การศึกษาพืชอาศัยเพื่อขยายเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาจากสวนลำไย

The study of host for multiplication of arbuscular mycorrhiza from longan orchard

อังคณา เดชอูป[1], อรวรรณ ฉัตรสีรุ้ง[1], สุรินทร์ นิลสำราญจิต[1] และ ฉันทลักษณ์ ติยายน[1*]

Angkana Dechaoup[1], Arawan Shutsrirung[1], Surin Nilsamranchit[1] and Chantalak Tiyayon[1*]

บทคัดย่อ: การศึกษาพืชอาศัยหลายชนิดเพื่อขยายเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาโดยวิธี single-spore multiplication ดำเนินการเพื่อหาพืชอาศัยสำหรับเพิ่มจำนวนสปอร์ไมคอร์ไรซา และศึกษาความสามารถในการเพิ่มสปอร์ของไมคอร์ไรซาบางชนิดเพื่อนำไปใช้ประโยชน์กับต้นลำไย โดยวางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล (2×3×3) สุ่มสมบูรณ์ มีปัจจัยหลัก 3 ปัจจัย ได้แก่ 1) แหล่งที่มาของสปอร์ 2 แหล่ง คือแปลงลำไยอินทรีย์และแปลงลำไยที่มีการใช้สารเคมี 2) ลักษณะของสปอร์ไมคอร์ไรซา 3 แบบ ได้แก่ สปอร์สีแดง สีดำ และสีใส ที่แยกได้จากดินในแปลงลำไย 3) พืชอาศัย 3 ชนิดได้แก่ ข้าวโพด ข้าวฟ่าง และผักกาดหอมใบแดง รวม 18 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ บันทึกจำนวนไมคอร์ไรซาที่ขยายได้เมื่อพืชอาศัยครบอายุการเก็บเกี่ยว พบว่า ปัจจัยหลัก ได้แก่ แหล่งที่มาของสปอร์ ลักษณะของสปอร์ และชนิดพืชอาศัย รวมทั้งอิทธิพลร่วมระหว่างแหล่งที่มาของสปอร์กับลักษณะของสปอร์ แหล่งที่มาของสปอร์กับชนิดพืชอาศัย และลักษณะของสปอร์กับชนิดพืชอาศัย มีผลต่อการขยายเชื้อราไมคอร์ไรซา โดยสปอร์สีแดงที่แยกได้จากแปลงลำไยอินทรีย์โดยใช้ข้าวฟ่าง สปอร์สีแดงที่แยกได้จากแปลงลำไยอินทรีย์โดยใช้ข้าวโพด สปอร์สีใสที่แยกได้จากแปลงลำไยอินทรีย์โดยใช้ข้าวฟ่าง และสปอร์สีแดงที่แยกได้จากแปลงลำไยที่มีการใช้สารเคมีโดยใช้ข้าวโพด สามารถขยายได้ดีที่สุดสำหรับการทดลองนี้ โดยพบสปอร์จำนวน 929, 796, 706 และ 699 สปอร์ต่อดิน 100 กรัม ตามลำดับ ซึ่งเหมาะสมที่จะนำไปศึกษาการใช้ประโยชน์กับสวนลำไยต่อไป
คำสำคัญ: พืชอาศัย, ไมคอร์ไรซา, ลำไย

ABSTRACT: The study of various host plants for multiplication of arbuscular mycorrhiza isolated from longan orchard by single-spore multiplication method was conducted to find appropriate host for mycorrhiza spore multiplication and to observe multiplication ability of some mycorrhiza spores to be used in longan plants. The experimental design was Factorial (2×2×3) in CRD with three main factors: 1) the source of the spores, including organic longan orchard and conventional longan orchards, 2) the characteristics of spore including red, black, and clear spores isolated from longan orchard soils, 3) type of host plant including corn, sorghum, and red leaf lettuce. There were 18 treatments with 5 replications. The number of multiplied mycorrhiza spores were recorded when host plant reached maturity. The main factor, i.e. the source of the spores, characteristics of spore and type of host plant had effects on number of multiplied spores. There were interaction effects between the source of the spores and characteristics of the spore, the source of the spores and type of host plants, and the characteristics of spores and type of host plants on the multiplied mycorrhiza spores. Red spores from organic longan orchard in sorghum, red spores from organic longan orchard in corn, clear spores from organic longan orchard in sorghum, and red spores from conventional longan orchard in corn had the highest number of multiplied spores, with values of 929, 796, 706 and 699 spores per 100 g of soil, respectively. These combination of factors have potential for further study to be used in longan orchard.
Keywords: host plant, mycorrhiza, longan

[1] ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200
Department of Plant Science and Natural Resources, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

บทนำ

ไมคอร์ไรซา เป็นเชื้อราที่อยู่ร่วมกับรากพืชแบบพึ่งพาอาศัยกัน โดยเชื้อราจะช่วยเพิ่มการดูดซับน้ำและแร่ธาตุให้แก่พืช ทำให้พืชมีการเจริญเติบโตได้มากขึ้น ในขณะที่เชื้อราได้สารอาหารจากการสังเคราะห์แสงของพืช ไมคอร์ไรซาที่พบมากที่สุดได้แก่ อาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (สมจิตร, 2549)

เนื่องจากเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซานั้น ไม่สามารถเพาะเลี้ยงให้เจริญเติบโต และขยายพันธุ์ในห้องปฏิบัติการได้ การเพิ่มปริมาณเชื้อจึงต้องอาศัยรากพืชเพื่อเป็นที่เจริญของเชื้อรา พืชอาศัยที่เหมาะสมในการนำมาเพิ่มปริมาณสปอร์ ควรเป็นพืชที่มีระบบรากที่ดี คือมีการแตกแขนงของรากมากเพื่อเป็นที่อาศัยให้เชื้อรา สามารถปลูกได้ในสภาพอากาศของแต่ละแห่ง และมีอายุสั้น (Brundett et al., 1996) มีการศึกษาเกี่ยวกับอิทธิพลของพืชต่อการขยายจำนวนสปอร์ของเชื้อราไมคอร์ไรซา พบว่าพืชต่างชนิดกันมีการกระตุ้นการขยายจำนวนของเชื้อราไมคอร์ไรซาต่างกัน (Johnson et al., 1992; Sanders and Fitter, 1992) การเพาะเลี้ยงและขยายจำนวนของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาจึงต้องมีการคัดเลือกพืชที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณ เพื่อนำมาใช้เป็นพืชอาศัย ไปศลิณี (2552) รายงานว่าพืชอาศัยที่เหมาะสมสำหรับเพิ่มปริมาณสปอร์เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาได้ดีคือ ข้าวโพด (*Zea mays* L.) และข้าวฟ่าง (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) นอกจากนี้งานวิจัยของ Van der Heijden et al. (1998) พบว่า ชนิดของเชื้อราที่เฉพาะเจาะจงต่อชนิดของพืชนั้นส่งผลต่อการเติบโตของพืชแตกต่างกัน

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาพืชอาศัยที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนสปอร์ไมคอร์ไรซาที่แยกได้จากแปลงลำไยและชนิดของสปอร์ไมคอร์ไรซาที่สามารถเพิ่มจำนวนได้มากสำหรับศึกษาการใช้ประโยชน์เพื่อใช้ในสวนลำไย

วิธีการศึกษา

เก็บดินบริเวณรอบต้นลำไยที่มีการเจริญเติบโตดีจากแปลงลำไยอินทรีย์ ศูนย์หริภุญชัย อ.บ้านโฮ่ง จ.ลำพูน และดินจากสวนลำไยที่มีการใช้สารเคมีและโพแทสเซียมคลอเรต อ.สันป่าตอง จ.เชียงใหม่ ที่ความลึกประมาณ 15 ซม. ในเดือนมิถุนายน ปี พ.ศ. 2555 (Table 1) แยกสปอร์เชื้อราไมคอร์ไรซาด้วยวิธี wet-sieving and decanting method (Gerdemann and Nicolson, 1963) ร่วมกับวิธี sucrose centrifugation (Daniels and Skipper, 1982) นับจำนวนสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสามมิติ (stereomicroscope) เก็บสปอร์ไว้ใน Ringer solution ที่อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส (Frank et al., 2000) พบสปอร์ไมคอร์ไรซาทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ สปอร์ที่มีลักษณะกลมสีดำ กลมสีแดง กลมสีใส และค่อนข้างกลมสีเหลืองใส เลือกสปอร์ลักษณะเดียวกันที่พบในแปลงลำไยทั้งสองแห่งมาทดลองขยายจำนวนในพืชอาศัย โดยวางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล (2×3×3) สุ่มสมบูรณ์ มีปัจจัยหลัก 3 ปัจจัย ได้แก่ 1) แหล่งที่มาของสปอร์ 2 แหล่ง คือแปลงลำไยอินทรีย์และแปลงลำไยเคมี 2) ลักษณะของสปอร์ไมคอร์ไรซา 3 แบบ ได้แก่ สปอร์สีแดง สีดำ และสีใส ที่แยกได้จากดินในแปลงลำไย 3) พืชอาศัย 3 ชนิดได้แก่ ข้าวโพด ข้าวฟ่าง และผักกาดหอมใบแดง รวม 18 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ เพาะเมล็ดพืชอาศัยทั้ง 3 ชนิด ชนิดละ 40 ต้น เพิ่มปริมาณสปอร์ด้วยวิธี single spore germination โดยปลูกสปอร์ที่ได้จากดินบริเวณสวนลำไยทั้ง 2 แหล่งลงที่รากของพืชอาศัยต้นละ 1 สปอร์เมื่อข้าวโพดและข้าวฟ่างอายุได้ 5 วัน และผักกาดหอมใบแดงอายุ 1 เดือน เมื่อครบวงจรชีวิตพืชอาศัย งดให้น้ำ 1 สัปดาห์ เก็บตัวอย่างดิน 100 กรัม นับจำนวนสปอร์ของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในดินบริเวณรากพืชอาศัย

Table 1 Fertilizer and potassium chlorate application in sampled conventional longan orchard

Application	Month											
	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun**	July	Aug	Sept	Oct	Nov	Dec
potassium chlorate*											✓	✓
15-15-15					✓			✓	✓			
46-0-0					✓			✓	✓			
0-0-60						✓						

* Potassium chlorate is applied every other year (there was no application in 2012)

** The soil was sampled at the end of June

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองเพิ่มปริมาณสปอร์ของเชื้อราไมคอร์ไรซาจากดินทั้ง 2 แหล่ง คือ ดินจากสวนลำไยอินทรีย์ และดินจากสวนลำไยที่มีการใช้สารเคมี พบว่าปัจจัยหลัก ได้แก่ แหล่งที่มาของสปอร์ ลักษณะของสปอร์ และชนิดพืชอาศัย รวมทั้งอิทธิพลร่วมระหว่างแหล่งที่มาของสปอร์กับลักษณะของสปอร์ แหล่งที่มาของสปอร์กับชนิดพืชอาศัย และลักษณะของสปอร์กับชนิดพืชอาศัย มีผลต่อจำนวนสปอร์ของเชื้อราไมคอร์ไรซาที่ขยายได้ (**Table 2**) โดยสปอร์สีแดงที่แยกได้จากแปลงลำไยอินทรีย์โดยใช้พืชอาศัยข้าวฟ่าง สปอร์สีแดงที่แยกได้จากแปลงลำไยอินทรีย์โดยใช้พืชอาศัยข้าวโพด สปอร์สีใสที่แยกได้จากแปลงลำไยอินทรีย์โดยใช้พืชอาศัยข้าวฟ่าง และสปอร์สีแดงที่แยกได้จากแปลงลำไยเคมีโดยใช้พืชอาศัยข้าวโพด สามารถขยายได้ 929, 796, 706 และ 699 สปอร์ต่อดิน 100 กรัม ตามลำดับ ซึ่งมากที่สุดสำหรับการทดลองนี้ (**Figure 1**) ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาผลของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาต่อต้นกล้ากาแฟอราบิกา (*Coffea Arabica* L.) เพื่อใช้ผลิตกาแฟในระบบเกษตรอินทรีย์ ซึ่งพบว่า ข้าวโพดและข้าวฟ่างเป็นพืชที่เหมาะสมสำหรับการเพิ่มปริมาณสปอร์ของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในสกุล *Acaulospora* และ *Glomus* ที่พบในดินรอบรากกาแฟ (ไปศลิณี, 2552)

เชื้อราไมคอร์ไรซาจากดินสวนลำไยอินทรีย์ที่มีลักษณะสีแดงรูปร่างกลมในพืชอาศัยข้าวฟ่าง ข้าวโพดและผักกาดหอมใบแดง สปอร์สีดำรูปร่างกลมในพืชอาศัยข้าวฟ่างและผักกาดหอมใบแดง สปอร์สีใสรูปร่างกลมในพืชอาศัยข้าวฟ่าง สามารถขยายจำนวนสปอร์ได้มากกว่าสปอร์ที่มาจากดินสวนลำไยที่มีการใช้สารเคมีอย่างเห็นได้ชัดเจน ส่วนสปอร์ที่มีลักษณะสีดำรูปร่างกลมในพืชอาศัยข้าวโพด สปอร์สีใสรูปร่างกลมในข้าวโพด และผักกาดหอมใบแดงนั้นทั้งพบว่าสปอร์จากดินสวนลำไยที่มีการใช้สารเคมีสามารถขยายจำนวนสปอร์ได้มากกว่าสปอร์ที่มาจากดินสวนลำไยอินทรีย์ (**Figure 1**) การที่สปอร์บางชนิดในสวนลำไยที่มีการใช้สารเคมีขยายจำนวนได้น้อยกว่าพื้นที่ที่ไม่มีการใช้สารเคมีนั้น อาจเป็นผลจากการใช้สารเคมี เช่นงานทดลองของนิจพร (2548) ที่ได้ศึกษาผลกระทบของการใส่ปุ๋ยเคมีระยะยาวในระบบการปลูกข้าวโพดต่อความหลากหลายของเชื้อราอาร์บัสคูลาไมคอร์ไรซาของประเทศไทย พบว่า การใส่ปุ๋ยเคมีระยะยาวทำให้ปริมาณสปอร์ของเชื้อลดลง ทั้งนี้สปอร์เชื้อราอาร์บัสคูลาไมคอร์ไรซามีการตอบสนองต่อการใส่ปุ๋ยเคมีต่างกัน จึงอาจเป็นผลให้ปริมาณสปอร์ที่พบแตกต่างกัน และความสามารถในการขยายจำนวนสปอร์นั้นขึ้นอยู่กับชนิดของสปอร์ด้วย

นอกจากนี้ผลของการใช้โพแทสเซียมคลอเรตก็มีผลต่อปริมาณของสปอร์ไมคอร์ไรซา เช่นการทดลองของ กนกวรรณ (2546) ที่พบว่า เมื่อปลูกสปอร์ไมคอร์ไรซาร่วมกับต้นกล้าลำไย การใช้สารโพแทสเซียมคลอเรตมีผลต่อการเจริญและความสามารถในการเข้าอยู่อาศัยตลอดจนการสร้างสปอร์ การทดลองที่แช่สปอร์

ในสารโพแทสเซียมคลอเรตที่ความเข้มข้นต่างกัน แสดงผลว่าแถบดีเอ็นเอของสปอร์ที่แช่ในโพแทสเซียมคลอเรตแตกต่างจากสปอร์ที่ไม่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรต และพบว่าสปอร์อาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาที่ไม่แช่สารโพแทสเซียมคลอเรตมีแนวโน้มจะมีการเจริญดีกว่าสปอร์ที่ได้รับสารโพแทสเซียมคลอเรตเมื่อปลูกสปอร์กับพืชอาศัย

อย่างไรก็ตามข้อมูลเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราไมคอร์ไรซาที่เฉพาะต่อพืชอาศัยนั้นยังมีความคลุมเครือ เช่น ผลการทดลองของ Howeler et al. (1987) พบว่าพืชตระกูลถั่วมีความเหมาะสมต่อการสร้างสปอร์ของเชื้อราไมคอร์ไรซามากกว่าพืชตระกูลหญ้า ในขณะที่งานทดลองของ Simpson and Daft (1990) พบว่าสปอร์เชื้อราไมคอร์ไรซาชนิด *Glomus clarum* สามารถเพิ่มจำนวนสปอร์ในข้าวฟ่างและลูกเดือยได้ดีกว่าในถั่วลิสงและถั่วเขียว ในขณะที่เชื้อราไมคอร์ไรซาบางชนิดสามารถกระจายพันธุ์ได้ในพืชหลายชนิด ขึ้นอยู่กับการจัดการต่อพืช ชนิดของพืชอาศัย และสภาพแวดล้อม

Table 2 Analysis of variance of the factors on number of micorrhizal spore multiplication .

Factor	Degree of freedom	F	P
Site	1	4.968	0.029
Host plant	2	49.981	0.000
Spore characters	2	10.620	0.000
Site × Host plant	2	8.081	0.001
Site × Spore characters	2	5.355	0.007
Host plant × Spore characters	4	2.934	0.026
Site × Host plant × Spore characters	4	1.699	0.160

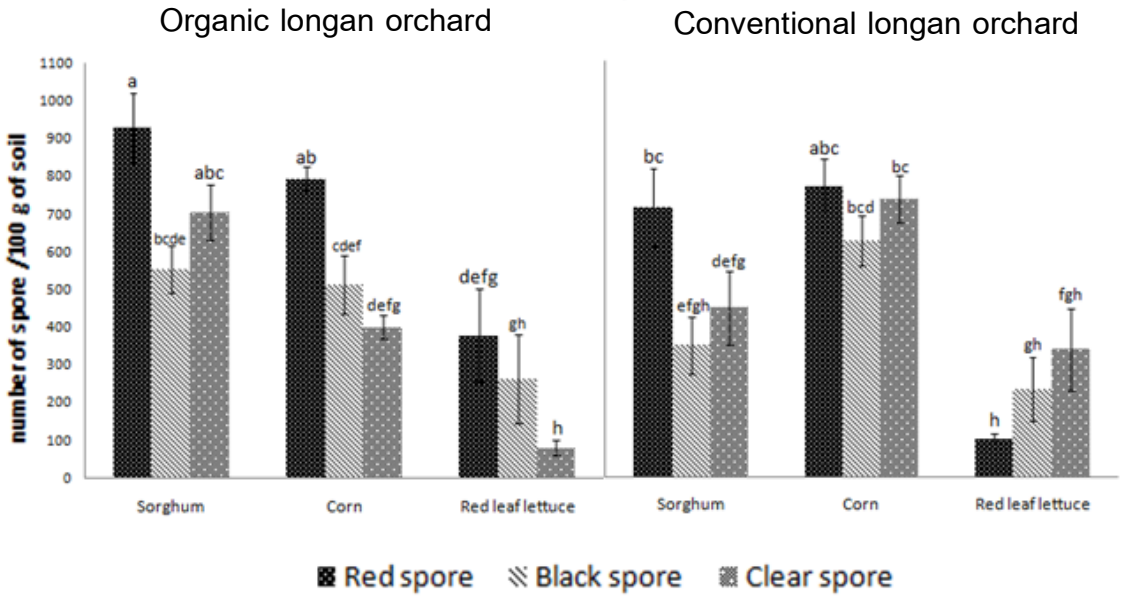

Figure 1 Number of micorrhizal spores per 100 g of soil in organic longan orchard and conventional longan orchards in three types of host plants (bars show SE value).

สรุป

สปอร์สีแดงที่แยกได้จากแปลงลำไยอินทรีย์โดยใช้พืชอาศัยข้าวฟ่าง สปอร์สีแดงที่แยกได้จากแปลงลำไยอินทรีย์โดยใช้พืชอาศัยข้าวโพด สปอร์สีใสที่แยกได้จากแปลงลำไยอินทรีย์โดยใช้พืชอาศัยข้าวฟ่าง และสปอร์สีแดงที่แยกได้จากแปลงลำไยที่มีการใช้สารเคมีโดยใช้พืชอาศัยข้าวโพด สามารถขยายจำนวนได้ดี จึงเหมาะสมที่จะใช้สำหรับการทดลองถึงการใช้ประโยชน์กับสวนลำไย และนำไปจำแนกชนิดของไมคอร์ไรซาในขั้นต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณโครงการลำไยชีวภาพ (คลัสเตอร์มูลค่าเพิ่มของการผลิตและแปรรูปพืชผักและสัตว์เศรษฐกิจเพื่อเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม) บัณฑิตวิทยาลัย และภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่สนับสนุนทุนในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

กนกวรรณ ชูฉัตร. 2546. ผลของสารโพแทสเซียมคลอเรตต่อเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในลำไย (*Euphoria longan*) วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นิจพร ณ พัทลุง. 2548. ผลกระทบของการใส่ปุ๋ยเคมีระยะยาวในระบบการปลูกข้าวโพดต่อความหลากหลายของเชื้อราอาร์บัสคูลาไมคอร์ไรซาของประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปรัชญาดุษฎีบัณฑิตสาขาปฐพีวิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ไปศลิณี จันธิบูลย์. 2552. ผลของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาต่อต้นกล้ากาแฟอราบิกา (*Coffea Arabica* L.) เพื่อใช้ผลิตกาแฟในระบบเกษตรอินทรีย์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิตสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สมจิตร อยู่เป็นสุข. 2549. ไมคอร์ไรซา (Mycorrhiza). ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 103 หน้า.

Brundett, M., N. Bougher, B. Dell, T. Grove and N. Malajczuk. 1996. Working with Mycorrhiza in Forestry and Agriculture. ACIAR Monograph. Canberra, Australia.

Daniels, B. A. and H. D. Skipper. 1982. Method for the recovery and quantitative estimation of propagules from soil. pp. 29 - 35. In: Methods and Principles of Mycorrhizal Research, N.C. Schenek, eds. The American Phytopathol. Soc. St. Paul, Minnessota.

Frank, L.S., S. Ringer, and M.V. Tyrode. 2000. Ringer's solution. Available: http://www.whonamedit.com/synd.cfm/2119.html. Accessed 25 Jun. 2012.

Gerdemann J. W. and T. H. Nicolson. 1963. Spores of mycorrhiza lendogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. Trans. Br. Mycol. Soc. 46: 235-244.

Howeler, R.H., E. Sieverding, and S.R. Saif. 1987. Practical aspects of mycorrhizal technology in some tropical crops and pastures. Plant and Soil 100: 249-283.

Johnson, N.C., D. Tilman, and D. Wedin. 1992. Plant and Soil controls on mycorrhizal fungal communities. Ecology 73: 2034-2042.

Sanders, I.R. and A.H. Fitter. 1992. Evidence for differential responses between host-fungus combinations of vesicular-arbuscular mycorrhizas from a grassland. Mycological research 96: 415-419.

Simpson, D. and M.J. Daft. 1990. Spore production and mycorrhizal development in various tropical crop hosts infected with *Glomus clarum*. Plant and Soil 121: 171-178.

Van der Heijden, M.G.A., T. Boller, A. Wiemken, and I.R. Sanders. 1998. Different arbuscular mycorrhizal fungal species are potential determinants of plant community structure. Ecology 79: 2082-2091.