

บทคัดย่อ

บริษัท ตรี เทค จำกัด เป็นบริษัทสาขาของบริษัท ดับเบิลเอ จำกัด ซึ่งเป็นผู้ผลิตกระดาษจากยูคาลิปตัสรายใหญ่ของประเทศไทย บริษัทต้องการส่งเสริมการเกษตรแบบยั่งยืนและให้ผลประโยชน์มากที่สุดจากการปลูกยูคาลิปตัส ดังนั้นบริษัทจึงต้องการใช้เทคนิคหัวเชื้อไมคอร์ไรซาร่วมกับต้นกล้า ปัญหาที่เกิดขึ้นคือสายพันธุ์ไมคอร์ไรซาที่บริษัทใช้เป็นสายพันธุ์ที่ไม่มีประสิทธิภาพ อีกทั้งยังมีรูปแบบหัวเชื้อและวิธีการปลูกเชื้อที่ไม่แน่นอน นอกจากนี้ยังต้องการการยืนยันผลการปลูกเชื้อด้วย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกเอคโตไมคอร์ไรซา *Pisolithus* spp. และ *Scleroderma* spp. และอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาที่มีประสิทธิภาพ นำมาเพิ่มจำนวนในห้องปฏิบัติการและเรือนเพาะชำเพื่อการประยุกต์ใช้กับโรงเรือนบริษัท ตรี เทค และเพื่อทดสอบความสามารถของเชื้อต่อการส่งเสริมการเจริญของต้นกล้ายูคาลิปตัสในเรือนเพาะชำ

ในปี 2553 ได้เก็บตัวอย่างและแยกเชื้อบริสุทธิ์ของเห็ดกรวด *Pisolithus albus*, *P. orientalis* และเห็ดลูกฝู่น *Scleroderma sinnamariense* จากจังหวัดเชียงใหม่และเชียงราย ภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย โดยเลือกเชื้อบริสุทธิ์ของ *P. albus* CMU005, *P. orientalis* CMU010 และ *S. sinnamariense* CMUSC001 มาใช้ในการศึกษา การสำรวจจำนวนและชนิดของอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาจากดินรอบรากต้นยูคาลิปตัสในพื้นที่จังหวัดลำปาง และจังหวัดปราจีนบุรี พบอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาชนิดเด่น ได้แก่ *Acaulospora* sp., *A. spinosa*, *A. melleae*, *A. scrobiculata* และ *Gigaspora pellucida*

ทดสอบสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญของเส้นใยของเชื้อที่เลือกจากอาหารเลี้ยงเชื้อ 10 ชนิด พบว่า modified Melin-Norkans medium ที่ pH 6.0 และ fungal-host agar ที่ pH 5.0 เป็นอาหารที่ดีที่สุดสำหรับการเจริญของเส้นใย *P. albus* CMU005 และ *S. sinnamariense* CMUSC001 ตามลำดับ ส่วน *P. orientalis* CMU010 มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีมากที่สุดบนอาหาร modified Melin-Norkans medium ที่ pH 6.0 แต่ มีน้ำหนักแห้งสูงที่สุดบนอาหาร modified Murashige and Skoog medium อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ 30 องศาเซลเซียส การทดลองประยุกต์ใช้สปอร์สดที่เก็บจากดอกเห็ดกรวด *Pisolithus* sp. ที่เจริญร่วมกับยูคาลิปตัสตามธรรมชาติ มาปลูกให้กับยูคาลิปตัสในระยะต้นกล้าเป็นวิธีการที่ง่ายต่อการจัดการมากที่สุด ส่วนการเพิ่มจำนวนสปอร์อาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาจากดินรอบรากยูคาลิปตัสในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ ด้วยวิธี Trap culture สามารถเพิ่มจำนวนสปอร์ *Acaulospora* AG และ *Glomus* AK ได้มากและถูกคัดเลือกเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อปลูกทดสอบให้กับต้นกล้ายูคาลิปตัส ร่วมกับ *G. etunicatum*, *G. mosseae* และ *Entrophospora colombiana* ที่มีในห้องปฏิบัติการ

ราเอกโตไมคอร์ไรซาที่เจริญบนเวอร์มิคูไลท์ผสมพีทถูกใช้เป็นหัวเชื้อ การทดสอบการสร้างเอกโตไมคอร์ไรซากับต้นยูคาลิปตัส (*Eucalyptus camadulensis*) ของเชื้อรา *P. albus* CMU005 และ *P. orientalis* CMU010 ภายในห้องปฏิบัติการ พบการสร้าง mantle sheath และ Hartig net ในระยะเวลา 3 เดือน เมื่อปลูกหัวเชื้อสด *P. albus* ที่พบบริเวณสวนป่ายูคาลิปตัส บริษัท ตรีเทค ให้กับกล้าจากการปักชำของยูคาลิปตัสสายพันธุ์ PT48 ให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของลำต้นและราก ความสูงของลำต้น รวมถึงปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมต่อต้นมีค่ามากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับ การปลูกด้วยอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาและชุดควบคุม การปลูกเชื้อดังกล่าวให้ผลเช่นเดียวกันกับการเจริญของกล้าจากการปักชำของยูคาลิปตัสสายพันธุ์ K7 นอกจากนี้ยังพบการสร้าง mantle sheath และ Hartig net ในระยะเวลา 4 เดือนในสภาพโรงเรือนบริษัท ตรีเทค จำกัด และในระยะเวลา 7 เดือนของการทดสอบในสภาพโรงเรือนมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยต้นกล้ายูคาลิปตัสที่ปลูกเชื้อเห็ดกรวดทั้งสองชนิดมีความสูงมากกว่าต้นกล้าที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ ส่วนการปลูกด้วยเชื้อ *S. sinnamariense* CMUSC001 ไม่พบการสร้าง mantle sheath และ Hartig net กับต้นยูคาลิปตัสทั้งการทดสอบในห้องปฏิบัติการและโรงเรือน ยูคาลิปตัสสายพันธุ์ K7 และ PT48 มีการเจริญในด้านความสูงดีที่สุดหลังจากการปลูกเชื้อร่วมของเอกโตไมคอร์ไรซาและอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา รองลงมาคือ การปลูกด้วยเชื้อเพียงอย่างเดียวของสปอร์อาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา, *P. albus*, *S. sinnamariense* และชุดควบคุม ตามลำดับ ส่วนการทดลองปลูกเชื้ออาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซากับต้นกล้าที่เพาะจากเมล็ดพบว่ากระถางที่ปลูกด้วย *G. etunicatum* มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการส่งเสริมความสูง น้ำหนักแห้งของลำต้นและราก การปลูกเชื้ออาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาให้กับยูคาลิปตัสปักชำสายพันธุ์ PT48 พบว่า *G. etunicatum* ให้ผลดีที่สุดในการส่งเสริมด้านความสูงและน้ำหนักสดของลำต้นในทุกชุดการทดลอง ส่วนการปลูกเชื้อให้กับกล้ายูคาลิปตัสปักชำสายพันธุ์ K7 ต้นที่ปลูกด้วยเชื้อ *E. colombiana* มีความสูงของลำต้นและเปอร์เซ็นต์การเข้าสู่รากมากที่สุด การใช้ปุ๋ยฟอสฟอรัสในทุกความเข้มข้นของปุ๋ยไม่ทำให้เกิดความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญต่อการเข้าสู่รากของอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา แต่มีผลให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของลำต้นและรากมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นเมื่อมีการเพิ่มความเข้มข้นของปุ๋ย

Abstract

Tree-Tech Company is a subsidiary company of Double A which is a major paper producer from eucalyptus in Thailand. The Company would like to promote sustainable agriculture and obtain maximum benefit for eucalyptus plantation. The Company therefore wants to use technique of mycorrhiza inoculum with the seedlings. The problem is that the mycorrhiza strain used by the Company is the non-effective strains with no pattern of inoculum and proper cultivation. Moreover, efficient method is required for the confirmation of cultivation. Therefore, this research was aimed to selected effective ectomycorrhizal strains from *Pisolithus* spp. and *Scleroderma* spp. and endomycorrhiza, multiplied in the laboratory and nursery for Tree Tech's nursery application and tested for their ability to promote the growth of eucalyptus seedlings in the nursery.

Basidiomes of *Pisolithus albus*, *P. orientalis* and *Scleroderma sinnamariense* were collected from Chiang Mai and Chiang Rai provinces, northern Thailand. Pure cultures were isolated from each basidiome, *P. albus* CMU005, *P. orientalis* CMU010 and *S. sinnamariense* CMUSC001 were selected to investigate their suitable growth conditions. Arbuscular mycorrhiza diversity study in rhizosphere soils of eucalyptus in Lumpang and Prachinburi provinces revealed dominant arbuscular mycorrhiza including: *Acaulospora* sp., *A. spinosa*, *A. melleae*, *A. scrobiculata* and *Gigaspora pellucida*.

Among ten culture media, modified Melin-Norkans medium at pH 6.0 and fungal-host agar at pH 5.0 are the best media for the mycelial growth of *P. albus* CMU005 and *S. sinnamariense* CMUSC001, respectively. *P. orientalis* CMU010 showed the highest colony diameter on modified Melin-Norkans medium at pH 6.0, while the highest biomass yield was found on modified Murashige and Skoog medium. All fungi were able to grow with an optimal growth temperature of 30°C. Application of fresh *Pisolithus* sp. spores naturally associate with eucalyptus is the easiest method for inoculating in eucalyptus seedlings. Propagation of arbuscular mycorrhizal spores from rhizosphere soils of eucalyptus in Chiang Mai plantations increased spore number of *Acaulospora* AG and *Acaulospora* AK. These spores were used for inoculation in

eucalyptus seedlings in complement to *G. etunicatum*, *G. mosseae* and *E. colombiana* from laboratory.

The fungus grown on vermiculite/peat medium was used as inocula. The results of *in vitro* experiments showed that *P. albus* CMU005 and *P. orientalis* CMU010 formed mantle sheet and Hartig net structure in *E. camadulansis* roots *in vitro* experiments after three months. Inoculation with fresh inoculum of *P. albus* at Tree Tech's eucalyptus plantations increased wet weight and dry weight of shoot and root, height, as well as nitrogen, phosphate and potassium contents of the plants compared to arbuscular mycorrhiza inoculation and control. Similar results were found with K7 eucalyptus strain. Mantle sheath and Hartig net forming were observed after four months in Tree-Tech Company nursery. At Faculty of Science, Chiang Mai University nursery experiment, the mycorrhizal formation of both *P. albus* CMU005 and *P. orientalis* CMU010 were observed at seven months after inoculation. The shoots of eucalyptus plants inoculated with both fungi were longer than non-inoculated plants. *Scleroderma sinnamariense* CMUSC001 showed no ectomycorrhizal formation on *E. camadulansis* both *in vitro* and in nursery experiments. K7 and PT48 eucalyptus strains gave the highest plant height after inoculation with ectomycorrhiza and arbuscular mycorrhiza followed by *P. albus*, *S. sinnamariense* and control, respectively. Arbuscular mycorrhiza inoculation of eucalyptus seedlings showed that *G. etunicatum* was the most effective to enhance plant height and dry weight of shoot and root. *G. etunicatum* inoculated in PT48 eucalyptus was promoted height and shoot wet weight in all treatment. K7 eucalyptus gave the highest plant height and percentage of root colonization when inoculated with *E. colombiana*. Different concentration of phosphorus fertilizer did not affect colonization of arbuscular mycorrhiza. Wet weight and dry weight of shoot and root trended to increase with increasing fertilizer concentration.