

## รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

1. แผนงานวิจัย .....
2. โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการเพิ่มประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพและจุลินทรีย์ดิน เพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร
- กิจกรรม การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพและหัวเชื้อจุลินทรีย์รูปแบบใหม่
3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) การศึกษาปัจจัยต่อการเพิ่มปริมาณราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาเพื่อการผลิตสปอร์แบบเข้มข้น
- ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) Factors affecting propagation of Arbuscular mycorrhizal fungi for density spore production
4. คณะผู้ดำเนินงาน
- |                 |                            |                                       |
|-----------------|----------------------------|---------------------------------------|
| หัวหน้าการทดลอง | นิศารัตน์ ทวีนุต           | กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร |
| ผู้ร่วมงาน      | ศิริลักษณ์ แก้วสุริยสิทธิ์ | กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร |
|                 | บุญชริก ฉิมชาติ            | กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร |
|                 | กนกอร บุญพา                | กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร |

### 5. บทคัดย่อ

การศึกษานี้ได้ทำการทดสอบปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสปอร์ราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา *Glomus intraradices* ได้แก่ พืชอาศัย (ข้าวโพดพันธุ์นครสวรรค์3 ข้าวโพดพันธุ์ตากฟ้า3 หญ้ารูซี่ หญ้ากีนีสีม่วง หญ้าอะตราดัม หญ้าพลิแคทูลัม ถั่วควาลเคด และถั่วท่าพระสไตโล) ธาตุอาหารไนโตรเจนและฟอสฟอรัส (60, 80, 100, 120, 140 มก. ไนโตรเจน/ลิตร, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 มก. ฟอสฟอรัส/ลิตร) และวัสดุปลูก (ดิน:ทราย แกลบดำ ดิน:แกลบดำ ทราย:แกลบดำ และ ดิน:ทราย:แกลบดำ) โดยทำการทดสอบในสภาพเรือนทดลอง ในขั้นตอนแรกทดสอบพืชอาศัยที่เหมาะสม จากนั้นนำพืชที่เหมาะสมมาทดสอบความเข้มข้นของธาตุไนโตรเจนร่วมกับฟอสฟอรัส หลังจากนั้นนำมาปรับใช้กับวัสดุปลูกชนิดต่างๆ จากผลการทดลอง พบว่า หญ้ารูซี่เป็นพืชอาศัยที่เหมาะสม เมื่อนำมาปลูกและมีการใส่ธาตุอาหารไนโตรเจนเข้มข้น 60 มก./ลิตร ร่วมกับฟอสฟอรัส 1.0 มก./ลิตร ที่ปลูกในวัสดุ ดิน:ทราย (1:1) ผลการทดลองนี้สามารถนำไปใช้ในการผลิตสปอร์รา *Glomus intraradices* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และสามารถเป็นต้นแบบการผลิตของราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาชนิดอื่นต่อไป

คำสำคัญ : การผลิต ราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส วัสดุปลูก *Glomus intraradices*

### Abstract

In this study, three factors that affect to arbuscular mycorrhizal production, *Glomus intraradices*, were tested in greenhouse, viz. host plants (Corn (Nakhon Sawan3), Corn (Takfa3), Ruzi grass, Purple guinea grass, Atratum grass, Plicatulum grass, Cavalcade and Tapra-stylo), nutrients (N concentration; 60, 80, 100, 120, 140 mg/L, P concentration; 0.2, 0.4,

0.6, 0.8, 1.0 mg/L) and media (soil:sand, chaff, soil:chaff, sand:chaff and soil:sand:chaff). The results indicate that Ruzi grass is the most suitable plant, the 60 mgN/L and 1.0 mgP/L of concentrations are the best treatment and the soil:sand mixer are still better growth medium for spore propagation. Therefore, this knowledge could be used for developing of production of other arbuscular mycorrhizal species.

Key words : Arbuscular plant, nutrient, growth medium

## 6. คำนำ

ราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาเป็นกลุ่มราที่อยู่ร่วมกับพืชแบบพึ่งพาอาศัย โดยที่ราให้ประโยชน์แก่พืชในด้านธาตุอาหาร เพิ่มความต้านทานหรือทนต่อความเครียดที่เกิดจากสิ่งแวดล้อม รวมไปถึงช่วยในด้านป้องกันโรคให้แก่พืช (Smith and Read, 1997) ดังนั้นราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาจึงถูกผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ทางการเกษตร ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซานั้นไม่สามารถเลี้ยงได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ จำเป็นต้องมีกระบวนการผลิตไปพร้อมกับการปลูกพืชอาศัย อีกทั้งในการเจริญเติบโตของราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซามีปัจจัยหลายประการที่มีผลต่อการสร้างเส้นใยและการผลิตสปอร์ เช่น อุณหภูมิ ธาตุไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ความเป็นเกลือของดิน ฤดูกาลและแสงแดด เป็นต้น (Ferguson and Menge, 1982, Sylvia and Neal, 1990; Silva and Uchida, 2000; Al-Khalil, 2010; Ghorbani *et al.*, 2012; Stoklosa and Madani, 2013)

พืชอาศัยเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญในการเพิ่มปริมาณสปอร์ เนื่องจากพืชอาศัยมีการเปลี่ยนแปลงและกระทบต่อการเจริญเติบโตของราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาโดยตรงอันเนื่องมาจากการอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัย ในการผลิตควรเลือกชนิดพืชที่มีคุณสมบัติดังนี้ เหมาะสมกับสภาพอากาศในเรือนเพาะชำที่มีอยู่ สามารถปลูกในดินได้หลายชนิด มีอัตราการเจริญเติบโตของรากปานกลาง มีระบบรากที่แตกแขนงมาก มีการสังเคราะห์แสงได้สูง และทนต่อโรคและแมลง จากการศึกษาของ Chaurasia and Khare (2005) ได้ทดสอบการผลิตราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาที่เก็บจากสภาพธรรมชาติกับพืชสี่ชนิด ได้แก่ *Hordeum vulgare*, *Triticum aestivum*, *Phaseolus vulgaris* และ *Phaseolus mungo* พบว่า *H. vulgare* มีการเข้าอาศัยของราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาและมีการสร้างสปอร์มากที่สุด ส่วน Bawadekji และคณะ (2016) พบว่า สามารถใช้ *Sesbania sp.* และ *Cassia tora* ในการผลิตหัวเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาที่เหมาะสมได้อีกด้วย ถึงแม้ว่าราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาจะสามารถอยู่ร่วมกับพืชได้อย่างกว้างขวาง และสามารถสร้างสปอร์ขึ้นได้ก็ตาม แต่ระดับการตอบสนองระหว่างราต่างชนิดและพืชต่างชนิดนั้นจะมีระดับที่แตกต่างกัน (Klironomos, 2000) โดยทั่วไปปริมาณสปอร์ของราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในสภาพธรรมชาติจะมีปริมาณสปอร์น้อยกว่าในสภาพเรือนทดลอง เนื่องจากปัจจัยสิ่งแวดล้อมตามธรรมชาติไม่สามารถควบคุมได้ พืชอาศัยและธาตุอาหารในดินเป็นปัจจัยที่มีการควบคุมและปรับเปลี่ยนได้ง่ายและมีต้นทุนต่ำ ดังนั้น การจัดการดังกล่าวน่าจะเพิ่มศักยภาพในการผลิตสปอร์ของราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาให้สูงขึ้นได้ในสภาพเรือนทดลอง เพื่อวัตถุประสงค์ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพให้ได้ประสิทธิภาพ การทดลองจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบหาพืชอาศัยที่เหมาะสม ร่วมกับการจัดการธาตุอาหาร ที่ทำให้เกิดการสร้างสปอร์ราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาได้มากที่สุด เป็นการลดเวลาและต้นทุนเพื่อปรับปรุงและได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพต่อไป

## 7. วิธีดำเนินการ

### - อุปกรณ์

กล้องจุลทรรศน์ เครื่องปั่นเหวี่ยง หม้อนึ่งไอน้ำแรงดันสูง เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง เครื่องชั่ง ไปเปต เครื่องแก้ว สารเคมี เมล็ดพันธุ์พืชทดสอบ ราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา ตะแกรงร่อนสปอร์ (ขนาด 45  $\mu\text{m}$  และ 425  $\mu\text{m}$ ) เครื่องแก้ว กระจก วัสดุปลูก

### - วิธีการ

#### 1. การทดสอบพืชอาศัยที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณสปอร์ราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCB) จำนวน 6 ซ้ำ 8 กรรมวิธี ดังนี้ 1. ข้าวโพดพันธุ์นครสวรรค์3 2. ข้าวโพดพันธุ์ตากฟ้า3 3. หล้ารูซี่ 4. หล้ากีนีสีม่วง 5. หล้าอะตราตัม 6. หล้าพลีแคทูลัม 7. ถั่วคาวาลเคด 8. ถั่วท่าพระสไตโล

เตรียมราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา *Glomus intraradices* เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อ (25 สปอร์ต่อกรัม) เตรียมเมล็ดพืชอาศัยจำนวน 8 ชนิด ตามกรรมวิธีทดลอง ล้างเมล็ดพืชด้วย 1% sodium hypochlorite 1 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่น 5 ครั้ง ก่อนปลูก เตรียมวัสดุปลูก (ดิน:ทราย, 1:1 (v/v)) นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำไปใส่ในกระถางทดลองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 ซม. สูง 30 ซม.

ทำการทดลอง 2 ชุด (ภาพที่ 1) ชุดที่ 1 ปลูกพืชในเดือนเมษายน ถึง กรกฎาคม พ.ศ. 2560 ชุดที่ 2 ปลูกในเดือนมิถุนายน ถึง กันยายน พ.ศ. 2560 ในโรงเรือนกลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน แต่ละชุดปลูกพืชตามกรรมวิธีทดลองพร้อมกับการใส่ราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา 10 กรัมต่อกระถาง ในระหว่างการทดลอง ดูแลรดน้ำทุกวัน กำจัดวัชพืชและให้ธาตุอาหารพืช เมื่อพืชมีอายุครบ 13 สัปดาห์ สุ่มเก็บตัวอย่างวัสดุปลูก นำไปแยกสปอร์ด้วยวิธี wet sieving and decanting method (Gerdemann and Nicolson, 1963) ตรวจสอบจำนวนสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ วิเคราะห์ข้อมูลและเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยใช้วิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

#### 2. ผลของไนโตรเจนร่วมกับฟอสฟอรัสต่อการเพิ่มปริมาณสปอร์ราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา

วางแผนการทดลองแบบ factorial in CRD จำนวน 4 ซ้ำ มี 2 ปัจจัย โดยปัจจัยแรก คือ ระดับความเข้มข้นของไนโตรเจน มี 5 ระดับ ได้แก่ 60, 80, 100, 120, 140 มก./ลิตร ปัจจัยที่สอง คือ ระดับความเข้มข้นของฟอสฟอรัส มี 5 ระดับ ได้แก่ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 มก./ลิตร

เตรียมรา *Glomus intraradices* เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อ (25 สปอร์ต่อกรัม) เตรียมเมล็ดหล้ารูซี่ ล้างด้วย 1% sodium hypochlorite นาน 1 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่น 5 ครั้ง ก่อนปลูก เตรียมวัสดุปลูก (ดิน:ทราย, 1:1 (v/v)) นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำไปใส่ในกระถางทดลองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 ซม. สูง 30 ซม.

ปลูกหล้ารูซี่ 3 เมล็ดต่อกระถาง พร้อมกับการใส่ราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา 10 กรัมต่อกระถาง (ภาพที่ 2) ในระหว่างการทดลอง ดูแลรดน้ำทุกวัน กำจัดวัชพืชและให้ธาตุอาหารพืชตามกรรมวิธีทดลอง เมื่อพืชมีอายุครบ 13 สัปดาห์ สุ่มเก็บตัวอย่างวัสดุปลูก นำไปแยกสปอร์ด้วยวิธี wet sieving and decanting

method สุ่มเก็บตัวอย่างรากเพื่อตรวจการเข้าอาศัยของราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในรากหน้ารูชีด้วยวิธี slide method (Phillips and Hayman, 1970, Giovannetti and Mosse, 1980) ตรวจนับจำนวนสปอร์ และการเข้าอาศัยในรากภายใต้กล้องจุลทรรศน์ วิเคราะห์ข้อมูลและเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยใช้วิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

### 3. ผลของวัสดุปลูกต่อการเพิ่มปริมาณสปอร์ราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 14 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ได้แก่ 1. ดิน:ทราย 2. แกลบดำ 3. ดิน: แกลบดำ 4. ทราย:แกลบดำ 5. ดิน:ทราย:แกลบดำ

เตรียมรา *Glomus intraradices* เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อ (25 สปอร์ต่อกรัม) เตรียมเมล็ดหน้ารูชี ล้างเมล็ดด้วย 1% sodium hypochlorite นาน 1 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น 5 ครั้ง ก่อนปลูก เตรียมวัสดุปลูกหนึ่ง ซ้ำที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ผสมวัสดุปลูก 5 แบบ ตามกรรมวิธีทดลอง แล้วนำไปใส่ใน กระถางทดลองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 ซม. สูง 30 ซม.

ปลูกหน้ารูชีลงในกระถางทดลอง 3 เมล็ดต่อกระถาง พร้อมกับการใส่ราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา 10 กรัมต่อกระถาง ในระหว่างการทดลอง ดูแลรดน้ำทุกวัน กำจัดวัชพืชและให้ธาตุอาหารพืช เมื่อพืชมีอายุครบ 13 สัปดาห์ สุ่มเก็บตัวอย่างวัสดุปลูก นำไปแยกสปอร์ด้วยวิธี wet sieving and decanting method สุ่มเก็บ ตัวอย่างรากเพื่อตรวจการเข้าอาศัยในรากหน้ารูชีของราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาด้วยวิธี slide method ตรวจ นับจำนวนสปอร์และการเข้าอาศัยในรากภายใต้กล้องจุลทรรศน์ วิเคราะห์ข้อมูลและเปรียบเทียบความ แตกต่างทางสถิติโดยใช้วิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

### 4. การทดสอบการเพิ่มปริมาณสปอร์ราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในโรงเรือนผลิตปุ๋ยชีวภาพ

การทดลองโดยใช้สถิติแบบ t-test จำนวน 27 ซ้ำ โดยเปรียบเทียบวิธีที่ได้จากการทดลองขั้นตอนที่ 1 - 3 (ปี 2560-2562) เปรียบเทียบกับวิธีที่ผลิตเดิม

เตรียมรา *Glomus intraradices* เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อ (25 สปอร์ต่อกรัม) เตรียมเมล็ดหน้ารูชี และ เมล็ดข้าวโพดพันธุ์นครสวรรค์ 3 ล้างเมล็ดด้วย 1% sodium hypochlorite นาน 1 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น 5 ครั้ง ก่อนปลูก เตรียมวัสดุปลูก (ดิน:ทราย, 1:1 (v/v)) หนึ่งซ้ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้ว นำไปใส่ในกระถางทดลองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 ซม. สูง 30 ซม.

ปลูกข้าวโพด 3 เมล็ดต่อกระถาง (วิธีเดิม) และปลูกหน้ารูชี 3 เมล็ดต่อกระถาง (วิธีใหม่) แต่ละพืช ปลูกจำนวน 27 กระถาง พร้อมกับการใส่ราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา 10 กรัมต่อกระถาง ในระหว่างการ ทดลอง ดูแลรดน้ำทุกวัน กำจัดวัชพืชและให้ธาตุอาหารพืชตามวิธีเดิม (สารละลาย 1/2 Hoagland) หรือวิธี ใหม่ เมื่อพืชมีอายุครบ 13 สัปดาห์ สุ่มเก็บตัวอย่างวัสดุปลูก นำไปแยกสปอร์ด้วยวิธี wet sieving and decanting method สุ่มเก็บตัวอย่างรากเพื่อตรวจการเข้าอาศัยของราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในรากพืชด้วย วิธี slide method ตรวจนับจำนวนสปอร์และการเข้าอาศัยในรากภายใต้กล้องจุลทรรศน์ วิเคราะห์ข้อมูล และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ของทั้ง 2 วิธี ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

## - เวลาและสถานที่

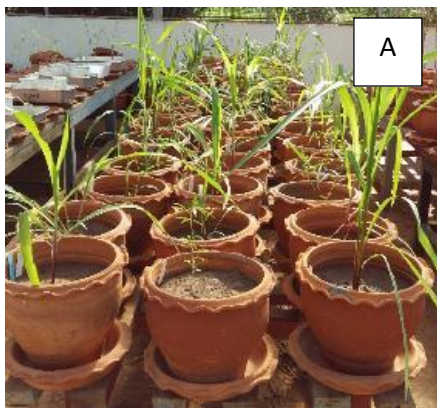
ตุลาคม 2559 - กันยายน 2563

กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

## 8. ผลการทดลองและวิจารณ์

### 1. การทดสอบพืชอาศัยที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณสปอร์ราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา

จากการทดสอบการเพิ่มปริมาณสปอร์รา *Glomus intraradices* โดยการใช้พืชอาศัยชนิดต่างๆ ในการทดลองชุดที่ 1 พบว่า การเพิ่มปริมาณสปอร์โดยใช้หญ้าธูซี่ทำให้มีปริมาณสปอร์มากที่สุด คือ 66 สปอร์ต่อกรัม ส่วนถั่วคาวาลเคดและถั่วท่าพระสไตโลมีการสร้างสปอร์ราน้อยที่สุด คือ 18 และ 25 สปอร์ต่อกรัม ในการทดลองชุดที่ 2 พบว่า การเพิ่มปริมาณสปอร์โดยใช้หญ้าธูซี่ หญ้าอะตราตัมและหญ้าพลิแคทูลัม ทำให้มีปริมาณสปอร์มากที่สุด คือ 49 44 และ 46 สปอร์ต่อกรัม ส่วนการใช้ข้าวโพดพันธุ์นครสวรรค์3 และตากฟ้า3 ทำให้การสร้างสปอร์ราเกิดขึ้นน้อยที่สุด (ตารางที่ 1) จากการศึกษาของ Kaushish และคณะ (2011a; 2011b) ได้ทดสอบผลของพืชอาศัยสามชนิด ได้แก่ ตะไคร้ หัวหอม และโสน ต่อการสร้างสปอร์ราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา พบว่า *Acaulospora laevis* เกิดการสร้างสปอร์ได้ดีที่สุดในโสน ส่วน *Glomus mosseae* สร้างสปอร์ได้ดีที่สุดในตะไคร้ ในการทดสอบของ Mangla และคณะ (2012) ทดสอบการผลิตสปอร์ของ *Acaulospora laevis* และ *Glomus mosseae* เช่นกันแต่ใช้ข้าวสาลีและข้าวบาร์เลย์เป็นพืชทดสอบการเพิ่มปริมาณ พบว่าราทั้งสองสร้างสปอร์ได้ดีในข้าวสาลีมากกว่าในข้าวบาร์เลย์ จากผลการทดลองในตารางที่ 1 จะเห็นได้ว่าในช่วงเวลาที่ต่างกัน ทำให้พืชอาศัยมีผลต่อการสร้างสปอร์ของเราเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งในช่วงเดือน เม.ย. - ก.ค. เป็นช่วงที่มีอุณหภูมิที่สูงกว่า เดือน มิ.ย. - ก.ย. เป็นผลให้พืชอาศัยตระกูลถั่วมีการผลิตสปอร์ของราน้อยกว่าพืชตระกูลหญ้า ส่วนในระหว่างเดือน มิ.ย.- ก.ย. ทำให้ข้าวโพดทั้งสองพันธุ์มีการผลิตสปอร์ของราน้อยลงกว่าพืชชนิดอื่น ทั้งนี้เนื่องจากอุณหภูมิเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อการผลิตราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (Ferguson and Menge, 1982) แต่อย่างไรก็ตาม หญ้าธูซี่มีผลทำให้การผลิตสปอร์ของเรา *Glomus intraradices* ได้มากที่สุด ทั้งสองช่วงเวลา ดังนั้นในการศึกษานี้หญ้าธูซี่เป็นพืชอาศัยที่เหมาะสมสำหรับการผลิตสปอร์รา *Glomus intraradices* กว่าพืชชนิดอื่น





ภาพที่ 1 การผลิตสปอร์ราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาโดยวิธี pot culture, A) ชุดที่ 1 : การทดลองระหว่างเดือน เม.ย. - ก.ค. 2560, B) ชุดที่ 2 : การทดลองระหว่างเดือน มิ.ย. - ก.ย. 2560

ตารางที่ 1 ผลของพีชอาศัยต่อการผลิตสปอร์รา *Glomus intraradices* ภายใต้สภาพเรือนทดลอง

พีชอาศัย	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2
	เม.ย. - ก.ค. 2560	มิ.ย. - ก.ย. 2560
	สปอร์ต่อกรัม	สปอร์ต่อกรัม
ข้าวโพดพันธุ์นครสวรรค์3	59 ab	18 b
ข้าวโพดพันธุ์ตากฟ้า3	30 cd	21 b
หญ้าลูซี่	66 a	49 a
หญ้านิสีม่วง	49 ab	37 ab
หญ้าอะตราตัม	44 bc	44 a
หญ้าพลิแคทูลัม	31 cd	46 a
ถั่วคาวาลเคด	18 d	26 ab
ถั่วท่าพระสไตโล	25 d	34 ab
C.V. (%)	16.5	29.2

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละชุด ไม่ต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

## 2. ผลของไนโตรเจนร่วมกับฟอสฟอรัสต่อการเพิ่มปริมาณสปอร์ราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา

จากการทดสอบผลของธาตุไนโตรเจนและฟอสฟอรัสต่อการเพิ่มปริมาณสปอร์รา *Glomus intraradices* (ตารางที่ 2) พบว่า การใส่ไนโตรเจนที่ระดับความเข้มข้น 60 มก.ต่อลิตร ร่วมกับการใส่ฟอสฟอรัสที่ระดับความเข้มข้น 1.0 มก.ต่อลิตร ทำให้มีการสร้างสปอร์ของรามากที่สุด คือ 48.5 สปอร์ต่อกรัม เมื่อมีการใส่ไนโตรเจนเพิ่มขึ้นในระดับ 80 - 140 มก.ต่อลิตร ทำให้มีการสร้างสปอร์ของราลดลง ที่ระดับฟอสฟอรัสความเข้มข้น 1.0 มก.ต่อลิตร จะเห็นได้ว่าเมื่อมีการใส่ไนโตรเจนเพิ่มขึ้น การใส่ฟอสฟอรัสควรมีความเข้มข้นลดลงจึงจะทำให้มีการสร้างสปอร์ที่ดีกว่า จากผลการทดลองแสดงให้เห็นถึงปัจจัยธาตุอาหารมีผลต่อการผลิตสปอร์อย่างมาก เนื่องจากราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาเป็นราที่อยู่ร่วมกับรากพืชแบบพึ่งพาอาศัย จึงมีอิทธิพลโดยตรงต่อการดูดใช้ธาตุอาหาร ส่วนการเข้าอาศัยในรากไม่มีความแตกต่างกัน

เนื่องจากพืชแตกต่างกันมีความสามารถในการดูดใช้ธาตุอาหารฟอสฟอรัสได้แตกต่างกัน ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาาระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อพืชแต่ละชนิดเพื่อนำไปใช้ในการผลิตสปอร์



ภาพที่ 2 การผลิตสปอร์ราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาโดยวิธี pot culture ที่ปลูกด้วยหญ้าธูซี่ ที่มีการใส่ธาตุอาหารไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในระดับที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 2 ผลของธาตุไนโตรเจนและฟอสฟอรัสต่อการผลิตสปอร์และการเข้าอาศัยในรากของรา *Glomus intraradices* ภายใต้สภาพเรือนทดลอง

ไนโตรเจน (มก./ลิตร)	จำนวนสปอร์ต่อกรัม					N - เฉลี่ย
	ฟอสฟอรัส (มก./ลิตร)					
	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	
60	42.7	42.4	37.5	42.3	48.5	42.7
80	46.9	42.2	44.4	47.0	40.4	44.2
100	47.0	44.4	41.4	45.0	43.1	44.2
120	40.6	41.2	44.0	39.2	43.5	41.7
140	43.9	39.1	46.3	37.6	40.1	41.4
P - เฉลี่ย	44.2	41.8	42.7	42.2	43.1	
CV =						
ไนโตรเจน (มก./ลิตร)	% การเข้าอาศัยในราก					N - เฉลี่ย
	ฟอสฟอรัส (มก./ลิตร)					
	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	
60	96.7	99.2	90.8	98.8	98.8	96.8
80	89.2	94.2	95.8	95.8	97.5	94.5
100	96.7	99.6	93.3	99.2	97.9	97.3
120	96.3	98.3	92.5	96.3	93.3	95.3
140	94.2	92.1	97.5	98.3	97.9	96.0
P - เฉลี่ย	94.6	96.7	94.0	97.7	97.1	
CV =						

### 3. ผลของวัสดุปลูกต่อการเพิ่มปริมาณสปอร์ราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา

จากการทดสอบผลของวัสดุปลูกต่อการเพิ่มปริมาณสปอร์รา *Glomus intraradices* (ตารางที่ 3) พบว่า วัสดุปลูก ดิน:ทราย ซึ่งเป็นวัสดุปลูกแบบเดิม มีการสร้างสปอร์ของรามากที่สุด คือ 31 สปอร์ต่อกรัม จะเห็นได้ว่าวัสดุปลูกที่ไม่มีดิน คือ แกลบดำ และ ทราย:แกลบดำ มีการสร้างสปอร์รำน้อยมาก ทั้งนี้เนื่องจากวัสดุไม่สามารถกักเก็บธาตุอาหารและความชื้นที่เพียงพอสำหรับการเจริญเติบโตของพืช ส่งผลให้การเจริญเติบโตของรำน้อยตามไปด้วย



ภาพที่ 3 การผลิตสปอร์ราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาโดยวิธี pot culture ที่ปลูกด้วยหญ้าธูซี่ ในวัสดุปลูกที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 3 ผลของวัสดุปลูกต่อการผลิตสปอร์รา *Glomus intraradices* ภายใต้สภาพเรือนทดลอง

กรรมวิธี	จำนวนสปอร์	% colonization
ดิน:ทราย	31.0	50.3
แกลบดำ	1.1	55.3
ดิน:แกลบดำ	13.7	40.3
ทราย:แกลบดำ	2.2	57.0
ดิน:ทราย:แกลบดำ	11.6	50.5
CV		

### 4. การทดสอบการเพิ่มปริมาณสปอร์ราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาแบบเข้มข้นในโรงเรือนผลิตปุ๋ยชีวภาพ

จากการทดสอบการเพิ่มปริมาณสปอร์รา *Glomus intraradices* ด้วยวิธีเดิมและวิธีใหม่ (ตารางที่ 4) พบว่า วิธีใหม่ที่มีการใช้พีชออคัยคือหญ้าธูซี่และการปรับใส่ธาตุอาหารไนโตรเจนและฟอสฟอรัสให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสม ทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนสปอร์ดีกว่า เพิ่มขึ้นประมาณ 45 % ของการผลิตด้วยวิธีเดิม





ภาพที่ 4 การผลิตสปอร์ราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาโดยวิธี pot culture ที่ปลูกด้วยหญ้าธูซี่ (ซ้าย) และ ข้าวโพด (ขวา)

ตารางที่ 4 การผลิตสปอร์รา *Glomus intraradices* ภายใต้สภาพเรือนทดลองเปรียบเทียบการผลิตแบบเดิม และแบบใหม่

กรรมวิธี	จำนวนสปอร์	%colonization
เดิม	29.5	100.0
ใหม่	43.0	91.1
LSD <sub>.05</sub>		

## 9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองการหาปัจจัยที่เหมาะสมสำหรับการผลิตสปอร์ราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา *Glomus intraradices* พบว่า การใช้หญ้าธูซี่เป็นพืชอาศัย และการจัดการธาตุอาหารไนโตรเจนและฟอสฟอรัสให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสม คือ 60 มก.ต่อลิตร และ 1.0 มก.ต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับการปลูกหญ้าธูซี่ นั้น ทำให้การผลิตสปอร์ได้ผลดีกว่าการผลิตสปอร์แบบเดิม ภายใต้สภาพเรือนทดลอง ทั้งนี้หากมีการผลิตราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาชนิดอื่น ควรมีการศึกษาพืชอาศัยและการจัดการธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตราชนิดนั้นต่อไป

## 10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ได้ข้อมูลเกี่ยวกับการผลิตราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา *Glomus intraradices* คือ การใช้พืชอาศัยที่เหมาะสม และการจัดการธาตุอาหารไนโตรเจนและฟอสฟอรัสสำหรับการผลิต
2. ได้ต้นแบบการผลิตเพื่อนำไปปรับใช้กับการผลิตราไมคอร์ไรซาชนิดอื่น เพื่อถ่ายทอดแก่นักวิชาการนำไปใช้ในส่วนภูมิภาค

## 11. คำขอบคุณ

-

## 12. เอกสารอ้างอิง

- Al-Khaliel, A.S. 2010. Effect of Salinity Stress on Mycorrhizal Association and Growth Response of Peanut Infected by *Glomus mossseae*. *Plant Soil Env.* 56: 318-324.
- Bawadekji, A., F.N. Al-Barakah and M.A.U. Mridha. 2016. New hosts for large scale inoculum production of arbuscular mycorrhizal fungi from Saudi soils. *J.Appl. Environ. Biol. Sci.*6(9): 111-115.
- Chaurasia, B. and P.K. Khare. 2005. *Hordeum vulgare*: A Suitable Host for Mass Production of Arbuscular Mycorrhizal Fungi from Natural Soil. *Appl. Ecol. Env. Res.* 4(1): 45-53.
- Ferguson, J.J. and J.A. Menge. 1982. Factors that affect production of endomycorrhizal inoculum. *Proc. Fla. State Hort. Soc.*95: 37-39.
- Gerdemann, J.W. and T.H. Nicolson. 1963. Spores of Mycorrhizal, Endogone Species Extracted from Soil by Wet Sieving and Decanting. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 46: 235-244.
- Ghorbani, M., J. Khara and N. Abbaspour. 2012. Effects of Season and Soil Conditions on the Mycorrhizal Status and Colonization of Seven Grass Species. *Iran. J. Plant Phys.* 2: 387-393.
- Giovannetti, M. and B. Mosse. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.* 84: 489-500.
- Hoagland, D.R., and D.I. Arnon. 1950. The waterculture method for growing plants without soil. California Agricultural Experiment Station Circular 347.
- Kaushish, S., A. Kumar and A. Aggarwal. 2011a. Influence of Hosts and Substrates on Mass Multiplication of *Glomus mosseae*. *Afri. J. of Agric. Res.* 6(13): 2971-2977.
- Kaushish, S., A. Kumar, C. Mangla and A. Aggarwal. 2011b. Mass Multiplication of AM Inoculum: Effect of Hosts and Substrates in Rapid Culturing of *Acaulospora laevis*. *Indian Phytopath.* 64(2): 159-163.
- Klironomos, J. 2000. Host-Specificity and Functional Diversity among Arbuscular Mycorrhizal Fungi. In: Bell CR, Brylinsky M, Johnson-Green P, eds. Proceedings of the Eighth International Symposium on Microbial Ecology. Microbial Biosystems: New Frontiers. Halifax, Canada: *Atlantic Canada Society for Micro. Eco.*, 845-851.
- Mangla, C., A. Kumar and A. Aggarwal. 2012. Inoculum Production of Endophytic Mycorrhiza Using Mustard Seed Waste as Substrate. *J. on New Biol. Reports* 1(2): 61-66.
- Phillips, J.M. and D.S. Hayman, 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment for infection. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*55:158-161.

- Silva, J.A. and R. Uchida. 2000. Plant Nutrient Management in Hawaii's Soils: Approaches for Tropical and Subtropical Agriculture. Honolulu University of Hawaii. 7 p.
- Smith, S.E. and D.J. Read. 1997. *Mycorrhizal Symbiosis*. 2nd Ed., Academic Press, London, UK. 604 p.
- Stoklosa, A. and H. Madani. 2013. Effect of Ultraviolet-B Radiation on Arbuscular Mycorrhizal Colonization of Two Rangeland Weeds. *Afri. J. Micro. Res.* 7: 5484-5488.
- Sylvia, D.M. and L.H. Neal. 1990. Nitrogen Affects the Phosphorus Response of VA Mycorrhiza. *New Phytol.* 115: 303-310.

กรมวิชาการเกษตร