การคัดแยกและผลของราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาที่มีต่อการเจริญเติบโตของพริกไทย (*Piper nigrum* L.)

Isolation and effects of arbuscular mycorrhizal fungi on growth of black pepper (*Piper nigrum* L.)

นภาพร คงตุก

Napaporn Kongtuk

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Agricultural Science and Technology
Prince of Songkla University

2561

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

การคัดแยกและผลของราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาที่มีต่อการเจริญเติบโตของพริกไทย (*Piper nigrum* L.)

Isolation and effects of arbuscular mycorrhizal fungi on growth of black pepper (*Piper nigrum* L.)

นภาพร คงตุก
Napaporn Kongtuk

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Agricultural Science and Technology
Prince of Songkla University
2561
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การคัดแยกและผลของราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาที่มีต่อการเจริญเติบโตของพริกไทย (*Piper nigrum* L.)

ผู้เขียน นางสาวนภาพร คงตุก

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

.....

(ดร.จรัสลักษณ์ เพชรวัง)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ

(ดร.สุรพล ฐิติธนากุล)

.....กรรมการ

(ดร.จรัสลักษณ์ เพชรวัง)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิตรตรา เพียภูเขียว)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร

.....

(ศาสตราจารย์ ดร.ดำรงศักดิ์ ฟ้ารุ่งสาง)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ.....
(ดร.จรัสลักษณ์ เพชรวัง)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ลงชื่อ.....ภาพร คงตุก.....
(นางสาวนภาพร คงตุก)
นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....นภาพร คงตุก.....
(นางสาวนภาพร คงตุก)
นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์ การคัดแยกและผลของราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาที่มีต่อการเจริญเติบโตของพริกไทย (*Piper nigrum* L.)
ผู้เขียน นางสาวนภาพร คงตุก
สาขาวิชา วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร
ปีการศึกษา 2560

บทคัดย่อ

การสำรวจชนิดและจำนวนของราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในดินรอบรากพริกไทยจากแปลงปลูกในจังหวัดสุราษฎร์ธานีและนครศรีธรรมราช พบปริมาณสปอร์อยู่ในช่วง 275.6-1,242.0 สปอร์ต่อดิน 100 กรัม เมื่อนำมาจัดจำแนกสปอร์ออกเป็นกลุ่มโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสปอร์ สามารถจำแนก AMF ได้ทั้งหมด 5 สกุล แบ่งเป็น 10 ชนิด คือ *Glomus* 4 ชนิด, *Acaulospora* 3 ชนิด, *Septoglomus*, *Racocetra* และ *Gigaspora* สกุลละ 1 ชนิด จากนั้นนำสปอร์ที่แยกได้มาเพิ่มปริมาณในกระถางโดยใช้ข้าวฟ่างเป็นพืชอาศัย พบว่า สามารถเพิ่มปริมาณสปอร์ในกระถางได้ทั้งหมด 9 ชนิด คือ *Glomus* sp.1, *Glomus* sp.2, *Glomus* sp.3, *Glomus* sp.4, *Acaulospora* sp.1, *Acaulospora* sp.2, *Septoglomus* sp., *Racocetra* sp. และ *Gigaspora* sp. เมื่อนำดินตัวอย่างมาตรวจหาปริมาณสปอร์ทั้งหมดในดิน พบว่า AMF ที่สามารถเพิ่มปริมาณในข้าวฟ่างได้มากที่สุด คือ *Glomus* sp.1 รองลงมา คือ *Acaulospora* sp.2, *Septoglomus* และ *Gigaspora* และเมื่อนำ AMF ทั้ง 4 ชนิด มาทดสอบประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าพริกไทย พบว่า การปลูกเชื้อชนิด *Acaulospora* sp.2 และ *Glomus* sp.1 มีประสิทธิภาพในการเพิ่มการเจริญเติบโตของต้นกล้าพริกไทยได้ดีที่สุด และในการทดสอบความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสบนใบของพริกไทย พบว่า ต้นกล้าพริกไทยที่ปลูกเชื้อ AMF มีความต้านทานต่อโรคมากกว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อ

คำสำคัญ: พริกไทย, เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา, การคัดแยก, การเจริญเติบโต

Thesis Title Isolation and effects of arbuscular mycorrhizal fungi on growth of black pepper (*Piper nigrum* L.)
Author Miss Napaporn Kongtuk
Major Program Agricultural Science and Technology

Academic Year 2017

ABSTRACT

Examination and isolation of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in black pepper orchard in Surat Thani and Nakhon Si Thammarat province had been performed. The total numbers of AMF spores were observed in soil collected from the two black pepper plantation area are from 275.6-1,242.0 spore per 100 g of soil. Classification of AMF were determined by their morphological characteristic of spore. The result indicated that the spores of AMF were classified into 5 genus 10 groups; *Glomus* 4 species, *Acaulospora* 3 species, *Septoglomus* sp. 1 specie, *Racocetra* sp. 1 specie and *Gigaspora* sp. 1 specie. In order to increasing the number of AMF spores, sorghum was used as a host plant for AMF, 9 species of AMF; *Glomus* sp.1, *Glomus* sp.2, *Glomus* sp.3 , *Glomus* sp.4 , *Acaulospora* sp.1 , *Acaulospora* sp.2 , *Septoglomus* sp., *Racocetra* sp. and *Gigaspora* sp. can produce more amount of spores in pot. *Glomus* sp.1 was efficient in producing the maximum number of total spore in soil follow by *Acaulospora* sp.2 , *Septoglomus* sp. and *Gigaspora* sp. Subsequently, the effects of AMF on growth promotion of black pepper were also investigated by inoculation of 4 types of these AMF into black pepper seedling. *Acaulospora* sp.2 and *Glomus* sp.1 showed the most significantly increasing the growth of black pepper. For the disease resistant test, black peeper seedling inoculated with AMF showed significantly enhancing of anthracnose resistant on the leave of black peppers in comparison with uninoculated control.

Keywords: Black pepper, Arbuscular Mycorrhizal Fungi, Isolation, Growth

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ดร.จรัสลักษณ์ เพชรวัง ที่กรุณาแนะนำ ให้คำปรึกษา ชี้แนะแนวทาง และเทคนิคในการทำการทดลองทุกขั้นตอน รวมทั้งการตรวจสอบเนื้อหา และรูปเล่ม ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณกรรมการสอบ ดร.สุรพล ฐิติธนากุล และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิตรตรา เพียภูเขียว ที่สละเวลามาเป็นกรรมการสอบ พร้อมทั้งให้คำแนะนำ ข้อเสนอแนะต่างๆ และให้แนวทางในการแก้ไข เพื่อทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความถูกต้องและมีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี และเจ้าหน้าที่ศูนย์วิทยาศาสตร์และเครื่องมือกลางที่ให้ความอนุเคราะห์ทางด้านห้องปฏิบัติการ เครื่องมือ ครุภัณฑ์ และสารเคมีในการทำการวิจัย หอบรรณสารสนเทศ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี ที่อนุเคราะห์ด้านการสืบค้นข้อมูลส่งผลให้การดำเนินงานวิจัยสำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี สำหรับทุนสนับสนุนค่าธรรมเนียมการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาที่เน้นการศึกษาวิจัย ประจำปีการศึกษา 2558

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่ได้สนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ ประจำปีงบประมาณ 2560

นภาพร คงตุก

เมษายน 2561

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ ..... (5)
ABSTRACT ..... (6)
กิตติกรรมประกาศ ..... (7)
สารบัญ ..... (8)
รายการตาราง ..... (10)
รายการตารางภาคผนวก ..... (11)
รายการภาพ ..... (12)
รายการภาพภาคผนวก ..... (13)
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1
1.2 ตรวจสอบเอกสาร 3
1.2.1 พริกไทย (Black Pepper) 3
1.2.2 เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา 11
1.3 วัตถุประสงค์ 22
บทที่ 2 วิธีการวิจัย 23
2.1 การสำรวจและเก็บตัวอย่างดินบริเวณแหล่งปลูกพริกไทย 23
2.2 การตรวจหาจำนวนและชนิดของ AMF ในดินบริเวณแปลงปลูกพริกไทย 23
2.3 การเพิ่มปริมาณ AMF ในข้าวฟ่าง 24
2.3.1 การฆ่าเชื้อสปอร์ AMF 24
2.3.2 การเตรียมเมล็ดข้าวฟ่าง 24
2.3.3 การเตรียมดิน 24
2.3.4 การปลูก AMF ร่วมกับพืชอาศัย 24
2.4 การทดสอบประสิทธิภาพของ AMF ที่มีต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพริกไทย 25
2.4.1 การเตรียมดินปลูกพริกไทย 25
2.4.2 การเตรียมต้นกล้าพริกไทย 25
2.4.3 การเตรียมและการปลูกเชื้อ AMF ในต้นกล้าพริกไทย 25
2.4.4 การวัดอัตราการเจริญเติบโตของพืช 25
2.4.5 การตรวจสอบปริมาณธาตุอาหาร N P K ในต้นพริกไทย 26
2.4.6 การตรวจสอบปริมาณธาตุอาหาร N P K ในดิน 27
2.4.7 การวิเคราะห์เนื้อดิน 28
2.4.8 การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง 29
2.4.9 การวัดสภาพการนำไฟฟ้า (Electrical conductivity) 29

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.4.10 การวัดค่าอินทรียวัตถุในดิน 29
2.5 การตรวจสอบความหนาแน่นของการเข้าอาศัยอยู่ของ AMF ในรากพริกไทย 30
2.6 วิธีการแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืชและการจัดจำแนกชนิด 31
2.7 การทดสอบการต้านทานโรคของพริกไทยที่ได้รับการปลูกสปอร์ AMF 31
2.8 การวิเคราะห์ข้อมูล 32
2.9 วัสดุและอุปกรณ์ 32
2.9.1 ตัวอย่างพืช 32
2.9.2 วัสดุ อุปกรณ์ 32
2.9.3 เครื่องมือ 32
2.9.4 สารเคมี 32
2.10 สถานที่ทำการวิจัย 33
บทที่ 3 ผลการวิจัย 34
3.1 การสำรวจและเก็บตัวอย่างดินบริเวณแหล่งปลูกพริกไทย 34
3.2 การตรวจหาจำนวนและชนิดของ AMF ในดินบริเวณแหล่งปลูกพริกไทย 35
3.2.1 ชนิดและลักษณะของ AMF ที่พบในดินบริเวณแหล่งปลูกพริกไทย 36
3.3 การเพิ่มปริมาณสปอร์ AMF ในข้าวฟ่าง 42
3.4 การทดสอบประสิทธิภาพของ AMF ที่มีต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพริกไทย 43
3.5 วิธีการแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืชและการจัดจำแนกชนิด 50
3.6 การทดสอบการต้านทานโรคของพริกไทยที่ได้รับการปลูกเชื้อ 51
บทที่ 4 วิจารณ์ผลการทดลอง 54
บทที่ 5 บทสรุปและข้อเสนอแนะ 61
บรรณานุกรม 63
ภาคผนวก 69
ประวัติผู้เขียน 76

รายการตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1 เกณฑ์มาตรฐานของปริมาณธาตุอาหารในต้นพริกไทยเมื่อวินิจฉัยด้วยวิธีดรีส (DRIS) 8
2 เกณฑ์มาตรฐานของปริมาณธาตุอาหารในดินปลูกพริกไทยเมื่อวินิจฉัยด้วยวิธีดรีส (DRIS).....8
3 การเปลี่ยนค่า $EC_{1:5}$ เป็นค่า EC_e โดยคูณด้วยค่าคงที่ตามประเภทของเนื้อดิน 29
4 ผลการวิเคราะห์สมบัติดินตัวอย่างจากแหล่งพื้นที่ปลูกพริกไทย 34
5 ชนิดของ AMF ที่พบในดินบริเวณแปลงปลูกพริกไทยทั้ง 4 แหล่งปลูก..... 36
6 ลักษณะทางสัณฐานของสปอร์ AMF ที่แยกได้จากดินบริเวณแปลงปลูกพริกไทย 38
7 ชนิดของ AMF ที่พบในพื้นที่แปลงปลูกพริกไทยทั้ง 4 แหล่ง 41
8 จำนวนสปอร์ AMF ทั้งหมดในดินที่สามารถเพิ่มปริมาณได้ในข้าวฟ่าง..... 42
9 จำนวนสปอร์ในดินและเปอร์เซ็นต์การเข้าอยู่อาศัยในรากพริกไทย 43
10 ผลน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือดิน น้ำหนักแห้งของราก และน้ำหนักแห้งทั้งหมดของต้นพริกไทย เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่ปลูกเชื้อ AMF ชนิดต่างๆ..... 45
11 ผลพื้นที่ใบ ความยาวราก และจำนวนใบของพริกไทย ในชุดการทดลองที่ปลูกเชื้อเมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่ไม่ปลูกเชื้อ AMF..... 47
12 ปริมาณธาตุอาหาร N P K ในต้นพริกไทยที่ได้รับการปลูกเชื้อและไม่ได้รับการปลูกเชื้อ..... 49
13 ปริมาณธาตุอาหาร N P K ในดินที่ได้รับการปลูกเชื้อและไม่ได้รับการปลูกเชื้อ..... 50
14 พื้นที่การเกิดโรคแอนแทรคโนสของพริกไทย เมื่อปลูกร่วมกับ AMF ชนิดต่างๆ..... 53

รายการตารางภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ **หน้า**

1 จำนวนสปอร์ทั้งหมดในดินของ AMF จากดินบริเวณแปลงปลูกพริกไทยในจังหวัดนครศรีธรรมราช และสุราษฎร์ธานี 70
2 ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นกล้าพริกไทย หลังจากปลูกเชื้อ AMF เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อ ระยะเวลา 3 เดือน 71
3 ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นกล้าพริกไทยในทุกๆ 2 สัปดาห์ หลังจากปลูกเชื้อ AMF ชนิดต่างๆ เปรียบเทียบกับการทดลองที่ไม่ปลูกเชื้อ 71

รายการภาพ

ภาพที่ **หน้า**

1 ต้นพริกไทยจากแปลงปลูกพริกไทยจากอำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช 4
2 ภาพถ่ายลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของพริกไทย 5
3 ลายเส้นของพริกไทย 6
4 ลักษณะอาการของพริกไทยที่เกิดโรครากเน่า..... 10
5 ลักษณะอาการของพริกไทยที่เกิดโรคแอนแทรคโนส..... 10
6 แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ของราใน Phylum Glomeromycota..... 12
7 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสปอร์ในการจัดจำแนก AMF..... 14
8 ตัวอย่างรูปทรงและลักษณะก้านสปอร์ของ AMF แต่ละชนิด 14
9 การเกิดปฏิกิริยาระหว่างผนังชั้นในของสปอร์และลวดลายที่พบบนผนังชั้นนอกของสปอร์ .. 15
10 โครงสร้างแบบ arbuscule และ vesicle ของ AMF ที่พบในเซลล์รากพืช.....16
11 ขั้นตอนการแลกเปลี่ยนธาตุอาหารหลักจากดินสู่ AMF และระหว่าง AMF กับพืชอาศัย.....16
12 กระบวนการเข้าอาศัยของ AMF ในเซลล์รากพืช.....17
13 การตรวจนับเปอร์เซ็นต์การเข้าอาศัยอยู่ในรากพืช โดยวิธีการของ Trouvelet's method.....31
14 ความหนาแน่นของสปอร์ AMF ต่อดิน 100 กรัม จากบริเวณแปลงปลูกพริกไทย 35
15 ลักษณะสัณฐานวิทยาของสปอร์ AMF ที่แยกได้จากบริเวณรอบรากพริกไทย 39
16 ลักษณะสัณฐานวิทยาของสปอร์ AMF ที่แยกได้จากบริเวณรอบรากพริกไทย 40
17 รากพริกไทยที่มีการเข้าอยู่อาศัยของ AMF เมื่อย้อมด้วย trypan blue 44
18 ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นพริกไทยในทุกๆ 2 สัปดาห์ หลังจากปลูกเชื้อ AMF ชนิดต่างๆ เปรียบเทียบกับการทดลองที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อ 46
19 ความสูงของต้นกล้าพริกไทยเมื่อได้รับการปลูกเชื้อ เป็นระยะเวลา 3 เดือน 46
20 ลักษณะสัณฐานวิทยาของโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อและโคนิเดียภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสที่คัดแยกจากใบพริกไทย 50
21 ลำดับเบสบริเวณ ITS ของตัวอย่างเชื้อราโรคพืชที่แยกจากใบพริกไทย เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR..... 51
22 พื้นที่การเกิดโรคแอนแทรคโนสบนใบพริกไทย เมื่อปลูกร่วมกับ AMF ชนิดต่างๆ เปรียบเทียบกับการทดลองที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อ..... 52

รายการภาพภาคผนวก

ภาพภาคผนวกที่ **หน้า**

1 สวนพริกไทยอำเภอไชยา จังหวัดสุราษฎร์ธานี 72
2 สวนพริกไทยอำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช 72
3 สวนพริกไทยอำเภอท่าศาลา จังหวัดนครศรีธรรมราช 73
4 สวนพริกไทยอำเภอชะอวด จังหวัดนครศรีธรรมราช 73
5 การเก็บตัวอย่างดินที่ระดับความลึก 15 เซนติเมตร 74
6 การคัดแยกชนิดและนับจำนวนสปอร์ AMF 74
7 การเพิ่มปริมาณ AMF โดยใช้ข้าวฟ่างเป็นพืชอาศัย 74
8 การทดลอง AMF ในต้นพริกไทย 75

บทที่ 1
บทนำ

1.1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

พริกไทย เป็นพืชสมุนไพรและเครื่องเทศที่มีความสำคัญทางการค้ามาตั้งแต่อดีต พริกไทยจัดเป็นไม้เลื้อย เนื้อแข็ง อายุยืน มีประโยชน์และสรรพคุณทางยาค่อนข้างสูง มีสารต้านอนุมูลอิสระ ใช้ในการบรรเทาและรักษาโรคหลายชนิด เช่น ช่วยในการไหลเวียนของโลหิต ป้องกันโรคหอบหืด เป็นต้น (Sarmistha และ Ramtej, 2015) อีกทั้งปัจจุบันมีการนำน้ำมันหอมระเหยจากพริกไทยมาใช้เป็นส่วนผสมในอุตสาหกรรมอาหารและยากันอย่างแพร่หลาย (Hossein และคณะ, 2014) ทำให้พริกไทยจัดเป็นพืชที่มีความสำคัญในกลุ่มพืชสมุนไพรและเครื่องเทศซึ่งเป็นที่นิยมทั้งในประเทศและต่างประเทศ

ในด้านมูลค่าทางเศรษฐกิจนั้นพบว่า ในปี 2551 ประเทศไทยส่งออกพริกไทยจำนวน 1,745 ตัน คิดเป็นมูลค่าการส่งออก 87.93 ล้านบาท ซึ่งส่วนใหญ่จะส่งออกในรูปของพริกไทยเม็ดและพริกไทยป่น ในปี 2556 พบว่า มีเนื้อที่ให้ผลผลิตพริกไทยรวมทั้งประเทศ 7,010 ไร่ ลดลงจากปี 2555 จำนวน 244 ไร่หรือร้อยละ 3.36 และมีผลผลิตรวมทั้งประเทศ 3,800 ตัน ในขณะที่ปริมาณความต้องการในประเทศในปี 2555 มีจำนวน 4,848 ตัน จากข้อมูลข้างต้นแสดงให้เห็นว่าผลผลิตพริกไทยที่ผลิตได้ไม่เพียงพอต่อความต้องการใช้ภายในประเทศ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2555 อ้างโดยศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี, 2557) จากสถานการณ์การผลิตที่มีเนื้อที่ให้ผลผลิตลดลงจากปี 2555 นั้น เนื่องจากแหล่งพื้นที่ปลูกพริกไทยมีการระบาดของโรค อีกทั้งการเจริญเติบโตในระยะแรกของต้นพริกไทยไม่ดีเท่าที่ควร หากขาดการดูแลที่ดี ส่งผลให้ต้นพริกไทยทรุดโทรมหรือตายลงในที่สุด เกษตรกรหลายรายจึงเปลี่ยนไปปลูกพืชชนิดอื่นทดแทน ดังนั้นปัญหาการเจริญเติบโตของพริกไทยและการเข้าทำลายของโรคจึงนับเป็นปัญหาสำคัญของเกษตรกรผู้ปลูกพริกไทย

แหล่งปลูกพริกไทยในประเทศไทยที่พบว่าเป็นแหล่งปลูกที่ใหญ่ที่สุด คือ จังหวัดจันทบุรี รองลงมา ได้แก่ จังหวัดระยอง ตราด และมีการนำพริกไทยไปปลูกในภาคอื่นๆ เช่น เชียงใหม่ ตาก สุโขทัย พิษณุโลก และเพชรบูรณ์ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2552) รวมถึงในพื้นที่ภาคใต้ เนื่องจากการที่เกษตรกรประสบกับปัญหาราคายางพาราตกต่ำตั้งแต่ ปี พ.ศ. 2557 กรมการเกษตรจึงได้จัดโครงการส่งเสริมอาชีพให้แก่เกษตรกรชาวสวนยางปลูกพืชทดแทน เพื่อเพิ่มรายได้เสริม ซึ่งพืชทางเลือกชนิดหนึ่งที่เกษตรกรสนใจนำมาปลูก ได้แก่ พริกไทย เนื่องจากมีราคาดี ราคามีความเสถียร ตลาดมีความต้องการค่อนข้างสูง ทำให้มีพื้นที่ปลูกพริกไทยในภาคใต้กระจายอยู่ในหลายจังหวัด ได้แก่ สุราษฎร์ธานี กระบี่ ตรัง พังงา นครศรีธรรมราช และนราธิวาส เป็นต้น

เนื่องมาจากปัญหาการเจริญเติบโตและโรคพืช ทำให้มีผู้สนใจศึกษาวิธีการส่งเสริมการเจริญเติบโตและลดการเข้าทำลายของโรคพืชด้วยวิธีการต่างๆ ซึ่งพบว่าการใช้จุลินทรีย์บางชนิดสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคพืชได้ ราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (Arbuscular Mycorrhizal Fungi: AMF) เป็นราชนิดหนึ่งที่ได้รับความสนใจ โดย AMF จะดำรงชีวิตร่วมกับรากพืชแบบพึ่งพาอาศัย (symbiosis) การดำรงชีวิตร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัยทำให้ราและพืชได้รับประโยชน์

ร่วมกัน โดยราจะช่วยดูดซับและลำเลียงน้ำและธาตุอาหารส่งให้แก่พืช ขณะเดียวกันราจะได้รับสารประกอบคาร์บอนจำพวกน้ำตาลจากพืช (Smith และ Read, 1997 อ้างโดย Keishi และคณะ, 2007) นอกจากนี้รายังช่วยเพิ่มความทนทานของพืชในสภาวะเครียดเนื่องจากการขาดน้ำ (Ruiz-Lozano และคณะ, 1995) และความเค็ม (Sharifi และคณะ, 2007) ช่วยปรับปรุงโครงสร้างของดินและเพิ่มความต้านทานโรคพืช รวมถึงกระตุ้นกลไกการป้องกันตัวของพืชต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ (Gianinazzi และคณะ, 1996) จากบทบาทของ AMF แสดงให้เห็นว่า AMF เป็นองค์ประกอบที่สำคัญอย่างยิ่งในสังคมพืชตามธรรมชาติ (Borowicz, 2001) ทั้งด้านการเจริญเติบโต การยับยั้ง และป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อโรคพืช

จากประโยชน์ของ AMF ต่อพืชอาศัย ทำให้มีผู้สนใจนำ AMF มาใช้เพื่อส่งเสริมการเจริญของพืชหลายชนิดรวมทั้งต้นพริกไทยด้วย โดยมีรายงานว่า ปี ค.ศ. 2002 Thanuja และคณะ ได้ศึกษาผลของ AMF ในการเจริญเติบโตของพริกไทย ผลการวิจัยพบว่า การปลูกราชนิด *A. laevis* ส่งผลให้ต้นพริกไทยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูงที่สุด รวมถึงมีเปอร์เซ็นต์การเข้าอยู่อาศัยในรากและจำนวนสปอร์สูงที่สุดอีกด้วย ส่วนการปลูกเชื้อชนิด *Gi. margarita* ให้ผลน้ำหนักแห้งของรากและจำนวนรากของพริกไทยในระยะแรกสูงที่สุด ในปี ค.ศ. 2014 Wimalarathne และคณะ ได้ศึกษาผลของ AMF ชนิด *Funneliformis mosseae* ในพริกไทยสองสายพันธุ์ พบว่า การปลูกสปอร์เชื้อปริมาณ 75 กรัม สามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของยอดและรากพริกไทยได้สูงที่สุด จากงานวิจัยข้างต้นแสดงให้เห็นว่า AMF สามารถช่วยส่งเสริมการเจริญของต้นพริกไทยได้ จึงเป็นที่น่าสนใจในการนำ AMF มาใช้เพื่อส่งเสริมการเจริญของต้นพริกไทยในแหล่งปลูกในประเทศไทย รวมถึงในพื้นที่ภาคใต้ซึ่งมีพื้นที่ปลูกเพิ่มมากขึ้นในปัจจุบัน แต่ทั้งนี้จากงานวิจัยที่ผ่านมาเป็นการใช้ AMF เพื่อส่งเสริมการเจริญของต้นพริกไทยในต่างประเทศ คือ ประเทศอินเดียและศรีลังกา และเป็นการนำ AMF ที่ทราบชนิดแล้วมาใช้ในการทดลองโดยตรง ไม่ได้มาจากการคัดแยกจากพื้นที่ปลูกจริง ซึ่งการนำชนิดของ AMF มาใช้ในสภาพพื้นที่และสายพันธุ์พริกไทยที่แตกต่างกัน อาจส่งผลต่อการส่งเสริมการเจริญที่แตกต่างกันได้ ดังนั้นการสำรวจและคัดแยกชนิดของ AMF จากแหล่งปลูกจริงและนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการส่งเสริมเจริญเติบโตของพริกไทย จะทำให้ทราบชนิดของ AMF ที่เหมาะสมต่อการส่งเสริมการเจริญของพริกไทยในแหล่งปลูกนั้นๆ อีกทั้งในประเทศไทยยังไม่พบรายงานการสำรวจ และการใช้ AMF เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นพริกไทยมาก่อน

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการสำรวจและคัดแยก AMF ในแปลงปลูกพริกไทย พื้นที่ภาคใต้ตอนบน รวมทั้งทดสอบประสิทธิภาพของ AMF ที่คัดแยกได้ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าพริกไทย ซึ่งคาดว่าผลที่ได้รับจากการศึกษาครั้งนี้จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นพริกไทย ส่งผลให้เกิดประโยชน์แก่เกษตรกรผู้ปลูกพริกไทยต่อไป

1.2. การตรวจสอบเอกสาร

1.2.1 พริกไทย (Black Pepper)

พริกไทย เป็นพืชใบเลี้ยงคู่ มีลักษณะเป็นไม้เถาเนื้อแข็ง เลื้อยเกาะ ลำต้นตั้งตรงหรือทอดนอนไปตามพื้นดิน มีรากพิเศษ และมีอายุมากกว่า 15 ปี จนถึง 30 ปี ประเทศอินเดียเป็นหนึ่งในผู้ผลิตและส่งออกพริกไทยรายใหญ่ของโลก (Devasahayam, 2014) พริกไทยมีถิ่นกำเนิดในมาลาบาร์ ทางชายฝั่งตะวันตกของอินเดีย ซึ่งปัจจุบันคือ รัฐ Kerala (De Waard, 1986) และได้แพร่กระจายสู่เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ในประเทศอินโดนีเซียและมาเลเซียเป็นเวลานานกว่า 2,000 ปี โดยผู้อพยพชาวฮินดู ต่อมากระจายสู่ประเทศไทย เวียดนาม จีน และศรีลังกา ซึ่งในประเทศไทยได้มีการกระจายพันธุ์ของพริกไทยอยู่ทั่วทุกภาคของประเทศ โดยคาดว่ามีการเริ่มต้นปลูกพริกไทยอย่างจริงจังในปี 2300 จึงนับได้ว่าพริกไทยเป็นพืชที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งของประเทศ ซึ่งมีผลผลิตออกสู่ตลาดกว่า 1,174 ตัน ในปี 2557 (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2557)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ชื่อสามัญ black pepper, green pepper หรือ white pepper มีชื่อเรียกตามท้องถิ่นว่า พริกไทย หรือ พริกน้อย (ภาคเหนือ) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Piper nigrum* L. จัดอยู่ในวงศ์ Piperaceae พริกไทยมีความสูงถึง 4 เมตร (ภาพที่ 1) หากมีต้นไม้ เสา หรือระแนงช่วยในการยึดเกาะ ลำต้นจะเจริญออกเป็นกิ่งหรือแขนงได้ 3 ชนิด คือ ไหล เป็นส่วนที่เจริญมาจากโคนลำต้นที่อยู่เหนือและติดผิวดิน กระโดง เป็นกิ่งที่สมบูรณ์ อวบ มีขนาดใหญ่ ตามข้อจะมีรากยึดเกาะเกิดขึ้น และกิ่งข้าง เป็นกิ่งที่เจริญมาจากลำต้นเดิม แล้วแตกแยกเจริญต่อไปอีกหลายครั้งเกิดขึ้นโดยรอบลำต้นเดิมตั้งแต่โคนต้นจนถึงยอด

ลักษณะวิสัย เป็นไม้พุ่ม หรือไม้ล้มลุก ลำต้นมีลักษณะตั้งตรง หรือเลื้อยปกคลุมพื้นดิน ส่วนของลำต้นที่สัมผัสดินมีการเกิดรากและเจริญไปเป็นต้นใหม่ มีรากพิเศษที่ข้อ และมีต่อมหรือมีกลิ่นหอม (Tebbs, 1993)

ใบ เป็นประเภทใบเดี่ยว เรียงตรงข้ามและอยู่ในระนาบเดียวกัน หรือเรียงสลับ ใบจะมีหลายขนาดตั้งแต่ 13-25 เซนติเมตร (De Waele และ Leuven, 2010) ยอดที่ไม่สร้างดอกมีก้านใบสั้น หนา และแข็ง โคนก้านใบแผ่ออกหุ้มลำต้น ขอบใบเรียบ ผิวใบเรียบ มีต่อมน้ำมันเล็กๆ เส้นใบจะออกจากจุดเดียวกันเป็นรูปฝ่ามือ มีจำนวน 3 เส้นหรือมากกว่านั้น เส้นใบคู่สุดท้ายจะนูน (Backer และ van den Brink, 1963)

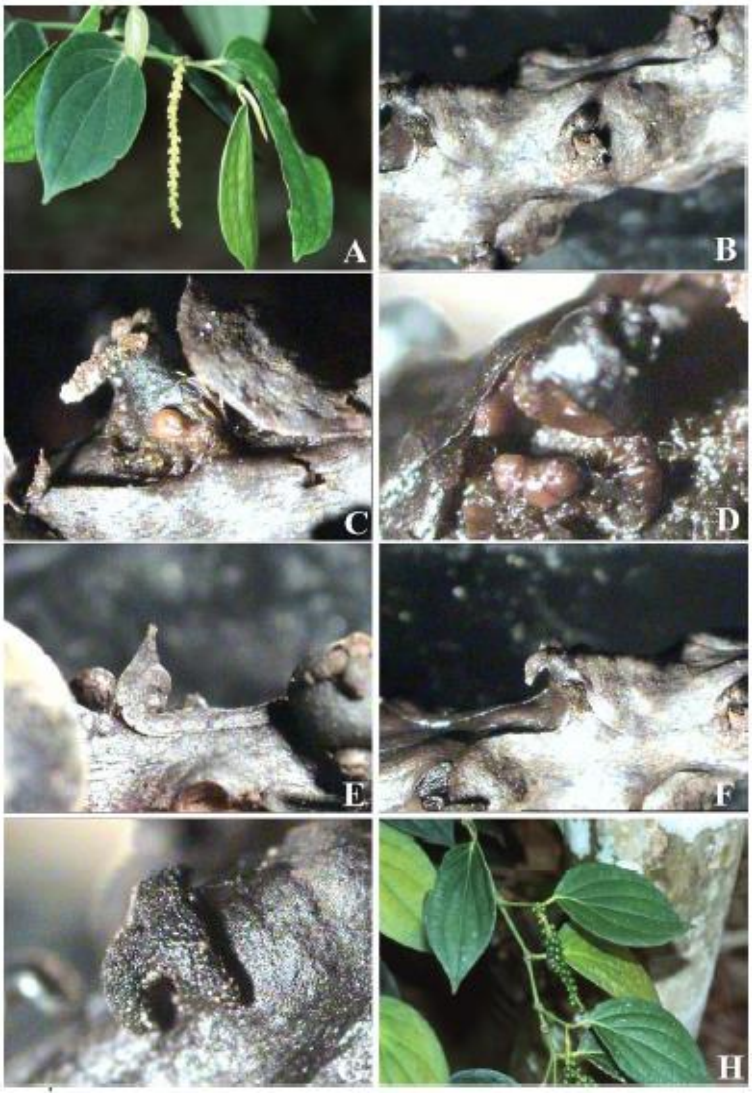
ช่อดอก เป็นแบบชนิดช่อเชิงลด (spike) ที่มีดอกย่อยอัดกันแน่น ช่อดอกออกตรงข้ามใบ หรือที่ปลายยอด ส่วนใหญ่ช่อดอกห้อยลง มีความยาวประมาณ 1.6-2 เซนติเมตร ก้านช่อดอกเจริญตามการเจริญของช่อดอก

ดอก มีขนาดเล็ก มีทั้งดอกที่สมบูรณ์เพศและดอกไม่สมบูรณ์เพศ (De Waele และ Leuven, 2010) มีใบประดับ มีก้านหรือไม่มีก้าน ไม่มีกลีบเลี้ยงและกลีบดอก เกสรเพศผู้มี 2-6 อัน ก้านชูอับเรณูกว้างและสั้น อับเรณูขนาดเล็กจรดกัน 4 พู ก้านชูอับเรณูติดที่ฐานของอับเรณู ยอดเกสร

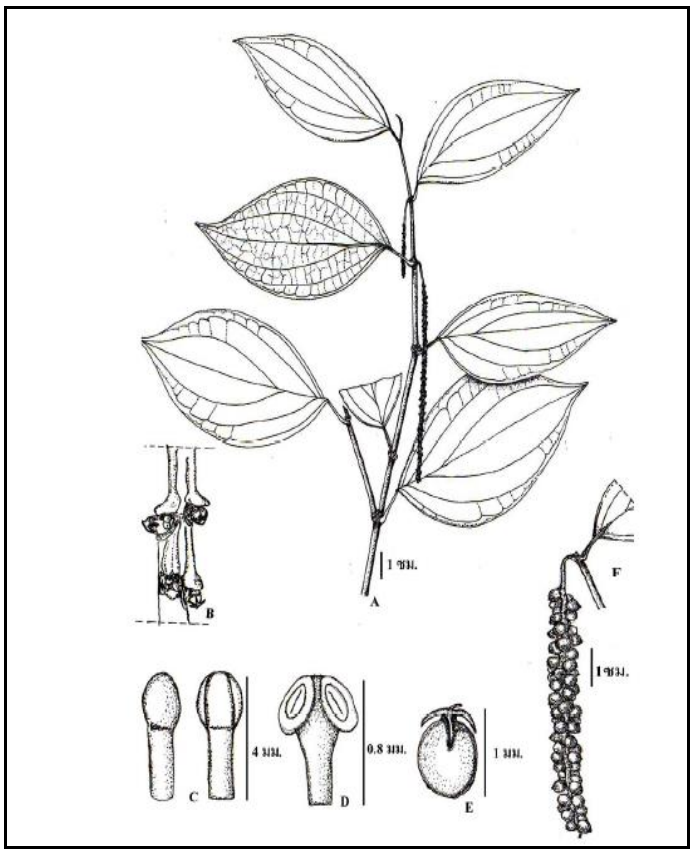
เพศเมียมี 2-5 แฉก รังไข่ติดอยู่บนแกนช่อดอกเพียงเล็กน้อย แต่อาจติดลึกเข้าไปในแกนช่อดอก (Backer และ van den Brink, 1963)

ผล ผลสดมีเนื้อนุ่ม มีเมล็ดขนาดเล็ก รูปร่างกลม มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3-4 มิลลิเมตร มีสีเหลืองปนแดง ผลมีก้านยาว 7-15 เซนติเมตร (De Waele และ Leuven, 2010) ยอดเกสรเพศเมียติดคงทน (Tebbs, 1993) (ภาพที่ 2 และ 3)

ภาพที่ 1 ต้นพริกไทยจากแปลงปลูกพริกไทยจากอำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช
ที่มา: นภาพร (2559)



ภาพที่ 2 ภาพถ่ายลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของพริกไทย (A): กิ่งที่มีช่อดอก (B): ช่อดอก (C): ดอกสมบูรณ์เพศ (D): เกสรเพศผู้ (E): ใบประดับ (F): เกสรเพศเมีย (G): ยอดเกสรเพศเมีย และ (H): กิ่งที่มีช่อผล
ที่มา: เฉลิมพล (2548)



ภาพที่ 3 ลายเส้นของพริกไทย (A): ใบและช่อดอก (B): ช่อดอก (C): ใบประดับ (D): เกสรเพศผู้ (E): เกสรเพศเมีย และ (F): ช่อผล
ที่มา: เฉลิมพล (2548)

ประโยชน์ของพริกไทย

พริกไทยเป็นเครื่องเทศที่สำคัญที่มนุษย์รู้จักและนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านอาหารและยา มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ประกอบไปด้วยคาร์โบไฮเดรต เส้นใย โปรตีน 11.3 เปอร์เซ็นต์ แป้ง 50 เปอร์เซ็นต์ แคลเซียม ฟอสฟอรัส เหล็ก วิตามินเอ วิตามินบี1 วิตามินบี 2 วิตามินซี และมีน้ำมันหอมระเหยที่มีสีเหลืองอยู่ประมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ คือ โมโนเทอร์ปีน (monoterpene) และเซสควิเทอร์ปีน (sesquiterpene) สารที่ทำให้มีกลิ่นฉุนเป็นสารแอลคาลอยด์ คือ ไพเพอรีน (piperine) สารที่ให้รสเผ็ด คือ คาวิซีน (chavicine) มีประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ และมีสารฟีนอลิกส์ (Phenolics) (ดวงจันทร์, 2547) การนำพริกไทยมาใช้ประโยชน์ทางด้านอาหาร เช่น นำมาใช้ในการแต่งกลิ่น รส หรือเป็นส่วนผสมทำเครื่องแกง ช่วยถนอมอาหารโดยการยับยั้งหรือฆ่าเชื้อที่ทำให้บูดเน่า ในทางการแพทย์มีการนำพริกไทยมาใช้ประโยชน์ต่างๆ เช่น ลดความดันโลหิตสูง มีฤทธิ์ระงับอาการคลื่นไส้ ใช้เป็นยากล่อมประสาท ส่วนของใบสามารถนำมาใช้ขับลม แก้จุกเสียด ดอกพริกไทยแก้ตาแดง และผลใช้ขับเหงื่อ ขับปัสสาวะ และกระตุ้นประสาท ในตำรายาจีนใช้พริกไทยแก้ปวดท้อง ท้องเดินจากโรคอหิวาต์ และแก้ไข้มาลาเรีย สาร piperine จากน้ำมันหอมระเหยในพริกไทยสามารถต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ แก้ระคายเคืองต่อผิวหนัง นำมาเจือจางแล้วสูดดมหรือทา ช่วยลดอาการหนาวสั่นจากหวัดและไข้หวัดใหญ่ ทำให้หายใจโล่ง ทั้งยังช่วยฆ่าเชื้อโรค

นิยมนำมาผสมน้ำมันนวดบรรเทาอาการปวดกล้ามเนื้อ กลิ่นของพริกไทยมีฤทธิ์กระตุ้นความสนใจ สภาพแวดล้อม ช่วยให้ตื่นตัว และส่งผลต่อความรู้สึกที่ดี (สรจักร, 2554)

พันธุ์ของพริกไทย

ส่วนใหญ่พันธุ์พริกไทยที่นำมาปลูกจะเป็นพันธุ์ที่มีดอกตัวผู้ และดอกตัวเมียอยู่บนต้นเดียวกัน (monoecious) ซึ่งในประเทศอินเดียมีการปลูกพริกไทยมากกว่า 75 สายพันธุ์ สายพันธุ์ที่นิยม คือ พันธุ์ที่นำมาจาก Kerala (Devasahayam และคณะ, 2014) ส่วนในประเทศไทยจะมีด้วยกันสองสายพันธุ์ที่นิยมนำมาปลูก คือ พันธุ์ซีลอน และพันธุ์ซาราวัค

1. พันธุ์ซีลอน จะมีสองแบบด้วยกัน คือ พันธุ์ซีลอนยอดแดงและพันธุ์ซีลอนยอดขาว ซึ่งพันธุ์ซีลอนยอดแดงเป็นพันธุ์ที่นำมาจากประเทศศรีลังกา นิยมปลูกเพื่อขายเป็นพริกไทยสดมากกว่าทำพริกไทยดำหรือขาว ลักษณะของยอดจะออกสีน้ำตาลแดง จึงเรียกกันว่า “ซีลอนยอดแดง” ส่วนพันธุ์ซีลอนยอดขาว นำมาจากประเทศศรีลังกาเช่นเดียวกับพันธุ์ซีลอนยอดแดง พริกไทยพันธุ์นี้เป็นพริกไทยพันธุ์ PANIYUR-1 ซึ่งเป็นพันธุ์ลูกผสมของประเทศอินเดีย ระหว่างพ่อพันธุ์ Uthirankota กับแม่พันธุ์ Cheriyakaniyakadan (Ghanara, 1994 อ้างโดย พนม, 2555) จะมีลักษณะเถาอ่อน สีจะเขียวอ่อนเกือบขาวโดยเฉพาะที่ยอดอ่อน จึงนิยมเรียกว่า “ซีลอนยอดขาว” ลักษณะต่างๆ จะคล้ายกับพันธุ์ซีลอนยอดแดง ที่แตกต่างกันคือ ส่วนยอด ช่อผลจะยาวกว่าพันธุ์ซีลอนยอดแดงเล็กน้อย การเจริญเติบโตเร็วกว่าพันธุ์ซาราวัค และผลสดจะมีลักษณะโตกว่าพันธุ์ซาราวัค นิยมปลูกเพื่อจำหน่ายเป็นพริกไทยสด

ลักษณะประจำพันธุ์ซีลอนยอดแดง ลำต้นอายุ 4 ปี มีความยาวเส้นรอบวงของลำต้นประมาณ 11-86 เซนติเมตร และมีความกว้างทรงพุ่มเฉลี่ย 180.6 เซนติเมตร ใบเดี่ยวปลายแหลม ขอบใบเรียบ ฐานใบเป็นแบบ obtuse มีร่องที่ก้านใบ ช่อดอกแบบ spike เกิดที่ช่องตรงข้ามกับใบ ช่อดอกมีลักษณะห้อยลงพื้น ไม่มีก้านดอก ผลสดจะมีสีเขียวเข้ม และเมื่อผลสุกจะมีสีแดง

ลักษณะประจำพันธุ์ซีลอนยอดขาว มีลักษณะเถาอ่อน สีจะเป็นสีเขียวอ่อนเกือบขาวโดยเฉพาะที่ยอดอ่อน ลักษณะอื่นๆ จะคล้ายกับพันธุ์ซีลอนยอดแดง มีส่วนที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน คือ ส่วนของยอด มีช่อผลที่ยาวกว่าพันธุ์ซีลอนยอดแดงเล็กน้อย และมีการเจริญเติบโตที่เร็วกว่าพันธุ์ซาราวัค นิยมปลูกเพื่อนำไปจำหน่ายในรูปแบบของพริกไทยสด (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2551)

2. พันธุ์ซาราวัค หรือพันธุ์คุชชิ่ง นิยมเรียกกันว่า “พันธุ์มาเลเซีย” เป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกกันมาก นำมาจากรัฐซาราวัค ประเทศมาเลเซีย สามารถต้านทานโรครากเน่าได้ดี เจริญเติบโตได้เร็ว และให้ผลผลิตสูง ถ้าต้นสมบูรณ์จะให้ผลผลิตน้ำหนักสดเฉลี่ย ประมาณ 9-12 กิโลกรัมต่อค้างต่อปี หรือไร่ละประมาณ 3,600-4,800 กิโลกรัมต่อปี เป็นพันธุ์สำหรับนำไปทำพริกไทยดำและพริกไทยขาว ซึ่งการเจริญเติบโตในแต่ละพื้นที่จะแตกต่างกัน ผลผลิตจึงแตกต่างกันไป (พนม, 2555)

ลักษณะประจำพันธุ์ซาราวัค ลำต้นอายุ 4 ปี มีขนาดของเส้นรอบวงโดยประมาณ 9.9 เซนติเมตร ทรงพุ่มกว้างเฉลี่ย 162.2 เซนติเมตร ใบเดี่ยว ปลายใบแหลมงอเล็กน้อย ขอบใบเรียบ ช่อดอกมีลักษณะเหมือนกับพันธุ์ซีลอน ผลเป็นช่อ ไม่มีก้านผล เมื่อผลสุกจะมีสีส้ม (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2551)

เกณฑ์มาตรฐานธาตุอาหารในต้นพริกไทยและดินปลูกพริกไทย

การเจริญเติบโตของพริกไทยนั้นจะต้องอาศัยปัจจัยและสภาพแวดล้อมต่างๆ ที่เหมาะสม จึงจะทำให้การเจริญเติบโตดำเนินไปด้วยดี แต่ในสภาพความเป็นจริงลักษณะดังกล่าวมักจะเกิดขึ้นได้ยาก จึงต้องมีการจัดการสภาวะต่างๆ ให้เหมาะสม ซึ่งการวินิจฉัยสถานะธาตุอาหารเพื่อประเมินความเหมาะสมในการดูแลรักษาและนำไปเทียบกับค่ามาตรฐาน สามารถช่วยในการจัดการสภาวะในการดูแลรักษาต้นพริกไทยให้เหมาะสมได้ โดยเกณฑ์มาตรฐานของธาตุอาหารในต้นและในดินปลูกพริกไทยเมื่อวินิจฉัยสถานะธาตุอาหารด้วยวิธีดรีส (Diagnosis and Recommendation Integrated System: DRIS) แสดงในตารางที่ 1 และ 2 (Srinivasan และคณะ, 2007)

ตารางที่ 1 เกณฑ์มาตรฐานของปริมาณธาตุอาหารในต้นพริกไทยเมื่อวินิจฉัยด้วยวิธีดรีส (DRIS)

Nutrients	Unit	Fertility status				
		Deficient	Low	Optimum	High	Excess
Nitrogen	%	< 1.06	1.06- 1.64	1.65-2.79	2.80-3.40	> 3.40
Phosphorus	”	< 0.03	0.03 – 0.10	0.11-0.26	0.27-0.37	>0.37
Potassium	”	< 0.33	0.33- 1.77	1.78-2.84	2.85-3.68	>3.68
Calcium	”	< 0.47	0.47- 1.41	1.42-3.33	3.34-4.30	>4.30
Magnesium	”	< 0.20	0.20-0.39	0.40-0.69	0.70-1.06	>1.06
Sulphur	”	< 0.01	0.01-0.08	0.09-0.29	0.30-0.38	>0.38
Iron	ppm	< 60	60-125	126-1145	1146-1796	>1796
Manganese	”	< 30	30-108	109-721	722-1027	>1027
Zinc	”	< 10	10-20	21-67	68-100	>100
Boron	”	<6	6-15	16-120	120-200	>200

ตารางที่ 2 เกณฑ์มาตรฐานของปริมาณธาตุอาหารในดินปลูกพริกไทยเมื่อวินิจฉัยด้วยวิธีดรีส (DRIS)

Nutrients	Unit	Fertility status			
		Deficient	Low	Optimum	High
pH		<4.00	4.0-4.71	4.75-6.15	6.16-6.88
Org. Carbon	%	<0.10	0.10-2.00	2.00-7.50	7.50-8.00
Bray Phosphorus	ppm	<0.60	0.60-12.0	12.0-96.0	97.0-150.0
Exch. Potassium	ppm	<35.0	36.0-90.0	91.0-289.0	290.0-930.0
Exch. Calcium	ppm	<15.0	15.0-60.0	61-1390	1391.0-2055.0
Exch. Magnesium	ppm	<8.0	8.0-40.0	40.0-194.0	195.0-300.0
DTPA Iron	ppm	<3.0	3.0-11.0	12.0-65.0	66.0-98.0
DTPA Manganese	ppm	<2.5	2.5-5.0	5.0-35.0	36.0-55.0
DTPA Zinc	ppm	<0.45	0.50-2.0	2.10-7.0	8.0-52.0
DTPA Copper	ppm	<0.11	0.12-0.50	0.51-7.7	7.8-142.0

โรคที่สำคัญในพริกไทย

ปัจจุบันพริกไทยมีแนวโน้มความต้องการบริโภคเพิ่มมากขึ้น ผู้บริโภคเริ่มให้ความสำคัญด้านสุขอนามัย และโภชนาการมากขึ้น แต่ผลผลิตที่ได้ในประเทศยังไม่เพียงพอต่อความต้องการ เนื่องจากมีปัญหาในด้านการเพาะปลูก เช่น สภาพดินเสื่อมโทรม สภาวะอากาศที่แปรปรวน การนำพันธุ์คุณภาพต่ำมาเพาะปลูก การใช้วิธีการเพาะปลูกที่ไม่ถูกต้อง เป็นต้น ส่งผลให้ผลผลิตพริกไทยมีปริมาณลดน้อยลง อีกทั้งปัญหาที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งในการปลูกพริกไทยคือ โรค เช่น โรครากเน่าและโคนเน่า โรคแอนแทรคโนส โรคใบไหม้ และโรครากขาว เป็นต้น

1. โรครากเน่า

สาเหตุ: เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora*

ลักษณะอาการ: ในระยะแรกเถาจะเหี่ยว เกิดจุดสีดำที่ใบกระจายตัวอย่างรวดเร็ว ทำให้ใบเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและร่วง ใบจะร่วงหมดต้นภายใน 7-14 วัน เถาและลำต้นจะเหี่ยวตั้งแต่ยอดถึงโคนต้นเป็นสีเหลืองดำ รากเน่าและมีกลิ่นเหม็น ต้นจะตายภายใน 1 เดือน

การระบาด: สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมแก่การระบาด คือ ในพื้นที่ที่การระบายน้ำไม่ดี ส่วนใหญ่จะระบาดในช่วงฤดูฝน ระหว่างเดือนตุลาคมถึงพฤศจิกายน (ภาพที่ 4) (Satyagopal และคณะ, 2015)

2. โรคแอนแทรคโนส (Anthracnose)

สาเหตุ: เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*

ลักษณะอาการ: เชื้อจะเข้าทำลายใบและผลของพริกไทย ทำให้เกิดเป็นจุดบุ๋มสีดำหรือสีน้ำตาลดำ บริเวณโดยรอบของจุดจะเป็นสีเหลือง (Devasahayam, 2014) เมื่อแผลได้ขยายใหญ่จะมีรูปร่าง และขนาดไม่แน่นอน แต่โดยทั่วไปแผลจะมีลักษณะค่อนข้างกลม ตรงกลางแผลจะแห้งเป็นสีน้ำตาลเข้ม หากเชื้อขยายการเข้าทำลาย จะเกิดเป็นแผลใหญ่ ถ้าหากโรคมีความรุนแรงมากก็จะทำให้เกิดชะงักการเจริญเติบโต หรือแห้งตายได้

การระบาด: ทุกช่วงการเพาะปลูก โดยเฉพาะในช่วงฤดูฝน โดยจะระบาดไปกับน้ำฝนและแมลง ตลอดจนติดไปกับยอดพันธุ์พริกไทย (ภาพที่ 5) (Satyagopal และคณะ, 2015)

3. โรคใบไหม้

สาเหตุ: เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani*

ลักษณะอาการ: เมื่อมีสภาพความชื้นที่มาก เชื้อราก็จะเริ่มลุกลาม ใบและลำต้นจะเริ่มมีจุดสีเทา แผลจะแห้ง และมีขนาดใหญ่ อาจจะแห้งบริเวณเนื้อในหรือจากขอบใบก็ได้ เมื่อเปรียบเทียบกับโรคใบจุดแล้วแผลที่เกิดจากอาการใบไหม้จะมีขนาดแผลที่ใหญ่กว่า และเป็นบริเวณกว้างกว่า (Devasahayam, 2014) เมื่อเชื้อลุกลาม มีสีน้ำตาลจะแพร่กระจายเป็นวงกว้าง จุดที่ติดเชื้อจะค่อยๆ เหี่ยวเฉาและแห้งตาย

การระบาด: เกิดอย่างรุนแรงในต้นกล้าพริกไทย ในช่วงเดือนเมษายนถึงพฤษภาคม (Satyagopal และคณะ, 2015)

4. โรครากขาว

สาเหตุ: เกิดจากเชื้อรา *Fomes lignosus*

ลักษณะอาการ: ใบเหลืองและร่วง ที่รากบางส่วนจะพบมีเส้นใยสีขาวปกคลุม ภายในรากจะเป็นสีเทา แต่จะไม่เป็นทุกราก

การระบาด: ในช่วงฤดูฝน (กรมวิชาการเกษตร, 2546)

ภาพที่ 4 ลักษณะอาการของพริกไทยที่เป็นโรครากเน่า

ที่มา: http://html.scirp.org/file/4-8102441x5.png (สืบค้นเมื่อ 1/12/60)

ภาพที่ 5 ลักษณะอาการของพริกไทยที่เป็นโรคแอนแทรคโนส

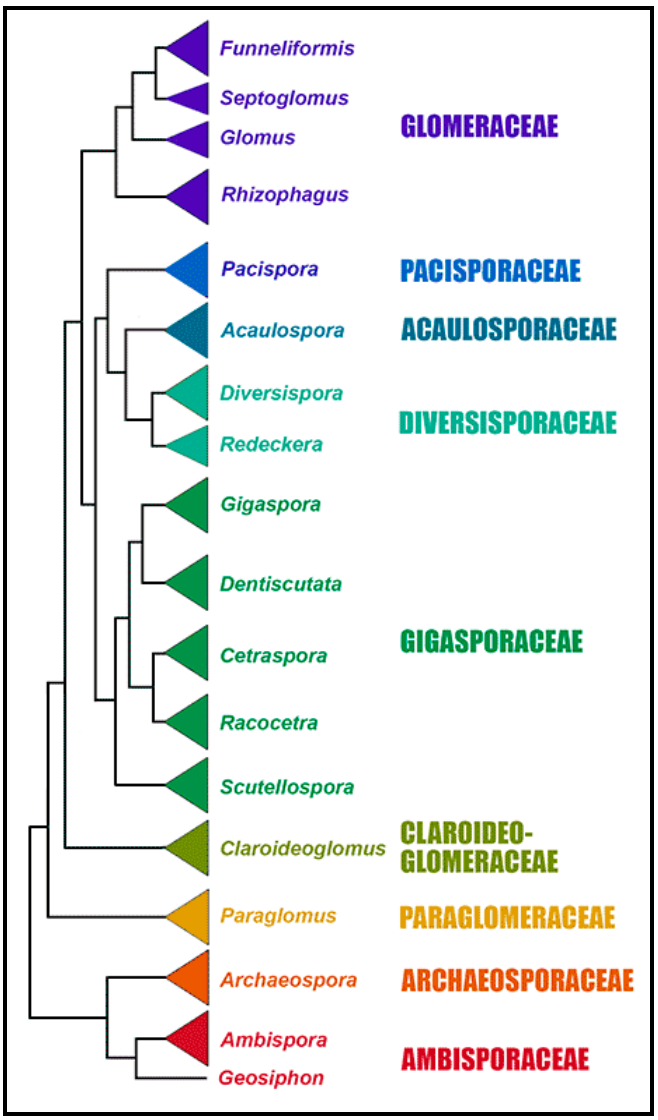
ที่มา: www.allkaset.com/mobile/diseases/โรคแอนแทรคโนส.php?show=1 (สืบค้นเมื่อ 1/10/60)

1.2.2 ราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (Arbuscular Mycorrhizal Fungi)

ในปี 1985 Frank ให้คำนิยามความสัมพันธ์ระหว่างราและรากพืชด้วยคำว่า “ไมคอร์ไรซา” แปลว่า ราที่อาศัยอยู่ร่วมกับรากพืช พบได้ทั่วไปในดิน และได้กล่าวถึงประโยชน์ของพืชที่มีราร่วมอาศัยอยู่ทำให้พืชมีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น (Sieverding, 1991; อ้างโดย โสภณ และคณะ, 2554) ในปี 1950 มีการศึกษาพบว่า AMF และรากพืชมีความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยกันเกื้อกูลประโยชน์ซึ่งกันและกัน (Martin และคณะ, 1995) AMF มีส่วนช่วยในการรักษาสมดุลในดิน มีบทบาทสำคัญมากในระบบนิเวศ ทั้งยังช่วยในการรักษาความหลากหลายของระบบนิเวศอีกด้วย (Rillig และ Mummey, 2006)

การจัดจำแนก AMF

AMF สามารถจัดจำแนกโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสปอร์ ลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจำแนก เช่น รูปร่าง ขนาด สี การงอกของสปอร์ การพัฒนาการของสปอร์ ลักษณะลวดลายของผนังสปอร์ และชั้นผนังของสปอร์ (Schenck และ Perez, 1990) และปัจจุบันได้มีการนำเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) มาใช้ในการจัดจำแนก AMF ถูกจัดจำแนกอยู่ใน Phylum Glomeromycota (Schubler และคณะ, 2001) (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ของราใน Phylum Glomeromycota
ที่มา: http//:www.invem.com (สืบค้นเมื่อ 01/10/60)

การจัดจำแนก AMF โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

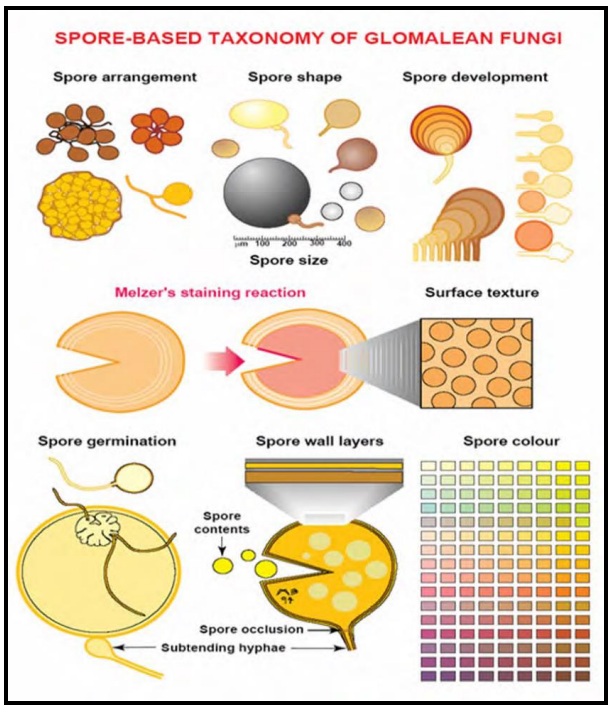
1. การเรียงตัวของสปอร์ สปอร์ของ AMF เป็นลักษณะเบื้องต้นที่นำมาใช้ในการจัดจำแนกชนิดของ AMF เนื่องจากสปอร์แต่ละชนิดจะมีลักษณะการสร้างสปอร์ที่ต่างกันไป ซึ่งบางชนิดสร้างสปอร์เดี่ยว แต่บางชนิดจะสร้างสปอร์เป็นกลุ่ม (sporocarp) (ภาพที่ 7)

2. โครงสร้างและขนาดของสปอร์ ขนาดของสปอร์จะมีความผันแปรไปตามชนิดของ AMF และอายุของสปอร์ โดยทั่วไปสปอร์ขนาดเล็กจะมีขนาดประมาณ 40-70 ไมครอน และสปอร์ขนาดใหญ่ประมาณ 200-1,000 ไมครอน (Brundrett และคณะ, 1996) ซึ่งสปอร์ส่วนใหญ่จะมีลักษณะกลม และสามารถพบรูปร่างรี รูปไข่ ลักษณะเรียวยาว หรือมีรูปทรงที่ไม่แน่นอน รวมไปถึงบริเวณก้านของสปอร์ (subtending hypha) จะพบได้หลายลักษณะ คือ ก้านเป็นแท่งผอมบาง คล้ายกรวย หรือปลายก้านโป่งออก นอกจากนี้บริเวณรอยต่อระหว่างสปอร์และก้านบางชนิดมีผนังเซลล์กั้น แต่บางชนิดจะไม่มีผนังเซลล์กั้น (ภาพที่ 8)

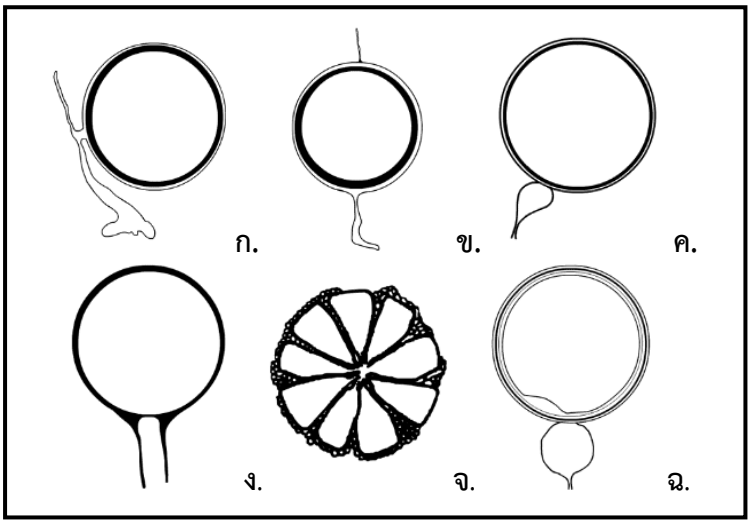
3. **พัฒนาการของสปอร์** การเจริญของสปอร์ตั้งแต่ระยะเริ่มสร้างจะสามารถใช้บ่งบอกชนิดของสปอร์ได้ เช่น สปอร์ของราชนิด *Glomus* จะเกิดบนเส้นใยที่มีลักษณะปกติไม่โป่งออก ซึ่งพบการสร้างสปอร์ทั้งภายในรากและภายนอกรากพืช ส่วนสปอร์ของ *Gigaspora* และ *Scutellospora* มีการสร้างของสปอร์บริเวณปลายเส้นใยที่มีลักษณะโป่ง (bulbous subtending hypha) และสปอร์ของ *Acaulospora* และ *Entrophospora* เป็นสปอร์ที่มีก้าน โดย *Acaulospora* จะสร้างสปอร์บริเวณด้านข้างของก้าน ส่วน *Entrophospora* สร้างบริเวณภายในก้าน

4. **ลักษณะและจำนวนชั้นผนังของสปอร์** ลักษณะของผนังสปอร์แต่ละชนิดจะมีลวดลายเฉพาะ เช่น ผนังผิวเป็นหลุมหรือรู (pits) แบบร่างแห (reticulations) แบบยอดหนาม (spines) หรือเป็นปุ่มปม (papillae) ในส่วนของจำนวนชั้นผนังสปอร์จะแตกต่างกัน ตั้งแต่จำนวนหนึ่งชั้นจนหลายๆ ชั้นประกอบกัน (ภาพที่ 9) รวมทั้งมีความแตกต่างด้านความหนาของผนังสปอร์

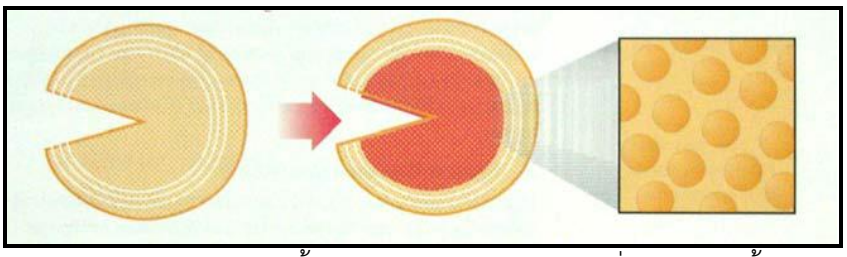
5. **สีของสปอร์** ผนังของสปอร์แต่ละชนิดจะมีสีแตกต่างกันไป ซึ่งจะสามารถตรวจสอบชนิดของ AMF โดยการใช้ color chart เปรียบเทียบสี ได้รับการออกแบบโดย Morton (1992) และแสดงผลเป็นค่าเปอร์เซ็นต์ CMY (Cyan Magenta และ Yellow) เพื่อใช้เป็นมาตรฐานในการเปรียบเทียบ หรือระบุสีของสปอร์แบบสากล



ภาพที่ 7 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสปอร์ในการจัดจำแนก AMF
ที่มา: Brundrett และคณะ (1996)



ภาพที่ 8 ตัวอย่างรูปทรงและลักษณะก้านสปอร์ของ AMF แต่ละชนิด (ก): *Acualospora* (ข): *Entrospospora* (ค): *Gigaspora* (ง): *Glomus* (จ): *Sclerocystis* และ (ฉ): *Scutellospora*
ที่มา: The University of Sydney (2012)



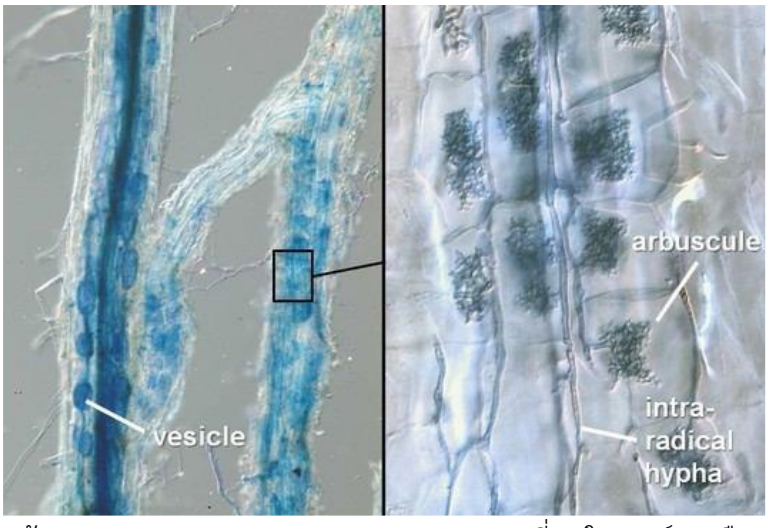
ภาพที่ 9 การเกิดปฏิกิริยาระหว่างผนังชั้นในของสปอร์และลวดลายที่พบบนผนังชั้นนอกของสปอร์
ที่มา: Brundett และคณะ (1996)

การเจริญเติบโตและโครงสร้างของ AMF

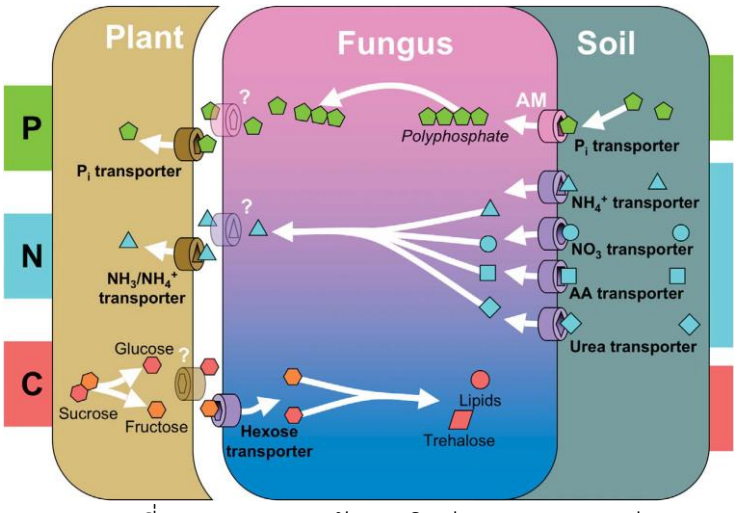
AMF เป็นราที่สร้างเส้นใยเจริญเข้าไปอยู่ภายในชั้นคอร์เท็กซ์ของเซลล์ราก และจะสร้างโครงสร้าง 2 แบบ สำหรับดูดซับธาตุอาหารภายในเซลล์ชั้นคอร์เท็กซ์ คือ โครงสร้างแบบ arbuscule เป็นโครงสร้างที่อยู่ภายในเซลล์ชั้นคอร์เท็กซ์ เกิดจากการแตกแขนงของเส้นใยราแบบ 2 แขนงต่อเนื่อง มีลักษณะผนังหนา รูปร่างคล้ายต้นไม้แตกกิ่งก้านสาขา (dwarf tree) แขนงของเส้นใยจะแทรกทะลุผ่านผนังเซลล์พืชเข้าไปในเซลล์ โดยทั่วไป arbuscule จะมีอายุสั้น ประมาณ 1-2 สัปดาห์ ก่อนจะสลายตัวหรือถูกพืชย่อยสลาย ถึงอย่างไรก็ตามอัตราการสลายตัวของ arbuscule จะมีอัตราใกล้เคียงกับการสร้างขึ้นใหม่ arbuscule แตกกิ่งก้านสาขาได้จำนวนมาก เพื่อจะเพิ่มพื้นผิวในการแลกเปลี่ยนสาร (Sieverding, 1991 อ้างโดย โสภณ และคณะ, 2554) และโครงสร้างแบบ vesicle จะมีลักษณะรูปร่างโป่งพองออกบริเวณส่วนปลายของเส้นใยรา ลักษณะกลมหรือรี ผนังบาง ซึ่งประกอบไปด้วยหยดไขมันใช้สำหรับเก็บสะสมอาหารของรา vesicle จะเกิดขึ้นหลัง arbuscule และมักจะเกิดกับรากฝอยมากกว่ารากอื่นๆ (ภาพที่ 10) รากพืชที่มี AMF อาศัยอยู่จะสามารถเจริญได้ตามปกติ และไม่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพ แต่จะพบรากพืชบางชนิดมีการเปลี่ยนสีเป็นสีเหลืองอ่อน และไม่มีขนราก ซึ่งสีเหลืองจะจางไปเมื่อได้รับแสง (Harley และ Smith, 1983)

AMF ไม่สามารถมีวงจรชีวิตได้สมบูรณ์หากขาดการพึ่งพาอาศัยกับรากพืช ในการอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัยนั้น AMF ต้องการแหล่งคาร์บอนจากพืชที่เป็นพืชอาศัย (host plant) ผ่านตัวขนส่งของรา (hexose) ในขณะเดียวกัน AMF ช่วยกระตุ้นการดูดซึมธาตุอาหารอนินทรีย์ เช่น ฟอสเฟต แอมโมเนียม ไนเตรต และกรดอะมิโน ผ่านช่องทางที่เลือกผ่านบนเยื่อหุ้มเซลล์ของรากและเคลื่อนย้ายไปสู่พืช (ภาพที่ 11) (Bonfante และ Genre, 2010) ดังนั้น AMF จึงได้รับสารอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรตจากพืช ในขณะที่พืชจะได้รับธาตุอาหารต่างๆ จากรา และสปอร์ของ AMF ได้รับการกระตุ้นให้เกิดการงอกโดยของเหลวจากรากพืช (root exudate) ทำให้สามารถสร้างเส้นใยราเพิ่มและมีการแตกสาขามากขึ้น นอกจากนี้รายังสร้าง mycorrhizal factors (Myc) ซึ่งก่อให้เกิดการกระตุ้นการทำงานของยีนต่างๆ ในพืชที่เกี่ยวข้องกับการเจริญร่วมกับรา โดย AMF จะสร้าง appressoria (หรือ hyphopodium) แล้วจะพัฒนาไปเป็นเส้นใยราที่เจริญเต็มที่ เพื่อแทงเข้าไปเจริญภายในเซลล์รากพืช และพืชจะสร้าง prepenetration apparatus (PPA) เพื่อเป็นการนำทางให้เส้นใยราเจริญจากเซลล์รากไปยังชั้น cortex หลังจากนั้นเส้นใยราจะเจริญไปตามแนวยาวของรากพืช แล้วจะสร้างสารที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงกับ PPA ของพืช (PPA like structures) ภายในเซลล์รากเพื่อเพิ่มการแตกแขนงของเส้นใยรา และสร้างโครงสร้าง arbuscule ต่อไป AMF บางชนิดจะสามารถ

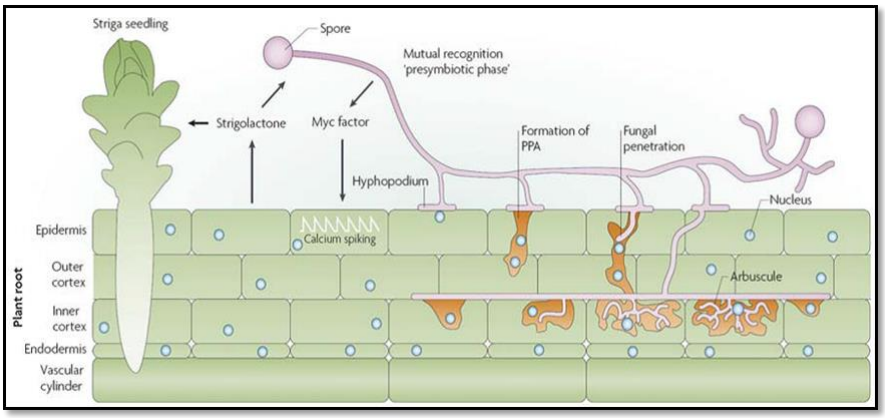
สร้างโครงสร้างแบบ vesicle ซึ่งสปอร์ของ AMF จะสร้างภายนอกเซลล์รากพืชอยู่ที่บริเวณปลายของเส้นใย (ภาพที่ 12) (Parniske, 2008)



ภาพที่ 10 โครงสร้างแบบ arbuscule และ vesicle ของ AMF ที่พบในเซลล์รากพืช
ที่มา: เชิดชัย (2554)



ภาพที่ 11 ขั้นตอนการแลกเปลี่ยนธาตุอาหารหลักจากดินสู่ AMF และระหว่าง AMF กับพืชอาศัย
ที่มา: Bonfante และ Genre (2010)



ภาพที่ 12 กระบวนการเข้าอาศัยของ AMF ในเซลล์รากพืช
ที่มา: Parniske (2008)

ประโยชน์ของ AMF

ในการเข้าอยู่อาศัยของ AMF ร่วมกับรากพืช นอกจากราจะได้รับสารอาหารจากพืชแล้ว พืชที่มี AMF เข้าอยู่อาศัยจะได้รับประโยชน์จากราเช่นกัน โดยราจะช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของพืช เส้นใยที่อยู่ภายนอกรากพืชจะทำหน้าที่เสมือนรากฝอยของต้นพืช ช่วยในการดูดซับธาตุอาหารต่างๆ โดยเฉพาะธาตุอาหารที่เคลื่อนที่ได้ยากในดิน เช่น ฟอสฟอรัส (Eckhard และคณะ, 1995) เนื่องจาก AMF มีเส้นใยทั้งในรากพืชชั้นคอร์เท็กซ์ และส่วนที่เจริญสู่ภายนอกราก เนื่องจากเส้นใยราสามารถเจริญและแผ่เส้นใยได้ไกลกว่าบริเวณรอบรากจึงสามารถเพิ่มพื้นที่ในการดูดซับธาตุอาหารได้มากกว่ารากพืช และเส้นใยรายังมีขนาดเล็กกว่ารากพืช จึงสามารถแทรกเข้าไปในส่วนต่างๆ ของโครงสร้างดินได้ดีกว่าการมีระบบรากพืชเพียงอย่างเดียว AMF ยังสามารถผลิตกรดอินทรีย์ช่วยในการสลายฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปที่ไม่สามารถละลายน้ำ (solubilization of insoluble phosphate) ให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ได้ ส่วนสารประกอบที่อยู่ในรูป organic phosphate จะมีจุลินทรีย์ภายในดินผลิตเอนไซม์ phosphatase ทำให้ฟอสเฟตถูกปลดปล่อยออกมา และเส้นใย AMF จะทำหน้าที่ดูดซับไว้ แล้วลำเลียงไปยังรากพืชด้วยวิธีการลำเลียงแบบใช้พลังงานจากการทำงานของเอนไซม์ H^+-ATPase บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ที่สัมผัสกันระหว่างราและพืชอาศัย (สมจิตร, 2549) ทำให้พืชได้รับฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้น สามารถช่วยลดค่าใช้จ่ายในการใช้ปุ๋ย อีกทั้งยังช่วยรักษาสิ่งแวดล้อม และยังช่วยในการดูดซึมธาตุอาหารอื่นๆ ที่จำเป็นต่อพืช เช่น ไนโตรเจน สังกะสี ทองแดง เป็นต้น

นอกจากนี้ AMF ยังช่วยเพิ่มความทนทานของพืชในสภาวะต่างๆ เช่น สภาวะการขาดน้ำ โดยจะช่วยดูดซับน้ำให้แก่พืชผ่านทางเส้นใยราที่แพร่กระจายในดิน เนื่องจากเส้นใยมีขนาดเล็กมากจึงสามารถดูดซับน้ำจากช่องบรรจุน้ำในดินขนาดเล็กได้ดีกว่ารากพืช (Faber และคณะ, 1991) และยังช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวในการดูดซับน้ำ โดยเส้นใยราสามารถแทรกผ่านเข้าไปในส่วนต่างๆ ของเม็ดดินที่มีขนาดเล็กได้ ทำให้มีการดูดซับน้ำได้มากยิ่งขึ้น และยังช่วยเพิ่มความทนทานของพืชในสภาวะเครียดเนื่องจากการขาดน้ำ ซึ่งเมื่อเกิดการขาดน้ำ พืชที่มี AMF อาศัยอยู่ในรากจะมีการสะสมสารโพรลีนในเซลล์เพิ่มมากขึ้น เพื่อรักษาปริมาณของน้ำในเซลล์ไว้ตามกลไก osmotic adjustment ทำให้ศักย์ของน้ำในพืชลดลง การคายน้ำจึงลดลงด้วย (Ruiz-Lozano และคณะ, 1995) อีกทั้งยังช่วย

เพิ่มความทนทานของพืชในสภาวะเครียดเนื่องจากความเค็ม พืชจะมีกลไกป้องกันตัวเองโดยจะสะสมสารอินทรีย์ในเซลล์ทำให้แรงดันออสโมซีสภายในเซลล์ลดลง (osmotic adjustment) เพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำออกจากเซลล์จนอาจทำให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์รากพืช จากรายงานการวิจัยการศึกษาพืชที่มีและไม่มี AMF เข้าอยู่อาศัยในรากภายใต้สภาวะความเค็ม พบว่า พืชที่มีราอาศัยอยู่ในรากจะมีการสะสมสารอินทรีย์ในเซลล์มากกว่าพืชที่ไม่มีราอาศัยอยู่ จึงทำให้พืชที่มี AMF เข้าอาศัยในรากสามารถทนต่อสภาวะความเค็มได้ดีกว่า (Sharifi และคณะ, 2007)

ในส่วนของการปรับปรุงดิน AMF สามารถช่วยปรับปรุงโครงสร้างของดิน โดยการผลิต glycoprotein ที่เรียกว่า glomalin ซึ่งจะทำหน้าที่เสมือนกาวที่เชื่อมเส้นใยรากับอนุภาคของดินให้ติดกันแน่น จากงานวิจัยของ Wright และ Upadhyaya (1998) แสดงให้เห็นว่า glomalin และเส้นใยรานอกรากพืชของ AMF มีอิทธิพลต่อความแข็งแรงคงทนของเม็ดดิน ทำให้ AMF มีบทบาทสำคัญต่อการป้องกันการกร่อนของดินได้ดี อีกทั้งยังช่วยเพิ่มความต้านทานโรคพืชทางระบบรากได้ดี โดยราสามารถเข้าครอบครองบริเวณขอบเขตรากพืชและมีการแข่งขันเพื่อเข้าอยู่อาศัยในรากพืช จึงทำให้เชื้อสาเหตุโรคพืชมีโอกาสเข้าทำลายเซลล์รากพืชได้น้อยลง และสามารถกระตุ้นกลไกการป้องกันตัวของพืชต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ (Gianinazzi และคณะ, 1996) จากบทบาทของ AMF แสดงให้เห็นว่า AMF เป็นองค์ประกอบที่สำคัญอย่างยิ่งในสังคมพืชตามธรรมชาติ (Borowicz, 2001) ทั้งด้านการเจริญเติบโต การยับยั้ง และป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อโรคพืช

AMF พบได้ทั่วไปในดิน (Gerdemann และ Trappe, 1975 อ้างโดย โสภณ และคณะ, 2554) มีการดำรงชีวิตร่วมกับพืชเศรษฐกิจหลายชนิด และพบรายงานการนำ AMF มาศึกษาร่วมกับพืชหลายชนิด เช่น พริก (Boonlue และคณะ, 2012) มะขามป้อม (Srinivasan และคณะ, 2012) มะเขือเทศสีดา (สิริพร, 2554) และข้าว (ศุภธิดา และ ชฎาพร, 2557) เป็นต้น พริกไทยเป็นพืชอีกชนิดหนึ่งที่ได้รับความสนใจนำมาศึกษาผลของการใช้ AMF ซึ่งในปี 1994 Anandaraj และ Sarma ได้ศึกษาผลของ AMF ต่อการเจริญเติบโตของพริกไทย โดยปลูกเชื้อ *G. fasciculatum* ให้แก่พริกไทยร่วมกับวัสดุปลูกที่แตกต่างกัน 5 ชุดทดลอง คือ 1) ปลูกพริกไทยในเพอร์ไลต์โดยเติม AMF ที่ได้จากรากของหญ้าโร้ด 2) ทำการทดลองเช่นเดียวกับชุดทดลองที่ 1 แต่ปลูกในดินทรายและเพอร์ไลต์ในอัตราส่วน 1:1 3) ทำการทดลองเช่นเดียวกับชุดทดลองที่ 2 แต่ผสมฮอร์โมน Caradix B 4) ปลูกโดยใช้ดินทรายผสมฮอร์โมน Caradix B และ 5) ปลูกด้วยดินทรายเพียงอย่างเดียว พบว่าปริมาณรากพริกไทยลดลงเมื่อเติมฮอร์โมน Caradix B และการใช้วัสดุปลูกที่เติม AMF จากหญ้าโร้ดในเพอร์ไลต์ ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดรากในพริกไทยสูงที่สุด ต่อมาในปี 2002 Thanuja และคณะ ศึกษาผลของ AMF ในการชักนำรากและการเจริญเติบโตของรากพริกไทย โดยทดสอบกับ AMF ทั้งหมด 3 ชนิด คือ *A. laevis*, *Gi. margarita* และ *G. fasciculatum* ในพริกไทยสายพันธุ์ Panniyur-1 หลังการปลูกราทั้ง 3 ชนิด เป็นระยะเวลา 75 วัน พบว่า *A. laevis* ส่งผลให้ต้นพริกไทยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูงที่สุด คือ ร้อยละ 69.96 รวมถึงมีเปอร์เซ็นต์การเข้าอยู่อาศัยของราในรากและจำนวนสปอร์ที่สูงที่สุด คือ ร้อยละ 79.58 และ 176.42 สปอร์ ตามลำดับ การปลูกร่วมกับ *Gi. margarita* ให้ผลน้ำหนักแห้งของรากและจำนวนรากของพริกไทยในระยะแรกสูงที่สุด ส่วนการปลูกเชื้อ *G. fasciculatum* สามารถเพิ่มความยาวรากในระยะแรกได้สูงสุด และยังพบว่ามีปริมาณฟอสฟอรัสในต้นสูงที่สุดอีกด้วย

Mala และคณะ (2010) ศึกษาผลของสปอร์ *G. mosseae* ในพริกไทยสายพันธุ์พื้นเมือง คือ พันธุ์ GK49 โดยเติมสปอร์ของ AMF ในจำนวนที่แตกต่างกันคือ 0, 75, 150 และ 300 กรัมต่อต้น จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงในโรงเรือนเพาะชำ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน พบว่า มีการเข้าอยู่อาศัยของ *G. mosseae* ในรากที่ปลูกสปอร์เชื้อปริมาณ 300 กรัม สูงที่สุด ซึ่งมีการแตกแขนงของเส้นใย 100 เปอร์เซ็นต์ เกิด vesicles 94 เปอร์เซ็นต์ และมีสปอร์ 769 สปอร์ต่อ 50 กรัมของดิน เมื่อระยะเวลาผ่านไป 6 เดือน พบว่า การปลูกสปอร์ของเชื้อจำนวน 150 กรัม ให้ผลน้ำหนักแห้งของยอดสูงที่สุด (5.07 กรัม) และมีความยาวของรากสูงสุด 2,740 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองที่ไม่ปลูกเชื้อจะให้ผลน้ำหนักแห้ง และความยาวรากที่ต่ำ คือ 3.28 กรัม และ 1,952 เซนติเมตร ตามลำดับ และในปี 2014 Wimalarathne และคณะ ได้ศึกษาผลของ AMF ต่อการเจริญเติบโตของยอดและรากของพริกไทย โดยใช้ AMF ชนิด *F. mosseae* ทำการทดลองโดยปลูกสปอร์ราจำนวน 75, 100 และ 150 กรัมต่อต้น ในพริกไทยสองสายพันธุ์คือ พันธุ์ Panniyur-1 และ GK49 เพาะเลี้ยงไว้ในโรงเรือนเพาะชำเป็นเวลา 3 เดือน พบว่า การปลูกสปอร์ของเชื้อปริมาณ 75 กรัม สามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของยอดและรากสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับต้นพริกไทยที่ไม่ได้รับการปลูกสปอร์ AMF ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และพบว่าสายพันธุ์ Panniyur-1 และ GK49 ให้ผลน้ำหนักแห้งของต้นและราก และค่าเฉลี่ยความยาวรากที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาผลของ AMF ในพืชชนิดอื่น โดยเมธาวีการณ์ และโสภณ (2554) ได้ตรวจหาชนิดของ AMF รอบรากอ้อยที่ปลูกในแปลงเกษตรกร และศึกษาผลของ AMF ต่อการเจริญเติบโตของอ้อยในสภาพเรือนทดลอง โดยนับจำนวนสปอร์ในดินและการเข้าอยู่อาศัยของราในรากจากแปลงเกษตรกรในเขตจังหวัดขอนแก่น อุดรธานี และนครราชสีมา พบปริมาณสปอร์ตั้งแต่ 1.0-8.5 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม การเข้าอยู่อาศัยของราอยู่ระหว่างร้อยละ 8.0-71.4 และพบการแพร่กระจายมากที่สุดในราสกุล *Glomus* spp. และ *Acaulospora* spp. การศึกษาผลของ AMF ชนิดต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของอ้อย พบว่า การปลูกเชื้อ *G. claroideum* และ *G. pastulatum* ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบต่อของอ้อยได้ดีที่สุด ทำให้อ้อยมีความสูง น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของลำต้น และมีปริมาณธาตุอาหารหลักสูงกว่าอ้อยที่ไม่ได้ปลูกเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ต่อมาในปี 2555 จักรพงษ์ และคณะ ศึกษาการใช้ AMF และพีจีพีอาร์ (PGPR) ต่อการดึงดูดธาตุอาหาร การเจริญเติบโตและผลผลิตของลำไย โดยสำรวจและเก็บตัวอย่างดินบริเวณใต้ทรงพุ่มสวนลำไย 6 อำเภอในเขตจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน คือ อำเภอสันป่าตอง อำเภอหางดง อำเภอสารภี อำเภอแม่ออน อำเภอแม่ทา และอำเภอทุ่งหัวช้าง จากการศึกษาพบว่า ปริมาณ AMF ในตัวอย่างดินทั้ง 6 อำเภอมีค่าเฉลี่ย 17.0 สปอร์ต่อดิน 10 กรัม ซึ่งพบว่า อำเภอสารภีมีปริมาณสปอร์หนาแน่นที่สุด คือ 19.67 สปอร์ต่อดิน 10 กรัม สำหรับผลของการใช้ AMF และ PGPR ต่อการดึงดูดธาตุอาหาร การเจริญเติบโตและผลผลิตของลำไยในสภาพแปลงปลูกพบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างของดินระดับบนลดลงเล็กน้อย และเมื่อครบระยะเวลาการทดลองพบว่า การใช้ AMF เพียงอย่างเดียวใต้ทรงพุ่มลำไยทำให้ปริมาณฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมสูงกว่าการทดลองอื่นๆ ทั้งในดินระดับบนและดินระดับล่าง

ในปี 2556 กุลวดี ได้ศึกษาความหลากหลายของ AMF ในดินรอบรากต้นยางพารา จังหวัดแพร่ พะเยา และอุดรธานี ทำการตรวจสอบชนิดของ AMF โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบ AMF ทั้งหมด 11 สปีชีส์ และพบสกุล *Funneliformis* บ่อยที่สุดในทุกดินตัวอย่างที่ทำการศึกษา ความหนาแน่นของสปอร์ในดินรอบรากในจังหวัดแพร่ พะเยา และอุดรธานี มีจำนวน 115 104 และ 23 สปอร์ต่อดิน 100 กรัม ตามลำดับ เมื่อเพิ่มปริมาณสปอร์จากดินตัวอย่างโดยใช้ข้าวโพด และข้าวฟ่างเป็นพืชอาศัย พบว่า ในข้าวโพดมีเปอร์เซ็นต์การเข้าอาศัยและมีปริมาณสปอร์มากกว่าในข้าวฟ่าง ด้านการศึกษาอิทธิพลของ AMF ต่อการเจริญเติบโตของกล้ายางพารา พบว่า การปลูกเชื้อ *F. mosseae* ช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นยางพาราได้ดีกว่าการปลูกเชื้อชนิดอื่นๆ ต่อมามีการศึกษาพืชอาศัยเพื่อขยาย AMF จากสวนลำไย โดยอังคณา และคณะ (2557) โดยวางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล ซึ่งมีปัจจัยหลัก 3 ปัจจัย ได้แก่ 1) แหล่งที่มาของสปอร์ 2 แหล่ง คือแปลงลำไยอินทรีย์และแปลงลำไยที่มีการใช้สารเคมี 2) ลักษณะของสีสปอร์รา 3 แบบ คือ สปอร์สีแดง สีดำ และสีใส ที่แยกจากดินในแปลงปลูกลำไย 3) พืชอาศัย 3 ชนิด ได้แก่ ข้าวโพด ข้าวฟ่าง และผักกาดหอมใบแดง ทำการบันทึกจำนวน AMF ที่เพิ่มปริมาณได้เมื่อพืชอาศัยครบอายุการเก็บเกี่ยว ซึ่งพบว่า แหล่งที่มาของสปอร์ ลักษณะของสปอร์ และชนิดพืชอาศัย รวมถึงอิทธิพลร่วมระหว่างแหล่งที่มาของสปอร์กับลักษณะของสปอร์ แหล่งที่มาของสปอร์กับชนิดพืชอาศัย และลักษณะของสปอร์กับชนิดพืชอาศัย มีผลต่อการขยายปริมาณของ AMF โดยพบว่า สปอร์สีแดงที่แยกได้จากแปลงลำไยอินทรีย์ที่ปลูกเชื้อในข้าวฟ่างและข้าวโพด สปอร์สีใสที่แยกได้จากแปลงลำไยอินทรีย์โดยปลูกเชื้อในข้าวฟ่าง และสปอร์สีแดงที่แยกได้จากแปลงลำไยที่ใช้สารเคมีปลูกเชื้อในข้าวโพด มีความสามารถในการเพิ่มปริมาณได้ดีที่สุด และพบสปอร์จำนวน 929 796 706 และ 699 สปอร์ต่อดิน 100 กรัม ตามลำดับ หลังจากนั้นในปี 2558 จำเนียร และธนกิจ ได้ศึกษาอิทธิพลของปุ๋ยฟอสฟอรัสต่อการพึ่งพา AMF เพื่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของพริก โดยทำการทดลองในกระถางพลาสติกที่ใช้วัสดุปลูกเป็นดินผสมมูลโคที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว อัตรา 3:1 โดยปริมาตร ปลูกเชื้อ *A. morrowiae* ลงในวัสดุปลูกที่ใส่ปุ๋ยฟอสฟอรัสในรูปของทริปเปิ้ลซุปเปอร์ฟอสเฟต (0-46-0) 6 ระดับ คือ 0 20 40 50 60 และ 80 กิโลกรัมต่อไร่ พบว่า ในทุกระดับของปุ๋ยฟอสฟอรัสที่ปลูกเชื้อ AMF สามารถเพิ่มความสูง น้ำหนักแห้งส่วนที่อยู่เหนือดิน น้ำหนักแห้งราก จำนวนผลต่อต้น น้ำหนักผลสดต่อต้น และการดูดธาตุฟอสฟอรัสในพริกเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และ AMF มีผลให้น้ำหนักของผลผลิตเพิ่มขึ้นเฉลี่ย 44.5 เปอร์เซ็นต์ จากการเพิ่มปริมาณของปุ๋ยฟอสฟอรัสลงในดินปลูกส่งผลให้มีการพึ่งพาของ AMF ในการให้ผลผลิตของพริกลดลง ชี้ให้เห็นว่า การปลูกพริกที่ปลูกเชื้อ *A. morrowiae* โดยเฉพาะในดินที่มีฟอสฟอรัสต่ำสามารถช่วยให้พริกมีการเจริญเติบโตและมีผลผลิตเพิ่มมากขึ้น

จากการศึกษาผลของความแตกต่างของชนิด AMF ต่อการเจริญเติบโตในมะขามป้อม โดย Srinivasan และคณะ (2012) ทดลองโดยการนำ AMF จำนวน 12 ชนิด คือ *A. laevis*, *Gi. margarita*, *S. calospora*, *G. bagyarajii*, *G. fasciculatum*, *G. intraradices*, *G. leptotichum*, *G. macrocarpum*, *G. monosporum*, *G. mosseae*, *G. versiforme* และ *G. etunicatum* เพิ่มปริมาณโดยใช้หญ้าโร้ดเป็นพืชอาศัย ก่อนนำไปทดลองในต้นกล้ามะขามป้อม นำดินที่ได้จากการเพิ่มปริมาณจำนวน 10 กรัม เติมลงไปในต้นกล้ามะขามป้อม ทั้งหมด 12 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 10 ซ้ำ และเพาะเลี้ยงไว้ในโรงเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 120 วัน หลังการปลูกเชื้อ พบว่า มะขามป้อมที่

ได้รับการปลูกเชื้อมีเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโต และมีปริมาณธาตุอาหารที่เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ปลูกเชื้อ และพบว่าความแตกต่างของชนิด AMF ในการปลูกเชื้อทำให้การเจริญเติบโตและปริมาณธาตุอาหารในมะขามป้อมแตกต่างกัน ซึ่งการปลูกเชื้อ *G. etunicatum* ทำให้มะขามป้อมมีการเจริญเติบโตสูงที่สุด มีค่าผลรวมน้ำหนักแห้งของยอดและราก เท่ากับ 23.83 กรัมต่อต้น มีเปอร์เซ็นต์ฟอสฟอรัส 0.24 เปอร์เซ็นต์ มีการเข้าอาศัยของราในราก 72.25 เปอร์เซ็นต์ และมีจำนวนสปอร์ทั้งหมดในดิน 199.66 สปอร์ต่อดิน 50 กรัม

ในปี 2012 Boonlue และคณะ ได้ศึกษาความหลากหลายและประสิทธิภาพของ AMF ในแปลงปลูกพริกอินทรีย์ เพื่อตรวจสอบความหลายหลาย และจำนวน AMF ในแปลงปลูกพริกอินทรีย์ 4 แห่ง คือ ในจังหวัดอุบลราชธานีและศรีสะเกษ พบว่า ชนิดของ AMF มีผลต่อการเจริญเติบโตและการดูดซึมธาตุอาหารของพริกอินทรีย์ จากการทดลองพบ AMF จำนวน 14 ชนิด คือ *Acaulospora* (4 spp.) *Entrophospora* (1 sp.) *Glomus* (7 spp.) และ *Scutellospora* (2 spp.) จากนั้นคัดเลือกสายพันธุ์ที่พบมากที่สุด 10 สายพันธุ์ ในสกุล *Glomus* และ *Acaulospora* มาทดลองปลูกเชื้อในพริกอินทรีย์เพื่อดูผลของการเจริญเติบโต พบว่า *G. clarum* RA0305 มีการเจริญเติบโต การออกดอก การดูดซึมฟอสฟอรัส และให้ผลผลิตพริกเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับพริกอินทรีย์ที่ไม่ปลูกเชื้อ

ในปี 2557 ศุภธิดา และชฎาพร ศึกษาการใช้ AMF เพื่อเพิ่มการดูดซับสังกะสีของข้าวภายใต้การปลูกข้าวแบบใช้อากาศ โดยศึกษาผลของการปลูกข้าวพันธุ์สันป่าตอง 1 ภายใต้การให้น้ำที่ระดับความชื้นของดินสองรูปแบบ คือ แบบท่วมขัง (continuous water-logging) และระดับความชื้น 0.3 bar ของดิน โดยเปรียบเทียบผลระหว่างการไม่ปลูกเชื้อ AMF และการปลูกเชื้อชนิด *G. geosporum*, *G. etunicatum* และ *A. foveata* เมื่อข้าวมีอายุครบ 60 วัน ทำการตรวจวัดปริมาณ Zn ที่สกัดได้ในดิน น้ำหนักแห้งของต้น การดูดซับ Zn ของข้าว และการเข้าอยู่อาศัยภายในรากของ AMF พบว่า ข้าวที่ปลูกทั้งสองระบบความชื้นและมีการใส่สปอร์ของ AMF ชนิดต่างๆ นั้นมีแนวโน้มน้ำหนักแห้งสูงกว่าดินที่ไม่มีการปลูกสปอร์เชื้อลงไป โดยเฉพาะการปลูกสปอร์ *A. foveata* พบว่า มีน้ำหนักแห้งของต้นและมีการดูดซับ Zn สูงสุด สำหรับเปอร์เซ็นต์การเข้าอาศัยในรากของการปลูกเชื้อ AMF พบว่า ข้าวที่ได้รับการปลูกเชื้อ *G. geosporum* มีค่าการเข้าอยู่อาศัยในรากสูงที่สุด คือ 61.53 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ดินที่ไม่มีการปลูกเชื้อมีการเข้าอาศัยของ AMF เท่ากับ 5.12 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่า ค่า Mycorrhizal responsivness (MR) และ Mycorrhizal Zn responsivness (MZnR) ในดินที่มีความชื้น 0.3 bar ซึ่งปลูก AMF มีค่าสูงกว่าดินที่มีน้ำขัง

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาผลของ AMF ต่อความต้านทานโรค โดย Leawsiripong และ Nuangmek (2012) ศึกษาการใช้ AMF ในการปรับปรุงดินและเพิ่มความต้านทานโรคราน้ำค้างในแตงกวา โดยเก็บตัวอย่างดินและรากบริเวณแปลงปลูกแตงกวามาแยกสปอร์ของ AMF โดยวิธีร่อนผ่านตะแกรง และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสปอร์ จากนั้นเพิ่มปริมาณสปอร์ในกระถางร่วมกับรากดอกดาวเรืองและข้าวฟ่าง เป็นระยะเวลา 4 เดือน ทดสอบผลของ AMF ต่อการเจริญเติบโตและความต้านทานโรคราน้ำค้างในแตงกวาในกระถาง โดยนำสปอร์ของเชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างมาฉีดพ่นบนในของแตงกวาแล้ววัดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค ผลการทดลองพบว่า พื้นที่ปลูกแตงกวาในจังหวัดพะเยาพบ AMF ทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่ *Scutellospora* sp. *Glomus* sp. และ

Acaulospora sp. เมื่อทดสอบความต้านทานต่อโรคราน้ำค้าง พบว่า ทุกชุดการทดลองที่ปลูกเชื้อสามารถต้านทานโรคราน้ำค้างได้ดีกว่าการทดลองที่ไม่ปลูกเชื้อ และพบว่าการปลูก AMF ร่วมกัน 3 ชนิด (*Acaulospora* sp. ร่วมกับ *Glomus* sp. และ Scutellospora sp.) สามารถต้านทานโรคราน้ำค้างได้ดีกว่าแตงกวาที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อ นอกจากนี้พบปริมาณธาตุฟอสฟอรัสเพิ่มมากขึ้นในดินที่ปลูกด้วย AMF ทั้ง 3 ชนิดอีกด้วย

1.3 วัตถุประสงค์

1) สำรวจและจำแนกชนิดของ AMF ในแปลงปลูกพริกไทยในพื้นที่ภาคใต้ตอนบน

2) เปรียบเทียบผลของ AMF ที่แยกได้ต่อการเจริญเติบโตของพริกไทยในสภาพกระถาง

บทที่ 2
วิธีการวิจัย

2.1 การสำรวจและเก็บตัวอย่างดินบริเวณแหล่งปลูกพริกไทย

เก็บตัวอย่างดินบริเวณแปลงปลูกพริกไทยพันธุ์ซีลอนในพื้นที่ภาคใต้ ทั้งหมด 4 แหล่งปลูก คือ จังหวัดสุราษฎร์ธานี จำนวน 1 แหล่งปลูก (บ้านเขาหลัก อำเภอไชยา) และจังหวัดนครศรีธรรมราช จำนวน 3 แหล่งปลูก (บ้านไสเหนือ อำเภอทุ่งสง บ้านดอนตะโก อำเภอท่าศาลา และบ้านลาไม อำเภอชะอวด) เก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบๆ รากพริกไทย โดยสุ่มให้ครอบคลุมพื้นที่ จำนวน 5 จุด ที่ระดับความลึก 15 เซนติเมตร จากนั้นนำดินใส่ในถุงพลาสติกที่สะอาด เพื่อนำไปตรวจนับจำนวนสปอร์ทั้งหมดและจำแนกชนิดของ AMF

ข้อมูลแหล่งปลูกพริกไทย

แหล่งปลูกบ้านปากหมาก อำเภอไชยา จังหวัดสุราษฎร์ธานี มีลักษณะดินทรายปนดินร่วน พื้นที่ลาดเท มีแหล่งน้ำล้อมรอบ ปลูกพริกไทยเพียงอย่างเดียว อายุ 2 ปี มีการดูแลรักษาต้นพริกไทยโดยเน้นการใช้ปุ๋ยชีวภาพเป็นหลัก และใช้ปุ๋ยเคมีเพียงเล็กน้อย

แหล่งปลูกบ้านไสเหนือ อำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช มีลักษณะดินทราย พื้นที่ราบ ปลูกพืชแบบสวนผสม อายุ 8 เดือน มีการดูแลรักษาต้นพริกไทยโดยการใช้ปุ๋ยชีวภาพมากกว่าการใช้ปุ๋ยเคมี

แหล่งปลูกบ้านดอนตะโก อำเภอท่าศาลา จังหวัดนครศรีธรรมราช มีลักษณะดินร่วนปนทราย พื้นที่ราบ ปลูกพืชแบบสวนผสม อายุ 1 ปี มีการดูแลรักษาต้นพริกไทยโดยการใช้ปุ๋ยเคมีเป็นหลัก และใช้ปุ๋ยคอกบ้างเล็กน้อย

แหล่งปลูกบ้านลาไม อำเภอชะอวด จังหวัดนครศรีธรรมราช มีลักษณะดินร่วนเหนียวปนทราย พื้นที่ราบ ปลูกพืชแบบสวนผสม อายุ 1 ปี 3 เดือน มีการดูแลรักษาต้นพริกไทยโดยการใช้ปุ๋ยเคมีเป็นหลัก ใช้ปุ๋ยชีวภาพหรือปุ๋ยคอกเป็นครั้งคราว

2.2 การตรวจหาจำนวนและชนิดของ AMF ในดินบริเวณแปลงปลูกพริกไทย

นำตัวอย่างดินที่ได้ผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง เก็บเศษวัสดุต่างๆ ที่ติดมากับดินออกให้หมด แล้วบดดินให้มีขนาดเล็กลง จากนั้นแยกสปอร์โดยวิธีที่ดัดแปลงมาจากวิธีการปั่นเหวี่ยงด้วยน้ำตาลซูโครส (sucrose centrifugation) ของ Daniel และ Skipper (1982) โดยชั่งดิน 20 กรัม ลงในหลอดเซ็นตริฟิวจ์ เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร และนำไปหมุนเหวี่ยงเป็นเวลา 5 นาที ที่ความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที เทของเหลวส่วนบนทิ้ง จากนั้นเติมสารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงอีกครั้ง เป็นเวลา 1 นาที ที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที รินของเหลวส่วนบนลงบนตะแกรงขนาด 45 ไมครอน ล้างสปอร์ด้วยน้ำกลั่น และถ่ายสปอร์ลงบนกระดาษกรองที่วาดตารางขนาด 0.5 x 0.5 เซนติเมตร วางกระดาษกรองที่มีสปอร์อยู่ลงบนจานเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำไปตรวจนับสปอร์ของ AMF ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (stereoscopic microscope)

การจำแนกชนิดของ AMF ซึ่งอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยนำสปอร์ของ AMF ที่แยกโดยวิธีการปั่นเหวี่ยงด้วยน้ำตาลซูโครสแล้ว มาวางบนแผ่นสไลด์ ปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ นำไปศึกษารูปร่างลักษณะต่างๆ ทั้งภายนอกและภายในสปอร์ของรา ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ compound microscope โครงสร้างที่ตรวจสอบ ได้แก่ สีของสปอร์ สิ่งตกแต่งที่ผิวสปอร์ จำนวนชั้นของผนังสปอร์ เส้นใยค้ำจุนสปอร์ (hyphal attachment) เป็นต้น นำผลที่ได้ไปตรวจสอบ และจำแนกชนิดโดยใช้คู่มือการจำแนกของ Schenck และ Perez (1988) และฐานข้อมูล INVAM (http://invam.caf.wvu.edu)

2.3 การเพิ่มปริมาณสปอร์ AMF ในข้าวฟ่าง ด้วยวิธี Pot culture (Brundrett และคณะ, 1996)

2.3.1 การฆ่าเชื้อสปอร์ AMF

นำสปอร์ที่แยกได้จากแหล่งปลูกต่างๆ มาล้างฆ่าเชื้อผิวสปอร์ด้วยสารละลายคลอรามีน-ที (chloramin-T) ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5-10 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่น 3-4 ครั้ง (สาวิตรี, 2536 อ้างโดย โสภณ และคณะ, 2554) และเก็บรักษาสปอร์ราไว้ในขวดฝาเกลียวที่บรรจุด้วยทรายนึ่งฆ่าเชื้อ

2.3.2 การเตรียมเมล็ดข้าวฟ่าง

นำเมล็ดข้าวฟ่างล้างฆ่าเชื้อในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (sodium hypochlorite) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นล้างเมล็ดด้วยน้ำกลั่น 3-4 ครั้ง เตรียมลงปลูก

2.3.3 การเตรียมดิน

ใช้ดินจากแปลงเกษตรมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยขุดดินจากแปลงในระดับผิวดินที่ความลึกประมาณ 30 เซนติเมตร นำดินมาร่อนผ่านตะแกรงแยกเศษหิน รากไม้ หรือเศษพืชต่างๆ ออก แล้วผสมวัสดุปลูกในสัดส่วน ดิน:ทราย อัตรา 1:1 บรรจุดินที่ผสมเรียบร้อยแล้วใส่ถุงพลาสติก จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งค้างคืน และนำไปนึ่งฆ่าเชื้ออีกครั้งที่อุณหภูมิ ความดัน และเวลาเท่าเดิม จากนั้นบรรจุดินใส่ถุงเพาะชำ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4x13 นิ้ว ก่อนบรรจุดินฆ่าเชื้อถุงพลาสติกด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์

2.3.4 การปลูก AMF ร่วมกับพืชอาศัย

นำเมล็ดข้าวฟ่างที่ฆ่าเชื้อแล้วปลูกลงในถุงเพาะชำที่เตรียมไว้ โดยปลูกข้าวฟ่างถุงละ 5 เมล็ด จากนั้นนำสปอร์ของ AMF ชนิดต่างๆ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิวแล้วใส่ลงรอบๆ เมล็ดข้าวฟ่าง โดยปลูกข้าวฟ่างจำนวน 10 ถุง ต่อชนิดของ AMF กลบดิน และรดน้ำ เมื่อต้นกล้าเจริญเติบโตได้ 1 สัปดาห์ จึงถอนต้นที่อ่อนแอทิ้งไป เหลือต้นที่แข็งแรงและมีขนาดใหญ่ ถุงละ 2 ต้น รดน้ำทุกวัน ปลูกทดลองเป็นเวลา 90 วัน จากนั้นตรวจนับจำนวนสปอร์ AMF

2.4 การทดสอบประสิทธิภาพของ AMF ที่มีต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพริกไทย

2.4.1 การเตรียมดินปลูกพริกไทย

ใช้ดินจากแปลงเกษตรมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยขุดดินจากแปลงในระดับผิวดินลึกประมาณ 30 เซนติเมตร นำดินมาร่อนผ่านตะแกรงเพื่อแยกเศษวัสดุต่างๆ ออก จากนั้นผสมวัสดุปลูกในสัดส่วน ดิน:ปุ๋ยคอก:ขุยมะพร้าว:ดินทราย อัตรา 1:1:1:1 บรรจุดินที่ผสมเรียบร้อยแล้วใส่ถุงพลาสติก นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งค้างคืน และนึ่งฆ่าเชื้ออีกครั้งที่อุณหภูมิ ความดัน และเวลาเท่าเดิม บรรจุดินใส่ถุงเพาะชำ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4x13 นิ้ว ก่อนบรรจุดินฆ่าเชื้อถุงเพาะชำด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์

2.4.2 การเตรียมต้นกล้าพริกไทย

นำต้นกล้าพริกไทยพันธุ์ซีลอนที่ได้จากการปักชำ (cutting) อายุ 3 เดือน มาล้างวัสดุเพาะออกด้วยน้ำสะอาด จนรากไม่มีวัสดุเพาะติดอยู่เพื่อเตรียมลงปลูก

2.4.3 การเตรียมและการปลูกเชื้อ AMF ในต้นกล้าพริกไทย

นำสปอร์ของ AMF ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณสปอร์ในถุงเพาะชำจากการทดลองข้อที่ 2.3 ใช้ปริมาณสปอร์จำนวน 50 สปอร์ ปลูกร่วมกับต้นกล้าพริกไทย โดยขุดดินในถุงพลาสติกที่เตรียมไว้ในข้อ 2.4.1 ให้เป็นหลุมบริเวณกลางถุง ลึกประมาณ 3-4 เซนติเมตร นำสปอร์ AMF ชนิดต่างๆ ที่เตรียมไว้ใส่ลงไปที่ก้นหลุม แล้วนำต้นกล้าพริกไทยที่เตรียมไว้จากข้อ 2.4.2 ลงปลูก ถุงละ 1 ต้น กลบดิน รดน้ำ ระวังไม่ให้ชุ่มจนเกินไป เพาะเลี้ยงไว้เป็นระยะเวลา 90 วัน ภายใต้สแลนกรองแสง 60 เปอร์เซ็นต์ ดูแลรักษาโดยการรดน้ำทุกวัน และกำจัดวัชพืชตามปกติ วางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ต้น ประกอบด้วย 6 ชุดการทดลอง ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ไม่ปลูกเชื้อ (Control)
ชุดการทดลองที่ 2 ปลูกเชื้อ *Glomus* sp.1
ชุดการทดลองที่ 3 ปลูกเชื้อ *Acaulospora* sp.2
ชุดการทดลองที่ 4 ปลูกเชื้อ *Gigaspora* sp.
ชุดการทดลองที่ 5 ปลูกเชื้อ *Septoglomus* sp.
ชุดการทดลองที่ 6 ปลูกเชื้อ Mixed species

2.4.4 การวัดอัตราการเจริญเติบโตของพืช

ตรวจวัดผลการเจริญเติบโตหลังจากการปลูกต้นกล้าพริกไทยร่วมกับ AMF ชนิดต่างๆ โดยวัดค่าเฉลี่ยจำนวนใบ พื้นที่ใบในทุกๆ สัปดาห์ ค่าเฉลี่ยของความสูงต้นในทุกๆ สองสัปดาห์ ค่าเฉลี่ยความยาวราก น้ำหนักแห้งของต้นและราก ปริมาณธาตุอาหารหลักในดินและในต้นพริกไทย รวมถึงจำนวนสปอร์ในดิน และเปอร์เซ็นต์การเข้าอยู่อาศัยในรากของ AMF หลังการปลูกเชื้อเป็นระยะเวลา 3 เดือน

2.4.5 การตรวจสอบปริมาณธาตุอาหาร N P K ในต้นพริกไทย

นำต้นพริกไทยหลังการปลูกเชื้อเป็นระยะเวลา 3 เดือน มาตรวจหาปริมาณธาตุอาหาร ซึ่งก่อนนำตัวอย่างไปตรวจวัดปริมาณธาตุอาหาร นำตัวอย่างไปอบแห้งด้วยเครื่องอบแห้ง จนกว่าตัวอย่างจะแห้ง และนำตัวอย่างไปชั่งน้ำหนัก จากนั้นนำตัวอย่างไปบดละเอียดเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ธาตุต่างๆ ต่อไป

2.4.5.1 วิเคราะห์ไนโตรเจนในพืช

การวิเคราะห์ไนโตรเจน โดยใช้วิธีเจลดาล (Kjeldahl method) ย่อยตัวอย่าง โดยชั่งตัวอย่างพืชที่บดแล้ว 0.25-0.30 กรัม ใส่หลอดย่อยตัวอย่าง แล้วเติมกรด H_2SO_4 -Se mixture ลงไป 5 มิลลิลิตร นำไปวางใน Digestion apparatus ภายในตู้ดูดควัน ที่อุณหภูมิ 100 150 และ 200 องศาเซลเซียส ช่วงละ 30 นาที เมื่อตัวอย่างพืชมีสีดำให้เพิ่มอุณหภูมิเป็น 300 องศาเซลเซียส 30 นาที และเมื่อมีสีน้ำตาลดำเพิ่มอุณหภูมิเป็น 380 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นวางไว้ให้เย็น แล้วปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรองส่วนใสใส่ขวดพลาสติกนำไปกลั่นไนโตรเจน โดยดูดแบลงค์หรือสารที่ใช้ย่อยมา 10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดกลั่น แล้วเติม 20 เปอร์เซ็นต์ NaOH 10 มิลลิลิตร แล้วทำการกลั่นโดยมีสารละลาย boric acid indicator 5 มิลลิลิตร อยู่ใน Erlenmeyer flask เป็นตัวจับไนโตรเจน ซึ่งจะออกมาในรูปแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ สารละลายกรดบอริกจะค่อยๆ เปลี่ยนจากสีชมพู อมม่วง เป็นสีเขียว กลั่นต่อไปจนกระทั่งได้สารละลายประมาณ 30 มิลลิลิตร ในขณะที่กลั่นจะต้องมีน้ำสำหรับหล่อเย็นอย่างเพียงพอ ถ้าน้ำน้อยกรดบอริกจะร้อน ทำให้ NH_2OH ที่ออกมาระเหยไป ก่อนจะถูกจับไว้โดยกรด หลังจากนั้นทำการไทเทรต โดยเติมสารละลายกรดซัลฟิวริก ความเข้มข้น 0.01 N ลงในบิวเรต แล้วนำสารละลายที่กลั่นได้ซึ่งมีสีเขียวไปไทเทรตด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกจนเปลี่ยนเป็นสีชมพู คำนวณไนโตรเจนโดยใช้สูตร

$$\%N = \frac{1.4 \times \text{ความเข้มเข้มข้น (N)} \times (\text{กรดใช้กับตัวอย่าง-กรดใช้กับ blank ml}) \times \text{ปริมาตรที่ปรับ (ml)}}{\text{ปริมาตรที่ใช้กลั่น (ml)} \times \text{น้ำหนักพืช (g)}}$$

2.4.5.2 วิเคราะห์ฟอสฟอรัสในพืช

การย่อยตัวอย่างพืช โดยชั่งตัวอย่างพืชมา 0.25-0.30 กรัม ใส่ขวดรูปชมพู่ เติม 65 เปอร์เซ็นต์ HNO_3 ลงไป 5 มิลลิลิตร และตั้งบน Hot plat ที่อุณหภูมิ 220 องศาเซลเซียส ย่อยจนกว่าตัวอย่างไม่มีสี แล้วตั้งทิ้งไว้ในตู้ดูดควันจนเย็น จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษ เบอร์ 1 ดูดสารละลายมาตรฐานมา 5 10 15 20 มิลลิกรัมต่อลิตร มา 5 มิลลิลิตร เติม Molybdovanate reagent ลงไป 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ทำเช่นนี้กับตัวอย่างและแบลงค์ ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที ก่อนการนำไปวัดด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร คำนวณหาค่าฟอสฟอรัสโดยใช้สูตร

$$\%P = \frac{\text{ปริมาตรที่ปรับ (ml)} \times \text{ความเข้มข้น (mg/l)} \times \text{dilution factor} \times 10^{-4}}{\text{น้ำหนักพืช (g)}}$$

2.4.5.3 วิเคราะห์โพแทสเซียมในพืช

การย่อยตัวอย่าง โดยชั่งตัวอย่างพืช 0.25-0.30 กรัม ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมกรดย่อยลงไป 5 มิลลิลิตร (65 เปอร์เซ็นต์ HNO_3 และ 70 เปอร์เซ็นต์ $HClO_4$ อัตราส่วน 2:1 โดยปริมาตร) แล้วนำไปย่อยจนใสแล้วตั้งทิ้งไว้ในตู้ดูดควันจนเย็น จึงปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำสารที่กรองได้ไปวัดหาโพแทสเซียม ในการวัดให้นำสารละลายมาตรฐานและตัวอย่างไปวัดด้วยเครื่อง Analyl Absorbtion spectophometer โดยใช้แบลงค์เป็นตัวปรับให้เครื่องอ่านค่าเป็นศูนย์ และใช้สารละลายมาตรฐานสูงสุดเพื่อปรับให้เครื่องอ่านค่าเป็น 100 เมื่อวัดแบลงค์ได้เท่ากับศูนย์โดยไม่ต้องปรับ จึงวัดสารละลายมาตรฐานตามลำดับความเข้มข้นและวัดสารละลายตัวอย่าง คำนวณค่าโพแทสเซียมโดยใช้สูตร

$$\%K = \frac{\text{ปริมาตรที่ปรับ (ml)} \times \text{ความเข้มข้น (mg/l)} \times \text{dilution factor} \times 10^{-4}}{\text{น้ำหนักพืช (g)}}$$

2.4.6 การตรวจสอบปริมาณธาตุอาหาร N P K ในดิน

นำตัวอย่างดินหลังจากการปลูกต้นพริกไทย เป็นระยะเวลา 3 เดือน มาผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลาประมาณ 3-7 วัน เมื่อดินแห้งแล้วให้บดดินเบาๆ และร่อนผ่านตะแกรงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 และ 10 มิลลิเมตร ผสมดินที่ร่อนผ่านตะแกรงให้เป็นเนื้อเดียวกัน และเก็บไว้สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารต่างๆ

2.4.6.1 วิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในดิน

การวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในดิน ด้วยวิธีเจลดาล (Kjeldahl method) ชั่งดิน 1 กรัม ใส่ในหลอดย่อยตัวอย่างขนาด 100 มิลลิลิตร เติมสารเร่งปฏิกิริยาประมาณ 1 กรัม แล้วเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นจำนวน 3 มิลลิลิตร และเขย่าให้ผสมกัน ทำแบลงค์โดยเติมสารเช่นเดียวกันกับตัวอย่างดิน จากนั้นนำตัวอย่างไปย่อยด้วยเตาย่อย ที่อุณหภูมิประมาณ 380 องศาเซลเซียส จนได้สารละลายสีเขียวอมฟ้า และดินที่มีสีขาว จากนั้นนำตัวอย่างไปกลั่น โดยเติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร เขย่าจนตะกอนละลาย นำหลอดตัวอย่างใส่เครื่องกลั่น แล้วเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงไป 15 มิลลิลิตร ตวงสารละลายกรดบอริกที่ผสมอินดิเคเตอร์ 5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร แล้วนำไปวางตรงตำแหน่งที่รองรับแก๊สแอมโมเนียจากการกลั่น กลั่นจนได้สารละลายประมาณ 30 มิลลิลิตร และนำตัวอย่างที่ได้ไปไทเทรต ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.005 โมลาร์ จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนเป็นสีม่วงแดง ความเข้มข้นที่แท้จริงของ HCl คำนวณได้จาก

$$N_1 = N_2V_2/V_1$$

เมื่อ N_1 = ความเข้มข้นที่แท้จริงของกรด HCl (M)

N_2 = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน tris (M)

V_2 = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน tris

V_1 = ปริมาตรของกรด HCl ที่ใช้ในการไทเทรต

% total N = 1.4 N_1V/W

เมื่อ N_1 = ความเข้มข้นที่แท้จริงของกรด HCl (M)

V = ปริมาตรของกรด HCl ที่ใช้ในการไทเทรต

W = น้ำหนักของตัวอย่างดินที่ใช้ (กรัม)

2.4.6.2 วิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดิน

การวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทำโดยการสกัดด้วยวิธีเบรย์ทู (Bray II method) สกัดฟอสฟอรัสจากดิน โดยการชั่งตัวอย่างดิน 1 กรัม ใส่หลอดเหวี่ยงพลาสติก เติมน้ำยาสกัดเบรย์ทู 10 มิลลิลิตรเขย่า 1 นาที แล้วกรองด้วยกระดาษกรองวัตแมนเบอร์ 5 เก็บสารที่กรองได้ในหลอดเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ฟอสฟอรัส จากนั้นทำให้เกิดสีโดยใช้กรดแอสคอร์บิก โดยการปิเปตต์สารละลายฟอสฟอรัสมาตรฐานเข้มข้น 0 1 2 3 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร และสารสกัดจากตัวอย่างดิน 1 มิลลิลิตร เติมน้ำยาทำให้เกิดสี และสารละลายกรดแอสคอร์บิก อย่างละ 1 มิลลิลิตร ซึ่งจะเกิดเป็นสีน้ำเงิน จากนั้นเติมน้ำกลั่นลงไป 2 มิลลิลิตร เขย่า และตั้งทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที จึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวิสิเบิลสเปกโทรโฟโทมิเตอร์

2.4.6.3 วิเคราะห์โพแทสเซียมในดิน

การวิเคราะห์โพแทสเซียม โดยชั่งดินหนัก 2.5 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลายแอมโมเนียมอะซิเตต (Ammonium Acetate, NH_4OAc) 25 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 30 นาที กรองผ่านกระดาษกรองวัตแมนเบอร์ 1 และดูดสารละลายที่กรองแล้ว 5 มิลลิลิตร เติมสารสทรอนเทียมคลอไรด์ (Strontium chloride, $SrCl_2$) ปริมาตร 12.5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลายแอมโมเนียมอะซิเตต ให้ได้ปริมาตร 25 มิลลิลิตร วิเคราะห์ความเข้มข้นของสารละลายที่สกัดได้ด้วยเครื่อง Atomic absorption spectrophotometer (AAS) โดยใช้ Flame photometry (จำเป็น, 2557)

2.4.7 การวิเคราะห์เนื้อดิน

วิเคราะห์เนื้อดิน โดยร่อนดินผ่านตะแกรง 2 มิลลิเมตร และชั่งตัวอย่างดิน 50 กรัม (100 กรัมเมื่อดินมีลักษณะเป็นทราย) ใส่บีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้ท่วมดิน คนให้เข้ากัน จากนั้นเติม 30 เปอร์เซ็นต์ Hydrogen peroxide ปริมาณ 5 มิลลิลิตร แล้ววางบีกเกอร์บนเตาปรับอุณหภูมิประมาณ 90 องศาเซลเซียส เพื่อเร่งปฏิกิริยาให้เร็วขึ้น และเติม 30 เปอร์เซ็นต์ Hydrogen peroxide ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ต้มอย่างน้อย 1 ชั่วโมง เพื่อกำจัด Hydrogen peroxide แล้วนำตัวอย่างดินอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ประมาณ 1-2 วัน จากนั้นนำตัวอย่างดินทำให้เย็นในโถดูดความชื้นและชั่งน้ำหนักแห้ง จึงนำตัวอย่างดินแห้งที่ได้ไปวิเคราะห์เนื้อดิน โดยการเติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร และสารละลายแคลกอน 5 เปอร์เซ็นต์ 100 มิลลิลิตร (sodium hexametaphosphate 5 เปอร์เซ็นต์ pH 8.1 โดยปรับ pH ด้วยโซเดียมคาร์บอร์เนต) ลงในตัวอย่างดินแห้ง คนให้เข้ากันวางทิ้งไว้ 10 นาที จึงนำตัวอย่างไปปั่น ประมาณ 2-5 นาที แล้วถ่ายสารแขวนลอยลงกระบอกตวงขนาด 1000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ 1000 มิลลิลิตร และคนอนุภาคของดินให้ฟุ้งกระจายสม่ำเสมอ เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นจับเวลาหลังคนที่ช่วง 50 วินาที

แรกและ 2 ชั่วโมง โดยหย่อนไฮโดรมิเตอร์และเทอร์โมมิเตอร์ลงในสารแขวนลอยดิน วัดค่าแบลงค์ที่เวลาเดียวกัน ซึ่งแบลงค์จะเตรียมโดยเติมสารละลายแคลกอน 5 เปอร์เซ็นต์ 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ 1000 มิลลิลิตร จากนั้นคำนวณค่าที่ได้เพื่อแยกชนิดของดิน และนำข้อมูลที่ได้ไปหาประเภทของเนื้อดินโดยใช้ไดอะแกรมสามเหลี่ยม

2.4.8 การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง

วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยการชั่งดินปริมาณ 10 กรัม เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ลงในหลอดเหวี่ยงพลาสติกขนาด 50 มิลลิลิตร ปิดฝาเขย่า 1 นาที ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที และวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง บริเวณส่วนใสด้านบนด้วยเครื่อง pH meter

2.4.9 การวัดสภาพการนำไฟฟ้า (Electrical conductivity)

วัดสภาพการนำไฟฟ้า โดยชั่งดิน 6 กรัม ใส่ในหลอดเหวี่ยงพลาสติก เติมน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออนลงไป 30 มิลลิลิตร ปิดฝาและเขย่าด้วยมือ ประมาณ 1 นาที แล้ววางทิ้งไว้ ประมาณ 30 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำไปวัดสภาพการนำไฟฟ้าปริเวณส่วนใสด้วยเครื่องอิเล็กทริคอลคอนดัดทิวิทีมิเตอร์ (Electrical conductivity meter) คำนวณเป็นค่าที่วัดได้จากสารสกัดจากดินที่อิ่มตัวด้วยน้ำ (EC_e) โดยใช้สูตร

$EC_e = (EC_{1:5}) \times$ ค่าคงที่ขึ้นกับเนื้อดินจากตารางที่ 3

ตารางที่ 3 การเปลี่ยนค่า $EC_{1:5}$ เป็นค่า EC_e โดยคูณด้วยค่าคงที่ตามประเภทของเนื้อดิน

เนื้อดิน	คูณค่า $EC_{1:5}$ ด้วย
Sand	23
Sandy loam	14
Loam	10
Clay loam	9
Light clay	7.5
Heavy clay	6

ที่มา: Watling, 2007 อ้างโดย จำเป็น, 2557

2.4.10 การวัดค่าอินทรีย์วัถตุในดิน

วัดค่าอินทรีย์วัถตุ โดยชั่งดิน 1 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมโพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2C_2O_7$) 10 มิลลิลิตร แกว่งเบาๆ ให้ผสมเข้ากับดิน และเติมกรดซัลฟิวริก (H_2SO_2) ความเข้มข้น 10 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที แล้วหยอดเฟอโรอินอินดิเคเตอร์ 3-4 หยอด แกว่งให้เข้ากัน นำไปไทเทรตด้วย FAS จนกระทั่งถึงจุดยุติ โดยสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาลปนแดง บันทึกปริมาตร FAS ที่ใช้ แล้วคำนวณหาอินทรียวัตถุโดยใช้สูตรคำนวณ ดังนี้

อินทรียวัตถุ (g kg^{-1}) = $6.717M_2(V_B-V_2)/W$

เมื่อ M_2 = ความเข้มข้นที่แท้จริงของ FAS

V_B = ปริมาตร FAS ที่ใช้ทำปฏิกิริยากับ $K_2C_2O_7$ ในสารละลายแบลงค์

V_2 = ปริมาตร FAS ที่ใช้ในการไตเตรตตัวอย่าง

W = น้ำหนักของดิน (กรัม)

2.5. การตรวจสอบความหนาแน่นของการเข้าอาศัยอยู่ของ AMF ในรากพริกไทย

นำตัวอย่างรากพริกไทยมาย้อมสีเพื่อตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การเข้าอาศัยของ AMF ตามวิธีของ Koske และ Gemma (1989) โดยนำรากมาล้างให้สะอาด ตัดรากพืชเป็นชิ้นเล็กๆ นำรากที่ได้มาแช่ในสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ โดยแช่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียสเพื่อให้ความร้อน เป็นเวลา 10-30 นาที จากนั้นล้างรากพืชด้วยน้ำให้สะอาด ประมาณ 4-5 ครั้ง นำรากแช่ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 คืน เทกรดทิ้ง และย้อมสีรากด้วย trypan blue ที่ละลายอยู่ในสารละลาย acetic glycerin ให้ความร้อน 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15-60 นาที จากนั้นเทสารละลาย acetic glycerin ที่มีสี trypan blue ทิ้ง ล้างสีที่เหลือออกด้วยสารละลายชนิดเดียวกันที่ไม่เติมสี ที่อุณหภูมิห้อง ทำการวัดเปอร์เซ็นต์การเข้าอยู่อาศัยในรากพืชด้วยวิธีของ Trouvelot และคณะ (1985) โดยตัดรากที่ย้อมสีแล้วให้ยาว 1.0-1.5 เซนติเมตร เรียงบนสไลด์ และประมาณค่าการเข้าอยู่อาศัยทั้งหมด โดยรวมผลของเส้นใยอาร์บัสคูลและเวสสิเคิลที่สังเกตเห็นในรากพืชแต่ละชิ้น ตรวจผลการเข้าอยู่อาศัยโดยแบ่งเป็น 5 ระดับ (ภาพที่ 13) ดังนี้

ระดับ 0 หมายถึง ไม่พบการเข้าอยู่อาศัยของ AMF ในราก

ระดับ 1 หมายถึง การเข้าอยู่อาศัยของ AMF ในรากน้อยกว่า 1 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 2 หมายถึง การเข้าอยู่อาศัยของ AMF ในรากมากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 3 หมายถึง การเข้าอยู่อาศัยของ AMF ในราก 11-50 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 4 หมายถึง การเข้าอยู่อาศัยของ AMF ในราก 51-90 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 5 หมายถึง การเข้าอยู่อาศัยของ AMF ในรากมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์

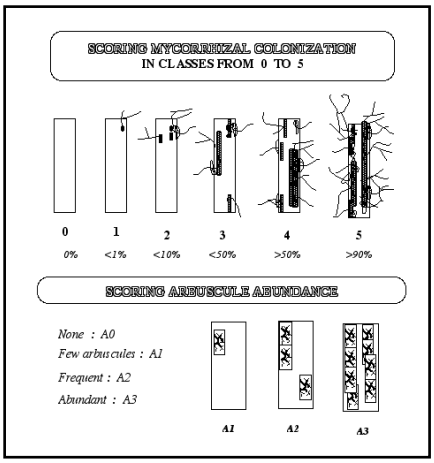
คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของการเข้าอยู่อาศัยในรากพืชของ AMF โดยสมการ

$\%\ M = (90n_5 + 70n_4 + 30n_3 + 5n_2 + n_1)/N$

เมื่อ % M = เปอร์เซ็นต์การเข้าอยู่อาศัยในรากพืช

N = จำนวนชิ้นรากทั้งหมดที่นำมาตรวจการเข้าอยู่อาศัยของเชื้อ AMF

$n_5, n_4,\ldots,n_1$ = จำนวนชิ้นรากที่ตรวจพบการเข้าอยู่อาศัยของราที่ระดับ 5, 4,...1 ตามลำดับ



ภาพที่ 13 การนับเปอร์เซ็นต์การเข้าอาศัยในรากของ AMF โดยวิธีการของ Trouvelet's method (1986)
ที่มา: สิริพร, 2554

2.6 วิธีการแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืชและการจัดจำแนกชนิด

เก็บใบพริกไทยที่มีลักษณะอาการของโรคแอนแทรคโนส โดยสังเกตจากใบที่มีสีน้ำตาลดำ บริเวณโดยรอบขอบใบจะเป็นสีเหลือง ตรงกลางแผลจะแห้งเป็นสีน้ำตาลเข้ม เก็บใบที่มีอาการเกิดโรคใส่ถุงพลาสติกที่สะอาด แล้วนำมาแยกราโดยการตัดใบบริเวณที่เป็นโรคที่ต่อกับเนื้อเยื่อปกติเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 0.5 x 0.5 เซนติเมตร นำไปแยกให้บริสุทธิ์โดยแช่ใบพืชไว้ใน chlorox ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2-3 นาที และนำไปแช่ในแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ 1-2 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษซับนึ่งฆ่าเชื้อแล้วนำใบพืชที่ได้ไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องจนกระทั่งเส้นใยราเจริญออกมาจากชิ้นส่วนของพืช ใช้เข็มเขี่ยตัดปลายเส้นใยแล้วนำไปวางบนอาหาร PDA ใหม่ ทำซ้ำจนกว่าจะได้เชื้อที่บริสุทธิ์ เมื่อได้เชื้อที่บริสุทธิ์แล้วศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยย้อมราด้วยสี Lactophenol Cotton Blue (LPCB) และจัดจำแนกชนิดของราในระดับโมเลกุลโดยอาศัยเทคนิคทางพันธุศาสตร์ โดยส่งตัวอย่างเชื้อไปวิเคราะห์ ณ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

2.7 การทดสอบการต้านทานโรคของพริกไทยที่ได้รับการปลูกสปอร์ AMF

หลังจากปลูกพริกไทยร่วมกับ AMF ทั้ง 4 ชนิด (*Glomus* sp.1, *Acaulospora* sp.2, *Gigaspora* sp. และ *Septoglomus* sp.) เป็นเวลา 3 เดือน ใช้เข็มเขี่ยเชื้อแทงใบพริกไทยจำนวนสามจุดให้เกิดรอยแผล นำชิ้นวุ้น PDA ที่มีเส้นใยราสาเหตุโรคซึ่งแยกได้จากใบพริกไทยและเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร วางลงบนแผลที่ทำไว้บนผิวใบ ส่วนชุดควบคุมวางชิ้นวุ้น PDA ที่ไม่มีเส้นใยราลงบนแผล ใช้ถุงพลาสติกหุ้มใบที่ใช้ในการทดสอบเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำถุงออกและนำชิ้นวุ้นที่วางบนใบพริกไทยออกจากรอยแผล รดน้ำตามปกติ สังเกตอาการโรคที่เกิดขึ้น และประเมินผลการเกิดโรคด้วยการหาพื้นที่ทั้งหมดของใบที่มีลักษณะรอยโรคด้วยโปรแกรมอิมเมจเจ (ImageJ)

2.8 การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ $P<0.05$ โดยใช้โปรแกรม Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)

2.9 วัสดุและอุปกรณ์

2.9.1 ตัวอย่างพืช

- ต้นกล้าพริกไทย พันธุ์ซีลอน (black pepper seedlings)
- เมล็ดข้าวฟ่าง (sorghum grain)

2.9.2 วัสดุ อุปกรณ์

- หลอดเซ็นตริฟิวจ์ (centrifuge tube)
- กระดาษกรองวัตแมน (Whatman filter paper) เบอร์ 1
- กระถางพลาสติก (pots) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 และ 12 นิ้ว
- ปิเปตปรับปริมาตร (pipette) ขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร
- ตะแกรงร่อนสปอร์ (test sieve) ขนาด 45 ไมครอน
- กรวยบุชเนอร์ (buchner funnel)

2.9.3 เครื่องมือ

- เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) แบบ horizontal rotor รุ่น Universal 32 R
- เครื่องชั่ง (balance) 2 ตำแหน่งและ 4 ตำแหน่ง
- ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
- อ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
- หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอ (autoclave)
- ตู้ปลอดเชื้อ (laminar flow)
- กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (compound microscope)
- กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (stereo microscope)

2.9.4 สารเคมี

- น้ำตาลซูโครส (sucrose)
- โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Sodium hypochlorite)
- สีย้อมแลคโตฟีนอล (lactophenol)
- คลอรามีน-ที (chloramine-T)
- โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (Potassium Hydroxide)
- กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid)
- สีทริปแพนบลู (trypan blue)
- อะซิติกกลีเซอรีน (acetic glycerin)
- น้ำกลั่น (distilled water)

2.10 สถานที่ทำการวิจัย

อาคารศูนย์ปฏิบัติการวิทยาศาสตร์และฟาร์มเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี

บทที่ 3
ผลการทดลอง

3.1 การสำรวจและเก็บตัวอย่างดินบริเวณแหล่งปลูกพริกไทย

ผลการวิเคราะห์สมบัติดินตัวอย่างจาก 4 แหล่งพื้นที่ปลูกพริกไทย พบว่า มีลักษณะดินร่วนถึงร่วนเหนียวปนทราย มีค่าความเป็นกรด-ด่าง อยู่ระหว่าง 4.47-6.09 ดินตัวอย่างที่มีค่ากรด-ด่างต่ำที่สุด คือ ดินตัวอย่างจากอำเภอชะอวด จังหวัดนครศรีธรรมราช และดินที่มีความเป็นกรด-ด่าง สูงที่สุดพบในดินตัวอย่างจากอำเภอไชยา จังหวัดสุราษฎร์ธานี ดินตัวอย่างมีปริมาณอินทรียวัตถุอยู่ระหว่าง 1.48-2.16 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณธาตุอาหารในดิน โดยเฉพาะฟอสฟอรัสสูงถึงสูงมาก (45-229 ppm) ซึ่งพบว่า ดินตัวอย่างจากอำเภอไชยา จังหวัดสุราษฎร์ธานี และอำเภอชะอวด จังหวัดนครศรีธรรมราช ถือว่ามีความอุดมสมบูรณ์ของดินที่ดี มีอินทรียวัตถุในดินและปริมาณธาตุอาหารในดินที่สูง (ตารางที่ 4) และจากข้อมูลการดูแลรักษาต้นพริกไทยของเกษตรกร พบว่า แหล่งปลูกพริกไทยในอำเภอไชยา จังหวัดสุราษฎร์ธานี เป็นแปลงปลูกพริกไทยเพียงอย่างเดียว อายุ 2 ปี ให้ปุ๋ยโดยเน้นการใช้ปุ๋ยชีวภาพเป็นหลัก และใช้ปุ๋ยเคมีเพียงเล็กน้อย แหล่งปลูกอำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช ปลูกพืชแบบสวนผสม อายุ 8 เดือน ใช้ปุ๋ยชีวภาพมากกว่าปุ๋ยเคมี แหล่งปลูกอำเภอท่าศาลา จังหวัดนครศรีธรรมราช มีการปลูกพืชแบบสวนผสม อายุ 1 ปี มีการใช้ปุ๋ยเคมีเป็นหลัก และปุ๋ยคอกบ้างเล็กน้อย และแหล่งปลูกอำเภอชะอวด จังหวัดนครศรีธรรมราช ปลูกพืชแบบสวนผสม อายุ 1 ปี 3 เดือน มีการใช้ปุ๋ยเคมีเป็นหลัก และใช้ปุ๋ยชีวภาพหรือปุ๋ยคอกเป็นครั้งคราว

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์สมบัติดินตัวอย่างจากแหล่งพื้นที่ปลูกพริกไทย

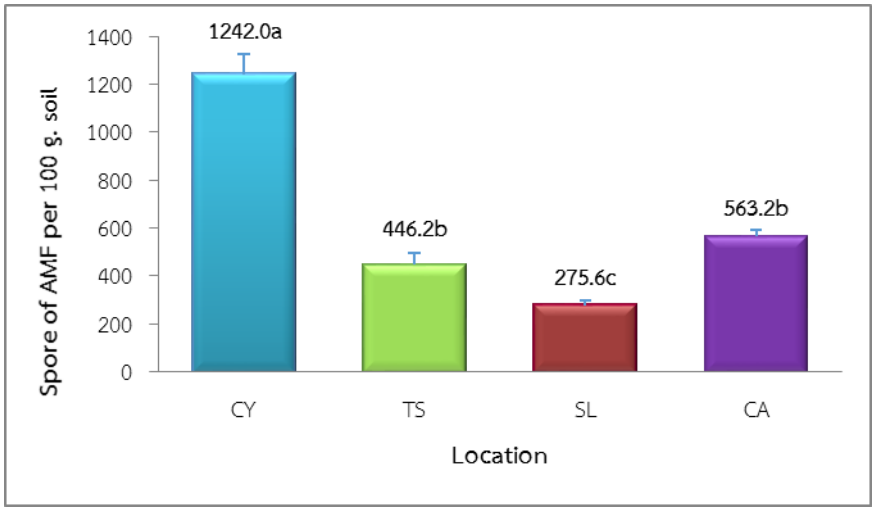
แหล่งดิน	กรดด่าง	ลักษณะของเนื้อดิน (%)			ค่า EC. mmhos/cm	อินทรียวัตถุในดิน (%)	ปริมาณธาตุอาหารในดิน (ppm)				
		ทราย	ทรายแป้ง	เหนียว			N	P	K	Ca	Mg
CY	6.09	85.76	8.00	6.24	0.056	1.90	0.95	53	85	493	125
TS	5.51	92.76	4.00	3.24	0.049	1.48	0.74	229	85	361	49
SL	5.02	49.52	28.00	22.48	0.066	1.49	0.75	166	192	471	147
CA	4.47	39.52	32.00	28.48	0.077	2.16	1.08	45	82	504	146

หมายเหตุ: (CY): อ.ไชยา จ.สุราษฎร์ธานี (TS): อ.ทุ่งสง จ.นครศรีธรรมราช (SL): อ.ท่าศาลา จ.นครศรีธรรมราช และ (CA): อ.ชะอวด จ.นครศรีธรรมราช

3.2 การตรวจหาจำนวนและชนิดของ AMF ในดินบริเวณแหล่งปลูกพริกไทย

จากผลการนับจำนวนสปอร์ AMF ในตัวอย่างดินบริเวณรอบรากพริกไทยในจังหวัดสุราษฎร์ธานี จำนวน 1 แหล่งปลูก (บ้านเขาหลัก อำเภอไชยา) และจังหวัดนครศรีธรรมราช จำนวน 3 แหล่งปลูก (บ้านไสเหนือ อำเภอทุ่งสง บ้านดอนตะโก อำเภอท่าศาลา และบ้านลาไม อำเภอชะอวด) พบว่า จำนวนสปอร์ของ AMF ในดินที่เก็บมาจากแปลงปลูกพริกไทยทุกแหล่งพื้นที่ปลูกมีความแตกต่างกัน โดยพบจำนวนสปอร์สูงสุดในดินตัวอย่าง CY ซึ่งเก็บจากบ้านเขาหลัก ตำบลปากหมาก อำเภอไชยา จังหวัดสุราษฎร์ธานี มีจำนวนสปอร์ในปริมาณ 1,242.0 สปอร์ต่อดิน 100 กรัม พบปริมาณสปอร์รองลงมาในดินตัวอย่าง CA จากบ้านลาไม อำเภอชะอวด จังหวัดนครศรีธรรมราช และบ้านไสเหนือ อำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช ในปริมาณ 563.2 และ 446.2 สปอร์ต่อดิน 100 กรัม ตามลำดับ และพบปริมาณสปอร์ต่ำที่สุด 275.6 สปอร์ต่อดิน 100 กรัม จากดินตัวอย่าง SL จากบ้านดอนตะโก ตำบลดอนตะโก อำเภอท่าศาลา จังหวัดนครศรีธรรมราช (ภาพที่ 14)

ผลการจำแนกชนิดของ AMF จากดินบริเวณรอบรากพริกไทย โดยอาศัยลักษณะสัณฐานวิทยา พบว่า ชนิดของ AMF ที่พบส่วนใหญ่ในดินบริเวณแหล่งปลูกพริกไทยทั้งสองจังหวัดจัดอยู่ในสกุล *Glomus* สกุลที่พบรองลงมา คือ *Acaulospora* ซึ่งพบราทั้งสองสกุลมากที่สุดในดินตัวอย่างจากบ้านเขาหลัก ตำบลปากหมาก อำเภอไชยา จังหวัดสุราษฎร์ธานี ในปริมาณ 959.2 และ 219.0 สปอร์ต่อดิน 100 กรัม ในขณะที่ *Gigaspora* และ *Racocetra* พบเฉพาะดินรอบรากพริกไทยที่ได้จากบ้านไสเหนือ ตำบลนาหลวงเสน อำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราชเท่านั้น และพบสกุล *Septoglomus* พบเฉพาะในดินที่เก็บจากบ้านเขาหลัก ตำบลปากหมาก อำเภอไชยา จังหวัดสุราษฎร์ธานี (ตารางที่ 5)



ภาพที่ 14 ความหนาแน่นของสปอร์ AMF ต่อดิน 100 กรัม จากบริเวณแปลงปลูกพริกไทย (CY): อ.ไชยา จ.สุราษฎร์ธานี (TS): อ.ทุ่งสง จ.นครศรีธรรมราช (SL): อ.ท่าศาลา จ.นครศรีธรรมราช และ (CA): อ.ชะอวด จ.นครศรีธรรมราช (* มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.01$)

ตารางที่ 5 ชนิดของ AMF ที่พบในดินบริเวณแปลงปลูกพริกไทยทั้ง 4 แหล่งปลูก

สถานที่	จำนวนสปอร์ AMF ต่อดิน 100 กรัม				
	Glomus	*Acaulospora*	*Septoglomus*	*Racocetra*	*Gigaspora*
CY	959.2 ± 59.2[a]	219.0 ± 22.9[a]	63.8 ± 7.9	-	-
TS	299.4 ± 31.3[c]	126.2 ± 18.4[b]	-	17.4 ± 2.9	3.2 ± 0.4
SL	226.6 ± 19.4[c]	49.0 ± 2.5[c]	-	-	-
CA	470.4 ± 22.9[b]	92.8 ± 5.4[bc]	-	-	-
P-value	**	**	**	**	**

หมายเหตุ: (CY): อ.ไชยา จ.สุราษฎร์ธานี (TS): อ.ทุ่งสง จ.นครศรีธรรมราช (SL): อ.ท่าศาลา จ.นครศรีธรรมราช และ (CA): อ.ชะอวด จ.นครศรีธรรมราช (* มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ P ≤ 0.01)

3.2.1 ชนิดและลักษณะของ AMF ที่พบในดินบริเวณแหล่งปลูกพริกไทย

จากการตรวจสอบชนิดและลักษณะของสปอร์ AMF ในดินบริเวณแปลงปลูกทั้ง 4 แหล่ง พบราทั้งหมด 5 สกุล คือ *Glomus, Acaulospora, Septoglomus, Racocetra* และ *Gigaspora* ซึ่งพบราสกุล *Glomus* ทั้งหมด 4 ชนิด คือ *Glomus* sp.1, *Glomus* sp.2, *Glomus* sp.3 และ *Glomus* sp.4 พบสกุล *Acaulospora* จำนวน 3 ชนิด คือ *Acaulospora* sp.1, *Acaulospora* sp.2 และ *Acaulospora* sp.3 และพบสกุล *Septoglomus, Racocetra* และ *Gigaspora* สกุลละ 1 ชนิด (ตารางที่ 6 และรูปที่ 15 และ 16) ซึ่งในแต่ละพื้นที่จะพบชนิดของ AMF ที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 7) โดยมีลักษณะ ดังนี้

3.2.1.1 *Glomus* sp.1 มีลักษณะเป็นสปอร์เดี่ยว ส่วนใหญ่พบเป็นสีดำ รูปร่างสปอร์กลมหรือค่อนข้างกลม ขนาด 90-150 ไมครอน ผิวสปอร์เรียบ พบ subtending hypha เชื่อมต่อกับสปอร์ และมี membrane ของผนังสปอร์ที่ปิดกั้นระหว่างสปอร์ไว้ เมื่อทำให้สปอร์แตกไม่สามารถเห็นผนังที่ชัดเจนเพราะสปอร์มีลักษณะค่อนข้างทึบ ผิวสปอร์เรียบ รูปร่างไม่แน่นอน

3.2.1.2 *Glomus* sp.2 ส่วนใหญ่จะมีลักษณะเป็นสปอร์เดี่ยว และพบสปอร์เกาะกันเป็นกลุ่มบ้างเล็กน้อย มีสีน้ำตาลเข้ม ขอบสปอร์มีสีดำ รูปร่างสปอร์กลม ขนาด 80-110 ไมครอน ผิวสปอร์เรียบ พบ subtending hypha เชื่อมต่อกับสปอร์ เมื่อย้อมสีและทำให้สปอร์แตก พบผนังมี 2 ชั้น ขอบของผนังชั้นนอกมีสีน้ำตาลดำเข้มและหนา สปอร์ภายในมีสีส้มน้ำตาล ลักษณะผิวสปอร์เรียบ รูปร่างกลม

3.2.1.3 *Glomus sp.*3 พบสปอร์เดี่ยว และสปอร์ที่เกาะกันเป็นกลุ่ม โดยการเชื่อมกันของ hypha มีสีเหลืองน้ำตาลอ่อน สปอร์มีรูปร่างกลม ขนาด 80-120 ไมครอน ผิวสปอร์เรียบ พบ subtending hypha เชื่อมติดกับสปอร์ มีลักษณะแตกกิ่งสาขา เมื่อทำให้สปอร์แตกพบผนัง 2-3 ชั้น ผนังชั้นนอกสุดมีสีน้ำตาลเข้ม มีขอบสีดำชัดเจน และผนังชั้นในมีสีเหลืองอมน้ำตาล

3.2.1.4 *Glomus* sp.4 พบสปอร์เดี่ยว สีน้ำตาลเหลืองอ่อน สปอร์มีรูปร่างรีและไม่แน่นอน ขนาดของความกว้าง ประมาณ 60-100 ไมครอน และขนาดของความยาว 90-160 ไมครอน ผิวสปอร์เรียบ พบ subtending hypha เชื่อมติดกับสปอร์ เมื่อย้อมสีและทำให้สปอร์แตกพบผนัง 2 ชั้น ผนังชั้นนอกสุดมีสีน้ำตาล และผนังชั้นในมีน้ำตาลปนสีเหลือง

3.2.1.5 *Acaulospora* sp.1 พบสปอร์เดี่ยว สปอร์มีสีเหลืองน้ำตาลใส ผิวเรียบ รูปร่างกลมถึงเกือบกลม เส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 90-130 ไมครอน เมื่อย้อมสีและทำให้สปอร์แตก พบว่าสปอร์มีผิวขรุขระคล้ายหลุมหรือจุดสีดำ มีผนังบางขอบเรียบ

3.2.1.6 *Acaulospora* sp.2 พบสปอร์เดี่ยวๆ มีสีเหลืองปนน้ำตาลซีด ขอบเป็นสีน้ำตาลเข้ม สปอร์มีรูปร่างกลมถึงค่อนข้างกลม ขนาด 100-130 ไมครอน ผิวสปอร์เรียบ เมื่อทำให้สปอร์แตก พบผนังสปอร์ประกอบด้วยส่วนที่แตกต่างกัน 3-4 ชั้น แบ่งเป็น 2 กลุ่ม ผนังชั้นนอกของสปอร์มีสีน้ำตาลเข้ม มีขอบเป็นสัน ส่วนผนังชั้นในมีสีน้ำตาลอมเหลือง

3.2.1.7 *Acaulospora* sp.3 พบสปอร์เดี่ยวๆ มีสีใสถึงขาวใส ขอบเรียบ สปอร์มีรูปร่างกลมถึงค่อนข้างกลม เส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 130-170 ไมครอน เมื่อทำให้สปอร์แตก พบผนังสปอร์ประกอบด้วยส่วนที่แตกต่างกัน 2-3 ชั้น ผนังชั้นนอกของสปอร์มีสีน้ำตาลอมเหลือง ส่วนผนังชั้นในมีสีขาวปนน้ำตาลอ่อน และผิวของสปอร์พบเป็นหลุมเล็กน้อย

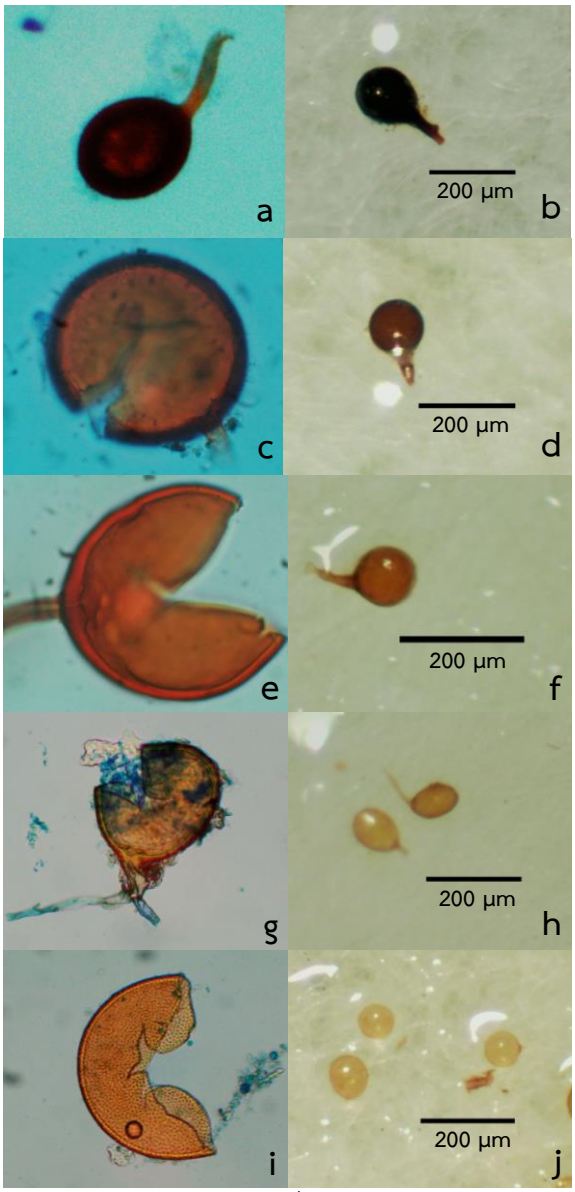
3.2.1.8 *Septoglomus* sp. ส่วนใหญ่จะมีลักษณะเป็นสปอร์เดี่ยว และเกาะกันเป็นกลุ่ม มีสีน้ำตาลแดง รูปร่างสปอร์กลมถึงค่อนข้างกลม มีขนาดเล็ก ประมาณ 80-90 ไมครอน ผิวสปอร์เรียบ พบ subtending hypha เชื่อมต่อกับสปอร์ เมื่อย้อมสีและทำให้สปอร์แตกพบผนังมี 2 ชั้น ผนังชั้นนอกมีสีน้ำตาลแดงเข้มหนา ผนังสปอร์ชั้นในมีน้ำตาลแดงอ่อน

3.2.1.9 *Racocetra* sp. ส่วนใหญ่จะมีลักษณะเป็นสปอร์เดี่ยว สีน้ำตาลแดงเข้ม รูปร่างสปอร์กลม มีขนาดประมาณ 380-410 ไมครอน ผิวสปอร์เรียบ เมื่อนำไปย้อมสีและทำให้สปอร์แตกพบสปอร์มีสีทึบไม่สามารถมองเห็นผนังของสปอร์ได้ชัดเจน ขอบของสปอร์ค่อนข้างเรียบ

3.2.1.10 *Gigaspora* sp. พบสปอร์เดี่ยวๆ สปอร์มีสีเหลืองใส ผิวเรียบ ขอบสีเหลืองเข้ม รูปร่างกลม สปอร์มีขนาดใหญ่ มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 410-460 ไมครอน เมื่อย้อมสีและทำให้สปอร์แตกพบว่าสปอร์มีผนังประมาณ 4-5 ชั้น ขอบเรียบ ผนังสปอร์ชั้นนอกมีสีน้ำตาล ถัดไปด้านในสปอร์มีสีเข้มทึบ พบ sporogenous cell เชื่อมต่อกับสปอร์

ตารางที่ 6 ลักษณะทางสัณฐานของสปอร์ AMF ที่แยกได้จากดินบริเวณแปลงปลูกพริกไทย

ชนิด	สีของสปอร์		เส้นผ่านศูนย์กลางของสปอร์ (μm)	ลักษณะสปอร์
	น้ำ	แลคโตฟีนอล		
Glomus sp.1	ดำ	ดำ	90-150	กลมหรือค่อนข้างกลม
Glomus sp.2	น้ำตาลเข้ม	น้ำตาลส้มเข้มขอบดำ	80-110	กลม
Glomus sp.3	น้ำตาลอ่อน	น้ำตาลปนเหลือง	80-120	กลม
Glomus sp.4	น้ำตาลอ่อน	น้ำตาลอ่อนปนเหลือง	60-160	ค่อนข้างกลมถึงรี
Acaulospora sp.1	เหลืองปนน้ำตาลใส	ส้มปนน้ำตาล	90-130	กลมหรือค่อนข้างกลม
Acaulospora sp.2	เหลืองปนน้ำตาลอ่อน	น้ำตาลปนเหลืองซีด	100-130	กลม
Acaulospora sp.3	ใสถึงขาว	ขาวปนเหลืองอ่อน	130-170	กลมหรือค่อนข้างกลม
Septoglomus sp.	น้ำตาลแดง	น้ำตาลแดงเข้ม	80-90	กลมหรือค่อนข้างกลม
Racocetra sp.	แดงเข้ม	น้ำตาลแดงทึบ	380-410	กลม
Gigaspora sp.	เหลืองใส	น้ำตาลอ่อน	410-460	กลม



ภาพที่ 15 ลักษณะสัณฐานวิทยาของสปอร์ AMF ที่แยกได้จากบริเวณรอบรากพริกไทย (a-b): *Glomus* sp.1 (c-d): *Glomus* sp.2 (e-f) *Glomus* sp.3 (g-h) *Glomus* sp.4 และ (i-j) *Acaulospora* sp.1

ภาพที่ 16 ลักษณะสัณฐานวิทยาของสปอร์ AMF ที่แยกได้จากบริเวณรอบรากพริกไทย (k-l): *Acaulospora* sp.2 (m-n): *Acaulospora* sp.3 (o-p): *Septoglomus* sp. (q-r): *Racocetra* sp. และ (s-t): *Gigaspora* sp.

ตารางที่ 7 ชนิดของ AMF ที่พบในพื้นที่ปลูกพริกไทยทั้ง 4 แหล่ง

ชนิดของ AMF	พื้นที่			
	CY	TS	SL	CA
Glomus sp.1	√	√	√	√
Glomus sp.2	√	√	√	
Glomus sp.3	√		√	√
Glomus sp.4				√
Acaulospora sp.1	√			
Acaulospora sp.2		√		
Acaulospora sp.3			√	√
Septoglomus sp.	√			
Racocetra sp.		√		
Gigaspora sp.		√		

หมายเหตุ: (CY): อ.ไชยา จ.สุราษฎร์ธานี (TS): อ.ทุ่งสง จ.นครศรีธรรมราช (SL): อ.ท่าศาลา จ.นครศรีธรรมราช และ (CA): อ.ชะอวด จ.นครศรีธรรมราช

3.3 การเพิ่มปริมาณ AMF ในข้าวฟ่าง

เมื่อนำตัวอย่างดินที่เก็บจากแปลงปลูกพริกไทยในจังหวัดต่างๆ มาคัดแยกชนิด โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา สามารถจำแนก AMF จากดินตัวอย่างได้ทั้งหมด 10 ชนิด จากนั้นนำสปอร์ที่คัดแยกแล้วมาเพิ่มปริมาณในกระถางโดยใช้ข้าวฟ่างเป็นพืชอาศัย พบว่า สามารถเพิ่มปริมาณสปอร์ของ AMF ได้ทั้งหมด 9 ชนิด ซึ่ง AMF ที่สามารถเพิ่มปริมาณได้ส่วนใหญ่อยู่ในสกุล *Glomus* โดยสามารถเพิ่มได้ทั้งหมด 4 ชนิด คือ *Glomus* sp.1, *Glomus* sp.2, *Glomus* sp.3, และ *Glomus* sp.4 สกุลที่พบรองลงมา คือ *Acaulospora* เพิ่มปริมาณได้ 2 ชนิด คือ *Acaulospora* sp.1 และ *Acaulospora* sp.2 และสกุล *Septoglomus*, *Racocetra* และ *Gigaspora* สกุลละ 1 ชนิด เมื่อนำดินตัวอย่างมาตรวจหาปริมาณสปอร์ พบปริมาณสปอร์ของ *Glomus* sp.1 มากที่สุด คือ 75.67 สปอร์ต่อดิน 100 กรัม พบรองลงมา คือ *Acaulospora* sp.2, *Septoglomus* และ *Gigaspora* ปริมาณ 58.33, 42.33 และ 33.00 สปอร์ต่อดิน 100 กรัม ตามลำดับ ดังนั้นการทดลองนี้จึงเลือก AMF ชนิด *Glomus* sp.1, *Acaulospora* sp.2, *Septoglomus* sp. และ *Gigaspora* sp. ซึ่งสามารถเพิ่มจำนวนได้ในข้าวฟ่างและมีปริมาณสปอร์เพียงพอในการนำไปศึกษาประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นพริกไทยต่อไป (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 จำนวนสปอร์ AMF ทั้งหมดในดินที่สามารถเพิ่มปริมาณได้ในข้าวฟ่าง

ชนิดของ AMF	จำนวนสปอร์ต่อดิน 100 กรัม
Glomus sp.1	75.67 ± 7.79^{a}
Glomus sp.2	16.66 ± 2.60^{d}
Glomus sp.3	16.33 ± 2.72^{d}
Glomus sp.4	14.33 ± 2.60^{d}
Acaulospora sp.1	10.00 ± 1.15^{d}
Acaulospora sp.2	58.33 ± 5.81^{b}
Septoglomus sp.	42.33 ± 4.09^{c}
Racocetra sp.	10.67 ± 1.76^{d}
Gigaspora sp.	33.00 ± 4.72^{c}
P-value	*

หมายเหตุ: * มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.01$

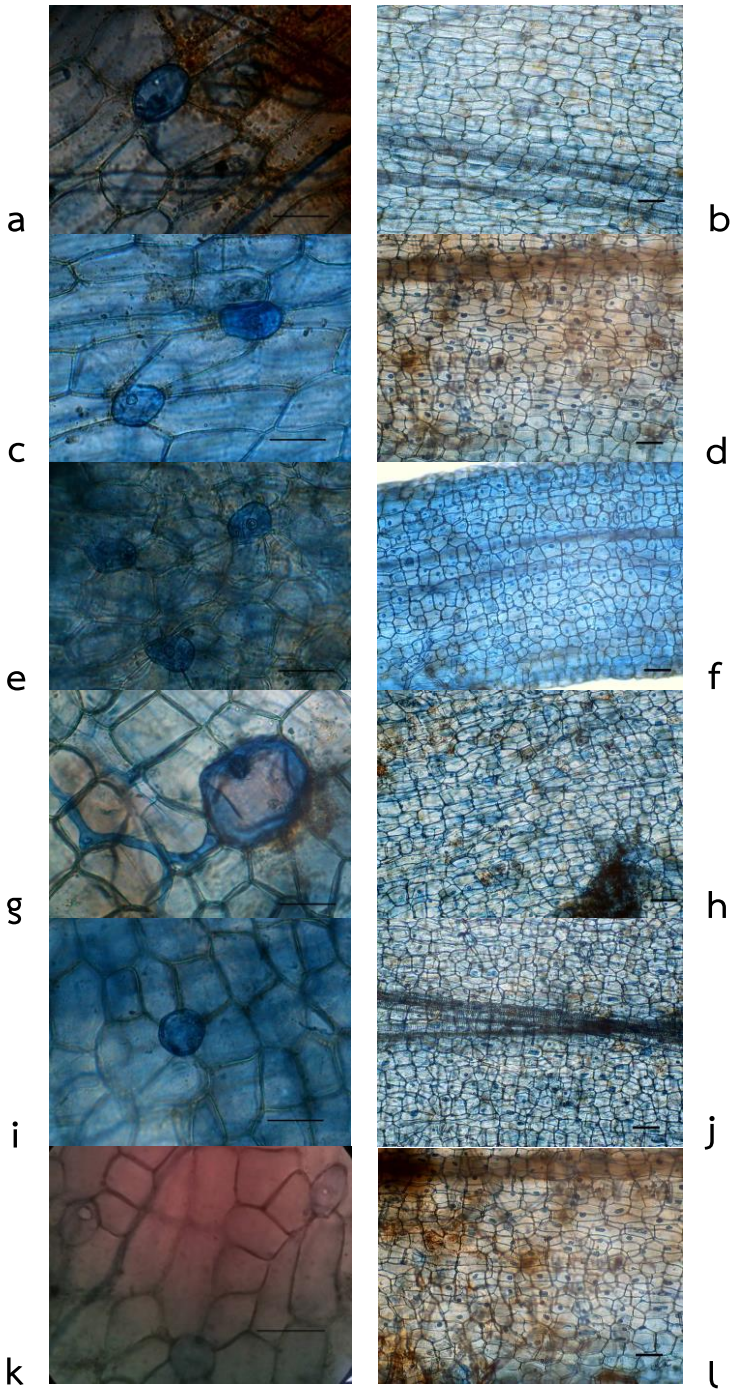
3.4 การทดสอบประสิทธิภาพของ AMF ที่มีต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพริกไทย

การทดลองคัดเลือก AMF ในต้นพริกไทย เพื่อให้ทราบถึงชนิดของ AMF ที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นพริกไทย หรือสปอร์ราที่มีความจำเพาะเจาะจงกับต้นกล้าพริกไทยอย่างแท้จริง จากการทดลองปลูกเชื้อ AMF ทั้งหมด 4 ชนิดในต้นกล้าพริกไทย คือ *Glomus* sp.1, *Acaulospora* sp.2, *Gigaspora* sp. และ *Septoglomus* sp. โดยใช้พริกไทยพันธุ์ซีลอน อายุ 3 เดือน เพาะเลี้ยงไว้เป็นระยะเวลา 3 เดือน และสุ่มตัวอย่างดินจำนวน 100 กรัม นำมาตรวจนับจำนวนสปอร์โดยวิธีการปั่นเหวี่ยงด้วยน้ำตาลซูโครส พบว่า จำนวนสปอร์ของ AMF โดยรวมทั้งหมดต่อดิน 100 กรัม มีจำนวนเพิ่มขึ้น โดยการปลูกสปอร์ชนิด *Acaulospora* sp.2 มีจำนวนสปอร์สูงสุดถึง 136.75 สปอร์ต่อดิน 100 กรัม รองลงมา คือ การปลูกสปอร์ *Glomus* sp.1, *Gigaspora* sp. และ *Septoglomus* sp. (92.50, 57.50 และ 53.00 สปอร์ต่อดิน 100 กรัม ตามลำดับ) สำหรับค่าการเข้าอาศัยในรากของ AMF พบว่า การปลูกเชื้อ *Glomus* sp.1 และ *Acaulospora* sp.2 มีการเข้าอยู่อาศัยในรากสูงที่สุด คือ 79.33 และ 75.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่การทดลองที่ไม่ปลูกเชื้อมีการเข้าอาศัยของไมคอร์ไรซา เท่ากับ 8.4 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 9) เมื่อนำรากพริกไทยในแต่ละชุดการทดลองมาตรวจนับเปอร์เซ็นต์การเข้าอยู่อาศัยในราก พบโครงสร้างต่างๆ ได้แก่ เวิสสิเคิล (vesicle) และโครงสร้างอาร์บัสคูล (arbuscule) (ภาพที่ 17)

ตารางที่ 9 จำนวนสปอร์ในดินและเปอร์เซ็นต์ของการเข้าอยู่อาศัยในรากพริกไทย

ชุดการทดลอง	จำนวนสปอร์ต่อดิน 100 กรัม	เปอร์เซ็นต์การเข้าอยู่อาศัยในรากพืช
Control	12.75 ± 2.56^{d}	8.40 ± 0.46^{c}
Glomus sp.1	92.50 ± 8.25^{b}	79.33 ± 3.53^{a}
Acaulospora sp.2	136.75 ± 9.69^{a}	75.33 ± 3.53^{a}
Gigaspora sp.	57.50 ± 6.91^{c}	60.33 ± 5.04^{b}
Septoglomus sp.	53.00 ± 10.07^{c}	59.00 ± 5.13^{b}
Mixed species	89.00 ± 7.33^{b}	61.67 ± 4.91^{b}
P-value	**	**

หมายเหตุ: ** มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.01$



ภาพที่ 17 รากพริกไทยที่มีการเข้าอยู่อาศัยของ AMF เมื่อย้อมด้วย trypan blue (a และ b): อาร์บัสคูล และเวิสสิเคิล ของ Control (c และ d): อาร์บัสคูล และเวิสสิเคิล ของ *Glomus* sp.1 (e และ f): อาร์บัสคูล และเวิสสิเคิล ของ *Acaulospora* sp.2 (g และ h): อาร์บัสคูล และเวิสสิเคิล ของ *Gigaspora* sp. (i และ j): อาร์บัสคูล และเวิสสิเคิล ของ *Septoglomus* sp. (k และ l): อาร์บัสคูล และเวิสสิเคิล ของ Mixed species (a, c, e, g, i และ k bar = 50 µm และ b, d, f, h, j และ l bar = 100 µm)

น้ำหนักแห้งของต้นพริกไทยที่ได้รับการปลูกเชื้อ AMF ทั้ง 5 ชุดการทดลอง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่ไม่ปลูกเชื้อ จากการทดลองในต้นพริกไทยที่ได้รับการปลูกเชื้อทั้ง 5 ชุดการทดลอง พบว่า น้ำหนักแห้งในส่วนเหนือดินของต้นพริกไทยที่ได้รับการปลูกเชื้อ *Acaulospora* sp.2 มีค่าสูงสุด คือ 8.68 กรัม รองลงมาคือการปลูกเชื้อ *Glomus* sp.1, *Gigaspora* sp., *Septoglomus* sp และ Mixed species ตามลำดับ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 8.28, 6.01, 4.82 และ 4.79 ตามลำดับ ส่วนน้ำหนักแห้งในราก พบว่า พริกไทยที่ได้รับการปลูกเชื้อ *Glomus* sp.1 มีค่าน้ำหนักแห้งของรากสูงที่สุด คือ 3.90 กรัม รองลงมาคือ การปลูกเชื้อ *Acaulospora* sp.2, *Septoglomus* sp, *Gigaspora* sp. และ Mixed specie ตามลำดับ โดยมีค่าน้ำหนักแห้งของราก เท่ากับ 3.41, 2.11, 2.05 และ 1.92 กรัม ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อ และผลของน้ำหนักแห้งทั้งหมดของต้นพริกไทย พบว่า พริกไทยที่ได้รับการปลูกเชื้อ *Glomus* sp.1 และ *Acaulospora* sp.2 มีค่าน้ำหนักแห้งรวมทั้งหมดของต้นสูงสุด คือ 12.18 และ 12.09 กรัม ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่ไม่ปลูกเชื้อ (ตารางที่ 10)

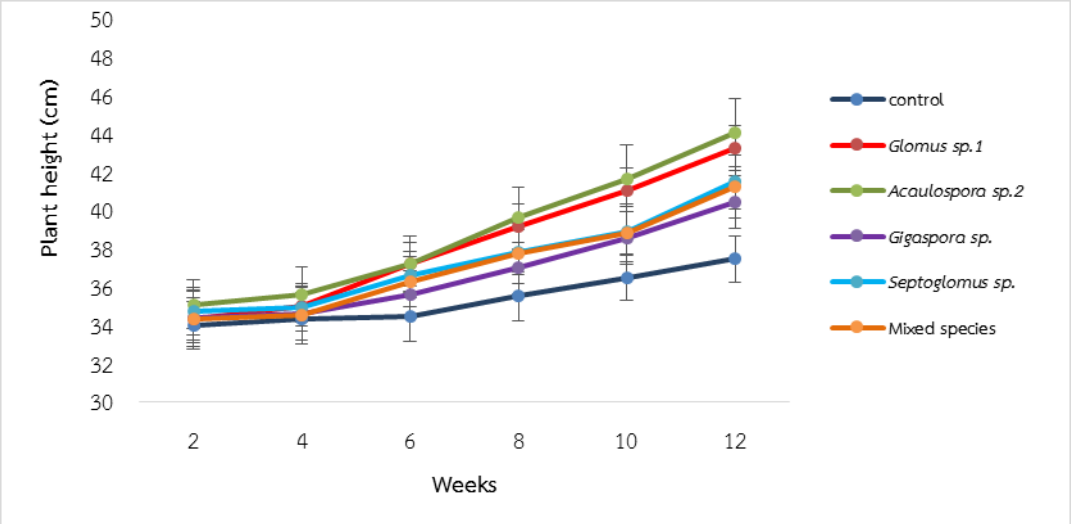
ตารางที่ 10 ผลน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือดิน น้ำหนักแห้งของราก และน้ำหนักแห้งทั้งหมดของต้นพริกไทย เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่ปลูกเชื้อ AMF ชนิดต่างๆ

ชุดการทดลอง	น้ำหนักแห้งของยอด (กรัม)	น้ำหนักแห้งของราก (กรัม)	น้ำหนักแห้งทั้งหมด (กรัม)
Control	3.69 ± 0.35^{b}	1.25 ± 0.29^{c}	4.95 ± 0.24^{b}
Glomus sp.1	8.28 ± 1.31^{a}	3.90 ± 0.98^{a}	12.18 ± 2.20^{a}
Acaulospora sp.2	8.68 ± 1.59^{a}	3.41 ± 0.90^{ab}	12.09 ± 2.41^{a}
Gigaspora sp.	6.01 ± 0.29^{ab}	2.05 ± 0.11^{abc}	8.06 ± 0.30^{ab}
Septoglomus sp.	4.82 ± 0.69^{b}	2.11 ± 0.17^{abc}	6.93 ± 0.59^{b}
Mixed species	4.79 ± 1.18^{b}	1.92 ± 0.19^{bc}	6.71 ± 1.22^{b}
P-value	*	*	*

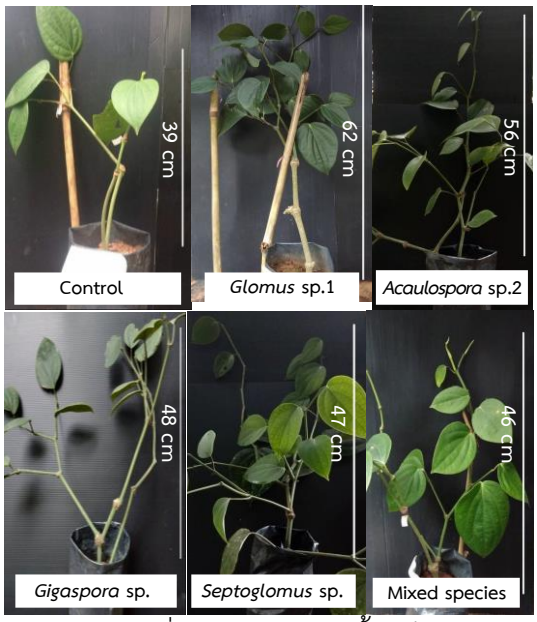
หมายเหตุ: มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ $P < 0.05$

เมื่อเพาะเลี้ยงพริกไทยจนครบระยะเวลา 3 เดือน พบว่า ต้นพริกไทยที่มีค่าความสูงของต้นมากที่สุด คือ การปลูกเชื้อ *Acaulospora* sp.2 (41.85 เซนติเมตร) และการปลูกเชื้อ *Glomus* sp.1 (38.47 เซนติเมตร) โดยชุดการทดลองที่มีการปลูกเชื้อทั้งสองชนิดมีความแตกต่างจากการทดลองที่ปลูกเชื้อชนิดอื่นๆ และการทดลองที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเปรียบเทียบความสูงของต้นพริกไทยในทุกๆ 2 สัปดาห์ พบว่า 2 สัปดาห์แรกหลังการปลูกทดลอง ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นพริกไทยไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อปลูกทดลองเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นกล้าพริกไทยในทุกชุดการทดลองมีความ

แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่า ค่าเฉลี่ยความสูงมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจนในสัปดาห์สุดท้ายหลังการปลูกทดลอง (ภาพที่ 18 และ 19)



ภาพที่ 18 ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นพริกไทยในทุกๆ 2 สัปดาห์ หลังจากปลูกเชื้อ AMF ชนิดต่างๆ เปรียบเทียบกับการทดลองที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อ (มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ $P < 0.05$)



ภาพที่ 19 ความสูงของต้นกล้าพริกไทยเมื่อได้รับการปลูกเชื้อ เป็นระยะเวลา 3 เดือน

ผลพื้นที่ใบ พบว่า ต้นพริกไทยในชุดการทดลองที่ได้รับการปลูกเชื้อ และไม่ได้รับการปลูกเชื้อมีค่าพื้นที่ใบไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งพื้นที่ใบของการปลูกเชื้อ *Acaulospora* sp.2 มีค่าสูงสุด คือ 86.48 ตารางเซนติเมตร รองลงมาพบในการปลูกเชื้อ *Gigaspora* sp., *Septoglomus* sp., *Glomus* sp.1, Mixed specie และ No inoculum ตามลำดับ โดยมีค่าเท่ากับ 85.39, 81.85, 72.35, 71.51 และ 69.14 ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบค่าความยาวรากของต้นพริกไทยที่ได้รับการปลูกเชื้อ ไม่พบความแตกต่างกับการทดลองที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพริกไทยที่มีความยาวรากสูงสุดพบในการทดลองที่ปลูกเชื้อ *Acaulospora* sp.2 มีความยาวรากเท่ากับ 29.50 เซนติเมตร

ผลจำนวนใบของต้นพริกไทยที่มีการปลูกเชื้อ AMF มีจำนวนใบที่แตกต่างกันกับการทดลองที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยจำนวนใบที่พบมากที่สุดอยู่ในการทดลองที่ปลูกเชื้อชนิด *Acaulospora* sp.2 และ *Glomus* sp.1 มีค่าเท่ากับ 15.50 และ 14.90 ใบต่อต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 11 ผลพื้นที่ใบ ความยาวราก และจำนวนใบของพริกไทย ในชุดการทดลองที่ปลูกเชื้อเมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่ไม่ปลูกเชื้อ AMF

ชุดการทดลอง	พื้นที่ใบต่อต้น (cm^2)	ความยาวราก (cm)	จำนวนใบต่อต้น
Control	69.14 ± 9.92	14.17 ± 3.94	7.50 ± 0.53^{c}
Glomus sp.1	72.36 ± 8.68	27.67 ± 2.13	14.90 ± 1.24^{a}
Acaulospora sp.2	86.49 ± 12.73	29.50 ± 2.29	15.50 ± 1.28^{a}
Gigaspora sp.	85.40 ± 7.95	23.67 ± 4.05	11.38 ± 0.80^{b}
Septoglomus sp.	81.85 ± 9.89	25.00 ± 2.65	11.20 ± 0.55^{b}
Mixed species	71.51 ± 11.36	20.67 ± 3.71	10.33 ± 0.71^{bc}
P-value	ns	ns	*

หมายเหตุ: * มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ $P < 0.05$
ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ $P < 0.05$

เมื่อตรวจหาปริมาณธาตุอาหาร N P K ในส่วนของต้นและดิน พบว่า ปริมาณธาตุไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในใบของพริกไทยไม่มีความแตกต่างกัน ส่วนปริมาณธาตุโพแทสเซียมในใบ พบว่า ชุดการทดลองที่ได้รับการปลูกสปอร์ของ *Gigaspora* sp. และ *Septoglomus* sp. มีปริมาณธาตุโพแทสเซียมสูงสุด คือ 3.82 และ 3.78 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองอื่นๆ ผลของปริมาณธาตุไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในลำต้น พบว่า ชุดการทดลองที่ได้รับการเติมเชื้อ *Septoglomus* sp.และ *Glomus* sp.1 มีปริมาณธาตุไนโตรเจนและฟอสฟอรัสสูงสุด คือ มีปริมาณไนโตรเจน เท่ากับ 2.90 และ 2.74 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปริมาณฟอสฟอรัส เท่ากับ 0.36 และ 0.30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และไม่พบความแตกต่างของปริมาณธาตุโพแทสเซียมในลำต้นในทุกชุดการทดลอง ส่วนปริมาณธาตุไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในราก พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทั้งการทดลองที่ได้รับการปลูกเชื้อและไม่ได้รับการปลูกเชื้อ และปริมาณของธาตุโพแทสเซียมในราก พบว่า ชุดการทดลองที่ได้รับการปลูกเชื้อ *Glomus* sp.1 และ *Septoglomus* sp. มีปริมาณธาตุโพแทสเซียมสูงสุด เท่ากับ 3.65 และ 3.64 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองอื่นๆ ด้านปริมาณธาตุ N P K ในดิน พบว่า ปริมาณธาตุไนโตรเจนและโพแทสเซียมในดินของทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกัน ส่วนปริมาณธาตุฟอสฟอรัสในดิน พบว่า การทดลองที่ปลูกเชื้อ *Gigaspora* sp. มีปริมาณธาตุฟอสฟอรัสในดินสูงที่สุด คือ 337.66 ppm ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองอื่นๆ (ตารางที่ 12 และ 13)

ตารางที่ 12 ปริมาณธาตุอาหาร N P K ในต้นพริกไทยที่ได้รับการปลูกเชื้อและไม่ได้รับการปลูกเชื้อ

ชุดการทดลอง	ใบ (%)			ลำต้น (%)			ราก (%)		
	N	P	K	N	P	K	N	P	K
Control	3.31 ± 0.59	0.23 ± 0.01	1.08 ± 0.01^{b}	2.06 ± 0.09^{c}	0.22 ± 0.01^{b}	4.09 ± 0.42	1.76 ± 0.26	0.27 ± 0.58	3.38 ± 0.74^{a}
Glomus sp.1	3.29 ± 0.29	0.28 ± 0.05	1.05 ± 0.02^{b}	2.74 ± 0.18^{ab}	0.30 ± 0.01^{a}	3.29 ± 0.80	2.16 ± 0.51	0.37 ± 0.01	3.65 ± 0.16^{a}
Acaulospora sp.2	3.06 ± 0.21	0.26 ± 0.04	1.07 ± 0.06^{b}	1.78 ± 0.25^{c}	0.24 ± 0.02^{b}	3.56 ± 0.08	2.60 ± 0.09	0.26 ± 0.07	1.24 ± 0.03^{b}
Gigaspora sp.	2.98 ± 0.26	0.28 ± 0.05	3.82 ± 0.41^{a}	2.27 ± 0.19^{bc}	0.27 ± 0.02^{b}	2.74 ± 0.78	2.35 ± 0.03	0.25 ± 0.05	1.06 ± 0.07^{b}
Septoglomus sp.	2.89 ± 0.12	0.30 ± 0.02	3.78 ± 0.38^{a}	2.90 ± 0.05^{a}	0.36 ± 0.04^{a}	4.13 ± 0.15	2.56 ± 0.05	0.40 ± 0.06	3.64 ± 0.16^{a}
Mixed species	3.02 ± 0.13	0.24 ±0.02	1.15 ± 0.02^{b}	2.17 ± 0.16^{c}	0.23 ± 0.03^{b}	2.41 ± 0.66	2.08 ± 0.01	0.36 ± 0.01	1.62 ± 0.06^{b}
P-value	ns	ns	*	*	*	ns	ns	ns	*

หมายเหตุ: * มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ $P < 0.05$

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ $P < 0.05$

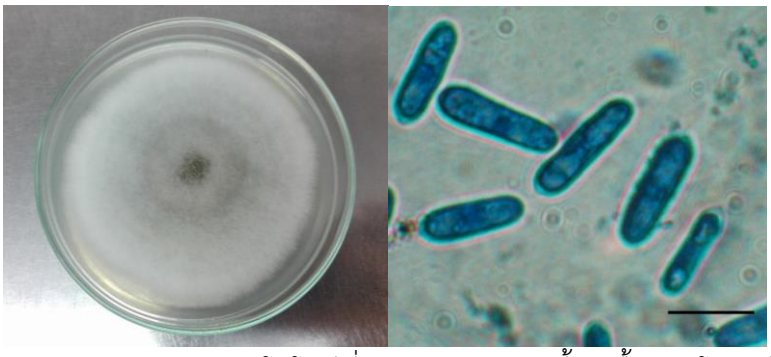
ตารางที่ 13 ปริมาณธาตุอาหาร N P K ในดินที่ได้รับการปลูกเชื้อและไม่ได้รับการปลูกเชื้อ

ชุดการทดลอง	ปริมาณธาตุอาหารในดิน (ppm)		
	Total N	PO_2	Total K
Control	1.99 ± 0.15	293.00 ± 26.51[a]	3709.00 ± 415.27
Glomus sp.1	1.65 ± 0.09	276.30 ± 21.06[b]	3951.70 ± 338.86
Acaulospora sp.2	1.55 ± 0.14	242.67 ± 18.56[b]	3609.66 ± 536.68
Gigaspora sp.	1.73 ± 0.04	337.66 ± 6.64[a]	3899.00 ± 407.95
Septoglomus sp.	1.68 ± 0.01	246.60 ± 2.33[b]	3755.33 ± 135.17
Mixed species	1.98 ± 0.23	278.70 ± 4.10[b]	3834.67 ± 288.71
P-value	ns	*	ns

หมายเหตุ: * มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ $P < 0.05$
ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ $P < 0.05$

3.5 วิธีการแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืชและการจัดจำแนกชนิด

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของตัวอย่างเชื้อราที่ได้จากใบพริกไทยที่มีลักษณะอาการของโรค เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงไว้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นระยะเวลา 9 วัน ที่อุณหภูมิห้อง พบว่า เชื้อรามีลักษณะของโคโลนีเป็นสีขาวถึงขาวเทา หนาแน่น เส้นใยฟูปานกลาง ขอบเรียบ เมื่อเชื้อราแก่เต็มที่จะเกิดหยดน้ำสีส้มบนเส้นใย เมื่อนำไปตรวจดูลักษณะของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า โคนิเดียมีรูปร่างรี หรือทรงกระบอก หัวท้ายมน โคนิเดียมีความกว้างประมาณ 2.5-3.5 ไมครอน และความยาวประมาณ 10-15 ไมครอน (ภาพที่ 20)



ภาพที่ 20 ลักษณะสัณฐานวิทยาของโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อและโคนิเดียภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ของเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสที่คัดแยกจากใบพริกไทย (bar = 10 µm)

ผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของราหลังจากการเพิ่มจำนวนชิ้นดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR พบว่า ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS ของตัวอย่างเชื้อราที่เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR และใช้ Glutamine synthetase (GS) gene ประกอบด้วย 2 ไพรเมอร์ คือ GSF1 และ GSR1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ (ภาพที่ 21)

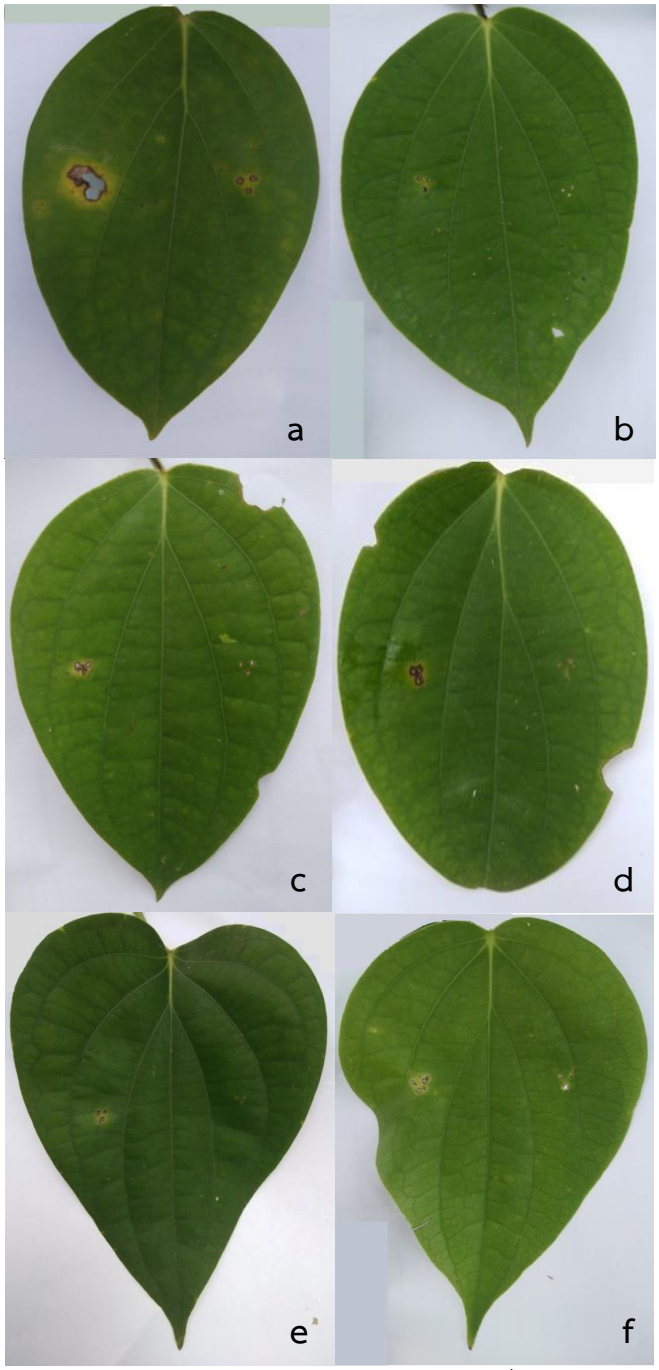
GCAAAATCGCCCGCACTGCTGCAGCCGGAGAATCCTTTAGACGAGCAAAAGGATACGCCTATTCCAGCGTTGGCCCCC
CACGTATTGCAGCTGAGCCGGTTAATGCCTCTCACGACCTGCGGCGGCGGGCGCAACAAAGCTGGGGAAGCGGCCCCG
TGTTTTGAGGAATCATTGCCTCGGGGTCTCTCCGAGTCTGCCCCGGACTGAGATTTAGGCGGGCTGCTGCAGCAGGTT
GCGGCGACGGCAAGCACTGGGGCTTGGCGGGGGTCAAACCACCGCCTGCCCCGCGGATGCTGTGTTGGGTGTTGGGTT
GGCGGTCGTTGTACGTATCTGCTCAGCTCTGCTCGGCTGGGCTTCTGGTTATTGCCAGTAGCCGGGGGCTGCTGGCTG
ACAGGATTCGCACACGACTCGGTTCTGCAAGGAACCCCACCCCACCTGGCTGGTGCAGCGACTCCGAGGCCTCGCCTT
GCCTCCAGCTGCAGGGTTCAACGCGGCATCTCGGGTATTGCAGGTCTTGCAAACAAAAAGTCTAGAGGCGTCTTTGTC
CGCTCGCCGTCGGGGCGCATCCTTTTTGCCGGTTGGCCAGCCGCCGGCGCGACGTGATAGCGGTCACGACCCCACTGG
CGATGGGCCCGAGACCCAAAAGCCCCGAATGGGCGACTGGAGCTCCCCGCTTGAGCATCGTCAGTTCGACGACAAGGC
GCATCGCATGATGTCAGCCTTGCAGGCCAAAGTTGGCCACGCGCACGAGCATTCACCATGCCCAGACTTGCATCATAA
CGCCACATTCACAACATCGATACTGACAATGTGCACCTACAGACACTCAAGGAGAAGGAGTACACCCCAGAAGACCTT
CCTATGTGGAACTTCGACGGTTCCTCCACCGGCCAGGCCCCCGGTGACAACTCTGACGTCTACC

ภาพที่ 21 ลำดับเบสบริเวณ ITS ของตัวอย่างเชื้อราโรคพืชที่แยกจากใบพริกไทย เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR

เมื่อเปรียบเทียบลำดับเบสนิวคลีไอไทด์ GS gene ของราตัวอย่างกับฐานข้อมูลสากล GenBank พบว่า ตัวอย่างรานั้นมีความใกล้เคียงกับกลุ่มของราชนิด *Colletotrichum gloeosporioides* ซึ่งเมื่อพิจารณาเบสนิวคลีโอไทด์จะสามารถสรุปได้ว่าราตัวอย่างมีความใกล้เคียงกับ *C. fructicola* มากที่สุดที่เปอร์เซ็นต์ความเหมือน (% Identity) เท่ากับ 98 เปอร์เซ็นต์

3.6 การทดสอบการต้านทานโรคของพริกไทยที่ได้รับการปลูกเชื้อ

การเกิดโรคแอนแทรคโนสบนใบพริกไทยในการทดลอง พบว่า มีลักษณะของแผลเป็นสีน้ำตาลและขอบสีเหลืองเกิดขึ้นบนใบ (ภาพที่ 22) โดยต้นพริกไทยที่ปลูกร่วมกับเชื้อ AMF ทั้ง 5 ชุดการทดลอง มีความรุนแรงของโรคน้อยกว่าการทดลองที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อ AMF อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และการเกิดโรคน้อยที่สุดพบในชุดการทดลองปลูกเชื้อชนิด *Glomus* sp.1 ซึ่งมีพื้นที่การเกิดโรค เท่ากับ 0.84 ตารางเซนติเมตร (ตารางที่ 14)



ภาพที่ 22 พื้นที่การเกิดโรคแอนแทรคโนสบนใบพริกไทย เมื่อปลูกร่วมกับ AMF ชนิดต่างๆ เปรียบเทียบกับการทดลองที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อ (a): Control (b): *Glomus* sp.1 (c): *Acaulospora* sp.2 (d): *Gigaspora* sp. (e): *Septoglomus* sp. และ (f) Mixed specie

ตารางที่ 14 พื้นที่การเกิดโรคแอนแทรคโนสของพริกไทย เมื่อปลูกร่วมกับ AMF ชนิดต่างๆ

ชุดการทดลอง	พื้นที่ของการเกิดโรค (cm^2)
Control	3.96 ± 0.88^b
Glomus sp.1	0.84 ± 0.03^a
Acaulospora sp.2	1.78 ± 0.25^a
Gigaspora sp.	1.83 ± 0.41^a
Septoglomus sp.	1.20 ± 0.23^a
Mixed species	0.94 ± 0.09^a
P-value	*

หมายเหตุ: * มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ $P < 0.05$

บทที่ 4
วิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดลองแสดงให้เห็นถึงปริมาณและความหลากหลายของ AMF ในแต่ละพื้นที่ที่แตกต่างกัน จากผลการศึกษาพบว่า จำนวนประชากร จำนวนชนิด และจำนวนสปอร์เชื้อ AMF มีความแตกต่างกันในแต่ละแหล่งปลูก ซึ่ง AMF ที่พบมากที่สุดอยู่ในสกุล *Glomus* พบรองลงมาคือ *Acaulospora* สอดคล้องกับการศึกษา AMF ในประเทศไทย โดย เมธาวีการณ์ และโสภณ (2554) ซึ่งสำรวจและเก็บตัวอย่างดินรอบรากอ้อยที่ปลูกในแปลงเกษตรกรในเขตจังหวัดขอนแก่น อุดรธานี และนครราชสีมา แล้วนำไปจัดจำแนกชนิดของรา พบ AMF ในสกุล *Glomus* และ *Acaulospora* มากที่สุดเช่นเดียวกัน และจากการศึกษาความหลากหลายของ AMF บริเวณรากต้นยางพาราในประเทศศรีลังกา พบราสกุล *Glomus* ในทุกพื้นที่ที่ทำการศึกษาเช่นเดียวกัน เนื่องจาก *Glomus* เป็นสกุลที่มีความทนทานต่อความหลากหลายของดิน มีความสามารถในการแข่งขัน และการปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมสูง (Songachan และ Kayang, 2011) อีกทั้งจากค่าความเป็นกรด-ด่าง ของดินตัวอย่างมีค่าความเป็นกรด-ด่าง อยู่ในช่วง 4.47-6.09 จากรายงานของ Hayman และ Tavares (1985) ซึ่งศึกษาอิทธิพลของค่าความเป็นกรด-ด่างของดินต่อการเข้าอยู่อาศัยของ AMF พืช พบว่า *Glomus* จะเจริญได้ดีในดินที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง ในช่วงใกล้เคียงหรือเป็นกลาง (pH 7) ในขณะที่ *Acaulospora* จะเจริญได้ดีในดินที่มีความเป็นกรดสูงกว่า

จากการทดลองพบ AMF สกุล *Septoglomus* เฉพาะดินรอบรากพริกไทยจากแปลงปลูกอำเภอไชยา จังหวัดสุราษฎร์ธานีเท่านั้น ที่มีลักษณะของพื้นที่แบบลาดเท มีแหล่งน้ำล้อมรอบ ดินมีลักษณะเป็นดินทรายปนดินร่วน ปลูกพริกไทยมาแล้ว 2 ปี มีการดูแลรักษาต้นพริกไทยโดยเน้นการใช้ปุ๋ยชีวภาพเป็นหลัก และใช้ปุ๋ยเคมีเพียงเล็กน้อย และพบสกุล *Racocetra* และ *Gigaspora* เฉพาะแปลงปลูกอำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราชเท่านั้น ซึ่งมีลักษณะพื้นที่แบบที่ราบ ลักษณะดินเป็นดินทราย ปลูกพืชแบบสวนผสม พริกไทยมีอายุประมาณ 8 เดือน มีการดูแลรักษาต้นพริกไทยโดยการใช้ปุ๋ยชีวภาพมากกว่าการใช้ปุ๋ยเคมี ซึ่งจากผลการทดลอง จำนวนและชนิดของสปอร์ของ AMF ที่แตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากสภาพพื้นที่ปลูก และวิธีการดูแลรักษาต้นพริกไทยในแต่ละพื้นที่ที่แตกต่างกัน เช่น การให้ปุ๋ย เป็นต้น จากรายงานการสำรวจประชากร AMF บริเวณเขตรากไผ่ในพื้นที่เกษตรกรรม (จังหวัดสุพรรณบุรี) และพื้นที่ป่าไผ่ธรรมชาติ (จังหวัดกาญจนบุรี) พบว่าดินบริเวณเขตรากไผ่ในพื้นที่ป่าธรรมชาติมีจำนวนประชากรของ AMF มากกว่าในพื้นที่เกษตรกรรม และจากการจำแนกชนิดสปอร์ราพบว่า พื้นที่ป่าธรรมชาติมีจำนวนชนิดของ AMF ทั้งหมด 11 ไอโซเลท ส่วนในพื้นที่เกษตรกรรมมี 9 ไอโซเลท แสดงให้เห็นว่าความหลากหลายของราในพื้นที่ป่าธรรมชาติมีมากกว่าพื้นที่เกษตรกรรม ซึ่งมีการปรับหรือดัดแปลงพื้นที่จากสภาพธรรมชาติ (นาฏยา และคณะ, 2554) และจากการสำรวจในงานวิจัยนี้พบราสกุล *Gigaspora* เฉพาะแปลงปลูกอำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช ซึ่งพื้นที่แปลงปลูกนี้มีลักษณะของดินเป็นดินทราย จากรายงานของ Lee และ Koske (1994) กล่าวว่า AMF ในสกุล *Gigaspora* มักเจริญได้ดีในดินประเภทดินทราย หรือที่มีทรายผสมอยู่ แต่พบสปอร์ได้น้อยในดินบริเวณรอบรากพริกไทย อาจเนื่องจากราในสกุลนี้เป็นราที่สร้างสปอร์ขนาดใหญ่ ต้องใช้เวลาในการสร้างสปอร์นานกว่า AMF ชนิดอื่นๆ ที่สร้างสปอร์ขนาดเล็กกว่า

ทำให้พบได้น้อย นอกจากนี้ระยะเวลาในการสุ่มเก็บตัวอย่างหรือฤดูกาล อาจมีผลต่อการพบหรือไม่พบสปอร์ราชนิดนั้นๆ เนื่องจาก AMF บางชนิดอาจไม่สร้างสปอร์ในช่วงที่ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างดิน หรือบางชนิดต้องใช้เวลานานจึงจะสร้างสปอร์ (Oehl และคณะ, 2004)

จากข้อมูลการดูแลรักษาต้นพริกไทยของเกษตรกรพบว่า พื้นที่แปลงปลูกใน อำเภอไชยา จังหวัดสุราษฎร์ธานี และอำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช มีการใช้สารเคมีน้อย ส่วนแปลงปลูกใน อำเภอท่าศาลา และอำเภอชะอวด จังหวัดนครศรีธรรมราช เน้นการใช้สารเคมีเป็นหลัก ซึ่งการเพิ่มปริมาณสปอร์ AMF ในข้าวฟ่าง พบว่า สปอร์จากแปลงปลูก อำเภอไชยา และทุ่งสง สามารถเพิ่มปริมาณสปอร์ได้ดีกว่าสปอร์ที่ได้จากแปลงปลูกในอำเภอท่าศาลาและชะอวด แสดงให้เห็นว่าปริมาณการใช้ปุ๋ยเคมีมีผลต่อการเพิ่มจำนวนสปอร์ของ AMF ซึ่งจากงานวิจัยของนิจพร ในปี 2548 ได้ศึกษาผลกระทบของการใช้ปุ๋ยเคมีระยะยาวในระบบการปลูกข้าวโพดต่อความหลายหลายของ AMF ในประเทศไทย ที่มีการใส่ปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟต และทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต ติดต่อกันเป็นเวลา 27 ปี เมื่อเก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกข้าวโพดมานับจำนวนสปอร์ พบ AMF ทั้งหมด 16 ชนิด จากนั้นนำไปเพิ่มปริมาณในข้าวโพดเพื่อทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราแต่ละชนิด พบว่า มีการตอบสนองต่อการใส่ปุ๋ยเคมีในระยะยาวต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพดในกระถางแตกต่างกัน โดยใส่ปุ๋ยทริบเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต 3 ระดับ คือ 0 70 และ 210 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อเฮกตาร์ พบว่า มี AMF เพียง 9 ชนิดที่สามารถเพิ่มปริมาณได้ และการใส่ปุ๋ยเคมีระยะยาวทำให้ปริมาณสปอร์ราลดลง ส่วนผลความหลากหลายของชนิดสปอร์ขึ้นอยู่กับช่วงเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่าง ในการจัดจำแนก AMF 9 ชนิดที่สามารถเพิ่มปริมาณในข้าวโพดได้นั้น *Acaulospora* sp.1 ถูกจัดเป็นชนิดที่ไม่ตอบสนองต่อการใส่ปุ๋ยเคมี เนื่องจากจำนวนสปอร์ไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อมีการใส่ปุ๋ยเพิ่มขึ้น ส่วน *Entrophospora schenckii*, *G. mosseae*, *Glomus* sp.1, *G. geosporum*-like และ *S. fulgida* ถูกจำแนกเป็นพวกตอบสนองต่อการใส่ปุ๋ยเคมีเล็กน้อย เนื่องจากจำนวนสปอร์ลดลง ขณะที่จำนวนสปอร์สัมพัทธ์ของราไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อมีการใส่ปุ๋ยเพิ่มขึ้น และ *Glomus* sp.2, *Glomus* sp.3 และ *Glomus* sp.4 จำแนกเป็นพวกตอบสนองต่อการใส่ปุ๋ยเคมีอย่างสูง เนื่องจากทั้งจำนวนสปอร์และจำนวนสปอร์สัมพัทธ์ลดลงเมื่อมีการใส่ปุ๋ยเคมีเพิ่มขึ้น กล่าวได้ว่า AMF มีการตอบสนองต่อการใช้สารเคมีที่แตกต่างกัน เป็นผลให้จำนวนสปอร์ที่พบแตกต่างกันไปด้วย และความสามารถในการเพิ่มปริมาณของสปอร์จะขึ้นอยู่กับชนิดของรานั้นๆ

จากการทดลองเพิ่มปริมาณสปอร์เชื้อ AMF ที่ได้จากการคัดแยกตัวอย่างดินจากแปลงปลูกพริกไทย ในจังหวัดนครศรีธรรมราช จำนวน 3 แหล่ง และจังหวัดสุราษฎร์ธานี จำนวน 1 แหล่ง โดยใช้ข้าวฟ่างเป็นพืชอาศัย พบว่า AMF ชนิด *Glomus* sp.1 สามารถเพิ่มจำนวนสปอร์ในดินได้สูงที่สุด (75.67 สปอร์ต่อดิน 100 กรัม) รองลงมาคือ *Acaulospora* sp.2 (58.33 สปอร์ต่อดิน 100 กรัม) จากงานวิจัยของ Ahulu และคณะ (2006) ได้ศึกษาการเพิ่มปริมาณสปอร์ AMF ด้วยวิธี trap culture โดยใช้พืชอาศัย คือ ข้าวฟ่างและปาล์มน้ำมัน พบว่า สปอร์ราที่สามารถเพิ่มปริมาณได้ในข้าวฟ่างและปาล์มน้ำมันส่วนใหญ่อยู่ในสกุล *Acaulospora Glomus* และ *Scutellospora* แม้การใช้พืชอาศัยเพื่อเพิ่มปริมาณ AMF จะเป็นวิธีที่นิยมใช้กันโดยทั่วไป แต่ก็มีข้อจำกัด คือ ชนิดพืชอาศัย ระยะเวลาในการเก็บตัวอย่าง และปัจจัยสิ่งแวดล้อมในสภาพเรือนเพาะชำ อาจมีผลต่อการสร้างสปอร์ AMF แต่ละชนิดได้ และจากการศึกษาผลของ AMF ในต้นกล้ากาแฟอราบิก้า (*Coffea*

arabica L.) เพื่อผลิตกาแฟในระบบอินทรีย์ โดยเพิ่มปริมาณสปอร์ราทั้งหมด 3 สกุล คือ *Acaulospora* spp. *Ambispora* spp. และ *Glomus* spp. ที่ได้จากแหล่งปลูกกาแฟอราบิก้าในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ และจังหวัดเชียงราย โดยใช้ข้าวโพดและข้าวฟ่างเป็นพืชอาศัย พบว่า การใช้ข้าวโพดเป็นพืชอาศัยจะให้ปริมาณของสปอร์ราชนิด *A. mellea* และ *G. etunicatum* สูงที่สุด ส่วนการใช้ข้าวฟ่างเป็นพืชอาศัยจะให้ปริมาณสปอร์ *A. morrowiae* สูงที่สุด (ไปศลิณี, 2552) และจากรายงานการศึกษาพืชอาศัยเพื่อขยายจำนวน AMF จากสวนลำไย โดยมีปัจจัยหลัก 3 ปัจจัย คือ 1) แหล่งที่มาของสปอร์ 2 แหล่ง (แปลงลำไยอินทรีย์และแปลงลำไยที่ใช้สารเคมี) 2) ลักษณะของสปอร์ 3 แบบ (สปอร์สีแดง สีดำ และสีใส แยกได้จากดินในแปลงลำไย) 3) ชนิดของพืชอาศัย (ข้าวโพด ข้าวฟ่าง และผักกาดหอมใบแดง) พบว่า ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณสปอร์ ได้แก่ แหล่งที่มาของสปอร์ ลักษณะของสปอร์ และชนิดของพืชอาศัย เป็นต้น โดยพบว่า สปอร์สีแดงที่แยกได้จากแปลงลำไยอินทรีย์โดยใช้ข้าวฟ่างและข้าวโพดเป็นพืชอาศัย และสปอร์สีใสที่แยกได้จากแปลงลำไยอินทรีย์โดยใช้ข้าวฟ่างเป็นพืชอาศัย สามารถเพิ่มปริมาณสปอร์ได้ดีที่สุด (อังคณา และคณะ, 2557)

จากการปลูกต้นกล้าพริกไทยร่วมกับสปอร์เชื้อ AMF จำนวน 50 สปอร์ต่อต้น เพาะเลี้ยงไว้เป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่า การปลูกสปอร์ AMF ทุกชนิดโดยรวมต่อดิน 100 กรัม มีจำนวนเพิ่มขึ้น โดยการปลูกสปอร์เชื้อ *Acaulospora* sp.2 สามารถเพิ่มจำนวนสปอร์ได้สูงสุด (136.75 สปอร์ต่อดิน 100 กรัม) เช่นเดียวกับการศึกษาผลการเจริญเติบโตของพริกไทยกับการปลูกเชื้อ AMF ชนิดที่แตกต่างกัน โดยปลูกเชื้อ AMF 3 ชนิด คือ *G. fasciculatum*, *Gi. margarita* และ *A. laevis* ในพริกไทยสายพันธุ์ Panniyur-1 เพาะเลี้ยงไว้เป็นระยะเวลา 75 วัน พบว่า การปลูกเชื้อ *A. laevis* สามารถเพิ่มปริมาณสปอร์ในดินสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองปลูกเชื้อชนิดอื่นๆ (Thanuja และคณะ, 2002) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาผลของ AMF ต่อการพัฒนาและการผลิตสารสกัดโอลีโอเรซินในขิง โดยปลูกเชื้อ 4 ชนิด คือ *S. heterogama*, *Gi. decipiens*, *A. koskei*, *E. colombiana* และการปลูกเชื้อ 4 ชนิดร่วมกัน หลังจากเพาะเลี้ยงไว้เป็นเวลา 210 วัน พบว่า การปลูกเชื้อ *A. koskei* สามารถเพิ่มจำนวนสปอร์ในดินได้สูงที่สุด (Maicon และคณะ, 2008) สำหรับค่าการเข้าอาศัยในรากพริกไทย เมื่อเพาะเลี้ยงไว้เป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่า การปลูกเชื้อ *Glomus* sp.1 มีการเข้าอยู่อาศัยในรากสูงที่สุด เท่ากับ 79.33 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับการศึกษา AMF ในต้นข้าวของศุภธิดา (2557) โดยปลูกเชื้อ AMF จำนวน 3 ชนิด ในต้นข้าวพันธุ์สันป่าตอง 1 คือ *G. geosporum, G. etunicatum* และ *A. foveata* เมื่อข้าวมีอายุ 60 วัน พบว่า การปลูกเชื้อ *G. geosporum* มีค่าการเข้าอาศัยในรากสูงที่สุด ซึ่งการเพิ่มจำนวนสปอร์และการเข้าอยู่อาศัยของ AMF แต่ละชนิดที่แตกต่างกันนั้น อาจเนื่องมาจากการเข้าสู่เซลล์รากพืชของ AMF แต่ละชนิดมีความจำเพาะต่อระบบรากของพืชอาศัยที่แตกต่างกัน พักตร์เพ็ญ (2555) ได้รายงานว่า สายพันธุ์พืชมีการตอบสนองต่อการปลูกเชื้อ AMF ที่แตกต่างกัน โดยข้าวโพดเลี้ยงสัตว์และข้าวโพดหวานมีการพึ่งพาต่อ AMF ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตได้มากกว่าข้าวโพดฝักอ่อน และจากการทดลองครั้งนี้ในชุดควบคุมที่ไม่ได้ปลูกสปอร์ของ AMF พบการเข้าอาศัยของ AMF ในราก 8.4 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งการเข้าอาศัยของ AMF นี้อาจเนื่องมาจากมี AMF ติดมากับน้ำที่ใช้ในการรดต้นพริกไทย หรือสปอร์ถูกพัดปลิวมากับลม หรืออาจเกิดจากการกระเด็นของดินบริเวณรอบๆ ต้นพริกไทยเมื่อฝนตก

ผลของน้ำหนักแห้งในส่วนเหนือดินของต้นพริกไทย พบว่า ต้นพริกไทยที่ได้รับการปลูกเชื้อ *Acaulospora* sp.2 มีค่าน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือดินสูงที่สุด เท่ากับ 8.68 กรัม ส่วนผลของน้ำหนักแห้งในราก พบว่า พริกไทยที่ได้รับการปลูกเชื้อ *Glomus* sp.1 มีค่าน้ำหนักแห้งของรากสูงที่สุด เท่ากับ 3.90 กรัม จากงานวิจัย Srinivasan และคณะ (2012) ได้รายงานผลของการปลูกเชื้อ AMF 12 ชนิด ที่แตกต่างกันต่อการเจริญเติบโตของมะขามป้อม พบว่า การปลูกเชื้อ *G. etunicatum* ทำให้น้ำหนักแห้งในรากของต้นกล้ามะขามป้อมสูงที่สุด ในด้านความสูงของต้นพริกไทย ต้นพริกไทยที่ปลูกเชื้อ *Acaulospora* sp.2 มีค่าความสูงของต้นมากที่สุด เท่ากับ 41.79 เซนติเมตร ซึ่งจากรายงานผลของการปลูกเชื้อ AMF ต่อการเพิ่มการเจริญเติบโตและปริมาณโคลชิซินในต้นก้ามปู โดยปลูก AMF 2 ชนิด คือ *A. laevis* และ *G. mosseae* พบว่า ต้นก้ามปูที่ได้รับการปลูกเชื้อ *A. laevis* มีค่าความสูงของต้นมากกว่าการปลูก *G. mosseae* (Kuldeep และคณะ, 2013) จากการคำนวณหาพื้นที่ใบของใบพริกไทย พบว่า ต้นพริกไทยในการทดลองที่ได้รับการปลูกเชื้อ และไม่ได้รับการปลูกเชื้อมีค่าพื้นที่ใบไม่แตกต่างกัน และเมื่อเปรียบเทียบค่าความยาวรากของต้นพริกไทย พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลองที่ปลูกเชื้อและไม่ปลูกเชื้อ จากรายงานของ Mala และคณะ (2010) ซึ่งได้ปลูกสปอร์ของ *G. mosseae* ในปริมาณที่แตกต่างกัน คือ 0 75 150 และ 300 กรัมต่อต้น ให้กับต้นกล้าพริกไทยสายพันธุ์ GK49 แล้ววัดผลการเจริญเติบโตทุกๆ 2 เดือน จนถึง 6 เดือน พบว่า หลังปลูกเชื้อเป็นระยะเวลา 2 เดือน ไม่พบความแตกต่างของความยาวรากของต้นพริกไทย แต่เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 เดือน ต้นพริกไทยที่ได้รับการปลูกเชื้อ AMF จะมีความยาวรากที่แตกต่างกัน ซึ่งในการวิจัยครั้งนี้ใช้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงต้นกล้าพริกไทยหลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 3 เดือน ดังนั้นจึงอาจยังไม่สามารถวัดความแตกต่างของความยาวรากของพริกไทยที่ทำการทดลองได้ ในส่วนของผลจำนวนใบที่เพิ่มขึ้นของต้นพริกไทยที่ได้รับการปลูกเชื้อ AMF พบว่า มีจำนวนใบที่แตกต่างกับชุดการทดลองที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยชุดการทดลองที่มีจำนวนใบมากที่สุดพบในการทดลองที่ปลูกเชื้อ *Acaulospora* sp.2 และ *Glomus* sp.1 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 15.50 และ 14.90 ใบต่อต้น ตามลำดับ สอดคล้องกับการศึกษาผลของ AMF ต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มมวลชีวภาพในดีปลี โดยนำ AMF จำนวน 3 ชนิด (*G. fasiculatum A. fovata* และ *Gi. Margirata*) ไปเพิ่มปริมาณในข้าวฟ่างก่อนนำไปปลูกทดสอบในดีปลี และเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 80 วัน พบว่า การปลูกเชื้อ *A. fovata* ส่งผลให้ดีปลีมีจำนวนใบมากที่สุด รองลงมาคือ การปลูกเชื้อ *G. fasiculatum* (Seema และ Rajkumar, 2015)

เมื่อตรวจหาปริมาณธาตุอาหารในส่วนของต้นและดิน พบว่า ชุดการทดลองที่ได้รับการปลูกเชื้อ *Gigaspora* sp. และ *Septoglomus* sp. มีปริมาณธาตุโพแทสเซียมในใบสูงสุด ชุดการทดลองการปลูกเชื้อ *Septoglomus* sp. และ *Glomus* sp.1 มีปริมาณธาตุไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในลำต้นสูงสุด ปริมาณของธาตุโพแทสเซียมในรากที่ปลูกเชื้อ *Glomus* sp.1 และ *Septoglomus* sp. มีปริมาณธาตุโพแทสเซียมสูงที่สุด และการทดลองที่ปลูกเชื้อ *Gigaspora* sp. มีปริมาณธาตุฟอสฟอรัสในดินสูงสุด ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองอื่นๆ ในส่วนของปริมาณธาตุไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในใบ ปริมาณธาตุโพแทสเซียมในลำต้น ปริมาณธาตุไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในราก และปริมาณธาตุไนโตรเจนและโพแทสเซียมในดิน พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทั้งการทดลองที่ได้รับการปลูกเชื้อและไม่ได้รับการปลูกเชื้อ จากปริมาณธาตุ

อาหารบางชุดการทดลองที่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิตินั้น อาจเนื่องมาจากการใช้วัสดุที่มีส่วนผสมของมูลวัวลงไปในดินปลูก ทำให้มีปริมาณธาตุอาหารในดินสูง บทบาทของ AMF จึงลดลง ซึ่งจากรายงานวิจัยต่างๆ กล่าวว่า AMF ช่วยเพิ่มการดูดซับธาตุอาหารให้กับพืชได้ดี โดยเฉพาะในดินที่มีปริมาณธาตุอาหารต่ำ แต่หากดินมีปริมาณธาตุอาหารสูง กลับพบว่าการปลูกเชื้อ AMF ให้ผลแตกต่างกันออกไป (Rutto และคณะ, 2002; Plenchette และคณะ, 2005) จากงานวิจัยของ Ryan และคณะ (2002) พบว่า การปลูกเชื้อ AMF ให้กับพืชที่ปลูกในดินที่มีปริมาณธาตุฟอสฟอรัสสูง ไม่มีผลความแตกต่างของการดูดซับธาตุฟอสฟอรัส การเจริญเติบโต และผลผลิต เมื่อเปรียบเทียบระหว่างพืชที่ปลูกเชื้อและไม่ปลูกเชื้อ อาจกล่าวว่า ปริมาณธาตุที่เป็นประโยชน์ในดินเป็นปัจจัยในการควบคุมการดูดซับธาตุอาหารของ AMF อย่างไรก็ตามเมื่อนำค่าปริมาณธาตุที่ได้ไปเปรียบเทียบกับเกณฑ์มาตรฐานของปริมาณธาตุอาหารในต้นและในดินของพริกไทย พบว่า ปริมาณธาตุ N P K ในส่วนของต้นพริกไทยมีปริมาณที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโต และปริมาณธาตุ N P K ในดิน พบว่า มีปริมาณธาตุอาหารสูงเมื่อเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐาน

การคัดเลือกชนิดของ AMF ที่มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าพริกไทยเป็นสิ่งที่จำเป็น เนื่องจากโดยธรรมชาตินั้น AMF มีความสัมพันธ์กับรากพืชหลากหลายชนิด แต่ละชนิดจะมีผลต่อพืชอาศัยที่แตกต่างกัน การคัดเลือกชนิดของ AMF มาใช้ให้เหมาะสมกับพืชจึงเป็นเรื่องที่จำเป็นอย่างมาก Trappe (1977) กล่าวว่า เกณฑ์ที่ใช้ในการคัดเลือกสายพันธุ์ AMF ที่เหมาะสมนั้นจะแตกต่างกันไป ซึ่งอาจจะพิจารณาจากความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตแก่พืชด้านความสูง จำนวนใบ น้ำหนักแห้งของพืช ความสามารถในการดูดซึมธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์หรือความจำเพาะเจาะจงกับพืชอาศัย ซึ่งจากการศึกษาพบว่า การปลูกเชื้อ *Acaulospora* sp.2 และ *Glomus* sp.1 สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าพริกไทยได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับการปลูกเชื้อ AMF ชนิดอื่นๆ จากการเปรียบเทียบผลทางสถิติของแต่ละชุดการทดลอง พบว่า ค่าที่ใช้ในการวัดการเจริญเติบโตของต้นกล้าพริกไทย เช่น ความสูงต้น ค่าน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือดิน จำนวนใบ มีค่ามากกว่าต้นพริกไทยที่ปลูกเชื้อ AMF ชนิดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ Schultz (2001) รายงานว่า การปลูกเชื้อ AMF ในต้นกล้าปาล์มน้ำมันทำให้ความสูงของกล้าปาล์มน้ำมันเพิ่มขึ้นแตกต่างกัน 2-2.5 เท่า ขึ้นอยู่กับชนิดของ AMF ที่ปลูกเชื้อ ทั้งยังพบว่า อัตราการเจริญด้านความสูง จำนวนใบ น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือดินและใต้ดิน ของต้นกล้าปาล์มที่ได้รับการปลูกเชื้อ AMF ชนิดต่างๆ มีค่าสูงกว่าต้นกล้าที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ โดยราแต่ละชนิดจะมีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญในด้านต่างๆ ที่แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของรา และจากรายงานการที่พืชมี AMF เข้าอาศัยอยู่นั้นสามารถเพิ่มการเจริญเติบโตให้แก่พืชอาศัยได้หลากหลายด้าน เช่น ช่วยในการดูดซับน้ำและธาตุอาหารให้แก่พืช เนื่องจากเส้นใยราสามารถเจริญและแผ่เส้นใยได้ไกลกว่าบริเวณรอบราก จึงสามารถเพิ่มพื้นที่ในการดูดซับน้ำและธาตุอาหารได้มากกว่ารากพืช และเส้นใยรามีขนาดเล็กกว่ารากพืช จึงสามารถแทรกเข้าไปในส่วนต่างๆ ของโครงสร้างดินได้ดีกว่าการมีรากพืชเพียงอย่างเดียว (สมจิตร, 2549) AMF ยังช่วยเพิ่มความทนทานของพืชในสภาวะขาดน้ำ โดยจะช่วยดูดซับน้ำให้แก่พืชผ่านทางเส้นใยราที่แพร่กระจายในดิน เนื่องจากเส้นใยมีขนาดเล็กมากจึงสามารถดูดซับน้ำจากช่องบรรจุน้ำในดินขนาดเล็กได้ดีกว่ารากพืช (Faber และคณะ, 1991) AMF ยังช่วยปรับปรุงโครงสร้างของดิน โดยการผลิต glycoprotein ที่เรียกว่า glomalin ทำหน้าที่เสมือนกาวที่เชื่อมเส้นใยรากับ

อนุภาคของดินให้ติดกันแน่น (Wright และ Upadhyaya, 1998) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า AMF อาจสามารถผลิตฮอร์โมนพืชบางชนิดซึ่งสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชได้ เช่น ออกซิน ไซโตไคนิน และจิบเบอเรลลิน เป็นต้น โดยฮอร์โมนพืชที่สันนิษฐานว่า AMF สังเคราะห์ขึ้นมา ได้แก่ จิบเบอเรลลิค แอซิด (GA_3) โดยมีรายงานว่า ปริมาณจิบเบอเรลลิค แอซิด ในรากกล้ามะละกอที่ปลูกเชื้อ AMF มีปริมาณมากกว่ารากกล้ามะละกอที่ไม่ปลูกเชื้อ AMF และกล้ามะละกอมีอัตราการเจริญเติบโตทางด้านความสูง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น และปริมาณธาตุอาหารในลำต้นเพิ่มสูงขึ้นเมื่อได้รับการปลูกเชื้อ AMF (Gopinathan และ Raman, 1992)

ในการศึกษาในครั้งนี้นับเป็นครั้งแรกที่มีการสำรวจ AMF บริเวณรอบรากพริกไทยก่อนการนำมาใช้กับต้นกล้าพริกไทย ซึ่งแตกต่างจากรายงานการศึกษาของ Thanuja (2002) ที่นำ AMF มาใช้โดยตรงซึ่งไม่ได้ทำการสำรวจ AMF ในบริเวณแหล่งปลูก โดยนำ AMF 3 ชนิด มาทดสอบในต้นกล้าพริกไทยสายพันธุ์ Panniyur-1 โดยตรง พบว่า การปลูกเชื้อ *A. laevis* ส่งผลให้ต้นพริกไทยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูงที่สุด รวมถึงมีเปอร์เซ็นต์การเข้าอยู่อาศัยในรากและจำนวนสปอร์ที่สูงที่สุด ส่วนการปลูกเชื้อ *G. fasciculatum* สามารถเพิ่มความยาวรากในระยะแรกได้สูงสุด ทั้งยังพบว่า มีปริมาณฟอสฟอรัสในลำต้นสูงที่สุดอีกด้วย จากความแตกต่างของชนิด AMF ที่นำมาใช้ สภาพพื้นที่ปลูก สภาพอากาศ และสายพันธุ์ของพริกไทย ทำให้ชนิดของ AMF ที่ได้ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าพริกไทยแตกต่างกัน

การศึกษาลักษณะของเชื้อราก่อโรคที่ได้จากใบพริกไทย พบว่า ตัวอย่างรามีลักษณะตรงกับราชนิด *C. fructicola* ซึ่งเป็นราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส ที่มีรายงานว่าเป็นสาเหตุให้เกิดโรคในพืชหลายชนิด เช่น กาแฟ (Prihastuti และคณะ, 2009) พริก (Sharma และ Shenoy, 2013) และมะละกอ (Saini และคณะ, 2016) เป็นต้น จากผลการทดสอบความต้านทานโรคแอนแทรคโนสของพริกไทยเมื่อปลูกร่วมกับ AMF ในการทดลองนี้ พบว่า ต้นพริกไทยที่มีการปลูกเชื้อ AMF ในทุกชุดการทดลองมีพื้นที่การเกิดโรคน้อยกว่าการทดลองที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อ สอดคล้องกับการใช้ AMF ในการปรับปรุงดินและเพิ่มความต้านทานของโรคราน้ำค้างในแตงกวา โดยการปลูกเชื้อ AMF 3 ชนิด คือ *Acaulospora* sp., *Glomus* sp. และ *Scutellospora* sp. หลังการปลูกเชื้อเป็นเวลา 3 เดือน จึงทดสอบการเกิดโรคราน้ำค้าง พบว่า ชุดการทดลองที่ปลูกเชื้อ AMF มีความต้านทานโรคได้ดีกว่าการทดลองที่ไม่มีการปลูกเชื้อ (ธีรภัทร์ และวิพรพรรณ์, 2555) การที่พืชมี AMF เข้าอาศัยอยู่สามารถลดการเกิดโรคได้ เนื่องจากพืชจะมีปฏิกิริยาการตอบสนองต่อการเข้าสู่รากพืชของ AMF คล้ายกับปฏิกิริยาการตอบสนองต่อการเข้าสู่รากพืชของเชื้อสาเหตุโรคพืช โดยจะมีการแสดงออกของยีนต้านทาน จึงทำให้เกิดปฏิกิริยาการต้านทานต่างๆ ของพืช ซึ่งในระยะแรกของการเข้าสู่รากพืชของราจะเป็นปฏิกิริยาการต้านทานอย่างอ่อนๆ แต่ในระยะต่อมาเมื่อราเจริญเข้าสู่ภายในรากพืชมากขึ้น เช่น การสร้างอาร์บัสคูล จะเหนี่ยวนำให้พืชมีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืชมากขึ้น (Garcia-Garrido and Ocampo, 2002) นอกจาก AMF สามารถต้านทานต่อราสาเหตุโรคพืชที่ก่อโรคบริเวณใบแล้วยัง พบว่า AMF สามารถลดการเกิดโรคในระบบรากพืชได้ดีอีกด้วย ดังการศึกษา AMF ในต้นสตรอเบอร์รี่ที่ปลูกเชื้อ *G. etunicatum* และ *G. monosporum* โดยใช้ *Phytophthora fragariae* เป็นเชื้อราสาเหตุโรคพืชบริเวณรากของต้นสตรอเบอร์รี่ พบว่า บริเวณรากของต้นที่ปลูกเชื้อ *G. etunicatum* และ *G. monosporum* มีสปอร์ของเชื้อรา *P. fragariag* น้อยกว่าที่บริเวณ

รากของต้นที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อ แสดงให้เห็นว่าพืชที่มีรา AMF เจริญอยู่ด้วยสามารถควบคุมโรคหรือลดความรุนแรงของโรคพืชได้ (อำพรรณ, 2544)

บทที่ 5
บทสรุปและข้อเสนอแนะ

การศึกษาปริมาณและชนิดของ AMF ในดินรอบรากพริกไทย โดยนำตัวอย่างดินจากแปลงปลูกมาตรวจนับจำนวนสปอร์ พบว่า ปริมาณสปอร์ ชนิดของ AMF ที่ได้จากแปลงปลูกทุกพื้นที่มีความแตกต่างกัน ซึ่งพบปริมาณสปอร์สูงที่สุดในดินตัวอย่างอำเภอไชยา จังหวัดสุราษฎร์ธานี และเมื่อจำแนกชนิดของสปอร์รา พบว่า AMF ที่พบมากที่สุดอยู่ในสกุล *Glomus* พบรองลงมาคือ *Acaulospora* ซึ่งพบราสกุล *Gigaspora* และ *Racocetra* เฉพาะดินรอบรากพริกไทยที่ได้จากอำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราชเท่านั้น และพบราสกุล *Septoglomus* เฉพาะอำเภอไชยา จังหวัดสุราษฎร์ธานี เมื่อนำสปอร์ที่คัดแยกได้มาเพิ่มปริมาณในกระถาง โดยใช้ข้าวฟ่างเป็นพืชอาศัย ผลการทดลองพบว่า สามารถเพิ่มปริมาณ AMF ได้ทั้งหมด 9 ชนิด ราที่เพิ่มปริมาณได้ส่วนใหญ่อยู่ในสกุล *Glomus* (*Glomus* sp.1, *Glomus* sp.2, *Glomus* sp.3 และ *Glomus* sp.4) สกุลที่พบรองลงมา คือ *Acaulospora* (*Acaulospora* sp.1 และ *Acaulospora* sp.2) และพบราสกุล *Septoglomus*, *Racocetra* และ *Gigaspora* สกุลละ 1 ชนิด นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อนำดินตัวอย่างมาตรวจหาปริมาณสปอร์ทั้งหมดในดิน พบราที่สามารถเพิ่มจำนวนได้มากที่สุดคือ *Glomus* sp.1 รองลงมาคือ *Acaulospora* sp.2, *Septoglomus* และ *Gigaspora* ตามลำดับ

การคัดเลือก AMF ที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นพริกไทย โดยการทดลองปลูก AMF จำนวน 4 ชนิด ในต้นกล้าพริกไทย พบว่า การปลูกเชื้อ *Acaulospora* sp.2 และ *Glomus* sp.1 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าพริกไทย โดยมีผลทำให้ต้นพริกไทยเจริญทั้งในด้านความสูง น้ำหนักแห้งของยอดและราก ค่าเฉลี่ยจำนวนใบมากกว่าต้นพริกไทยที่ปลูกเชื้อ AMF ชนิดอื่นๆ เมื่อตรวจหาปริมาณธาตุอาหาร N P K ในส่วนของต้นและดิน พบว่า ทุกชุดการทดลองมีปริมาณของธาตุที่เพียงพอต่อต้นพริกไทยเมื่อเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐาน จากการศึกษาจำนวนสปอร์และความหนาแน่นของการเข้าอยู่อาศัยในรากพริกไทย พบว่า การปลูกเชื้อ *Glomus* sp.1 มีจำนวนสปอร์ทั้งหมดในดินสูงกว่าการทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนเปอร์เซ็นต์การเข้าอยู่อาศัยในราก พบว่า การปลูกเชื้อ *Acaulospora* sp.2 และ *Glomus* sp.1 มีเปอร์เซ็นต์การเข้าอาศัยสูงสุด และจากการคัดแยกเชื้อสาเหตุโรคจากใบพริกไทย พบว่า เป็นเชื้อชนิด *C. fructicola* เมื่อทดสอบความต้านทานต่อการเกิดโรค พบว่า ต้นพริกไทยที่ปลูกเชื้อ AMF ทั้ง 5 ชุดการทดลอง มีความรุนแรงของโรคน้อยกว่าการทดลองที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อ AMF

งานวิจัยในครั้งนี้นับเป็นงานวิจัยแรกที่มีการสำรวจชนิดของ AMF ในพื้นที่แปลงปลูกพริกไทยในภาคใต้ ก่อนนำไปทดสอบความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าพริกไทยในสภาพเรือนเพาะชำ ซึ่งยังไม่พบรายงานการศึกษามาก่อน และจากการศึกษาพบว่า การปลูกเชื้อ AMF มีประโยชน์ทั้งด้านการส่งเสริมการเจริญเติบโตและมีความสามารถในการต้านทานเชื้อสาเหตุโรคพืช และการปลูกเชื้อ *Acaulospora* sp.2 และ *Glomus* sp.1 มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าพริกไทยได้ดีที่สุด ซึ่งคาดว่าผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการส่งเสริมการเจริญของต้นพริกไทย เพื่อให้เกิดประโยชน์แก่เกษตรกรผู้ปลูกพริกไทยต่อไป

ข้อเสนอแนะ

1. การทดลองขั้นต่อไปควรมีการทดสอบพืชอาศัยที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ AMF เพื่อประสิทธิภาพที่ดีในการเพิ่มปริมาณของสปอร์รา

2. จากการศึกษาการจำแนกชนิดของ AMF โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานเพียงอย่างเดียวไม่สามารถระบุชนิดของ AMF ได้อย่างชัดเจน ดังนั้นจึงควรศึกษาเพิ่มเติมเพื่อการระบุชนิดของ AMF ที่ชัดเจนมากยิ่งขึ้น เช่น การใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล

3. ในการทดสอบความต้านทานโรคต้องปรับสภาวะอากาศให้เหมาะสม เพื่อให้เชื้อก่อโรคสามารถแสดงลักษณะอาการเกิดโรคได้อย่างชัดเจน

4. ในอนาคตควรมีการศึกษาการปลูกเชื้อ AMF ชนิด *Acaulospora* sp.2 และ *Glomus* sp.1 ในสภาพแปลงปลูกจริง โดยทดสอบเป็นระยะเวลาที่ยาวนานจนถึงระยะของการให้ผลผลิต

บรรณานุกรม

กรมวิชาการเกษตร. 2546. พริกไทย. สืบค้นจาก: http://203.172.198.146/rice/rice_mix2/pest03-4.html. (สืบค้นเมื่อ 3 สิงหาคม 2558).

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2551. พริกไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สำนักส่งเสริมและจัดการสินค้าเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร.

กุลวดี คาภีระ. 2556. อิทธิพลของราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาและสารที่ปลดปล่อยจากรากพืชที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้ายางพารา. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาจุลชีววิทยาประยุกต์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

จักรพงษ์ ไชวงศ์, ปฏิภาณ สุทธิกุลบุตร และ จีราภรณ์ อินทสาร. 2555. การศึกษาผลของการใช้เชื้อราอาบัสคูล่าไมคอร์ไรซาและพีจีพีอาร์ (PGPR) ต่อการดึงดูดธาตุอาหาร การเจริญเติบโตและผลผลิตของลำไย. สาขาปฐพีศาสตร์ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

จำเนียร มีสำลี และ ธนกิจ อินทะลา. 2558. อิทธิพลของปุ๋ยฟอสฟอรัสต่อการพึ่งพาเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาเพื่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของพริก. แก่นเกษตร 43(2): 343-352.

จำเป็น อ่อนทอง และ จักรกฤษณ์ พูนภัคดี. 2557. การวิเคราะห์ดินและพืช. สงขลา: คณะทรัพยากรธรรมชาติ. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

เฉลิมพล สุวรรณภักดี. 2548. การศึกษาอนุกรมวิธานของพืชสกุลพริกไทย (*Piper nigrum* L.) ในประเทศไทย.วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาพฤกษศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เชิดชัย โพธิ์ศรี. 2554. การคัดแยก การจำแนก และการผลิตหัวเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาเพื่อประยุกต์ใช้ในการส่งเสริมการเจริญของกล้าปาล์มน้ำมัน. มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม. http://www.novapdf.com. (สืบค้นเมื่อ 10 สิงหาคม 2558).

ธีรภัทร์ เลียวสิริพงศ์ และวิพรพรรณ์ เนื่องเม็ก. 2555. การใช้เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในการปรับปรุงดิน และเพิ่มความต้านทานโรคราน้ำค้างในแตงกวา. พะเยาวิจัย 1: 80-86.

ดวงจันทร์ เกรียงสุวรรณ. 2547. พืชผักผลไม้ไทยมีคุณค่าเป็นทั้งอาหารและยา. http://natres.psu.ac.th/radio/radio article/radio46-47/46-470031.htm. (สืบค้นเมื่อ 3 สิงหาคม 2558).

นาฏยา แพทย์พิทักษ์, ธัญพิสิษฐ์ พวงจิก และ พักตร์เพ็ญ ภูมิพันธ์. 2554. การสำรวจประชากรเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาบริเวณเขตรากไผ่ในพื้นที่เกษตรกรรมและพื้นที่ป่าธรรมชาติ. การประชุมวิชาการแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 9: 2302-2310.

นิจพร ณ พัทลุง. 2548. ผลกระทบของการใส่ปุ๋ยเคมีระยะยาวในระบบการปลูกข้าวโพดต่อความหลากหลายของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาของประเทศไทย. ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต, สาขาปฐพีวิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ไปศลิณี จันธิบูลย์. 2552. ผลของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาต่อต้นกล้ากาแฟอราบิกา (*Coffea Arabica* L.) เพื่อใช้ผลิตกาแฟในระบบเกษตรอินทรีย์. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

พนม เกิดแสง. 2555. การปลูกพริกไทย. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. www.eto.ku.ac.th/neweto/e-book/ panom/การปลูกพริกไทย.pdf. (สืบค้นเมื่อ 1 สิงหาคม 2558).

พักตร์เพ็ญ ภูมิพันธ์. 2555. ผลของฟอสฟอรัสในดินและชนิดของข้าวโพดต่อการพึ่งพาราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 1: 211-220.

เมธาวีการณ์ พรหมลา และ โสภณ บุญลือ. 2554. ชนิดและผลของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาต่อการเจริญเติบโตของอ้อย. การประชุมวิชาการพัฒนาอนาคตชนบทไทย มหาวิทยาลัยขอนแก่น ประจำปี 2554 16-22.

ศุภธิดา อ่ำทอง และ ชฎาพร อุปนันท์. 2557. การใช้เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา เพื่อเพิ่มการดูดซับสังกะสีของข้าวภายใต้การปลูกข้าวแบบใช้อากาศ. แก่นเกษตร 42(2): 390-399.

ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี. 2557. เพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพริกไทย เพื่อลดผลกระทบจากการเปิดเสรีทางการค้า (FTA). ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร.

สรจักร ศิริบริรักษ์. 2554. พริกไทย. หมออนามัย 21: 57-62.

สมจิตร อยู่เป็นสุข. 2549. ไมคอร์ไรซา. เชียงใหม่: คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สิริพร สิริชัยเวชกุล. 2554. ผลของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอไรซาต่อมะเขือเทศสีดา *Solanum lycopersicum* ที่การให้น้ำระดับต่างกัน. ปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต, ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

โสภณ บุญลือ, อำนาจ สุวรรณฤทธิ์ และ พูนพิไล สุวรรณฤทธิ์. 2554. การกระตุ้นการเจริญของพริกอินทรีย์และการลดความเป็นโรคทางรากของพริกด้วยเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2552. สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2551. ศูนย์สารสนเทศการเกษตรสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 184.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2557. เศรษฐกิจการเกษตรรายสินค้า ปี 2557. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 34-35.

อังคณา เดชอูป, อรวรรณ ฉัตรสีรุ้ง, สุรินทร์ นิลสำราญจิต และ ฉันทลักษณ์ ติยายน. 2557. การศึกษาพืชอาศัยเพื่อขยายเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาจากสวนลำไย. แก่นเกษตร 42(3): 136-140.

อำพรรณ พรมศิริ. 2544. การใช้เชื้อราอาบัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา สำหรับการผลิตสตรอเบอรี่พัฒนาชนบท. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

Ahulu, E.M., Gollette, A., Gianinazzi-Pearson, V. and Nonaka, M. 2006. Coocuring plants forming distinct arbuscular mycorrhizal morphologies harbor similar AM fungal species. Mycorrhizas 17: 37-49.

Anandaraj, M. and Sarma, Y. 1994. Effect of vesicular arbuscular mycorrhiza on rooting of black pepper (*Piper nigrum* L.). Journal of Spices and Aromatic Crops 3(1): 39-42.

Backer, C.A. and Bakhuizen van den Brink, R.C. 1963. Flora of Java. Noordhoff-Groningen. Netherlands 1: 172-313.

Bonfante, P. and Genre, A. 2010. Mechanisms underlying beneficial plant-fungus interactions in mycorrhizal symbiosis. Nature communications 1-11.

Boonlue, S., Surapat, W., Pukahuta, C., Suwanarit, P., Suwanarit, A. and Morinaga, T. 2012. Diversity and efficiency of arbuscular mycorrhizal fungi in soils from organic chili (*Capsicum frutescens*) farms. Mycoscience 53: 10-16.

Borowicz, V.A. 2001. Do arbuscular mycorrhizal fungi alter plant pathogen relations. Ecology 82(11): 3057-3068.

Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T. and Malajczuk, N. 1996. Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture. ACIAR Monogreph 32. Canberra. Australia. 374.

Daniel, B.A. and Skipper, H.D..1982. Methods for the recovery and quantitative estimation of propagules from soil. In N.C. Schenck (ed.). Method and Principle of Mycorrhizal Research. American Phytopathology Society Press 29-36.

Devasahayam, S., John Zacharaiah, T., Jayashree, E., Kandiannan, K., Prasath, D., Santhosh, J., Sasikumar, B., Srinivasan, V. and Suseela Bhai, R. 2014. Black pepper. Anandaraj, M. ICAR-Indian Institute of Spices Research 1-18.

De Waard, P.W.F. 1986. Current state and prospective trends of black pepper (*Piper nigrum* L.) production. Outlook on Agriculture 15: 186-195.

De Waele, D. and Leuven, K.U. 2010. Incidence and effect of meloidogyne incognita (Nematoda: Meloidogyninae) on black pepper plants in Vietnam. Wettelijk depot. Vietnam. 1-139.

Eckhard, G., Horst, M. and Iver, J. 1995. Role of arbuscular mycorrhizal fungi in uptake of phosphorus and nitrogen from soil. Critical Reviews in Biotechnology 257-270.

Faber, B.A., Zasoski, R.J., Munns, D.N. and Shackel, K. 1991. A method for measuring hyphal nutrient and water uptake in mycorhizal plants. Canadian Journal of Botany 69(1): 87-94.

Garcia-Garrido, J. M. and Ocampo, J. A. 2002. Regulation of the plant defence response in arbuscular mycorrhizal symbiosis. Journal of Experimental Botany 53(373): 1377-1386.

Gianinazzi, P.V., Dumas-Gaudot, E., Gollotte, A., Tahiri-Alaouia, A. and Gianinazzi, S. 1996. Cellular and molecular defense related root responses to invasion by arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytologist 133(1): 45-57.

Gopinathan, S. and Raman, N. 1992. Indole 3-acetic acid production by ectomycorrhizal fungi. Indian Journal of Experimental Biology 30(2): 142-143.

Harley, J.L. and Smith, S.E. 1983. Mycorrhizal symbiosis. London. Academic Press. 483.

Hayman, D.S. and Tavares, M. 1985. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. New Phytologist 100: 367-377.

Hossein, B., Mohd, M. and Zeinab, S. 2014. Antioxidant activity of *Piper nigrum* L. essentialoil extracted by supercritical CO_2 extraction and hydro-distillation. Talanta 121: 220-228.

Keishi, S., Zakaria, S., Satoki, T., Masayoshi, K., Haruko, I.A., Shoichiro, A., Akiyoshi, T. and Hitoshi, O. 2007. Isolation and characterization of arbuscules from roots of an increased-arbuscule-forming mutant of lotus japonicas. Annals of Botany 7: 1599-1603.

Koske, R.E. and Gemma, J.N. 1989. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. Mycological Research 92(4): 468-488.

Kuldeep, Y., Ashok, A. and Narender, S. 2013. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) induced acclimatization, growth enhancement and colchicine content of micropropagated *Gloriosa superba* L. plantlets. Industrial Crops and Products 45: 88-93.

Leawsiripong, S. and Nuangmek, C. 2012. Using arbucular mycorrhizal fungi for enhancement of zinc uptake of rice under aerobic rice cultivation. Khon Kaen Agricultural journal 42(2): 390-399.

Leawsiripong, T. and Nuangmek, W. 2012. Application of arbuscular mycorrhizal fungi for improve soil quality and downy mildew resistance in cucumber. Phayao Research Conference 80-86.

Lee, P.J. and Koske, R.E. 1994. *Gigaspora gigantea*: seasonal, abundance and ageing of spores in a sand dune. Mycological Research 98(4): 453-457.

Maicon, F.S., Rosete, P., Ricardo A.R. and Sidney L.S. 2008. The effect of arbuscular mycorrhizal fungal isolates on the development and oleoresin production of micropropagated *Zingiber officinale*. Plant Physiology 20(2): 119-130.

Mala, W.J., Kumari, I.S., Sumanasena, H.A. and Nanayakkara, C.M. 2010. Effective spore density of *glomus mosseae*, arbuscular mycorrhiza (AM), for inoculation of rooted cuttings of black pepper (*Piper nigrum* L.). Agricultural Research 21(2): 189-197.

Martin, J.P., Martin, W.P., Page, J.B., Raney, W.A., de Ment, J.D. and Norman, A.G. 1955. Soil aggregation. Advances in Agronomy. Academic Press 1-37.

Oehl, F., Sieverding E., Mader P., Dubois D., Ineichen K., Boller T. and Wiemken A. 2004. Impact of long-term conventional and organic farming on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. Oecologia 138(4): 574-583.

Parniske, M. 2008. Arbuscular mycorrhizal: the mother of plant root endosymbioses. Nature Reviews Microbiology 6(10): 763-775.

Plenchette, C., Clermont-Dauphin, C., Meynard, J.M. and Fortin, J.A. 2005. Managing arbuscular mycorrhizal fungi in cropping systems. Plant Sciences 85(1): 31-40.

Prihastuti, H., Cai, L., Chen, H., McKenzie, E.H.C. and Hyde, K.D. 2009. Characterization of *Colletotrichum* species associated with coffee berries in northern Thailand. Fungal Diversity 39: 89-109.

Rillig, M.C. and Mummey, D.L. 2006. Mycorrhizas and soil structure. New Phytologist 171(1): 41-53.

Ruiz-Lozano, J.M., Azcón, R. and Gómez, M. 1995. Effects of arbuscular mycorrhizal *Glomus* species on drought tolerance: physiological and nutritional plant responses. Applied and Environmental Microbiology 61(2): 456-460.

Rutto, K.L., Mizutani, F. and Kadoya, K. 2002. Effect of root-zone flooding on mycorrhizal and non-mycorrhiza peach (*Prunus persica* Batsch) seedlings. Scientia Horticulturae 94: 285-295.

Saini, T.J., Gupta, S.G. and Anandalakshmi, R. 2016. First report of papaya anthracnose caused by *Colletotrichum fructicola* in India. Plant Pathology 34: 27.

Sarmistha, S. and Ramtej, J. 2015. *In vitro* and *in silico* study of *Piper nigrum* on cyclooxygenase-2, inducible nitric oxide synthase and antioxidant enzymes. Journal of Herbal Medicine 5(2): 86-98.

Satyagopal, K., Sushil, S.N. and Jeyakumar, P. 2015. Aesa based IPM package black pepper. Ministry of Agriculture. India.

Schenck, N.C. and Perez, Y. 1988. Manual for the Identification of VA mycorrhizal fungi 2nd ed. UNVAM Gainesville. Florida. USA.

Schenck, N.C. and Perez, Y. 1990. Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi. Vol. 2. Synergistic publications. Gainesville. Fla.

Schubler, A., Schwarzott, D. and Walker, C. 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. Mycological Research 105(12): 1421-1413.

Schultz, C. 2001. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhiza on survival and post vitro development of micropropagated oil palms (*Elaeis guineensis* Jacq.). In Faculty of Agricultural Sciences University of Gottingen 143.

Seema, H. S. and Rajkumar, H. G. 2015. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and biomass enhancement in *Piper longum* L. (Piperaceae). Microbiology and Applied Sciences 4(1): 11-18.

Sharma, G. and Shenoy, B.D. 2013. *Colletotrichum fructicola* and *C. siamense* are involved in chilli anthracnose in India. Archives of Phytopathology and Plant Protection 47(10): 1179-1194.

Sharifi, M., Ghorbanli, M. and Ebrahimzadeh, H. 2007. Improved growth of salinity-stressed soybean after inoculation with pre-treated mycorrhizal fungi. Plant Physiology 164(9): 1144-1151.

Songachan, L.S., and H. Kayang. 2011. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in pine forest of Meghalaya, North East India. Mycosphere 2: 497-505.

Srinivasan, M., Ashwin, R. and Bagyaraj, D.J. 2012. Symbiotic response of Amla (*Emblica officinalis* Gaertn.) to different arbuscular mycorrhizal fungi. Soil biology and ecology 37-44.

Srinivasan, V., Hamza, S., Dinesh, R. and Parthasarathy, V.A. 2007. Nutrient management in black pepper (*Piper nigrum* L.). Indian Institute of Spices Research. Marikunnu PO, Calicut. Kerala. India.

Tebbs, M. C. 1993. The families and genera of vascular plant. Berlin. Springer-Verlag.

Thanuja, T.V., Ramakrishna, V. and Sreenivasa, M.N. 2002. Induction of rooting and root growth in black pepper cuttings (*Piper nigrum* L.) with the inoculation of arbuscular mycorrhizae. Scientia Horticulture 92(3-4): 339-346.

Trappe, J. M. 1977. Selection of fungi for ectomycorrhizal inoculation in nurseries. Annual Reviews of Phytopathology 15: 203-222.

Trouvelot, A., J.L. Kough, and Gianinazzi-Pearson, V. 1985. Mesure de taux de mycorhization VA D'un systeme rediculare. Recherche de methods destimation ayantune signification fonctionelle. In Mycorrhizae. physiology and genetics-Les mycorhizes. INRA. Paris. 217-221.

Wimalarathne, H.G.M.C., Sangakkara, U.R. and Sumanasena, H.A. 2014. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on shoot and root development of black pepper (*Piper nigrum* L.) rooted cuttings. Agricultural and Soil Science 2(6): 105-111.

Wright, S.F. and Upadhyaya, A. 1998. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of AM fungi. Plant Soil 198(1): 97-107.

ภาคผนวก

ภาคผนวก (ก)

ข้อมูลการเจริญเติบโตและเกณฑ์มาตรฐานของธาตุอาหารในต้นพริกไทย

ตารางภาคผนวกที่ 1 จำนวนสปอร์ทั้งหมดในดินของ AMF จากดินบริเวณแปลงปลูกพริกไทยในจังหวัดนครศรีธรรมราช และสุราษฎร์ธานี

รหัสดินตัวอย่าง	วัน/เดือน/ปี	แหล่งที่เก็บตัวอย่างดิน	ความหนาแน่นของสปอร์ต่อดิน 100 กรัม
CY01	05/06/59	อำเภอไชยา จังหวัดสุราษฎร์ธานี	930.1
CY02	”	”	1300.5
CY03	”	”	1407.05
CY04	”	”	1323.2
CY05	”	”	1249.25
TS01	15/06/59	อำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช	375.15
TS02	”	”	513.15
TS03	”	”	601
TS04	”	”	326
TS05	”	”	415.75
SL01	26/06/59	อำเภอท่าศาลา จังหวัดนครศรีธรรมราช	258.75
SL02	”	”	334.5
SL03	”	”	309
SL04	”	”	233
SL05	”	”	242.75
CA01	06/07/59	อำเภอชะอวด จังหวัดนครศรีธรรมราช	584.75
CA02	”	”	468.1
CA03	”	”	594
CA04	”	”	538
CA05	”	”	631.25

ตารางภาคผนวกที่ 2 ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นกล้าพริกไทย หลังจากปลูกเชื้อ AMF เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อ ระยะเวลา 3 เดือน

ชุดการทดลอง	ความสูงต้น (cm)
Control	35.42 ± 0.55[b]
Glomus sp.1	38.47 ± 1.36[a]
Acaulospora sp.2	41.85 ± 2.43[a]
Gigaspora sp.	36.79 ± 0.97[b]
Septoglomus sp.	37.44 ± 1.05[b]
Mixed species	37.17 ± 1.09[b]
P-value	*

หมายเหตุ: มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ $P < 0.05$

ตารางภาคผนวกที่ 3 ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นกล้าพริกไทยในทุกๆ 2 สัปดาห์ หลังจากปลูกเชื้อ AMF ชนิดต่างๆ เปรียบเทียบกับการทดลองที่ไม่ปลูกเชื้อ

สัปดาห์	ชุดการทดลอง					
	control	*Glomus* sp.1	*Acaulospora* sp.2	*Gigaspora* sp.	*Septoglomus* sp.	Mixed species
2	34.01±1.25	34.35±1.08[d]	35.10±1.27[c]	34.44±1.34[b]	34.75±1.23[c]	34.37±1.47[c]
4	34.35±1.34	35.02±1.07[d]	35.62±1.43[c]	34.63±1.42[b]	34.95±1.22[c]	34.53±1.46[c]
6	34.48±1.29	37.20±1.12[cd]	37.20±1.46[bc]	35.62±1.26[b]	36.66±1.18[bc]	36.30±1.30[c]
8	35.54±1.28	39.15±1.21[bc]	39.62±1.62[abc]	37.00±1.37[ab]	37.85±1.17[abc]	37.75±1.59[ab]
10	36.50±1.21	41.08±1.15[ab]	41.68±1.76[ab]	38.58±1.39[ab]	38.94±1.26[ab]	38.83±1.52[ab]
12	37.49±1.20	43.27±1.19[a]	44.05±1.77[a]	40.46±1.37[a]	41.5±1.40[a]	41.25±1.66[a]
P-value	ns	*	*	*	*	*

หมายเหตุ: * มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ $P < 0.05$
ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ $P < 0.05$

ภาคผนวก (ข)

ภาพสวนพริกไทย

ภาพภาคผนวกที่ 1 สวนพริกไทยอำเภอไชยา จังหวัดสุราษฎร์ธานี
ที่มา นภาพร คงตุก ถ่ายเมื่อวันที่ 5 มิถุนายน 2559

ภาพภาคผนวกที่ 2 สวนพริกไทยอำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช
ที่มา นภาพร คงตุก ถ่ายเมื่อวันที่ 15 มิถุนายน 2559

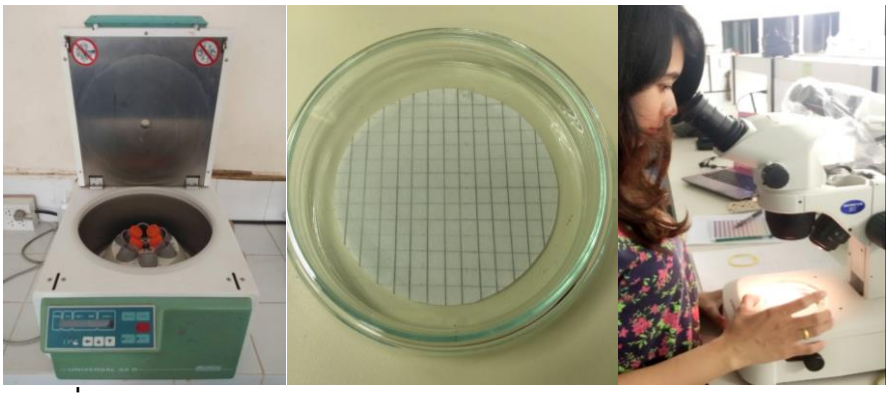
ภาพภาคผนวกที่ 3 สวนพริกไทยอำเภอท่าศาลา จังหวัดนครศรีธรรมราช
ที่มา นภาพร คงตุก ถ่ายเมื่อวันที่ 26 มิถุนายน 2559

ภาพภาคผนวกที่ 4 สวนพริกไทยอำเภอชะอวด จังหวัดนครศรีธรรมราช
ที่มา นภาพร คงตุก ถ่ายเมื่อวันที่ 6 กรกฎาคม 2559

ภาคผนวก (ค)

ภาพการทดลอง

ภาพภาคผนวกที่ 5 การเก็บตัวอย่างดินที่ระดับความลึก 15 เซนติเมตร
ที่มา นภาพร คงตุก ถ่ายเมื่อวันที่ 5 มิถุนายน 2559



ภาพภาคผนวกที่ 6 การคัดแยกชนิดและนับจำนวนสปอร์ AMF
ที่มา นภาพร คงตุก ถ่ายเมื่อวันที่ 11 มิถุนายน 2559

ภาพภาคผนวกที่ 7 การเพิ่มปริมาณ AMF โดยใช้ข้าวฟ่างเป็นพืชอาศัย
ที่มา นภาพร คงตุก ถ่ายเมื่อวันที่ 28 กรกฎาคม 2559

ภาพภาคผนวกที่ 8 การทดลอง AMF ในต้นพริกไทย
ที่มา นภาพร คงตุก ถ่ายเมื่อวันที่ 26 มีนาคม 2560

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวนภาพร คงตุก
รหัสประจำตัวนักศึกษา 5840320107
วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีการผลิตทางชีวภาพ)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2557

ทุนการศึกษา

ทุนสนับสนุนค่าธรรมเนียมการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาที่เน้นการศึกษาวิจัย ประจำปีการศึกษา 2558 จากมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี

ทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ ประจำปีงบประมาณ 2560 จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

การตีพิมพ์และเผยแพร่ผลงานวิจัย

นภาพร คงตุก และจรัสลักษณ์ เพชรวัง. การคัดแยกเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาจากสวนพริกไทยในจังหวัดนครศรีธรรมราชและสุราษฎร์ธานี. งานประชุมวิชาการเกษตร ครั้งที่ 18 ประจำปี 2560 ณ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 23-24 มกราคม พ.ศ. 2560 วารสารแก่นเกษตร ปีที่ 45 ฉบับพิเศษ (I) หน้า 481-486 (ISSN 0125-0485)

แก่นเกษตร 45 ฉบับพิเศษ 1 : (2560). KHON KAEN AGR. J. 45 SUPPL. 1 : (2017).

การคัดแยกเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาจากสวนพริกไทย ในจังหวัดนครศรีธรรมราชและสุราษฎร์ธานี

Isolation of arbuscular mycorrhizal fungi in black pepper orchard from Nakhon Si Thammarat and Surat Thani provinces

นภาพร คงตุก[1*] และ จรัสลักษณ์ เพชรวัง[1]

Napaporn Kongtuk[1*] and Jaraslak Pechwang[1]

บทคัดย่อ: การคัดแยกเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (Arbuscular Mycorrhizal Fungi: AMF) ในพื้นที่แปลงปลูกพริกไทยจังหวัดนครศรีธรรมราชและสุราษฎร์ธานี โดยสำรวจและสุ่มเก็บตัวอย่างดินที่ระดับความลึก 15 ซม. เพื่อนำมาตรวจหาจำนวนและจำแนกชนิดของเชื้อรา AMF พบว่าแปลงปลูกทั้งสองแหล่งมีปริมาณสปอร์อยู่ในช่วง 1,242.0 – 275.6 สปอร์ต่อดิน 100 กรัม และพบว่าปริมาณสปอร์ทั้งสองแหล่งมีความแตกต่างกัน ซึ่งปริมาณสปอร์ที่พบในดินของจังหวัดสุราษฎร์ธานีสูงกว่าจังหวัดนครศรีธรรมราช เมื่อนำมาจัดจำแนกสปอร์ออกเป็นกลุ่ม โดยอาศัยขนาด รูปร่าง และสีของสปอร์ สามารถคัดเลือกเชื้อรา AMF จากดินตัวอย่างได้ทั้งหมด 5 สกุล คือ *Glomus*, *Acaulospora*, *Septoglomus*, *Racocetra* และ *Gigaspora* งานวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาข้อมูลเบื้องต้นเพื่อนำไปสู่การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา AMF ที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นพริกไทยต่อไป

คำสำคัญ: การคัดแยก, เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา, พริกไทย

ABSTRACT: Isolation of arbuscular mycorrhizal fungi in black pepper orchard from Nakhon Si Thammarat and Surat Thani provinces was performed by collecting the soil sample at the depth of 15 cm. around the rhizosphere. This research aimed to determine the type and number of AMF spores in the black pepper cultivar. The numbers of total AMF spores were observed in soil collected from the two black pepper plantation area are from 1,242.4 - 275.9 spore/ 100 g of soil. The number of AMF spores in the Surat Thani province is higher than Nakhon Si Thammarat province. The AMF classification were determined by their morphological and characteristics of spore such as colour and size. The result indicated that the AMF spores were classified in 5 genus; *Glomus*, *Acaulospora*, *Septoglomus*, *Racocetra* and *Gigaspora*. This research is a first step for testing the effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth of black pepper in further.

Keywords: Isolation, arbuscular mycorrhizal fungi, black pepper

[1] สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี

School of Agricultural Science and Technology, Faculty of Sciences and Industrial Technology, Prince of Songkla University, Surat Thani Campus

[*] Corresponding author: napaporn.pkp@gmail.com

บทนำ

พริกไทย (*Piper nigrum* L.) เป็นพืชสมุนไพรและเครื่องเทศที่มีความสำคัญทางการค้า จัดเป็นไม้เลื้อยเนื้อแข็ง อายุยืน มีประโยชน์และสรรพคุณทางยาค่อนข้างสูง ปัจจุบันมีการนำน้ำมันหอมระเหยจากพริกไทยมาใช้เป็นส่วนผสมในอุตสาหกรรมอาหารและยากันอย่างแพร่หลาย (Hossein et al., 2014) ในด้านมูลค่าทางเศรษฐกิจนั้น พบว่าในปี 2551 ประเทศไทยส่งออกพริกไทยจำนวน 1,745 ตัน คิดเป็นมูลค่าการส่งออก 87.93 ล้านบาท แหล่งปลูกพริกไทยที่ใหญ่ที่สุด คือ จังหวัดจันทบุรี จังหวัดใกล้เคียงที่ปลูกมากรองลงมา คือ ระยอง ตราด และหลายจังหวัดในภาคใต้ เช่น กระบี่ ตรัง นครศรีธรรมราช และพังงา เป็นต้น (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2552) ในปี 2558 พบว่ามีผลผลิตพริกไทยรวมทั้งประเทศ 1,405 ตัน ในขณะที่ปริมาณความต้องการใช้ในประเทศมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น ทำให้ปริมาณดังกล่าวยังไม่เพียงพอต่อความต้องการใช้ภายในประเทศ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2559) และปัญหาสำคัญในการปลูกพริกไทยอย่างหนึ่ง คือ มีการระบาดของโรค อีกทั้งการเจริญเติบโตในระยะแรกของพริกไทยไม่ดีเท่าที่ควร หากขาดการดูแลที่ดี ส่งผลให้ต้นพริกไทยทรุดโทรมหรือตายลงในที่สุด เกษตรกรหลายรายจึงเปลี่ยนไปปลูกพืชชนิดอื่นทดแทน

ในปัจจุบันมีการศึกษาการใช้จุลินทรีย์หลายชนิดเพื่อเพิ่มการเจริญเติบโตและควบคุมโรคพืช เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (Arbuscular Mycorrhizal Fungi: AMF) เป็นเชื้อราชนิดหนึ่งที่ได้รับความสนใจนำมาศึกษา เชื้อรา AMF มีความสัมพันธ์กับพืช โดยดำรงชีวิตร่วมกับรากพืชแบบพึ่งพาอาศัย (Kohki et al., 2005) โดยเส้นใยราที่อยู่ภายนอกรากจะดูดซับธาตุอาหารจากดินลำเลียงไปยังโครงสร้างแลกเปลี่ยนธาตุอาหารของเชื้อราที่อยู่ในเซลล์ชั้นคอร์เท็กซ์เพื่อส่งไปยังพืช ขณะเดียวกันเชื้อราจะได้รับสารประกอบคาร์บอนจำพวกน้ำตาลจากพืชผ่านทางโครงสร้างแลกเปลี่ยนนี้เช่นเดียวกัน (Keishi et al., 2007) เชื้อรา AMF มีบทบาทสำคัญในการช่วยเพิ่มการดูดซับธาตุอาหารให้แก่พืชอาศัยโดยเฉพาะฟอสฟอรัส (Eckhard et al., 1995) ทั้งยังช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นพืช ช่วยเพิ่มความต้านทานโรค และยังช่วยลดการเกิดโรคที่ระบบรากพืชได้อีกด้วย (Kwapata and Hall, 1985)

จากปัญหาของการปลูกพริกไทยทั้งการเกิดโรค ปัญหาการเจริญเติบโตในช่วงระยะแรกของพริกไทย และประโยชน์ของเชื้อรา AMF ที่กล่าวมาข้างต้น มีรายงานวิจัยพบว่าเชื้อรา AMF สามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพริกไทยได้ โดยในปี 2010 มีการศึกษาผลของจำนวนเชื้อรา AMF ชนิด *Glomus mosseae* ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นพริกไทย โดย Mala และคณะ ได้ปลูกเชื้อ *Glomus mosseae* ในจำนวนที่แตกต่างกัน ในพริกไทยสายพันธุ์ GK49 พบว่าส่งผลให้น้ำหนักแห้งของยอดและความยาวของรากเพิ่มขึ้นได้เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองที่ไม่ปลูกเชื้อ และในปี 2014 Wimalarathne และคณะ ได้ศึกษาผลของเชื้อรา AMF ต่อการเจริญเติบโตของยอดและรากของพริกไทย โดยใช้เชื้อรา AMF ชนิด *Funneliformis mosseae* ทดสอบปลูกสปอร์เชื้อราในพริกไทยสองสายพันธุ์ คือ พันธุ์ Panniyur-1 และ GK49 พบว่าการปลูกเชื้อจำนวน 75 กรัม สามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของยอดและรากของต้นพริกไทยได้ จากการศึกษาที่ผ่านมาข้างต้นจะเห็นได้ว่าเป็นการนำเชื้อรา AMF ที่ทราบชนิดแล้วมาใช้ในการทดลองโดยตรงแต่ยังไม่มีการสำรวจเชื้อราในแหล่งพื้นที่ปลูกจริง และเป็นการศึกษาในประเทศอินเดียและศรีลังกา ซึ่งในประเทศไทยยังไม่พบรายงานการสำรวจและศึกษาการใช้เชื้อรา AMF เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นพริกไทยมาก่อน

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการสำรวจและคัดแยกเชื้อรา AMF ในพื้นที่แปลงปลูกพริกไทยภาคใต้ในจังหวัดนครศรีธรรมราชและสุราษฎร์ธานี ซึ่งเป็นการเริ่มต้นการศึกษาขั้นแรกเพื่อนำไปสู่การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา AMF ที่สามารถคัดแยกได้ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพริกไทย และคาดหวังว่าผลที่ได้รับจากการศึกษาครั้งนี้จะสามารถนำไป

ประยุกต์ใช้ในการส่งเสริมการเจริญของต้นพริกไทย ส่งผลให้เกิดประโยชน์แก่เกษตรกรผู้ปลูกพริกไทยในอนาคต

วิธีการศึกษาวิจัย

การสำรวจและเก็บตัวอย่างดินบริเวณแหล่งปลูกพริกไทย

เก็บตัวอย่างดินบริเวณแปลงปลูกพริกไทยพันธุ์ซีลอน อายุ 1-2 ปี ในพื้นที่จังหวัดนครศรีธรรมราช และสุราษฎร์ธานี จำนวน 20 ตัวอย่าง โดยเก็บตัวอย่างดินในช่วงเดือนมิถุนายนถึงสิงหาคม ปี พ.ศ. 2559 ซึ่งประกอบด้วยดินตัวอย่างจากบ้านเขาหลัก ตำบลปากหมาก อำเภอไชยา จังหวัดสุราษฎร์ธานี บ้านไสเหนือ ตำบลนาหลวงเสน อำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช บ้านดอนตะโก ตำบลดอนตะโก อำเภอท่าศาลา จังหวัดนครศรีธรรมราช และบ้านลาไม ตำบลวังอ่าง อำเภอชะอวด จังหวัดนครศรีธรรมราช โดยเก็บพื้นที่ละ 5 จุด สุ่มให้ครอบคลุมทั่วพื้นที่ ที่ระดับความลึก 15 ซม. จากนั้นนำดินใส่ในถุงพลาสติกที่สะอาด เพื่อนำไปตรวจนับจำนวนสปอร์ทั้งหมดและจำแนกชนิดของเชื้อรา AMF

การตรวจหาจำนวนและชนิดของเชื้อรา AMF ในดินบริเวณแปลงปลูกพริกไทย

นำตัวอย่างดินที่ได้มาผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง เก็บเศษวัสดุต่างๆ ที่ติดมากับดินออก บดดินให้มีขนาดเล็กลง จากนั้นแยกสปอร์โดยวิธีที่ดัดแปลงมาจากวิธีการปั่นเหวี่ยงด้วยน้ำตาลซูโครส (sucrose centrifugation) (โสภณ และคณะ, 2554) โดยชั่งดิน 100 กรัม ใส่ลงในหลอดเซ็นตริฟิวจ์ เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 200 มล. แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงเป็นเวลา 5 นาที ที่ความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที เทของเหลวที่อยู่ส่วนบนทิ้ง จากนั้นเติมสารละลายน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 50 % นำไปหมุนเหวี่ยงอีกครั้ง เป็นเวลา 1 นาที ที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที รินของเหลวส่วนบนลงบนตะแกรงขนาด 45 µm และล้างสปอร์ด้วยน้ำกลั่น ถ่ายสปอร์ลงบนกระดาษกรองที่วาดตารางขนาด 0.5 x 0.5 ซม. วางกระดาษกรองที่มีสปอร์อยู่ลงบนจานเลี้ยงเชื้อ แล้วนำไปตรวจนับสปอร์ของเชื้อรา AMF ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ และวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การจำแนกชนิดของเชื้อรา AMF ซึ่งอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยนำสปอร์ของเชื้อรา AMF ที่แยกโดยวิธีการปั่นเหวี่ยงด้วยน้ำตาลซูโครสแล้ว มาวางบนสไลด์ที่หยด lactophenol ไว้ ปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ นำไปศึกษารูปร่างลักษณะต่างๆ ทั้งภายนอกและภายในสปอร์ของเชื้อรา ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ โครงสร้างที่ตรวจสอบ ได้แก่ สีของสปอร์ สิ่งตกแต่งที่ผิวสปอร์ จำนวนชั้นของผนังสปอร์ เส้นใยค้ำจุนสปอร์ (hyphal attachment) เป็นต้น นำผลที่ได้ไปเปรียบเทียบ แล้วจำแนกชนิดโดยใช้ฐานข้อมูล INVAM (http://invam.caf.wvu.edu)

ผลการศึกษา

การศึกษาจำนวนและชนิดของเชื้อรา AMF ในดินบริเวณแหล่งปลูกพริกไทย

จากผลการสำรวจและเก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบรากพริกไทยในจังหวัดนครศรีธรรมราช และสุราษฎร์ธานี พบว่าปริมาณสปอร์ของเชื้อรา AMF ในดินที่เก็บมาจากแปลงปลูกพริกไทยมีความแตกต่างกัน โดยพบปริมาณสปอร์สูงสุดในดินตัวอย่างที่เก็บจากอำเภอไชยา จังหวัดสุราษฎร์ธานี (CY) ในปริมาณ 1,242.0 สปอร์ต่อดิน 100 กรัม พบรองลงมาในดินตัวอย่างอำเภอชะอวด จังหวัดนครศรีธรรมราช (CA) และอำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช (TY) ในปริมาณ 563.2 และ 446.2 สปอร์ต่อดิน 100 กรัม ตามลำดับ และสปอร์ที่พบต่ำสุดในปริมาณ 275.6 สปอร์ต่อดิน 100 กรัม ในดินตัวอย่างจากอำเภอท่าศาลา จังหวัดนครศรีธรรมราช (SL) (**Figure 1**) ส่วนผลการจำแนกชนิดของเชื้อรา AMF จากดินบริเวณรอบรากพริกไทย โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น ขนาด สี รูปร่าง เป็นต้น (**Figure 2**) พบว่าสปอร์เชื้อรา AMF ที่พบบริเวณแปลง

ปลูกพริกไทยทั้งสองจังหวัดมีจำนวน และชนิดของเชื้อรา AMF แต่ละพื้นที่แตกต่างกัน สปอร์เชื้อรา AMF ที่พบส่วนใหญ่จัดอยู่ในสกุล *Glomus* รองลงมา คือ *Acaulospora* ในขณะที่ *Gigaspora* และ *Racocetra* พบเฉพาะดินบริเวณรอบรากพริกไทยในพื้นที่อำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช เท่านั้น และ *Septoglomus* พบเฉพาะพื้นที่แปลงปลูกอำเภอไชยา จังหวัดสุราษฎร์ธานี เท่านั้น (Table 1)

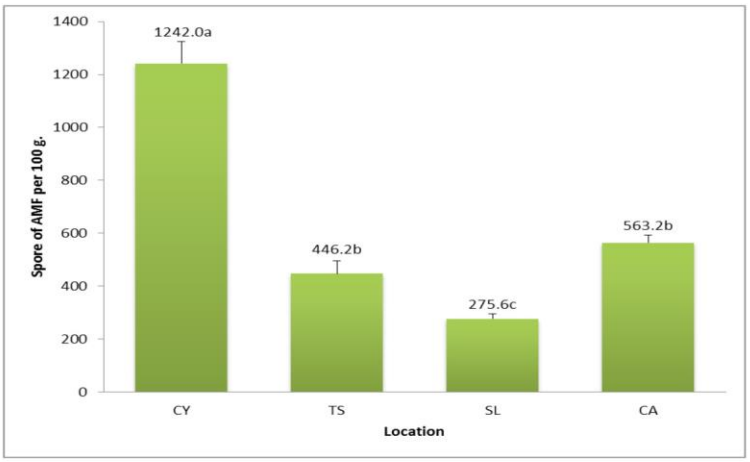


Figure 1 Spore density of AMF per 100 g soil from black pepper orchard CY = Amphoe Chai Yaa, TS = Amphoe Thung Song, SL = Amphoe Tha Sala, CA = Amphoe Cha-uat

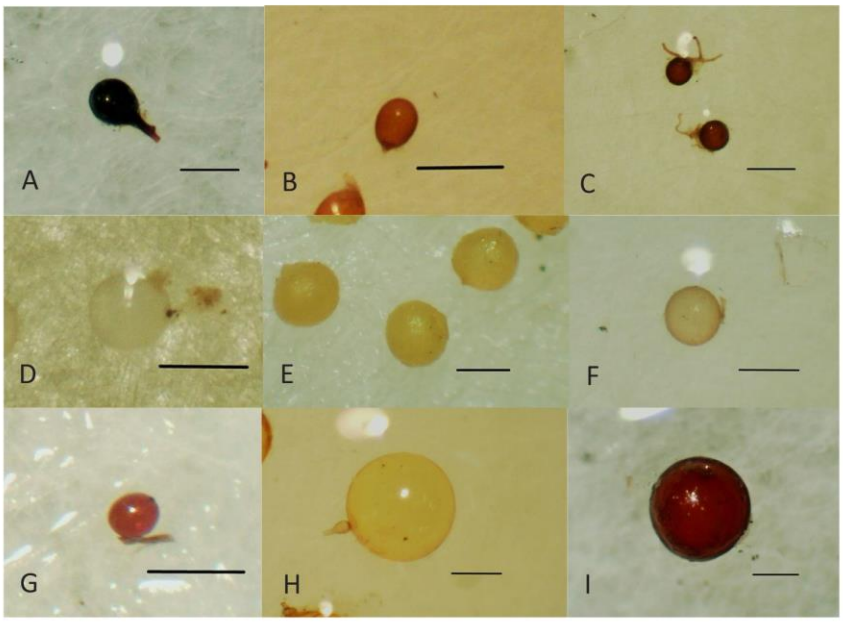


Figure 2 Type of AMF spore isolates collected from black pepper orchard (bar = 200 µm) (A-C) *Glomus*, (D-F) *Acaulospora*, (G) *Septoglomus*, (H) *Gigaspora*, (I) *Racocetra*

Table 1 AMF species in soils from black pepper orchard

Location	Spore density per 100 g. soil					Total spore per 100 g. soil	F
	Glomus	*Acaulospora*	*Septoglomus*	*Racocetra*	*Gigaspora*		
CY	959.2 ± 59.2	219 ± 22.9	63.8 ± 7.9	-	-	1242.0[a]	69.2
TS	299.4 ± 13.7	126.2 ± 8.4	-	17.4 ± 2.9	3.2 ± 0.3	446.2[b]	
SL	226.6 ± 43.5	49.0 ± 5.7	-	-	-	275.6[c]	
CA	470.4 ± 51.3	92.8 ± 12.0	-	-	-	563.2[b]	

significantly different at ($P < 0.05$)

สรุปและวิจารณ์

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นถึงปริมาณและความหลากหลายของเชื้อรา AMF ในแต่ละพื้นที่ที่แตกต่างกัน เชื้อราที่พบมากที่สุดอยู่ในสกุล *Glomus* พบรองลงมาคือ *Acaulospora* ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาเชื้อรา AMF ในประเทศไทย ซึ่งพบว่าเชื้อราในสกุล *Glomus* และ *Acaulospora* มีความถี่ในการพบมากที่สุด (เมธาวีการณ์ และโสภณ, 2554; กุลวดี, 2556) และจากการศึกษาความหลากหลายของเชื้อรา AMF บริเวณรากของต้นยางพาราในประเทศศรีลังกา พบเชื้อราสกุล *Glomus* ในทุกพื้นที่ที่ทำการศึกษา เนื่องจาก *Glomus* เป็นสกุลที่มีความทนทานต่อความหลากหลายของดิน มีความสามารถในการแข่งขัน และการปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมสูง (Songachan and Kayang, 2011) รายงานการใช้ เชื้อรา *G. mosseae* ในแปลงปลูกพริกไทยในประเทศศรีลังกา พบว่าการใช้เชื้อรา *G. mosseae* ในปริมาณ 75 กรัมร่วมกับวัสดุปลูก สามารถส่งเสริมให้ความยาวรากเพิ่มขึ้นและน้ำหนักแห้งของยอดสูงขึ้นได้ (Mala et al, 2010) จากการทดลองพบเชื้อรา AMF สกุล *Septoglomus* เฉพาะดินรอบรากพริกไทยจากแปลงปลูกอำเภอไชยา จังหวัดสุราษฎร์ธานีเท่านั้น และสกุล *Racocetra* และ *Gigaspora* เฉพาะแปลงปลูกอำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราชเท่านั้น ทั้งนี้น่าจะเป็นผลจากสภาพพื้นที่ปลูก และวิธีการดูแลรักษาต้นพริกไทย เช่น การให้ปุ๋ย เป็นต้น จากรายงานการศึกษาพืชอาศัยเพื่อขยายเชื้อรา AMF จากสวนลำไย รายงานว่าปัจจัยหลักที่มีผลต่อปริมาณและชนิดของสปอร์เชื้อรา คือ แหล่งที่มาของสปอร์ ลักษณะของสปอร์ และชนิดของพืชอาศัย (อังคณา และคณะ, 2557) และพบว่าการกระจายตัวของเชื้อรา AMF มีความสัมพันธ์กับความเป็นกรด-ด่างของดิน ความชื้นของดิน และอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจน (นาฏยา, 2554) งานวิจัยนี้เป็นการสำรวจเบื้องต้นเพื่อนำไปสู่การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา AMF ที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นพริกไทย ซึ่งอยู่ในระหว่างการวิจัย

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์จากบัณฑิตวิทยาลัย และกองทุนมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี ที่สนับสนุนทุนวิจัยในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กุลวดี คาภีระ. 2556. อิทธิพลของราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาและสารที่ปลดปล่อยจากรากพืชที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้ายางพารา. วิทยานิพนธ์ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

นาฏยา แพทย์พิทักษ์, ธัญพิสิษฐ์ พวงจิก, และพักตร์เพ็ญ ภูมิพันธ์. 2556. การสำรวจประชากรเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาบริเวณเขตรากไผ่ในพื้นที่เกษตรกรรม และพื้นที่ป่าธรรมชาติ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2302-2310.

เมธาวีการณ์ พรหมลา, และโสภณ บุญลือ. 2554. ชนิดและผลของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ ไมคอร์ไรซาต่อการเจริญเติบโตของอ้อย. น. 16-22. ใน: ประชุมวิชาการฐานรากที่มั่นคงเพื่อการพัฒนาประเทศอย่างยั่งยืน 27-29 มกราคม 2554. มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

โสภณ บุญลือ, อำนาจ สุวรรณฤทธิ์, และพูนพิไล สุวรรณฤทธิ์. 2554. การกระตุ้นการเจริญของพริกอินทรีย์และการลดความเป็นโรคทางรากของพริกด้วยเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา. ภาควิชาจุลชีววิทยา. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2552. สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2551. ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2559. สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2558. ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

อังคณา เดชอูป, อรวรรณ ฉัตรสีรุ้ง, สุรินทร์ นิลสำราญจิต, และฉันทลักษณ์ ติยายน. 2557.การศึกษาพืชอาศัยเพื่อขยายเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาจากสวนลำไย. แก่นเกษตร. 42: 136-140.

Eckhard, G., M. Horst, and J. Iver. 1995. Role of arbuscular mycorrhizal fungi in uptake of phosphorus and nitrogen from soil. Biotechnology. p.257-270.

Hossein, B., M. Mohd, and S. Zeinab. 2014. Antioxidant activity of *Piper nigrum* L. essentialoil extracted by supercritical CO2 extraction and hydro-distillation. Talanta. 220-228.

Keishi, S., S. Zakaria, T. Satoki, K. Masayoshi, I.A. Haruko, A. Shoichiro, T. Akiyoshi, and O. Hitoshi. 2007. Isolation and characterization of arbuscules from roots of an increased-arbuscule-forming mutant of lotus japonicas. Annals of Botany. 7: 1599-1603.

Kohki, A., M. Ken-ichi, and H. Hideo. 2005. Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. Nature Publishing Group. p.824-827.

Kwapata, M.B., and A.E. Hall. 1985. Effects of moisture regime and phosphorus on mycorrhizal infection, nutrient uptake and growth of cowpeas (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). Field Crops Research. p.241-250.

Mala, W.J., I.S. Kumari, H.A. Sumanasena, and C.M. Nanayakkara. 2010. Effective spore density of *Glomus mosseae*, arbuscular mycorrhiza (AM), for inoculation of rooted cuttings of black pepper (*Piper nigrum* Linn.). Agricultural Research. 21(2): 189-197.

Songachan, L.S., and H. Kayang. 2011. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in pine forest of Meghalaya, North East India. Mycosphere. 2: 497-505.

Wimalarathne, H.G.M.C., U.R. Sangakkara, and H.A. Sumanasena. 2014. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on shoot and root development of black pepper (*Piper nigrum* L.) rooted cuttings. Agricultural and Soil Science. 2(6): 105-111.