



### Abstract

The objective of this research was to study the effects of cow manure and phosphate fertilizer on growth, morphological and physiological characteristics in terms of total chlorophyll content, protein content and the amount of Cyanobacteria (*Anabaena azollae*) living in *Azolla microphylla* by growing *Azolla* in tap water (Control; T1) compared with 4 fertilizer formulas: cow manure fertilizer 500 grams (T2), cow manure mixed with soil at a ratio of 500 grams per 2 kilograms (T3), rock phosphate ( $P_2O_5$ ) 30 grams (T4), and monopotassium phosphate fertilizer ( $KH_2PO_4$ ) 30 grams (T5). Experimental data were collected at 30 days. From the results, it was found that *Azolla* fed with rock phosphate had the highest shoot dry weight and root number but *Azolla* cultivated with cow manure alone had the highest relative growth rate, total chlorophyll content and the amount of Cyanobacteria. But it could be seen that *Azolla* fed with cow manure and monopotassium phosphate had the highest protein content. The information in this study can be use as basic information in *Azolla* cultivation and further apply in agriculture.

**Keywords:** Cyanobacteria, Cow manure, Monopotassium phosphate, *Azolla*, Rock phosphate

### บทนำ

การเพาะเลี้ยงແໜແດງສາມາດขยายพันธุ์ได้รวดเร็ว มีต้นทุนต่ำ มีคุณสมบัติเป็นทั้งปุ๋ยพืชสด ปุ๋ยชีวภาพ และอาหารสัตว์ เนื่องจากในใบของແໜແດງສາມາດตรึงไนโตรเจนจากอากาศทำให้ແໜແດງเจริญเติบโตได้เร็ว และมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบค่อนข้างสูง (ศิริลักษณ์ และคณะ, 2561) สลายตัวง่ายและปลดปล่อยธาตุอาหารออกมาได้เร็ว สามารถใช้ทดแทนหรือลดการใช้ปุ๋ยเคมี ใช้เป็นปุ๋ยอินทรีย์สำหรับพืชผักผลไม้ เป็นแหล่งโปรตีนสำหรับสัตว์เลี้ยง และที่สำคัญลดต้นทุนการผลิตได้เป็นอย่างดี เหมาะสำหรับการทำเกษตรอินทรีย์ (เทคโนโลยีชาวบ้าน, 2567)

การเจริญเติบโตของແໜແດງต้องการธาตุอาหารคล้ายกับพืชทั่วไปเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต โดยธาตุอาหารหลักที่ແໜແດງต้องการ คือ ฟอสฟอรัส และธาตุอื่นๆ เช่น โพแทสเซียม รวมถึงจุลินทรีย์ที่สำคัญ เช่น เหล็ก โมลิบดีนัม ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของเอนไซม์ไนโตรจีเนส (Nitrogenase) ในการตรึงไนโตรเจนของไซยาโนแบคทีเรียที่ชื่อ *Anabaena azollae* ซึ่งอาศัยอยู่ในโพรงใบของແໜແດງ (กมลวรรณ และคณะ, 2554) หากขาดธาตุเหล่านี้จะทำให้การเจริญเติบโตของແໜແດງลดลง และແໜແດງจะเปลี่ยนเป็นสีแดงคล้ำ (Sadeghi et al., 2013) ซึ่งจะเห็นได้ว่าธาตุอาหารที่ແໜແດງต้องการส่วนใหญ่จะพบมากในมูลสัตว์หรือปุ๋ยคอก ซึ่งเป็นปุ๋ยอินทรีย์

ที่ได้มาจากการเลี้ยงสัตว์ ทั้งนี้มูลสัตว์ที่นิยมนำมาเลี้ยงແແງແງ เช่น มูลโค มูลไก่ และมูลกระต่าย นอกจากนี้ธาตุอาหารที่ແແງແງต้องการธาตุอาหาร คือ ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียม ดังที่ได้กล่าวข้างต้นซึ่งพบในหินฟอสเฟต (Rock Phosphate) และโมโนโพแทสเซียมฟอสเฟต (Monopotassium phosphate) อีกด้วย

หินฟอสเฟต ( $P_2O_5$ ) หรือเรียกกันทั่วไปว่า ร็อคฟอสเฟต เป็นสารประกอบแคลเซียมฟอสเฟต ใช้ผสมปุ๋ยอินทรีย์รอกันหลุมหรือใส่แปลงผักตั้งแต่เตรียมดิน ช่วยให้พืชออกรากมากโตเร็ว ลดความเป็นกรดของดิน ช่วยให้ดินร่วนซุย เพิ่มแร่ธาตุในดินที่ละลายได้ให้มากขึ้น ผลพลอยได้คือ จุลธาตุต่างๆ ที่ตกค้างในดินสามารถละลายออกมาเป็นประโยชน์ต่อพืชมากขึ้น (แร่หินฟอสเฟต, 2564) ส่วนโมโนโพแทสเซียมฟอสเฟต ( $KH_2PO_4$ ) เป็นปุ๋ยเกลือละลายง่าย ไม่มีตะกอน พืชดูดซึมไปใช้ได้ดี มีฟอสเฟตและโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์กับพืชสูง เหมาะกับการฉีดพ่นทางใบให้กับพืชเพื่อช่วยสะสมอาหารก่อนการออกดอก ทำให้ติดผลตก สร้างภูมิคุ้มกันโรคและแมลง (ปุ๋ยทางใบ, 2564)

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของปุ๋ยมูลโคและปุ๋ยฟอสเฟตที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงແແງແງ โดยเปรียบเทียบสูตรอาหารต่างๆ ที่มีต่อการเจริญเติบโตและลักษณะสัณฐานวิทยาของແແງແງ ข้อมูลที่ได้จากการทดลองครั้งนี้สามารถนำไปเป็นข้อมูลพื้นฐานในการเพาะเลี้ยงແແງແງและการเลือกชนิดของปุ๋ยที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงແແງແງเพื่อนำมาเป็นประโยชน์ในด้านเกษตรกรรมต่อไป

## วิธีดำเนินการวิจัย

ในการทดลองครั้งนี้มีการดำเนินการวิจัยดังนี้

### 1. การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design; CRD) โดยเพาะเลี้ยงແແງແງในกระบะพลาสติก ขนาดกว้าง×ยาว×สูง เท่ากับ 35.50×50×10 เซนติเมตร ใส่ແແງແງปริมาณ 10 กรัมต่อกระบะ เติมน้ำปริมาตรน้ำ 12 ลิตร ใช้ตาข่ายพรางแสงสีดำ 80% เพื่อให้เกิดร่มเงากับกระบะพลาสติกที่ใช้เลี้ยงແແງແງ โดยมีทั้งหมด 5 ชุดการทดลอง และแต่ละชุดการทดลอง มี 6 ซ้ำ (บ่อ) ได้แก่

ชุดการทดลองที่ 1 (T1) น้ำประปา (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลองที่ 2 (T2) ปุ๋ยมูลโค 500 กรัม

ชุดการทดลองที่ 3 (T3) ปุ๋ยมูลโคผสมดิน (อัตราส่วน 500 กรัม : 2 กิโลกรัม)

ชุดการทดลองที่ 4 (T4) หินฟอสเฟต 30 กรัม

ชุดการทดลองที่ 5 (T5) ปุ๋ยโมโนโพแทสเซียมฟอสเฟต (MPK) 30 กรัม

เพาะเลี้ยงແຫນແດงແຕ່ລະชุดการทดลองเป็นระยะเวลา 30 วัน จากนั้นเก็บข้อมูลการทดลองและบันทึกผล

## 2. การวิเคราะห์คุณภาพของน้ำที่ใช้เลี้ยงແຫນແດง

ตรวจวัดคุณภาพน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงແຫນແດง โดยสุ่มตัวอย่างน้ำมาตรวจวัดทั้งหมด 3 จุด คือ บริเวณส่วนต้น ส่วนกลางและส่วนท้ายของกระบะพลาสติกที่ใช้เลี้ยงແຫນແດง ตรวจวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (Dissolved Oxygen; DO) ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total Dissolved Solids; TDS) และค่าการนำไฟฟ้า (Electrical Conductivity; EC) โดยใช้เครื่องวัดคุณภาพน้ำ ยี่ห้อ YSI incorporated รุ่น YSI 556 MPS Multi-probe System

## 3. การศึกษาการเจริญเติบโตของແຫນແດง

บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของແຫນແດงที่ระยะเวลา 30 วัน ได้แก่ น้ำหนักแห้งต้น จำนวนราก และอัตราการเจริญเติบโตสัมพัทธ์ (Relative Growth Rate; RGR) ในการหาน้ำหนักแห้งต้นทำได้โดยนำແຫນແດงมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน หลังจากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักแห้งโดยใช้เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบละเอียด ทดนิยม 4 ตำแหน่ง สำหรับจำนวนรากตรวจนับโดยนับจำนวนรากทั้งหมดใน 1 กลุ่มต้น แล้วนำไปคำนวณหาจำนวนรากเฉลี่ยต่อต้น ส่วนอัตราการเจริญเติบโตสัมพัทธ์ หาได้จากอัตราส่วนน้ำหนักแห้งต้นต่อระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นตามวิธีการของ Beadle (1993)

## 4. การตรวจนับ Vegetative cells และ Heterocyst ของ *Anabaena azollae*

นำใบແຫນແດงมาชั่งด้วยปลายด้ามมือจับของเข็มเชื่อมบนกระจกสไลด์ หยดน้ำกลั่น แล้วปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ นำไปศึกษาใต้กล้องจุลทรรศน์ยี่ห้อ Olympus รุ่น CX23 กำลังขยาย 400 เท่า โดยนับจำนวนเฮเทอโรซิสต์ (Heterocyst) จากเซลล์ร่างกาย (Vegetative cells) จำนวน 200 เซลล์ และคำนวณสัดส่วนของเฮเทอโรซิสต์ต่อเซลล์ร่างกาย (Heterocyst/Vegetative cell) ตามวิธีการของ Jampeetong et al. (2016)

## 5. การศึกษาลักษณะทางสรีรวิทยาของແຫນແດง

### 5.1 การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ของແຫນແດง

นำตัวอย่างແຫນແດงมาชั่งน้ำให้แห้ง จากนั้นนำมาหั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำไปชั่งให้ได้ 1 กรัม ใส่ในหลอดทดลอง แล้วนำไปแช่ในเมทานอล 70% ปริมาตร 10 มิลลิลิตร โดยทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายที่สกัดได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 652 และ 665 นาโนเมตร แล้วนำไปคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ปริมาณคลอโรฟิลล์บีและปริมาณคลอโรฟิลล์รวมทั้งหมด ตามวิธีการของ Arnab et al. (2019)

## 5.2 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในແຫນແຕງ

ซั่งແຫນແຕງ 1 กรั่ม ใส่ลงในโกรงบด แล้วเติมกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.10 นอร์มอล ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บดให้ละเอียดจากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง ทิ้งไว้ข้ามคืนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เพื่อแยกตะกอนตัวอย่างกับสารละลายออกจากกัน แล้วบีบตะกอนออกมา 0.10 มิลลิลิตร เติมสารละลาย Bradford (Bradford reagent) ลงไป 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ Vortex 15 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณปริมาณโปรตีนจากกราฟมาตรฐานของ Bovine serum albumin ตามวิธีการของ Bradford (1976)

## 6. การวิเคราะห์ผลข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One Way ANOVA) จากนั้นวิเคราะห์ข้อมูลเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test ด้วยโปรแกรม SPSS version 26.0

### ผลการวิจัย

#### 1. ผลของปุ๋ยมูลโคและปุ๋ยฟอสเฟตต่อคุณภาพของน้ำเพาะเลี้ยงແຫນແຕງ

จากการวิเคราะห์และเก็บข้อมูลคุณภาพน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงແຫນແຕງ โดยการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO) ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TDS) และค่าการนำไฟฟ้า (EC) ที่ระยะเวลา 30 วัน จะเห็นได้ว่า ค่า pH ของทุกชุดการทดลองอยู่ระหว่าง 5.69–8.21 ส่วนค่า DO ในทุกชุดการทดลองเติมปุ๋ยมูลโคหรือปุ๋ยฟอสเฟตมีค่าที่ใกล้เคียงกันตั้งแต่ 6.29–7.41 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ในชุดควบคุม มีค่า DO น้อยที่สุด คือ 3.23 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ในแต่ละชุดการทดลองมีค่าแตกต่างกันตามชนิดและอัตราส่วนของปุ๋ยที่เติมลงไป โดยจะเห็นได้ว่าในชุดการทดลองที่เติมด้วยปุ๋ยมูลโคผสมดิน (T3) มีค่า TDS และค่า EC มากที่สุดเท่ากับ 1,375 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 2,715 ไมโครซีเมนส์/เซนติเมตรตามลำดับ ดังตารางที่ 1

**ตารางที่ 1** คุณภาพของน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดในสูตรปุ๋ยที่แตกต่างกันที่ระยะเวลา 30 วัน

Treatment	pH	DO (mg/l)	TDS (mg/l)	EC ( $\mu$ S/cm)
T1	8.07 $\pm$ 0.80 <sup>a</sup>	3.23 $\pm$ 1.23 <sup>b</sup>	323.5 $\pm$ 2.14 <sup>d</sup>	611.5 $\pm$ 2.17 <sup>c</sup>
T2	7.80 $\pm$ 1.23 <sup>a</sup>	6.74 $\pm$ 1.51 <sup>ab</sup>	862.5 $\pm$ 2.54 <sup>c</sup>	2,622.5 $\pm$ 1.99 <sup>a</sup>
T3	7.72 $\pm$ 0.95 <sup>a</sup>	6.29 $\pm$ 1.24 <sup>ab</sup>	1,375.0 $\pm$ 1.25 <sup>a</sup>	2,715.0 $\pm$ 1.54 <sup>a</sup>
T4	8.21 $\pm$ 0.99 <sup>a</sup>	7.08 $\pm$ 0.24 <sup>a</sup>	1,338.5 $\pm$ 1.75 <sup>a</sup>	2,676.5 $\pm$ 2.01 <sup>a</sup>
T5	5.69 $\pm$ 1.31 <sup>b</sup>	7.41 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	1,180.0 $\pm$ 0.97 <sup>b</sup>	2,020.0 $\pm$ 2.31 <sup>b</sup>

**หมายเหตุ** ข้อมูลที่แสดง คือ Mean  $\pm$  S.E. (n=6) ค่าเฉลี่ยในแต่ละสัปดาห์ที่ตามด้วยอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่ต่างกันแสดงให้เห็นความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P $\leq$ 0.05)

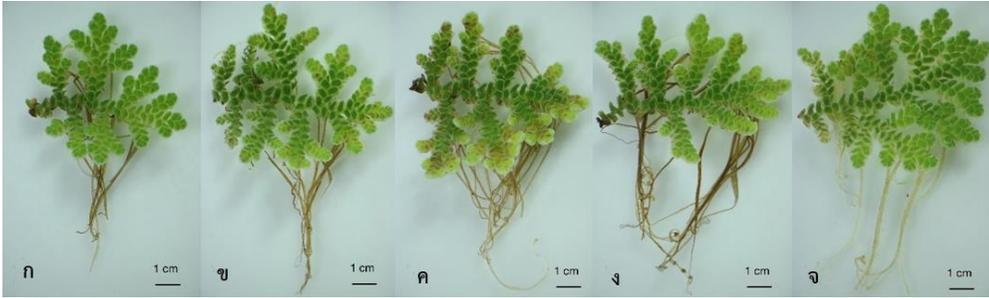
## 2. ผลของปุ๋ยมูลโคและปุ๋ยฟอสเฟตที่มีต่อการเจริญเติบโตของเห็ด

จากการเปรียบเทียบผลของปุ๋ยมูลโคและปุ๋ยฟอสเฟตที่มีต่อการเจริญเติบโตของเห็ด พบว่าน้ำหนักแห้งของเห็ดในทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่มีแนวโน้มว่าเห็ดที่เลี้ยงด้วยหินฟอสเฟต 30 กรัม (T4) มีน้ำหนักแห้งมากที่สุดเท่ากับ 0.0064 $\pm$ 0.00 กรัม และยังพบว่าเห็ดที่เลี้ยงด้วยหินฟอสเฟต (T4) มีจำนวนรากมากที่สุดเท่ากับ 20.01 $\pm$ 1.72 รากแต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับเห็ดที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยมูลโคผสมดิน (T3) และน้ำประปา (T1) (20.00 $\pm$ 1.73 รากและ 18.75 $\pm$ 1.11 รากตามลำดับ) ซึ่งจะเห็นได้ว่าเห็ดที่เลี้ยงด้วยหินฟอสเฟตมีต้นที่สมบูรณ์แข็งแรงดี มีรากจำนวนมาก ดังภาพที่ 1 ส่วนเห็ดที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยมูลโค (T2) มีอัตราการเจริญเติบโตสัมพันธ์มากที่สุดเท่ากับ 0.1786 $\pm$ 0.01 กรัมต่อวัน ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากชุดการทดลองอื่นๆ และพบว่า เห็ดที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยมูลโคมีจำนวนเฮเทอโรซิสต์มากที่สุดเท่ากับ 29.33 $\pm$ 1.67 เซลล์ แต่สัดส่วนของเฮเทอโรซิสต์ต่อจำนวนเซลล์ร่างกายไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังตารางที่ 2

**ตารางที่ 2** การเจริญเติบโตของเห็ดที่เลี้ยงด้วยสูตรปุ๋ยที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 30 วัน

Treatment	Dry weight (g)	Root number (no.)	Relative growth rate (g/g*day)	Heterocyst number (cell no.)	Ratio of Heterocyst/ Vegetative cell
T1	0.0042 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	18.75 $\pm$ 1.11 <sup>ab</sup>	0.1704 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	23.33 $\pm$ 1.18 <sup>b</sup>	8.95 $\pm$ 1.40 <sup>a</sup>
T2	0.0049 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	13.00 $\pm$ 1.87 <sup>c</sup>	0.1786 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	29.33 $\pm$ 1.67 <sup>a</sup>	9.09 $\pm$ 0.41 <sup>a</sup>
T3	0.0060 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	20.00 $\pm$ 1.73 <sup>a</sup>	0.1645 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>	22.33 $\pm$ 1.86 <sup>b</sup>	9.07 $\pm$ 0.70 <sup>a</sup>
T4	0.0064 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	20.01 $\pm$ 1.72 <sup>a</sup>	0.1622 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>	28.00 $\pm$ 0.57 <sup>ab</sup>	7.14 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>
T5	0.0055 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	17.25 $\pm$ 1.31 <sup>b</sup>	0.1693 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	22.33 $\pm$ 1.20 <sup>b</sup>	9.00 $\pm$ 0.50 <sup>a</sup>

**หมายเหตุ** ข้อมูลที่แสดง คือ Mean $\pm$ S.E. (n=6) ค่าเฉลี่ยในแต่ละสัปดาห์ที่ตามด้วยอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่ต่างกันแสดงให้เห็นความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P $\leq$ 0.05)



**ภาพที่ 1** ลักษณะเจริญเติบโตของแห่นแดงที่เลี้ยงในสูตรปุ๋ยที่แตกต่างกัน ที่ระยะเวลา 30 วัน  
(ก) ชูดควบคุม (ข) ปุ๋ยมูลโค (ค) ปุ๋ยมูลโคผสมดิน (ง) หินฟอสเฟต และ (จ) ปุ๋ยโมโนโพแทสเซียมฟอสเฟต

### 3. ผลของปุ๋ยมูลโคและปุ๋ยฟอสเฟตต่อลักษณะทางสรีรวิทยาของแห่นแดง

จากการเปรียบเทียบผลของปุ๋ยมูลโคและปุ๋ยฟอสเฟตที่มีต่อปริมาณคลอโรฟิลล์และปริมาณโปรตีนของแห่นแดงที่เลี้ยงในอัตราส่วนของปุ๋ยมูลโคและปุ๋ยฟอสเฟตที่แตกต่างกันเป็นเวลา 30 วัน พบว่า แห่นแดงที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยมูลโค 500 กรัม (T2) มีปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ( $14.3262 \pm 1.17$  มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด) ปริมาณคลอโรฟิลล์บี ( $4.0990 \pm 1.60$  มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด) มากที่สุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากชุดการทดลองอื่นๆ ส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์รวมทั้งหมด ( $14.1202 \pm 0.37$  มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด) และปริมาณโปรตีน ( $0.000161 \pm 0.00$  มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ที่มีค่ามากที่สุดพบในแห่นแดงที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยมูลโค 500 กรัม (T2) เช่นกัน แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติจากชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยมูลโคผสมดิน (อัตราส่วน 500 กรัม : 2 กิโลกรัม) (T3) ดังตารางที่ 2

**ตารางที่ 3** ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ปริมาณคลอโรฟิลล์บี ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดและปริมาณโปรตีนของแห่นแดงที่เลี้ยงด้วยสูตรปุ๋ยที่แตกต่างกันเป็นระยะเวลา 30 วัน

Treatment	Chlorophyll a (mg/g fresh weight)	Chlorophyll b (mg/g fresh weight)	Total Chlorophyll (mg/g fresh weight)	Protein content (mg/ml)
T1	$10.7313 \pm 1.29^b$	$1.9921 \pm 0.33^b$	$9.4295 \pm 0.82^b$	$0.000154 \pm 0.00^b$
T2	$14.3262 \pm 1.17^a$	$4.0990 \pm 1.60^a$	$14.1202 \pm 0.37^a$	$0.000161 \pm 0.00^a$
T3	$10.3125 \pm 1.52^b$	$1.0234 \pm 0.64^b$	$13.1452 \pm 0.34^a$	$0.000160 \pm 0.00^a$
T4	$9.9315 \pm 1.97^b$	$1.4394 \pm 0.54^b$	$8.6544 \pm 0.63^b$	$0.000157 \pm 0.00^b$
T5	$9.7865 \pm 1.89^b$	$1.4683 \pm 0.17^b$	$8.8139 \pm 0.96^b$	$0.000160 \pm 0.00^b$

**หมายเหตุ** ข้อมูลที่แสดง คือ Mean  $\pm$  S.E. (n=6) ค่าเฉลี่ยในแต่ละสดมภ์ที่ตามด้วยอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่ต่างกันแสดงให้เห็นว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $P \leq 0.05$ )

## อภิปรายผล

จากการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดนางฟ้า โดยการวิเคราะห์ค่า pH ค่า DO ค่า TDS และค่า EC เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดนางฟ้าที่ระยะเวลา 30 วัน จะเห็นได้ว่า ค่า pH ของทุกชุดการทดลอง อยู่ระหว่าง 5.69–8.21 ซึ่งค่า pH ของน้ำที่เห็ดนางฟ้าจะเจริญเติบโตได้ดีอยู่ในช่วงค่า pH ประมาณ 3.50–10 และน้ำที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเห็ดนางฟ้าต้องมีค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (ค่า DO) ไม่น้อยกว่า 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งค่า DO ในทุกชุดการทดลองที่เติมปุ๋ยมูลโคหรือปุ๋ยฟอสเฟตมีค่าที่ใกล้เคียงกันตั้งแต่ 6.29–7.41 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งถือว่าเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเห็ดนางฟ้า แต่ในชุดควบคุม มีค่า DO น้อยที่สุดคือ 3.23 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนค่า TDS และค่า EC จะเห็นได้ว่าในชุดการทดลองที่เติมด้วยปุ๋ยมูลโคผสมดิน (T3) มีค่า TDS และค่า EC มากที่สุดเนื่องจากมีปุ๋ยมูลโคที่ผสมดินอยู่ด้วย จึงทำให้มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ และธาตุอาหารต่างๆ มีปริมาณมาก

สำหรับการเจริญเติบโตของเห็ดนางฟ้า พบว่าเห็ดนางฟ้าที่เลี้ยงด้วยหินฟอสเฟตมีจำนวนรากมากที่สุด ส่วนเห็ดนางฟ้าที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยมูลโคเพียงอย่างเดียว มีอัตราการเจริญเติบโตสัมพันธ์จำนวนเฮเทอโรซีสต์ และมีแนวโน้มของสัดส่วนของเฮเทอโรซีสต์ต่อเซลล์ร่างกายมากที่สุด เนื่องจากหินฟอสเฟตมีธาตุฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งธาตุฟอสฟอรัสมาจากการปลดปล่อยของฟอสเฟตช่วยกระตุ้นและเร่งการเจริญเติบโตของรากพืช ทำให้พืชมีสามารถดูดน้ำแร่ธาตุได้มากขึ้น และมีผลไปส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชให้มากขึ้น (คัตคณัฐ และณภัทร, 2563) และจากงานวิจัยของ Sadeghi et al. (2013) อ้างถึงใน Wimonchart et al. (2021) ได้รายงานไว้ว่า ธาตุฟอสฟอรัสในรูปของฟอสเฟต ( $\text{PO}_4^{2-}$ ) ถือเป็นปัจจัยสำคัญที่จำกัดการเจริญเติบโตของเห็ดนางฟ้าเป็นอย่างมาก เนื่องจากฟอสฟอรัสมีบทบาทสำคัญต่อการเร่งการเจริญเติบโตของเห็ดนางฟ้า โดยหากมีปริมาณฟอสฟอรัสเพียงพอในน้ำที่ใช้เลี้ยงเห็ดนางฟ้า อาจไม่จำเป็นต้องให้ไนโตรเจนทั้งในรูปแอมโมเนียม ( $\text{NH}_4^+$ ) หรือไนเตรต ( $\text{NO}_3^-$ ) ซึ่งยังคงทำให้เห็ดนางฟ้ามีการเจริญเติบโตอย่างต่อเนื่อง ซึ่งเห็นได้จากค่า TDS และค่า EC ของน้ำเลี้ยงเห็ดนางฟ้าที่เติมด้วยหินฟอสเฟตมีค่าค่อนข้างมาก ส่วนเห็ดนางฟ้าที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยมูลโคที่มีค่า TDS ค่อนข้างต่ำแต่มีค่า EC สูงก็มีผลทำให้เห็ดนางฟ้ามีอัตราการเจริญเติบโตสัมพันธ์ รวมทั้งจำนวนเฮเทอโรซีสต์และสัดส่วนของเฮเทอโรซีสต์ต่อเซลล์ร่างกายของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Cyanobacteria หรือ *A. azollae*) ที่อาศัยอยู่ในโพรงใบของเห็ดนางฟ้ามีค่ามากที่สุด ซึ่งการที่ไซยาโนแบคทีเรียมีสัดส่วนของเฮเทอโรซีสต์สูงเนื่องจากในปุ๋ยมูลโคมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสูงและมีปริมาณไนโตรเจนสูงกว่าปุ๋ยมูลสุกร (Wimonchart et al., 2021) ทำให้ไซยาโนแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในโพรงใบเห็ดนางฟ้าสามารถตรึงไนโตรเจนได้ดี ซึ่งเห็ดนางฟ้ามีไนโตรเจนทั้งหมดเป็นองค์ประกอบสูงมากถึง 3–4 เปอร์เซ็นต์ ทั้งยังมีปริมาณฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมทั้งหมดอยู่ประมาณ

0.60–0.80 และ 5–6 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้งตามลำดับ ทำให้ແໜແຂງເຈືືຽນເຕີບໂຕໄດ້ໄວ (ศิริภรณ์ และฐปน, 2562) ซึ่งผลการทดลองที่ได้ในครั้งนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Biswas et al. (2005) ที่รายงานว่า ในมูลโคมีจุลชีพอย่างหลักและโมลิบดินัม ช่วยเพิ่มความสามารถในการตรึงไนโตรเจนจากอากาศให้กับແໜແຂງและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ทำให้ແໜແຂງมีการสะสมของไนโตรเจนเพิ่มขึ้น

สำหรับการศึกษาลักษณะทางสรีรวิทยาของແໜແຂງที่เลี้ยงในสูตรปุ๋ยที่แตกต่างกันพบว่า แໜແຂງที่เลี้ยงในปุ๋ยมูลโคมีปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ปริมาณคลอโรฟิลล์บี ปริมาณคลอโรฟิลล์รวมมากที่สุด ซึ่งจะเห็นได้ว่าปุ๋ยมูลโคมีธาตุอาหารหลัก คือ ไนโตรเจน (N) 1.25 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัส (P) 0.01 เปอร์เซ็นต์ โพแทสเซียม (K) 2.12 เปอร์เซ็นต์ และภายในโพรงใบของແໜແຂງมีสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินอาศัยอยู่ ซึ่งสาหร่ายชนิดนี้สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ จึงทำให้ແໜແຂງเจริญเติบโตได้ดี เมื่อนำมาวิเคราะห์ธาตุอาหาร พบว่า มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสูงถึง 5 เปอร์เซ็นต์ (ศิริภรณ์, 2565) ซึ่งไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของคลอโรฟิลล์และเอนไซม์ที่จำเป็นต่อกระบวนการสังเคราะห์แสง ทำให้ແໜແຂງที่เลี้ยงในปุ๋ยมูลโคมีปริมาณคลอโรฟิลล์มากที่สุด ซึ่งผลการทดลองที่ได้ในครั้งนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Wimoonchart et al. (2021) พบว่า การใส่ปุ๋ยมูลโคเพียงอย่างเดียวหรือใส่ร่วมกับมูลสุกรที่อัตราส่วนที่มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป ทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์รวมของແໜແຂງมีค่าสูงกว่าการไม่ใส่มูลสัตว์หรือการใส่มูลสุกรเพียงอย่างเดียว และผลการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในมูลสัตว์พบว่า มูลโคมีปริมาณไนโตรเจนที่สูงกว่ามูลสุกร

ส่วนແໜແຂງที่เลี้ยงในปุ๋ยมูลโคมีปริมาณโปรตีนมากที่สุด แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับແໜແຂງที่เลี้ยงในปุ๋ยมูลโคผสมดิน และโมโนโพแทสเซียมฟอสเฟตเพียงอย่างเดียว ซึ่งແໜແຂງต้องการธาตุอาหารหลักที่สำคัญได้แก่ ธาตุฟอสฟอรัส และธาตุโพแทสเซียม และจุลชีพที่สำคัญได้แก่ เหล็ก และโมลิบดินัม ซึ่งธาตุเหล่านี้เป็นองค์ประกอบที่สำคัญของเอนไซม์ไนโตรจีเนสในการตรึงไนโตรเจน และในปุ๋ยโมโนโพแทสเซียมฟอสเฟตมีธาตุฟอสฟอรัสที่เป็นองค์ประกอบที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของແໜແຂງ ส่งผลให้ແໜແຂງมีโปรตีนสูงถึง 21.40–28.50 เปอร์เซ็นต์ รวมถึงมีกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อสัตว์ หากขาดธาตุฟอสฟอรัสจะทำให้ปริมาณการตรึงไนโตรเจนลดลง และการเจริญเติบโตของແໜແຂງลดลง (ศักดิ์รัฐ และณภัทร, 2563) และจากงานวิจัยของสายัณห์ และคณะ (2553) ที่ได้ศึกษาผลผลิตและคุณภาพของແໜແຂງที่เลี้ยงในบ่อทดลองพบว่าແໜແຂງเป็นพืชที่มีโปรตีนประมาณ 20–30 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง สามารถนำมาเป็นแหล่งของโปรตีนในอาหารสัตว์โดยเฉพาะอาหารสุกรได้ อีกทั้งด้านคุณค่าทางโภชนาการโดยเฉพาะปริมาณโปรตีนในແໜແຂງ ดังนั้นการศึกษาวิธีการผลิตและการใช้ແໜແຂງ เพื่อให้เป็นแหล่งอาหารโปรตีนสำหรับสัตว์จึงมีความสำคัญในการช่วยลดต้นทุนการผลิตอาหารสัตว์เป็นอย่างมาก

จากรายงานวิจัยฉบับนี้ที่ได้มีการนำหินฟอสเฟตและโมโนโพแทสเซียมฟอสเฟตมาใช้ในการเพาะเลี้ยงแหนแดง ซึ่งยังไม่มีรายงานการวิจัยมาก่อนหน้านี้ งานวิจัยนี้จึงเป็นงานวิจัยชิ้นแรกที่ได้มีการรายงานผลของหินฟอสเฟตและโมโนโพแทสเซียมฟอสเฟตที่มีต่อการเจริญเติบโตและลักษณะทางสรีรวิทยาของแหนแดง จากข้อมูลที่ได้จากการทดลองในครั้งนี้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลในการเลือกชนิดของปุ๋ยที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงแหนแดงและการประยุกต์ใช้ประโยชน์จากแหนแดงในด้านต่างๆ เช่น การใช้แหนแดงในแปลงนาเพื่อเพิ่มผลผลิตข้าว การนำแหนแดงไปใช้เป็นปุ๋ยพืชสด ร่วมกับการปลูกข้าวทดแทนการใช้ปุ๋ยเคมีไนโตรเจน นอกจากนี้ยังสามารถลดการเจริญเติบโตของวัชพืชในนาข้าวได้เป็นอย่างดีหรือการนำแหนแดงไปใช้เป็นอาหารสัตว์

### สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของปุ๋ยมูลโคและปุ๋ยฟอสเฟตที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงแหนแดง โดยเปรียบเทียบอัตราส่วนของปุ๋ยและชนิดของปุ๋ยที่มีต่อการเจริญเติบโตและลักษณะสัณฐานวิทยาของแหนแดง พบว่า การเพาะเลี้ยงแหนแดงโดยการใส่หินฟอสเฟตอย่างเดียวยังทำให้แหนแดงมีจำนวนรากมากที่สุดและมีแนวโน้มที่จะทำให้มีน้ำหนักแห้งมากที่สุด ส่วนการเพาะเลี้ยงแหนแดงในปุ๋ยมูลโคเพียงอย่างเดียวทำให้อัตราการเจริญเติบโตสัมพันธ์ จำนวน Heterocyst และสัดส่วนของ Heterocyst ต่อจำนวน Vegetative cell ของ *A. azollae* ที่อาศัยอยู่ในโพรงใบของแหนแดงมากที่สุด ส่วนในด้านสรีรวิทยาจะเห็นได้ว่า ปุ๋ยมูลโคทำให้แหนแดงมีปริมาณคลอโรฟิลล์มากที่สุด แต่ปุ๋ยที่เติมโมโนโพแทสเซียมฟอสเฟตเพียงอย่างเดียวหรือปุ๋ยมูลโคเพียงอย่างเดียว ส่งผลให้แหนแดงมีปริมาณโปรตีนมากที่สุด จากการทดลองครั้งนี้สามารถเพาะเลี้ยงแหนแดงโดยการใส่ปุ๋ยมูลโค หินฟอสเฟต หรือโมโนโพแทสเซียมฟอสเฟตเพียงอย่างใดอย่างหนึ่งก็ได้ แต่การใส่ปุ๋ยมูลโคจะเห็นผลดีที่สุดเนื่องจากทำให้แหนแดงมีอัตราการเจริญเติบโตสัมพันธ์ จำนวน Heterocyst ปริมาณคลอโรฟิลล์ และปริมาณโปรตีนมากที่สุด ซึ่งปุ๋ยมูลโคค้นหาซื้อได้ง่าย ราคาไม่แพง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับทางเลือกชนิดของปุ๋ยที่นอกจากจะส่งผลต่อการเจริญเติบโตของแหนแดงแล้ว ยังมีผลต่อลักษณะสรีรวิทยาของแหนแดงอีกด้วย จากข้อมูลในการศึกษาครั้งนี้สามารถนำไปเป็นข้อมูลพื้นฐานในการเพาะเลี้ยงแหนแดงและการเลือกชนิดของปุ๋ยที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงแหนแดงเพื่อนำมาเป็นประโยชน์ในด้านเกษตรกรรมทั้งการเพิ่มประสิทธิภาพการเพาะปลูกข้าวและการทำปศุสัตว์ได้

### กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพาที่ให้การสนับสนุนงานวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

## เอกสารอ้างอิง

- กมลวรรณ ศรีปลั่ง, สุรางค์รัตน์ พันแสง, และพวงผกา แก้วกรม. (2554). การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญแทนแดงใน ท้องถิ่นและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเพื่อเพิ่มผลผลิตข้าว. เพชรบูรณ์: คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์.
- คัตตัญญู ชื่นวงศ์อรุณ, และณภัทร ดนัย. (2563). ธาตุอาหารสำหรับการเจริญเติบโตของพืช. สืบค้นเมื่อ 1 เมษายน 2567, จาก <https://ngthai.com/science/30725/plant-nutrients/>
- เทคโนโลยีชาวบ้าน. (2567). “ปุ๋ยคอก” ในมูลสัตว์ มีประโยชน์กับพืชผักสวนครัว. สืบค้นเมื่อ 9 มีนาคม 2567, จาก <https://www.opsmoac.go.th/chachoengsao>
- ปุ๋ยทางใบ. (2564). สืบค้นเมื่อ 3 เมษายน 2567, จาก <https://www.360°เกษตร.com>
- แร่หินฟอสเฟต. (2564). สืบค้นเมื่อ 3 มีนาคม 2567, จาก <https://www.tkkfer.com>
- ศิริภรณ์ ชื่นบาล, และฐปน ชื่นบาล. (2562). การศึกษาการเจริญ การสะสม และการปลดปล่อยธาตุอาหารของ แทนแดงที่เลี้ยงด้วยน้ำทิ้งจากฟาร์มเลี้ยงสุกร. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 12(1), 86–96.
- ศิริลักษณ์ แก้วสุริยชิต, ประไพ ทองระอา, กานดา ฉัตรไชยศิริ, และภาสันต์ ศารทูลทัต. (2561). ผลของแทนแดงต่อการเจริญเติบโต ของกวางตุ้ง. ใน การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติครั้งที่ 17 (น. 332–337). เชียงใหม่: โรงแรมเชียงใหม่แกรนด์วิวแอนด์คอนเวนชั่นเซ็นเตอร์.
- ศิริลักษณ์ แก้วสุริยชิต. (2565). “แทนแดง” พืชน้ำหมักจรรยา เปรียบเหมือนโรงงานผลิตปุ๋ยใช้ปลูกข้าวเลี้ยงสัตว์ ทำเกษตรอินทรีย์ ช่วยลดต้นทุน. สืบค้นเมื่อ 7 พฤษภาคม 2567, จาก <https://www.technologychaoban.com>
- สายัณห์ คำรักษา, วันดี ทาตระกูล, และวิภา หอมหวน. (2553). การศึกษาผลผลิตและคุณภาพของแทนแดงที่เลี้ยงในบ่อทดลอง. ใน การประชุมวิชาการงานเกษตรกรรมเรศวร ครั้งที่ 8 (น. 100–104). พิษณุโลก: มหาวิทยาลัยนเรศวร.
- Arnab, K.D., Arijit, G., Kankana, B., & Adak, M.K. (2019). Moderation of physiological responses in rice plants with *Azolla* under 2,4–Dichlorophenoxy acetic acid stress. *Molecular Biology Reports*, 46, 59–66.
- Beadle, C.L. (1993). Growth Analysis. In: Hall, D.C., Scurlock, J.M., Bolhar–Norden, H.R., Lee–Good, R.C. and Long, S.P., Eds., *Photosynthesis and Production in a Changing Environment: A Field and Laboratory Manual*, Chapman and Hall, London, 36–46.
- Biswas, M., Parveen, S., Shimozawa, H., & Nakagoshi, N. (2005). Effects of *Azolla* species on weed emergence in a rice paddy ecosystem. *Weed Biology Management*, 5, 176–183.
- Bradford, M.M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein–Dye Binding. *ANALYTICAL BIOCHEMISTRY*, 72, 248–254.

- Jampeetong, A., Sripakdee, T., Khamphaya, T., & Chairuangri, S. (2016). The Effects of Nitrogen as  $\text{NO}_3^-$  and  $\text{NH}_4^+$  on the Growth and Symbiont (*Anabaena azollae*) of *Azolla pinnata* R. Brown. **CMU J. Nat. Sci.**, 15(1), 11–20.
- Sadeghi, R., Zarkami R., Sabetraftar, K., & Damme, P. Van. (2012). A review of some ecological factors affecting the growth of *Azolla* spp. **Caspian J. Env. Sci.**, 11(1), 65–76.
- Wimoonchart, P., Chutimanukul, P., & Thepsilvisut, O. (2021). Effect of cow and pig manure on growth and yield of *Azolla microphylla*. **Khon Kaen Agriculture Journal**, 49(6), 1364–1374.