บทสรุปสำหรับผู้บริหาร

“การคัดเลือกแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่มีประสิทธิภาพสูงจากไร่อ้อย”

อ้อยเป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศไทย ใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาล ประเทศไทยเป็นผู้ส่งออกน้ำตาลอันดับ 4 ของโลก ปริมาณผลผลิตอ้อยในแต่ละปีไม่แน่นอน ขึ้นอยู่กับพื้นที่ปลูกและผลผลิตต่อไร่ แหล่งปลูกอ้อยที่สำคัญอยู่ในหลายภาคของประเทศ ได้แก่ ภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยภาคตะวันออกเฉียงเหนือปลูกอ้อยมากที่สุด ในการปลูกอ้อยมักจะต้องมีการใส่ปุ๋ย ที่สำคัญคือปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโปแทสเซียม โดยไนโตรเจนเป็นธาตุที่ช่วยให้อ้อยเจริญเติบโตทางด้านลำต้นและใบ ทำให้อ้อยแตกกอดีมีจำนวนลำมาก น้ำหนักอ้อยมาก ถ้าอ้อยขาดไนโตรเจน จะทำให้ใบเหลืองแคระแกร็น แตกหน่อช้า หน่อไม่เจริญ อ้อยจะแก่เร็วกว่าปกติและคุณภาพอ้อยจะต่ำ การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตราที่สูงขึ้นมีแนวโน้มที่ทำให้ผลผลิตอ้อยสูงขึ้น ตั้งแต่ปี 1974 ปี 1974 พบว่าเชื้อ *Azospirillum* สามารถตรึงไนโตรเจนได้และมีการค้นพบเชื้อที่สามารถตรึงไนโตรเจนบริเวณรากพืชใบเลี้ยงเดี่ยว เช่น หญ้า ข้าว ข้าวโพด อ้อย จากเดิมที่พบว่าเชื้อ *Rhizobium* สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้โดยการสร้างเป็นปมที่รากของพืชตระกูลถั่ว จากนั้นก็ได้มีการศึกษาความสัมพันธ์ของเชื้อกับพืชเหล่านั้นเพื่อลดการใช้ปุ๋ยเคมีไนโตรเจนลง (Boddey and Dobereiner, 1988) ซึ่งเป็นการลดต้นทุนการปลูกอ้อย

ก๊าซไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบที่มีอยู่ในอากาศในปริมาณมากถึง 78 เปอร์เซ็นต์ แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนมีคุณสมบัติในการรีดิวส์ก๊าซไนโตรเจนจากอากาศเพื่อเปลี่ยนเป็นแอมโมเนียให้พืชนำไปใช้ประโยชน์ได้ แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่พบในอ้อยมีทั้งชนิดที่อยู่เป็นอิสระ ได้แก่ *Beijerinckia, Azospillirum, Azotobacter, Bacillus, Derxia, Enterobacter* และชนิดที่อยู่เป็น endophyte ภายในรากหรือลำต้นอ้อย ได้แก่ *Acetobacter, Azospillirum, Herbaspirillum, Burkholderia, Klebsiella, Pantoea* (Boddey and Dobereiner, 1988; Reis *et al*, 1994; Mirza *et al*, 2001; Sevilla *et al*, 2001; Loiret *et al*, 2004; Reis *et al*, 2004; Govindarajan *et al*, 2007;) นอกจากนี้ยังพบว่าแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนบางชนิดมีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของอ้อยได้ด้วย โดยการสร้างสารเหนี่ยวนำให้สร้างฮอร์โมนพืช เช่น การสร้างสาร auxin ที่เป็น indole-3-acetic acid (IAA) (Govindarajan *et al*, 2007) การเพิ่มความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารพืช เช่น ละลายฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม เป็นต้น (Compant *et al*, 2005) ดังนั้น การใส่แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนจากอากาศในแปลงปลูกอ้อยจะช่วยลดต้นทุนในการซื้อปุ๋ยไนโตรเจน ลดการใช้ปุ๋ยเคมี เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เพราะลดการชะล้างหน้าดินที่มีไนเตรทหรือแอมโมเนียลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ส่งผลทางอ้อมในการลดภาวะโลกร้อน

ดังนั้นการศึกษาวิจัยในครั้งนี้จึงมุ่งเน้นที่จะคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนจากอากาศที่มีประสิทธิภาพสูงและมีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของอ้อยเป็นหลัก ซึ่งจะต้องมีการศึกษาความสัมพันธ์ของจุลินทรีย์ พันธุ์อ้อย รวมทั้งดินที่จะใช้ในการเพาะปลูก จะต้องเหมาะสมกันจึงจะได้

ประโยชน์สูงสุด (Oliveira *et al*, 2006) ก่อนที่จะใช้ผลิตเป็นกล้าเชื้อที่มีประสิทธิภาพให้เกษตรกรนำไปใช้ประโยชน์ เพื่อเพิ่มผลผลิต ลดการใส่ปุ๋ย ซึ่งอาจเป็นการช่วยลดต้นทุนการผลิตอ้อย และปัญหาในการผลิตอ้อยไม่เพียงพอต่อการส่งโรงงานของเกษตรกรต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์ของการวิจัย ศึกษาตำรับการเพิ่มปริมาณและเก็บรักษาเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนให้เหมาะสมและสะดวกต่อการนำไปใช้ ตรวจสอบความคงทนและคุณสมบัติหรือกิจกรรมของเชื้อที่เก็บรักษาโดยทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของอ้อยในกระถางในสภาพเรือนทดลอง รวมทั้งบ่งเอกลักษณ์เชื้อไอโซเลท 3LSO1

วิธีดำเนินการวิจัย เตรียมเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจน (NFB) ที่มีประสิทธิภาพ 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Stenotrophomonas* sp. 5LSO2 และ *Citrobacter* sp. 3LSO1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB (B) และ LGIP (G) ที่ไม่มี bromothymol blue ใส่ในวัสดุทางการเกษตร 2 ชนิด คือ พีท (Peat, P) และ เวอร์มิคูไลท์ (Vermiculite, V) ที่ปลอดเชื้อและบรรจุในถุงพลาสติก ผสมให้เชื้อกระจายทั่ววัสดุการเกษตร นำไปเก็บที่ห้องเย็น (10°C, C) และอุณหภูมิห้อง (Room Temperature, 25-30°C, RT) เป็นระยะเวลา 60 วัน ตรวจหาปริมาณเชื้อหลังจากเก็บไว้ 0, 30 และ 60 วัน นำเชื้อที่เก็บไว้ไปทดสอบประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของอ้อยในกระถางในสภาพเรือนทดลองโดยช่วงแรกปลูกอ้อยวันที่ 23 ธันวาคม 2554 เก็บเกี่ยววันที่ 23 เมษายน 2555 ใช้เชื้อที่เก็บในวัสดุปลูก 30 วัน (30 DAF) ครั้งที่สองปลูกอ้อยวันที่ 14 มกราคม 2555 เก็บเกี่ยววันที่ 14 พฤษภาคม 2555 ใช้เชื้อที่เก็บในวัสดุปลูก 60 วัน (60 DAF) วางแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design (CRD) แต่ละช่วงใช้ตำรับการเก็บรักษาเชื้อจำนวน 10 ตำรับ ได้แก่ P, P-B-C, P-G-C, P-B-RT, P-G-RT, V, V-B-C, V-G-C, V-B-RT และ V-G-RT เปรียบเทียบระหว่างการใส่ไม่ใส่ปุ๋ยไนยูเรีย (N0) และใส่ปุ๋ยยูเรีย (N) และเชื้อ 2 สายพันธุ์ แต่ละตำรับทดลองทำ 3 ซ้ำ รวมทั้งหมดมี 120 หน่วยการทดลอง สำหรับตำรับควบคุม (P และ V) จะไม่ใส่เชื้อ NFB โดยทุกตำรับการทดลองจะมีการใส่ปุ๋ยฟอสฟอรัสและปุ๋ยโพแทสเซียมในปริมาณที่เหมาะสม เมื่ออ้อยอายุ 120 วัน ตรวจวิเคราะห์ผลโดยนับจำนวนกอ ความสูง น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งต้นและรากอ้อย หาปริมาณเชื้อในดิน ต้นและรากอ้อย และตรวจวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมดและโพแทสเซียมทั้งหมดในต้นและรากอ้อย รวมทั้งตรวจวิเคราะห์ปริมาณอินทรียวัตถุและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินที่ปลูก การบ่งเอกลักษณ์เชื้อไอโซเลท 3LSO1 ใช้วิธีที่นิยมใช้ตามแบบแผน (conventional method) โดยการย้อมสีแกรมและศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมี และใช้ชุดทดสอบ API 20E ร่วมด้วย

ผลการวิจัย การบ่งเอกลักษณ์เชื้อไอโซเลท 3LSO1 พบว่าเป็นเชื้อ *Citrobacter* sp. การผลิตกล้าเชื้อ NFB ด้วยวัสดุการเกษตร 2 ชนิด คือ พีท และเวอร์มิคูไลท์ พบว่าหลังจากเก็บเชื้อไว้ 30 และ 60 วัน ทุกตำรับการเตรียมกล้าเชื้อมีเชื้อเพิ่มปริมาณมากขึ้นกว่าวันที่ 0 อย่างน้อย 10 เท่า และเมื่อนำเชื้อทุกตำรับมาทดสอบการปลูกอ้อยในกระถางโดยใช้ดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ มีการเติมปุ๋ยฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมในปริมาณที่เหมาะสม พบว่าทุกตำรับการปลูกอ้อยที่มีการใส่เชื้อ NFB ไม่ว่าจะการใส่ปุ๋ย N (N) หรือไม่ใส่ปุ๋ย N (N0) อ้อยจะมีจำนวนกอ ความสูง น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งต้นและรากอ้อย

มากกว่าตำรับการทดลองควบคุมที่ไม่ใส่เชื้อ NFB แต่ใส่ปุ๋ย N อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยปริมาณเชื้อ NFB ที่ตรวจพบในดิน ต้นและรากอ้อยจากทุกตำรับการทดลองที่ใส่กล้าเชื้อก็สูงกว่าตำรับการทดลองควบคุมที่ไม่ใส่เชื้อ NFB แต่ใส่ปุ๋ย N อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน สำหรับการปลูกในช่วงที่สองที่ใช้เชื้อที่เก็บไว้ 60 วัน ก็ให้ผลเช่นเดียวกับการปลูกในช่วงแรกที่ใช้เชื้อที่เก็บไว้ 30 วัน โดยในการตรวจวิเคราะห์ผลสำหรับการปลูกในช่วงที่สองยังพบว่าทุกตำรับการปลูกอ้อยที่มีการใส่เชื้อ NFB ไม่ว่าจะการใส่ปุ๋ย N (N) หรือไม่ใส่ปุ๋ย N (N0) ก็ตาม พบว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในต้น รากอ้อย และในดิน รวมทั้งปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดและปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมดในต้นและรากอ้อยจะมีปริมาณมากกว่าในตำรับการทดลองควบคุมที่ไม่ใส่เชื้อ NFB แต่ใส่ปุ๋ย N อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ปริมาณอินทรียวัตถุในดินที่ปลูกนั้นพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน จากข้อมูลแสดงให้เห็นว่าเชื้อ NFB ที่นำมาทดสอบสามารถเข้าไปอยู่ในส่วนของลำต้นและรากอ้อยได้ จึงส่งเสริมการเจริญเติบโตของอ้อยได้ดีกว่าอ้อยที่ปลูกโดยไม่ใส่เชื้อ NFB

ข้อเสนอด้านการวิจัย ควรมีการศึกษาเชื้อนี้ต่อในสภาพไร่ และศึกษาการทำเชื้อผง เพื่อให้สามารถเก็บเชื้อได้นานๆ แล้วนำเชื้อผงนี้ผสมน้ำทำเป็นสารแขวนลอยเชื้อ จากนั้นผสมในวัสดุทางการเกษตรเพื่อความสะดวกในการผลิตหัวเชื้อในทางการค้าและการนำเชื้อไปใช้จริง