ผลการดำเนินงานวิจัย

1. พืชที่ใช้ผลิต biofuel - สบู่ดำ

1.1 ศึกษาความหลากหลายของเชื้อรา อาร์บัสคูล่ามายคอร์ไรซา (AMF) ในต้นสบู่ดำและการบ่งบอกชนิดของ AMF ที่พบโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ในการศึกษานี้ ทำศึกษาจากแปลงสบู่ดำทั้งหมด 10 แหล่งตัวอย่าง ได้แก่ พื้นที่ศึกษาในจังหวัดเชียงราย 2 แหล่งตัวอย่าง ได้แก่ CR1 (19°54′N, 99° 48′E) CR2 (19°52′N, 99° 26′E) พื้นที่ศึกษาในจังหวัดเชียงใหม่ 4 แหล่งตัวอย่าง ประกอบด้วย CM1 (18°45′N, 98° 55′E) CM2 (18°09′N, 98° 30′E) CM3 (18°45′N, 98° 55′E) CM4 (18°44′N, 98° 54′E) พื้นที่ศึกษาในจังหวัดลำพูน 1 แหล่งตัวอย่าง คือ LP1 (18°34′N, 99° 07′E) พื้นที่ศึกษาในจังหวัดเลย 1 แหล่งตัวอย่าง คือ LO1 (17° 27′N, 101° 21′E) พื้นที่ศึกษาในจังหวัดขอนแก่น 1 แหล่งตัวอย่าง คือ KK1 (16° 23′N, 102° 53′E) และพื้นที่ศึกษาในจังหวัดหนองคาย 1 แหล่งตัวอย่าง คือ NK1 (17°51′N, 102° 43′E)

จากการเก็บตัวอย่างดินรอบรากและรากของสบู่ดำจาก 6 จังหวัดในประเทศไทยพบว่า พื้นที่ต่างๆ มีความแตกต่างกันดังได้บันทึกลักษณะของแต่ละพื้นที่ ประกอบด้วย อายุของต้นสบู่ดำ, ค่า pH ของดิน, % สารอินทรีย์ (%OM), ปริมาณฟอสฟอรัส (mg/kg), ปริมาณโพแทสเซียมที่พบ (mg/kg), %การเข้าอาศัยในรากจากการนับ ภาพโครงสร้างของ AMF ที่ปรากฏภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เช่น เวสสิเคิล อาร์บัสคูล หรือเส้นใย, ความหนาแน่นของสปอร์ในดิน 100 g, จำนวนชนิดของ AMF ที่พบ, ค่าดัชนีความหลากหลาย และความหนาแน่นของสปอร์ชนิดเด่นแสดงในตารางที่ 1 โดยพบว่า ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเข้าราก มากที่สุดจากตัวอย่างรากที่เก็บจากต้นสบู่ดำในจังหวัดเชียงใหม่ พื้นที่ศึกษา CM4 94.30% (ตารางที่ 1) รองลงมาคือพื้นที่ CM3 (93.20%) และ CM2 (87.50%) ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการตรวจพบ การอยู่อาศัยร่วมกันระหว่าง AMF กับพืชชนิดอื่นในแฟมิลี่เดียวกับสบู่ดำ (Youpensuk *et al.*, 2004; Zhao และ Zhiwei, 2007; Straker *et al.*, 2010) และยังพบอีกว่า AMF สามารถเข้ารากของสบู่ดำได้ไม่ว่าจะมีอายุการเพาะปลูกนานเท่าใด (Narendra *et al.*, 2009)

ความหนาแน่นของสปอร์ที่พบในแต่ละพื้นที่ศึกษามีจำนวนตั้งแต่ 1-83 สปอร์ ในดิน 100 กรัม โดยในแต่ละพื้นที่ศึกษามีความหนาแน่นของสปอร์แตกต่างกัน (P<0.05) เมื่อนำมาคำนวณโดยใช้ Shannon-Weiner Index พบว่าจังหวัดหนองคายมีความหนาแน่นของสปอร์มากที่สุดมีค่า H′= 0.95 จำนวน 163 สปอร์ในดิน 100 กรัม รองลงมาได้แก่ พื้นที่เชียงใหม่ 3 (150 สปอร์ในดิน 100 กรัม) และ เลย (112 สปอร์ในดิน 100 กรัม) ส่วนพื้นที่จังหวัดขอนแก่นมีค่า H′= 0.18 และผลจากการใช้ Simpson's Index เพื่อหาสปอร์ชนิดเด่น พบว่า มีค่าที่ได้ตั้งแต่ 0.0001-0.0173 ตามตารางที่ 1 เมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ความหนาแน่นของสปอร์แยกตามสกุลแล้วจะได้ เชื้อในสกุล *Acaulospora* 67%, *Gigaspora* 15%, *Glomus* 12% และ *Scutellospora* 6%

การศึกษาความหลากหลายของชนิดสปอร์ AMF จากตัวอย่างดินรอบรากต้นสบู่ดำพบว่า พื้นที่ศึกษา CM4 มีจำนวนชนิดของสปอร์ที่พบมากที่สุด (11 ชนิด) รองลงมาได้แก่ พื้นที่ศึกษาในหนองคาย เลย และ เชียงใหม่พื้นที่ 1 (8, 7 และ 6 ชนิด ตามลำดับ) AMF ที่พบจากพื้นที่ศึกษาทั้งหมด 34 ชนิด (ตารางที่ 2) ประกอบด้วย เชื้อราอาร์บัสคูลาร์มายคอร์ไรซา 4 สกุล คือ เชื้อในสกุล *Acaulospora* 17 ชนิด, *Gigaspora* 2 ชนิด, *Glomus* 10 ชนิด และ *Scutellospora* 5 ชนิด 1 เมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ปริมาณของสปอร์แยกตามสกุล พบว่า เชื้อในสกุล *Acaulospora* มากที่สุด คิดเป็น 49% และ *Gigaspora* พบน้อยที่สุดเพียง 6% เมื่อเปรียบเทียบกับดินหุบเขาทางตะวันตกเฉียงใต้ของจีนที่พบ AMF มากถึง 43 สปีชีส์ (Zhao และ Zhiwei, 2007) และ 51 สปีชีส์ เมื่อทำการตรวจสอบดินในไร่ชาของอินเดีย (Singh *et al.*, 2008) ดังนั้นจำนวน 34 ชนิดของ AMF ที่ได้จากดินรอบรากสบู่ดำจึงไม่จัดว่ามีความหลากหลายสูงมากนัก

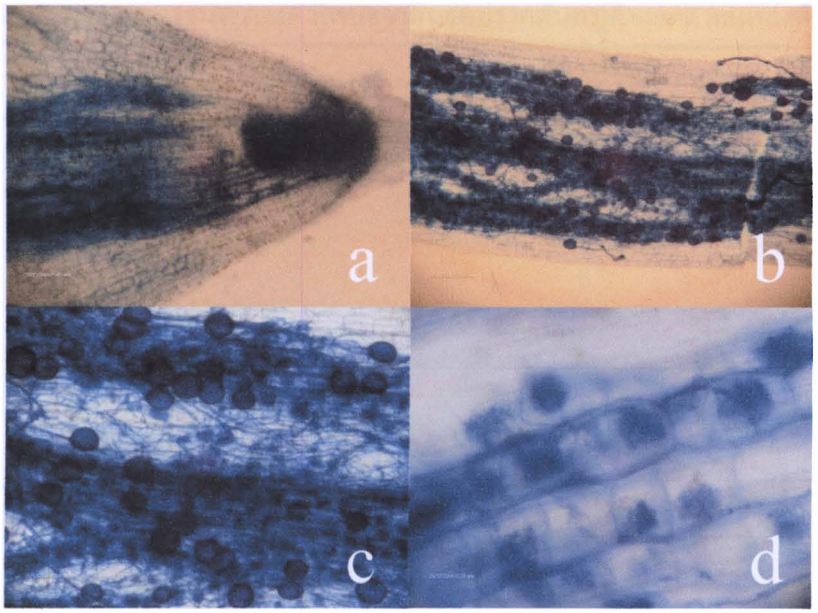
จากชนิดสปอร์ที่พบทั้งหมด พบว่าจัดเป็นชนิดเด่นได้ 7 ชนิด โดยคัดเลือกจากชนิดที่มีความหนาแน่นมากกว่า 40 สปอร์ในดิน 100 กรัม คือ *Acaulospora foveata*, *Acaulospora tuberculata*, *Acaulospora* sp. CMU-AMF09, *Acaulospora* sp. CMU-AMF14, *Acaulospora* sp. CMU-AMF26, *Gigaspora rosea* CMU-AMF29 และ *Gigaspora* sp. CMU-AMF28 ซึ่งมีความสอดคล้องกับรายงานการพบเชื้อในจีนัส *Acaulospora* เป็น AMF ชนิดเด่นที่พบในดินบริเวณป่าแถบภาคเหนือของไทย (Nandakwang *et al.*, 2008; Wangmo, 2008) นอกจากนี้ยังพบว่าเป็น AMF ชนิดเด่นในดินที่มีความเป็นกรดสูงอีกด้วย (Abbott และ Robson, 1991)

ตารางที่ 1 ตัวอย่างทั้งหมดจาก 6 จังหวัดแสดงอายุของต้นสบู่ดำ, ค่า pH ของดิน, % สารอินทรีย์ (%OM), ปริมาณฟอสฟอรัส (mg/kg), ปริมาณโพแทสเซียมที่พบ (mg/kg), %การเข้าอาศัยในราก, ความหนาแน่นของสปอร์ในดิน 100 g, จำนวนชนิดของ AMF ที่พบ, ค่าดัชนีความหลากหลาย (diversity index) และความหนาแน่นของสปอร์ชนิดเด่นของ 10 พื้นที่ศึกษาในประเทศไทย

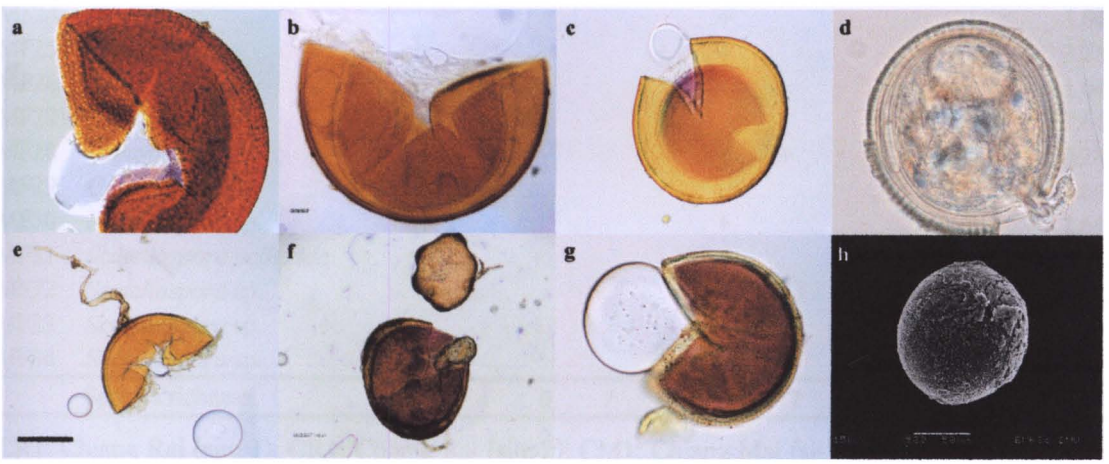
Site	Age (year)	pH[1]	OM[2] (%)	N[3] (%)	Available P[4] (mg/kg)	Extractable K[5] (mg/kg)	Root colonization* (%)	Spore density* (100 g soil)	Species richness	Diversity index *H′*	Concentration of dominance *C*
Chiang Rai 1	>1	6.0	1.54	0.09	111.8	158.0	37.7±5.9a	27±0.9c	3	0.23	0.0006
Chiang Rai 2	5	5.3	7.22	0.44	121.4	1058.0	85.8±1.3d	44±1.4bc	4	0.31	0.0029
Chiang Mai 1	<1	6.0	3.30	0.15	94.3	198.5	66.0±4.9b	19±0.6a	6	0.21	0.0001
Chiang Mai 2	10	6.0	6.94	0.26	150.5	521.4	87.5±1.5d	34±0.7b	7	0.34	0.0004
Chiang Mai 3	10	6.9	4.30	0.19	75.2	204.0	93.2±2.7e	150±2.0f	5	0.85	0.0173
Chiang Mai 4	10	5.9	2.42	0.07	19.8	171.0	94.3±2.8e	85±1.8d	11	0.71	0.0030
Loei	4	5.9	2.68	0.15	147.4	232.4	64.4±4.2b	112±0.6e	7	0.77	0.0078
Lumphun	1	6.1	1.86	0.07	11.5	171.8	76.5±5.5c	41±0.6b	6	0.37	0.0009
Khon Kean	5	8.0	0.63	0.02	11.8	22.1	77.3±8.7b	21±0.6g	4	0.18	0.0006
Nong Khai	5	6.0	1.74	0.12	175.5	746.3	66.4±5.4c	163±1.5a	8	0.95	0.0172

[1]1:5 H_2O, [2]Organic matter by EDTA method [3]Total nitrogen by Kjehldahl, [4]Olsen method for phosphorus, [5]NH_4OAc method for potassium

*The same letters in each column mean that there were no significant differences at $\alpha = 0.05$



ภาพที่ 4 โครงสร้างของ AMF ที่พบในรากของต้นสบู่ดำ (a) โครงสร้าง AMF บริเวณปลายราก ขยาย 10 เท่า (b) การเข้าอาศัยในราก 100% ภาพขยาย 200 เท่า, (c) vesicles ภาพขยาย 400 เท่า และ (d) arbuscules ภาพขยาย 1000 เท่า



ภาพที่ 5 แสดงลักษณะสปอร์ของเชื้อ AMF บางชนิดที่พบจากดินรอบรากต้นสบู่ดำ; (a) *A. foveata* (AMF02), (b,h) *A. tuberculata* (AMF05), (c) *A. dilatata* (AMF09) , (d) *A. lacunosa* (AMF14) , (e) *Gigaspora rosea* (AMF29), (f) *Gigaspora* sp. (AMF28) และ (g) *A. scrobiculata* (AMF06) ย้อมสีด้วย Melzer's reagent hyphae. Bars: a, b, c, d, g = 38.125 µm (40x); e, f = 150 µm (10x); h = 50 µm

ตารางที่ 2 เปอร์เซนต์ของชนิด AMF ที่พบจากดินรอบรากต้นสบู่ดำแยกตามแหล่งตัวอย่าง

Code	Species	Sample sites*										Occurrence (%)
		CR1	CR2	CM1	CM2	CM3	CM4	LO1	LP1	KK1	NK1	
AMF01	*Acaulospora spinosa*									+		1.64
AMF02	*Acaulospora foveata*									+	+	3.28
AMF03	*Acaulospora tuberculata*				+			+				3.28
AMF04	*Acaulospora colossica*							+	+			3.28
AMF05	*Acaulospora sp.*					+						1.64
AMF06	*Acaulospora scrobiculata*	+	+	+	+	+	+				+	11.48
AMF07	*Acaulospora* sp.										+	1.64
AMF08	*Acaulospora denticulata*						+					1.64
AMF09	*Acaulospora dilatata*						+				+	3.28
AMF10	*Acaulospora rehmii*			+	+							3.28
AMF11	*Acaulospora nicolsonii*				+				+		+	4.92
AMF12	*Acaulospora excavata*			+		+	+	+	+			8.2
AMF13	*Acaulospora* sp.		+									1.64
AMF14	*Acaulospora lacunosa*		+				+	+				4.92
AMF15	*Acaulospora* sp.		+									1.64
AMF16	*Acaulospora morrowiae*						+	+				3.28
AMF17	*Glomus* sp.							+		+		3.28
AMF18	*Glomus etunicatum*										+	1.64
AMF19	*Glomus* sp.								+			1.64
AMF20	*Glomus* sp.								+			1.64
AMF21	*Glomus clavisporum*				+							1.64
AMF22	*Glomus sinuosum*			+	+							3.28
AMF23	*Glomus* sp.									+		1.64
AMF24	*Glomus* sp.						+					1.64
AMF25	*Glomus* sp.					+	+					3.28
AMF26	*Acaulospora* sp.										+	1.64
AMF27	*Glomus fulvum*	+										1.64
AMF28	*Gigaspora* sp.						+	+				3.28
AMF29	*Gigaspora rosea*					+						1.64
AMF30	*Scutellospora* sp.						+					1.64
AMF31	*Scutellospora pellucida*	+		+			+				+	6.56
AMF32	*Scutellospora* sp.				+							1.64
AMF33	*Scutellospora* sp.			+								1.64
AMF34	*Scutellospora* sp.								+			1.64
	Species richness	3	4	6	7	5	11	7	6	4	8	

*CR1: Chiang Rai (site 1); CR1: Chiang Rai (site 2); CM1: Chiang Mai (site 1); CM2: Chiang Mai (site 2); CM3: Chiang Mai (site 3); CM4: Chiang Mai (site 4); LO1: Loei; LP1: Lumphun; KK1: Khon Kean; NK1: Nong Khai

1.2 การบ่งบอกชนิดของ AMF ที่พบโดยใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยา

DNA ที่มีคุณภาพจะถูกจำลองด้วย primer ที่เฉพาะเจาะจงกับ SSU และ LSU จากนั้นจึงวิเคราะห์ลำดับเบสจากการทำ PCR ซึ่งลำดับเบสที่ได้ฝากไว้ใน GenBank (accession number GQ202191, GQ202192, GQ202193 และ GQ202194) หลังจากการ BLAST และวิเคราะห์แล้วพบว่า ลำดับเบสของเชื้อชนิด CMU05 และ CMU33 ในการศึกษาครั้งนี้ อ้างอิงได้จาก NCBI ว่าเป็นเชื้อราที่มีวิวัฒนาการมาจากกลุ่ม glomeralean เมื่อนำ SSU rDNA ของ CMU05 ไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล พบว่ามีความคล้ายคลึงกับ *Entrophospora colombiana* ถึง 99% และ CMU33 คล้ายกับ *Scutellospora heterogama* 97% และ เมื่อนำ LSU rDNA ของ CMU05 ไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล พบว่ามีความคล้ายคลึงกับ *Entrophospora colombiana* 91% และ CMU33 คล้ายกับ *Scutellospora heterogama* 97%

การวิเคราะห์สายวิวัฒนาการทำในโปรแกรม MEGA4 ซึ่งใช้ Maximum Parsimony Method ในการวินิจฉัย SSU rDNA และเลือก parsimonious tree ที่ 3 ในทั้งหมด 11 แผนภูมิ (ความยาว = 437) ดังแสดงในภาพที่ 6

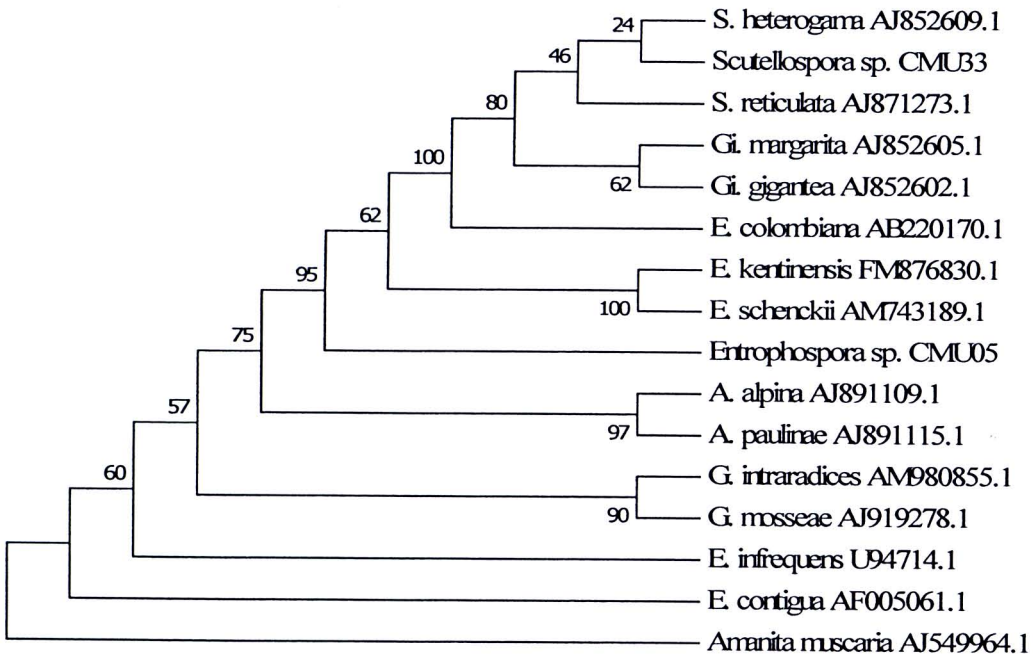
สำหรับการวินิจฉัย LSU rDNA ใช้ Neighbor-Joining Method ซึ่งได้ parsimonious tree เพียงแบบเดียวที่เหมาะสมที่สุดและมีความยาวเฉลี่ยเพียง 2.22462796 ดังแสดงในภาพที่ 7

สายวิวัฒนาการนี้ แสดงความสัมพันธ์ของ AMF เป้าหมาย กับเชื้อราในกลุ่ม Glomeromycota ชนิดอื่นๆ และ *Amanita muscaria* ซึ่งอยู่นอกกลุ่ม

Primer ชนิด NS31-AM1 ซึ่งใช้กับ SSU rDNA นั้นให้ค่า bootstrap ต่ำ เมื่อใช้กับ CMU05 และชนิดใกล้เคียง แต่ให้ค่า bootstrap สูง ใน CMU33 และ *Scutellospora heterogama* ในขณะที่ Primer ชนิด FLR3 และ FLR4 ที่ใช้สำหรับ LSU rDNA ให้ค่า bootstrap = 67 ใน CMU05, *Entrophospora colombiana* และ *Acaulospora mellae* แต่ให้ค่า bootstrap สูงใน CMU33 และ *Scutellospora heterogama*

จากข้อมูลดังกล่าว Primer ชนิด NS31-AM1 และ ชนิด FLR3-FLR4 เหมาะสมที่จะใช้ในการบ่งชี้ชนิดของเชื้อราในสกุล *Scutellospora* มากกว่า *Entrophospora* เนื่องจากสามารถจัดกลุ่ม *Scutellospora* และ *Gigaspora* เข้าไว้ใน family เดียวกัน

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย



ภาพที่ 6 Phylogenetic relationships ของ *Entrophospora* sp. CMU05 และ *Scutellospora* sp. CMU33 ในการวิเคราะห์ *Glomeromycota* ด้วย Maximum Parsimony จาก partial SSU rDNA sequences ของ AMF โดย The percentage values แสดง bootstrap values based on 1,000 replicates

การยืนยันชนิด

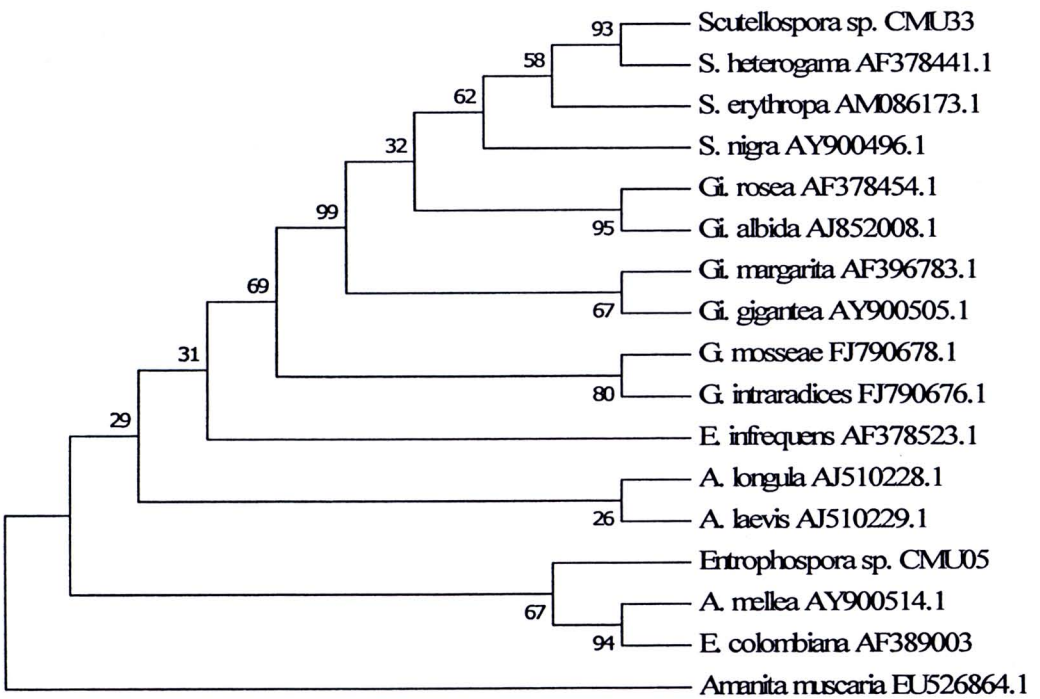
ผลิตภัณฑ์จากการทำ PCR ของรากข้าวฟ่าง และสิ่งที่ได้จากดินรอบรากข้าวฟ่างที่ปลูกเชื้อทั้ง 2 ชนิด คือ CMU05 และ CMU33 ถูกนำมาลำดับและวิเคราะห์ พบว่า ผลจากการทำ PCR โดยใช้ Primer ชนิด NS31-AM1 ใน SSU rDNA ได้ความยาวประมาณ 550 คู่เบส และ การใช้ FLR3-FLR4 ใน LSU rDNA ได้ความยาวประมาณ 300-400 คู่เบส

ผลิตภัณฑ์จากการทำ PCR ของ SSU rDNA และ LSU rDNA ได้จากการสร้างสปอร์ในดินรอบรากและรากต้นข้าวฟ่างหลังจากการปลูกสปอร์ ซึ่งหลังจากนำมาวิเคราะห์แล้ว จึงพบว่า ในแต่ละลำดับของนิวคลีโอไทด์ของแต่ละตัวอย่างเหมือนกัน (100%) ทั้งใน CMU05 และ CMU33 การศึกษาครั้งนี้ ค้นพบว่าการปลูกเชื้อทั้ง CMU05 และ CMU33 ในรากของพืชอาศัย ทำให้เชื้อสามารถเจริญและสร้างสปอร์ได้ ในดินรอบราก

ผลของการใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยากับ SSU rDNA และ LSU rDNA สนับสนุนผลจากการจัดจำแนกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐาน ซึ่งจัด CMU05 เป็นสกุล *Entrophospora* เนื่องจากมีความใกล้เคียงมากกว่าสกุล *Acaulospora* อีกทั้งยังพบว่ามีรูปแบบของการสร้าง soporiferous saccule ซึ่งเป็นลักษณะของ *Entrophospora* สิ่งสำคัญอีกประการหนึ่งคือ *E. colombiana* และ *Ac. mellae* มีลักษณะคล้ายคลึงกันมาก จึง

ไม่สามารถใช้ลักษณะทางสัณฐานแยกออกจากกันอย่างชัดเจน หากไม่พบ saccule หรือ observing scar ซึ่งมองเห็นได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

อย่างไรก็ตามความแตกต่างของลำดับเบสระหว่าง CMU05 และ *Entrophospora colombiana* มีน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ *Acaulospora mellae* เมื่อนำมาประกอบกับโครงสร้างของผนัง และองค์ประกอบต่างๆ ซึ่งสนับสนุนข้อมูลตาม phylogenetic tree ดังนั้นจึงอาจจะจัด CMU05 เป็น *Entrophospora colombiana* เนื่องจากข้อมูลทั้งทางอณูชีววิทยาและสัณฐานวิทยาที่สัมพันธ์กับเชื้อชนิดนี้ แม้ว่าจะยังมีบางลักษณะที่ไม่แม่นยำนัก ซึ่งอาจเกิดขึ้นได้เนื่องจากปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมในขณะที่สปอร์เจริญ ดังเช่นที่ Morton (1988) พิจารณา ความไม่แน่นอนในการเกิดปฏิกิริยาของผนังชั้นนอกสปอร์ ซึ่งเป็นผลที่เกิดจากสภาวะแวดล้อม ดังนั้น ในกรณีศึกษานี้จึงไม่นำความแตกต่างนี้มาใช้ในการจัดลำดับทางอนุกรมวิธาน



ภาพที่ 7 Phylogenetic relationships ของ *Entrophospora* sp. CMU05 และ *Scutellospora* sp. CMU33 ในการวิเคราะห์ *Glomeromycota* ด้วย Maximum Parsimony จาก partial LSU rDNA sequences ของ AMF โดย The percentage values แสดง bootstrap values based on 1,000 replicates

ส่วนเชื้อที่นำมาศึกษาอีกชนิดหนึ่ง คือ CMU33 นั้น มีความคล้ายคลึงกับ Scutellospora *heterogama* มากที่สุด แต่ขนาดและการทำปฏิกิริยากับสารละลาย Melzer's ยังคงแตกต่างกันกับ *Scutellospora heterogama* โดย CMU33 มีขนาดใหญ่กว่าและผนังสปอร์มีสีต่างกันกับ *Scutellospora heterogama* เมื่อทำปฏิกิริยากับสารละลาย Melzer's

1.3 การคัดเลือกเชื้อ AMF ที่เหมาะสมต่อสบู่ดำ

จากการทดสอบผลของเชื้อราเอนโดมายคอร์ไรซ่าชนิดต่าง ๆ กับการเจริญเติบโตของต้นกล้าสบู่ดำ พบว่าการใส่เชื้อราเอนโดมายคอร์ไรซ่าทุกกรรมวิธีโดยเฉพาะหลังการปลูกเชื้อ 15, 30 และ 45 วัน ทำให้ลำต้นสบู่ดำสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ โดยตลอดการทดลอง *Scutellospora* sp. AMF33 มีผลต่อการเพิ่มความสูงของต้นกล้ามากที่สุด มีความสูงของลำต้นหลังจากปลูกเชื้อ 15–90 วัน เท่ากับ 11.83–15.93 cm และสูงกว่าชุดควบคุมถึง 4.7 cm ส่วนการใช้ *Glomus etunicatum*, สปอร์ผสมของเชื้อราเอนโดมายคอร์ไรซ่าทั้ง 5 ชนิด และราเอนโดมายคอร์ไรซ่าที่ขายเป็นการค้า มีผลต่อการเพิ่มความสูงของต้นกล้ารองลงมา (ตารางที่ 5, ภาพที่ 8) หลังจากปลูกเชื้อ 30 วัน เป็นต้นไป พบว่าการใส่เชื้อราเอนโดมายคอร์ไรซ่าทุกกรรมวิธีเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมช่วยเพิ่มขนาดเส้นรอบวงลำต้นสบู่ดำอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งการปลูกเชื้อแต่ละชนิดให้ผลไม่แตกต่างกันมากนัก อย่างไรก็ตาม การใช้ *Scutellospora* sp. AMF33 ทำให้ขนาดเส้นรอบวงลำต้นใหญ่มากที่สุดโดยมีขนาดเพิ่มขึ้นถึง 2.4 cm ภายใน 90 วัน (ตารางที่ 6) และเชื้อชนิดนี้ยังมีผลต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นและราก ของสบู่ดำในทำนองเดียวกัน (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 5 ผลของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์มายคอร์ไรซ่า 5 ชนิด ต่อความสูงของต้นสบู่ดำ เปรียบเทียบกับ ชุดควบคุม

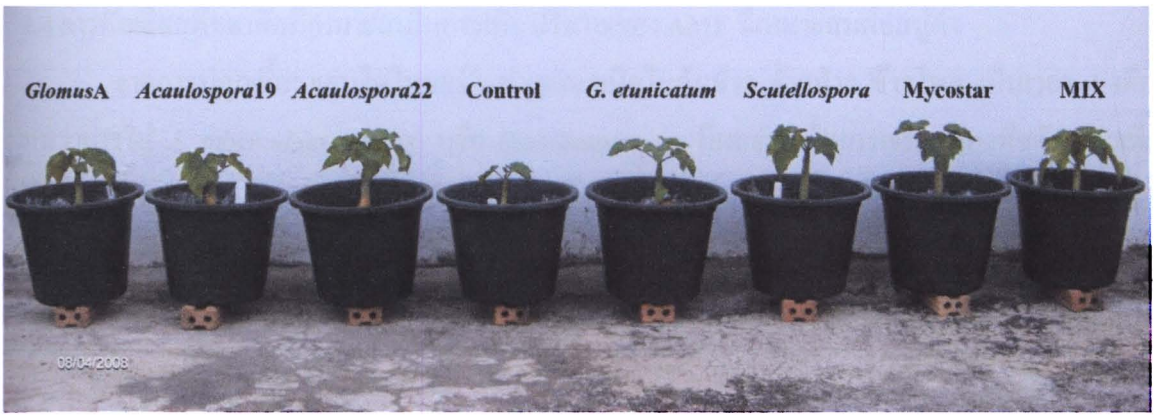
Treatment	Plant height after inoculation date (cm, mean±SD)					
	15 days	30 days	45 days	60 days	75 days	90 days
• Control	7.13±0.48a	9.58±1.73a	9.68±1.64a	9.83±1.51a	9.88±1.49a	11.60±2.29a
• *Acaulospora* sp. No.19	8.50±1.47ab	10.33±1.56ab	10.63±1.75ab	11.18±1.79a	11.25±1.85a	13.10±1.61a
• *Acaulospora* sp. No.22	9.63±3.01ab	10.95±2.87ab	11.05±2.86ab	11.30±2.97a	11.43±3.10a	13.35±3.28a
• *Glomus* sp.	8.75±1.32ab	10.75±1.19ab	11.15±1.25ab	11.50±1.16a	11.88±1.01a	13.58±1.31a
• *Glomus etunicatum*	10.33±3.19ab	11.83±2.55ab	12.23±2.53ab	12.68±2.49a	13.05±2.58a	13.43±3.33a
• *Scutellospora* sp. AMF33	11.83±3.03b	13.63±2.93b	13.88±2.66b	14.13±2.39a	14.13±2.39a	15.93±1.51a
• Mycostar	10.38±3.12b	11.63±2.61ab	11.80±2.39b	11.93±2.25a	12.05±2.11a	13.83±2.29a
• Mix 5 species	10.25±3.52b	12.00±2.89ab	12.25±2.63b	12.60±2.36a	12.88±2.21a	14.38±2.22a

*The same letters in each column mean that there were no significant differences at $\alpha \leq 0.05$

ตารางที่ 6 ผลของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์มายคอร์ไรซ่า 5 ชนิด ต่อเส้นรอบวงลำต้นของต้นสบู่ดำ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

Treatment	Stem diameter after inoculation date (cm, mean±SD)					
	15 days	30 days	45 days	60 days	75 days	90 days
• Control	2.38±1.80a	2.58±0.65a	2.70±0.57a	3.00±0.77a	3.18±0.83a	3.68±0.56a
• *Acaulospora* sp. No.19	1.93±0.43a	3.25±0.29abc	3.50±0.24b	3.83±0.32ab	4.13±0.25ab	4.30±0.24ab
• *Acaulospora* sp. No.22	2.13±0.48a	3.13±0.75abc	3.53±0.90b	3.85±0.97ab	4.05±1.04ab	4.45±0.91ab
• *Glomus* sp.	2.28±0.52a	2.95±0.67ab	3.53±0.52b	4.00±0.47bc	4.63±0.75b	4.63±0.75b
• *Glomus etunicatum*	2.63±0.25a	3.58±0.15bc	3.85±0.29b	4.13±0.46bc	4.38±0.63b	4.75±0.33b
• *Scutellospora* sp. AMF33	2.60±0.49a	3.90±0.12c	4.23±0.17b	4.65±0.24bc	5.00±0.00b	5.00±0.00b
• Mycostar	2.68±0.24a	3.80±0.34c	4.13±0.45b	4.40±0.68bc	4.68±0.83b	4.55±0.64b
• Mix 5 species	2.63±0.48a	3.70±0.60bc	4.13±0.25b	4.80±0.24c	4.88±0.25b	4.93±0.30b

*The same letters in each column mean that there were no significant differences at $\alpha \leq 0.05$



ภาพที่ 8 ต้นสบู่ดำหลังจากการปลูกเชื้อราอาร์บัสคูลาร์มายคอร์ไรซ่าชนิดต่างๆ 90 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

ตารางที่ 7 ผลของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์มายคอร์ไรซ่า 5 ชนิด ต่อน้ำหนักสดและแห้งของลำต้นและราก ของสบู่ดำเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

Treatment	Shoot fresh weight (g, mean±SD)	Shoot dry weight (g, mean±SD)	Root fresh weight (g, mean±SD)	Root dry weight (g,mean±SD)	Root colonization (%)
• Control	13.59±8.72a	4.86±4.62a	2.91±2.44a	0.96±0.82a	0
• *Acaulospora* sp. No.19	20.12±5.33ab	7.16±2.22ab	3.68±1.29a	1.22±0.44a	75
• *Acaulospora* sp. No.22	24.31±4.99b	9.28±3.72ab	3.83±1.85a	1.21±0.63a	73
• *Glomus* sp.	21.60±4.45ab	8.15±1.95ab	3.59±0.60a	1.07±0.21a	85
• *Glomus etunicatum*	25.24±6.28b	8.20±4.53ab	3.44±1.36a	0.93±0.49a	55
• *Scutellospora* sp. AMF33	28.52±3.54b	11.70±2.54b	4.91±1.01a	1.66±0.46a	80
• Mycostar	26.21±5.12b	10.20±2.60ab	4.31±0.60a	1.24±0.18a	77
• Mix 5 species	27.70±4.65b	11.53±4.22b	4.15±0.23a	1.22±0.19a	87

*The same letters in each column mean that there were no significant differences at $\alpha \leq 0.05$

1.4 การคัดเลือกพืชอาศัยที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณของ AMF ที่เหมาะสมต่อสบู่ดำ

จากการปลูกเชื้อราเอนโดไมคอร์ไรซ่าแต่ละชนิดในต้นข้าว ข้าวฟ่าง ข้าวโพด เป็นเวลา 4 เดือน พบว่าการใส่ *A. tuberculata* AMF05 หรือ *Scutellospora* sp. มีผลช่วยเพิ่มการเจริญ ของพืชดังกล่าวเพียงเล็กน้อย โดยความสูงของลำต้น น้ำหนักแห้งของลำต้นและรากใกล้เคียงกับ พืชในชุดควบคุม (ตารางที่ 8) ทั้งนี้อาจมีสาเหตุมาจากความสามารถในการผลิตสปอร์ที่แตกต่างกันเมื่อ AMF อยู่อาศัยกับพืชอาศัยที่แตกต่างกันออกไป (Mukerji *et al.*, 2002) หรือแม้แต่สภาวะแวดล้อมก็มีผลต่อการเพิ่มจำนวนของ AMF เช่นเดียวกัน (Ryan and Graham, 2002) ในขณะที่การปลูกเชื้อแต่ละชนิดในต้นลูกเดือยเป็นเวลา 4 เดือน พบว่าการใส่เชื้อรา AMF ทุกชนิดมีผลต่อการเจริญของต้นลูกเดือย โดยเฉพาะ *Piriformospora indica* ทำให้น้ำหนักแห้งของลำต้นลูกเดือยมากกว่าในชุดควบคุม หรือการปลูกเชื้อรา AMF ชนิดอื่น อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 9) สำหรับต้นดาวเรืองหลังจากการปลูกเชื้อแต่ละชนิดเป็นเวลา 2 เดือน พบว่าการใส่เชื้อมีผลต่อการเจริญของต้นดาวเรืองฝรั่งเศสอย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะ *G. etunicatum* ทำให้ความสูงของลำต้น น้ำหนักแห้งของลำต้น ความกว้างของทรงพุ่ม และจำนวนดอก ต่อต้นของดาวเรืองฝรั่งเศสมากที่สุด คือ 8.35 cm, 12.25 g/pot, 7.75 cm และประมาณ 8 ดอกต่อต้น ตามลำดับ สำหรับเชื้อที่มีผลต่อลักษณะดังกล่าวของต้นดาวเรืองฝรั่งเศสรองลงมาคือ *P. indica* อย่างไรก็ตามการปลูกเชื้อด้วย *P. indica* มีผลต่อความสูงของลำต้นมากที่สุด (ตารางที่ 10) นอกจากนี้ พบว่าการปลูกเชื้อ *G. etunicatum* กับต้นลูกเดือยและดาวเรืองฝรั่งเศสสามารถเพิ่มจำนวนสปอร์ได้มาก ถึง 2739 และ 1493 สปอร์ต่อดิน 100 g ตามลำดับ การ

ปลูกเชื้อ *Scutellospora* sp. กับต้นข้าวฟ่าง และลูกเดือย สามารถเพิ่มจำนวนสปอร์ได้มากถึง 2633 และ 1460 สปอร์ต่อดิน 100 g ตามลำดับ ส่วนการปลูกเชื้อ *A. tuberculata* AMF05 กับต้นข้าวฟ่างและข้าวโพด สามารถเพิ่มจำนวนสปอร์ได้ มากที่สุด คือ 19835 และ 5166 สปอร์ต่อดิน 100 g ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยจำนวนมากที่พบว่า สามารถใช้ข้าวฟ่างเป็นพืชอาศัยสำหรับเพิ่มปริมาณสปอร์ของ AMF ได้เป็นอย่างดี (Brundrett *et al.*, 1996; Dabire *et al.*, 2007; Habte และ Osorio, 2001) สำหรับการปลูกเชื้อกับต้นข้าว ยังไม่สามารถเพิ่มจำนวนสปอร์ได้แม้ว่าจะพบการเจริญของเชื้อราในรากก็ตาม (ตารางที่ 8-10)

ตารางที่ 8 ผลของการใส่ราเอนโดมายคอร์ไรซาต่อการตอบสนองของต้นข้าว ข้าวฟ่าง และ ข้าวโพด

AMF species	Height (cm)	Shoot fresh weight (g)	Shoot dry weight (g)	Root fresh weight (g)	Root dry weight (g)	Colonization (%)	Spore density (/100 g soil)
Rice							
• *Acaulospora tuberculata* AMF05	62.33	70.62	51.54	54.29	44.07	24.00	0
• *Scutellospora* sp.	62.67	71.41	52.33	57.18	45.31	48.67	0
• Control	62.50	69.47	51.24	53.24	43.70	0.00	0
Sorghum							
• *Acaulospora tuberculata* AMF05	67.33	77.00	63.36	71.66	66.40	68.00	19835
• *Scutellospora* sp.	63.92	74.63	55.36	69.05	63.39	64.00	2633
• Control	64.30	73.21	56.49	67.40	59.87	0.00	0
Corn							
• *Acaulospora tuberculata* AMF05	67.50	53.67	48.24	45.93	41.97	54.00	5166
• *Scutellospora* sp.	66.33	53.50	48.91	45.77	40.91	32.00	0.00
• Control	67.00	52.50	47.19	43.27	38.49	0.00	0.00

ตารางที่ 9 ผลของการใส่เชื้อทดสอบต่อการตอบสนองของต้นลูกเดือย

Fungal species	Height (cm)	Shoot dry weight (g/pot)	Root dry weight (g/pot)	Colonization (%)	Spore density (/100 g soil)
• *Glomus etunicatum*	70.52a	57.37a	55.22a	31.50	2738.75
• *Acaulospora* sp.	70.60a	54.17a	59.67a	46.00	8.25
• *Acaulospora tuberculata* AMF005	66.50a	56.45a	52.78a	49.33	300.33
• *Scutellospora* sp.	68.21a	55.96a	56.02a	64.29	1459.96
• *Piriformospora indica*	72.72a	71.39b	44.81a	74.50	-
• Control	68.47a	57.09a	49.28a	0	0

ตารางที่ 10 ผลของการใส่เชื้อทดสอบต่อการตอบสนองของต้นดาวเรือง

Fungal species	Height (cm)	Shoot dry weight (g/pot)	Shuerb diameter (cm)	No. flower/ plant	Colonization (%)	Spore density (/100 g soil)
1.*Glomus etunicatum*	11.12b	8.35c	12.25c	7.75b	92.75	1493
2.*Scutellospora* sp.	7.22a	5.29ab	4.83a	1.75a	67.75	20
3.*Piriformospora indica*	11.76b	6.07b	8.74b	2.75a	78.25	-
4.Control	6.81a	5.22a	4.31a	1.00a	0	0

2. พืชเครื่องดื่ม – กาแฟ

2.1 ศึกษาความหลากหลายของเชื้อรา อาร์บัสคูล่ามายคอร์ไรซา (AMF) ในต้นกาแฟ และการบ่งบอกชนิดของ AMF ที่พบโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

จากการเก็บตัวอย่างดินบริเวณรากกาแฟจาก 9 แหล่งในจังหวัดเชียงใหม่และเชียงราย ซึ่งแต่ละพื้นที่มีความแตกต่างกันทางสภาพแวดล้อมคือ มีทั้งไร่กาแฟที่เป็นระบบวนเกษตรและบางแหล่งเป็นระบบปลูกร่วมกับไม้ผล จึงมีชนิดของพืชให้ร่มเงาแตกต่างกัน และลักษณะของสี รวมทั้งเนื้อดินก็มีลักษณะที่แตกต่างกันด้วย (ภาคผนวก ก) หลังจากนำสปอร์ของเชื้อรา AMF ที่ได้จากขั้นตอน wet sieving และ 50% sucrose centrifugation method มาจำแนกชนิดโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphological identification) ที่สามารถตรวจสอบได้โดยกล้องกล้องจุลทรรศน์ พบว่า ดินจากแต่ละแหล่งตัวอย่างมีสปอร์ของ เชื้อรา AMF แตกต่างกันทั้งชนิดและจำนวน สามารถจำแนกเชื้อราอาร์บัสคูลาร์มายคอร์ไรซาที่พบเป็น 3 สกุล รวมทั้งหมด 29 ชนิดได้แก่ *Acaulospora* 11 ชนิด, *Ambispora* 2 ชนิด และ *Glomus* 16 ชนิด ซึ่งมีรายงานว่าพบเชื้อราทั้ง 3 สกุล ในดินรอบรากของพืชหลายชนิด เช่น ดาวเรือง (Linderman and Davis, 2004) มะเขือเทศ (Scervino *et al.*, 2005) หญ้า (Renker *et al.*, 2005) มะกอก (Calvente *et al.*, 2004) รวมถึงพืชที่เจริญในดินเค็ม เช่น *Aster tripolium* และ *Inula crithmoides* (Carvalho *et al.*, 2001) หรือแม้กระทั่งพืชทะเลทรายที่เจริญในที่ขาดความอุดมสมบูรณ์ (Shi *et al.*, 2007) อย่างไรก็ตามเชื้อราชนิดเด่นที่พบในพืชดังกล่าว มักจะเป็นเชื้อราในสกุล *Glomus* แต่ดินรอบรากกาแฟในการศึกษาครั้งนี้พบเชื้อราสกุล *Acaulospora* เป็นชนิดเด่น โดยเฉพาะ *Acaulospora koskei*, *Ac.laevis*, *Ac. morrowiae* และ *Ac. scrobiculata* ซึ่งมีความถี่ในการพบได้มากทั้งในดินจากต้นกาแฟจากเชียงใหม่และเชียงราย ส่วนเชื้อ *Gl. aggregatum* แม้ว่าจะพบจำนวนสปอร์มากที่สุดแต่พบเฉพาะในดินจากต้นกาแฟเพียงแหล่งเดียวจากหมู่บ้านดอยช้าง จังหวัดเชียงรายเท่านั้น

ดินตัวอย่าง บริเวณหมู่บ้าน ดอยช้าง ตำบลวาวี อำเภอแม่สรวย จังหวัดเชียงราย (CR4) มีความหนาแน่นของสปอร์ เชื้อราอาร์บัสคูลาร์มายคอร์ไรซา มากที่สุดจำนวน 63.66 สปอร์ ต่อดิน 100 กรัม รองลงมาเป็นดินตัวอย่างจากจังหวัดเชียงรายเช่นเดียวกัน (CR3 และ CR2) ซึ่งมีจำนวน 41.00 และ 40.33 สปอร์ ต่อดิน 100 กรัม ตามลำดับ (ภาพที่ 5) ในแปลงปลูกกาแฟอราบิก้ากลางแจ้งนั้นมี เชื้อราอาร์บัสคูลาร์มายคอร์ไรซาอาศัยอยู่ร่วมกับพืช ทั้งที่เป็นระบบวนเกษตร (ปลูกพืชหลายชนิดร่วมกัน) และแปลงที่ปลูกเฉพาะต้นกาแฟ แต่จะพบในระบบวนเกษตรมากกว่า (Cardoso *et al.*, 2003) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่พบว่าในระบบการปลูกกาแฟปะปนไปกับพืชป่าตามธรรมชาติ มีทั้งความหนาแน่น และความหลากหลายของสปอร์มากที่สุดในกลุ่มตัวอย่างทั้ง 9 แหล่ง

ดินตัวอย่างจากบ้านป่าแป๋ อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ (CM3) พบชนิดของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์มายคอร์ไรซามากที่สุดคือ 15 ชนิด แม้ว่าจะมีความหนาแน่นของสปอร์เพียง 29.66 สปอร์ในดิน 100 กรัม รองลงมาเป็นดินตัวอย่างจาก จังหวัดเชียงใหม่ (CM4) และเชียงราย (CR3 และ CR4) จำนวน 12 และ

11 ชนิด ตามลำดับ (ภาพที่ 6) เชื้อที่พบจำนวนสปอร์มากที่สุด คือ *Gl. aggregatum* แต่พบเฉพาะในจังหวัดเชียงรายเท่านั้น และเชื้อที่พบบ่อยในแหล่งที่เก็บตัวอย่าง โดยพบในดินตัวอย่างจาก 5 แหล่งขึ้นไป คือ *Acaulospora koskei*, *Ac. laevis*, *Ac. morrowiae* และ *Ac. scrobiculata* (ตารางที่ 11) องค์ประกอบของเนื้อดินมีผลต่อปริมาณของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์มายคอร์ไรซา (Muchvej, 2009) ในการศึกษานี้พบว่า ดินตัวอย่างที่มีเนื้อเหนียวเป็นดินที่พบจำนวนชนิดของ เชื้อราอาร์บัสคูลาร์มายคอร์ไรซา มากที่สุด ซึ่งขัดแย้งกับผลการศึกษาก่อนหน้าที่รายงานว่าดินที่มีส่วนประกอบของโคลนปริมาณมาก จะพบความหลากหลายของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์มายคอร์ไรซาน้อยกว่า (Mathimaran *et al.*, 2005) และดินจากแหล่งเดียวกันนี้เองก็พบว่ามีความหนาแน่นของสปอร์มากเป็นอันดับ 4 คือ 29.66 สปอร์ในดิน 100 g. ซึ่งสาเหตุที่พบจำนวนชนิด และความหนาแน่นของเชื้อเช่นนี้ น่าจะมีสาเหตุมาจากดินที่มีลักษณะเหนียวและสีส้มแดงนี้ เป็นดินที่ขาดความอุดมสมบูรณ์ จึงมี เชื้อราอาร์บัสคูลาร์มายคอร์ไรซา อาศัยอยู่เป็นจำนวนมาก

ตารางที่ 11 ชนิดและจำนวน ของ เชื้อราอาร์บัสคูลาร์มายคอร์ไรซา ที่พบในดินรอบรากต้นกาแฟอราบิก้า (CM=Chiang Mai, CR= Chiang Rai)

AMF Species	% Relative Abundance									%
	CM1	CM2	CM3	CM4	CM5	CR1	CR2	CR3	CR4	ORA*
Acaulospora koskei	29.4	33.33	11.2	4.25		7.69	4.13	18.70	6.28	**9.62**
Acaulospora laevis			4.49		33.33	61.54		17.89	4.19	**8.33**
Acaulospora mellea				2.13	16.67		12.40			**3.05**
Acaulospora morrowiae			2.25	6.38	50.00	3.85	34.71		5.24	**9.29**
Acaulospora scrobiculata	11.76		4.49	10.64		3.85	42.15	4.07		**10.91**
Acaulospora sp. 1								0.81	7.85	**2.73**
Acaulospora sp. 3								13.82	1.05	**3.05**
Glomus aggregatum								6.50	56.02	**18.46**
Glomus etunicatum			31.46	12.77					3.66	**6.58**
Glomus fasciculatum	5.88			2.13				8.13	0.52	**2.09**
Glomus glomerulatum			19.10							**2.73**
Glomus sp.1									11.52	**3.53**
Glomus sp.2				44.68						**3.37**
Glomus sp.4								25.20	3.14	**5.94**
Rare AMF ***	52.92	66.67	27.01	17.02	0.00	23.07	6.61	4.88	0.53	**10.32**
Total spore number	**17**	**3**	**89**	**47**	**6**	**26**	**121**	**123**	**191**	
Spore density **	**5.66**	**1.00**	**29.66**	**15.66**	**2.00**	**8.66**	**40.33**	**41.00**	**63.66**	
AMF species richness	**5**	**2**	**14**	**12**	**3**	**6**	**7**	**11**	**11**	

* % ORA = % Overall Relative Abundance, ** Spore Density (per 100 g. soil)

*** AMF Species have % Overall Relative Abundance less than 2 % consist in

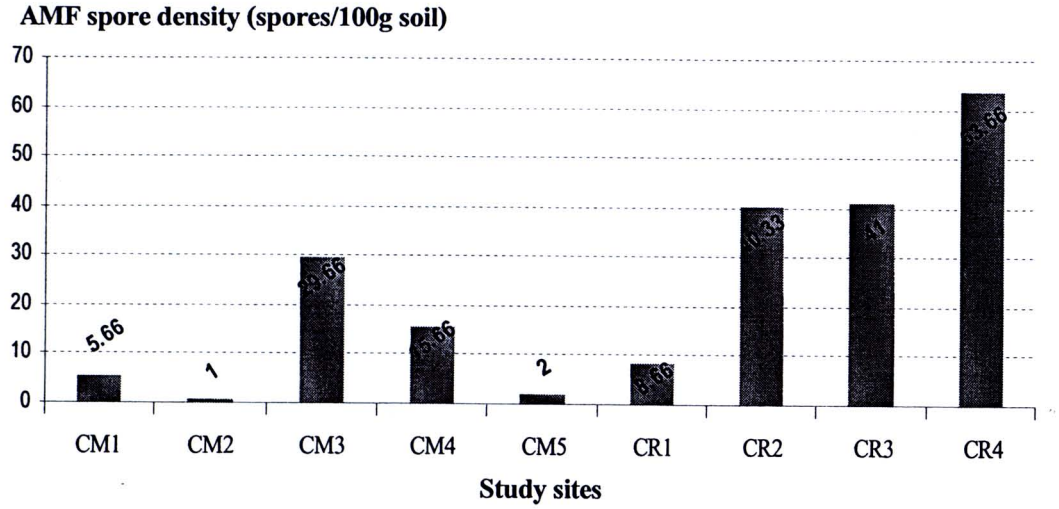
Acaulospora elegans [1.12%] *Acaulospora longula* [0.32%] *Acaulospora spinosa* [0.32%]

Acaulospora sp. 2 [1.12%] *Ambispora appendicula* [0.32%] *Ambispora leptoticha* [0.16%]

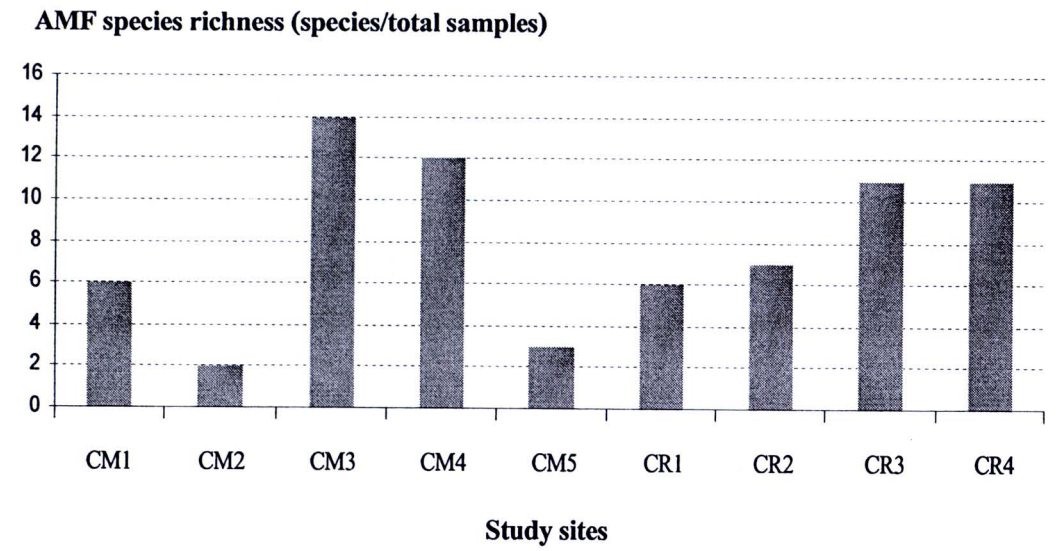
Glomus ambisporum [1.77%] *Glomus constrictum* [0.16%] *Glomus delhiense* [0.64%]

Glomus geosporum [1.77%] *Glomus magnicaule* [0.16%] *Glomus microaggregatum* [0.32%]

Glomus tortuosum [0.48%] *Glomus rubiforme* [1.44%] *Glomus* sp. 3 [0.16%]



ภาพที่ 5 แผนภูมิเปรียบเทียบความหนาแน่นของสปอร์ AMF ที่พบในดินจาก 9 แหล่งตัวอย่าง



ภาพที่ 6 แผนภูมิเปรียบเทียบจำนวนชนิดของสปอร์ AMF ที่พบในดินจาก 9 แหล่งตัวอย่าง

2.2 การคัดเลือกเชื้อ AMF ที่เหมาะสมต่อกาแฟ

ตรวจสอบผลการทดลองโดยวัดความสูงของต้น ความยาว และการแผ่ขยายของราก น้ำหนักสด และ น้ำหนักแห้งของต้นและราก ค่าที่นำมาใช้เพื่อดูการเจริญของรากคือค่าการแผ่ขยายของราก/ความยาวราก โดยความยาวและการแผ่ขยายของรากนี้ เป็นค่าที่แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการใช้ฟอสฟอรัสในดินของกล้าพืช (Green *et al.*, 2005) ซึ่งเป็นจุดมุ่งหมายโดยตรงที่จะพัฒนาความสามารถของกล้า และระบบรากสำหรับนำออกปลูกในแปลง ส่วนค่าอื่นๆแสดงการเพิ่มการเจริญเติบโตของกล้า

เมื่อนำค่าทั้งหมดที่วัดได้ไปคำนวณโดยวิธีการทางสถิติแล้ว พบว่าปริมาณสปอร์ที่ให้ในแต่ละกลุ่มคือ 50 และ 200 สปอร์นั้น ไม่มีผลต่อการตอบสนองของกล้ากาแฟ ในทุกๆกลุ่มการทดลองที่ได้รับสปอร์ ทั้งได้รับ 50 และ 200 สปอร์ ตอบสนองไม่ต่างกัน การเจริญของโครงสร้างพืชที่มีความแตกต่างนั้นเป็นผลมาจากชนิดของเชื้อที่ได้รับเท่านั้น โดยการประมวลผลจะแยกเป็นการตอบสนองด้านต่างๆ คือ ความสูงของต้น, อัตราส่วนการแผ่ขยายของราก: ความยาวราก (ตารางที่ 12) น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นและของราก (ตารางที่ 13) ซึ่งจากผลการทดลอง *A. morrowae* ให้ผลการเจริญของทั้งต้น และรากดีที่สุด *A. scrobiculata*, *A. mellea* และ *G. etunicatum* สามารถสนับสนุนการเจริญของกล้าได้ไม่แตกต่างกัน ในขณะที่เชื้อทั้ง 4 ชนิดผสมกัน เพิ่มการเจริญได้น้อยกว่าการใช้เชื้อชนิดเดียว ส่วนต้นที่ไม่ได้รับเชื้อมีการเจริญมากกว่า ต้นที่ได้รับ Myco star ® ส่วนการเจริญของรากนั้น *A. morrowae* และ *G. etunicatum* มีการแผ่ของระบบรากมากกว่าการให้ *A. scrobiculata* และ *A. mellea* อยู่เล็กน้อย ในขณะที่ กล้าที่ไม่ได้รับเชื้อมีการขยายระบบรากมากกว่าต้นที่ได้รับเชื้อผสมและ Myco star ® ซึ่งผลเหล่านี้แสดงให้เห็นว่า การที่มีความหลากหลายของเชื้อรามากนั้น ไม่ได้หมายความว่าการเจริญในระยะกล้าของพืชจะดีกว่าเสมอไป เนื่องจากอาจเกิดการแข่งขันหรือยับยั้งกันเองได้ อีกกรณีหนึ่งในระยะกล้าอาจไม่จำเป็นต้องมีเชื้อราหลายชนิด แต่เมื่อต้นเจริญมากขึ้นเข้าระยะที่ติดดอกออกผล ความหลากหลายของชนิดเชื้ออาจจะสำคัญกว่า โดยเฉพาะในสภาพธรรมชาติ ซึ่งต้องอาศัยการลำเลียงน้ำและธาตุมากขึ้น เพราะในแปลงปลูกกาแฟอราบิก้ากลางแจ้งจะมีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์มายคอร์ไรซาท้องถิ่นในระบบวนเกษตรมากกว่าแปลงที่ปลูกเฉพาะต้นกาแฟ (Cardoso *et al.*, 2003)

ตารางที่ 12 ความสูงของต้นและอัตราส่วนการแผ่ขยาย: ความยาวของรากกาแฟ

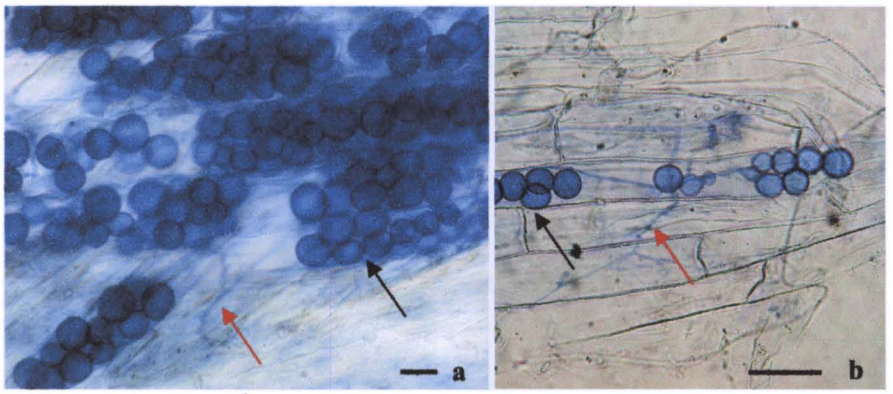
Treatment	ความสูงของต้น (cm.)	การแผ่ขยายราก:ความยาวราก
Glomus etunicatum	13.79 ^{abc}	1.53 ^{a}
Acaulospora scrobiculata	14.54 ^{ab}	1.40 ^{ab}
Acaulospora morrowae	17.17 ^{a}	1.54 ^{a}
Acaulospora mellea	14.62 ^{ab}	1.40 ^{ab}
G. Etunicatum+A. scrobiculata+ A. *morrowae+A. mellea*	14.24 ^{abc}	1.04 ^{c}
Myco star ®	10.64 ^{c}	0.92 ^{c}
ไม่ได้รับเชื้อ	11.21 ^{bc}	1.10 ^{b}

ตารางที่ 13 น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นและรากกาแฟ

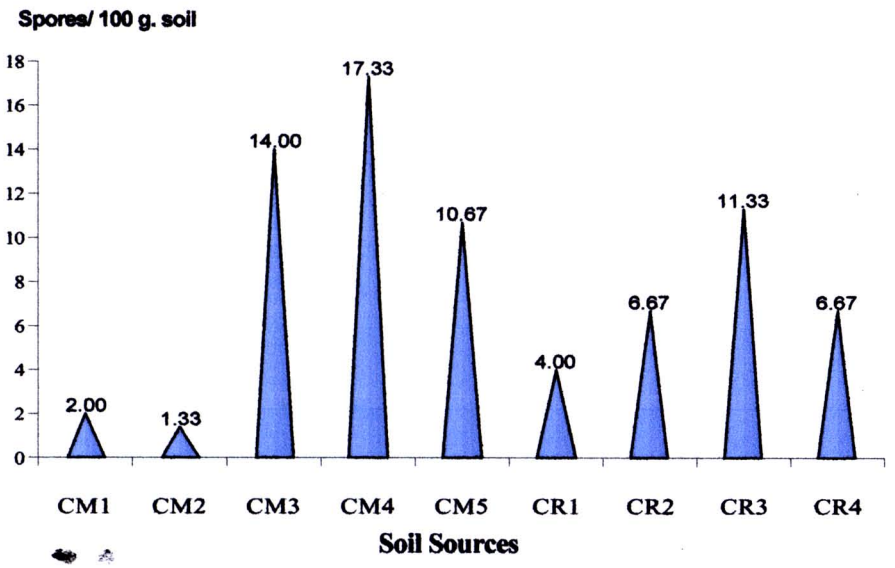
Treatment	น้ำหนักสด (g.)		น้ำหนักแห้ง (g.)	
	ต้น	ราก	ต้น	ราก
Glomus etunicatum	5.28 ^{ab}	1.68 ^{ab}	1.45 ^{abc}	0.43 ^{abc}
Acaulospora scrobiculata	5.58 ^{ab}	1.73 ^{a}	1.64 ^{ab}	0.50 ^{ab}
Acaulospora morrowae	7.20 ^{a}	1.49 ^{abc}	2.09 ^{a}	0.54 ^{a}
Acaulospora mellea	6.19 ^{ab}	1.42 ^{abc}	1.69 ^{a}	0.42 ^{abc}
G. Etunicatum+A. scrobiculata+ A. *morrowae+A. mellea*	5.53 ^{ab}	1.49 ^{abc}	1.51 ^{ab}	0.42 ^{abc}
Myco star ®	2.93 ^{c}	0.76 ^{bc}	0.79 ^{c}	0.25 ^{bc}
ไม่ได้รับเชื้อ	3.92 ^{bc}	0.69 ^{c}	0.99 ^{bc}	0.21 ^{c}

2.3 การคัดเลือกพืชอาศัยที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณของ AMF ที่เหมาะสมต่อพืชเป้าหมาย

หลังจากเก็บชุดการทดลองมาตรวจสอบ พบโครงสร้างภายในรากทั้งข้าวโพดและข้าวฟ่าง (ภาพที่ 7) และสปอร์จากหัวเชื้อดินทุกตัวอย่าง แต่มีความหนาแน่นเฉลี่ยเพียง 8.44 สปอร์ในดิน 100 กรัม พบปริมาณสปอร์มากที่สุดจากตัวอย่างที่ใช้ดินจากแหล่งตัวอย่างในจังหวัดเชียงใหม่เป็นหัวเชื้อ (ภาพที่ 8)



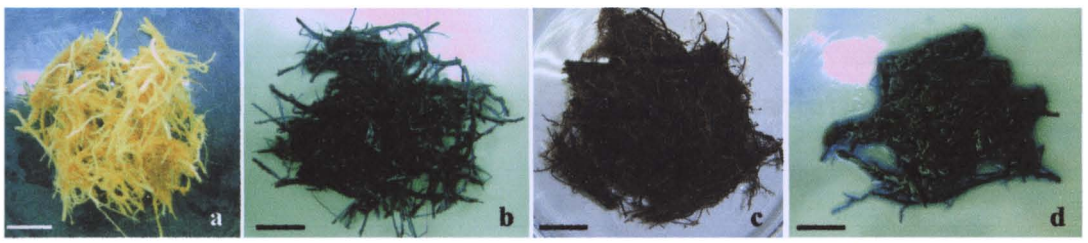
ภาพที่ 7 โครงสร้างของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์มาคอร์ไรซาภายในรากข้าว (a) และข้าวฟ่าง (b) แสดง vesicles (⟶) และ hyphae (⟶), bar=100 µm.



ภาพที่ 8 ความหนาแน่นของสปอร์ในดิน 100 กรัม แยกตามแหล่งดินหัวเชื้อ

หลังจากเก็บชุดการทดลองมาตรวจสอบแล้ว พบว่า สามารถเพิ่มปริมาณสปอร์ของเชื้อราได้จำนวนมาก (ตารางที่ 14) โดยเฉพาะในดินจากแหล่งตัวอย่าง CM1 ซึ่งพบปริมาณสปอร์ในทั้งข้าวโพดและข้าวฟ่างมากกว่า 4,000 สปอร์ในดิน 100 กรัม และเมื่อตรวจสอบการติดเชื้อในราก (ภาพที่ 9) ก็พบว่ามีสูงเช่นกัน

โครงสร้างของเชื้อที่พบในรากนั้น พบทั้งเส้นใย, เวสสิเคิล และ อาร์บัสคูล จำนวนมากทั้งในข้าวโพดและข้าวฟ่าง (ภาพที่ 10-12) เมื่อนำค่าความหนาแน่นของสปอร์ที่พบไปคำนวณตามหลักสถิติพบว่า พืชอาศัยที่ใช้คือ ต้นกล้าข้าวโพดและข้าวฟ่าง ให้ปริมาณสปอร์ที่ได้ไม่แตกต่างกัน แต่ดินหัวเชื้อแต่ละแหล่ง เป็นปัจจัยที่ทำให้จำนวนที่ได้แตกต่างกัน

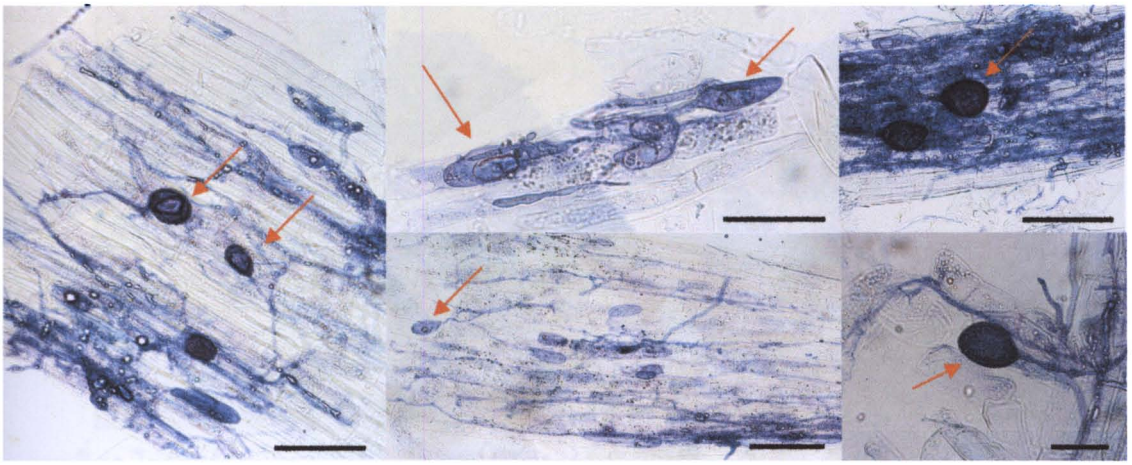


ภาพที่ 9 รากข้าวโพด (a) และรากข้าวฟ่าง (c) เมื่อตรวจสอบโครงสร้างของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์มายคอร์ไรซา ก่อน (a, b) และหลังการย้อมสีด้วย 0.05% trypan blue (b, d), bar=1 cm.

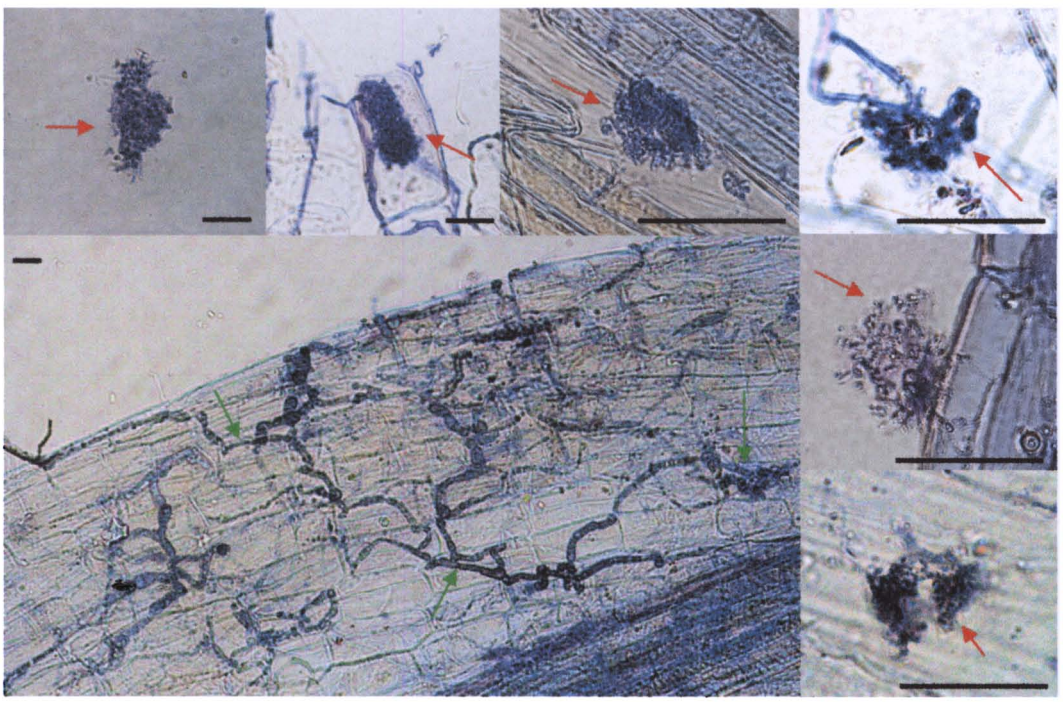
ตารางที่ 14 Spore Density ในดิน 100 g. และ % Root colonization ของดินตัวอย่างทั้ง 9 แหล่งแยกตามชนิดพืชอาศัยคือข้าวโพดและข้าวฟ่าง

	Study Sources								
	CM1	CM2	CM3	CM4	CM5	CR1	CR2	CR3	CR4
ข้าวโพด									
Spore Density	4190	553	3581	2040	1230	1274	2758	670	3435
%Root colonization	100	90	67	73	65	79	76	61	95
ข้าวฟ่าง									
Spore Density	4295	650	4520	505	1345	1200	520	1010	3493
%Root colonization	94	96.11	96.68	88.61	86.58	90	81.69	97.29	99.2

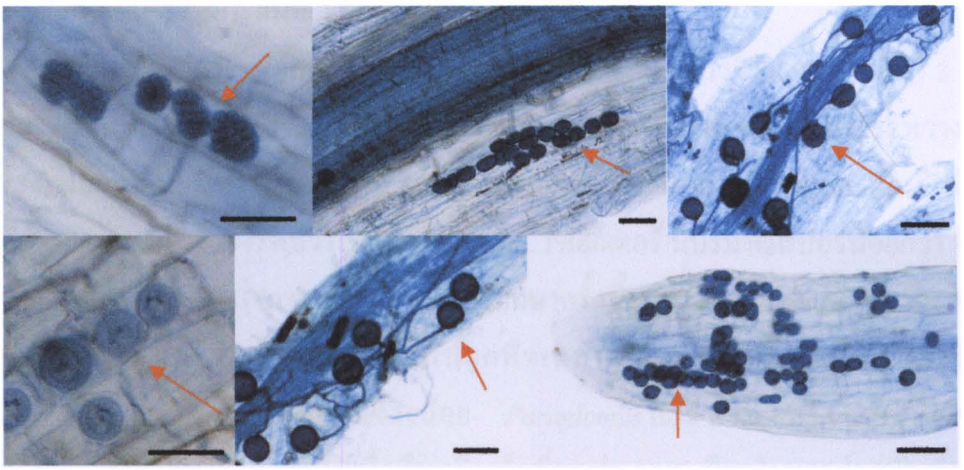
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย



ภาพที่ 10 โครงสร้าง vesicles ของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์มายคอร์ไรซาในรากข้าวโพด (⟶), bar = 50 μ m.



ภาพที่ 11 โครงสร้าง arbuscules (⟶) และ เส้นใย (hyphae) (⟶) ที่กำลังพัฒนาไปเป็น vesicles หรือ arbuscules ของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์มายคอร์ไรซาในรากข้าวโพด,bar=50 μm.



ภาพที่ 12 โครงสร้าง vesicles ของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์มายคอร์ไรซาในรากข้าวฟ่าง (⟶), bar=50 µm.

3. พืชอาหาร ธัญพืช และถั่วกินเมล็ด

การคัดเลือกเชื้อ AMF ที่เหมาะสมต่อธัญพืช และถั่วกินเมล็ด

จากการตรวจเปอร์เซ็นต์การเข้ารากพบว่าพืชทุกชนิดยกเว้นข้าวไร่ (39% กรณีใส่ 3 กก. P/เฮกเตอร์ และ 27% กรณีใส่ 30 กก. P/เฮกเตอร์) มี AMF เจริญในรากพืชแต่ละชนิดสูงมากระหว่าง 60-100% (ภาพที่ 13a) นอกจากนี้ยังพบว่าในดินที่ใส่ 30 กก. P/เฮกเตอร์ มีปริมาณสปอร์น้อยกว่าในดินที่ใส่ 3 กก. P/เฮกเตอร์ โดยเฉพาะในข้าวไร่พบว่าในดินที่ใส่ 30 กก. P/เฮกเตอร์ มีปริมาณสปอร์น้อยกว่า ในดินที่ใส่ 3 กก. P/เฮกเตอร์อย่างชัดเจน (ภาพที่ 13b) จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า *Acualospora* พบเป็น AMF ชนิดเด่นโดยพบจำนวนสปอร์มากที่สุดในดินที่ปลูกพืชเหล่านี้ และ AMF ชนิดเด่นรองลงมาคือ *Scutellospora* สำหรับ *Glomus* พบค่อนข้างน้อย *Paraglomus* และ *Achaeospora* พบน้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตโดยทั่วไปเมื่อพืชเจริญเต็มที่พบว่า AMF มีผลในการช่วยเพิ่มน้ำหนัก ยอด และรากของพืชทุกชนิด โดยเฉพาะเมื่อปลูกในดินที่มี P ต่ำ (3 กก. P/เฮกเตอร์) (ตารางที่ 15-16) สำหรับผลผลิตของข้าวไร่พบว่า AMF มีผลต่อการเพิ่มปริมาณผลผลิตเป็น 67% เมื่อปลูกในดินที่ใส่ 3 กก. P/เฮกเตอร์ แต่ไม่มีความแตกต่างของผลผลิตเมื่อปลูกในดินที่ใส่ 30 กก. P/เฮกเตอร์ และพบปริมาณผลผลิตเช่นเดียวกันในข้าวฟ่าง สำหรับในลูกเดือยพบว่าการใส่ AMF ช่วยเพิ่มผลผลิตได้ 4 เท่า เมื่อปลูกในดิน ที่ใส่ 3 กก. P/เฮกเตอร์ (ตารางที่ 17) และในข้าวไร่จะเห็นได้ว่าการใส่ AMF ช่วยในการ ดูดใช้ธาตุ P (32%) ได้ดีในดินที่มี P ต่ำ (3 กก. P/เฮกเตอร์) ในขณะที่ลูกเดือยและธัญพืชอื่นๆ ช่วยในการดูดใช้ ธาตุ P ได้น้อยกว่าประมาณครึ่งหนึ่ง (ตารางที่ 18)

ตารางที่ 15 แสดงผลของ AMF และการใช้ธาตุ P ต่อน้ำหนักแห้ง (กรัม/กระถาง) ของยอดพืช 6 ชนิด

P-level	AM	Cowpea	Corn		Job's tears		Upland rice		Sorghum		Pada
(kg/ha)	Inoculation	H1	H1	H2	H1	H2	H1	H2	H1	H2	H2
3	AM0	0.97 C	4.99 C	5.47	1.89	5.33	6.66	10.17	1.07	4.09 C	0.26
3	AM+	9.52 B	9.33 B	10.85	3.89	12.37	5.95	11.65	1.52	13.79 B	10.40
30	AM0	13.04 A	24.10 A	20.72	10.61	24.89	18.32	29.46	11.9	31.04 A	8.48
30	AM+	13.92 A	22.87 A	24.89	13.11	31.29	19.23	25.46	12.96	34.85A	13.30
Analysis of variance											
Effect		F-test									
P		**	**	**	**	**	**	**	**	**	*
AM		**	NS	**	*	*	NS	NS	NS	NS	*
P x AM		**	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	**	NS

Different letters down each column are indicated significant differences (by LSD P < 0.05). * significant at $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *NS* = not significant.

ตารางที่ 16 แสดงผลของ AMF และการใช้ธาตุ P ต่อน้ำหนักแห้ง (ก./กระถาง) ของรากพืช 6 ชนิด

P-level	AM	Cowpea	Corn		Job's tears		Upland rice		Sorghum		Pada
(kg/ha)	Inoculation	H1	H1	H2	H1	H2	H1	H2	H1	H2	H2
3	AM0	0.29 C	0.75 C	1.55	0.44	1.39	4.00	4.12	0.29	0.91 C	0.13 B
3	AM+	1.21 B	1.85 B	2.63	1.07	4.63	5.30	4.35	0.32	2.43 B	6.72 A
30	AM0	1.45 A	3.00 A	3.30	2.10	4.76	10.75	9.236	3.15	5.84 A	6.09 A
30	AM+	1.57 A	3.03 A	3.56	2.56	6.19	12.08	11.13	3.90	5.53 A	6.59 A
Analysis of variance											
Effect		F-test									
P		**	**	**	**	**	**	**	**	**	*
AM		**	NS	**	*	**	NS	NS	NS	NS	**
P x AM		**	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	**	*

Different letters down each column are indicated significant differences (by LSD P < 0.05). * significant at $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *NS* = not significant.

ตารางที่ 17 แสดงผลของ AMF และการใช้ธาตุ P ต่อปริมาณผลผลิต (ก./กระถาง) ของเมล็ดลูกเดือย ข้าวไร่ และข้าวฟ่าง

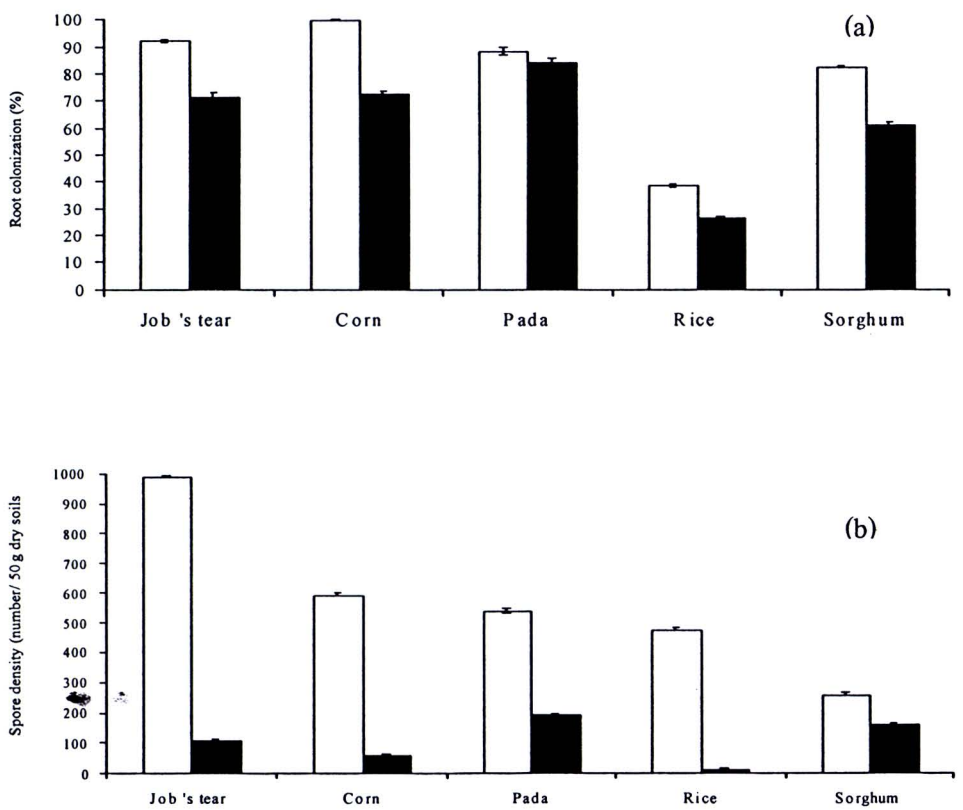
P-level (kg/ha)	AM Inoculation	Job's tears	Upland rice	Sorghum
3	AM0	0.1 c	2.4 c	0.1 c
3	AM+	0.5 c	4.0 b	1.3 b
30	AM0	4.1 b	8.4 a	11.8 a
30	AM+	7.3 a	8.5 a	11.7 a
Analysis of variance				
Effect		F-test		
P		**	**	**
AM		**	*	*
P x AM		*	*	**

For same plant species, different letters are significantly different by LSD ($P < 0.05$). Significant levels: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

ตารางที่ 18 แสดงผลของ AMF และการใช้ธาตุ P ต่อการดูดใช้ธาตุ P น้ำหนักแห้ง (มก./กระถาง) ของพืช 6 ชนิด

P-level	AM	Cowpea	Corn		Job's tears		Upland rice		Sorghum		Pada
(kg/ha)	Inoculation	H1	H1	H2	H1	H2	H1	H2	H1	H2	H2
3	AM0	1.2 C	4.0 C	2.6	2.5 C	5.4	4.6	6.8 C	1.4 C	2.8	0.1 C
3	AM+	10.1 B	8.2 B	5.8	6.8 B	10.6	5.8	10.4 B	3.1 B	7.2	9.5 B
30	AM0	15.3 B	21.6 A	14.5	20.2 A	43.4	24.6	37.9 A	24.4 A	28.4	8.4 B
30	AM+	37.4 A	25.0 A	22.7	23.7 A	59.6	26.4	37.9 A	25.1 A	37.5	25.1 A
Analysis of variance											
Effect		F-test									
P		*	**	**	**	**	**	**	**	**	**
AM		**	**	**	**	*	NS	**	**	*	**
P x AM		*	*	NS	**	NS	NS	**	**	NS	*

Different letters down each column are indicated significant differences (by LSD P < 0.05). * significant at $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *NS* = not significant.



ภาพที่ 13 แสดงเปอร์เซ็นต์การเข้าสู่รากพืชของ AMF และความหนาแน่นสปอร์ AMF ในดิน

เปอร์เซนต์การเข้ารากของ AMF จะต่ำที่สุดในข้าวฟ่าง (50%) และสูงที่สุดในปะดะ (95%) ซึ่งการการศึกษามาก่อนในพื้นที่เดี่ยวกันนี้โดย Youpensuk *et al.*, (2004) รายงานว่า 81% ของรากขนาดเล็กของปะดะจะมี AMF เข้าอยู่ในรากและความหนาแน่นของสปอร์ในบริเวณรอบรากปะดะจะมี AMF เป็น 4 เท่าของการศึกษาในครั้งนี้ ซึ่งสาเหตุอาจมาจากระยะเวลาในการเก็บตัวอย่าง และความชันของพื้นที่ภูเขาต่างกันเนื่องจากพื้นที่ศึกษาต่างกัน ซึ่งจากการศึกษายังไม่ทราบว่าความหนาแน่นของสปอร์ หรือการเข้าสู่รากของ AMF มีการผันแปรเนื่องจากความอุดมสมบูรณ์ ของดินในแปลงปลูกหรือไม่ ทั้งนี้จำเป็นต้องมีการศึกษาต่อไป

4. พืชท้องถิ่นที่ใช้ในการปลูกป่า

4.1 ศึกษาความหลากหลายของเชื้อราอาร์บัสคูล่ามายคอร์ไรซ่า (AMF) ในพืชท้องถิ่นที่ใช้ในการปลูกป่า

จากการเก็บตัวอย่างรากและดินบริเวณรากของพืชท้องถิ่นที่ใช้ในการปลูกป่า 24 ชนิด จากบริเวณอุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย จังหวัดเชียงใหม่ โดยพืชทั้งหมดจะมีระดับความเหมาะสมต่อการฟื้นคืนผืนป่าได้แตกต่างกันแบ่งเป็นระดับที่มีประสิทธิภาพดีเยี่ยม 15 ชนิด และระดับที่ยอมรับได้อีก 9 ชนิด (Blakesley *et al.*, 2002; Elliott *et al.*, 2003) พบว่าจำนวนสปอร์ AMF และค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเข้ารากพืชชนิดต่างๆ ในแต่ละพื้นที่มีความแตกต่างกัน (ตารางที่ 19) ทั้งนี้อาจมีสาเหตุมาจากความจำเพาะเจาะจงระหว่างชนิดของ AMF และพืชอาศัย (Janos, 1980; Onguene และ Kuyper, 2001) รวมทั้งความสัมพันธ์ระหว่างพืชตระกูลหญ้าบริเวณรอบรากไม้กับเชื้อรา AMF ด้วย (Smith *et al.* 1998; Murakoshi *et al.*, 1998) ซึ่งเปอร์เซ็นต์การเข้ารากพืชที่แตกต่างกันนี้ยังมีความสอดคล้องกับลักษณะที่แตกต่างกันของรากพืชและชนิดของป่าดังรายงานของ Baylis, 1975 และ Muthukumar *et al.*, 2003 ด้วย

สำหรับการบ่งบอกชนิดของสปอร์ AMF บนกระดาษกรองที่ได้จากวิธี wet-sieving method โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ที่สามารถมองเห็นได้ผ่านกล้องจุลทรรศน์ ที่อ้างอิงจาก Schenck และ Perez, 1988; INVAM WebPages พบสปอร์ AMF 24 species ที่พบ แบ่งออกเป็น 3 genera คือ *Acaulospora* (6), *Glomus* (15) และ *Scutellospora* (3) (ตารางที่ 20) (Nandakwang *et al.*, 2008) ผลการทดลองดังกล่าวชี้ให้เห็นถึงความสำคัญในการเลือกชนิดพืชท้องถิ่นในการปลูกป่าเพื่อเป็นการส่งเสริมให้การฟื้นฟูพื้นป่ามีประสิมธิภาพมากขึ้น และยังช่วยลดระยะเวลาในการดำเนินการลงอีกด้วย

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

ตารางที่ 19 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเข้ารากพืชและจำนวนสปอร์ AMF ที่พบในแต่ละพื้นที่จากตัวอย่างดิน

Tree species	Study site					
	FORRU's research nursery		Forest restoration plots		Natural evergreen forests	
	Colonization (%)	Spore density	Colonization (%)	Spore density	Colonization (%)	Spore density
Acrocarpus fraxinifolius	65.56	120.67	94.77	60.67	74.38	12.00
Balakata baccata	97.22	4.00	100	216.67	26.14	8.67
Castanopsis acuminatissima	11.46	4.33	83.42	16.00	82.12	8.00
Erythrina subumbrans	83.22	8.33	98.34	75.67	94.54	4.33
Ficus altissima	93.28	32.67	94.76	59.67	51.94	4.33
Ficus benjamina	75.66	32.67	75.18	23.67	87.05	119.67
Ficus glaberrima	69.64	16.67	89.68	4.00	8.61	8.33
Ficus hispida	70.92	29.00	49.98	60.00	55.99	251.33
Ficus racemosa	88.14	68.67	98.41	204.33	32.68	4.00
Ficus subulata	39.75	39.67	69.68	56.67	98.86	124.66
Glochidion kerrii	83.35	36.67	89.06	23.67	64.00	64.67
Gmelina arborea	98.00	32.33	100	48.33	67.30	23.67
Heynea trijuga	84.48	19.67	99.28	595.67	94.09	8.33
Hovenia dulcis	100	28.00	84.35	292.00	93.73	64.67
Macaranga denticulate	100	56.67	96.22	128.33	98.68	64.00
Machilus bombycina	75.43	51.67	49.45	55.33	95.34	15.67
Milia toosendan	92.08	20.33	96.94	104.33	93.02	8.00
Michelia baillonii	100	40.00	97.66	15.67	68.61	24.00
Nyssa javanica	92.19	108.33	100	172.00	98.18	200.67
Prunus cerasoides	76.85	32.00	21.24	43.33	87.72	112.67
Rhus rhetsoides	100	204.33	91.26	40.33	84.74	28.00
Sapindus rarak	88.87	28.67	82.10	12.33	62.67	196.33
Sarcosperma arboreum	40.90	8.67	92.38	24.33	55.67	12.33
Spondias axillaris	93.34	128.33	72.20	4.00	51.24	8.00
Average spore density		**48.01**		**97.38**		**57.35**
Spore number		**1152**		**2337**		**1376**

ตารางที่ 20 ชนิดและจำนวน (Frequency, F%; relative abundance, RA%) AMF ที่พบจากตัวอย่างดินรอบรากต้นพืชท้องถิ่นที่ใช้ในการปลูกป่า 24 ชนิดในแต่ละพื้นที่

AM fungal species	**Study site**									
	Degraded watershed area		**Forest soil extraction area**		**FORRU' s research nursery**		**Forest restoration plots**		**Natural forests**	
	F%	**RA%**	**F%**	**RA%**	**F%**	**RA%**	**F%**	**RA%**	**F%**	**RA%**
Acaulospora	**75.00**	**52.71**	**66.67**	**29.48**	**66.67**	**40.50**	**66.67**	**43.63**	**33.33**	**5.91**
1. *A. bireticulata* Rothwell & Trappe					4.17	0.66	4.17	0.33		
2. *A. elegans* Trappe & Gerd.			33.33	9.27	16.67	2.37	50.00	39.17	16.67	4.38
3. *A. foveata* Trappe & Janos					4.17	0.69	8.33	1.36	4.17	0.31
4. *A. laevis* Gerd. & Trappe					4.17	0.40	4.17	0.19	4.17	0.31
5. *A. mellea* Spain & Schenck			33.33	5.02	20.83	6.31	4.17	0.36		
6. *A. scrobiculata* Trappe	75.00	52.71	50.00	15.19	58.33	30.06	20.83	2.24	12.50	0.90
Glomus	**87.50**	**44.19**	**100**	**68.78**	**91.67**	**56.03**	**87.50**	**49.332**	**91.67**	**94.09**
7. *G. aggregatum* Schenck & Smith							8.33	0.38	4.17	0.29
8. *G. ambisporum* Smith & Schenck			33.33	12.54	54.17	14.23	12.50	3.05	58.33	31.29
9. *G. clavisporum* Trappe							8.33	0.33	4.17	0.61
10. *G. coremioides* Berk. & Broome							25.00	2.03	4.17	4.65
11. *G. fulvum* (Berke. & Broome) Trappe & Gerd.									8.33	7.85
12. *G. intraradices* Schenck & Smith					4.17	3.53	4.17	0.70	8.33	0.61
13. *G. microaggregatum* Koske, Gemma & Olexia	12.50	3.62					4.17	0.36		

ตารางที่ 20 (ต่อ)

AM fungal species	Study site									
	Degraded watershed area		Forest soil extraction area		FORRU' s research nursery		Forest restoration plots		Natural forests	
	F%	RA%	F%	RA%	F%	RA%	F%	RA%	F%	RA%
14. *G. microcarpus* Iqbal & Bushra	25.00	6.71	33.33	22.58	16.67	4.57	16.67	9.94	25.00	7.22
15. *G. mosseae* (Nicol. & Gerd.) Gerd. & Trappe					12.50	3.24	8.33	5.43	12.50	16.88
16. *G. multicaule* Gerd. & Bakshi					33.33	12.76	29.17	14.23	29.17	15.19
17. *G. rubiforme* Gerd. & Trappe	50.00	25.07	100	31.22	58.33	10.38	41.67	12.02	29.17	6.73
18. *G. scintillans* Rose & Trappe					4.17	2.78				
19. *G. sinuosum* Gerd. & Bakshi	25.00	8.79			4.17	0.35	4.17	0.33	16.67	2.88
20. *G. tortuosum* Schenck & Smith					4.17	1.42				
21. *G. viscosum* Nicol.			16.67	2.44	8.33	2.78	8.33	0.51		
Scutellospora	**12.50**	**3.10**	**16.67**	**1.74**	**12.50**	**3.47**	**50.00**	**7.05**		
22. *S. gregaria* (Schenck & Nicol.) Walker & Sanders							4.17	1.01		
23. *S. heterogama* Walker & Sanders	12.50	3.10					8.33	0.50		
24. *S. pellucida* (Nicol. & Schenck) Walker & Sanders			16.67	1.74	12.50	3.47	41.67	5.53		
Species richness	**6**		**8**		**17**		**21**		**15**	

4.2 การคัดเลือกเชื้อ AMF ที่เหมาะสมต่อพืชท้องถิ่นที่ใช้ในการปลูกป่า 24 ชนิด

เมื่อทดสอบผลของ AMF และการใช้ปุ๋ยฟอสฟอรัสกับต้นกล้าก่อเดือย (*Castanopsis acuminatissima*) เป็นเวลา 6 เดือน พบว่าการใช้ AMF การใช้ปุ๋ยฟอสฟอรัส และการใช้ AMF ร่วมกับ ปุ๋ยฟอสฟอรัส ทำให้ความสูงของพืช น้ำหนักแห้งของยอดและราก รวมถึงปริมาณธาตุฟอสฟอรัส ในยอดเพิ่มสูงขึ้น (ตารางที่ 21-24) ฟอสฟอรัสมีผลต่อขนาดของต้นไม้ทั่วไป รวมทั้งไม้ป่าที่เป็นพืชอาศัยของ AMF ที่ปลูกในสภาวะที่ควบคุมไว้ด้วย (Siqueira *et al.*, 1998; Youpensuk *et al.*, 2005) แต่การใช้ AMF เพียงอย่างเดียวหรือการใช้ AMF ร่วมกับปุ๋ยฟอสฟอรัสไม่มีผลต่อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของลำต้น (ตารางที่ 21, 22) โดยการใช้ *Glomus etunicatum* ร่วมกับการใช้ปุ๋ยฟอสฟอรัสในอัตรา 150, 200 และ 250 ppm ทำให้ความสูงของพืช น้ำหนักแห้งของยอดและรากเพิ่มสูงขึ้นมากที่สุด ทั้งนี้เป็นเพราะ AMF ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการดูดซึมฟอสฟอรัสในดินของรากพืชที่เพาะปลูกในสภาพดินที่ขาดแคลนสารอาหารที่มีปริมาณฟอสฟอรัสต่ำได้ดียิ่งขึ้น (Janos, 1983; Pacovsky *et al.*, 1986; Marschner *et al.*, 1996) นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้ AMF การใช้ปุ๋ยฟอสฟอรัส และการใช้ AMF ร่วมกับปุ๋ยฟอสฟอรัสมีผลต่อความหนาแน่นของสปอร์ โดยกรณีที่ใช้ *Glomerella mosseae* และการใช้สปอร์แบบผสมพบความหนาแน่นสปอร์มากที่สุด (33.5 และ 38.33 สปอร์/ดิน 100 กรัม ตามลำดับ, ตารางที่ 20)

จากการทดสอบผลของ AMF และการใช้ปุ๋ยแบบ slow-release กับต้นกล้าก่อเดือยเป็นเวลา 6 เดือน พบว่าการใช้ AMF ไม่มีผลต่อความสูงของพืช น้ำหนักแห้ง และปริมาณธาตุฟอสฟอรัสในยอด อย่างไรก็ตามการใช้ AMF มีผลช่วยเพิ่มขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง ลำต้นโดยเฉพาะกรณีที่ใช้สปอร์แบบผสม (ตารางที่ 25) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะในดินมีธาตุอาหารอยู่อย่างเพียงพอในสภาพดังกล่าว จึงไม่มีความจำเป็นต่อการส่งเสริมการดูดซึมแร่ธาตุของรากพืชให้มากขึ้น (Maffia *et al.*, 1993)

ตารางที่ 21 แสดงผลของ AMF และการใช้ธาตุ P ต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้า *C. acuminatissima* เปอร์เซ็นต์การเข้าสู่รากและความหนาแน่นของสปอร์ AMF

Treatments	Plant height (cm)	Stem diameter (cm)	Shoot dry weight (g plant^{-1})	Root dry weight (g plant^{-1})
AM inoculation				
Uninoculation	17.89c	0.23ns	0.66c	0.89d
A. elegans	24.25b	0.24ns	1.40ab	2.59a
G. etunicatum	27.36a	0.23ns	1.60a	2.08bc
G. mosseae	22.44b	0.24ns	1.17b	2.04c
Mixed species	19.85c	0.22ns	0.84c	2.04a
P applied (mg P kg^{-1}medium)				
0	15.29d	0.21c	0.54c	1.36c
50	16.30d	0.21c	0.58c	1.51c
100	19.87c	0.22bc	0.77c	1.67c
150	25.80b	0.23bc	1.49b	2.33b
200	32.11a	0.24b	1.36b	2.39b
250	17.86a	0.27a	2.07a	2.77a
Analysis of variance				
AM inoculation	***	ns	***	***
P applied	***	***	***	***
AM inoculation × P applied	***	ns	**	*

Treatments	Root to shoot ratio (dry weight)	Shoot P content (mg plant^{-1})	Root P content (mg plant^{-1})	Root colonization (%)	Spore density (spores/100g soil)
AM inoculation					
Uninoculation	1.44c	0.20c	0.22d	0.00c	0.00d
A. elegans	2.26b	0.64a	0.76a	53.72a	23.11c
G. etunicatum	1.86bc	0.74a	0.67ab	55.33a	31.83b
G. mosseae	2.28b	0.42b	0.50bc	55.26a	33.50ab
Mixed species	2.83a	0.40b	0.45c	40.10b	38.33a
P applied (mg P kg^{-1}medium)					
0	2.68a	0.15c	0.25c	43.92ns	24.20abc
50	2.73a	0.18c	0.29c	45.39ns	28.07a
100	2.37ab	0.23c	0.32c	38.14ns	27.00ab
150	1.81bc	0.61b	0.62b	41.47ns	30.07a
200	1.89bc	0.52b	0.63b	39.64ns	21.93bc
250	1.35c	1.21a	1.02a	36.71ns	20.87c
Analysis of variance					
AM inoculation	***	***	***	***	***
P applied	**	***	***	ns	**
AM inoculation × P applied	ns	***	0.074	ns	*

Means in the same column followed by different letter(s) are significantly different by ANOVA and Duncan, s Multiple Range test. *, **, ***: Significant at $p<0.05$, 0.01, 0.001, respectively; ns: not significant

ตารางที่ 22 แสดงผลของ AMF และการใช้ธาตุ P ต่อความสูงและขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของต้นกล้า *C. acuminatissima*

	Plant height (cm)				
Treatments	Uninoculation	*A. elegans*	*G. etunicatum*	*G. mosseae*	Mixed species
P applied (mg P kg^{-1}medium)					
0	14.44bNS	16.56cNS	15.59bNS	14.84cNS	15.02cNS
50	16.19bNS	18.02cNS	15.97bNS	16.05cNS	15.26cNS
100	18.13bNS	22.12bcNS	18.56bNS	22.19bNS	18.35bcNS
150	17.76bB	27.05bB	39.19aA	25.69bB	19.28bcB
200	17.89bC	26.81bAB	33.97acA	24.03bB	21.21bBC
250	22.92aC	34.95aAB	40.85aA	31.81aABC	30.00aBC
	Stem diameter (cm)				
Treatments	Uninoculation	*A. elegans*	*G. etunicatum*	*G. mosseae*	Mixed species
P applied (mg P kg^{-1}medium)					
0	0.22nsNS	0.21bNS	0.22nsNS	0.19bNS	0.21nsNS
50	0.22nsNS	0.21bNS	0.219nsNS	0.21bNS	0.21nsNS
100	0.22nsNS	0.20bNS	0.23nsNS	0.24abNS	0.22nsNS
150	0.22nsNS	0.24bNS	0.25nsNS	0.25abNS	0.20nsNS
200	0.23nsNS	0.23bNS	0.25nsNS	0.24abNS	0.25nsNS
250	0.24nsB	0.32aA	0.24nsB	0.29aA	0.24nsB

Means followed by the same letter (lower case within columns and capitals within rows) are not significantly different by Duncan's Multiple Range Test; ns: not significant

ตารางที่ 23 แสดงผลของ AMF และการใช้ธาตุ P ต่อน้ำหนักแห้งยอดและรากของต้นกล้า *C. acuminatissima*

	Shoot dry weight (g plant^{-1})				
Treatments	Uninoculation	*A. elegans*	*G. etunicatum*	*G. mosseae*	Mixed species
P applied (mg kg^{-1} KH_2PO_4)					
0	0.45bB	0.76bA	0.67bAB	0.42dB	0.42cB
50	0.54bAB	0.83bA	0.51bAB	0.53cdAB	0.46bcB
100	0.65bNS	0.82bNS	0.91bNS	0.96cNS	0.51bcNS
150	0.62bB	1.81abAB	2.63aA	1.45bAB	0.96bB
200	0.62bD	1.64abAB	2.136aA	1.46bBC	0.94bCD
250	1.07aC	2.58aAB	2.74aA	2.18aAB	1.77aBC
	Root dry weigh (g plant^{-1})				
Treatments	Uninoculation	*A. elegans*	*G. etunicatum*	*G. mosseae*	Mixed species
P applied (mg kg^{-1}KH_2PO_4)					
0	0.96nsB	1.77nsA	1.54bAB	1.48cAB	1.05cB
50	0.78nsC	2.28nsA	1.63bB	1.53cB	1.35bcB
100	0.91nsB	1.93nsA	1.42bAB	2.15bA	1.96bA
150	0.76nsC	3.13nsAB	3.51aA	2.34bAB	1.89bBC
200	0.82nsC	3.05nsA	3.11aA	2.13bB	2.83aAB
250	1.11nsB	3.37nsA	3.39aA	2.87aA	3.13aA

Means followed by the same letter (lower case within columns and capitals within rows) are not significantly different by Duncan's Multiple Range Test; ns: Not significant

ตารางที่ 24 แสดงผลของ AMF และการใช้ธาตุ P ต่อการดูดใช้ธาตุ P ของต้นกล้า *C. acuminatissima*

Treatments	Shoot P content (g plant^{-1})				
	Uninoculation	*A. elegans*	*G. etunicatum*	*G. mosseae*	Mixed species
P applied (mg kg^{-1} KH_2PO_4)					
0	0.12nsNS	0.21cNS	0.15bNS	0.11bNS	0.14cNS
50	0.13nsB	0.25cA	0.19bAB	0.15bAB	0.16cAB
100	0.20nsNS	0.20cNS	0.33bNS	0.24bNS	0.17cNS
150	0.19nsB	0.76bAB	1.23aA	0.31bB	0.57bB
200	0.16nsC	0.71bB	1.02aA	0.30bC	0.42bBC
250	0.40nsB	1.70aA	1.55aA	1.44aA	0.96aAB
	Root P content (g plant^{-1})				
Treatments	Uninoculation	*A. elegans*	*G. etunicatum*	*G. mosseae*	Mixed species
P applied (mg kg^{-1} KH_2PO_4)					
0	0.21nsNS	0.29bNS	0.30bNS	0.23bNS	0.20dNS
50	0.21nsC	0.40bA	0.35bAB	0.26bBC	0.21dC
100	0.22nsNS	0.34bNS	0.35bNS	0.38bNS	0.31cdNS
150	0.23nsB	0.94abA	0.98abA	0.54bAB	0.43cAB
200	0.20nsB	1.05abA	0.85abAB	0.40bAB	0.64bAB
250	0.26nsB	1.54aA	1.18aA	1.22aA	0.89aAB

Means followed by the same letter (s) (lower case within columns and capitals within rows) are not significantly different by Duncan·s Multiple Range Test; ns: not significant

ตารางที่ 25 แสดงผลของ AMF และการใช้ปุ๋ยแบบ slow-release ต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้า *C. acuminatissima* เปอร์เซ็นต์การเข้าสู่รากและความหนาแน่นของสปอร์ AMF

Treatments	Plant height (cm)	Stem diameter (cm)	Shoot dry weight (g plant^{-1})	Root dry weight (g plant^{-1})
Uninoculated	10.89cd	0.15cd	0.39bcd	0.62bcd
Uninoculated+Fertilizer	14.54a	0.16bc	0.58ab	0.78ab
A. elegans	10.89cd	0.15bcd	0.25d	0.51d
A. elegans+Fertilizer	11.41bcd	0.16bc	0.62a	0.61bcd
G. etunicatum	9.71d	0.14d	0.43abcd	0.64bcd
G. etunicatum+Fertilizer	12.73abc	0.17b	0.42abcd	0.76ab
G. mosseae	10.04d	0.15bcd	0.35cd	0.57cd
G. mosseae+Fertilizer	13.13ab	0.16bc	0.62a	0.83a
Mixed species	11.52bcd	0.16bc	0.39bcd	0.63bcd
Mixed species+Fertilizer	13.05ab	0.20a	0.52abc	0.70abc
Analysis of variance				
AM inoculation	0.075	*	ns	0.061
Fertilization	***	***	***	***
AM inoculation × Fertilization	ns	ns	0.053	ns

Treatments	Root to shoot ratio (dry weight)	Shoot P content (mg plant^{-1})	Root P content (mg plant^{-1})	Root colonization (%)	Spore density (spores 100 g^{-1} soil)
Uninoculated	1.83bc	0.05cd	0.04c	0.00f	0.00f
Uninoculated+Fertilizer	1.77cd	0.13b	0.10a	0.00f	0.00f
A. elegans	2.58a	0.03d	0.03c	52.56d	22.43e
A. elegans+Fertilizer	1.14d	0.19a	0.10a	79.52a	57.71ab
G. etunicatum	2.44ab	0.04d	0.03c	41.96e	20.86e
G. etunicatum+Fertilizer	1.95bc	0.10bc	0.09ab	65.30c	16.14e
G. mosseae	1.72cd	0.04d	0.03c	38.38e	42.28d
G. mosseae+Fertilizer	1.89bc	0.15ab	0.12a	77.58ab	49.14cd
Mixed species	1.65cd	0.07cd	0.05bc	58.87cd	65.14ab
Mixed species+Fertilizer	1.77cd	0.16ab	0.12a	68.32bc	74.57a
Analysis of variance					
AM inoculation	ns	ns	ns	***	***
Fertilization	*	***	***	***	***
AM inoculation × Fertilization	***	ns	ns	***	***

Means in the same column followed by different letter (s) are significantly different by ANOVA and Duncan, s Multiple Range Test. *, **, ***: Significant at $p<0.05$, 0.01, 0.001 respectively; ns: Not significant

4.3 ความเหมาะสมของพืชอาศัยต่อการเพิ่มปริมาณของ AMF

หลังจากปลูกเชื้อร่วมกับต้นพืชทั้ง 5 ชนิด โดยใช้สปอร์ AMF ชนิดเด่นที่ได้จากพืชที่ใช้ปลูกป่า 24 ชนิด ซึ่งทำการปลูกไว้จนพืชมีอายุ 4 เดือน และทำการตรวจสอบปริมาณการติดเชื้อในรากและปริมาณสปอร์ที่พบในดินรอบรากพืชดังกล่าว พบว่า ดินที่ปลูกทั้งข้าวฟ่างและข้าวโพด มีสปอร์ของ *Acaulospora elegan*, *Glomus etunicatum* และ *G. mosseae* มากที่สุด โดยในข้าวฟ่างมีจำนวนสปอร์ของ AMF ที่พบมากกว่าในข้าวโพดอย่างมีนัยสำคัญ และในดินที่ปลูกข้าวฟ่างพบ *G. etunicatum* (6149 ต่อดิน 100 กรัม) และ *A. elegan* (2714 ต่อดิน 100 กรัม) มากที่สุดตามลำดับ (ตารางที่ 26) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก *Glomus* และ *Acaulospora* สามารถสร้างสปอร์ได้มากกว่า *Gigaspora* และ *Scutellospora* เมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมเดียวกัน เพราะสปอร์ขนาดเล็กจะใช้เวลาในการสร้างน้อยกว่าสปอร์ที่มีขนาดใหญ่กว่า (Hepper, 1984; Bever *et al.*, 1996) เมื่อย้อมสีรากเพื่อตรวจสอบการติดเชื้อในรากพบว่า รากพืชทั้ง 5 ชนิด มีปริมาณการติดเชื้อแตกต่างกันไปดังตารางที่ 27

ตารางที่ 26 จำนวนสปอร์ของเชื้อราเอนโดมายคอร์ไรซ่าในดิน (100 g) ที่ปลูกพืชทดสอบ 5 ชนิด

	Spore density of AM fungi (spores/100 g soil)					
Host plant	*A. elegans*	*A. mellea*	*A. scrobiculata*	*G. etunicatum*	*G. mosseae*	*S. heterogama*
G. max	426.33dB	13.33 nsC	14.67abC	598.00cdA	40.00dC	9.33bC
O. sativa	1683.33bcA	14.67 nsD	13.33abD	396.00dB	190.00bcC	6.67bD
S. vulgare	2713.33aB	13.33 nsC	16.67abC	6148.67aA	642.67aC	22.67aC
T. erecta	967.67cdB	9.33 nsC	6.00bC	1457.33cA	102.00cdC	11.33abC
Z. mays	1867.33bB	10.00 nsC	19.33aC	3933.33bA	231.33bC	4.67bC
Analysis of variance						
AM species			***			
Host plant species			***			
AM species × Host plant species			***			

Means followed by the same letter (s) (lower case within columns and capitals within rows) are not significantly different by Duncan's Multiple Range Test; ns: not significant. ***: significant at $p<0.001$

ตารางที่ 27 เปอร์เซนต์การเข้ารากของเชื้อราเอนโดมายคอร์ไรซ่าในพืชทดสอบ 5 ชนิด

	AM colonization (%)					
Host plant	*A. elegans*	*A. mellea*	*A. scrobiculata*	*G. etunicatum*	*G. mosseae*	*S. heterogama*
G. max	87.95aB	20.00nsC	14.81abC	90.00bB	100.00aA	5.00cD
O. sativa	73.00bB	11.11nsC	3.70abC	100.00aA	95.00bA	3.33cC
S. vulgare	100.00aA	51.85nsC	13.33abD	100.00aA	100.00aA	78.33aB
T. erecta	92.16aAB	73.33nsB	16.66bC	93.33abAB	100.00aA	25.00bC
Z. mays	93.79aA	55.00nsB	56.67aB	100.00aA	100.00aA	11.66cC
Analysis of variance						
AM species			***			
Host plant species			***			
AM species × Host plant species			***			

Means followed by the same letter (s) (lower case within columns and capitals within rows) are not significantly different by Duncan,s Multiple Range Test; ns: not significant. ***: significant at $p<0.001$

5. การคัดเลือกพืชอาศัยที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณ AMF และการคัดเลือกวัสดุที่เหมาะสมในการเก็บกักสปอร์ AMF

5.1 การคัดเลือกพืชอาศัยที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณ AMF

จากการศึกษาการเพิ่มจำนวนสปอร์โดยการปลูกเชื้อให้พืชอาศัยทั้ง 3 ชนิด คือ ต้นเดือย ข้าวฟ่าง และหญ้ารูซี่ พบว่า พืชอาศัยทั้ง 3 ชนิด เพิ่มจำนวนสปอร์ของเชื้อที่นำมาศึกษาได้น้อย (ตารางที่ 28) เมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซนต์การเข้าสู่รากพืช โดยพบว่า ข้าวฟ่างมีเปอร์เซนต์การเข้าสู่รากมากที่สุด รองลงมาคือต้นเดือยและหญ้ารูซี่ ทั้งนี้อาจมีสาเหตุมาจากลักษณะทางกายภาพของดินดังที่มีรายงานว่าปริมาณน้ำในดินมีผลต่อการเข้าสู่รากพืชและ เพิ่มจำนวนสปอร์ของเชื้อ (สมจิตร, 2549) นอกจากนี้ฤดูกาลก็มีผลต่ออัตราการเข้าสู่รากพืชด้วย โดยพบว่าช่วงฤดูหนาวอัตราการเข้าสู่รากพืชของเชื้อราจะต่ำกว่าฤดูกาลอื่น (Mendoza, 2005) เมื่อเปรียบเทียบจำนวนสปอร์ที่พบในดิน พบว่าดินที่ปลูกข้าวฟ่างมีจำนวนสปอร์มากที่สุดรองลงมาคือต้นเดือยและหญ้ารูซี่เช่นกัน ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าในพืชทั้ง 3 ชนิด ที่นำมาทดสอบเปรียบเทียบกันนี้ ข้าวฟ่าง เป็นพืชอาศัยเพื่อเพิ่มปริมาณสปอร์ของ AMF ที่ดีที่สุด

ตารางที่ 28 เปอร์เซนต์การเข้ารากและจำนวนสปอร์ของ *Glomus* sp. ที่แยกจากผลิตภัณฑ์ Mycostar®, *Scutellospora* sp. และ Mycostar® เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อใช้ต้นเดือย ข้าวฟ่าง และหญ้ารูซี่ เป็นพืชอาศัย

ต้นเดือย	เปอร์เซนต์การเข้าสู่ราก	จำนวนสปอร์ในดิน 100 กรัม
ชุดควบคุม (ไม่ใส่เชื้อ)	0.00a	0.00a
Glomus sp.	8.20b	4.00b
Scutellospora sp.	7.79b	2.75b
Mycostar®	7.12a	5.00a
ข้าวฟ่าง		
ชุดควบคุม (ไม่ใส่เชื้อ)	0.00a	0.00a
Glomus sp.	9.08b	5.00b
Scutellospora sp.	10.06b	2.25a
Mycostar®	13.10b	7.50b
หญ้ารูซี่		
ชุดควบคุม (ไม่ใส่เชื้อ)	0.00a	0.00a
Glomus sp.	5.85b	1.25a
Scutellospora sp.	6.56b	3.50ab
Mycostar®	5.59a	5.75b

5.2 การคัดเลือกวัสดุที่เหมาะสมในการเก็บกักสปอร์ AMF

จากการทดลอง พบว่าวัสดุปลูกดินผสมทราย เพอร์ไลท์และพีทมีผลต่อจำนวนสปอร์ของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาแตกต่างกัน เมื่อใช้เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา *Glomus etunicatum* และ *Scutellospora* sp. ร่วมกับหญ้ากินนีสีม่วง และเบญจมาศที่ถูกใช้เป็นพืชอาศัย โดยวัสดุปลูกแต่ละชนิดมีผลต่อจำนวนสปอร์ ดังแสดงในตารางที่ 29 กล่าวคือ สามารถเพิ่มจำนวนสปอร์ของ *G. etunicatum* และ *Scutellospora* sp. ได้ในดินผสมทรายและดิน: เพอร์ไลท์: ทรายเท่านั้น เมื่อเทียบกับพีท ซึ่งไม่สามารถเพิ่มจำนวนสปอร์ของเชื้อทั้ง 2 ชนิดได้เลย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเพอร์ไลท์เป็นวัสดุที่มีความพรุนเหมาะกับการนำมาใช้เป็น carrier ในการผสมกับดิน เพื่อเป็นการปรับปรุงลักษณะทางกายภาพของดินให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา และพืชอาศัย การผลิตหัวเชื้อไมคอร์ไรซาทางการค้าจึงนิยมนำเพอร์ไลท์และเวอร์มิคูไลท์มาช่วยในการเพิ่มจำนวนสปอร์ของเชื้อรามากยิ่งขึ้น (Rai, 2006)

ในขณะที่ผลของวัสดุปลูกต่อเปอร์เซ็นต์การเข้าสู่รากของ AMF ในเบญจมาศและหญ้ากินนีสีม่วง ก็มีความแตกต่างกัน โดยพบว่าเปอร์เซ็นต์การเข้าสู่รากของเชื้อราทั้ง 2 ชนิดในหญ้ากินนีสีม่วงมีมากกว่าเปอร์เซ็นต์การเข้าสู่รากในเบญจมาศเมื่อใช้วัสดุปลูกทุกชนิด ขณะที่ดินผสมทรายและเพอร์ไลท์จะมีเปอร์เซ็นต์การเข้าสู่รากในหญ้ากินนีสีม่วงมากที่สุด เมื่อเทียบกับวัสดุปลูกอีก 2 ชนิด ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเข้าสู่รากกับจำนวนสปอร์ต่อดิน 100 กรัม จึงมีความสอดคล้องกัน โดยวัสดุปลูกดินผสมเพอร์ไลท์และทรายมีผลดีต่อการเพิ่มจำนวนสปอร์ *G. etunicatum* และ *Scutellospora* sp. ในหญ้ากินนีสีม่วงมากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Graham และ Timmer (1984) และ Vestberg และคณะ (2000) ที่รายงานว่าพีทมีปริมาณสารอินทรีย์สูงซึ่งสารอินทรีย์เหล่านี้มีผลต่อการยับยั้งการเข้าสู่รากพืชอาศัยของเชื้อรา AMF

ตารางที่ 29 เปอร์เซนต์การเข้าราก และจำนวนสปอร์ของ *G. etunicatum* และ *Scutellospora* sp. ในหญ้ากินนีสีม่วง และเบญจมาศ เมื่อปลูกในวัสดุปลูกแต่ละชนิด

ดินผสมทราย ในอัตราส่วน 1:1	เปอร์เซนต์การเข้าสู่ราก	จำนวนสปอร์ในดิน 100 กรัม
Scutellospora sp. + เบญจมาศ	13.33a	4.50a
Scutellospora sp. + หญ้ากินนี	23.75ab	7.25ab
G. etunicatum + เบญจมาศ	17.08a	3.50a
G. etunicatum + หญ้ากินนี	18.54a	9.25ab
พีท (peat) 2000 มิลลิลิตร		
Scutellospora sp. + เบญจมาศ	8.75a	0
Scutellospora sp. + หญ้ากินนี	8.75a	0
G. etunicatum + เบญจมาศ	10.00a	0
G. etunicatum + หญ้ากินนี	16.67a	0

ตารางที่ 29 (ต่อ)

ดิน: เพอร์ไลท์: ทราย ในอัตราส่วน 2:1:1		
Scutellospora sp. + เบญจมาศ	17.92a	9.50a
Scutellospora sp. + หญ้ากินนี	47.83bc	55.00a
G. etunicatum + เบญจมาศ	20.42a	13.75a
G. etunicatum + หญ้ากินนี	72.67c	1604.25b