บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญ

ข้าวจัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย เพราะไทยเป็นประเทศผู้ส่งออกข้าวสูงที่สุดเป็นอันดับ 1 ของโลก จากสถิติการส่งออกข้าวตั้งแต่วันที่ 1 มกราคมถึงวันที่ 3 พฤษภาคม 2559 ที่มีปริมาณส่งออกสูงถึง 3.75 ล้านตัน (โพสต์ทูเดย์. 2559) ธาตุอาหารสำคัญที่มีบทบาทต่อการเจริญเติบโต และการเพิ่มผลผลิตของข้าวเป็นอย่างมาก คือ ธาตุไนโตรเจน ชาวนานำมาใช้ในรูปของปุ๋ยอนินทรีย์ หรือปุ๋ยเคมี เช่น ปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟต แอมโมเนียมคลอไรด์ และยูเรีย เป็นต้น ข้าวจะดึงไปใช้ประโยชน์ในรูปของไนเตรตและแอมโมเนียมได้อย่างรวดเร็ว ปุ๋ยเคมีมีความเข้มข้นของธาตุอาหารสูง ใช้ในปริมาณเพียงเล็กน้อย ก็สามารถให้ธาตุอาหารแก่พืชได้เพียงพอกับความต้องการ แต่ปุ๋ยเคมีได้ส่งผลให้เกิดผลเสียต่างๆ ต่อสิ่งแวดล้อมหลายด้าน เช่น มีผลต่อคุณสมบัติทางเคมี และทางชีวภาพของดินด้วยการไปเร่งการสลายตัวของอินทรียวัตถุในดิน และทำให้จุลินทรีย์บางชนิดที่อาศัยอยู่ในดินลดลง เกิดปัญหาดินเสื่อมสภาพ และการสูญเสียธาตุอาหารจากการถูกชะล้างจากดินได้ง่าย อีกทั้งปุ๋ยเคมีส่วนมากผลิตในต่างประเทศ ต้องนำเข้าจึงเป็นเหตุให้ประเทศขาดดุลการค้า ปุ๋ยอินทรีย์ไนโตรเจนเป็นปุ๋ยในรูปสารประกอบอินทรีย์ต่างๆ เช่น กากถั่วเหลือง กากถั่วเขียว และกากกาแฟ เมื่อใส่ลงไปในดินแล้ว ไนโตรเจนจะถูกปลดปล่อยออกมาโดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่เปลี่ยนไนโตรเจนในรูปอินทรีย์ให้เป็นรูปอนินทรีย์ที่ข้าวสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ คือ รูปไนเตรต และแอมโมเนียมซึ่งกระบวนการย่อยสลายใช้เวลานาน ส่วนอีกวิธีที่มีประสิทธิภาพเป็นการเพิ่มธาตุไนโตรเจนโดยตรงด้วยแบคทีเรียที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจน (Nitrogen Fixing Bacteria) ซึ่งสามารถตรึงไนโตรเจนในบรรยากาศให้เป็นแอมโมเนียไอออน และแปรรูปให้เกิดเป็นโปรตีนหรือสารประกอบไนโตรเจนชนิดอื่นที่จำเป็นต่อไป มีทั้งกลุ่มเอนโดไฟท์ (Endophyte) ซึ่งเจริญอยู่ภายในลำต้น กิ่ง ใบ และส่วนต่างๆ ของพืชและดำรงชีวิตแบบอิสระ (Free living) เช่น *Azotobacter* และ*Azospirillum* (Shridhar, 2012) เพื่อให้การตรึงไนโตรเจนมีประสิทธิภาพสูงแบคทีเรียที่นำมาใช้ ควรเจริญเติบโตได้ดี ในสภาพดินนาของประเทศไทยที่มีความเป็นกรด pH เท่ากับ 4.47 – 6.8 (Doi & Pitiwut, 2014 และ Sampanpanisha, 2012) และปนเปื้อนโลหะหนัก ได้แก่ แคดเมี่ยม โครเมี่ยม ตะกั่ว นิกเกิล คอปเปอร์ และสังกะสี (Chinoim & Sinbuathong, 2010) ได้ดี

ในการวิจัยครั้งนี้ได้คัดแยกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนแบบอิสระที่อาศัยอยู่บริเวณรอบรากข้าว (Rhizobacteria) และดินนาข้าว เพื่อคัดแยกสายพันธุ์ที่มีศักยภาพสูงในการตรึงไนโตรเจนทนต่อสภาพดินนาของประเทศไทยที่เป็นดินกรด และปนเปื้อนโลหะหนัก เพื่อนำมาผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพ เพิ่มปริมาณผลผลิตข้าว ช่วยให้เกษตรกรมีรายได้เพิ่มมากขึ้น

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อคัดแยกแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่ดำรงชีพแบบอิสระจากนาข้าว

2. เพื่อศึกษาความสามารถในการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียที่คัดแยกได้

3. เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ ในภาวะเป็นกรด และมีโลหะหนักละลายอยู่

4. เพื่อระบุชนิดของแบคทีเรียที่คัดเลือกด้วยการหาลำดับนิวคลิโอไทด์ของชิ้นส่วน 16S rDNA

ขอบเขตการวิจัย

1. คัดแยกแบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจนที่ดำรงชีพแบบอิสระจากดินนาข้าวในภาคกลาง 5 จังหวัด ได้แก่ กรุงเทพมหานคร ฉะเชิงเทรา ราชบุรี สุพรรณบุรี และชัยนาท

2. ศึกษาความสามารถในการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียที่คัดแยกได้

3. ศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตแอมโมเนียที่ pH 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5 และ 7.0 และภาวะที่มีโลหะหนักละลายอยู่ ได้แก่ โลหะหนักคอปเปอร์ความเข้มข้น 0.75–12.0 มิลลิกรัมต่อลิตรนิกเกิลความเข้มข้น0.65–10.4มิลลิกรัมต่อลิตรตะกั่วความเข้มข้น 0.35–2.8 มิลลิกรัมต่อลิตร โครเมี่ยมความเข้มข้น 0.5–4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร แคดเมี่ยมความเข้มข้น 0.02–0.8 มิลลิกรัมต่อลิตร และสังกะสีความเข้มข้น 3.5-28 มิลลิกรัมต่อลิตร

4. ศึกษาชนิดของแบคทีเรียที่มีศักยภาพสูงในการตรึงไนโตรเจน เจริญเติบโตได้ที่ภาวะเป็นกรด และมีโลหะหนักละลายอยู่ด้วยการหาลำดับนิวคลิโอไทด์ของชิ้นส่วน 16S rDNA

สมมติฐานการวิจัย

รอบรากข้าว และในดินนาข้าวมีแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่ดำรงชีพแบบอิสระสามารถคัดแยกได้ในห้องปฏิบัติการ และได้ชนิดที่มีศักยภาพสูงในการตรึงไนโตรเจน เจริญเติบโตได้ที่ภาวะเป็นกรด และมีโลหะหนักละลายอยู่

คำจำกัดความที่ใช้ในงานวิจัย

ดินนาข้าว หมายถึง ดินรอบรากข้าว และดินในนาข้าว

แบคทีเรียที่คัดแยกได้ หมายถึง แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่ดำรงชีพแบบอิสระที่คัดแยกได้จากดินนาข้าว

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้แบคทีเรียที่ดำรงชีพแบบอิสระในนาข้าวมีศักยภาพสูงในการตรึงไนโตรเจน ทนต่อสภาพดินกรด และปนเปื้อนโลหะหนัก เพื่อประยุกต์ทำปุ๋ยชีวภาพต่อไป