ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
E46268

ALLEVIATING ACID SOIL STRESS IN LEGUMES WITH ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI

AYUT KONCPUN

DOCTOR OF PHILOSOPHY
IN AGRONOMY

THE GRADUATE SCHOOL
CHIANG MAI UNIVERSITY
NOVEMBER 2010

boo256103

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
E46268

ALLEVIATING ACID SOIL STRESS IN LEGUMES WITH ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI

AYUT KONGPUN

A THESIS SUBMITTED TO THE GRADUATE SCHOOL IN
PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS
FOR THE DEGREE OF
DOCTOR OF PHILOSOPHY
IN AGRONOMY

THE GRADUATE SCHOOL
CHIANG MAI UNIVERSITY
NOVEMBER 2010

ALLEVIATING ACID SOIL STRESS IN LEGUMES WITH ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI

AYUT KONGPUN

THIS THESIS HAS BEEN APPROVED
TO BE A PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS
FOR THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY
IN AGRONOMY

EXAMINING COMMITTEE

..... CHAIRPERSON
Prof. Dr. Benjavan Rerkasem

..... MEMBER
Assoc. Prof. Dr. Sansanee Jamjod

..... MEMBER
Prof. Dr. Saisamorn Lumyong

..... MEMBER
Dr. Chanakan Promuthai

..... MEMBER
Dr. Jumnian Wongmo

THESIS ADVISORY COMMITTEE

..... ADVISOR
Prof. Dr. Benjavan Rerkasem

..... CO-ADVISOR
Prof. Dr. Bernard Dell

..... CO-ADVISOR
Assoc. Prof. Dr. Sansanee Jamjod

28 November 2010

© Copyright by Chiang Mai University

ACKNOWLEDGEMENTS

I am deeply grateful to my adviser, Professor Dr. Benjavan Rerkasem, for her supervision and encouragement during my study.

I am grateful to Professor Dr. Bernard Dell, for his valuable suggestion and comments all my work.

Special thank to Associate Professor Dr. Sansanee Jamjod for her advisory opinions on my work and all her support. I also thank Professor Dr. Saisamorn Lumyong, Dr. Chanakan Promuthai and Dr. Jumnian Wongmo for valuable advices and kind suggestions to improve my thesis.

Financial support from Royal Golden Jubilee PhD Scholarship, Thailand Research Fund, and the National Research University Program of Thailand's Commission on Higher Education is gratefully acknowledged.

During the long period of my study, I have received much support from colleagues and students at the CMUPN*lab*, Agronomy Division, Chiang Mai University. I appreciate Dr. Sittichai Lordkaew and Mrs. Kanjanaporn Lordkaew for their help in laboratory work. Thank to farmers at Haui Teecha village, Mae Hong Son province for their kindly helps. I also thank to Dr. Narit Yimyam of the Highland Coffee Research and Development Centre Chiang Mai University, for his help in survey work.

I am indebted to my family, and thank them for their unwavering support especially my father Major Bunsong Kongpun who always understand me and supports me everything.

Ayut Kongpun

Thesis Title	Alleviating Acid Soil Stress in Legumes with Arbuscular Mycorrhizal Fungi	
Author	Mr. Ayut Kongpun	
Degree	Doctor of Philosophy (Agronomy)	
Thesis Advisory Committee	Prof. Dr. Benjavan Rerkasem	Advisor
	Prof. Dr. Bernard Dell	Co-advisor
	Assoc. Prof. Dr. Sansanee Jamjod	Co-advisor

ABSTRACT

E46268

Although legumes may grow poorly in some acid soils, swidden farmers in Huai Teecha village in Mae Hong Son province, Thailand, grow legumes in soils that are acidic and low in phosphorus (P) without visible symptoms of stress. In their rotation system, a fallow-enriching tree, *Macaranga denticulata*, is encouraged to regenerate. Previous research has shown that this tree is highly dependent on arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and it has been demonstrated that this symbiotic partnership helps to maintain soil fertility. Furthermore, AMF from Teecha have been shown to improve nutrient uptake and growth of upland rice, job's tears and sorghum under conditions where soil P supply limits crop growth. Whether the AMF can benefit legumes in acid soil is the focus of this thesis.

To evaluate the AMF status of legume crops in Teecha, a survey was conducted in farmers' fields in July 2005. Roots of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.), winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus* DC. Stickm.) and yard-long bean (*Vigna unguicultata sesquipedalis* L. Fruw.) were sampled and found to be heavily

E46268

colonized by AMF, with % root colonization correlating negatively with soil pH and available P. These results led to the hypothesis that legumes are more dependent on AMF in acidic than in non-acidic soil due to the adsorption chemistry of phosphate in acid soils.

In order to investigate this hypothesis, cowpea was selected as a model species because it is widely grown in both the uplands and lowlands of northern Thailand. To assess whether improved and local cowpea lines differ in their mycorrhizal dependency with the indigenous AMF population in Teecha, a field experiment was set up in May 2008 with three improved cowpea lines (ITD-1131, cv. Ubon Ratchathanee and IT90K-227-2) and a local line in 3 farmer's fields with acid soil (pH 5.08 to 5.65) and Bray II P between 0.74 and 2.79 mg/kg. At 50 days after sowing, roots of all improved and local cowpea lines were heavily infected by AMF (70 to 90%) and the P concentration in the youngest fully expanded leaf was in the sufficient range. The cv. Ubon Ratchathanee was then selected for pot studies.

To determine whether the indigenous AMF in Teecha can alleviate acid soil stress, Ubon Rajathanee was grown in a pot experiment [Sansai soil 3.8 mg Bray II P/kg and pH (1:1 H_2O) 5.9] in Chiang Mai University. The experiment was arranged in factorial in RCB design consisting of two levels of pH (5.0 and 6.7 by adding $Al_2(SO_4)_3$ $18H_2O$ or $CaCO_3$, respectively), three levels of P fertilizer (16, 33 and 45 kg P/ha applied as KH_2PO_4) and with or without AMF inoculation (50 g soil inoculum containing 1,250 AMF spores (AM+) and autoclaved inoculum (AM0), respectively. To produce the inoculum, soil was taken from the rhizosphere of *M. denticulata* in Teecha, and mixed AMF spores were multiplied in association with *Mimosa invisa* Mart in pot culture. At 50 days after sowing at the pod filling stage,

E46268

root colonization in AM+ plants ranged from 40 to 57% and it was not affected by soil acidity or P application. There was no fungal colonization in roots of AM0 plants. Total dry weight of AM0 plants was depressed by soil acidity but dry weight of AM+ cowpea was not affected. The effect of AMF, however, varied with the P level: in P16 and P33 plants, AMF increased total dry weight by 34 and 37%, respectively, but had no effect at P45. It was concluded that AMF improved cowpea growth primarily by improving P uptake efficiency; there was a higher P uptake per unit root weight in AM+ than AM0 plants.

The soil inoculum in the above experiment contained mixed species of AMF spores and possibly other beneficial microorganisms. To identify specific mycorrhizal effects, single spore pot cultures were set up with *M. invisa* in 5 kg autoclaved Sansai soil (4.2 mg Bray II P/kg, pH 5.0). One isolate of an *Acaulospora morrowiae* CMU22 was successfully multiplied.

A pot experiment was arranged to compare effect of different inoculum types on cowpea growth. The experiment was arranged in RCB design. The Ubon Ratchathanee improved cowpea variety was growth in acid low P soil (pH 5, 11 mg P/kg) and inoculated with 4 different inoculum types. Un-inoculated cowpeas were used as control. The 4 inoculum types consisted of 1. Soil from root zone of Macaranga containing mix species AMF spores (Ma) 2. Soil from mimosa root zone containing spore of *Acaulospora morrowiae* CMU22 (Mi) 3. Spore of *Acaulospora morrowiae* CMU22 (Ac) 4. Mycorrhiza infected root fragments of Macaranga (RF). Rate of inoculating spore in Ma, Mi and Ac was varied in 3 levels (100, 250 and 500 spores /plant). At 46 days after sowing cowpea inoculated with RF had highest root colonization that was higher than Mi and Ac but not different with Ma. Cowpea in all

E46268

inoculated treatments had higher biomass yield than control. The Mi, Ac and RF had same effectiveness to promote cowpea growth. While Ma was more effective than Mi and Ac but not significant different with RF. Increasing spore rate had no effect in Mi and Ac but it increase cowpea growth in Ma.

To determine if results from the previous experiment have been partly or whole affected by the other soil micro-organisms, two further pot experiments were then conducted, one with mimosa and the other with cowpea (cv. Ubon Ratchathanee).. Cowpea and mimosa were grown in 5 L pots containing 3.6 kg of Sansai soil (11 mg Bray II P/kg, pH 5.0) at density 3 and 10 plants/pot, respectively. The experiments were arranged in RCB with 3 replications. Each pot was inoculated with one of the following treatments: 1) 22 g soil from the rhizosphere of Macaranga containing 1,500 AMF spores (Ma) of mixed species; 2) 1,500 surface sterilized spores extracted from Ma plus 22 g of autoclaved Macaranga soil (Ma-spore); 3) 1,500 surface sterilized *Acaulospora morrowiae* CMU22 spores plus 22 g of autoclaved Macaranga soil (Ac-spore); and 4) 22 g autoclaved Macaranga soil as the control.

At 59 days after sowing (pod filling stage), all inoculated treatments had the same root colonization and no root colonization was found in uninoculated control. Ma increased the biomass yield of cowpea and *M. invisa* as much as Ac-spore, but Ma-spore failed to promote growth of either plant species. Plants in the Ac-spore and Ma treatments also had higher P contents than the Ma-spore and control treatments. Thus, the single spore isolate of *Acaulospora morrowiae* CMU22 was as effective as the soil inoculum with mixed species of AMF.

E46268

From this study, it has been shown that AMF have the potential to directly benefit cowpea growing in acid soil low in available P. This benefit was demonstrated from root colonization under three situations: (a) with native mixed species of AMF associated with the fallow enriching tree *M. denticulata* in a shifting cultivation system adapted to acidic low P soil; (b) with mixed species of native AMF multiplied in the rhizosphere of *M. invisa*; and (c) with spores of *Acaulospora morrowiae* CMU22 isolated from this native AMF population. However, the effect of AMF infected root fragments on root colonization, P uptake and plant growth showed that infected roots provide another source of inoculant, in addition to the spores, in the soil inoculum taken from the root zone of the host. The effectiveness of soil inoculum from the root zone of *M. denticulata* exemplifies how an AMF population maintained by a key indigenous host can be beneficial to annual crop species in the cropping system. The possibility that *M. invisa*, and other easy to grow annual species, can function as a key host to the AMF that can benefit other annual species including weeds in the same cropping system is novel and should be further explored.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การแก้ปัญหาดินกรดในพืชตระกูลถั่วด้วยเชื้อราไมคอร์ไรซ่า

ผู้เขียน นาย อยุธย์ คงปั้น

ปริญญา วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (พืชไร่)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์
ศ. ดร. เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
Prof. Dr. Bernard Dell อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
รศ. ดร. ศันสนีย์ จำจด อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

E46268

แม้ว่าพืชตระกูลถั่วมักจะเจริญเติบโตได้ไม่ดีในดินกรด แต่ในระบบไร่หมุนเวียนของบ้านห้วยทิชะในจังหวัดแม่ฮ่องสอน เกษตรกรสามารถปลูกถั่วหลายชนิดในดินกรดที่มีฟอสฟอรัสต่ำโดยไม่มีอาการผิดปกติใดๆ แสดงออกมาให้เห็น ในระบบไร่หมุนเวียนนี้ ต้นปะดะ (*Macaranga denticulata*) ซึ่งเป็นไม้ยืนต้นที่ปล่อยในขึ้นในแปลงปลูกในช่วงทิ้งแปลง มีส่วนสำคัญในการช่วยฟื้นฟูความอุดมสมบูรณ์ของดิน ในการศึกษาก่อนหน้านี้ยืนยันว่าการเจริญเติบโตและการสะสมธาตุอาหารของต้นปะดะพึ่งพิงเชื้อราไมคอร์ไรซ่าสูงมาก การอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาของต้นประดะกับไมคอร์ไรซ่าเป็นกลไกสำคัญที่ช่วยรักษาความอุดมสมบูรณ์ของดินในระบบเกษตรนี้ นอกจากนั้นเชื้อราไมคอร์ไรซ่าในหมู่บ้านนี้ยังช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชปลูกเช่น ลูกเดือยและข้าวฟ่างในดินกรดที่มีฟอสฟอรัสต่ำ ดังนั้นจึงเป็นไปได้ที่พืชตระกูลถั่วจะสามารถใช้ประโยชน์จากเชื้อไมคอร์ไรซ่าเหล่านี้เมื่อต้องเผชิญกับสภาพดินกรดซึ่งจะเป็นประเด็นการศึกษาหลักในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ในปี 2548 ได้ทำการสำรวจเพื่อประเมินการอยู่ร่วมกันของถั่วต่างๆ กับไมคอร์ไรซ่าในหมู่บ้านทิชะ โดยได้สุ่มเก็บตัวอย่างราก ถั่วพุ่ม (*Vigna unguiculata* L. Walp.) ถั่วพู (*Psophocarpus tetragonolobus* DC. Stickm.) และ ถั่วฝักยาว (*Vigna unguicultata sesquipedalis* L. Fruw.) พบว่ามีการติเชื้อไมคอร์ไรซ่าสูงมากในถั่วทุกชนิด และยังพบอีกว่าสภาพดินที่เป็นกรดและมีฟอสฟอรัสต่ำทำให้ถั่วมีการติดเชื้อมากขึ้น ผลการสำรวจนี้นำไปสู่สมมุติฐานว่า ถั่วเหล่านี้อาจต้องพึ่งพาไมคอร์ไรซ่าเป็นพิเศษในการดูดใช้ฟอสฟอรัสจากดินกรด

จากสมมุติฐานดังกล่าวได้เลือกถั่วพุ่มเป็นตัวแทนของพืชตระกูลถั่วเพราะเป็นถั่วที่ปลูกกันอย่างแพร่หลายทั้งในที่สูงและที่ราบในภาคเหนือของประเทศไทย ได้ทำการทดลองในปี 2551 เพื่อ

E46268

เปรียบเทียบความสารถอยู่ร่วมกับเชื้อไมคอร์ไรซ่าท้องถิ่นในบ้านทิชะของถั่วพุ่มพันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์ปรับปรุง โดยปลูกเปรียบเทียบถั่วพุ่มพันธุ์ปรับปรุงสามสายพันธุ์ (ITD-1131, อุบลราชธานี และ IT90K-227-2) และพันธุ์พื้นเมืองที่ได้จากเกษตรกรหนึ่งพันธุ์ โดยเลือกพื้นที่ๆ เป็นดินกรด (pH 5.08 ถึง 5.65) และมีฟอสฟอรัสต่ำ (0.74 – 2.79 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อกิโลกรัมดิน วัดด้วยวิธี BrayII) ในหมู่บ้านห้วยทิชะ ที่อายุ 50 วันหลังปลูกรากของถั่วพุ่มทั้งพันธุ์ปรับปรุงและพันธุ์พื้นเมืองติดเชื้อไมคอร์ไรซ่าสูงเหมือนๆ กัน โดยมีเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อในราก 70 ถึง 90 % นอกจากนั้นความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในใบยังบ่งชี้ว่าถั่วทุกพันธุ์ได้รับฟอสฟอรัสอย่างพอเพียง ได้เลือกถั่วพุ่มสายพันธุ์ อุบลราชธานี ไปทดสอบในการทดลองต่อไป

เพื่อประเมินประสิทธิภาพของเชื้อไมคอร์ไรซ่าจากทิชะในการแก้ปัญหาดินกรดในถั่วพุ่ม ได้ทำการทดลองในกระถางโดยใช้ถั่วพุ่มพันธุ์อุบลราชธานี ดินที่ใช้เป็นดินชุดสันทราย (มี pH 5.9 มีฟอสฟอรัส 3.8 มิลิกรัม/กิโลกรัม) จัดการทดลองแบบ Factorial สามปัจจัยในแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกอย่างสมบูรณ์ ปัจจัยแรกคือ pH ดิน 2 ระดับ ดินกรด pH 5.0 ปรับด้วยการใส่ $Al_2(SO_4)_3$ $18H_2O$ และดินปกติ pH 6.7 ปรับด้วยการใส่ $CaCO_3$ ปัจจัยที่ 2 คือ การให้ปุ๋ยฟอสฟอรัสแตกต่างกัน 3 อัตราประกอบด้วย16, 33 และ 45 กิโลกรัม ฟอสฟอรัส/ เฮกตาร์ ให้ในรูป KH_2PO_4 (P16, P33 และ P45 ตามลำดับ) ปัจจัยที่ 3 คือการใส่และไม่ใส่เชื้อไมคอร์ไรซ่า โดยใส่ดินหัวเชื้อ 50 กรัมซึ่งมีสปอร์ 1,250 สปอร์สำหรับการปลูกเชื้อ (AM+) ส่วนสิ่งทดลองควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อใส่ดินหัวเชื้อที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วในน้ำหนักที่เท่ากัน (AM0) ดินหัวเชื้อคือดินที่เก็บมาจากรากต้นปะดะซึ่งนำมาเพิ่มปริมาณสปอร์ไมคอไรซ่าโดยใช้ไมยราบ (*Mimosa invisa*) เป็นพืชอาศัย เมื่อถั่วพุ่มอายุได้ 50 วันซึ่งอยู่ในระยะพัฒนาฝัก พบการติดเชื้อในราก 40 ถึง 50% ใน AM+ แต่ไม่พบการติดเชื้อใน AM0 โดยระดับฟอสฟอรัสและ pH ดินไม่มีผลต่อการติดเชื้อ ความเป็นกรดของดินส่งผลให้น้ำหนักแห้งรวมของถั่วพุ่มที่ไม่มีไมคอร์ไรซ่าลดลง แต่น้ำหนักแห้งของถั่วพุ่มที่มีไมคอร์ไรซ่าไม่ได้รับผลกรทบใดๆ จากดินกรด อิทธิพลของไมคอร์ไรซ่าขึ้นอยู่กับระดับฟอสฟอรัส ใน P16 และ P33 ไมคอร์ไรซ่าช่วยเพิ่มน้ำหนักแห้งรวมของถั่วพุ่ม 34 และ 37 % ตามลำดับ แต่ใน P45 ไมคอร์ไรซ่าไม่ได้ช่วยให้น้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้น นอกจากนั้นไมคอร์ไรซ่ายังช่วยเพิ่มค่าการดูดฟอสฟอรัสจากดินต่อหน่วยน้ำหนักแห้งราก จึงสรุปได้ว่าไมคอร์ไรซ่าเพิ่มการเจริญเติบโตของถั่วพุ่มด้วยการเพิ่มประสิทธิภาพในการดูดใช้ฟอสฟอรัส โดยถั่วพุ่มที่มีไมคอร์ไรซ่าจะมีอัตราการดูดใช้ฟอสฟอรัสต่อหน่วยรากสูงกว่าที่ไม่ทีไมคอร์ไรซ่า

เนื่องจากดินหัวเชื้อในการทดลองข้างต้นมีสปอร์ของไมคอร์ไรซ่าหลายชนิดปะปนกันอยู่ นอกจากนั้นยังอาจมีจุลินทรีย์ดินอื่นๆ ปะปนอยู่ด้วย เพื่อจะระบุชนิดของเชื้อจำเป็นจะต้องผลิตหัวเชื้อบริสุทธิ์ ซึ่งขยายมาจากสปอร์เดียว โดยแยกสปอร์ชนิดต่างๆ จากดินหัวเชื้อในการทดลอง

ข้างต้น นำแต่ละสปอร์ใส่ลงในไมยราบไร้หนาม *M. invisa* ซึ่งปลูกในกระถางบรรจุดินชุดสันทรายที่นึ่งแล้ว 5 กิโลกรัม (pH 5 มีฟอสฟอรัส 4.2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) สามารถขยายสปอร์จากสปอร์เดี่ยวของ *Acaulospora morrowiae* ได้สำเร็จตั้งชื่อว่า สายพันธุ์ CMU22

ได้ทำการทดลองในกระถางเพื่อเปรียบเทียบอิทธิพลของหัวเชื้อลักษณะต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของถั่วพุ่ม วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกอย่างสมบูรณ์ โดยปลูกถั่วพุ่มพันธุ์อุบลราชธานีในดินกรดที่มีฟอสฟอรัสต่ำ (pH 5, มีฟอสฟอรัส 11 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) โดยถั่วพุ่มได้รับการปลูกเชื้อลักษณะแตกต่างกัน 4 ลักษณะคือ 1. ดินหัวเชื้อจากรากต้นปะคะซึ่งมีสปอร์ของไมคอร์ไรซ่าชนิดต่างๆ ปะปนกันอยู่ (Ma) 2. ดินหัวเชื้อจากรากต้นไมยราบซึ่งมีสปอร์ของเชื้อ ไมคอร์ไรซ่า *Acaulospora morrowiae* CMU22 (Ac) 3. สปอร์ของ *Acaulospora morrowiae* CMU22 (Ac) 4. ชิ้นส่วนรากปะคะที่ติดเชื้อ (RF) ใช้ถั่วพุ่มที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อเป็นสิ่งเปรียบเทียบมาตรฐาน (Control) อัตราสปอร์ใน Ma, Mi และ Ac ปรับให้แตกต่างกัน 3 ระดับคือ 100, 250 และ 500 สปอร์ต่อต้น ที่อายุ 46 วันหลังปลูก ถั่วพุ่มที่ได้รับการปลูกเชื้อด้วย RF มีการติดเชื้อในรากสูงที่สุดซึ่งสูงกว่า Mi และ Ac แต่ไมต่างกับ Ma การปลูกเชื้อไมคอร์ไรซ่าไม่ว่าด้วยหัวเชื้อประเภทใดทำให้ถั่วพุ่มมีผลผลิตน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้น โดย Mi Ac และ RF มีประสิทธิภาพเท่าเทียมกันในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของถั่วพุ่ม ส่วน Ma นั้นสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตได้ดีกว่า Mi และ Ac แต่ไม่แตกต่างกับ RF การเพิ่มอัตราสปอร์ใน Mi และ Ac ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของถั่วพุ่ม แต่การเพิ่มอัตราสปอร์ใน Ma ช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของถั่วพุ่มได้

ทำการทดลองเพื่อทดสอบเชื้อที่แยกได้โดยแยกเป็น การทดลองในถั่วพุ่มพันธุ์อุบลราชธานีและการทดลองในไมยราบไร้หนาม โดยปลูกในกระถางขนาด 5 ลิตร บรรจุดินชุดสันทราย 3.6 กิโลกรัม (pH 5 มี ฟอสฟอรัส 11 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) โดยปลูก 3 ต้นและ 10 ต้นต่อกระถาง สำหรับถั่วพุ่มและไมยราบตามลำดับ แต่ละกระถางใส่เชื้อต่างๆ กันดังนี้ 1. ใส่ดินจากรากต้นปะคะ 22 กรัมที่มีสปอร์ไมคอร์ไรซ่าชนิดต่างๆ รวม 1,500 สปอร์ (Ma) 2. ใส่สปอร์ 1,500 สปอร์ ที่สกัดมาจาก Ma กับดิน Ma ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว (Ma-spore) 3. ใส่สปอร์ของ *Acaulospora morrowiae* CMU22 1,500 สปอร์ กับดิน Ma ที่นึ่งแล้ว (Ac-spore) 4. ดิน Ma ที่นึ่งแล้วเพียงอย่างเดียวเป็นสิ่งทดลองควบคุม (Control) ที่อายุ 59 วันหลังปลูกไม่พบการติดเชื้อใน Control ทั้งในถั่วพุ่มและไมยราบ ส่วนใน Ma, Ma-spore และ Ac-spore มีการติเชื้อในรากพอๆ กัน การใส่เชื้อ Ma และ Ac-spore มีประสิทธิภาพเท่าเทียมกันในการเพิ่มผลผลิตน้ำหนักแห้ง ทั้งในถั่วพุ่มและไมยราบ แต่ Ma-spore ไม่สามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของทั้งถั่วพุ่มและไมยราบ พืชที่ได้รับการปลูกเชื้อด้วย Ma หรือ Ac-spore มีปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในเนื้อเยื่อสูงกว่า Control

E46268

แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *Acaulospora morrowiae* CMU22 ที่แยกได้ มีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับดินหัวเชื้อที่มีสปอร์ของไมคอร์ไรซ่าหลายชนิดปะปนกันอยู่

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าไมคอร์ไรซ่าเป็นประโยชน์โดยตรงต่อถั่วพุ่มที่เจริญเติบโตในดินกรดที่มีฟอสฟอรัสต่ำ ซึ่งความเป็นประโยชน์นี้แสดงออกในสภาพต่างๆ กันถึง 3 สภาพ ประกอบด้วย 1) ในสภาพไร่หมุนเวียนที่ไมคอร์ไรซ่ามีหลายชนิดซึ่งขยายสปอร์เพิ่มจำนวนในดิน โดยมีต้นปะคะเป็นพืชอาศัยในช่วงทิ้งแปลง 2) ในสภาพที่สปอร์ไมคอร์ไรซ่าในดินมีหลายชนิด และผ่านการเพิ่มจำนวนขยายสปอร์โดยมีไมยราบเป็นพืชอาศัย 3) เมื่อปลูกเชื้อไมคอร์ไรซ่าด้วยหัวเชื้อบริสุทธิ์ซึ่งมีสปอร์ของ *Acaulospora morrowiae* CMU22 เพียงชนิดเดียว ซึ่งแยกเชื้อมาจากเชื้อท้องถิ่นบ้านทิชะ แต่ผลของการปลูกเชื้อไมคอร์ไรซ่าด้วยรากติดเชื้อ แสดงให้เห็นว่าในดินหัวเชื้อที่มาจากบริเวณรากของพืชอาศัย นอกจากจะมีโอกาสติดเชื้อราไมคอร์ไรซ่าจากสปอร์แล้วยังอาจติดเชื้อจากรากติดเชื้อด้วย ประสิทธิภาพที่ดีของดินหัวเชื้อจากรากต้นปะคะเป็นตัวอย่างที่ชี้ให้เห็นถึงความเป็นประโยชน์ของพืชป่าในท้องถิ่นในแง่ของการเป็นแหล่งอาศัยของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์อย่างไมคอร์ไรซ่าซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อพืชปลูกต่อไป ส่วนประสิทธิภาพที่ดีของดินหัวเชื้อจากไมยราบก็เป็นอีกตัวอย่างที่แสดงถึงความเป็นไปได้ ที่พืชบางชนิดซึ่งขึ้นง่ายปรับตัวได้ดีในหลายสภาพแวดล้อมจะสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในแง่เป็นพืชอาศัยของไมคอร์ไรซ่าเพื่อจะเป็นประโยชน์ต่อพืชปลูกอื่นๆหรือแม้แต่วัชพืช ที่ขึ้นอยู่ร่วมกันในระบบปลูกพืช จึงน่าจะมีการศึกษาเพิ่มเติมในโอกาสต่อไป

TABLE OF CONTENT

	Page
Acknowledgement	iii
Abstract (English)	iv
Abstract (Thai)	ix
List of Tables	xvi
List of Figures	xxii
Chapter 1 Introduction	1
Chapter 2 Literature review	5
2.1 Distribution and causes of acid soil	5
2.2 Nutrient disorders in acid soil	8
2.3 Acid soil constraints for legume growth and nitrogen fixation	12
2.4 Role and benefit of Arbuscular mycorrhiza fungi (AMF) in legumes	20
2.5 Management of soil acidity for legume crop	23
2.5.1 Liming	23
2.5.2 Fertilizer application	24
2.5.3 Use acid tolerant legume cultivars and rhizobium strains	25
2.5.4 Mycorrhizal symbiosis	26

Chapter 3 Arbuscular mycorrhizal status of legumes in a shifting cultivation system in northern Thailand 30

3.1 Introduction 30

3.2 Materials and methods 31

3.3 Result 35

3.4 Discussion 42

Chapter 4 Evaluating system for testing effect of arbuscular mycorrhizal fungi on legume growth in acid soil 44

4.1 Introduction 44

4.2 Materials and methods 45

4.3 Result 49

4.4 Discussion 62

Chapter 5 Effects of abuscular mycorrhozal fungi, soil acidity and phosphorus on cowpea 65

5.1 Introduction 65

5.2 Material and method 65

5.3 Result 68

5.4 Discussion 78

Chapter 6 Comparing effectiveness of different arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) isolates to alleviate acid soil stress in cowpea 81

6.1 Introduction 81

6.2 Material and method 82

6.3 Result 86

6.4 Discussion 98

Chapter 7 Effectiveness of AMF in different types of inoculum on cowpea growing in acid soil 102

7.1 Introduction 102

7.2 Material and method 103

7.3 Result 108

7.4 Discussion 130

Chapter 8 General Discussion 133

Reference 137

Curriculum vitae 153

LIST OF TABLES

Table		Page
3.1	Correlation coefficient between root colonization, soil pH and soil P and spore density in root zone soil	36
3.2	Distribution of AMF spore in the soil profile at 3 locations in Kayo field in Haui Teecha	37
3.3	Soil pH, soil P concentration and spore density in soil of 6 farmer's field	38
3.4	Correlation coefficient between root colonization, P concentration in YFEL, Soil P and soil pH	42
4.1	Effect of soil pH on mycorrhiza root colonization in cowpea at 25 days after sowing	50
4.2	Effect of soil pH and arbuscular mycorrhizal fungi inoculation on shoot dry weight of cowpea at 25 days after emergence	50
4.3	Effect of soil pH and mycorrhiza inoculation on root dry weight of cowpea at 25 days after emergence	51
4.4	Effect of soil pH and mycorrhiza inoculation on total dry weight of cowpea at 25 days after sowing	51
4.5	Effect of soil pH and mycorrhiza inoculation on nodule dry weight of cowpea at 25 days after emergence	52
4.6	Effect of soil pH and mycorrhiza inoculation on nodule number/pot of cowpea at 25 days after emergence	52

4.7	Effect of AMF and soil acidity on root colonization, shoot, root, nodule and total weight and nodule number of cowpea applied with N fertilizer or inoculated with rhizobium	54
4.8	Effect of AMF and soil acidity shoot P and N concentration, total P and N content of cowpea applied with N fertilizer or inoculated with rhizobium	55
4.9	Soil P concentration (mg P/kg) in varying P application rate of acid (pH 5) and non-acid soil (pH6.7)	58
4.10	Effect of P application treatment on biomass yield and nodulation of cowpea in acid (pH 5) and nonacid (pH6.7) soil	59
4.11	Effect of P application treatment on shoot P and N concentration, total N and P content and P uptake efficiency of cowpea in acid (pH 5) and nonacid (pH6.7) soil	60
5.1	Root colonization in acid and non-acid soil varied with 3 different P levels	68
5.2	Effect of AMF and P application on cowpea shoot dry weight in acid and non-acid soil	69
5.3	Effect of AMF and P application on cowpea root dry weight in acid and non-acid soil	70
5.4	Effect of AMF and P application on cowpea total dry weight in acid and non-acid soil	71

5.5	Effect of AMF and P application on cowpea nodule dry weight in acid and non-acid soil	72
5.6	Effect of AMF and P application on shoot P concentration in acid and non-acid soil	73
5.7	Effect of AMF and P application on total P content of cowpea in acid and non-acid soil	74
5.8	Effect of AMF and P application on P uptake per unit root weight in acid and non-acid soil	75
5.9	of AMF and P application on shoot N concentration in acid and non-acid soil	75
5.10	Effect of AMF and P application on total N content in acid and non-acid soil	76
6.1	Root colonization shoot root and total dry weight of cowpea inoculated with soil inoculum containing different AMF isolates in acid and non acid soil	86
6.2	Nodule number nodule dry weight shoot P concentration and total P content of cowpea inoculated with soil inoculum containing different AMF isolates in acid and non acid soil	87
6.3	Effect of soil acidity on root colonization of cowpea inoculated with spores of different AMF isolates in acid and non acid soil with 3 P levels	88

6.4	Shoot dry weight of cowpea inoculated with spores of different AMF isolates in acid and non acid soil with 3 P levels	90
6.5	Root dry weight of cowpea inoculated with spores of different AMF isolates in acid and non acid soil with 3 P levels	91
6.6	Total dry weight of cowpea inoculated with spores of different AMF isolates in acid and non acid soil with 3 P levels with 3 P levels	92
6.7	Nodule dry weight of cowpea inoculated with spores of different AMF isolates in acid and non acid soil with 3 P levels with 3 P levels	93
6.8	Root colonization of mimosa inoculated with spores of different AMF isolates in acid and non-acid soil at 91 days after sowing	94
6.9	Shoot dry weight of mimosa inoculated with different AMF species in acid and non-acid soil at 13 weeks after sowing	95
7.1	Root colonization shoot root and total dry weight of cowpea inoculated with different inoculun types varied spore rate at 15 days after emergence	108
7.2	Nodule number, shoot P concentration and P uptake per unit root weight of cowpea inoculated with different inoculum types varied spore rate at 15 days after emergence	110
7.3	Root colonization, shoot root, and total dry weight of cowpea inoculated with different inoculum types with varied spore rate at 35 days after emergence	112

7.4	Nodule number, nodule dry weight, shoot P concentration and P uptake per unit root weight of cowpea inoculated with different inoculum types with varied spore rate at 35 days after emergence	114
7.5	Root colonization, shoot root and total dry weight of cowpea inoculated with different inoculum types with varied spore rate at 46 days after emergence	116
7.6	Nodule number, nodule dry weight, shoot P concentration and P uptake per unit root weight of cowpea inoculated with different inoculum type with varied spore rate at 46 days after emergence	118
7.7	Root colonization, shoot dry weight and root fresh weight of mimosa inoculated with AMF spores sterilized with different antiseptic at 14, 25 and 35 days	120
7.8	Root colonization, shoot root and total dry weight and nodule number per plant of cowpea and mimosa inoculated with different inoculum types at 39 days after sowing	122
7.9	Nodule dry weight, shoot P concentration, total P content and P uptake per unit root weight of cowpea and mimosa inoculated with different inoculum types at 39 days after emergence	124
7.10	Root colonization, biomass yield, nodulation, shoot P concentration and total P content of cowpea and mimosa inoculated with different AMF inoculums at 59 days after sowing	126

7.11 Nodule dry weight, shoot P concentration, total P content and P uptake perunit root weight of cowpea inoculated with different inoculum types at 59 days after emergence 128

LIST OF FIGURES

Figure		Page
2.1	Distribution of acid soil in the world, with percentage of total land area with acidic soil in each continent	5
3.1	Method of soil sample collection	33
3.2	Abuscular mycorrhiza fungi colonization in roots of 3 legumes in 4 farmer's fields at Huai Teecha	35
3.3	Arbuscular mycorrhiza fungi root colonization in 4 cowpea lines in 3 farmer fields	39
3.4	Phosphorus concentration in youngest full expended leaf (YFEL) of 4 cowpea lines in 3 farmer's fields	40
3.5	Spore density in root zone soil of 4 cowpea lines in 3 farmer fields	41
4.1	Correlation between shoot P concentration and shoot dry weight in acid and non-acid soil	61
4.2	Correlation between shoot N concentration and shoot dry weight in acid and non-acid soil	61
5.1	Correlation between shoot P concentration and shoot dry weight	77
6.1	Spores of 2 different arbuscular mycorrhizal fungi isolated	80
6.2	Growth of mimosa inoculated with different AMF in acid and non-acid soil	96
6.3	The different of inoculation method in chapter 6 and chapter 5	100