

<b>Thesis Title</b>	Genotypic Characterization of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Their Potential Use for Growth of Lettuces	
<b>Author</b>	Miss Maliwan Saouy	
<b>Degree</b>	Doctor of Philosophy (Biotechnology)	
<b>Thesis Advisory Committee</b>	Assoc. Prof. Dr. Somporn Choonluchanon	Chairperson
	Dr. Arawan Shutsrirung	Member
	Dr. Choochat Santasup	Member

### ABSTRACT

This study was aimed to collect the indigenous AM spores from lettuce cultivated soil for identification and selection for effective root infection. The selected spores were used for inoculum production and determination of lettuce yield and nutrients uptake. The preliminary investigation of AM fungal spores from lettuce rhizosphere was extracted by wet-sieving and decanting method. A total of 40 soil samples were collected from different vegetable farms. AM fungi were found only in the practice field of Department of Horticulture site at the average densities of 4.68 spores per 100 g dry soil. The characterization of AM fungi was identified in both morphological and molecular biology aspects. Molecular identification methods based on genomic DNA extraction from single spore and PCR analysis of the 18S rRNA genes were used for sequencing. The collected isolates were belong to *Glomus* sp. (85% homology; AJ852533.1) and *Gigaspora* sp. (70% homology; AB197869.1). The percentage of root colonization was evaluated in *Lactuca sativar* var *crispa* L. (green leaf lettuce and red leaf lettuce) which were inoculated with *Glomus* sp. and *Gigaspora* sp. After inoculation period of four weeks with 50 spores in sand substrate, the total percentage of root colonization was significantly greater on red leaf lettuce than green leaf lettuce and the *Glomus* sp. colonized in lettuce root was higher than

*Gigaspora* sp. These spores were then propagated by pot culture with four generations of multiplication. It was found that the spore of *Gigaspora* sp. was not observed in the third generation. Whereas the average spores propagation of *Glomus* sp. were 24 spores per g dry sand.

The development of AM fungal inoculum by hydroponic culture with two nutrient media, modified Long Ashton (LANS) and modified Hoagland medium (HNS) were compared for culturing *Glomus* sp. on red leaf lettuce. After a pre-culture period of four weeks with 50 spores in sand substrate, the initial infection of mycorrhizal plants irrigated with either LANS or HNS were not significantly different. At four weeks after transplanting, the total percentage of root colonization was significantly greater in HNS medium than in LANS medium. The four nutrient media (solution-I, solution-II, solution-III and solution-IV) of modified Hoagland were used and replaced with fresh solution every week in a deep water culture technique to compare for root colonization and spore production. Four weeks after transplanting, plants in solution-I medium had higher percentage of mycorrhizal colonization and spore population than with other nutrients media. The spore production was significantly positive correlated with root colonization while it was negative correlation with EC, shoot and root biomass. The combined effects of fertilization levels (0%, 25%, 50%, 75% and 100% of recommended fertilizer) and AM inoculation on *Lactuca sativar* var *crispa* L. (green leaf, red leaf and red grana), *Lactuca sativar* var *capitata* L. (head lettuce and asmerunda) and *Lactuca sativar* var *longifolia* L.(cos) was determined for plant yield, root colonization, macro and micronutrient assimilation. The higher fertilization reduced root colonization but the highest fertilization (100%) absolutely inhibited AM infection of all tested plants. The dual application of AM spores with low fertilizer rates (0%, 25%, 50%) suggested to increase yield and the uptake of N, P, Ca, Mg and Mn.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

ลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา

และศักยภาพต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอม

ผู้เขียน

นางสาว มะลิวัลย์ แซ่อู๋

ปริญญา

วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ. ดร. สมพร ชุมห้ล้อมานนท์ ประธานกรรมการ

ดร. อรวรรณ นัทรสิริรุ่ง

กรรมการ

ดร. ชูชาติ สันทรทรัพย์

กรรมการ

## บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเก็บรวบรวมเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาจากพื้นที่ที่เพาะปลูกผักกาดหอมเพื่อการจัดจำแนกและคัดเลือกเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการเข้ารากและนำเชื้อที่คัดเลือกได้มาใช้ในการผลิตหัวเชื้อและศึกษาผลผลิตของการคู่อใช้ธาตุอาหารพืชในดินผักกาดหอม โดยเก็บรวบรวมสปอร์ของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาจากดินบริเวณรอบรากผักกาดหอมจำนวน 40 ตัวอย่าง ใน 4 พื้นที่ พบสปอร์ของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาเพียงพื้นที่เดียวเท่านั้น คือ แปลงปฏิบัติการของภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ซึ่งมีความหนาแน่นของสปอร์เฉลี่ย 4.68 สปอร์ ต่อ 100 ดินแห้งกรัม เมื่อนำมาจัดจำแนกทางทางสัณฐานวิทยาและเทคนิคทางชีวโมเลกุลโดยการสกัด DNA จากสปอร์เดี่ยวและหาลำดับเบสของ 18S rRNA gene ผลการอ่านลำดับเบสพบเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา 2 ชนิด คือ *Glomus* sp. (85% ความคล้ายคลึง; AJ852533.1) และ *Gigaspora* sp. (70% ความคล้ายคลึง; AB197869.1) เมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพการเข้ารากในผักกาดหอม 2 ชนิด คือ

ผักกาดหอมใบแดง และผักกาดหอมใบเขียว พบว่าหลังจากทำการปลูกเชื้อจำนวน 50 สปอร์โดยใช้ทรายเป็นวัสดุปลูก เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า *Glomus* sp. มีปริมาณการเข้ารากมากกว่า *Gigaspora* sp. และ ผักกาดหอมใบแดงมีปริมาณการเข้ารากมากกว่าผักกาดหอมใบเขียว จากนั้นจึงนำสปอร์มาขยายในกระถางจำนวน 4 รุ่น ซึ่งพบว่า *Gigaspora* sp. ไม่สามารถติดเชื้อและสร้างสปอร์ได้ในกระถางขยายเชื้อในรุ่นที่ 3 ส่วนสปอร์ของ *Glomus* sp. ขยายได้ 24 สปอร์ ต่อ กรัมทรายแห้ง

ในการพัฒนาการผลิตหัวเชื้อด้วยระบบไฮโดรโปนิกส์โดยการทดสอบสารละลายธาตุอาหารพืช 2 ชนิด คือ สารละลาย modified Long Ashton (LANS) และสารละลาย modified Hoagland medium (HNS) ในการขยายพันธุ์ *Glomus* sp. ในผักกาดหอมใบแดง พบว่าสารละลาย HNS ให้ปริมาณการเข้ารากของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา มากกว่าสารละลาย LANS จึงได้พัฒนาสูตรของสารละลาย HNS เพื่อให้เหมาะสมต่อการผลิตสปอร์ของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาโดยการประยุกต์ได้สารละลายจำนวน 4 สูตรคือ สารละลายที่-I สารละลายที่-II สารละลายที่-III สารละลายที่-IV เมื่อนำมาทดสอบปริมาณการเข้ารากและการสร้างสปอร์ของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา พบว่าสารละลายที่-I มีการเข้ารากและการสร้างสปอร์สูงที่สุดซึ่งปริมาณการสร้างสปอร์มีสหสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณการเข้าราก แต่จะมีสหสัมพันธ์เชิงลบกับค่าการนำไฟฟ้า น้ำหนักส่วนต้นและน้ำหนักส่วนราก สำหรับอิทธิพลร่วมของระดับการใส่ปุ๋ย (0%, 25%, 50%, 75% และ 100% ของอัตราแนะนำ) และ การใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา ต่อผลผลิตและการดูใช้ธาตุอาหารของผักกาดหอมใบเขียว ผักกาดหอมใบแดง ผักสลัดแก้ว เอสเมอร์ندا สลัดคอส และ เรดกรานา พบว่าการใส่ปุ๋ยในระดับสูงจะลดปริมาณการเข้ารากของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในผักกาดหอมทุกชนิดซึ่งการเข้ารากของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา

โรซาชะถูกยับยั้งอย่างสมบูรณ์ที่ระดับการใช้ปุ๋ยเต็มอัตราที่แนะนำ แต่เมื่ออยู่ภายใต้สภาวะที่มีการใช้ปุ๋ยต่ำ (0%, 25%, 50%) เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาสามารถเพิ่มผลผลิตและส่งเสริมการดูดใช้ธาตุอาหารพืช (N, P, Ca, Mg และ Mn) ของผักกาดหอม



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved