impact factor 4.053).

O-Thong S., Boe K. Angelidaki I. Thermophilic anaerobic co-digestion of oil palm empty fruit bunches with palm oil mill effluent for efficient biogas production. Appl Energy 2012, 93:648-654. (Impact factor 3.915).

Hasyim R., Imai T., O-Thong S., Sulistyowati L. Biohydrogen production from sago starch in wastewater using an enriched thermophilic mixed culture from hot spring. Int J of Hydrogen Energy 2011; 36 (21):1462-14171. (Impact factor 4.053).

Hniman A., Prasertsan P. and O-Thong S. Community analysis of thermophilic hydrogen-producing bacteria from Southern Thailand geothermal spring enriched with xylose and glucose. Int J of Hydrogen Energy 2011; 36(21):14217-14226. (Impact factor 4.053).

Kongjan P., O-Thong S. and Angelidaki I. Biohydrogen production from molasses desugarized soluble (MDS) in the thermophilic fermentation with load shock pretreated-digested manure. Int J of Hydrogen Energy 2011; 36 (21): 14261-14269. (Impact factor 4.053).

O-Thong S., Mamimin C., Prasertsan P. Effect of temperature and initial pH on biohydrogen production from palm oil mill effluent: long term evaluation and microbial community analysis. Electronic Journal of Biotechnology 2011; 15(5): Doi: 10.2225/vol14-issue5-fulltext-9 (Impact factor 0.95).

Noparat P., Prasertsan P., O-Thong S. Isolation and characterization of high hydrogen-producing strain Clostridium beijerinckii PS-3 from fermented oil palm sap. Int J of Hydrogen Energy 2011; 36(21): 14086-14092. (Impact factor 4.053).

Fang C., O-Thong S., Boe K., Angelidaki I. Comparison of UASB and EGSB reactors performance, for treatment of raw and deoiled palm oil mill effluent (POME). J Hazardous Materials 2011, 189(1-2): 229-234.

Kongjan P., O-Thong S., Angelidaki I. Performance and microbial community analysis of two-stage process with extreme thermophilic hydrogen and thermophilic methane production from

hydrolysate in UASB reactors. Bioresour Technol. 2011, 102: 4028-4035. (Impact factor 4.5).

O-Thong S., Hniman A., Prasertsan P., Imai T. Biohydrogen production from cassava starch processing wastewater by thermophilic mixed cultures. Int J Hydrogen Energy 2011, 36(5): 3409-3416. (Impact factor 4.053).

Hasyim R., Imai T., Reungsang A., O-Thong S. Extreme-thermophilic biohydrogen production by an anaerobic heat treated digested sewage sludge culture. Int J Hydrogen Energy 2011, 36 (14): 8727-8734. (Impact factor 3.95)

Hniman A., O-Thong S. and Prasertsan P. Developing thermophilic hydrogen-producing microbial consortia from geothermal spring for efficient utilization of xylose and glucose mixed substrates and oil palm trunk hydrolysate. Int J Hydrogen Energy 2011, 36 (14): 8785-8793. (Impact factor 3.95)

Pattra S., Lay C. H., Lin C. Y., O-Thong S., Reungsang A. Performance and population analysis of hydrogen production from sugarcane juice by non-sterile continuous stirred tank reactor augmented with Clostridium butyricum. Int J Hydrogen Energy. 2011 34(16): 8697-8703. (Impact factor 3.95)

Kongjan P., O-Thong S., Kotay M., Min B. and Angelidaki I. Biohydrogen production from wheat straw hydrolysate by dark fermentation using extreme thermophilic mixed culture. Biotechnology and Bioengineering 2010, 105(5): 899-908. (Impact factor 4.0)

Sittijunda S., Reungsang A., O-Thong S. Biohydrogen production from poultry slaughterhouse sludge with dual digestion pretreatment. Int J hydrogen energy 2010; 35 (24): 13427-13434. (Impact factor 3.95)

Prasertsan P., O-thong S. and Birkeland N.K. Optimization and microbial community analysis for production of biohydrogen from palm oil mill effluent by thermophilic fermentative process. Int J hydrogen energy 2009; 34: 7448-7459. (Impact factor 3.95).

Zhao C.X., O-Thong S., Karakashev D., Lu W.J., Wang H.T., Angelidaki I. High yield simultaneous hydrogen and ethanol production under extreme-thermophilic (70 °C) mixed culture environment. Int J hydrogen energy 2009; 34 (14): 5657-5665. (Impact factor 3.95).

O-Thong S, Prasertsan P, Birkeland NK. Evaluation of methods for preparing thermophilic hydrogen producing seeds from anaerobic digested sludge with microbial communities aspects. Bioresour Technol 2009; 100: 909-918. (Impact factor 4.10)

O-Thong S, Prasertsan P, Karakashev D, Angelidaki I. High-rate continuous hydrogen production by Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum PSU-2 immobilized on thermo-treated methanogenic granules. Int J Hydrogen Energy 2008; 33: 6498-6508. (Impact factor 3.95)

O-Thong S, Prasertsan P, Karakashev D, Angelidaki I. Specific detection of *Thermoanaerobacterium* spp., *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum*, and *Caldicellulosiruptor* spp. in thermophilic biohydrogen producing system by fluorescent in situ hybridization (FISH). Int J Hydrogen Energy 2008; 33: 6082-6091. (Impact factor 3.95).

O-Thong S, Prasertsan P, Karakashev D, Angelidaki I. Thermophilic fermentative hydrogen production by the newly isolated Thermoanerobacterium thermosaccharolyticum PSU-2. Int J Hydrogen Energy 2008; 33: 1204-1214. (Impact factor 3.95).

O-Thong S, Prasertsan P, Intrasungkha N, Dhamwichukorn S, Birkeland NK. Optimization of simultaneous thermophilic fermentative hydrogen production and COD reduction from palm oil mill effluent by Thermoanaerobacterium-rich sludge. Int J Hydrogen Energy 2008; 33: 1221-1231. (Impact factor 3.95).

O-Thong S, Prasertsan P, Intrasungkha N, Dhamwichukorn S, Birkeland NK. Improvement of biohydrogen production and pollution reduction from palm oil mill effluent with nutrient supplementation at thermophilic condition using an anaerobic sequencing batch reactor. Enzyme Microb Technol 2007; 41: 583-590. (Impact factor 2.7).

Niha N, Siriwat P, O-Thong S, Sukrakarn N, Intrasungkha N. Modification of nitrate determination in saline wastewater by using the copper-cadmium reduction column method and commercial nitrite test kit, Merck Ltd. Thai Environ Eng J 2005; 19: 113-121

O-Thong S, Songsang S, Jaubongo S, Prasertsan P, Intrasungkha N. A field survey of microbial products used in marine shrimp cultivation and preliminary evaluation of their wastewater treatment efficiency. Thaksin Univ J 2004; 7: 1-12.

O-Thong S, Jiapakdee R, Intrasungkha N. Wastewater generated from marine shrimp feed and its treatment potential by internal filter system. Thaksin Univ J 2003; 6: 41-53.

การนำเสนอผลงานทางวิชาการ

Sutummawong N., Sumpanthamit T., Ketmai W.,O-thong S., Tessana N. Biodiversity and Utilization Potential of Indigenous Vegetables for Food in Kong Ra District, Phatthalung Province, THAILAND, 2010 International Conference on Chemistry and Chemical Engineering (ICCCE 2010), 431-434

Hasyim R., Imai T. and O-Thong S. 2010. Fermentative hydrogen production from sago starch by thermophilic enriched culture from hot spring in Southern Thailand Proceedings of the Environmental Research Event 2010, CQ University, Rockhampton, QLD.

Intharachood M. and O-Thong S. 2010. Biohydrogen production from cassava starch manufacturing wastewater by thermophilic bacteria. CNWEG 2010, 11-12 February 2010 JB hotel Songkla, Thailand.

Khrueamala R., Katemai W. and O-Thong S. 2010. Isolation of cellulose-degrading bacteria and application for bioethanol production from oil palm trunk. CNWEG 2010, 11-12 February 2010 JB hotel Songkla, Thailand.

Beraheang A., Katemai W. and O-Thong S. 2010. Bioethanol production from old oil palm trunk juice by co-culture of yeast and bacteria. CNWEG 2010, 11-12 February 2010 JB hotel Songkla, Thailand.

Thongdamyu P., Intrasungkha N. and O-Thong S. 2010. Development of ethanol production from canteen food waste by co-culture of yeast and bacteria. CNWEG 2010, 11-12 February 2010 JB hotel Songkla, Thailand.

O-Thong S., Prasertsan P., Karakashev D. and Angelidaki I.2009. 16S RRNA-targeted probes for specific detection of Thermoanaerobacterium spp., Thermoanaerobacterium Thermosaccharolyticum, and Caldicellulosiruptor spp. by fluorescent in situ hybridization in biohydrogen producing systems. CHE-USDC Congress II, 2009. 27-29 August 2009 Dusit Thani Pattaya hotel Thailand.

Hniman A., O-Thong S. and Prasertsan P. 2009. Community analysis of thermophilic hydrogen-producing bacteria from Southern Thailand geothermal spring enriched with xylose and glucose. Fervaap 2009, 26-28 August 2009 Khon Kaen, Thailand.

O-Thong S. and Reungsang A. 2009. Potential of using mixed microflora enriched from cattle manure for biohydrogen production from lignocellulosic biomass. Fervaap 2009, 26-28 August 2009 Khon Kaen, Thailand.

O-Thong S. 2009. Optimization of key parameters for hydrogen production from xylose by Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum PSU-2. Fervaap 2009, 26-28 August 2009 Khon Kaen, Thailand.

Kongjan P., O-Thong S. and Angelidaki I. 2009. Continuous biohydrogen production from xylose by thermophilic mixed culture fermentation with up-flow anaerobic reactors. Fervaap 2009, 26-28 August 2009 Khon Kaen, Thailand

Pattra S., Imai T., O-Thong S. and Reungsang A. 2009. Optimization of process parameters on methane production form hydrogenogenic effluent by response surface methodology, Fervaap 2009, 26-28 August 2009 Khon Kaen, Thailand.

O-thong S., Prasertsan P. and Imai T. 2009. Bioprospecting thermophilic microorganisms from southern Thailand geothermal spring for biohydrogen production from xylose, The 10th Asian hydrogen energy conference AHEC 2009, 8-10 april 2009, Daegu, South Korea.

Hniman A., Prasertsan P. and O-thong S. 2009. Biohydrogen production from cellulose by syntrophic co-culture of baillus sp. and Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum PSU-2, The 10th Asian hydrogen energy conference AHEC 2009, 8-10 april 2009, Daegu, South Korea.

O-Thong S., Prasertsan P., Karakashev D. and Angelidaki I. 2009. Bioaugmentation of an upflow biofilm biohydrogen producing reactors under extreme thermophilic condition for improvement of the hydrogen yield and start up time. BIT's 2 nd annual world congress of industrial biotechnology, 5-7 april 2009, seoul South Korea.

Zhao C.X., O-Thong S., Karakashev D., Lu W.J., Wang H.T., Angelidaki I. 2008. Effect of substrate concentration, pH and nutrient on extreme-thermophilic hydrogen and ethanol production by mixed cultures. The 2008 Asian Biohydrogen Symposium, 26-28 December 2008, Harbin, China.

Sittijunda S., Reungsang A., O-Thong S. 2008. Biohydrogen production from poultry slaghterouse sludge with dual digestion pretreatment. The 2008 Asian Biohydrogen Symposium, 26-28 December 2008, Harbin, China.

O-Thong S., Prasertsan P., Hniman A. 2008. Production of hydrogen and methane from palm oil mill effluent using a two stage anaerobic digestion process. The 2008 Asian Biohydrogen Symposium, 26-28 December 2008, Harbin, China.

O-Thong S., Prasertsan P., Intrasungkha N., Danle H., Birkeland N.K. 2008. Isolation and microbial community analysis of a thermophilic mixed culture sludge for biohydrogen production. TSB 2008: Biotechnology for global care, 14-17 October 2008, Mahasarakham, Thailand.

Prasertsan P., O-Thong S. and Birkeland N.K. 2008. Thermophilic biohydrogen production from palm oil mill effluent by mixed culture community using anaerobic sequencing batch reactor (ASBR). International Workshop on Biohydrogen Technology, 6-9 February 2008, Kharagpur, India.

O-Thong S., Prasertsan P., Karakashev D. and Angelidaki, I. 2008. Specific detection of Thermoanaerobacterium spp., Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum, and Caldicellulosiruptor spp. in thermophilic biohydrogen producing system by fluorescent in situ hybridization (FISH). International Workshop on Biohydrogen Technology, 6-9 February 2008, Kharagpur, India.

O-Thong S., Prasertsan P., Karakashev D. and Angelidaki, I. 2007. High-rate continuous hydrogen production by natural immobilized Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum strain PSU-2 as biofilm on treated methanogenic granules. World Congress on Anaerobic Digestion. 23-27 September 2007, Brisbane, Australia.

Prasertsan P., O-Thong S., Intrasungkha N., Dhamwichukorn S. and Nils-Kåre Birkeland. 2007. Thermophilic biohydrogen production from palm oil mill effluent with anaerobic sequencing batch reactor and microbial community structure. The 2nd Fermentation Technology for Value Added Agricultural Products Conference. 23-25 May 2007, Khonkhen University, Thailand.

Prasertsan P., O-Thong S., Intrasungkha N., Dhamwichukorn S. and Nils-Kåre Birkeland. 2006. Optimization of simultaneous thermophilic fermentative hydrogen production and COD reduction from palm oil mill effluent by Thermoanaerobacterium-rich sludge. IWA World Water Congress. 20-25 October 2006, Beijing China.

O-Thong S., Prasertsan P. 2005. Effect of inoculum source and high temperature on biohydrogen production from palm oil mill effluent using anaerobic mixed cultures. RGJ Seminar Series XXXV: Science Technology and Medicines. 19 August 2005, Prince of Songkla University.

O-Thong S., Intrasungkha N. and Prasertsan P. 2005. Evaluation on the impact of Bacillales and Lactobacillales augmentation for shrimp farming wastewater improvement by fluorescence in situ hybridization (FISH). 1st IWA-ASPIRE. Conference. 10th –15th July, 2005, Singapore.

Nihah N., Siriwatt P., Somjit K., O-Thong S. and Intrasungkha, N. 2004. Modified nitrate determination in saline wastewater by using the cadmium-copper reduction column method incorporating with commercial nitrite test kit (Merck Ltd.). 3rd National Environmental Conference. 28-30 January, 2004. Songkhla, Thailand.

Pochkumnurd N., O-Thong S. and Intrasungkha N. 2004. Effect of C to N ratio on bacterial population dynamics in marine shrimp farming wastewater treatment using sequencing batch reactor (SBR) system. 3rd National Environmental Conference. 28-30 January, 2004. Songkhla, Thailand.

Intrasungkha N., Nihah N., Siriwatt P. Ponpay S. and O-Thong S. 2004. Complete nitrogen removal in saline wastewater using two-step sequencing batch reactors. 3rd National Environmental Conference. 28-30 January, 2004. Songkhla, Thailand.

O-Thong S., Pratummanee M., Suksatit S. and Wattanachant C. 2004. Chlorine types and water supply quality on chlorine solubility efficiency to protect pathogenic bacteria and mastitis situation in dairy farms at Paphayom, Phatthalung province. 3rd Southern Animal Science Conference. 18-19 August, 2004. Hat-Yai, Songkhla, Thailand.

Suksatit S., O-Thong S., Odton V. and Wattanachant C. 2004. Preliminary study on microorganisms population change in acidified milk. 3rd Southern Animal Science Conference. 18-19 August, 2004. Hat-Yai, Songkhla, Thailand.

Suksatit S., O-Thong S., Pratummanee M., Chaicay J., Intrasungkha N., Wattanachant C. 2004. Bulk milk quality analysis in microbiology and milk compositions aspect of dairy farms at Paphayom district, Phatthalung province. 3rd Southern Animal Science Conference. 18-19 August, 2004. Hat-Yai, Songkhla, Thailand.

Pratummanee M., Sataporn J., Laechan J., O-Thong S., Suksatit S., Intrasungkha N. and Wattanachant C. 2004. Ratio and relationship of Staphylococcus spp., Streptococcus spp., total coliform and Escherichia coli found in raw mastitis milks. 3rd Southern Animal Science Conference. 18-19 August, 2004. Hat-Yai, Songkhla, Thailand.

O-Thong S., Prasertsan P. and Intrasungkha N. 2003. Comparison of simultaneous organic carbon and ammonia – nitrogen removal efficiencies from shrimp farming wastewater using commercial and natural microbial inocula in sequencing batch reactor. AsianWaterqual2003 Conference. 19-23 October, 2003. Bangkok, Thailand.

O-Thong S., Songsang S., Jaubongo S., Prasertsan P. and Intrasungkha N. 2002. Survey of microbial inocula used in shrimp cultivation and preliminary evaluation of their treatment efficiency of shrimp farm effluent in Songkhla province. Thao Ngam Science Consortium Conference. 24-25 November, 2002, Phitsanulok, Thailand.

Paungfoo C., O-Thong S., Prasertsan P., Intrasungkha N and Bhamidimarri R. (2001). Ammonia removal from saline wastewater by nitrifying bacteria in sequencing batch reactor. Proceeding of Thailand Science and Technology Conference 27th 16-18 October, 2001. Songkhla Thailand.