ผลของเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซาร่วมกับเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่มีต่อการเจริญเติบโตของข้าวฟ่าง

Effects of Arbuscular-Mycorrhiza Fungi and Nitrogen-Fixing Bacteria on Growth of Sorghum (*Sorghum bicolor* Linn.)

คำนำ

ข้าวฟ่างเป็นธัญพืชที่มีความสำคัญเป็นอันดับที่ 4 ของโลก รองจาก ข้าวสาลี ข้าว และข้าวโพด เมล็ดข้าวฟ่างใช้เป็นอาหารของมนุษย์และสัตว์ ส่วนของลำต้นใช้เลี้ยงสัตว์ และใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น แอลกอฮอล์ ขนมหวาน ข้าวฟ่างปลูกกันแพร่หลายในทุกทวีป ในประเทศไทยมีพื้นที่การปลูกข้าวฟ่างประมาณปีละ 332,000 ไร่ ผลผลิต 970,342 ตันต่อปี ได้ผลผลิตเฉลี่ยประมาณ 292 กิโลกรัมต่อไร่ ปลูกมากในเขตภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (ศูนย์สารสนเทศการเกษตร, 2548) ข้าวฟ่างสามารถทนทานต่อความแปรปรวนของสภาพดินฟ้าอากาศ และทนความแห้งแล้งได้ดี ข้าวฟ่างจะให้ผลผลิตสูงต่อเมื่อได้รับปริมาณน้ำและธาตุอาหารในปริมาณที่พอเหมาะในการเจริญเติบโต เนื่องจากในบางพื้นที่มีปัญหาดินไม่อุดมสมบรูณ์ ขาดธาตุอาหารบางชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ซึ่งเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช การใช้ปุ๋ยเคมีทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายสูง การปรับปรุงดินโดยใช้จุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติเป็นปุ๋ยชีวภาพ เป็นเทคโนโลยีหนึ่ง ที่มีความสำคัญในการเกษตร ทำให้ดินอยู่ในสภาพเหมาะสม เพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดินต่อการเพาะปลูกพืชไร่และพืชสวน เช่น การใช้เชื้อราไมคอไรซา (mycorrhiza) ซึ่งเป็นราที่อยู่อาศัยร่วมกับรากพืชแบบพึ่งพาอาศัยกัน ไม่ทำให้เกิดโรคกับรากพืช ไมคอไรซามีบทบาทต่อการเจริญเติบโตของพืช สร้างสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth regulators) ได้แก่ auxin และ cytokinin ช่วยในการดูดธาตุอาหารโดยเฉพาะอย่างยิ่งธาตุฟอสฟอรัส ไมคอไรซามีบทบาทต่อการควบคุมโรคพืชในดินทางชีวภาพ ทำให้โครงสร้างของดินดี ช่วยปรับปรุงดิน ทำให้พืชทนแล้ง และทำให้การเจริญเติบโตของพืชเพิ่มขึ้น (Harley, 1969; สมบุญ และสาลี่, 2535) เชื้อรามีความสำคัญทางระบบนิเวศ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในฤดูแล้ง ซึ่งรากพืชจะดูดซึมธาตุอาหารมาใช้ได้น้อย (พูนพิไล, 2540) เชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา นอกจากจะดูดธาตุฟอสฟอรัสแล้ว เชื้อรายังช่วยพืชดูดธาตุอาหารที่จำเป็น เช่น ไนโตรเจน โพแทสเซียม เพิ่มขึ้น (St-Arnaud *et al.*, 1995)

การนำจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่เหมาะสมที่มีอยู่ในดิน เช่น เชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซาและแบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจนมาใช้ร่วมกับการปลูกข้าวฟ่าง อาจทำให้การเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวฟ่างเพิ่มมากขึ้น ส่วนข้าวฟ่างซึ่งมีระบบรากแผ่กระจายในดิน เป็นแหล่งอาหาร และฮอร์โมนพืชให้จุลินทรีย์มีการเพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็ว เนื่องจากเชื้อราไมคอไรซาจะเจริญเพิ่มปริมาณได้ในสภาวะที่มีรากพืชอาศัยร่วมอยู่แบบ symbiosis เท่านั้น ส่วนแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนในรากพืชตระกูลหญ้าส่วนใหญ่เป็นชนิด associative N_2 – fixer อาศัยอาหารและฮอร์โมนพืชที่ปลดปล่อยจากราก และเจริญเติบโตได้ดีในดินที่อยู่รอบรากพืช ในขณะที่แบคทีเรียจะช่วยตรึงไนโตรเจนจากอากาศเป็นประโยชน์ต่อพืช

เนื่องจากชนิดของเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา และแบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจน จะมีความเฉพาะเจาะจงกับพืชอาศัย ตลอดทั้งในสภาวะแวดล้อมของการปลูกพืชซึ่งต่างกัน ชนิดของจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการดูดธาตุอาหาร และการเจริญเติบโตของพืชต่างกันด้วย การใช้สายพันธุ์จุลินทรีย์ที่เหมาะสมทั้ง 2 ชนิดนี้มาปลูกร่วมกับข้าวฟ่างเป็นแนวทางในการเพิ่มผลผลิตของข้าวฟ่าง และลดการใช้ปุ๋ยเคมีที่มีราคาแพง ส่งเสริมให้เกษตรกรมีรายได้เพิ่มขึ้นด้วย

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา และเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่มีต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวฟ่าง

2. เพื่อศึกษาผลของเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา และเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนร่วมกับปุ๋ยไนโตรเจนที่มีต่อการดูดธาตุอาหารบางชนิดของข้าวฟ่าง

การตรวจเอกสาร

ลักษณะพฤกษศาสตร์ของข้าวฟ่าง

ข้าวฟ่างเป็นพืชที่มีแหล่งกำเนิดทางตะวันออกเฉียงเหนือของทวีปอัฟริกา มีการแพร่กระจายไปยังประเทศแถบอัฟริกาใต้ ประมาณศตวรรษที่ 16 และแพร่เข้าสู่สหรัฐอเมริกาเพื่อใช้ทำน้ำตาล และเป็นอาหารสัตว์ ข้าวฟ่างมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Sorghum bicolor* Linn. อยู่ในวงศ์ (Family) GRAMINEAE (ประสิทธิ์, 2529) ข้าวฟ่างเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ใบเรียงแบบสลับ (alternate) รูปร่างคล้ายใบหอกประกอบด้วย ตัวใบ (leaf blade) กาบใบ (leaf sheath) เยื่อกันน้ำค้าง (ligule) เส้นกลางใบ (midrib) มีสีขาว เหลือง หรือเขียว ขึ้นอยู่กับพันธุ์ ขอบใบอาจมีลักษณะเรียบหรือเป็นลอนคลื่น กาบใบหุ้มรอบลำต้น โดยซ้อนวนเริ่มจากขวาทับซ้ายแล้วซ้ายทับขวา กาบใบแรกและใบสุดท้าย (ใบธง) สั้นกว่ากาบใบอื่นๆ ฐานของกาบใบส่วนที่เหลือติดกับข้อมีขนสั้นๆ เรียงเป็นแถว มีระบบรากฝอย (fibrous root system) รากที่เกิดจากเมล็ดโดยตรงมีรากเดียวเรียก seminal root และมีรากเล็กๆ แตกออกมาจาก seminal root เรียก lateral root ปลายรากมีสารประกอบพวกซิลิกาอยู่ในชั้น endodermis ทำให้รากแข็งแรงและทนทานต่อความแห้งแล้ง ลำต้นตั้งตรงมีความสูงตั้งแต่ 45 เซนติเมตร ถึง 4 เมตร ขึ้นกับพันธุ์และสภาพแวดล้อม ภายในลำต้นมีลักษณะคล้ายฟองน้ำและมีรูอยู่ตรงแกนกลาง บางพันธุ์มีน้ำในลำต้นมากซึ่งอาจมีรสหวาน ช่อดอกเกิดบนก้านช่อซึ่งเป็นปล้องที่ยาวที่สุดของลำต้น ช่อดอกของข้าวฟ่างเป็นแบบ panicle ประกอบด้วย ก้านช่อดอก (peduncle) แกนกลางของช่อดอก (rachis) กิ่งแขนงช่อดอกซึ่งอาจมีเฉพาะ primary branches (กิ่งแขนงที่แตกออกจาก rachis) หรือแตกย่อยออกไปเป็น secondary branches (กิ่งแขนงที่แตกออกจาก primary branches อีกทีหนึ่ง) raceme ซึ่งเป็นกิ่งย่อยที่สุดของช่อดอก ประกอบด้วยดอกย่อย 2 ชนิด ดอกที่มีก้านดอก (pediceled spikelet) และดอกที่ไม่มีก้านดอก (sessile spikelet) Spikelet เป็นดอกที่มีขนาดใหญ่ ประกอบด้วยกลีบดอก 2 กลีบคือ upper glume และ lower glume หุ้มดอกย่อย (floret) 2 ดอก อยู่ภายในดอกย่อยอันบน เป็นดอกสมบูรณ์เพศประกอบด้วย lemma และมี palea ขนาดเล็กและบางอีก 1 อัน มี stamen 3 อัน style แยกเป็น 2 แฉกคล้ายขนนก เมล็ดอาจมีรูปทรงกลมหรืออาจนูนแบนเหมือนหลังเต่าข้างหนึ่ง ขึ้นอยู่กับพันธุ์ของข้าวฟ่าง เมล็ดมีสีขาว แดง น้ำตาล เหลืองและครีม (ประสิทธิ์, 2529)

เมล็ดข้าวฟ่างเป็นอาหารที่สำคัญของมนุษย์และสัตว์ เริ่มมีความนิยมขึ้นเรื่อยๆ นอกจากนี้ยังนำไปใช้ประโยชน์ทั้งในอุตสาหกรรมทำเหล้า แอลกอฮอล์ ขนมหวาน เช่น แป้งข้าวฟ่าง ข้าวฟ่างหวานใช้ทำน้ำตาล น้ำเชื่อม กากนำไปใช้ทำปุ๋ย

เชื้อราไมคอไรซา (Mycorrhiza)

1. ลักษณะของเชื้อราไมคอไรซา

ไมคอไรซา คือ เชื้อราที่พบอยู่ในดิน สามารถเข้าสู่รากพืช และอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัยกันกับพืช เชื้อราอาจเจริญอยู่ที่บริเวณรอบๆ ราก หรือเจริญเข้าไปในราก โดยไม่ทำอันตรายต่อพืชที่อาศัยอยู่ และช่วยดูดธาตุอาหารต่างๆ ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งธาตุฟอสฟอรัส การเจริญของเส้นใยเชื้อราซึ่งห่อหุ้มรากหรือออกนอกราก จะช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวรากในการดูดน้ำและธาตุอาหาร เชื้อราสามารถสังเคราะห์ฮอร์โมน ได้แก่ ออกซิน ไซโทไคนิน และจิบเบอเรลลิน ทำให้พืชมีการเจริญเติบโตได้ดี ส่วนเชื้อราจะได้ประโยชน์จากพืชโดยรับอินทรีย์สารต่างๆ จากรากพืช เพื่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา (พูนพิไล, 2540)

Harley and Smith (1983) จัดแบ่งไมคอไรซาเป็น 2 กลุ่ม ตามการเข้าอยู่อาศัยในรากพืช คือ

1.1 Ectomycorrhiza การเจริญของเชื้อราชนิดนี้จะสร้างเส้นใยสานกันเป็นแผ่นอัดแน่นรอบๆ ผิวราก เส้นใยบางส่วนเจริญเข้าไปอยู่ระหว่างเซลล์พืช (intercellular) ทำให้มีลักษณะคล้ายตาข่ายอยู่ระหว่างเซลล์รากพืชในชั้นนอก เรียกว่า Hartig net พบในพืชวงศ์ Pinaceae Betulaceae และ Fagaceae (Gerdemann, 1964) มีความเฉพาะเจาะจงกับพืชอาศัย มีความสัมพันธ์อย่างมากกับพืชป่าไม้ การเจริญรอบๆ รากของราพวกนี้ทำให้รากพืชมีการเปลี่ยนแปลงไปเห็นได้ชัดเจน เช่น รากจะสั้นลง การแตกแขนงของรากไม่เป็นไปตามปกติ ในระยะกล้า พืชส่วนใหญ่มีการสร้างรากแก้ว และมีการสร้างรากแขนง เมื่อแก่รากเหล่านี้จะหนาขึ้นคล้ายไม้ มีการสะสมคาร์โบไฮเดรต และธาตุอาหารต่างๆ ในพืชที่มี ectomycorrhiza เข้าอยู่อาศัยนั้น ปลายรากจะมีการเจริญตามปกติระยะหนึ่ง หลังจากมีการเข้าอยู่อาศัยของเชื้อรา จนกระทั่งเป็นระบบรากที่มีไมคอไรซาแล้ว ปลายรากที่มีเชื้อราหุ้มอยู่เป็นแผ่นเยื่อ (mantle sheath) นั้นเปลี่ยนเป็นรากสั้นๆ การเจริญจะช้าลง ลักษณะการเจริญของรากจะเปลี่ยนไป โดยอาจมีการแตกแขนงเป็นกลุ่ม (racemose) หรือแตกแขนงแบบ dichotomous รากบางชนิดอาจมีสีผิดไป พบมากในพืชพวก สน ยูคาลิปตัส และโอ๊ค

1.2 Endomycorrhiza การเจริญของเชื้อราชนิดนี้จะสร้างเส้นใยสานกันอย่างหลวมๆ รอบๆ ราก โดยเส้นใยจะเจริญผ่านชั้น epidermis เข้าไป เส้นใยจะมีทั้งที่เจริญอยู่ระหว่างเซลล์ราก (intercellular) และที่เจริญเข้าไปในเซลล์ราก (intracellular) โดยเจริญเข้าไปในชั้น cortex ของรากพืช เส้นใยที่เจริญในเซลล์รากจะแทงผ่านผนังเซลล์เข้าไป และยื่นเข้าไปใน cytoplasm ของเซลล์พืช ปลายเส้นใยของเชื้อรามีการแตกแขนงแบบ dichotomous ทำให้เกิดโครงสร้างคล้ายพุ่มไม้ เรียกว่า arbuscule มีลักษณะแตกเป็นแขนงกิ่งก้านคล้ายพุ่มไม้ หรือเกิด vesicle เป็นกระเปาะรูปร่างกลม รีหรือรูปไข่ ที่ปลายเส้นใย เส้นใยที่พันกันหลวมๆ รอบรากพืชจะมีการสร้างสปอร์ในดิน สปอร์ที่สร้างในดินนี้สามารถใช้ในการจัดจำแนกชนิดของเชื้อราไมคอไรซา เชื้อราไมคอไรซาที่มีลักษณะการเจริญแบบนี้ ปัจจุบันเรียกว่า Arbuscular-Mycorrhiza (อาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา) เนื่องจากเชื้อรากลุ่มนี้บางชนิดเมื่อเข้าอยู่อาศัยในพืชจะไม่สร้าง vesicle เชื้อราในกลุ่มนี้ไม่ทำให้รากมีลักษณะการเจริญที่เปลี่ยนแปลงไป แบ่งออกเป็นกลุ่มย่อยๆ ได้ดังนี้

1.2.1 Septate fungi เป็นเชื้อราซึ่งเส้นใยมีผนังกั้น ไมคอไรซากลุ่มนี้มักจะมีความเฉพาะเจาะจงกับพืชอาศัยในระดับหนึ่ง เช่น ไมคอไรซาในกล้วยไม้

1.2.2 Nonseptate fungi เป็นกลุ่มเชื้อราที่ไม่มีผนังกั้น มักจะจัดอยู่ในราชั้นต่ำใน Class Zygomycetes Order Glomales เชื้อรากลุ่มนี้มีความเฉพาะเจาะจงกับพืชอาศัยต่ำ สามารถเข้าอยู่อาศัยในรากพืชได้หลายๆ ชนิด เชื้อรากลุ่มนี้เป็นกลุ่มซึ่งมีความสำคัญมากขึ้นในปัจจุบัน โดยเฉพาะกับพืชเกษตรกรรม เช่น พืชไร่ พืชสวน และพืชป่าไม้

Harley and Smith (1983) แบ่ง Endomycorrhiza ออกเป็น 5 กลุ่ม ดังนี้

Arbutoid mycorrhiza เป็น Endomycorrhiza ชนิดที่เชื้อราสร้างเส้นใยสานกันเป็นแผ่น (sheath) สร้าง hartig net เจริญเข้าสู่เซลล์เท่านั้น เชื้อราที่พบอยู่ใน Class Basidiomycetes พบในพืชวงศ์ Ericales

Monotropoid mycorrhiza เป็น Endomycorrhiza โครงสร้างมีเส้นใยสานกันเป็นแผ่น สร้าง hartig net เส้นใยไม่มีสี เชื้อราที่พบอยู่ใน Class Basidiomycetes พบในพืชวงศ์ Monotropaceae เท่านั้น

Ericoid mycorrhiza เชื้อราชนิดนี้สร้างโครงสร้าง hyphal coils ในเซลล์ เชื้อราที่พบอยู่ใน Class Ascomycetes และ Basidiomycetes พบในพืชวงศ์ Ericales เท่านั้น

Orchid mycorrhiza พบในพืชวงศ์กล้วยไม้ (Orchidaceae) เชื้อราที่พบอยู่ใน Class Basidiomycetes สร้าง hyphal coils ในเซลล์

Arbuscular mycorrhiza เป็น Endomycorrhiza ชนิดที่เชื้อราสร้างโครงสร้างที่เรียกว่า arbuscule และ vesicle ภายในเซลล์หรือระหว่างเซลล์พืช พบในพืชกลุ่มจิมโนสเปิร์ม พืชดอก สาหร่าย และเฟิร์น

Benjamin (1979) ได้จัดจำแนกเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซาไว้ใน Class Zygomycetes Order Endogonales Family Endogonaceae ภายหลัง Morton and Benny (1990) ได้เสนอการจัดจำแนกเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซาใหม่ ดังนี้

Class: Zygomycetes
- Order: Glomales
  - Suborder: Glomineae
    - Family: Glomaceae
      - Genera: *Glomus* และ *Sclerocystis*
    - Family: Acaulosporaceae
      - Genera: *Acaulospora* และ *Entrophospora*
  - Suborder: Gigasporineae
    - Family: Gigasporaceae
      - Genera: *Gigaspora* และ *Scutellospora*

การจัดจำแนกระดับ Suborder: Glominiae ได้แก่ ราที่สร้าง chlamydospore ส่วน Suborder: Gigasporineae สร้างแต่ azygospore

การจัดจำแนกในระดับวงศ์ ใช้ลักษณะการเกิดของสปอร์ในการจัดจำแนก โดยวงศ์ Glomaceae สร้าง chlamydospore ที่ปลายเส้นใย และพบ subtending hypha ที่สปอร์ โดยอาจ

สร้างเป็นสปอร์เดี่ยวๆ หรือรวมเป็นกลุ่มที่เรียกว่า sporocarp ส่วนวงศ์ Acaulosporaceae สร้าง chlamydospore เดี่ยวๆ โดยสร้างจากส่วนของ sporiniferous saccule ซึ่งอาจพบชิ้นส่วนของ sporiniferous saccule ติดอยู่ที่สปอร์ด้วย และวงศ์ Gigasporaceae สร้าง azygospore เดี่ยวๆ ตรงส่วนปลายของ sporogenous cell

สำหรับการจัดจำแนกในระดับสกุล (genera) สปอร์ *Glomus* และ *Sclerocystis* ใช้ความแตกต่างของลักษณะการสร้าง sporocarp และลักษณะ spore ในการจัดจำแนก ส่วน *Acaulospora* และ *Entrophospora* นั้นจัดจำแนกโดยอาศัยความแตกต่างของตำแหน่งของสปอร์ที่พัฒนามาจาก sporiniferous saccule สำหรับ *Gigaspora* และ *Scutellospora* นั้นจำแนกโดยอาศัยความแตกต่างของจำนวนชั้นของผนังสปอร์ (spore wall) และการมีหรือไม่มี germination shield ในการจำแนก (มลชัย, 2541)

International Culture Collection of VA Mycorrhiza Fungi (1998) แบ่งเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอร์ไรซา โดยอาศัยลักษณะโครงสร้างของเชื้อราต่างๆ ดังนี้

Glomus พบ arbuscule รูปทรงกระบอกตรงปลายเรียวเล็ก vesicle จะปรากฏในช่วงที่มีความอุดมสมบูรณ์ มีลักษณะเป็นรูปวงรี มีผนังบาง เส้นใยภายในเนื้อเยื่อพืชมีลักษณะเจริญขนานกับความยาวของเซลล์รากพืช บางครั้งพบแบบขดเป็นวง

Acaulospora และ *Entrophospora* พบ arbuscule มีขนาดใหญ่กว่า *Glomus* ส่วน vesicle มีลักษณะหลายแบบ บริเวณผิวมักเป็นปุ่มหรือเว้าเข้าข้างใน เส้นใยภายในรากพบทั้งแบบขดเป็นวงและแบบเป็นเส้นตรง

Gigaspora พบ arbuscule มีลักษณะบวมโป่ง ตรงปลายผิวไม่เรียบ พบ axillary cell สร้างจากเส้นใยบริเวณรอบๆ ราก เส้นใยภายในเซลล์พืชมักขดเป็นวง

Scutellospora พบ arbuscule เส้นใยภายในรากและเส้นใยที่อยู่นอกราก มีลักษณะใหญ่กว่า *Gigaspora* สำหรับ axillary cell บริเวณผิวไม่เป็นตุ่มยื่นออกมา แต่มีลักษณะเว้าเป็นโพรงหรือเป็นชั้น

พูนพิไล (2540) ได้รายงานลักษณะที่สำคัญบางประการของเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซาในสกุลต่างๆ ไว้ดังนี้

Glomus สร้าง chlamydospore ใน sporocarp ซึ่งอาจอยู่เหนือดินหรือใต้ดิน sporocarp อาจอยู่กับกิ่งไม้ ใบไม้ สร้างเดี่ยวๆ หรืออาจสร้างเซลล์ในชั้น cortex ของราก ส่วนใหญ่จะมี subtending hypha เส้นเดียว สปอร์เกิดที่ปลายเส้นใย ซึ่งคอดตรงจุดที่ติดต่อกับสปอร์ ผนังสปอร์อาจมีชั้นเดียวจนถึงหลายชั้น ผนังชั้นนอกมักไม่มีสิ่งตกแต่งที่สลับซับซ้อนเหมือน *Acaulospora* และ *Gigaspora* การงอกของสปอร์เกิดผ่านเส้นใยเดิม หรือจากผนังสปอร์ พบโครงสร้าง vesicle และ arbuscule

Sclerocytis สร้าง Chlamydospore คล้ายกับ *Glomus* ต่างกันตรงที่ chlamydospore อัดกันแน่นเป็น sporocarp โดยสปอร์เรียงกันเป็นชั้นเดียวรอบๆ เส้นใย ซึ่งสานกันอยู่ตรงกลาง บางชนิดอาจพบผนัง peridium หุ้มรอบๆ sporocarp พบการสร้าง vesicle และ arbuscule ในรากพืช

Acaulospora เป็นกลุ่มของราซึ่งมีการสร้าง azygospore มักเกิดเดี่ยวๆ ในดิน สปอร์เริ่มจากการสร้าง vesicle โป่งออกที่ปลายเส้นใย ที่ฐานของ vesicle เกิดการพัฒนาเป็นสปอร์ โดยเริ่มขึ้นที่ด้านข้างของเส้นใยที่ต่อจาก vesicle สารต่างๆ ใน vesicle จะไหลกลับเข้าไปในสปอร์ สปอร์ซึ่งไม่มีก้านจะพัฒนาต่อไป ขณะที่ vesicle จะว่างเปล่า และค่อยๆ สลายไป เหลือแต่สปอร์ที่พัฒนาเต็มที่แล้วอยู่เดี่ยวๆ ในดิน

Entrophospora คล้ายๆ กับ *Acaulospora* แต่ azygospore ที่สร้างจะเริ่มพัฒนาจากเส้นใยต่อจาก vesicle โดยเกิดที่กึ่งกลางของเส้นใย สิ่งต่างๆ ใน vesicle จะไหลกลับเข้าไปในสปอร์ vesicle จะว่างเปล่าและสลายไปในที่สุด สปอร์พบเดี่ยวๆ ในดิน ผนังสปอร์มักมีสิ่งตกแต่งอยู่ชั้นนอก และมีเมมเบรนบางๆ ข้างใน

Gigaspora สปอร์สร้างเดี่ยวๆ บน subtending hypha ซึ่งมีลักษณะโป่งออก ที่ subtending hypha นี้มักจะพบเส้นใยสั้นๆ ยื่นออกมาจากด้านข้างหนึ่งหรือสองอัน ยื่นไปจนเกือบชนกับสปอร์ ยังไม่ทราบหน้าที่ เนื่องจากโครงสร้างนี้คล้ายกับ gametangia ของราใน Genus Endogone จึงเรียกสปอร์ที่เกิดด้านบนว่า Azygospore สปอร์เกิดเดี่ยวๆ ในดินอยู่บน subtending hypha ที่โป่งออก

สปอร์เมื่อแตกออก จะมีผนังเพียงกลุ่มเดียว หรืออาจมีหลายชั้นก็ได้ เมื่อเส้นใยสร้างจากสปอร์มักจะสร้างเซลล์ซึ่งมีลักษณะพิเศษเรียกว่า auxiliary cell หรือ soil borne vesicle

Scutellospora ลักษณะทั่วๆ ไปคล้ายคลึงกับ *Gigaspora* มาก แตกต่างกันที่ผนังของสปอร์จะเป็น 2 กลุ่ม ผนังชั้นนอกมักแตกง่าย ผนังชั้นในเป็นเมมเบรนไม่ค่อยแตก เมื่อสปอร์งอกมักมีการงอกจาก compartment ซึ่งอยู่ระหว่างผนังเซลล์กลุ่มนอกและกลุ่มใน บางชนิดจะเห็น compartment มีรูปร่างคล้ายโล่ เรียกว่า germinating shield

2. <u>การพัฒนาการเข้าอยู่อาศัยในรากพืชของเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา</u>

การพัฒนาการเข้าอยู่อาศัยในรากพืชของเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา ประกอบด้วยระยะต่างๆ ดังนี้ (ธงชัย, 2546)

2.1 ระยะก่อนการเข้าสู่รากพืช

การงอกของเส้นใยออกมาจากสปอร์ หรือจากชิ้นส่วนของรากพืชที่มีเส้นใยราเจริญอยู่ภายใน ซึ่งอยู่ในดิน การงอกของเส้นใยจากสปอร์อาจมีหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ สารที่ปลดปล่อยออกจากรากพืช (root exudate) แล้วกระตุ้นการงอกของสปอร์และการเจริญของเส้นใย (Sigueira *et al.*, 1982; Graham, 1982) คุณสมบัติของดิน เช่น ความชื้น อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง ธาตุอาหารในดิน จุลินทรีย์อื่นๆ ในดิน (Daniels and Trappe, 1980)

2.2 การแทงของเส้นใยเข้าสู่รากพืช

การเข้าอยู่อาศัยในระบบรากพืช เมื่อเส้นใยเจริญไปสัมผัสเซลล์ผิว (epidermis) ของรากพืชปลายเส้นใยจะพัฒนาเป็น appressorium ซึ่งเป็นโครงสร้างที่สำคัญในการแทงเส้นใยผ่านชั้นเซลล์รากพืช (Nagahashi and Douds, 1997) หลังจากนั้นเส้นใยหลักจะแตกแขนงและแทงเส้นใยผ่านผนังเซลล์และเซลล์ผิวรากในหลายจุด เส้นใยเหล่านี้มักจะมีผนังบางและเล็ก (Friese and Allen, 1991) เจริญอยู่ระหว่างเซลล์จนถึงชั้น cortex ของรากพืช การแทงเส้นใยเข้าสู่รากมักเกิดบริเวณขนรากอ่อน และรากแขนงอ่อนๆ โดยมักเกิดห่างจากปลายรากประมาณ 0.5 ถึง 1 เซนติเมตร (Mosse and Hepper, 1975) การเจริญของเส้นใยกระจายตัวอยู่เฉพาะชั้น epidermis และชั้น cortex

ของราก แต่จะไม่เจริญเข้าไปในชั้น endodermis xylem phloem และ meristermatic tissue เนื้อเยื่อลำต้นเหนือดิน และส่วนของพืชที่มีคลอโรฟิลล์ ไม่พบกลุ่มของเส้นใยราเจริญอยู่

2.3 การเกิด arbuscule และ vesicle

เส้นใยราที่เจริญอยู่ระหว่างเซลล์ชั้น cortex แทงเส้นใยเข้าไปในเซลล์ บางครั้งพบเส้นใยขดเป็นวง (coil hyphae) อยู่ภายในเซลล์ แต่ที่พบเสมอคือการสร้าง arbuscule ซึ่งมักเกิดขึ้นหลังจากเส้นใยราแทงเข้าสู่รากพืชแล้ว 2-5 วัน มีลักษณะเป็นเส้นใยที่แตกกิ่งก้านแบบ dichotomous ขนาดตั้งแต่ 0.3-1 ไมครอน ถูกล้อมรอบด้วย plasmalemma ของเซลล์รากพืช และมี interfactial matrix เป็นตัวเชื่อมให้เกิดการแลกเปลี่ยนสารเมแทบอไลท์ และสารอาหาร ระหว่างเชื้อรากับพืช จะมีชีวิตอยู่ประมาณ 4-15 วัน เท่านั้น หลังจากนั้นย่อยสลายไปโดยกลไกบางอย่าง ทำให้พืชได้รับสารอาหารจากการย่อยสลายของ arbuscule ด้วย แต่เซลล์พืชก็ยังคงมีชีวิตอยู่และทำงานได้ตามปกติ ในขณะเกิด arbuscule หรือหลังจาก arbuscule สลายตัวไป พบว่ามีการสร้าง vesicle โดยเกิดจากปลายเส้นใยโป่งออกทำให้มีรูปร่างค่อนข้างกลมหรือรูปไข่ เกิดขึ้นระหว่างเซลล์หรือภายในเซลล์ของราก มีขนาดตั้งแต่ 30-100 ไมครอน จำนวนและขนาดของ vesicle จะแตกต่างกันตามชนิดของเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา พูนพิไล (2540) พบว่าเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา บางชนิด ไม่สร้าง vesicle เช่น *Gigaspora margarita* ภายใน vesicle มักพบ glycogen granules ในขณะที่ยังอ่อนอยู่ แต่เมื่อ vesicle มีอายุมากขึ้นพบเม็ดไขมันเป็นส่วนใหญ่ จึงคาดว่าหน้าที่ของ vesicle คือช่วยในการเก็บสะสมอาหารให้แก่เชื้อรา

2.4 การสร้างสปอร์

2.4.1 วิธีการสร้างสปอร์ (Schenck and Perez, 1988)

ประมาณ 45 วัน หลังจากเชื้อราเข้าอยู่อาศัยในพืชแล้ว เชื้อราจะเริ่มสร้างสปอร์แบบไม่ใช้เพศ (asexual spore) ในดิน เป็นสปอร์เดี่ยวๆ หรือรวมกันเป็นกลุ่มเรียกว่า sporocarp ซึ่งมีขนาดตั้งแต่ 50-600 ไมครอน สปอร์ส่วนใหญ่จะมีผนังหนาและมีหลายชั้น มีสีตั้งแต่อ่อนถึงเข้ม ภายในมีไขมันสะสมอยู่ Daft and Nicolson (1969) รายงานว่าปริมาณสปอร์ในดินเป็นตัวบ่งชี้ถึงการเข้าอยู่อาศัยของเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา เนื่องจากการเข้าอยู่อาศัยในราก และการสร้าง

สปอร์มีความสัมพันธ์กัน Bayllis (1969) รายงานว่าการเข้าอยู่อาศัยในรากและการสร้างสปอร์ไม่จำเป็นต้องสัมพันธ์กัน แม้ว่าการเข้าอยู่อาศัยในรากเพิ่มมากขึ้นพบว่ามีการสร้างสปอร์เพียงเล็กน้อย

ลักษณะของการสร้างสปอร์จะแตกต่างกันไปตามชนิดของเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา (พูนพิไล , 2540)

Glomus สปอร์สร้างตรงบริเวณปลายเส้นใย (บางครั้งเส้นใยที่เชื่อมติดกับสปอร์มีลักษณะแคบเล็กลง) อาจสร้างสปอร์เดี่ยว หรือเป็นกลุ่มหลวมๆ หรือเส้นใยที่อยู่รวมกันอาจจับเป็นกลุ่มเรียกว่า peridium ในบางกรณีเส้นใยของเชื้อราอาจรวมกันเป็นกลุ่มก้อน โดยสานกันเป็นร่างแหภายใน pericarp

Acaulospora และ *Entrophospora* สปอร์สร้างจาก subtending hypha ที่ขยายเป็นถุงเรียกว่า soporiferous saccule มีลักษณะคล้ายคราบ ลอกออกได้เมื่ออายุมากขึ้น ไม่มี subtending hypha ส่วน *Acaulospora* สปอร์เกิดจากเส้นใยด้านข้างของ soporiferous saccule สำหรับ *Entrophospora* สปอร์เกิดภายในเส้นใย soporiferous saccule

Gigaspora และ *Scutellospora* สปอร์ตรงกลางมี bulbous เรียกว่า sporogenous cell สร้างจาก subtending hypha

2.4.2 โครงสร้างภายในเซลล์ของสปอร์ (Schenck and Perez, 1988)

Glomus สปอร์มีผนัง 1-4 ชั้นหรือมากกว่า ผนังชั้นนอกมีหนาม ชั้นนอกสุดมักเคลือบด้วยน้ำเมือกเหนียว (mucilaginous) เมื่อย้อมด้วยน้ำยา Melzer จะเป็นสีชมพู ผนังสปอร์ไม่ต่อเนื่องมีรู (pore) บริเวณ subtending hypha อาจเป็นรูปิด

Acaulospora และ *Entrophospora* สปอร์ไม่มีรู (pore) สปอร์มีจุดกำเนิดจาก subtending hypha ที่ผิวมักมีส่วนที่ยื่นออกมาหรือเป็นแผลรูปวงรี ชั้นนอกของสปอร์ส่วนใหญ่มี 2 สี สปอร์ชั้นในมักเป็น 2 ชั้นบางๆ ติดกัน *Acaulospora* นั้นผนังติดกัน 3 ชั้น ผนังชั้นนอกหยาบมักพบในระยะที่ยังไม่เจริญเต็มที่ ลักษณะเป็นชั้นๆ มีสี ความหนาของผนัง มีความแตกต่างกันแล้วแต่ชนิดของสปอร์ สำหรับ *Entrophospora* สปอร์มีผนัง 2 ชั้นติดกัน

Gigaspora และ *Scutellospora* สปอร์มีผนังอย่างน้อย 2 ชั้น ผนังชั้นนอกมักหนาทึบและมีสี ผนังชั้นในเรียงเป็นชั้นและมักมีสี *Gigaspora* ผนังสปอร์เรียงเป็นชั้น ผิวเรียบบางครั้งมีลักษณะเป็นตุ่มหูดกระจายบนผิวสปอร์ จะพบมากบริเวณที่จะสร้าง germ tube สำหรับ *Scutellospora* ผนังสปอร์เรียงเป็นชั้นเรียบ ภายนอกมีสิ่งประดับปกคลุม สปอร์มักมี 1-3 สี

2.4.3 การงอกของสปอร์ (Schenck and Perez, 1988)

Glomus สปอร์งอกจากช่อง (lumen) ของ subtending hypha และ germ tube ส่วนใหญ่มักสร้างมาจาก subtending hypha แต่ในบางชนิดจะพัฒนาจากผนังสปอร์

Acaulospora และ *Entrophospora* สปอร์จะงอกจาก germination orb เป็นแผ่นที่มีลักษณะกลม ยืดหยุ่น ไม่มีสี ที่บริเวณผิวชั้นใน โดยกลุ่มของ germ tube งอกสู่ภายนอกโดยแทงผ่านผนังสปอร์

Gigaspora สปอร์สร้าง germ tube แทงผ่านผนังสปอร์ โดยจุดเริ่มบริเวณผนังภายในสปอร์ที่เป็นตุ่มหูด ซึ่งอยู่ใกล้กับ soporiferous cell บริเวณฐานของสปอร์

Scutellospora สปอร์งอกจากบริเวณที่เป็น germination shield ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับโล่ และเป็นลอนคลื่นเพื่อให้ germ tube แทงออกสู่ภายนอกได้ง่าย

2.5. การแพร่กระจายของเส้นใยในรากและในดินรอบราก (ธงชัย, 2546)

เส้นใยมีการเจริญแพร่ไปทั่วเซลล์ชั้น cortex บางส่วนเจริญออกนอกราก เส้นใยมีผนังหนา และมีขนาดใหญ่เป็นเส้นเดี่ยวๆ เจริญออกมาจากเส้นใยที่อยู่ภายในราก แล้วแพร่กระจายไปในดินรอบบริเวณราก (rhizosphere) และไกลออกไปจากราก เพื่อแทงเข้าอยู่อาศัยในรากอื่นๆ ต่อไป (Friese and Allen, 1991) เส้นใยที่เจริญกระจายตัว ช่วยในการดูดธาตุอาหารต่างๆ เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แมกนีเซียม แคลเซียม และจุลธาตุอาหารอื่นๆ ให้แก่พืช ซึ่งเส้นใยเหล่านี้อาจกระจายตัวได้ไกลถึง 120 เซนติเมตร คิดเป็นระยะทางรวม 50 เมตร ต่อดิน 1 กรัม (Allen, 1986) พบว่าพืชมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ส่วนพืชให้อาหารกับเชื้อราซึ่งมาจากการสังเคราะห์แสง

พรพิมล (2531) รายงานว่าเชื้อราที่พบได้เสมอในดินที่ปลูกส้มในประเทศไทย ได้แก่ *Glomus* sp. และ *Acaulospora* sp. รองลงไปเป็นราพวก *Sclerocytis* sp. และ *Gigaspora* sp. ส่วนณัฐวรางค์ (2530) ตรวจเชื้อราในกล้าไม้ พบว่าเป็นเชื้อราในสกุล *Acaulospora Entrophospora Gigaspora Glomus* และ *Sclerocystis* โดยเชื้อ *Glomus* sp. และ *Sclerocystis* sp. มีการแพร่กระจายในกล้าไม้ที่ทำการศึกษามากที่สุด จากการศึกษาในดินปลูกถั่วลิสงพบสปอร์ของเชื้อราทั้ง 6 สกุล แต่พบในปริมาณที่แตกต่างกัน พบว่า *Acaulospora scrobiculata Sclerocytis sniuosa* และ *Glomus* sp. มีการแพร่กระจายมากที่สุดถึง 55 เปอร์เซ็นต์ (โสภณ, 2540)

2.6 การเข้าอยู่อาศัยของเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา ในรากพืช

การเจริญของเชื้อราไมคอไรซาจะสร้างเส้นใยสานกันอย่างหลวมๆ รอบๆ ราก โดยเส้นใยจะเจริญผ่านชั้น epidermis เข้าไป เส้นใยจะมีทั้งที่เจริญอยู่ระหว่างเซลล์ราก (intercellular) และที่เจริญเข้าไปในเซลล์ราก (intracellular) โดยเจริญเข้าไปในชั้น cortex ของรากพืช เส้นใยที่เจริญในเซลล์รากจะแทงผ่านผนังเซลล์เข้าไป และยื่นเข้าไปใน cytoplasm ของเซลล์พืช ปลายเส้นใยของเชื้อรามีการแตกแขนงแบบ dichotomous เกิดขึ้น ทำให้เกิดโครงสร้างคล้ายพุ่มไม้ เรียกว่า arbuscule มีลักษณะแตกเป็นแขนงกิ่งก้านคล้ายพุ่มไม้ หรือเกิด vesicle เป็นกระเปาะรูปร่างกลม รีหรือรูปไข่ ที่ปลายเส้นใย เส้นใยที่พันกันหลวมๆ รอบรากพืชจะมีการสร้างสปอร์ในดิน การเข้าอยู่อาศัยของเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซาในรากพืช ไม่ทำให้ลักษณะรูปร่างของรากเปลี่ยนแปลงไปจากปกติ แต่บางครั้งอาจพบว่าสีของรากอาจเปลี่ยนไปบ้างในพืชบางชนิด โดยอาจมีสีเหลืองอ่อนหรือสีขาวขึ้น ส่วนใหญ่พบว่ามีจำนวนรากขนอ่อนน้อยลง พบในพืช ข้าวโพด ถั่ว หอมหัวใหญ่ และมะเขือเทศ (Harley and Smith, 1983)

3. <u>การสะสมและการส่งถ่ายฟอสเฟตจากเส้นใยของเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา</u>

Bolan (1991) รายงานว่าปริมาณฟอสฟอรัสที่พบในเส้นใยจะมีค่าสูงกว่าในรากพืช นอกจากนี้ ฟอสเฟตที่เส้นใยราดูดเข้าไปนั้นจะมีการสะสมอยู่ในเส้นใยรา ซึ่งฟอสเฟตส่วนนี้เป็นแหล่งสำรองที่จะส่งต่อไปให้กับพืช ฟอสเฟตอนินทรีย์ที่สะสม อยู่ในเส้นใยรา มี 3 แบบ คือ 1. ออโทฟอสเฟตที่ละลายได้ (soluble orthophosphate) 2. โพลีฟอสเฟตที่ละลายน้ำได้ (soluble polyphosphate) 3. โพลีฟอสเฟตที่ไม่ละลายน้ำ (nonsoluble polyphosphate) ในระหว่างการดูดฟอสเฟตนั้น จะมีฟอสเฟตประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ เคลื่อนที่ต่อไปยังเนื้อเยื่อของพืช โดยไม่มีการ

สะสม Polyphosphate ในเส้นใยราถูกสังเคราะห์ขึ้นโดยการทำงานของเอนไซม์ polyphosphate kinase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ถูกชักนำให้สร้างขึ้น (inducible enzyme) polyphosphate อาจมีมากถึง 40 เปอร์เซ็นต์ ของฟอสเฟตทั้งหมดที่ถูกดูดโดยเส้นใยรา ฟอสเฟตส่วนนี้จะถูกสะสมอยู่ใน vacuole ของเส้นใยรา

เชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซาสามารถดูดฟอสเฟตจากดิน ฟอสเฟตส่วนหนึ่งจะถูกส่งต่อไปยังเซลล์ของรากพืช โดยกระบวนการต่างๆ ดังนี้

3.1 การดูดซับฟอสเฟตโดยเส้นใยรานอกรากพืช

กระบวนการนี้ต้องใช้พลังงาน ATP จากกระบวนการเมแทบอลิซึม เพื่อดูดฟอสเฟตจากแหล่งที่มีความเข้มข้นต่ำ เข้าสู่เส้นใยราที่มีความเข้มข้นของฟอสเฟตสูงกว่า Smith and Gianinazzi-Pearson (1988) รายงานว่าความเข้มข้นของฟอสเฟตในใยราจะมีค่ามากกว่าความเข้มข้นในดินประมาณ 1,000 เท่า ดังนั้นกระบวนการดูดฟอสเฟตจากดินสู่เส้นใยราจึงเป็นกระบวนการ active transport

3.2 การเคลื่อนที่ของฟอสเฟตภายในเส้นใยรา

ฟอสเฟตภายในเส้นใยรา จะเคลื่อนที่จากบริเวณภายนอกเข้าสู่เส้นใยราภายในราก (intraradical hyphae) ไปจนถึง arbuscule กระบวนการนี้เกิดขึ้นโดยการไหลเวียนของไซโตพลาสซึม (cytoplasmic streaming) อัตราการเคลื่อนที่ของฟอสเฟตภายในเส้นใยรานอกรากพืช จะอยู่ในช่วง 0.1-0.2x10^{-9} โมล/ซม^{2}/วินาที สูงกว่าอัตราการแพร่ของฟอสเฟตในช่องว่างของดินประมาณ 1,000 เท่า (Powell and Bagyaraj, 1986)

4. <u>เชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา ที่มีต่อการเจริญเติบโตของพืช</u>

เชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ทำให้พืชสามารถดูดธาตุอาหารจากดินไปใช้ให้เป็นประโยชน์มากขึ้น ช่วยเพิ่มความทนทานต่อโรคและความแห้งแล้งของพืช ส่งเสริมการทำงานของจุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจน และส่งเสริมการทำงานของแบคทีเรีย

ที่ช่วยละลายฟอสเฟตในดิน ช่วยอนุรักษ์ดิน ป้องกันพิษจากโลหะหนัก และเพิ่มผลผลิตให้กับพืชได้ดังนี้

4.1 ส่งเสริมการดูดธาตุอาหารของพืช

เชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา ส่งเสริมการดูดธาตุอาหารของพืช (Bolan, 1991) ซึ่งมีความเป็นไปได้ 3 ลักษณะคือ 1) อาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา เพิ่มการดูดธาตุอาหาร โดยลดระยะทางระหว่างธาตุอาหารกับรากพืช 2) มีความแตกต่างของเชื้อราในการดูดธาตุอาหารระหว่างรากที่มีเชื้อราไมคอไรซา และไม่มีเชื้อไมคอไรซา โดยพืชชนิดเดียวกันที่มีการใส่เชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา จะมีการเจริญ และดูดสารอาหารบางชนิดได้สูงกว่าพืชที่ไม่ใส่เชื้อราไมคอไรซา และ 3) เส้นใยไมคอไรซาสร้างสารเคมีบางชนิดช่วยละลายธาตุอาหารในดิน ให้อยู่ในรูปสารละลายที่เป็นประโยชน์แก่พืช ทำให้พืชสามารถดูดธาตุอาหารไปใช้ประโยชน์ได้

ฟอสฟอรัส เป็นองค์ประกอบที่สำคัญต่อพืช เช่น ฟอสฟอลิพิด นิวคลีโอโปรตีน กรดนิวคลิอิก ADP ATP และ NADP มีอิทธิพลต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมของพลังงาน พืชจะดูดฟอสฟอรัสจากดินไปใช้ประโยชน์ในรูปของ $H_2 PO_4^-$ (monobasic orthophophate) และ HPO^{2-}_4 (dibasic orthophophate) (สมบุญ , 2548) การส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชโดยเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซานั้นเกี่ยวข้องกับการดูดธาตุอาหารจากดิน Son และ Smith (1988) รายงานว่าอัตราการดูดฟอสเฟตในพืชที่มีเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซาอยู่ด้วย จะเป็นไปได้เร็วกว่าพืชที่ไม่มีเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา อัตราการเคลื่อนที่ของฟอสเฟตในรากที่มีไมคอไรซามีโดยประมาณ $17x10^{-14}$ โมล/ซม./วินาที มากกว่าในพืชปกติซึ่งมีอัตราการเคลื่อนที่ของฟอสเฟตภายในรากพืชประมาณ $3.6x10^{-14}$ โมล/ซม./วินาที

สมบุญ และคณะ (2545) ศึกษาผลของเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา 10 ชนิด ที่มีต่อการเจริญเติบโตและการดูดธาตุอาหารของงา พบว่างาที่ใส่เชื้อ *Glomus occultum* มีสปอร์ในดิน เปอร์เซ็นต์การเข้าอยู่อาศัยในราก ความสูง จำนวนใบ น้ำหนักต้น น้ำหนักฝัก และเมล็ด มวลชีวภาพ เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน ปริมาณไนโตรเจน และโพแทสเซียมในต้นสูงสุด งาที่ใส่เชื้อ *Glomus* sp. 1 ทำให้เปอร์เซ็นต์ และปริมาณฟอสฟอรัสในต้น เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน และโพแทสเซียมในราก ปริมาณไนโตรเจน และโพแทสซียมในรากของพืชสูงสุด *G. aggragatum* ทำให้งามีเปอร์เซ็นต์โพแทสเซียมในต้นสูงสุด ในขณะที่งาที่ใส่เชื้อ *A. scrobiculata* จะมีเปอร์เซ็นต์ฟอสฟอรัสในรากสูงสุด ส่วนปริมาณฟอสฟอรัสในรากจะมีค่าสูงสุดในงาที่ใส่เชื้อ *Scutellospora* sp.

อรจิรา (2546) ศึกษาผลของเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา 15 ชนิด ที่มีต่อการเจริญเติบโต และการดูดธาตุอาหารของทานตะวัน พบว่าเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซาทำให้เปอร์เซ็นต์การเข้าอยู่อาศัยในราก มวลชีวภาพ และการดูดธาตุฟอสฟอรัสของพืชเพิ่มขึ้น ทานตะวันที่ใส่เชื้อ *Glomus radiatum* จะทำให้น้ำหนักต้นและเมล็ดสูงสุด เชื้อ *Scutellospora* sp. และ *G. aggragatum* 1 ทำให้ทานตะวันมีค่ามวลชีวภาพสูง ในขณะที่เชื้อ *G. aggragatum* 1 จะทำให้น้ำหนักรากสูงสุด ทานตะวันที่ใส่เชื้อ *G. occultum* 1 มีเปอร์เซ็นต์การเข้าอยู่อาศัยในรากสูงสุด พืชมีการสะสมฟอสฟอรัสและดูดฟอสฟอรัสได้มากกว่าเชื้อราชนิดอื่น ส่วนปริมาณสปอร์พบมากที่สุดในดินที่ใส่เชื้อ *A. scrobiculata*

4.1.1 การดูดซึมฟอสฟอรัสจากดิน

การเข้าอยู่อาศัยของไมคอไรซา จะช่วยส่งเสริมการดูดซึมฟอสฟอรัสของพืช โดยเฉพาะในดินซึ่งมีฟอสฟอรัสต่ำ เนื่องจากเส้นใยที่อยู่นอกรากทำให้เพิ่มพื้นที่ผิวของรากพืชในการดูดซับธาตุอาหารในดิน และถ่ายเทให้กับพืช เส้นใยจะทำหน้าที่เหมือนทางผ่านของฟอสเฟตคล้ายๆ จะเป็นรากฝอย เนื่องจากการดูดฟอสเฟตในดินซึ่งมีความเข้มข้นต่ำเข้ามาสู่ภายในเส้นใยซึ่งมีความเข้มข้นของฟอสฟอรัสสูงกว่า (Powell and Bagyaraj, 1986) ความเข้มข้นของฟอสเฟตภายในเส้นใยของเชื้อราจะมีค่ามากกว่าความเข้มข้นในดินประมาณ 1,000 เท่า ดังนั้นการดูดฟอสเฟตจากดินสู่เส้นใยของเชื้อราจึงเป็นกระบวนการ active transport (Smith and Gianinazzi-Pearson, 1988)

จากการศึกษาการดูดซึมฟอสฟอรัส โดยใช้ฟอสเฟตซึ่งติดฉลากด้วยสารไอโซโทป พบว่าเส้นใยราภายนอกสามารถดูดซับฟอสฟอรัสโดยตรงจากฟอสฟอรัสที่ละลายได้ในดิน และเคลื่อนที่ไปยังรากพืช โดยใช้วิธีการทดสอบ 2 วิธี คือ ใช้ split plate culture หรือ soil chamber ซึ่งจะแยกเส้นใยราจากรากพืชอาศัย แล้วให้ฟอสฟอรัสในรูปของฟอสฟอรัสที่ติดฉลากสารไอโซโทปกับเส้นใยรา พบว่าฟอสฟอรัสจะเคลื่อนย้ายไปยังรากพืชอย่างรวดเร็วถ่ายเทได้ไกลถึง 8 เซนติเมตร (Cooper and Tinker, 1978)

4.1.2 การดูดซึมฟอสฟอรัสซึ่งอยู่ในรูปสารอนินทรีย์

ได้มีการใช้เทคนิคซึ่งพัฒนาขึ้นมาทดสอบความเป็นไปได้ของการใช้ฟอสเฟตของพืชไมคอไรซา คือการติดฉลากฟอสฟอรัส ซึ่งอยู่ในรูปละลายน้ำได้ด้วย P^{32} เพื่อเปรียบเทียบกับ

P^{31} ซึ่งอยู่ในรูปไม่ละลายน้ำ พบว่าพืชที่มีไมคอไรซาและไม่มีไมคอไรซาต่างก็ใช้ฟอสฟอรัสจาก P^{32} ซึ่งอยู่ในรูปละลายน้ำได้ Cooper and Tinker (1978) รายงานว่า ไมคอไรซาไม่ได้ทำให้ฟอสเฟตที่ไม่เคลื่อนย้ายมาอยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้ แต่จะเพิ่มการดูดซึมฟอสฟอรัสที่ใช้ได้มากกว่า

Herrera *et al.* (1978) รายงานว่า ไมคอไรซาอาจจะสามารถใช้ฟอสเฟตในรูปสารอินทรีย์ในดิน (organic phosphate) ส่วนใหญ่จะเป็น phytate แม้ว่าพืชที่มีไมคอไรซา และไม่มีไมคอไรซาจะสามารถใช้ Ca phosphate เป็นแหล่งฟอสฟอรัสได้ แต่พืชที่มีไมคอไรซาจะใช้ได้มากกว่าทั้งในดินและใน axenic culture

4.1.3 การเคลื่อนย้ายฟอสเฟตไปยังพืชอาศัย

อาบัสคูลเป็นอวัยวะพิเศษซึ่งมีกิจกรรมเมแทบอลิซึม และเป็นจุดที่มีการยอมรับว่ามีการแลกเปลี่ยนธาตุอาหารระหว่างพืชอาศัยและเชื้อรา การแลกเปลี่ยนธาตุอาหารจะเกิดขึ้นที่กิ่งก้านสาขาของอาบัสคูล อาบัสคูลมีอายุประมาณ 4 วัน ซึ่งคาดว่าการถ่ายทอดฟอสเฟตจากเชื้อราไปยังพืชอาศัยเกิดขึ้นจากอาบัสคูลที่ยังมีชีวิตอยู่มากกว่าจากอาบัสคูลซึ่งสลายตัวแล้ว

ธงชัย (2541) ทดลองปลูกมันสำปะหลัง พันธุ์ KU 50 ร่วมกับเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา *Glomus* sp. (T6) พบการเข้าอยู่อาศัยของ *Glomus* sp. (T6) มีค่าสูงกว่ามันสำปะหลังที่ปลูกร่วมกับเชื้อรา *Glomus* sp. (D13) มันสำปะหลังที่ใส่เชื้อทั้งสองชนิดมีปริมาณฟอสฟอรัสในต้นสูงกว่าต้นที่ไม่ใส่เชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา Nikitas *et al.* (2002) ปลูกมะเขือเทศและมะเขือเปราะ พบว่าต้นที่ใส่เชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา *Glomus mosseae* มีการดูดซึมฟอสฟอรัสและไนโตรเจนได้มากกว่าต้นที่ไม่ได้ใส่เชื้อรา และทำให้ความสูง น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นเพิ่มมากขึ้น Jackson *et al.* (2002) ทดลองปลูกผักกาดหอม (*Lactuca serriola*) ซึ่งเป็นพืชที่มีความต้องการน้ำและธาตุอาหารสูง เมื่อใส่เชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา ทำให้น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของต้นเพิ่มขึ้น จากการศึกษาความสัมพันธ์ของเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา และไรโซเบียมร่วมกับปุ๋ยฟอสเฟตระดับต่างๆ ในถั่วเขียว พบว่า การอยู่ร่วมกันระหว่างไรโซเบียมและถั่วเขียว จะช่วยทำให้เกิดการตรึงไนโตรเจนจากอากาศในปมรากถั่ว ส่วนเชื้ออาบัสคูลาร์-ไมคอไรซาเพิ่มการดูดไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม กระตุ้นการสร้างปมและเพิ่มการเจริญเติบโตของต้นถั่วได้มากกว่าพืชที่ใส่เฉพาะเชื้อราไมคอไรซา หรือไรโซเบียมเพียงอย่างเดียว (สมบุญ และสาลี่, 2535)

4.2 ธาตุไนโตรเจน

Ahiabor and Hirata (1994) ศึกษาการตอบสนองของพืชตระกูลถั่วเขตร้อน 3 ชนิดคือ ถั่วพุ่ม ถั่วมะแฮะ และถั่วลิสง ในดิน andosol ที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่างกัน และใส่เชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา 2 ชนิดคือ *Glomus etunicatum* และ *Gigaspora margarita* พบว่าการเข้าอยู่อาศัยของเชื้อ *G. etunicatum* ในรากของถั่วพุ่ม และถั่วลิสง มีค่าสูงสุด และการใส่เชื้อราทั้ง 2 ชนิด ทำให้น้ำหนักมวลชีวภาพของถั่วทั้ง 3 ชนิดเพิ่มมากขึ้น Olsen and Habte (1995) ศึกษาผลจากการใส่เชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา และการสะสมไนโตรเจนใน *Cajanus cajan* ในดินที่มีความเข้มข้นของฟอสฟอรัสเพียงพอ และในดินที่มีฟอสฟอรัสไม่เพียงพอ พบว่าการใส่เชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา ทำให้ในดินที่มีความเข้มข้นของฟอสฟอรัสเพียงพอมีน้ำหนักแห้งรากเพิ่มขึ้น

4.3 การดูดธาตุอาหารอื่นๆ

Vaast e*t al.* (1997) ศึกษาการใช้ไนโตรเจน ร่วมกับเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา ในต้นกาแฟ (*Coffea Arabica* L.) ที่ปลูกในดินกรด พบว่าการใส่ปุ๋ยแอมโมเนียมทำให้การเข้าอยู่อาศัยของเชื้อราต่ำกว่าการใช้ไนเตรทและแอมโมเนียมไนเตรท และทำให้ค่า pH เพิ่มขึ้น ต้นกาแฟที่ใส่เชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา มีการเจริญเติบโต การสะสมไนโตรเจน แคลเซียม แมกนีเซียมได้มากกว่าต้นพืชที่ไม่ใส่เชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา Cliquet e*t al.* (1997) ปลูก *Lolium perenne* ที่มีการเข้าอยู่อาศัยของเชื้อรา *Glomus fasciculatum* โดยให้ aspartic acid และ serine เป็นแหล่งไนโตรเจน ติดฉลากไนโตรเจนด้วย N-15 พบว่า ต้น *Lolium perenne* มีการเจริญเติบโต และมีปริมาณไนโตรเจนในเนื้อเยื่อพืชสูงกว่าต้นที่ไม่ใส่เชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอร์ไรซา Posta *et al.* (1994) ศึกษาการลดลงของธาตุแมงกานีสที่บริเวณรอบๆ รากของข้าวโพดที่มีเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา และไม่มีเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 แบบคือ กระถางแรกมี rhizosphere microorganism และเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา กระถางที่สองมี rhizosphere microorganism แต่ไม่มีเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา กระถางที่สามเป็นชุดควบคุม พบว่าความเข้มข้นของแมงกานีสในพืชกระถางที่ 2 กระถางที่ 1 และกระถางที่ 3 มีค่าลดลง ตามลำดับ

Caris *et al.* (1998) ศึกษาลักษณะการเคลื่อนย้ายธาตุเหล็กของเส้นใยของเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา จากดินไปยังถั่วลิสงและข้าวฟ่าง โดยการเติมเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซาลงในพืชทั้งสองชนิด พบว่าเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซาไม่มีผลต่อการนำเหล็กมาใช้ของถั่วลิสง แต่จะมีผลต่อข้าวฟ่าง ทำให้มีการนำเหล็กมาใช้สูงขึ้น

4.4 ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

ณัฐวรางค์ (2530) ศึกษาผลของเชื้อรา *Entrophospora* sp. ต่อต้นกล้า กระถินยักษ์ กระถินณรงค์ พบว่าในกล้าไม้ที่ปลูกเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซาร่วมกับพืช จะมีการเจริญเติบโตดีกว่าต้นกล้าที่ไม่ปลูกเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา แต่สำหรับ *Glomus* sp. ทำให้กล้ากระถินณรงค์เจริญเติบโตน้อยกว่าที่ไม่ใส่เชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา การใส่เชื้อ *Glomus intraradicus Gigaspora* sp. *Glomus claroideum* และ *Glomus* sp. ในถั่วลิสงในป่าดิบแล้ง พบว่าถั่วลิสงมีน้ำหนักแห้งมากกว่าที่ไม่ใส่เชื้อ แต่ปริมาณไนโตรเจน และฟอสฟอรัส มีค่าไม่แตกต่างทางสถิติทั้งในต้นที่ไม่มีเชื้อ และในต้นที่ใส่เชื้อชนิดต่างๆ ในขณะที่เชื้อ *Acaulospora spinosa Gigaspara gigantean Gigaspora margarita* และ *Entrophospora* sp. 1 ที่ใส่รวมกันมีผลส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพด และพบว่าเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา ทำให้ข้าวโพดมีความสูง น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้น (ระพีพรรณ, 2528) สำหรับการใส่เชื้อ *G. gigantea* และ *G. margarita* เพียงอย่างเดียว มีผลในการเพิ่มการเจริญเติบโตของพืช แต่การใส่เชื้อ *Entrophospora* sp. 1 เพียงอย่างเดียวไม่ทำให้มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น (พูนพิไล, 2540)

ภัทรวดี (2543) ปลูกหญ้าแฝกร่วมกับเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา พบว่าหญ้าแฝกมีการเจริญเติบโต และมีการดูดธาตุอาหารเพิ่มขึ้นมากกว่าหญ้าแฝกที่ไม่ใส่เชื้อรา หญ้าแฝกที่ปลูกร่วมกับเชื้อรา *Acaulospora scrobiculata* มีความสูง จำนวนหน่อ น้ำหนักมวลชีวภาพ และเปอร์เซ็นต์การเข้าอยู่อาศัยสูงกว่าหญ้าแฝกที่ไม่ใส่เชื้อรา และใส่เชื้อราอาบัสคูลาร์ชนิดอื่นๆ ออมทรัพย์ (2542) การทดลองปลูกข้าวและพืชไร่ เช่น ถั่วต่างๆ ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ปอแก้ว มันสำปะหลัง ไม้ผล เช่น ส้ม มะม่วง ทุเรียน มังคุด บ๊วย มะขาม มะเฟือง มะม่วงหิมพานต์ สับปะรด และหม่อน พบว่าเชื้อราอาบัสคูลาร์ -ไมคอไรซา สามารถทำให้พืชมีการเจริญเติบโตเพิ่มมากขึ้น เชื้อราไมคอไรซายังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ปุ๋ยเคมี ช่วยเพิ่มการเจริญเติบโต และเพิ่มผลผลิตของพืชมากขึ้น ส่วนในต้นปอแก้วที่ปลูกร่วมกับเชื้อรา 5 ชนิด *Acaulospora scrobiculata Glomus manihotis G. fasciculatum Scutellospora* sp. และ *S. calospora* ในดินอบฆ่าเชื้อแล้ว

พบว่าต้นปอแก้วมีน้ำหนักสด และมีน้ำหนักแห้งสูงกว่าการที่ไม่ใส่เชื้อราอย่างมีนัยสำคัญ ยกเว้น *S. calospora* ที่ไม่มีความแตกต่างของน้ำหนักทั้งกรณีที่ใส่เชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา และไม่ใส่เชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา (มลชัย , 2541)

Suwanarit *et al.* (1992) ศึกษาผลของเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา 4 ชนิดต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพด พบว่าการใส่เชื้อ *Acaulospora scrobiculata Gigaspara gigantea* และชุดการทดลองที่ปลูกเชื้อทั้ง 4 ชนิดร่วมกัน ทำให้ข้าวโพดมีความสูงแตกต่างจากชุดควบคุม ส่วนเชื้อ *A. spinosa* และชุดการทดลองที่ปลูกเชื้อทั้ง 4 ชนิดร่วมกัน ทำให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของข้าวโพดมากกว่าชุดการทดลองอื่น การใส่เชื้อ *A. spinosa G. margartia* และชุดการทดลองที่ปลูกเชื้อทั้ง 4 ชนิดร่วมกัน พบเปอร์เซ็นต์การเข้าอยู่อาศัยในรากสูงสุด ส่วนเชื้อ *A. spinosa G. gigantea* และชุดการทดลองที่ปลูกเชื้อทั้ง 4 ชนิดร่วมกันมีจำนวนสปอร์ในดินมากที่สุด

อำนาจ และคณะ (2543) ปลูกข้าวโพดในดินที่บริเวณเดิม 2 ครั้ง ในแปลงที่ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ และปลูกในกระถางที่ภาควิชาปฐพีวิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เพื่อศึกษาผลตกค้างของเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา *Scutellospora* No. 13 *Glomus* No. 2 และเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซาทั้ง 2 ชนิด (*Scutellospora* No. 13 + *Glomus* No. 2) พบว่า ในการปลูกครั้งแรกในแปลง เชื้อ *Glomus* No. 2 ทำให้ข้าวโพดเจริญเติบโต และเพิ่มผลผลิตมากกว่าชุดการทดลองอื่นและการใส่เชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซาทั้ง 2 ชนิด ทำให้ข้าวโพดเจริญเติบโตและผลผลิตเพิ่มขึ้นทั้งที่ปลูกในแปลง และปลูกในกระถาง ส่วนในการปลูกครั้งที่สองเชื้อ *Glomus* No. 2 ทำให้ข้าวโพดเจริญเติบโต และเพิ่มผลผลิตมากกว่าชุดการทดลองอื่น แต่ผลการปลูกในกระถางพบว่าการใส่เชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซาทั้ง 2 ชนิด มีแนวโน้มทำให้ข้าวโพดเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตสูงสุด

Solaiman and Hirata (1997) พบว่าเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา *Glomus* sp. สามารถเพิ่มน้ำหนักเมล็ดและน้ำหนักต้นข้าว (*Oryza sativa* L.) ได้ 14-21 เปอร์เซ็นต์ มากกว่าข้าวที่ไม่ได้ใส่เชื้อราอาบัสคูลาร์ –ไมคอไรซา Elizabeth and Cassels (2000) ศึกษาผลของเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา 3 ชนิด ได้แก่ Vaminoc Endorize IV และ *Glomus intraradices* ต่อผลผลิตที่ได้และขนาดหัวของมันฝรั่ง (*Solanum tuberosum* L.) พบว่าเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา Endorize IV และ Vaminoc ช่วยผลิดอกของมันฝรั่งสูงถึง 76 และ 80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อีกทั้งยังช่วยส่งเสริม

การเจริญของต้นมันฝรั่งอีกด้วย Thongchai (2000) คัดเลือกเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา ที่มีผลต่อการเข้าอยู่อาศัย และส่งเสริมการเจริญในต้นถั่วเหลืองได้แตกต่างกัน พบว่าเชื้อ *Scutellospora* sp. *Entrophospora colombiana* *Glomus aggregatum* และ *Glomus geosporum* ทำให้ผลผลิตของต้นถั่วเหลืองสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับต้นถั่วเหลืองที่ไม่ได้ใส่เชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา

Martin *et al.* (2002) ปลูกถั่วเหลือง (*Glycine max*) และผักกาดหอม (*Lactuca sativa*) โดยใส่เชื้อ *Glomus mosseae* และ *G. deserticola* พบว่าต้นถั่วเหลืองและผักกาดหอมเจริญเติบโตได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับต้นถั่วเหลืองและผักกาดหอมที่ไม่ใส่เชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา Roberta *et al.* (2004) ทดลองปลูกต้นสน (*Araucaria angustifolia*) ร่วมกับเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา *Glomus clarum* พบว่าต้นสนที่ใส่เชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา มีเปอร์เซ็นต์การเข้าอยู่อาศัยในรากสูงกว่าต้นสนที่ไม่ใส่เชื้อราถึง 81 เปอร์เซ็นต์ และมีการเจริญเติบโตมากกว่าต้นสนที่ไม่ใส่เชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา

<u>การตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพ (biological nitrogen fixation)</u>

1. กระบวนการตรึงไนโตรเจน

สิ่งมีชีวิตหลายชนิดสามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศเปลี่ยนเป็นแอมโมเนียหรือสารประกอบไนโตรเจน จุลินทรีย์หลายชนิด เช่น แบคทีเรีย สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินและแอกทิโนมัยซิตส์สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ แต่พืชไม่สามารถตรึงไนโตรเจนโดยวิธีนี้ เนื่องจากพืชไม่มีเอนไซม์ไนโทรจีเนส (nitrogenase) พืชได้รับประโยชน์จากการตรึงไนโตรเจนของจุลินทรีย์เพื่อการเจริญเติบโต

สมบุญ (2548) แบ่งกลุ่มสิ่งมีชีวิตตามความสามารถในการตรึงไนโตรเจน ได้ดังนี้

1.1 กลุ่มที่ตรึงไนโตรเจนแบบอิสระ (free-living nitrogen fixation) จุลินทรีย์ที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศแบบนี้จะเจริญเป็นอิสระในดิน โดยไม่ต้องอาศัยสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น ได้แก่แบคทีเรียพวก *Azotobacter* *Beijerinckia* และ *Bacillus* สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินพวก *Nostoc* *Anabaena* และ *Calothrix*

1.2 กลุ่มที่ตรึงไนโตรเจนแบบซิมไบโอซิส (symbiotic nitrogen fixation) เป็นกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศโดยต้องอาศัยสิ่งมีชีวิตอื่นแบบพึ่งพาอาศัยกัน พืชเป็นแหล่งให้อาหาร และพลังงานแก่จุลินทรีย์ ส่วนจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนจากอากาศเปลี่ยนเป็นสารประกอบไนโตรเจนซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ พืชตระกูลถั่วกับแบคทีเรีย *Rhizobium* สนทะเลกับแอกทิโนมัยซีตส์ (*Frankia*) และปรงกับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Nostoc*

1.3 กลุ่มที่ตรึงไนโตรเจนแบบแอสโซซิเอทีฟ (associative nitrogen fixation) เป็นกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่สามารถตรึงไนโตรเจนร่วมกันระหว่างจุลินทรีย์และพืชคล้ายซิมไบโอซิส โดยจุลินทรีย์เหล่านี้จะพบมากในบริเวณรอบๆ รากพืช บางชนิดพบว่าสามารถเจริญเข้าไปในส่วนของรากพืชแต่ไม่มีการสร้างปม นอกจากนี้จุลินทรีย์กลุ่มนี้อาจเจริญและตรึงไนโตรเจนอย่างเป็นอิสระ ได้แก่ แหนแดง (*Azolla*) กับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Anabaena* พืชตระกูลหญ้ากับ *Azospirillum* ข้าวสาลีกับ *Klebsiella* หรือ *Achromobacter* รวมทั้ง *Azotobacter*

Bergey (1984) ได้รายงานลักษณะที่สำคัญบางประการของแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนแบบอิสระและแบบแอสโซซิเอทีฟในสกุลต่างๆ ไว้ดังนี้

Azotobacter เซลล์มีรูปร่างเป็นรูปไข่ขนาดใหญ่ เส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5-2.0 ไมครอน หรือมากกว่า อาจพบรูปร่างหลายแบบตั้งแต่เป็นแท่งถึงค่อนข้างกลม อยู่เป็นเซลล์เดี่ยว เซลล์คู่ หรืออยู่เป็นกลุ่มใหญ่ บางครั้งอาจพบเซลล์เรียงต่อกันเป็นเส้นสายยาว ย้อมติดสีแกรมลบ เคลื่อนที่โดยอาศัย flagella หรือไม่เคลื่อนที่ ต้องการออกซิเจนในกระบวนการหายใจ ไม่สามารถเจริญได้ภายใต้สภาพที่มีออกซิเจนในระดับต่ำ บางชนิดมีการสร้างเม็ดสี (pigment) แหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการเจริญเติบโตได้แก่ น้ำตาล แอลกอฮอล์ และเกลือของกรดอินทรีย์ ตรึงไนโตรเจนได้แบบอิสระและแบบแอสโซซิเอทีฟ ต้องการโมลิบดินัม (Mo) ในการตรึงไนโตรเจน pH ที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตอยู่ในช่วง 4.8-8.5 ส่วน pH ที่เหมาะสมในการตรึงไนโตรเจนประมาณ 7.0-7.5 แบคทีเรียนี้พบทั้งในดินและในน้ำ ในอาหาร nitrogen-free medium ที่มี glucose เป็นแหล่งคาร์บอน เซลล์ที่มีอายุน้อยมีรูปร่างเป็นแท่งค่อนข้างกลม มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.3-2.7 ไมครอน ยาว 3.0-7.0 ไมครอน ซึ่งพบใน *Azotobacter* ทุกชนิด เมื่ออายุมากเซลล์มีรูปร่างค่อนข้างรี เรียงต่อกันเป็นเส้นสายยาว ในอาหาร nitrogen-free medium ที่มีน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เชื้อจะสร้างโคโลนีภายใน 48 ชั่วโมง มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-6 มิลลิเมตร โคโลนีค่อนข้างเรียบ มีลักษณะขุ่น มันวาว และนูนเล็กน้อย ชนิดที่มีความสัมพันธ์กับพืชแบบแอสโซซิเอทีฟ ได้แก่ *Azotobacter chroococcum*

Azospirillum เซลล์มีรูปร่างเป็นแท่งยาวตรงหรือโค้งงอเล็กน้อย เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1.0 ไมครอน ยาว 2.1-3.8 ไมครอน มักอยู่เป็นกลุ่ม เจริญเติบโตภายใต้สภาวะที่ pH ค่อนข้างสูง และมีการสร้างออกซิเจนอย่างเพียงพอ ย้อมติดสีแกรมลบ หรือทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ในอาหารเหลวเคลื่อนที่โดยอาศัย flagella จำนวนมากด้านข้าง ตรึงไนโตรเจนภายใต้สภาพออกซิเจนปริมาณน้อย อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตอยู่ในช่วง 35-37 องศาเซลเซียส บนอาหาร potato agar โคโลนีมีสีชมพูอ่อนถึงเข้ม มักมีลักษณะมันวาว เจริญเติบโตได้ดีในอาหารที่มีเกลือของกรดอินทรีย์ เช่น malate succinate lactate และ pyruvate แหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการเจริญเติบโต ได้แก่ fructose หรือน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวอื่นๆ ในสภาพที่อับอากาศ ไม่เกิดการตรึงไนโตรเจน การเลี้ยงเชื้อ *Azospirillum* โดยการเขย่าจะเป็นการลดกิจกรรมของไนโตรจีเนสไว้ชั่วขณะหนึ่งได้ เมื่อ pH ของอาหารเกิน 7.8 กิจกรรมของเอนไซม์ก็ลดลงเช่นกัน เมื่อมีแอมโมเนียในอาหาร เชื้อนี้จะต้องการออกซิเจนสูงในการเจริญเติบโต แต่ไม่ตรึงไนโตรเจน (Dobereiner and Day, 1975) ปริมาณวุ้นในอาหารกึ่งแข็งมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโต ซึ่งแบคทีเรียจะเจริญเติบโตและตรึงไนโตรเจนอย่างมีประสิทธิภาพ สร้างเพลลิเคิลใต้ผิว 2 มิลลิเมตร เมื่อมีวุ้นอยู่ในอาหาร 0.05 ถึง 0.17 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นถึงความต้องการออกซิเจนที่ต่ำ (Okon *et al.* 1976) แบคทีเรียนี้พบอาศัยโดยอิสระในดิน หรือมีความสัมพันธ์แบบแอสโซซิเอทีฟกับพืช ได้แก่ ธัญพืช หญ้า และพืชหัว ไม่มีการสร้างปมราก ในอาหารกึ่งแข็ง nitrogen-free malate พบว่า *A. lipoferum* มีหลายรูปแบบ เป็นแท่งโค้งงอคล้ายตัว S จนถึงเป็นเกลียวขนาด 1.4-1.7 x 5 ถึงมากกว่า 30 ไมครอน ไม่เคลื่อนที่ จากนั้นรูปร่างเหล่านี้ก็จะเปลี่ยนเป็นรูปไข่สั้นๆ เซลล์มีขนาดใหญ่ค่อนข้างกลม ส่วน *A. brasilense* มีเพียงรูปร่างโค้งงอคล้ายตัว S อย่างเดียว เซลล์เคลื่อนที่ได้

2. ประโยชน์ของจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจน

แบคทีเรียตรึงไนโตรเจน *Azotobacter* แต่ละสายพันธุ์สามารถตรึงไนโตรเจนได้แตกต่างกัน พบว่า *Azotobacter choococcum* ตรึงไนโตรเจนได้ 2 ถึง 15 มิลลิกรัมของไนโตรเจนต่อกรัมคาร์บอนที่ใช้ บางครั้งอาจสูงกว่านี้ Mulder and Brontonegoro (1974) รายงานว่า *Azotobacter* สามารถตรึงไนโตรเจนได้ 46.5 มิลลิกรัมของน้ำตาลกลูโคส วิไลลักษณ์ (2522) พบว่า *Azotobacter* ที่มีประสิทธิภาพสูงที่แยกเชื้อบริสุทธิ์จากดินในบริเวณป่าสะแกราช สามารถตรึงไนโตรเจนได้ตั้งแต่ 0.35 ถึง 2.01 มิลลิกรัมต่อลิตร *A. choococcum* สามารถสร้างและขับสารต่างๆ ออกมา ได้แก่ thiamine riboflavin pyridoxine cyanocobalamine nicotinic acid

pantothenic acid indole acetic acid และ จิบเบลเรลริน นอกจากนี้ยังสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญเติบโตของราในดินบางชนิดได้ (Shende *et al.*, 1977)

ข้าวโพดและหญ้าที่เป็นพืช C_4 บางชนิด พบแบคทีเรีย *Azospirellum* ในชั้น cortex และ stele ของราก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระหว่างการออกดอกของข้าวโพด เชื้อ *A. lipoferum* จะเข้าสู่รากพืช C_4 มากกว่า ในขณะที่พืช C_3 เช่น ข้าวโอต ข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลี และข้าวไรย์จะมีเชื้อ *A. brasiense* สายพันธุ์ nir^- มากกว่า (Baldani and Dobereiner, 1980)

3. ปัจจัยที่มีผลต่อการตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพ

3.1 ออกซิเจน

ระดับออกซิเจนมีผลต่อการตรึงไนโตรเจน ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนจะเพิ่มขึ้นเมื่อออกซิเจนลดลง และจะหยุดชะงักเมื่อมีออกซิเจนสูง เพราะก๊าซออกซิเจนจะไปยับยั้งการตรึงไนโตรเจน โดยจะแย่งที่ในการเกาะกับ terminal hydrogen acceptor ของแบคทีเรีย *Azotobacter* โดยปกติก๊าซออกซิเจนจะมีความสามารถในการเกาะได้ดีกว่า(ธงชัย, 2546)

3.2 ความเป็นกรดเป็นด่าง

ดินที่เป็นกรดจะมีปริมาณและการกระจายของแบคทีเรีย *Azotobacter* ได้น้อย ความเป็นกรด-ด่างของดินเป็นสิ่งสำคัญประการหนึ่งที่มีต่อการเจริญเติบโต และการตรึงไนโตรเจน ระดับ pH ที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของ *Azotobacter* อยู่ในช่วงสูงกว่า 6 เล็กน้อย หรือช่วงเป็นกลางถึงด่าง ยกเว้น *A. beijerinkii* ที่ทนต่อระดับ pH ต่ำได้ แต่อย่างไรก็ตามระดับ pH ที่สูงหรือต่ำกว่านี้ก็อาจจะพบแบคทีเรีย *Azotobacter* ได้ (ธงชัย, 2546) ความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียอยู่ที่ pH 6.8 ถึง 7.8 ถ้าดินมี pH 5.6 ถึง 7.2 จะเหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสที่รากของหญ้าเสือแกลก *Panicum maximum* ถ้า pH ต่ำกว่า 5.6 ไม่ส่งเสริมกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสที่รากของหญ้าเสือแกลก Dobereiner and Day (1975) รายงานว่า pH ที่เหมาะสมต่อกิจกรรมสูงสุดของเอนไซม์ไนโตรจีเนสของรากพืชอยู่ที่ 6 ถึง 7 แบคทีเรีย *Azospirellum* สามารถอาศัย และเจริญเติบโตได้ใน เนื้อเยื่อ แคลลัส และเซลล์ของพืชได้ด้วย (Lakshmi *et al.* 1977)

3.3 อินทรียวัตถุในดิน

การเจริญเติบโตและการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรีย *Azotobacter* นอกจากจะใช้สารที่รากพืชขับออกมา ยังต้องการสารอินทรีย์เพื่อใช้เป็นแหล่งของพลังงาน ดังนั้นการเติมอินทรียวัตถุต่างๆ ลงในดินจะช่วยส่งเสริมให้มีการตรึงไนโตรเจนสูงด้วย ส่วนดินที่มีปริมาณอินทรียวัตถุสูง จะเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Azospirellum* มากกว่าดินที่มีอินทรีย์วัตถุน้อย (ธงชัย, 2546)

3.4 ธาตุอาหาร

แบคทีเรีย *Azotobacter* ต้องการธาตุอาหารต่างๆ เพื่อการเจริญเติบโต และการตรึงไนโตรเจน ธาตุอาหารที่มีความสำคัญนอกจากธาตุแคลเซียมและฟอสฟอรัสแล้ว ธาตุโมลิบดินัมและเหล็ก ก็มีความสำคัญเช่นกัน โดยเฉพาะธาตุโมลิบดินัมนั้น ระดับที่เป็นประโยชน์ในดินจะเปลี่ยนแปลงได้มาก การมีไนโตรเจนอนินทรีย์ในดินปริมาณมาก จะยับยั้งการสร้างเอนไซม์ไนโตรจีเนส และลดการตรึงไนโตรเจน ในธรรมชาติมักจะมีไนโตรเจนอนินทรีย์ต่ำเกินกว่าระดับที่จะยับยั้งการตรึงไนโตรเจนได้ ถ้าความเข้มข้นของไนเตรทเกิน 60 ถึง 90 ไมโครกรัมต่อดิน 1 กรัม จะยับยั้งการตรึงไนโตรเจน แต่ไม่ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Azotobacter* (ธงชัย, 2546)

3.5 อุณหภูมิ

แบคทีเรีย *Azotobacter* ปกติจะเพิ่มจำนวนได้ที่อุณหภูมิระหว่าง 20 ถึง 45 องศาเซลเซียส และจะลดลงที่อุณหภูมิสูงกว่า 45 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำสุดสำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียส่วนใหญ่อยู่ที่ 14 องศาเซลเซียส จากการสำรวจของ Dobereiner and Day (1976) พบว่าแบคทีเรีย *Azospirellum* เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในเขตร้อน สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 32 ถึง 40 องศาเซลเซียส และจะเจริญเติบโตได้น้อยมากเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า 24 องศาเซลเซียส ขณะเดียวกันอุณหภูมิสูงกว่า 42 องศาเซลเซียส จะไม่มีการตรึงไนโตรเจน โดยทั่วไปอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจะอยู่ที่อุณหภูมิ 35 ถึง 37 องศาเซลเซียส สามารถทนอยู่ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสได้นาน 10 นาที จะตายเมื่ออุณหภูมิสูงถึง 60 องศาเซลเซียสนาน 10 นาที (Taha *et al*. 1967)

3.6 ความชื้น

เมื่อดินมีความชื้นประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ การตรึงไนโตรเจนจะเกิดได้สูงมาก แต่ถ้าความชื้นต่ำที่ 40 เปอร์เซ็นต์ หรือความชื้นมากเกินไป การตรึงไนโตรเจนจะลดลงถึง 1 ใน 3 วิไลลักษณ์ (2522) ศึกษาปริมาณและการกระจายของแบคทีเรีย *Azotobacter* ในดินบริเวณป่าสะแกราช พบว่าปริมาณของเชื้อจะเพิ่มขึ้น หรือลดลงตามจำนวนเปอร์เซ็นต์ความชื้น และ pH ของดินที่เปลี่ยนไป ในป่าเต็งรังจะมีปริมาณเชื้อต่ำสุดในเดือนธันวาคม (0.82 x 10^4 เซลล์ต่อกรัม) และสูงสุดในเดือนกรกฎาคม (94.12 x 10^4 เซลล์ต่อกรัม) ส่วนในป่าดิบแล้งจะมีปริมาณเชื้อต่ำสุดในเดือนมีนาคม (0.37 x 10^4 เซลล์ต่อกรัม) และสูงสุดในเดือนกรกฎาคม (103.3 x 10^4 เซลล์ต่อกรัม) เนื่องจากดินมีความชื้นเพิ่มขึ้น มีผลทำให้อินทรียวัตถุมาก และสลายตัวได้ดี รวมทั้งธาตุอาหารต่างๆ ในดินสามารถละลายออกมาได้มาก การสร้างเซลล์ใหม่เป็นไปได้อย่างรวดเร็ว

4. ความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซาและเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่มีต่อพืช

ลาวัณย์ (2528) คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพสูงในการตรึงไนโตรเจนโดยอิสระในสภาพที่มีอากาศ และศึกษาผลระหว่างเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนในสภาพอิสระ และเชื้อราอาบัสคูลาร์- ไมคอไรซา ต่อการเจริญของกล้าสมพง (*Tetrameles nudiflora* R. Br.) สามารถคัดเลือกแบคทีเรียซึ่งตรึงไนโตรเจนโดยอิสระได้สูงสุดโดยใช้วิธี acetylene reduction ไว้ได้ 3 ไอโซเลท นำมาศึกษาผลร่วมระหว่างเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนในสภาพอิสระและเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา พบว่ากล้าสมพงที่ปลูกร่วมกันทั้ง 2 เชื้อ เมื่ออายุ 120 และ 150 วัน จะมีความสูง น้ำหนักแห้ง มากกว่าชุดควบคุม และเมื่อกล้าสมพงอายุ 150 และ 180 วัน ทรีทเมนต์ที่ปลูกเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนและเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซาร่วมกันนั้น มีน้ำหนักแห้งมากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ

Raj *et al.* (1981) ศึกษาผลของเชื้อ *Glomus fasciculatum* และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus circulans* ต่อการดูดซึมฟอสฟอรัสในข้าวฟ่าง พบว่า บริเวณ rhizosphere ของรากที่มีเชื้อราไมคอไรซาแบคทีเรียจะช่วยละลายฟอสเฟต ส่วนเชื้อราไมคอไรซาจะช่วยเพิ่มการดูดซึมฟอสฟอรัสมากขึ้น เมื่อปลูกเชื้อทั้งสองชนิดเข้าด้วยกันก็จะเกิดผลประโยชน์พร้อมกัน Ravnskov and Jakobsen (1999) ศึกษาผลของ *Pseudomonas fluorescens* DF57 ร่วมกับเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซาสองชนิด คือ

Glomus caledonium กับ *G. intraradices* กับแตงกวา พบว่า เชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา *G. intraradices* ทำให้แตงกวามีปริมาณฟอสฟอรัสสูงกว่าชุดการทดลองอื่นๆ

Packvsky *et al.* (1985) ศึกษาการเข้าอยู่อาศัยของ *Azospirillum brasilense* ร่วมกับเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา *Glomus fasciculatum* ในข้าวฟ่างซึ่งเจริญเติบโตในดินที่มีปริมาณไนโตรเจน และฟอสฟอรัสที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ต่ำ พบว่าการปลูกเชื้อชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงอย่างเดียว หรือปลูกเชื้อทั้งสองชนิดร่วมกันสามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของพืชดังกล่าวได้ และเพิ่มการเจริญเติบโตของพืชได้ดีที่สุดเมื่อปลูกเชื้อทั้งสองชนิดร่วมกัน การทดลองปลูกมะเขือเทศโดยใส่เชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา *Glomus fasciculatum* ร่วมกับแบคทีเรีย *Azotobacter chroococcum* พบว่าเชื้อราไมคอไรซา ทำให้เพิ่มจำนวนของเชื้อแบคทีเรีย *A. chrococum* บริเวณ rhizosphere เพิ่มขึ้น และเชื้อแบคทีเรียยังช่วยเพิ่มปริมาณการเข้าอยู่อาศัย และการสร้างสปอร์ของเชื้อราไมคอไรซา (Bagyarai and Menge, 1978) Tilak and Dwivedi (1990) พบว่าการสกัดสารจากเซลล์แบคทีเรีย *Azotobacter chroococcum Azospirellum braspirillum* และ *Azospirellum lipoferum* สามารถกระตุ้นการงอกของสปอร์ *Glomus fasciculatum* เพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ

สมบุญ และสาลี่ (2535) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา ไรโซเบียม และปุ๋ยฟอสเฟตระดับต่างๆ ในถั่วเขียว พบว่าการใส่เชื้อไรโซเบียมร่วมกับเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซาจะเพิ่มการดูดธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และเพิ่มการเจริญเติบโตของถั่วเขียวมากกว่าต้นพืชที่ใส่เชื้อไรโซเบียม หรือเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซาอย่างเดียว โดยเฉพาะอย่างยิ่งในดินที่มีธาตุฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืช ปัทมา (2539) พบว่าการใส่เชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซาร่วมกับเชื้อไรโซเบียมในถั่วลิสงเชื้อรา *Acaulospora scrobiculata* No.14 ส่งเสริมให้ถั่วลิสงมีความสูงดีที่สุด และเชื้อรา *Glomus fasciculatum* ส่งเสริมให้ถั่วลิสงมีน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งมากที่สุด ยุวลี (2545) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา แบคทีเรียตรึงไนโตรเจน และปุ๋ยไนโตรเจนระดับต่างๆ ในแฝก พบว่าการใส่เชื้อ *A. scrobiculata* ทำให้เปอร์เซ็นต์การเข้าอยู่อาศัยของเชื้อราไมคอไรซาในรากแฝกมีค่ามากที่สุด และการใส่เชื้อ *A. scrobiculata* ร่วมกับเชื้อแบคทีเรีย *Azospirillum* ทำให้ความสูงของแฝกและเปอร์เซ็นต์ฟอสฟอรัสในต้นและรากมีค่ามากที่สุด

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา 3 ชนิด ได้แก่ *Acaulospora spinosa* *A. scrobiculata* และ *Scutellospora* sp.

2. แบคทีเรียตรึงไนโตรเจน 2 ชนิด ได้แก่ *Azotobacter* *Azospirillum*

3. เมล็ดข้าวฟ่างพันธุ์ KU 439

4. ดินชุดปากช่องจากไร่สุวรรณ จ.นครราชสีมา

5. สารอบดิน Dazomet

6. อุปกรณ์การเกษตร ได้แก่ กระถาง ช้อนปลูก กรรไกรตัดกิ่ง

7. ปุ๋ยยูเรีย 46 % N

8. สารเคมีและอุปกรณ์ในการย้อมสีราก ได้แก่ โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) กรดไฮโดรคลอริก (HCL) lactoglycerol และสีย้อม Trypan blue

9. สารเคมีในการวิเคราะห์ธาตุอาหารพืช ได้แก่ โซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) ซิลิเนียม (Se) กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) โพแทสเซียมโซเดียมทาเทรต ($KNaC_4H_4O_6$) โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) โซเดียมซาลิไซเลต ($NaC_7H_5O_3$) แอมโมเนียมโมลิบเดตเตตระไฮเดรต $\{(NH_4)_6Mo_7O_4 \cdot H_2O\}$ แอมโมเนียมเมตาวานาเดต (NH_4VO_3) กรดเปอร์คลอริก ($HCLO_4$) แอมโมเนียมซัลเฟต $\{(NH_4)_2SO_4\}$ และโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)

10. เครื่อง Spectrophotometer รุ่น Spectronic 20 Genesys

11. เครื่อง Block digestion รุ่น Kjeldatherm (Gerhardt)

12. เครื่องชั่ง

13. เครื่องหมุนเหวี่ยง

14. กล้องจุลทรรศน์

15. ตู้อบตัวอย่างพืช รุ่น Hotbox Oven with fan size 2

16. ตะแกรงร่อนดินแบบเปียก (Wet Sieving)

17. กล้องและอุปกรณ์ในการถ่ายภาพ

วิธีการ

1. การเตรียมดินปลูก นำดินจากไร่สุวรรณ จ.นครราชสีมา ซึ่งเป็นดินชุดปากช่อง มีลักษณะเป็นดินร่วนปนทราย pH 6.8 อินทรียวัตถุในดิน 0.86 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัสในดิน 18 ppm นำมาทุบให้ร่วน เก็บเศษหินและเศษพืชออกให้หมด นำไปอบฆ่าเชื้อด้วยสารอบดิน dazomet ในอัตราส่วน 6 กรัม ต่อดิน 10 กิโลกรัม คลุกเคล้าให้เข้ากัน จากนั้นเติมน้ำ 1 ลิตร ลงไปให้ทั่ว มัดปากถุงให้แน่น วางไว้ในที่ร่มเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นเปิดปากถุงให้กว้างแล้วตั้งทิ้งไว้อีก 7 วัน จึงนำไปปลูกพืชทดลอง

2. แผนการทดลองใช้แผนการทดลองแบบ 10 x 3 Factorial in Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ ซึ่งประกอบด้วย

ปัจจัยที่ 1 เชื้อจุลินทรีย์ *Acaulospora spinosa* *A. scrobiculata* *Scutellospora* sp. Mmix (*A. spinosa* + *A. scrobiculata* + *Scutellospora* sp.) *A. spinosa* + *Azotobacter* *A. scrobiculata* + *Azospirellum* *Scutellospora* sp. + Bmix (*Azotobacter* + *Azospirellum*) Mmix + Bmix Bmix และ Control (ชุดควบคุมที่ไม่ใส่จุลินทรีย์)

ปัจจัยที่ 2 ปุ๋ยยูเรีย 3 อัตรา ได้แก่ 0 15 และ 30 กิโลกรัมต่อไร่

3. การเตรียมเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา เพิ่มจำนวนสปอร์เชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซาที่ได้จากรากข้าวฟ่างโดยใช้ข้าวโพดเป็นพืชอาศัย นำดินที่เพิ่มจำนวนสปอร์เชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซา มาใช้เป็น soil inoculum คำนวณหาปริมาณดินที่ต้องการให้ได้จำนวนสปอร์ 200 สปอร์ ใช้วิธี sucrose centrifugation (Jenkins, 1964) เพื่อตรวจนับสปอร์ในดินที่ใช้เป็น soil inoculum

4. เตรียมเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่ได้จากฝ่ายงานจุลินทรีย์ในดิน กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตร เพิ่มปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ Burk 's medium และ MPSS broth (ธงชัย, 2540) โดยนำเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด ได้แก่ *Azotobacter* และ *Azospirellum* ที่มีการเจริญเติบโตอยู่ในช่วง log phase ในรูปสารละลายปริมาตร 10 มิลลิลิตรต่อกระถาง (ประมาณ 100 ล้านเซลล์)

5. การปลูกข้าวฟ่าง

ปลูกข้าวฟ่างลงในกระถางดินเผาที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 12 นิ้ว ซึ่งใส่ดินที่อบฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาณ 10 กก./กระถาง กระถางละ 9 เมล็ด เมื่อข้าวฟ่างอายุ 1 สัปดาห์ จึงถอนออกเหลือต้นที่แข็งแรงมีการเจริญเติบโตที่สม่ำเสมอกันจำนวน 2 ต้น จากนั้นใส่เชื้อราอาบัสคูลาร์- ไมคอไรซาที่เพิ่มจำนวนได้ นำมาใช้เป็น soil inoculum ลงบนผิวหน้าดินรอบๆ ต้นข้าวฟ่าง กระถางละประมาณ 200 สปอร์ แล้วโรยดินกลบบางๆ พร้อมกับการใส่แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนกระถางละ 10 มิลลิลิตรต่อกระถาง (ประมาณ 100 ล้านเซลล์)

ใส่ปุ๋ยยูเรีย (46 % N) ชั่งปุ๋ยยูเรียในอัตรา 0 15 และ 30 กิโลกรัมต่อไร่ กระถางละ 0 0.65 และ 1.30 กรัม โดยในดินที่ปลูกข้าวฟ่าง เมื่อข้าวฟ่างอายุ 1 สัปดาห์ ปลูกและดูแลข้าวฟ่างโดยรดน้ำสม่ำเสมอเป็นเวลา 4 เดือน จึงเก็บเกี่ยว

6. การตรวจผล

6.1 วัดความสูงของข้าวฟ่างระยะ 1 2 3 และ 4 เดือน โดยวัดจากส่วนของต้นจากผิวดินถึงข้อใบธง

6.2 นับจำนวนใบของข้าวฟ่างระยะ 1 2 3 และ 4 เดือน

6.3 วัดพื้นที่ใบของข้าวฟ่างระยะ 1 2 3 และ 4 เดือน

6.4 บันทึกวันดอกออก โดยสังเกตเมื่อก้านช่อดอกยืดยาวขึ้น ส่งให้ช่อดอกโผล่พ้นกาบใบออกมา 50 เปอร์เซ็นต์

6.5 ชั่งน้ำหนักแห้งของส่วนต้นและรากข้าวฟ่าง ระยะเก็บเกี่ยว (4 เดือน) นำไปอบในตู้อบด้วยอุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 3 วัน จนน้ำหนักคงที่

6.6 ชั่งน้ำหนักช่อและเมล็ดข้าวฟ่าง เมื่อข้าวฟ่างอายุ 120 วัน

6.7 นับจำนวนสปอร์ โดยวิธี sucrose centrifugation (Jenkins, 1964)

ชั่งตัวอย่างดิน 1 กรัม ใส่หลอดเซ็นติฟิวจ์ เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ทำให้เป็นสารละลาย (suspension) นำไปหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง นับจำนวนสปอร์ภายใต้กล้อง stereo microscope

6.8 วัดการเข้าอยู่อาศัยของเชื้อราอาบัสคูลาร์-ไมคอไรซาในราก

โดยนำส่วนรากของข้าวฟ่างมาล้างให้สะอาด ต้มในสารละลาย potassium hydroxide เข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-15 นาที แล้วนำรากลงแช่ใน acidic glycerin solution ที่ใส่สี trypan blue เข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง เพื่อให้สีย้อมเข้าไปติดโครงสร้างของเชื้อรา (Koske and Gemma,1989) จากนั้นวัดเปอร์เซ็นต์ความหนาแน่นของการเข้าอยู่อาศัยในรากตามวิธีของ Trouvelot *et al.* (1986) โดยตัดรากที่ย้อมสีแล้วให้ยาวประมาณ 1 เซนติเมตร จำนวน 30 ชิ้น วางลงบนแผ่นสไลด์ นำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ในส่วนของเส้นใย arbuscule และ vesicle จะติดสีน้ำเงิน ตรวจวัดผลการเข้าอยู่อาศัยโดยแบ่งเป็น 5 ระดับ ดังนี้

ระดับ 0 หมายถึง ไม่พบการเข้าอยู่อาศัย
ระดับ 1 หมายถึง ค่าการเข้าอยู่อาศัย 1 เปอร์เซ็นต์
ระดับ 2 หมายถึง ค่าการเข้าอยู่อาศัย 1-10 เปอร์เซ็นต์
ระดับ 3 หมายถึง ค่าการเข้าอยู่อาศัย 11-50 เปอร์เซ็นต์
ระดับ 4 หมายถึง ค่าการเข้าอยู่อาศัย 51-90 เปอร์เซ็นต์
ระดับ 5 หมายถึง ค่าการเข้าอยู่อาศัยมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์

นำค่าที่ได้มาคำนวณตามสูตร ดังนี้

$$\% M = \frac{95n_5 + 70n_4 + 30n_3 + 5n_2 + n_1}{N}$$

เมื่อ % M = เปอร์เซ็นต์ความหนาแน่นของการเข้าอยู่อาศัยในราก
N = จำนวนชิ้นรากทั้งหมด
$n_5, n_4 \ldots n_1$ = จำนวนชิ้นรากที่ตรวจพบการเข้าอยู่อาศัยที่ระดับ 5, 4...1 ตามลำดับ

6.9 วิเคราะห์ปริมาณธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในตัวอย่างพืช โดยนำข้าวฟ่างที่อบแห้งแล้วบดจนเป็นผงละเอียด นำตัวอย่างไปย่อยสลายโดยวิธี Wet ashing ของ ทัศนีย์ และคณะ (2537) จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างพืชมาวิเคราะห์หาปริมาณธาตุไนโตรเจน

โดยวิธี Kjeldal method ฟอสฟอรัสโดยวิธี Vanado molybdate method และวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมโดยใช้เครื่อง atomic absorption spectrophotometer (จำเป็น, 2536)

6.10 การวิเคราะห์ข้อมูล นำลักษณะต่างๆ ที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Duncan's Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ IRRISTAT

7. สถานที่ทำการทดลอง

7.1 ห้องปฏิบัติการและเรือนเพาะชำ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพมหานคร

7.2 ห้องปฏิบัติการภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพมหานคร

7.3 ห้องปฏิบัติการงานทดสอบดินปุ๋ยและการประยุกต์ ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม

8. ระยะเวลาทำการทดลอง

เริ่มต้นการทดลอง มิถุนายน 2547
สิ้นสุดการทดลอง มิถุนายน 2548