บทที่ 1

บทนำ

พืชต้องการธาตุอาหารเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ไนโตรเจน เนื่องจากไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารที่พืชต้องการเป็นปริมาณมากและมีบทบาทสำคัญในการเจริญเติบโตของพืช ทั้งนี้เป็นเพราะไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารที่พืชต้องการสำหรับสร้างโปรตีน เอนไซม์และสารประกอบอื่นๆที่ทำหน้าที่กระตุ้นการเจริญเติบโต ธาตุอาหารที่พืชนำมาใช้ส่วนหนึ่งได้มาจากองค์ประกอบที่มีอยู่ในดินหรือวัสดุที่ใช้ปลูก รวมทั้งธาตุอาหารที่มีการเพิ่มเติมให้กับพืช เช่น การใส่ปุ๋ย และอีกส่วนที่สำคัญ คือ ได้มาจากการสังเคราะห์โดยจุลินทรีย์ทั้งที่มีอยู่ภายนอกและภายในต้นพืช พืชหลายชนิดมีจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตอาศัยอยู่ภายในเนื้อเยื่อ (endophytic microorganisms) โดยไม่ทำอันตรายต่อพืชอาศัยและยังให้ประโยชน์ในหลายๆด้าน เช่น สร้างสารประกอบช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต (plant growth promoting substances) และสร้างสารที่ทำให้พืชอาศัยต้านทานต่อเชื้อสาเหตุของโรค นอกจากนี้จุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืชอีกกลุ่มหนึ่ง คือ แบคทีเรียพวกที่ตรึงไนโตรเจนจากอากาศมาเปลี่ยนเป็นสารประกอบไนโตรเจนที่พืชนำไปใช้ได้ เรียกแบคทีเรียกลุ่มนี้ว่า diazotrophic endophytic bacteria ซึ่งมีการศึกษาอย่างกว้างขวางในพืชเศรษฐกิจ เช่น ข้าว อ้อย และข้าวโพด จุลินทรีย์กลุ่มนี้เป็นแบคทีเรียในสกุล *Azospirillum, Acetobacter*, *Azoarcus* และ *Herbaspirillus* (Boddy และคณะ, 1995) โดยที่แบคทีเรียกลุ่มนี้พบอยู่ในเนื้อเยื่อของราก ลำต้นและใบพืชเป็นส่วนใหญ่ พบว่าสามารถตรึงไนโตรเจนให้กับพืชอาศัยได้จำนวนมากในแต่ละปี Dobereiner (1997) ได้รายงานถึงความสำคัญของการตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพไว้ว่า ในบราซิลซึ่งถือว่าเป็นประเทศผู้นำในการทดแทนการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนด้วยการตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพ ผลผลิตในภาคการเกษตรของบราซิลที่เป็นสินค้าส่งออกที่สำคัญนั้น มีการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนเป็นปริมาณที่ต่ำ (ประมาณ 10 กก./เฮกแตร์) บราซิลจัดว่ามีการส่งออกถั่วเหลืองมากที่สุดประเทศหนึ่งของโลก โดยในการปลูกไม่มีการใช้ปุ๋ยไนโตรเจน ส่วนธัญพืชมีการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนในปริมาณที่พืชต้องการต่ำสุดเท่านั้น โดยธาตุไนโตรเจนที่ได้รับจากจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนเป็นปริมาณกว่า 30 % ในขณะที่ให้ปุ๋ยฟอสฟอรัส, โพแทสเซียม และธาตุอาหารรองในปริมาณที่เพียงพอ อ้อยจัดเป็นกลุ่มพืชที่ได้รับประโยชน์จากจุลินทรีย์ที่สามารถตรึงไนโตรเจนที่สูงมาก ในปริมาณประมาณ 150 kg/ ha ด้วยเหตุนี้ส่งผลให้โครงการการใช้พลังงานชีวภาพประสบผลสำเร็จ เนื่องจากพลังงานที่ได้มาจากอ้อย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ที่ไม่มีการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนในระหว่างการเพาะปลูก รวมทั้งไม่มีการเผาใบอ้อยในแปลงปลูก มีปริมาณสูงเป็น 5 เท่าของความต้องการ ในปัจจุบันมีความเป็นไปได้ที่จะขยายโครงการพลังงานชีวภาพไปสู่พลังงานดีเซลล์ชีวภาพจากพืชน้ำมัน โดยการศึกษาค้นหาจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนชนิดใหม่ในต้นปาล์ม ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ไม่มีการใช้ปุ๋ยไนโตรเจน นอกจากนี้ยังมีพืชอีกชนิดหนึ่งที่พบว่ามีจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนอาศัยในเนื้อเยื่อ คือ กล้วยไม้ โดยเฉพาะในกลุ่มของกล้วยไม้อากาศที่เติบโตในธรรมชาติ

กล้วยไม้นับว่าเป็นไม้ตัดดอกเศรษฐกิจที่สำคัญที่สุดของไทย นิยมกันมากทั้งในและต่างประเทศ เนื่องจากดอกกล้วยไม้มีสีสันสวยงาม สีของดอกมีเกือบทุกสี มีอายุการใช้งานนาน กล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendobium*) นับเป็นสกุลใหญ่ที่สุด และในปัจจุบันมีการส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศเป็นจำนวนมากถึงประมาณร้อยละ 90 ของกล้วยไม้ที่ส่งออกทั้งหมด (กลุ่มเกษตรสัญจร, 2541) ในปี 2544 มีการส่งออกดอกกล้วยไม้สด จำนวน 13,941 ตัน คิดเป็นมูลค่า 1,495 ล้านบาท เพิ่มขึ้นจากปี 2543 ส่งออก 11,778 ตัน คิดเป็นมูลค่า 1,231 ล้านบาท ส่วนดอกกล้วยไม้ที่ตกเกรด ประมาณร้อยละ 60 ของผลผลิตจะใช้ภายในประเทศ โดยมีราคาเฉลี่ย ช่อละ 1-8 บาท แล้วแต่ฤดูกาล

ตารางที่ 1 แสดงมูลค่าการส่งออกดอกกล้วยไม้สดและราคาเฉลี่ยช่อดอกกล้วยไม้ตกเกรด

การส่งออกดอกกล้วยไม้สด	ปี 2543 ส่งออก 11,778 ตัน คิดเป็นมูลค่า 1,231 ล้านบาท ปี 2544 ส่งออก 13,941 ตัน คิดเป็นมูลค่า 1,495 ล้านบาท
ดอกกล้วยไม้ที่ตกเกรด	ประมาณร้อยละ 60 ของผลผลิตจะใช้ภายในประเทศ โดยมีราคาเฉลี่ย ช่อละ 1-8 บาท แล้วแต่ฤดูกาล

ที่มา ข้อมูลงานค้นคว้าวิจัย สถาบันวิจัยพืชสวน
สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร
(http://www.doa.go.th/data-agri/ORCHID/1stat/st02.html)

กล้วยไม้ที่นำมาเพาะเลี้ยงจะได้รับธาตุอาหารจากการใส่ให้ในรูปของปุ๋ย แต่ในสภาพธรรมชาติกล้วยไม้ในกลุ่มของกล้วยไม้อากาศ เช่น Vanda, Cattleya และ Dendrobium ที่เจริญเติบโตอยู่บนต้นไม้จะได้รับธาตุอาหารจากการสลายตัวของเปลือกไม้และใบไม้ที่เน่าเปื่อยผุพังสลายตัวเมื่อฝนตกชะล้างต้นไม้ลงมาผ่านต้นกล้วยไม้ รากกล้วยไม้ที่เกาะอาศัยอยู่จะดูดซับไว้ ซึ่งปริมาณธาตุอาหารโดยเฉพาะอย่างยิ่งไนโตรเจนที่เป็นธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืชในส่วนของใบและลำต้นซึ่งไม่น่าจะเพียงพอต่อการเจริญเติบโตเมื่อเทียบกับปริมาณปุ๋ยไนโตรเจนที่ต้องการ เพราะไนโตรเจนที่เป็นองค์ประกอบของเปลือกไม้และใบไม้นั้นมีอยู่น้อยมาก ประมาณ 0.32 –

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

0.49 % (กรมพัฒนาที่ดิน, 2540) เพราะฉะนั้นจึงเป็นไปได้ว่า มีจุลินทรีย์บางชนิดที่อาศัยอยู่ภายในเนื้อเยื่อ (endophytic microorganisms) กล้วยไม้ ซึ่งมีส่วนช่วยในการตรึงไนโตรเจน หรือผลิตสารที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้

ในปัจจุบันการศึกษาแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่อาศัยอยู่ภายในเนื้อเยื่อพืชมีมากขึ้น ส่วนใหญ่มิได้มุ่งเน้นที่จะศึกษาในไม้ดอกมากนัก หากแต่เน้นศึกษาในพืชเศรษฐกิจ อาทิ ข้าว, ข้าวโพด และอ้อย เป็นต้น งานทดลองนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาศักยภาพในการนำเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนในเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลหวาย ไปใช้ประโยชน์ในการเพิ่มธาตุไนโตรเจนให้แก่กล้วยไม้ เพื่อทดแทนการใช้ปุ๋ยไนโตรเจน และเป็นแนวทางในการนำมาพัฒนาใช้กับกล้วยไม้ตัดดอกต่อไป

ขอบเขตการศึกษาวิจัย

ทำการแยกเชื้อจุลินทรีย์จากกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์เอื้องสายสามสี (*Dendrobium crystallinum*) คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน ปลูกถ่ายให้กับกล้วยไม้ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี 16S rDNA sequencing

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อหาวิธีการนำจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพมาปลูกถ่ายในต้นกล้ากล้วยไม้ที่ขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและศึกษาประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของจุลินทรีย์
2. เพื่อติดตามการอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่ปลูกลงในต้นกล้วยไม้และตรวจหาตำแหน่งการเข้าอาศัยในพืช
3. ระบุชนิดของจุลินทรีย์ในเนื้อเยื่อกล้วยไม้ โดยวิธี 16S rDNA gene sequences

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved