



## การผลิตและการใช้ปุ๋ยชีวภาพฟัจฟิอาร์



กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4  
กรมวิชาการเกษตร

## สารบัญ

| เรื่อง                                        | หน้า |
|-----------------------------------------------|------|
| ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์คืออะไร                   | 1    |
| การใช้ประโยชน์ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์            | 4    |
| การผลิตปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ในระดับเครือข่าย   | 5    |
| การนำปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ไปใช้ในพื้นที่ สวพ.4 | 14   |
| การสร้างเครือข่ายผู้ใช้ประโยชน์               | 17   |
| ความพึงพอใจของผู้ใช้ประโยชน์                  | 18   |
| เอกสารอ้างอิง                                 | 19   |

## ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์

**“ปุ๋ยชีวภาพ”** ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2550 หมายความว่า ปุ๋ยที่ได้จากการนำจุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่สามารถสร้างธาตุอาหารหรือช่วยให้ธาตุอาหารเป็นประโยชน์กับพืช มาใช้ในการปรับปรุงบำรุงดินทางชีวภาพทางกายภาพหรือทางชีวเคมี และให้หมายความรวมถึงหัวเชื้อจุลินทรีย์ ชนิดของปุ๋ยชีวภาพ ได้แก่

- ปุ๋ยชีวภาพไมโครไรซา
- ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม
- ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์
- ปุ๋ยชีวภาพสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน
- ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต
- ปุ๋ยชีวภาพແຫນແດງ



ภาพที่ 1 ปุ๋ยชีวภาพชนิดต่างๆ (ก) ไรโซเบียม (ข) ไมโครไรซา (ค) ฟิซีฟิอาร์ (ง) ละลายฟอสเฟต (จ) แหนแดง  
(ฉ) สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ

1. ปุ๋ยชีวภาพที่สร้างธาตุอาหารพืช ได้แก่ ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม ฟิซีฟิอาร์ แหนแดง
2. ปุ๋ยชีวภาพที่ช่วยให้ธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์แก่พืช ได้แก่ ปุ๋ยชีวภาพไมโครไรซา ละลายฟอสเฟต ละลายโพแทสเซียม

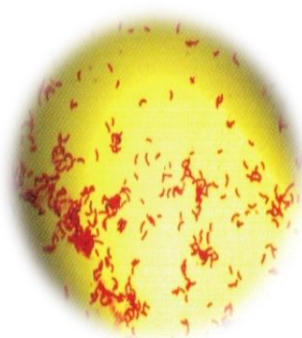
## ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ คืออะไร?

“ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ หรือ ปุ๋ยชีวภาพแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Plant Growth Promoting Rhizobacteria or PGPR)” เป็นปุ๋ยชีวภาพที่ประกอบด้วยแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในดินบริเวณรอบรากพืช (rhizosphere) และช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ โดยแบคทีเรียกลุ่มนี้มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจน เพิ่มความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารพืช สร้างสารซีเตอโรฟออร์ (siderophores) ซึ่งมีสมบัติเพิ่มการนำธาตุเหล็กเข้าสู่เซลล์พืช โดยการแย่งจับธาตุเหล็กบริเวณรอบรากพืช ทำให้เชื้อราโรคพืชไม่สามารถนำธาตุเหล็กไปใช้ได้ นอกจากนี้ยังสามารถสร้างฮอร์โมนพืช (phytohormones) เช่น ฮอร์โมนกลุ่มออกซิน (auxins) ซึ่งกระตุ้นการยืดตัวของเซลล์ การแบ่งเซลล์และการเปลี่ยนแปลงสภาพของเซลล์ สร้างเอนไซม์ไคตินเนส (chitinase) และลามินารินเนส (laminarinase) ย่อยสลายเชื้อราโรคพืช สร้างสารปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ เป็นต้น (หนึ่ง, 2548; ธงชัย, 2550 และ Glick et al., 1999) ซึ่งในแบคทีเรียบางสกุลมีความสามารถหลายอย่างรวมกัน เช่น แบคทีเรียสกุลอะโซสไพริลลัม (*Azospirillum*) บางสายพันธุ์มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจน ช่วยละลายฟอสเฟต ผลิตฮอร์โมนส่งเสริมการเจริญของรากพืช และช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการดูดธาตุอาหารพืช

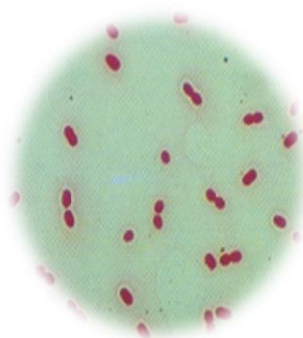
## ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ของกรมวิชาการเกษตร

แบ่งออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่

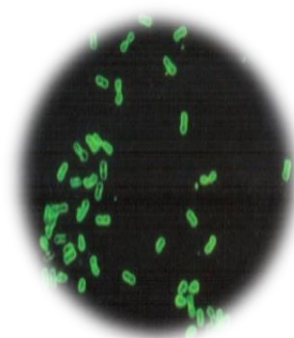
1. ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน ประกอบด้วย แบคทีเรีย 3 ชนิด ได้แก่ *Azospirillum brasilense*, *Azotobacter vinelandii* และ *Beijerinckia mobilis* มีปริมาณจุลินทรีย์รับรองไม่ต่ำกว่า  $1 \times 10^6$  โคโลนี ต่อ ปุ๋ยชีวภาพ 1 กรัม เหมาะสำหรับใช้กับ ข้าวโพด ข้าวฟ่าง
2. ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-ทู ประกอบด้วย แบคทีเรีย 2 ชนิด ได้แก่ *Azospirillum brasilense* และ *Burkholderia vietnamiensis* มีปริมาณจุลินทรีย์รับรองไม่ต่ำกว่า  $1 \times 10^6$  โคโลนี ต่อ ปุ๋ยชีวภาพ 1 กรัม เหมาะสำหรับใช้กับข้าว
3. ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-ทรี ประกอบด้วย แบคทีเรีย 2 ชนิด ได้แก่ *Azospirillum brasilense* และ *Gluconacetobacter diazotrophicus* มีปริมาณจุลินทรีย์รับรองไม่ต่ำกว่า  $1 \times 10^6$  โคโลนี ต่อ ปุ๋ยชีวภาพ 1 กรัม เหมาะสำหรับใช้กับมันสำปะหลัง



*Azospirillum brasilense*



*Azotobacter vinelandii*



*Beijerinckia mobilis*

ภาพที่ 2 ชนิดแบคทีเรียที่มีอยู่ในปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์

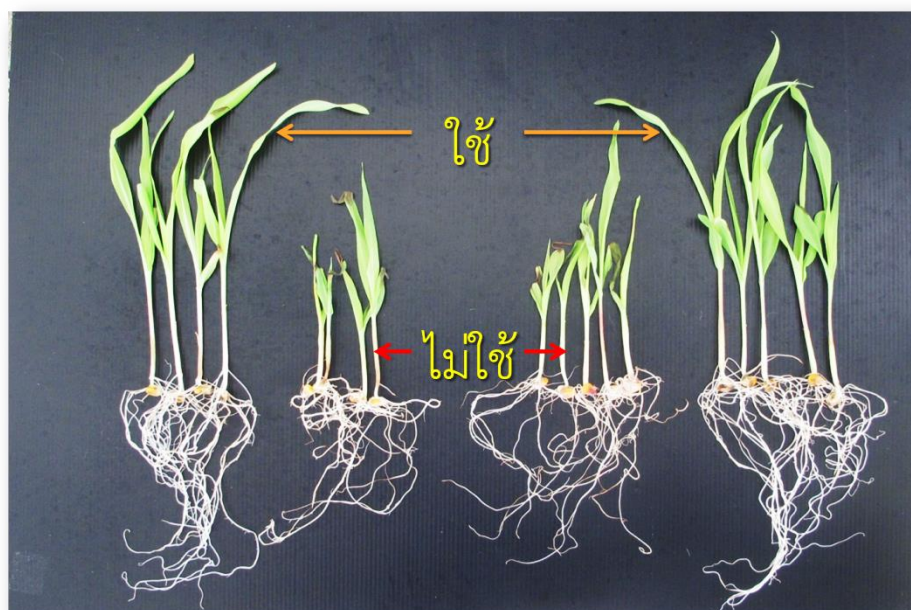


ภาพที่ 3 ชนิดของปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์

## ประโยชน์ของปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์

ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ช่วยในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชโดยผลิตสารคล้ายฮอร์โมนพืชช่วยเพิ่มปริมาณราก เพิ่มการดูดน้ำและปุ๋ย ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตให้กับพืช โดยช่วยตรึงไนโตรเจน ช่วยละลายฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมที่มีอยู่ในดิน และเพิ่มการนำธาตุหลักเข้าเซลล์พืช

1. ช่วยเพิ่มปริมาณราก อย่างน้อย 20%
2. ลดการใช้ปุ๋ยเคมี อย่างน้อย 25%
3. ช่วยเพิ่มผลผลิตพืช อย่างน้อย 10%
4. เพิ่มประสิทธิภาพในการดูดน้ำและปุ๋ย อย่างน้อย 15%



ภาพที่

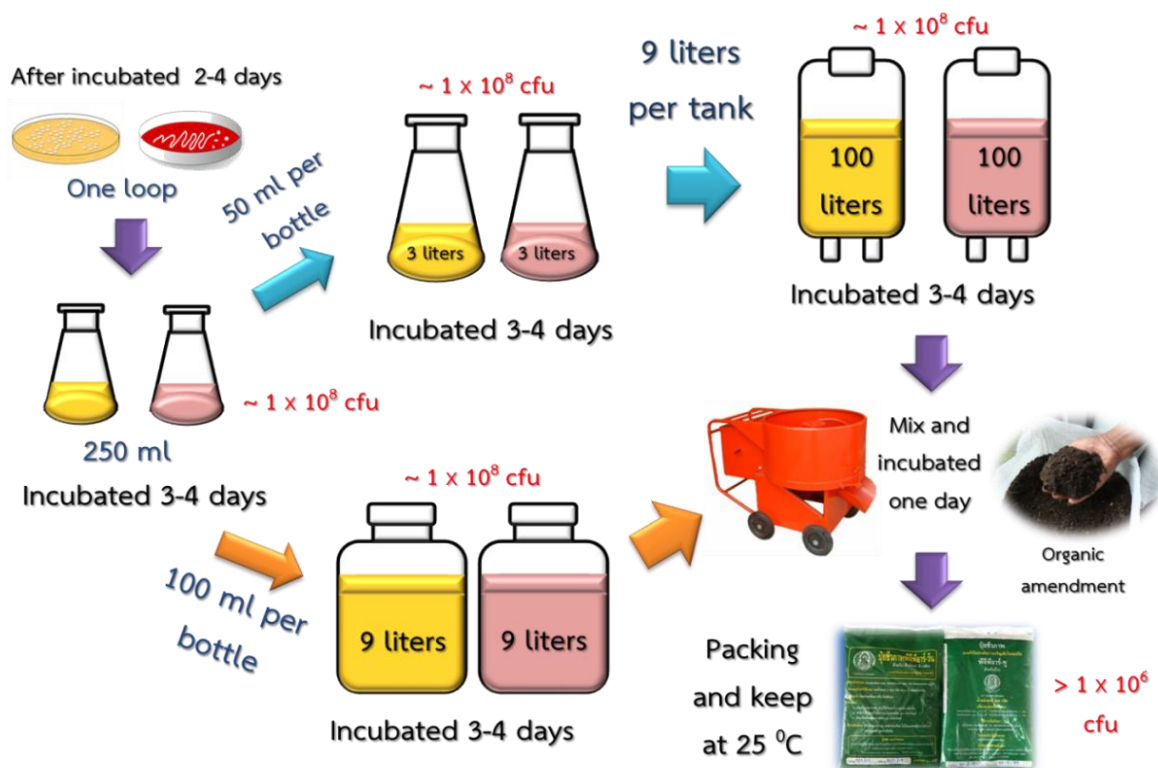
4

ตัวอย่างรากของข้าวโพดระหว่างเมล็ดที่คลุกปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์กับไม่ได้คลุกเมล็ด

## การผลิตปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ระดับเครือข่าย

ใช้เวลาในการผลิต 14-19 วัน สามารถผลิตปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ได้ครั้งละ 2,000 ถุง มีขั้นตอนในการผลิต จำนวน 6 ขั้นตอน ดังนี้

1. เลี้ยงเชื้อพันธุ์ในจานเพาะเชื้อด้วยอาหารจำเพาะ เป็นเวลา 2-4 วัน เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์
2. นำเชื้อพันธุ์ที่ได้จากข้อ 1 มาทำการเลี้ยงเป็นหัวเชื้อ (starter) ในขวดรูปชมพู่ที่บรรจุอาหารจำเพาะ เป็นเวลา 3-4 วัน ขึ้นอยู่กับชนิดเชื้อแบคทีเรีย
3. นำหัวเชื้อจากข้อ 2 ฉีดลงในขวดอาหารเลี้ยงเชื้อขนาดใหญ่ บรรจุอาหารจำเพาะ ปริมาณ 250 มล. และทำการเลี้ยงเชื้อต่อเป็นเวลา 3-4 วัน ขึ้นอยู่กับชนิดเชื้อแบคทีเรีย
4. นำหัวเชื้อจากข้อ 3 ฉีดลงในถังเพาะเลี้ยงเชื้อ (fermenter) ปริมาณ 9 ลิตร และทำการเลี้ยงเชื้อต่อเป็นเวลา 3-4 วัน ขึ้นอยู่กับชนิดเชื้อแบคทีเรีย
5. นำเชื้อเหลวที่ได้จากข้อ 4 มาผสมกับวัสดุพา (carrier) (ปุ๋ยหมักที่ย่อยสลายสมบูรณ์) โดยให้ความเข้มข้นไม่เกิน 60% แล้วบ่มทิ้งไว้ 1 วัน
6. ทำการบรรจุปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ลงถุงบรรจุ ถุงละ 500 กรัม และเก็บรักษาไว้ในห้องไม่ให้โดนแดด



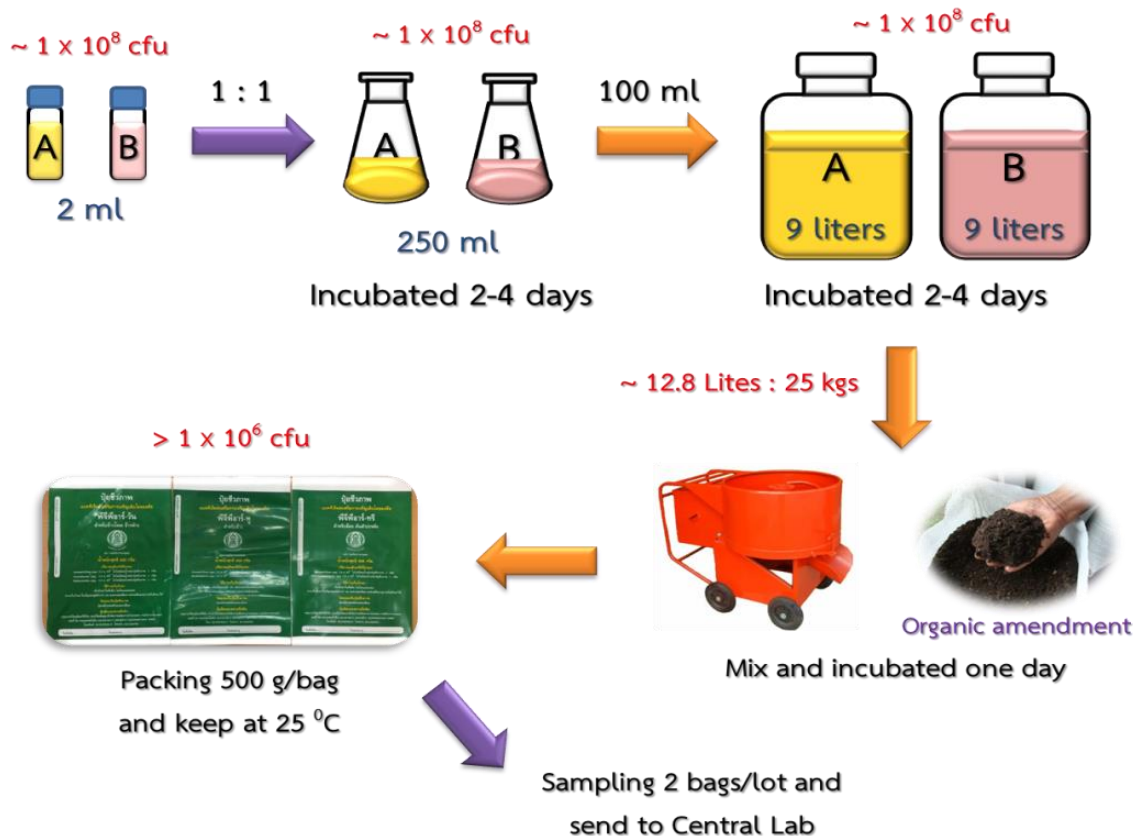
ภาพที่ 5 ขั้นตอนการผลิตปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์

## ขั้นตอนการผลิตปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ของศูนย์ขยายผล

การผลิตปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ของศูนย์ขยายผลเป็นการลดขั้นตอนการปฏิบัติงานซึ่งใช้เวลาในการผลิตเพียง 5-9 วัน สามารถผลิตปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ ได้ครั้งละ 170-180 ถุง/เชื้อเหลว 4 ขวด มีขั้นตอนในการผลิตจำนวน 4 ขั้นตอน ดังนี้

1. นำเชื้อเหลวที่ได้จากห้องปฏิบัติการ มาทำการเลี้ยงเป็นหัวเชื้อ (starter) โดยเทเชื้อเหลว จำนวน 1 หลอด (2 มล.) ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ที่บรรจุอาหารเหลวจำเพาะ (250 มล.) และทำการเลี้ยงเชื้อต่อเป็นเวลา 2-3 วัน
2. นำหัวเชื้อจากข้อ ก จำนวน 100 มล. ฉีดลงในขวดอาหารเลี้ยงเชื้อขนาดใหญ่ (fermenter) ที่บรรจุอาหารเหลวจำเพาะ (9 ลิตร) และทำการเลี้ยงเชื้อต่อเป็นเวลา 2-3 วัน
3. นำเชื้อเหลวที่ได้จากข้อ ข มาผสมกับวัสดุพา (เปลือกยูคาแห้งน้ำ 10 ปี บดละเอียด) โดยให้ความชื้นไม่เกิน 60 เปอร์เซ็นต์ (อัตราส่วนโดยประมาณ เชื้อเหลว 12.8 ลิตร/วัสดุพา 25 กก.) และบ่มทิ้งไว้หนึ่งคืน
4. ทำการบรรจุถุงปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ ถุงละ 500 กรัม และเก็บรักษาไว้ในห้องเย็น 25°C หรือต่ำกว่า

**\*\*หลังจากเสร็จสิ้นกระบวนการผลิต ต้องทำการเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์ส่งตรวจ ณ ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ยชีวภาพทุกครั้ง\*\***



ภาพที่ 6 ขั้นตอนการผลิตปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ของศูนย์ขยายผล

## การผลิตปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน

ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน ประกอบด้วยแบคทีเรีย 3 สกุล ซึ่งมีระยะเวลาในการเจริญเติบโตแตกต่างกัน ดังนี้

1. *Azospirillum brasilense* (A1) ใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโต 2-3 วัน ใช้อาหาร NFb ในการเลี้ยง
2. *Azotobacter valendii* (B1) ใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโต 2-3 วัน ใช้อาหาร Azoto ในการเลี้ยง
3. *Beijerinckia mobilis* (C1) ใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโต 4-5 วัน ใช้อาหาร Beijer ในการเลี้ยง

## การผลิตปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-ทู

ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-ทู ประกอบด้วยแบคทีเรีย 2 สกุล ซึ่งมีระยะเวลาในการเจริญเติบโตใกล้เคียงกัน ดังนี้

1. *Azospirillum brasilense* (A2) ใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโต 2-3 วัน ใช้อาหาร NFb-1 ในการเลี้ยง
2. *Burkholderia vietnamiensis* (B2) ใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโต 2-3 วัน ใช้อาหาร NFb-1 ในการเลี้ยง

## การผลิตปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-ทรี

ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-ทรี ประกอบด้วยแบคทีเรีย 2 สกุล ซึ่งมีระยะเวลาในการเจริญเติบโตใกล้เคียงกัน ดังนี้

1. *Azospirillum brasilense* (A3) ใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโต 2-3 วัน ใช้อาหาร NFb ในการเลี้ยง
2. *Gluconacetobacter diazotrophicus* (B3) ใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโต 3-4 วัน ใช้อาหาร LGI ในการเลี้ยง

## การตรวจสอบคุณภาพปุ๋ยชีวภาพ

### 1. การนับปริมาณด้วยวิธี Total plate count

Standard plate count หรือ วิธีตรวจนับจุลินทรีย์มาตรฐาน เรียกว่า SPC อาจเรียกว่า Aerobic plate count (APC) หรือ Total viable count (TVA) หรือปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด

การตรวจนับจุลินทรีย์ เป็นการนับปริมาณโคโลนี (colony) ที่มีขนาดใหญ่พอที่จะมองเห็นด้วยตาเปล่า หรือมองเห็นด้วยแว่นขยาย ซึ่งมาจากเซลล์ของจุลินทรีย์จะถูกตรึงอยู่กับที่ เจริญเติบโตและแบ่งตัวจากเซลล์เดียวเป็นหลาย ๆ เซลล์อยู่บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

ค่าที่ได้จากการตรวจนับจุลินทรีย์มาตรฐาน คือ colony forming unit (cfu)

### การเจือจางตัวอย่าง

โดยทั่วไปการนับจำนวนจุลินทรีย์ จะนับเฉพาะจานอาหารที่มีจำนวนเซลล์ระหว่าง 25-250 เซลล์ เพื่อให้จำนวนโคโลนีที่เจริญบนจานอาหาร อยู่ในช่วงดังกล่าว ไม่มากหรือน้อยเกินไปจึงต้อง นำตัวอย่างมาเจือจาง เป็นลำดับ ด้วยวิธี serial Dilution

การทำ serial dilution คือ เจือจางตัวอย่าง เชื้อเริ่มต้นโดยทั่วไปทำเป็นลำดับ ๆ ละ 10 เท่าโดยใช้ปิเปตดูดตัวอย่างแต่ละ Dilution ปริมาณ 1 มล. ใส่ในจานเพาะเชื้อเทอาหารวุ้น (nutrient agar) ลงในจานผสมให้เข้ากันทิ้งไว้ให้วุ้นแข็งกว่าจานลง บ่ม (incubate) 48 ชั่วโมง หรือตามอายุการเจริญเติบโตของเชื้อ หลังจากนั้นจึงทำการนับปริมาณ

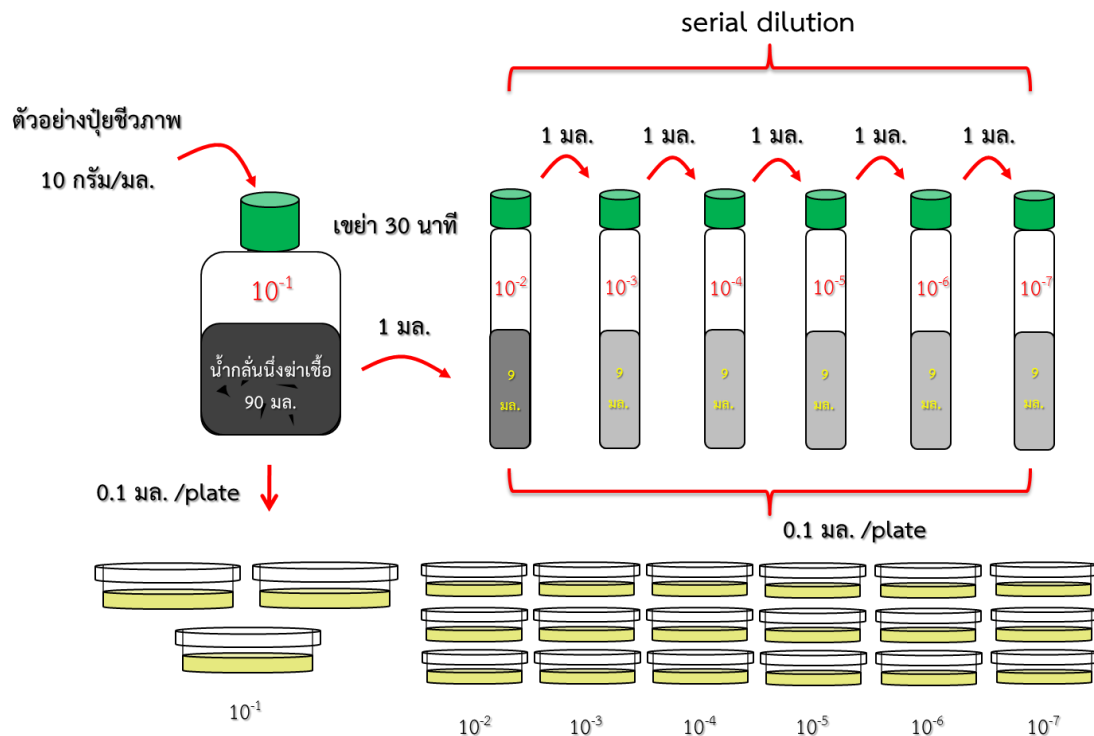
### วิธีคำนวณปริมาณ

จำนวนจุลินทรีย์ต่อหนึ่งหน่วยน้ำหนัก หรือ จำนวนจุลินทรีย์ต่อหนึ่งหน่วยปริมาตร จะสามารถคำนวณ ได้จากผลการนับจำนวนจุลินทรีย์ที่โตในอาหารเลี้ยงเชื้อจากลำดับตัวอย่างที่เจือจางเป็นเท่าติดต่อกัน การคำนวณทำได้โดย

$$\text{จำนวนแบคทีเรีย (Cfu/ml)} = \text{จำนวนโคโลนีบนจานอาหาร} \times \text{ระดับความเจือจาง ปริมาณตัวอย่างที่ใส่ลงใน Petri dish}$$

### สิ่งที่ต้องคำนึงถึงคือ

- จุลินทรีย์ที่ไม่สามารถเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ เราก็ไม่สามารถตรวจนับได้ซึ่งได้แก่ ไวรัส และแบคทีเรียที่เพาะยากบางชนิด
- จำนวนโคโลนีที่ความเจือจางสูงควรน้อยกว่าจำนวนโคโลนีที่ความเจือจางต่ำลดลงมาประมาณ 10 เท่า ถ้าคลาดเคลื่อนไปมาก แสดงว่ามีความผิดพลาดเกิดขึ้น อาจเนื่องมาจากการเจือจางไม่ดี หรือ เชื้อผสมกับอาหารวุ้นไม่ดี
- นับ plate ที่มีเชื้อขึ้นระหว่าง 30-300 โคโลนี



ภาพที่ 6 ขั้นตอนการนับปริมาณด้วยวิธี Total plate count

## 2. การนับปริมาณด้วยวิธี The most probable number of coliform organism (MPN)

หลักการ MPN คือ จุลินทรีย์จะมีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอในของเหลว ถ้าแบ่งของเหลวนี้ออกเป็นส่วนเท่า ๆ กัน แต่ละส่วนจะมีปริมาณจุลินทรีย์ใกล้เคียงกัน อาจมากกว่าหรือน้อยกว่าบ้าง โดยใช้

1. ระบบ 3 หลอด หมายถึง จำนวนของหลอดเลี้ยงเชื้อที่ใช้หมักต่อปริมาณตัวอย่างแต่ละตัวอย่างมี 3 หลอด
2. ระบบ 5 หลอด หมายถึง จำนวนของหลอดเลี้ยงเชื้อที่ใช้หมักต่อปริมาณตัวอย่างแต่ละตัวอย่างมี 5 หลอด

มีปริมาณความเข้มข้นของตัวอย่างที่ใช้ต่างกัน ดังนี้ คือ อัตราส่วน 1:10, 1:100 และ 1:1000 ค่าเฉลี่ยที่ได้นี้คือ MPN ซึ่งเป็นค่าทางสถิติที่ไม่มีหน่วย

### การคำนวณค่าดัชนี MPN

นำจำนวนของหลอดที่ให้ผล positive ของแต่ละระดับการเจือจางจำนวน 3 ระดับ ในการตรวจสอบ ขึ้นยืนยัน มาหาค่าปริมาณของเชื้อแบคทีเรีย ในตัวอย่างเทียบกับตารางดัชนี MPN เช่น ถ้าในอนุกรมการเจือจางตัวอย่าง 10, 1, 0.1 พบว่า

10 มล. มีหลอดที่ให้ผลบวก 4 หลอดจาก 5 หลอด (ระดับการเจือจางแรกควรเข้าใกล้ 5)

1 มล. มีหลอดที่ให้ผลบวก 3 หลอดจาก 5 หลอด

0.1 มล. มีหลอดที่ให้ผลบวก 1 หลอดจาก 5 หลอด (ระดับการเจือจางสุดท้ายควรเข้าใกล้ 0 ไม่ควรเกิน 2)

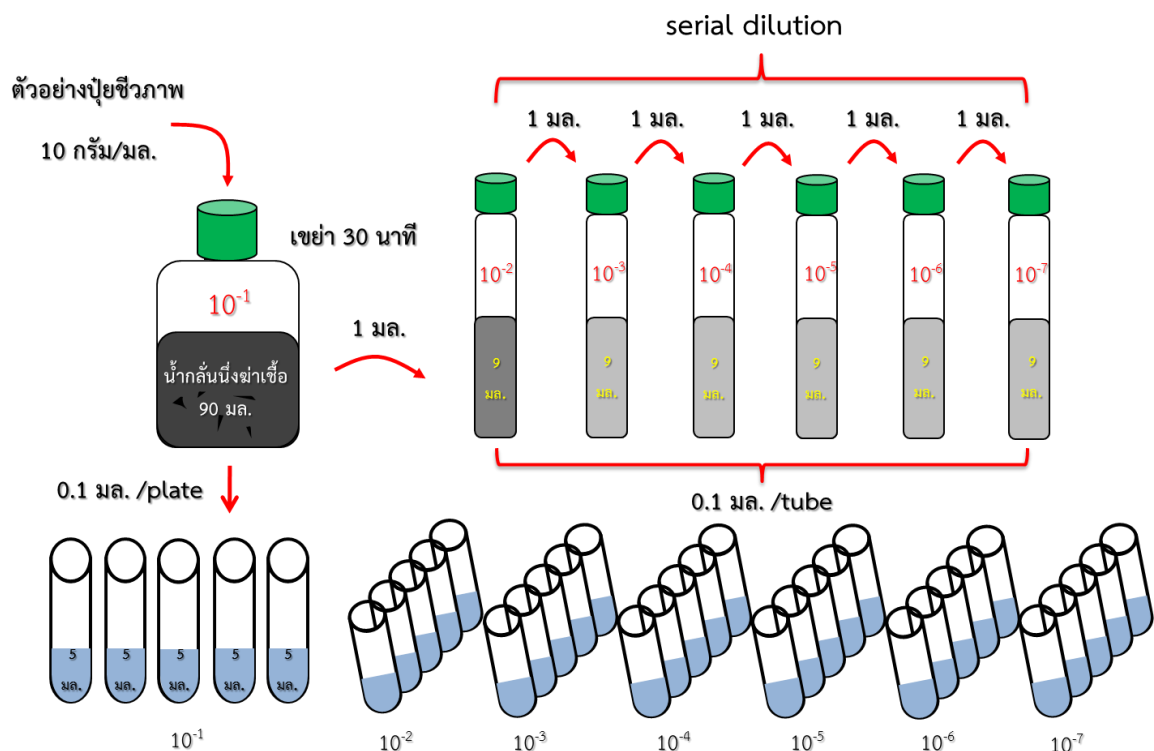
ดังนั้นให้ไปเปิดดูตารางดัชนี MPN จากเลขรวมของหลอดที่ให้ผลบวก คือ 4-3-1 ซึ่งจะให้ค่าดัชนี MPN ของตัวอย่างเป็น 33 MPN/100 มล. ของตัวอย่าง

แต่ถ้าอนุกรมการเจือจางตัวอย่างน้ำที่อ่านผลได้เป็น 1,0,1,0.01 มล. ค่าที่อ่านได้จากดัชนี MPN จะต้องคูณด้วย 10

แต่ถ้าอนุกรมการเจือจางตัวอย่างน้ำที่อ่านผลได้เป็น 0.1, 0.01, 0.001 มล. ค่าที่อ่านได้จากดัชนี MPN จะต้องคูณด้วย 100

บางครั้งผลที่ได้อาจจะอ่านไม่ได้จากตารางดัชนี MPN ให้ทำการคำนวณหาค่า MPN/100 มล.

$$\text{MPN/100 มิลลิตร} = \frac{\text{จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก} \times 100}{(\text{ผลรวมปริมาตรตัวอย่างที่ใส่ทดสอบที่ให้ผลลบ}) \times (\text{ผลรวมปริมาตรตัวอย่างที่ใส่ทุกหลอด})}$$



ภาพที่ 7 ขั้นตอนการนับปริมาณด้วยวิธี MPN

### 3. การย้อมสีแกรม

การย้อมสีแบคทีเรียโดยทั่วไปมี 2 ลักษณะ คือ

1. การย้อมแบบเนกาทีฟ (negative) การย้อมสีวิธีนี้เซลล์จะไม่ติดสีแต่พื้นที่ส่วนรอบเซลล์จะติดสีที่ ย้อมอาจใช้โมเลกุลใหญ่ เช่น india ink หรือ สี negrosin ก็ได้
2. การย้อมสีแบบโพสิทีฟ (positive) เป็นการย้อมสีโดยที่ตัวเซลล์หรือโครงสร้างของเซลล์จะติดสีโดย พื้นที่โดยรอบไม่ติดสีสำหรับการย้อมวิธีนี้ถ้าใช้สีเดียวในการย้อม เรียกว่า simple strain แต่ถ้าใช้สีมากกว่า หนึ่งชนิด เรียกว่า differential strain

การย้อมสีแกรม เป็นวิธีเบื้องต้นในการจำแนกแบคทีเรียออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ แบคทีเรียแกรมบวก และแบคทีเรียแกรมลบ การย้อมนี้จัดเป็นการย้อมแบบ differential staining ซึ่งหมายถึงการใช้สีย้อมตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป สีย้อมแรกเรียกว่า primary stain ซึ่งได้แก่สี crystal violet ส่วนสีที่สองเรียกว่า counter stain หรือ secondary stain สีที่ใช้คือ safranin o ระหว่างการใช้สีแรกกับสีที่สอง จะมีการใช้สารละลาย ไอโอดีน ซึ่งทำหน้าที่เป็น mordant ช่วยให้ crystal violet จับกับแบคทีเรียแกรมบวกได้แน่น ไม่หลุดออก เมื่อล้าง (decolorization) ด้วยสารละลายแอลกอฮอล์ (alcohol) หรือแอลกอฮอล์ผสมอะซิโตน (acetone alcohol)

การที่แบคทีเรียจะติดสีแกรมสีแรกหรือสีที่สอง เนื่องจากส่วนประกอบทางเคมีและโครงสร้าง ของผนังเซลล์แบคทีเรียแตกต่างกัน พวกแกรมลบจะมีปริมาณไขมัน (Lipid) ที่ผนังเซลล์สูง ทำให้เมื่อชะล้างสี ด้วยสารละลายแอลกอฮอล์ ไขมันจะถูกล้างออกและสารประกอบเชิงซ้อน crystal violet – iodine จะหลุด ออกจากผนังเซลล์ได้ง่ายเพราะผนังเซลล์มีรูพรุนมากขึ้น

#### วิธีการย้อมสไลด์

1. ทำความสะอาดสไลด์และเช็ดให้แห้ง
2. เตรียมรอยเสมียร์โดยใช้ปากกา permanent ขีดเป็นวงกลมด้านหลัง slide
3. จากนั้นใช้ loop ตะน้ำกลั่นมาหยด และใช้ loop ตะเชื้อมาละเลงในวงกลมที่ทำเครื่องหมายไว้และ ตริงเซลล์ด้วยความร้อน โดยการนำ slide ผ่านไฟที่ตะเกียง
4. หยดสี crystal violet ให้ทั่วรอยเสมียร์ทิ้งไว้นาน 1 นาที
5. เทสีส่วนที่เหลือค้ำบนสไลด์ลงในอ่างน้ำ แล้วชะล้างด้วยสารละลายไอโอดีน หลังจากนั้นสารละลาย ไอโอดีนให้ทั่วรอยเสมียร์และทิ้งไว้นาน 1 นาที
6. เทสารละลายไอโอดีนทิ้ง แล้วชะล้างด้วยสารละลายแอลกอฮอล์ 95% หรือแอลกอฮอล์อะซิโตน กระทั่งไม่มีสีม่วงละลายออกมา แต่อย่าให้เกิน 20 วินาที แล้วล้างน้ำทันทีโดยให้น้ำผ่านเบา ๆ
7. ซับด้วยกระดาษซับ แล้วย้อมทับด้วยการหยดสี safranin O ให้ทั่วรอยเสมียร์ทิ้งไว้นาน 1 นาที
8. เทสีทิ้ง ล้างด้วยน้ำ แล้วซับด้วยกระดาษซับ วางทิ้งไว้ให้แห้ง
9. นำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 100X

## การนำปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ไปใช้ประโยชน์ในพื้นที่

การนำปุ๋ยฟิซีฟิอาร์ไปใช้ประโยชน์ในพื้นที่ 9 จังหวัดภาคเหนือตอนล่าง ได้แก่ อุบลราชธานี นครราชสีมา มหาสารคาม บุรีรัมย์ ยโสธร ร้อยเอ็ด อำนาจเจริญ สุรินทร์ และศรีสะเกษ ดำเนินการโดย นักวิชาการเกษตรถ่ายทอดความรู้เรื่องการใช้ประโยชน์ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ให้แก่เกษตรกร ซึ่งการถ่ายทอดความรู้ดำเนินการในรูปแบบของการจัดอบรม การแจกเอกสารวิชาการ การจัดนิทรรศการ จัดทำแปลง ต้นแบบ/แปลงเรียนรู้ การเผยแพร่ผ่านสื่อวิทยุกระจายเสียง รวมทั้งสื่อโซเชียลมีเดีย

| ที่ | จังหวัด     | อบรม (ราย) | นิทรรศการ | แจกเอกสาร | แปลงต้นแบบ |     | สื่อวิทยุ<br>(ครั้ง) |
|-----|-------------|------------|-----------|-----------|------------|-----|----------------------|
|     |             |            |           |           | ราย        | ไร่ |                      |
| 1   | อุบลราชธานี | 736        | -         | 2279      | -          | -   | -                    |
| 2   | อำนาจเจริญ  | 352        | 1         | 100       | -          | -   | 3                    |
| 3   | ร้อยเอ็ด    | 869        | 0         | 563       | -          | -   | -                    |
| 4   | ยโสธร       | 100        | -         | -         | -          | -   | -                    |
| 5   | บุรีรัมย์   | 110        | 3         | 415       | 10         | 46  | -                    |
| 6   | สุรินทร์    | 685        | -         | 685       | 75         | 343 | -                    |
| 7   | นครราชสีมา  | 82         | -         | 82        | -          | -   | -                    |
| 8   | มหาสารคาม   | 2,830      | 6         | 82        | -          | -   | -                    |
| 9   | ศรีสะเกษ    | 95         | -         | -         | -          | -   | -                    |
| รวม |             | 5,859      | 10        | 4,206     | 85         | 389 | 3                    |

## การใช้ปุ๋ยฟิซีฟิอาร์ในระบบการปลูกมันสำปะหลังอินทรีย์

เกษตรกรผู้ปลูกมันสำปะหลังอินทรีย์นำปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ทรี เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตด้วยการใช้ท่อนพันธุ์มันสำปะหลังด้วยปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ทรี อัตราส่วนปุ๋ยชีวภาพ 1 กิโลกรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ต่ไร่ ไร่ ๑ ไร่ ใช้เวลา 30 นาที จึงนำไปปลูกทันที

หรืออีกหนึ่งวิธีคือการใช้ร่วมกับปุ๋ยหมัก โดยใช้ปุ๋ยชีวภาพ 1 ถุง ผสมกับปุ๋ยหมัก 250 กิโลกรัมต่อไร่

## การใช้ปุ๋ยฟิฟิอาร์ในระบบการปลูกอ้อยอินทรีย์ในจังหวัดมหาสารคาม

พื้นที่ปลูกอ้อยอินทรีย์จังหวัดมหาสารคาม ดินส่วนใหญ่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ แต่ไม่มีค่าโลหะหนัก ในดินเกินในระดับเกณฑ์พื้นฐาน ปริมาณน้ำฝนในช่วงปี 2558-59 มีปริมาณอยู่ในเกณฑ์เพียงพอกับความต้องการของอ้อย แต่มีการกระจายตัวของฝนในพื้นที่ไม่สม่ำเสมอ ฝนทิ้งช่วง และมีจำนวนวันฝนตกน้อย การผลิตอ้อยโดยใส่ปุ๋ยอินทรีย์อัตราเทียบเคียงตามค่าวิเคราะห์ดิน โดยใช้ปุ๋ยอินทรีย์มูลไก่อัดเม็ดหรือปุ๋ยหมักเติมอากาศให้ผลผลิตอ้อยอินทรีย์และน้ำตาลอ้อยเกินสูงสุด และในอ้อยต่อการใช้ปุ๋ยหมักกากตะกอนอ้อย 50% ของคำแนะนำร่วมกับการใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิฟิอาร์ 3 มีแนวโน้มให้ผลผลิตและคุณภาพของอ้อยมากกว่า แต่ไม่แตกต่างกับการปุ๋ยอินทรีย์อัตราเทียบเคียงตามค่าวิเคราะห์ดิน การใส่ปุ๋ยอินทรีย์อัตราเทียบเคียงตามค่าวิเคราะห์ดินให้ผลตอบแทนมากที่สุด โดยเมื่อคิดเป็นสัดส่วนของรายได้ต่อต้นทุน (BCR) ให้ผลตอบแทนสูงกว่าวิธีเกษตร ร้อยละ 27.34 และให้ผลตอบแทนสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับผลตอบแทนในระบบการผลิตอ้อยเคมี (อนุชา และคณะ, 2561)

## การเพิ่มผลผลิตและลดต้นทุนการผลิตอ้อยโดยใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินในพื้นที่นาไม่เหมาะสมในจังหวัดบุรีรัมย์

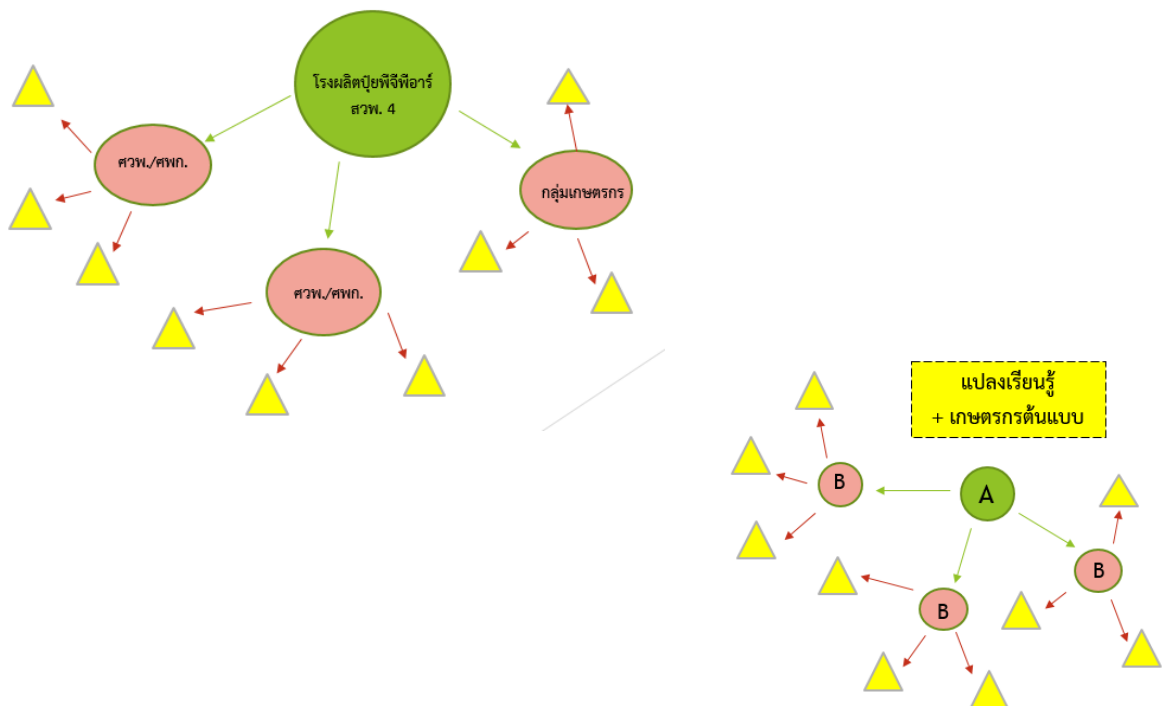
การปลูกอ้อยของเกษตรกรในจังหวัดบุรีรัมย์มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น จากข้อมูลของสำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาล ในปี 2557/2558 และ 2558/2559 จังหวัดบุรีรัมย์มีพื้นที่ปลูกอ้อย 200,941 ไร่ และ 210,919 ไร่ ตามลำดับ มีผลผลิตเฉลี่ย 11.09 และ 10.00 ตันต่อไร่ ตามลำดับ ซึ่งผลผลิตอ้อยต่อไร่มีแนวโน้มลดลง เนื่องจากเกษตรกรส่วนใหญ่นิยมใช้ปุ๋ยเคมีเป็นหลัก และมักจะใช้ปุ๋ยสูตรเดิมใส่ซ้ำในอัตราเดิม และใส่ในปริมาณมาก โดยไม่เคยตรวจสอบปริมาณธาตุอาหารในดินหรือวิเคราะห์ศักยภาพของดินที่ใช้ปลูก ยังไม่เข้าใจบทบาทความสำคัญของธาตุอาหารพืช ขาดความรู้ในการใช้ปุ๋ยที่เหมาะสมกับอ้อย ทำให้เกิดความเสื่อมโทรมของทรัพยากรดิน รวมทั้งเกษตรกรบางรายมีการใช้สารเร่งการเจริญเติบโตหรือใช้ฮอร์โมนตามคำแนะนำชวนเชื่อ ทำให้ต้นทุนการผลิตสูง ผลผลิตต่ำ ดังนั้น ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรบุรีรัมย์ จึงได้นำองค์ความรู้จากผลงานวิจัยถ่ายทอดสู่เกษตรกร โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบเทคโนโลยีการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินในการเพิ่มผลผลิตและลดต้นทุนการผลิตอ้อยในพื้นที่นาไม่เหมาะสม สามารถขยายผลสู่เกษตรกรผู้ปลูกอ้อยในพื้นที่เป้าหมายได้ เกษตรกรใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิฟิอาร์ 3 อัตรา 1 กิโลกรัมผสมร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ หว่านตามร่องอ้อย เมื่ออ้อยอายุ 2-4 เดือนหลังปลูก (หลังจากฝนตกและดินมีความชื้น)

การนำเทคโนโลยีการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินเข้าไปถ่ายทอดให้ความรู้แก่เกษตรกร เพื่อเพิ่มผลผลิตและลดต้นทุนการผลิตอ้อยในพื้นที่นาไม่เหมาะสม สามารถช่วยเพิ่มผลผลิตอ้อยคิดเป็นร้อยละ 5.86 สามารถลดต้นทุนการใช้ปุ๋ยคิดเป็นร้อยละ 28.77 ต้นทุนการผลิตต่อหน่วยลดลงคิดเป็นร้อยละ 6.41 เกษตรกรมีรายได้สุทธิเพิ่มขึ้นร้อยละ 23.8 การปลูกอ้อยแทนข้าวยังสามารถเพิ่มรายได้ต่อพื้นที่ให้เกษตรกรได้ถึง 5,770 บาทต่อไร่ งานทดสอบนี้สามารถตอบสนองนโยบายของรัฐบาลได้เป็นอย่างดี นอกจากจะช่วยลดพื้นที่การปลูกข้าว

ไม่เหมาะสมเพื่อปรับเปลี่ยนระบบการผลิตของเกษตรกรให้เหมาะสมกับสภาพพื้นที่แล้ว เกษตรกรยังสามารถเพิ่มผลผลิตและลดต้นทุนการผลิตอ้อยได้ มีแนวโน้มขยายผลให้กับกลุ่มเกษตรกรเป้าหมายมากขึ้น (พิกุลทอง และคณะ, 2561)

## การสร้างเครือข่ายผู้ใช้ประโยชน์

การสร้างเครือข่ายผู้ใช้ประโยชน์ปุยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ เกิดจากการสร้างเกษตรกรต้นแบบ เพื่อเป็นจุดกระจายและถ่ายทอดองค์ความรู้ให้กับเกษตรกรที่อยู่ใกล้เคียง และเกษตรกรผู้สนใจ จากเกษตรกรรายเดี่ยวเป็นกลุ่มเกษตรกร และขยายพื้นที่ออกไปเรื่อยๆ เป็นการบูรณาการด้านความรู้ การเชื่อมโยงเครือข่ายที่เกี่ยวข้อง ทั้งภาคเกษตรกร ภาครัฐ ภาคเอกชน ยกตัวอย่างเช่น จังหวัดมหาสารคาม โดยศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรมหาสารคามได้จัดทำโครงการความร่วมมือระหว่างกรมวิชาการเกษตร กลุ่มเกษตรกร และกลุ่มวิสาหกิจ โดย ศวพ.มหาสารคาม มีแผนขยายพื้นที่ปลูกอ้อยอินทรีย์ในพื้นที่แปลงใหญ่ เพื่อให้สามารถผลิตอ้อยอินทรีย์ตามความต้องการของโรงงานน้ำตาล ยกกระตือรือร้นรายได้ของเกษตรกรให้เพิ่มขึ้น สร้างเชื่อมโยงเครือข่ายทุกภาคส่วน และมีเกษตรกรต้นแบบ หรือ Smart farmer ด้านการผลิตอ้อยโรงงานและอ้อยคั้นน้ำอินทรีย์ เพื่อเป็นต้นแบบให้เกษตรกรที่สนใจนำไปขยายผลในพื้นที่ของตนได้



ภาพที่ 8 เครือข่ายผู้ใช้ประโยชน์ปุยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ จากผู้ผลิตระดับเครือข่ายสู่ผู้ใช้ และจากเกษตรกรต้นแบบสู่เกษตรกรรายย่อย

## ความพึงพอใจของผู้ใช้ประโยชน์

ทำการประเมินความพึงพอใจของเกษตรกรผู้ใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ จำนวน 191 ราย โดยใช้แบบสอบถาม พบว่า เกษตรกรพอใจมากที่สุด พอใจมาก พอใจปานกลาง และไม่แสดงความคิดเห็น คิดเป็นร้อยละ 45.02 30.37 6.8 และ 17.81 ตามลำดับ ซึ่งเกษตรกรที่ไม่แสดงความคิดเห็นเนื่องจากเพิ่งเริ่มใช้ปุ๋ยฟิซีฟิอาร์ในครั้งแรก ทำให้ยังไม่เห็นถึงเปลี่ยนแปลง

นอกจากนี้ยังพบว่าเกษตรกรร้อยละ 97.38 มีความต้องการใช้ปุ๋ยฟิซีฟิอาร์ในฤดูกาลถัดไป เนื่องจากลดปริมาณการใช้ปุ๋ยเคมี ราคาถูก พืชมีการเจริญเติบโตดี ผลผลิตเพิ่มขึ้น คุณภาพผลผลิตเพิ่มขึ้น เช่น ความหวาน เป็นต้น

### ผลลัพธ์ของกลุ่มเป้าหมายจากการนำผลงานวิจัยไปใช้ เมื่อเปรียบเทียบกับก่อนนำไปใช้

เกษตรกรนำปุ๋ยฟิซีฟิอาร์ไปใช้โดยวิธีการคลุกเมล็ดข้าวโพดก่อนปลูก การคลุกเมล็ดข้าวก่อนปลูก (ตกกล้า) คลุกเมล็ดข้าวหวานก่อนปลูก ผสมกับปุ๋ยอินทรีย์ใส่รองพื้น/รองกันหลุม คลุกปุ๋ยเคมีหวานรองพื้น คลุกปุ๋ยเคมีหวานแต่งหน้า ละลายน้ำฉีดพ่นท่อนพันธุ์ ละลายน้ำแช่ท่อนพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 21.46 30.36 24.08 22.51 6.8 15.18 12.04 12.56 และ 10.47 ตามลำดับ ซึ่งเกษตรกรร้อยละ 59.16 พบว่า หลังการใช้ปุ๋ยมีปริมาณผลผลิตเพิ่มขึ้น

ประโยชน์ของปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ที่เกษตรกรคิดว่าพืชได้รับ คือ เพิ่มราก เพิ่มการแตกกอ เพิ่มจำนวนต้นต่อกอ เพิ่มความสูงของต้น เพิ่มผลผลิต ทนแล้ง เพิ่มความหวาน เพิ่มปริมาณแป้ง และทนทานต่อโรคและแมลง โดยคิดเป็นร้อยละ 79.58 49.21 38.74 31.41 39.79 14.66 6.28 1.04 และ 32.46 ตามลำดับ

## เอกสารอ้างอิง

- ธงชัย มาลา. 2550. ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ : เทคนิคการผลิตและการใช้ประโยชน์.  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 300 หน้า.
- พิกุลทอง สอนงค์ วนิดา แหะชัยภูมิ และสวัสดิ์ สมสะอาด. 2561. การเพิ่มผลผลิตและลดต้นทุนการผลิตอ้อย  
โดยใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินในพื้นที่นาไม่เหมาะสมในจังหวัดบุรีรัมย์. เกษตร 46(2): 70 – 76.
- อนุชา เหลาเคน นิพนธ์ ภาชนะวรรณ สุชาติ คำอ่อน นวลจันทร์ ศรีสมบัติ สนั่น อุประวรรณ และจักรพรรดิ  
วันสีแสง. 2561. การจัดการธาตุอาหารเพื่อผลิตอ้อยอินทรีย์ในพื้นที่จังหวัดมหาสารคาม. เกษตร  
เกษตร 46(2): 130 – 139.
- หนึ่ง เตียอำรุง. 2548. ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับแบคทีเรีย PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria).  
วารสารเทคโนโลยีสุรนารี 12(3): 249–258.
- American Public Health Association. 2005. Standard Methods for the Examination of water  
and Wastewater. 21th Edition, American Public Health Association.
- Glick, B.R.; C.L. Patten; G. Holguin and D.M. Penrose. 1999. Biochemical and genetic  
mechanisms used by plant growth promoting bacteria. Imperial College Press,  
Waterloo, Ontario, Canada. 276 p.