

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: MRG5080086

ชื่อโครงการ: การกระตุ้นการเจริญของพริกอินทรีย์และการลดความเป็นโรคทางรากของพริก
ด้วยเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ ไมคอร์ไรซา

ชื่อนักวิจัย : ผศ.ดร. โสภณ บุญลือ	ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ศ.ดร.อำนาจ สุวรรณฤทธิ์	ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
รศ. พูนพิไล สุวรรณฤทธิ์	ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

E-mail Address : bsopho@kku.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี

พริก (*Capsicum frutescens* L.) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ในการปลูกพริกมีการใช้ปุ๋ยเคมีและยาฆ่าแมลงในปริมาณสูง ด้วยเหตุนี้การผลิตพริกด้วยการจัดการแบบเกษตรอินทรีย์ จึงเป็นวิธีการที่ช่วยรักษาสภาพแวดล้อมและผลิตผลผลิตที่ปราศจากการปนเปื้อนของสารพิษได้ งานวิจัยชิ้นนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ ไมคอร์ไรซา และเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตจากดินปลูกพริกในแปลงเกษตรอินทรีย์ และแปลงเกษตรแบบดั้งเดิม และคัดเลือกเชื้อราไมคอร์ไรซาและแบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่มีประสิทธิภาพต่อการส่งเสริมการเจริญของพริก และควบคุมโรครากปมจากไส้เดือนฝอย *Meloidogyne incognita* จากการศึกษาเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ ไมคอร์ไรซาในดินบริเวณแปลงปลูกพริกอินทรีย์แหล่งต่างๆ พบปริมาณสปอร์ 2-8 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม และมีการเข้าอาศัยในรากของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ ไมคอร์ไรซา 46-60 เปอร์เซ็นต์ สามารถเพิ่มปริมาณสปอร์ในกระถางได้ทั้งสิ้น 41 ไอโซเลต นำมาจัดจำแนกชนิดพบว่าเป็น เชื้อ *Acaulospora appendicula*, *Acaulospora denticulata*, *Acaulospora foveata*, *Acaulospora scrobiculata*, *Glomus globiform*, *Glomus etunicatum*, *Glomus dimorphicum*, *Glomus leptothicum*, *Glomus clarum*, *Glomus* sp.1, *Glomus* sp.2, *Scutellospora pellucida*, *Entrophospora infrequens*

และ *Gigaspora* sp. นำเชื้ออาร์บัสคูลาร์ ไมคอร์ไรซา มาทดสอบประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพริกในดินอินทรีย์ โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized complete block design (RCBD) พบว่า เชื้อ *Gl. clarum* RA0305 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการเพิ่มการเจริญเติบโตของพริก ได้แก่ ความสูง เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น น้ำหนักสดและแห้งของทั้งลำต้น และราก การสร้างดอกและผลพริก รวมถึงการดูดซับฟอสฟอรัส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าความเป็นไปได้ของการนำเชื้อราไปใช้เป็นกล่าเชื้อสำหรับการผลิตพริกอินทรีย์

การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตจากดินบริเวณแปลงปลูกพริกในแหล่งต่างๆ พบว่า สามารถคัดแยกเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตจากพื้นที่ปลูกพริกอินทรีย์ ได้มากกว่าพื้นที่อื่น คิดเป็นร้อยละ 68 ของจำนวนเชื้อทั้งหมดที่คัดแยกได้ นำมาวัดประสิทธิภาพในการทำละลายฟอสเฟตพบว่า เชื้อแบคทีเรียแต่ละไอโซเลตมีความสามารถในการละลายฟอสเฟตแตกต่างกัน คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟตได้มากที่สุด 10 ไอโซเลตมา จัดจำแนกชนิดโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา และชีวเคมี พบว่าเป็นเชื้อในสกุล *Burkholderia* นอกจากนี้การเพิ่มขยายยีนบริเวณ 16S rRNA และวิเคราะห์สายวงศ์วานวิวัฒนาการพบว่า เชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่คัดแยกได้ มีความใกล้เคียงมากที่สุดกับเชื้อ *Burkholderia ambifaria* และ *B. tropica* นำเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตทั้ง 10 ไอโซเลตมาศึกษาคุณสมบัติในการทำละลายฟอสเฟตพบว่า เชื้อแบคทีเรียสามารถละลายฟอสเฟตได้ 126.33-488 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร วิเคราะห์กรดอินทรีย์ที่ผลิตขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อจากเชื้อแบคทีเรียเหล่านี้ ด้วยวิธี HPLC พบกรดอินทรีย์ทั้งสิ้น 8 ชนิด คือกรด acetic, citric, gluconic, lactic, succinic, propionic และกรดอินทรีย์ที่ไม่ทราบชื่อ 2 ชนิด โดยเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตจำนวน 8 ไอโซเลตสามารถผลิตกรดอินทรีย์ได้มากกว่า 1 ชนิด และมีเพียง 2 ไอโซเลต ที่ผลิตกรดอินทรีย์ได้เพียงชนิดเดียว ทั้งนี้ไม่พบความสัมพันธ์ของความหลากหลายของชนิดของกรดอินทรีย์ที่เชื้อแบคทีเรียผลิตต่อความสามารถในการทำละลายฟอสเฟต เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียมาทดสอบประสิทธิภาพในการเพิ่มการเจริญเติบโตของพริก พบว่าเชื้อ KS04 ที่คัดแยกจากดินในแปลงเกษตรอินทรีย์ มีประสิทธิภาพสูงสุดในการเพิ่มการเจริญเติบโตของพริก ได้แก่ ความสูง เส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้น น้ำหนักสดและแห้งของทั้งรากและลำต้น และการสร้างดอก รวมถึงการดูดซับฟอสฟอรัส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ต่อมา นำเชื้ออาร์บัสคูลาร์ ไมคอร์ไรซาที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มการเจริญของพริก 3 ชนิด คือ *A. appendicula* HR0201, *A. denticulata* RA2106 และ *Gl. clarum* RA0305 มาปลูก ร่วมกับเชื้อ *B. tropica* KS04 เพื่อทดสอบประสิทธิภาพต่อการเจริญเติบโตของพริก และการยับยั้งเชื้อไส้เดือนฝอยรากปม (*Meliodogyne incognita*) ในพริก พบว่า การปลูกเชื้อ *Gl. clarum* RA0305 ร่วมกับเชื้อแบคทีเรีย *B. tropica* KS04 นอกจากจะเพิ่มการเจริญเติบโตของต้นพริกด้านต่างๆ เช่น ความสูง เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น น้ำหนักสดและแห้งของทั้งลำต้นและราก และการสร้างดอก และยังเพิ่มการดูดซับธาตุฟอสฟอรัส และโปแตสเซียมของพริกให้สูงขึ้นแล้ว นอกจากนี้ยังสามารถลดจำนวนไข่ไส้เดือนฝอย ระดับการเกิดปมราก และดัชนีการเกิดโรครากปมจากไส้เดือนฝอยให้ลดลงได้ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การทดลองแสดงให้เห็นว่า เชื้อรา *Gl. clarum* RA0305 และ *B. tropica* KS04 เป็นเชื้อที่มีศักยภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพริก และยังสามารถช่วยควบคุมโรครากปมไส้เดือนฝอยของพริกได้ด้วย ซึ่งควรที่จะมีการพัฒนาเพื่อผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพต่อไป

คำหลัก : พริกอินทรีย์, เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ ไมคอร์ไรซา, แบคทีเรียละลายฟอสเฟต, การควบคุมทางชีววิธี, ไส้เดือนฝอยรากปม

Abstract

Project Code : MRG5080086

Project Title : Growth Promotion for Organic chili and Reducing of Chili Root Pathogens by Arbuscular Mycorrhizal Fungi

Investigator : Assist.Prof.Dr. Sophon Boonlue
 Prof.Dr. Amnat Suwanarit
 Assoc.Prof. Poonpilai Suwanarit

E-mail Address : bsopho@kku.ac.th

Project Period : 2 years

Chili, *Capsicum frutescens* L., is an important economic vegetable in Thailand. The crop production has been used many synthetic fertilizers and pesticides. Therefore, a production of chili under organically managed practice is necessary for a farmer in order to sustain and enhance the health of ecosystems and produce for toxic chemicals-free products. This present work aims to examine the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and phosphate solubilizing bacteria (PSB) on chili cultivated under organic farming and conventional system, and screen for the efficiency of AMF and PSB for being able chili growth promoter and control chili root pathogen cause by root knot nematode, *Meloidogyne incognita*. The number of total AMF spores and a percentage of root colonization were observed in soil from organic chili farm with various from 2-8 spore/g of soil and 46-60 %, respectively. The fourteen species of AMF were multiplied by pot culture technique and morphologically identified as *Acaulospora appendicula*, *Acaulospora denticulata*, *Acaulospora foveata*, *Acaulospora scrobiculata*, *Glomus globiformum*, *Glomus etunicatum*, *Glomus dimorphicum*, *Glomus leptothicum*, *Glomus clarum*, *Glomus* sp.1, *Glomus* sp.2, *Scutellospora pellucida*, *Scutellospora* sp. and *Entrophospora infrequens*. The AMF were determined for enhancing growth of chili on organically managed soil by performing with experimental designed as Randomized complete block design (RCBD). *Gl. clarum* RA0305 was the

best isolate that increased significantly growth including of high, shoot diameter, shoot fresh and dry weight, root fresh and dry weight, flowering, fruit of green chili and P uptake. This suggests the possibility of application of AMF as an inoculum for production of chili in organic agriculture.

PSB were isolated from rhizosphere soil of chili cultivated in various agricultural farms. The most PSB (over 68%) could be obtained from organic managed soil. The efficiency for solubilization of phosphate by these bacterial isolates was found various different activities. Ten isolates of PSB were selected based on tri-calcium phosphate solubilizing ability and further carried out for identification and characterization of organic acid. Morphological and biochemical observation of these isolates were identified as *Burkholderia* genera. In addition, the amplified 16S rDNA fragments and phylogenetic analysis showed maximum similarity to *Burkholderia ambafiria* and *B. tropica*. The selected PSB exhibited phosphate solubilizing ability ranging between 126.36 - 488.55 µg/ml. Analysis of organic acids produced from these isolates in the culture medium by HPLC found eight different kinds of organic acids namely, acetic acid, citric acid, gluconic acid, lactic acid, succinic acid, propionic acid and two unknown organic acids. Among of isolates in this study, multiple organic acids could be produced from eight isolates, and single organic acid found from two isolates. Multiples organic acid not corresponded with ability of solubilization of mineral phosphate. KS04 was obtained from organic chili farm and showed the greatest efficiency on promotion of chili growth which significantly increased the growth, flowering and the P uptake, compared to uninoculated plants.

Subsequently, the combination of AMF and PSB for promotion of chili growth and depression of chili root disease cause by root-knot nematode (*M. incognita*) were investigated in pot experiment. Three AMF namely, *A. appendicula* HR0201, *A. denticulata* RA2106 and *Gl. clarum* RA0305 were co-inoculated with bacterial isolate *B. tropica* KS04. The results found that plant co-inoculated with *Gl. clarum* RA0305 and *B. tropica* KS04 increased significantly growth parameters such as high, shoot diameter, shoot fresh and dry weight, root fresh and dry weight and nutrient uptake (P and K). Furthermore, the numbers of nematode egg, level of gall disease and infection index were significantly reduced by this treatment. From our results indicated that *Gl. clarum*

RA0305 and *B. tropica* KS04 were the most effective of being able chili growth promoter and could control of chili root pathogen cause by root knot nematode, *M. incognita*. Therefore, these both of microorganisms should be further developed for production as biofertilizer.

Keywords : Organic chili, Arbuscular mycorrhizal fungi, Phosphate solubilizing bacteria, Biocontrol, Root-knot nematode