**การคัดเลือกสายพันธุ์ราอาบัสคูลาไมโคไรซ่าที่สร้างสปอร์อยู่ในรากพืชเป็นปริมาณมาก**

Seiection of Arbuscular Mycorrhiza Species for a large numbers

of spore production in root plant

สุภาพร ธรรมสุระกุล[1] นิศารัตน์ ทวีนุต[1] มณฑิกานธิ์ สงบจิต[1]

**บทคัดย่อ**

ปัจจุบันเป็นที่ทราบกันทั่วไปว่าปุ๋ยชีวภาพอาบัสคูลาไมโคไรซ่ามีประโยชน์กับพืชที่สำคัญทางการเกษตรหลายชนิด โดยปุ๋ยชีวภาพนี้มาเพิ่มประสิทธิภาพในการดูดซับธาตุอาหารแก่พืช จึงช่วยลดปริมาณการใช้ปุ๋ยเคมีเพิ่มความแข็งแรงให้แก่พืช การผลิตปุ๋ยชีวภาพอาบัสคูลาไมโคไรซ่าเป็นหัวเชื้อนั้นได้หัวเชื้อจากการใช้สปอร์เลี้ยงในต้นพืชอาศัยเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งพืชอาศัยปลูกอยู่ในดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เก็บเกี่ยวเมื่อหัวเชื้ออายุประมาณ 4 เดือน ดังนั้นหลัง จากปลูกย่อมมีจุลินทรีย์อื่นปะปน เมื่อนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพ จึงมีจุลินทรีย์อื่นปะปนมาด้วยแม้จะไม่เป็นอันตรายต่อพืช แต่จะเป็นอุปสรรคในการผลิตพืชบางชนิด ยกตัวอย่างเช่น การผลิตพืชใน Tissue Culture (Hydroponic Culture และ Aeroponic Culture เป็นต้น จึงควรมีการผลิตปุ๋ยชีวภาพอาบัสคูลาไมโคไรซ่าแบบเม็ดที่ลดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อื่น ซึ่งก่อนอื่นจะต้องคัดเลือกราอาบัสคูลาไมโคไรซ่าชนิดที่สร้างสปอร์ในรากเป็นปริมาณมาก โดยทำการทดลองราอาบัสคูลาไมโคไรซ่า 7 ชนิด ได้แก่ *Glomus deserticola* (GLDES), *Glomus manihotene* (GLMAN), *Glomus intraradices* (GLDES), *Gigaspora margarita* (GIMAR), *Glomus clarum* (GLC), *Acaulospora scrobiculata*(ACS) และ *Acaulospora morrowae* (ACM) ปลูกในข้าวโพด ผลการทดลองพบว่าราอาบัสคูลาไมโคไรซ่า *Glomus intraradices* มีการสร้างสปอร์ในรากพืชเป็นปริมาณมากเหมาะสมที่จะใช้นำไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์แบบเม็ด

[1]กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

## คำนำ

เนื่องจากเป็นที่ทราบกันทั่วโลกว่าปุ๋ยชีวภาพอาบัสคูลาไมโคไรซ่ามีประโยชน์กับพืชที่สำคัญทางการเกษตรหลายชนิดทั้งพืชไร่ พืชสวน และพืชผัก (สุภาพร, 2549 ; ออมทรัพย์และคณะ, 2529 ; ออมทรัพย์และสุภาพร, 2539; Rhodes and Gerdemann, 1978 ; Thamsurakul *et al.* 2000) โดยเชื้อนี้มาเพิ่มประสิทธิภาพในการดูดซับธาตุอาหารแก่พืช จึงช่วยลดปริมาณการใช้ปุ๋ยเคมี เพิ่มการมีชีวิตรอดของต้นกล้า และยังมีผลทางด้านการป้องกันโรคราที่เกิดกับระบบรากพืช (Davis, 1980; Mark, 1970)

การผลิตอาบัสคูลาไมโคไรซ่าเป็นหัวเชื้อนั้นส่วนใหญ่ใช้สปอร์เลี้ยงในต้นพืชอาศัยซึ่งปลูกในดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เมื่อมีปริมาณสปอร์เพิ่มขึ้นในดิน นำดินนั้นมาตรวจนับปริมาณสปอร์เมื่อได้ปริมาณตามต้องการก็ใช้เป็นหัวเชื้อต่อไป (Menge, 1983 ; Menge, 1984 ; Schenck and Perez, 1990) ต่อมามีการใช้วัสดุอื่นแทนดิน ได้แก่ เปลือกไม้ พีท เพอร์ไลท์ เวอร์มิคูไลท์ (Biermann and Linderman, 1983) ทราย (Ojala and Jarrell,1980) แคลซีน มอนท์มอริลไลนท์เคลย์ (Plenchtte *et al*., 1982) และเอ็กซ์แพนเด็ดเคลย์แอกกรีเกทส์ (Dehne and Backhaus, 1986) นอกจากนี้ยังมีการผลิตหัวเชื้อ Sheared-Root จาก Aeroponic cultures และการผลิตหัวเชื้อโดยอยู่ในรูปเม็ดที่บรรจุชิ้นส่วนของรากพืชที่มีราอาบัสคูลาไมโคไรซ่าอยู่ภายใน (Strullu and Plenchtte, 1991) ดังนั้นการผลิตปุ๋ยชีวภาพอาบัสคูลาไมโคไรซ่าให้ลดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อื่นควรจะใช้วิธีการผลิตเป็นรูปเม็ดที่บรรจุชิ้นส่วนของรากพืชที่มีราอาบัสคูลาไมโคไรซ่าอยู่ภายในซึ่งวิธีนี้จะทำให้เส้นใยของราที่อยู่ภายในเม็ดสามารถเจริญต่อไปได้ (Kuek *et al*.,1992) ทำให้เม็ดหัวเชื้อนี้ที่ได้มีประสิทธิภาพในการงอกเข้าสู่พืชได้เร็ว

วัตถุประสงค์การทดลองนี้เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ราอาบัสคูลาไมโคไรซ่าที่สร้างสปอร์ในรากเป็นปริมาณมากเพื่อนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพอาบัสคูลาไมโคไรซ่าที่มีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อื่นน้อยมากในรูปแบบเม็ดซึ่งเป็นวิธีที่ยังไม่เคยมีการผลิตเป็นการค้าในประเทศไทยมาก่อน

## วิธีดำเนินการ

**อุปกรณ์**

1.ตะแกรงร่อนสปอร์ขนาด 63 – 450 ไมครอน

2.เครื่องปั่นเหวี่ยง ที่มีความเร็วจะไม่ต่ำกว่า 2,000 รอบต่อนาที

3.หม้อนึ่งความดันไอน้ำ

4.ถ้วยเพาะขนาด 12 ออนซ์

5.กระถางดินเผาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 นิ้ว

6.น้ำยาย้อมราก Trypan Blue Lactic-Glycerol Solution

7.ราอาบัสคูลาไมโคไรซ่า 7 ชนิด

8.เมล็ดข้าวโพด (*Zea mays* L.)

9.กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ

10.ดินผสมทรายอัตรา 1 : 1 นึ่งฆ่าเชื้อ

11.สารกำจัดศัตรูพืช

12.สารเคมีและอุปกรณ์อื่นๆ ที่ใช้ในการทดลอง

**วิธีการ**

วางแผนการทดลอง Completely Randomized Design มี 4 ซ้ำ 7 กรรมวิธี ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1. ใส่สปอร์*Glomus deserticola* (GLDES)

กรรมวิธีที่ 2. ใส่สปอร์*Glomus manihotene* (GLMAN)

กรรมวิธีที่ 3. ใส่สปอร์*Glomus intraradices* (GLDES)

กรรมวิธีที่ 4. ใส่สปอร์*Gigaspora margarita* (GIMAR)

กรรมวิธีที่ 5. ใส่สปอร์ *Glomus clarum* (GLC)

กรรมวิธีที่ 6. ใส่สปอร์*Acaulospora scrobiculata*(ACS)

กรรมวิธีที่ 7.ใส่สปอร์ *Acaulospora morrowae*(ACM)

บันทึกเปอร์เซ็นต์การเข้าอาศัยในรากพืชของอาบัสคูลาไมโคไรซ่า และนำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบผลทางสถิติโดยวิธี Duncan Multiple Range Test

นำดินทำการเพิ่มปริมาณราอาบัสคูลาไมโคไรซ่า 7 ชนิด โดยทำการคัดเลือกชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ ทำการเพิ่มปริมาณสปอร์จาก single spore ในถ้วยเพาะซึ่งใส่ดินผสมนึ่งฆ่าเชื้อไว้ หลังจากอายุครบ 1 เดือนทำการย้ายลงกระถางดินเผาเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 นิ้ว ดูแลรดน้ำให้ปุ๋ย และกำจัดศัตรูพืชจนอายุครบ 4 เดือน ทำการสุ่มดินมานับจำนวนสปอร์โดยวิธี Wet Sieving and Decanting method_และนำรากข้าวโพดที่ได้มาล้างดินออกให้สะอาดแล้วต้มในสารละลาย KOH ที่มีความเข้มข้น 10% ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นานประมาณ 5 นาที จากนั้นล้างรากด้วยน้ำกลั่น 3-4 ครั้ง แล้วย้อมสีรากด้วย Trypan Blue Lactic-Glycerol Solution จากนั้นตัดรากที่ย้อมสีแล้วออกเป็นท่อนๆ ละ ประมาณ 1 เซนติเมตร เลือกรากที่ตัดไว้จำนวน 100 ชิ้น โดยวิธีสุ่มตัวอย่างแล้ววางบนสไลด์ ตรวจสอบจำนวนชิ้นส่วนของรากที่มีการเข้าอาศัยในรากภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดสเตอริโอ โดยวิธี slide method ของ Giovannetti และ Mosse จำนวนชิ้นรากที่มีการเข้าอาศัยของไมโคไรซ่าจะคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์จากรากทั้งหมด ได้ผลดังตาราง

**เวลาและสถานที่**

ดำเนินการทดลองเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือน กันยายน 2554 ในเรือนกระจกและในห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

## ผลการทดลองและวิจารณ์

การคัดเลือกสายพันธุ์ราอาบัสคูลาไมโคไรซ่า 7 ชนิดได้ผลการทดลองตามตารางพบว่าราอาบัสคูลาไมโคไรซ่า ที่สร้างสปอร์มากที่สุดคือ GLINT GLMAN ACS ACM GIMAR ตามลำดับ แต่การเข้าอยู่อาศัยในรากพืชมากที่สุดคือ ACS GLNT GLDES ACM GIMAR GLMAN และ GLC ตามลำดับ ราอาบัสคูลาไมโคไรซ่าที่มีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ผลิตเป็นผลิตภัณฑ์แบบเม็ดมากที่สุดคือ GLINT เนื่องจากมีทั้งการสร้างสปอร์และการเข้าอาศัยในรากพืชมาก รองลงมาคือ GLMAN ACS GLDES ตามลำดับ

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ในการทดลองคัดเลือกได้ราอาบัสคูลาไมโคไรซ่า *Glomus intraradices* (GLINT) ซึ่งสร้างสปอร์อยู่ในรากพืชเป็นปริมาณมากเหมาะสมที่จะนำไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์แบบเม็ด

## การนำไปใช้ประโยชน์

ข้อมูลการทดลองนี้สามารถนำไปพัฒนาต่อผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ไมโคไรซ่าแบบเม็ดซึ่งจะลดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อื่นที่อยู่ในวัสดุพาได้

## เอกสารอ้างอิง


สุภาพร ธรรมสุระกุล. 2549. ผลของรา วี-เอไมโคไรซ่าต่อการเจริญเติบโตของหน่อไม้ฝรั่ง. วารสารวิชาการเกษตร ปีที่ 24 ฉบับที่ 2 พฤษภาคม – สิงหาคม หน้า 211-223.

ออมทรัพย์ นพอมรบดี, สุภาพร ธรรมสุระกุล, สมเพชร เจริญสุข และ เย็นใจ วสุวัต. 2529. การคัดเลือกเชื้อ วี-เอ ไมโคไรซ่าที่มีประสิทธิภาพในการดูดธาตุฟอสฟอรัสของถั่วเหลือง ถั่วเขียว และถั่วลิสง. ผลงานวิจัยประจำปี 2529 เล่มที่ 1. กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร

ออมทรัพย์ นพอมรบดี และสุภาพร ธรรมสุระกุล. 2539. ผลของเชื้อ วี-เอไมโคไรซ่าต่อการเจริญเติบโตของสับปะรด. รายงานสัมมนาวิชาการสับปะรดครั้งที่ 2. ISBN 974-8027-36-8 หน้า 118-135

Biermann, B.J., and R.G. Linderman. 1983. **Effect of container plant growth medium and fertilizer phosphorus on establishment and host growth response to vesicular-arbuscular mycorrhizae**. J. Am. Soc. Hortic. Sci. 108: 962-971.

Davis. R.M. and Menge, J.A. 1980. Influence of *Glomus fasciculatus* and soil phosphorus on *Phytophthora parasitica* root rot of citrus. **Phytopath. 70: 477-452.**

Dehne, H.W., and G.F. Backhaus. 1986. **The use of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in plant production.** I. Inoculum production. Z. Pflazenkr. Pflanzenschutz 93: 415-424.

Kuek. C., IC. Tommerup and N. Malajczuk. 1992. **Hydrogel bead inocula for the production of ectomycorrhizal eucalypts for plantations.** Mycological Research 96: 273-277.

Mark, D.H. 1970. **The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections**. V. Resistance of mycorrhizae to infection by vegetative mycelium of *Phytophthora cinnamoni.* Phytopath. 60: 1472-1473.

Menge, J.A. 1983. **Utilization of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in agriculture.** Can. J. Bot. 61: 1015-1024.

Menge, J.A. 1984. **Inoculum production.** p. 187-203. *In* C.L. Powell and D.J. Bagyaraj (ed.) VA mycorrhiza. CRC Press, Boca Raton. FL. Ojala, J.C., and W.M. Jarrell. 1980. Hydroponic sand culture systems for mycorrhizal research. Plant Soil 57: 297-303.

Ojala, J.C., and W.M. Jarrell.1980. Hydroponic sand culture systems for mycorrhizal research. Plant Soil 57:297-303.

Plenchette, C., V. Furlan and JA. Fortin 1982. **Effects of different endomycorrhizal fungi on five host plants grown on calcined montmorillonite clay**. Journal of the American Society for Horticultural Science. 107: 535-538.

Rhodes, L.H. and J.W. Gerdermann. 1978. **Influence of phosphorus nutrition on sulfur uptake by vesicular-arbuscular mycorrhizae of onion.** Soil Bichem. 10: 361-364.

Schenck, N.C., and Y. Perez. 1990. **Isolation and culture of VA mycorrhizal fungi.** p. 237-258. *In* D.P. Labeda (ed.) Isolation of biotechnological organisms from nature. McGraw Hill Publ. Co., New York.

Strullu, DG. and C. Plenchette. 1991**. The entrapment of *Glomus* sp. In alginate beads and their use as root inoculum.** Mycological Research 95: 1194-1196.

Thamsurakul, S., O. Nopamornbodi, S. Charoensook and S. Roenrugroeng. 2000. **Increasing pineapple yield using VA mycorrhizal fungi.** Acta Horticulture. 529: 199-202.

**ภาคผนวก**

ตารางที่ 1  แสดงจำนวนสปอร์และเปอร์เซ็นต์การเข้าอาศัยของอาบัสคูลาไมโคไรซ่า จำนวน 7 ชนิด

| กรรมวิธี | จำนวนสปอร์/ดิน 1 กรัม | เปอร์เซ็นต์การเข้าอาศัยในราก |
|---|---|---|
| 1 GLDES | 7  d | 91 ab |
| 2 GLMAN | 67 b | 81 d |
| 3 GLINT | 86 a | 97 ab |

| | | |
|---|---|---|
| 4 GIMAR | 8 d | 83 d |
| 5 GLC | 6 d | 79 d |
| 6 ACM | 14 c | 90 bc |
| 7 ACS | 18 c | 98 a |
| CV (%) | 9.6 | 5.4 |