



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ : ผลของสายพันธุ์ส้มเขียวหวานและชนิดของพืชตระกูลส้มที่ใช้เป็นต้นตอของ
ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งที่ตอบสนองต่อเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา
และเชื้อราสาเหตุโรครากเน่า

โดย

ผศ.ดร. สมจิตร อยู่เป็นสุข

น.ส. วรณวิณี ผิวเผือก

ศ. ดร. เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม

กุมภาพันธ์ 2553

สัญญาเลขที่ MRG 5180342

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ : ผลของสายพันธุ์ส้มเขียวหวานและชนิดของพืชตระกูลส้มที่ใช้เป็นต้นตอของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งที่ตอบสนองต่อเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาและเชื้อราสาเหตุโรครากเน่า

ผู้วิจัย	สังกัด
1. ผศ.ดร. สมจิตร อยู่เป็นสุข	ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
2. น.ส. วรณวิณี ผิวเผือก	ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
3. ศ.ดร. เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม	ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	6
Abstract	7
Executive summary	8
บทนำและวัตถุประสงค์	10
วิธีทดลอง	11
ผลการทดลอง	
ผลของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาต่อการเจริญเติบโตและการยับยั้งโรค จากเชื้อรา <i>Phytophthora parasitica</i> ของต้นกล้าส้ม	13
ผลของต้นตอส้มชนิดต่าง ๆ และเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาต่อการเจริญ เติบโตของตาส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้ง	23
วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง	34
เอกสารอ้างอิง	38
ภาคผนวก	40

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. ผลของเชื้อราต่อความสูงของต้นกล้าส้ม	13
2. ผลของเชื้อราต่อของน้ำหนักแห้งของส่วนต้นของกล้าส้ม	14
3. ผลของเชื้อราต่อของน้ำหนักแห้งของส่วนรากของกล้าส้ม	15
4. ผลของเชื้อราต่อของน้ำหนักแห้งทั้งหมดทั้งส่วนต้นและรากของต้นกล้าส้ม	16
5. การเกิดโรคของต้นกล้าส้ม และปริมาณ zoospores ของเชื้อรา <i>Phytophthora parasitica</i>	19
6. เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในรากต้นส้ม (AM fungal colonization)	21
7. ความสูงส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ	23
8. น้ำหนักแห้งส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอส้มชนิดต่างๆ	27
9. ปริมาณธาตุไนโตรเจนของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอ	28
10. ปริมาณธาตุฟอสฟอรัสของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอ	29
11. ปริมาณธาตุโพแทสเซียมของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอ	30
12. ปริมาณธาตุแคลเซียมของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอ	31
13. ปริมาณธาตุแมกนีเซียมของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอ	32
14. จำนวนสปอร์ของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในกระถางทดลอง	32

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1. ต้นกล้าสมชนิดต่างๆที่แสดงอาการของโรคหลังการใส่เชื้อรา <i>P. parasitica</i> เป็นระยะเวลา 1 เดือน	18
2. รากบางส่วนมีสีคล้ำและเปื่อยยุ่ยเนื่องจากการเข้าทำลายของเชื้อรา <i>P. parasitica</i>	18
3. Sporangium (zoosporangium) ของเชื้อรา <i>P. parasitica</i> ที่รากของต้นส้ม	19
4. เชื้อรา <i>P. parasitica</i> ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และ Colony ของเชื้อรา <i>P. parasitica</i> ที่เจริญจาก zoospores บนอาหาร V-8 juice agar	20
5. รากส้มที่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา	22
6. รากส้มจากชุดทดลองที่ไม่ได้ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา	22
7. ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นต่อส้มเขียวหวานพันธุ์คลีโอพัตรา	24
8. ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นต่อส้มลูกผสมพันธุ์ทรอยเบอร์	24
9. ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นต่อส้มลูกผสมพันธุ์สวิงเกิ้ล	25
10. ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นต่อมะนาวแป้น	25
11. ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นต่อส้มโอ	26
12. ตัวอย่างชนิดของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในจีนัส <i>Glomus</i>	33
13. ตัวอย่างชนิดของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในจีนัส <i>Acaulospora</i>	33

รหัสโครงการ MRG 5180342

ชื่อโครงการ : ผลของสายพันธุ์ส้มเขียวหวานและชนิดของพืชตระกูลส้มที่ใช้เป็นต้นตอของ
ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งที่ตอบสนองต่อเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา
และเชื้อราสาเหตุโรครากเน่า

ชื่อนักวิจัย และสถาบัน

- | | |
|------------------------------|--|
| 1. ผศ.ดร. สมจิตร อยู่เป็นสุข | ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 2. น.ส. วรณวิณี ผิวเผือก | ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 3. ศ.ดร. เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม | ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |

E-mail Address: scboi027@chiangmai.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : 2 ปี

บทคัดย่อ: ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้ง นิยมปลูกด้วยวิธีการเสียบยอดบนต้นตอของส้มเขียวหวานพันธุ์อื่นหรือบนต้นตอของส้มชนิดอื่น วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ (1) เพื่อศึกษาผลของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาต่อการเจริญเติบโตและการต้านทานเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ของต้นกล้าพืชสกุลส้ม และ (2) เพื่อศึกษาผลของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาและพืชสกุลส้มที่ใช้เป็นต้นตอ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของตาของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอพืชสกุลส้มชนิดต่างๆ พืชสกุลส้มที่ใช้ในการทดลองนี้ ได้แก่ ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้ง (*Citrus reticulata*) ส้มเขียวหวานพันธุ์คลีโอพัตรา (*C. reshni*) มะนาวแป้น (*C. aurantifolia*) ส้มโอ (*C. grandis*) ส้มลูกผสมพันธุ์สวิงเกิล (*C. paradisi* × *P. trifoliata*) และส้มลูกผสมพันธุ์ทรอยเลอร์ (*Citrus sinensis* × *Poncirus trifoliata*) เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาช่วยเพิ่มความต้านทานต่อโรครากเน่าที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *P. parasitica* ของต้นกล้าพืชสกุลส้มได้ประมาณ 2-16 เท่า ในชุดทดลองที่ไม่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งอ่อนแอต่อเชื้อรา *P. parasitica* มากที่สุด และพบว่าเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของต้นกล้ามะนาวแป้นได้มากที่สุด สำหรับการศึกษาผลของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาต่อการเจริญของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้ง บนต้นตอของส้ม 5 ชนิด ได้แก่ ส้มเขียวหวานพันธุ์คลีโอพัตรา มะนาว ส้มโอ ส้มลูกผสมพันธุ์สวิงเกิล และพันธุ์ทรอยเลอร์ เป็นเวลา 3 เดือน พบว่าส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งมีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดและมีปริมาณธาตุอาหารฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมมากที่สุดบนต้นตอของมะนาวที่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา

คำหลัก : พืชสกุลส้ม, ส้มเขียวหวาน, ต้นตอ, เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา, โรครากเน่า

Project Code: MRG 5180342

Project Title: Effects of some tangerine varieties and some other *Citrus* species used for rootstocks of tangerine variety Sainamphung on response to arbuscular mycorrhizal fungi and root rot fungus

Investigator:

Asst. Prof. Dr. Somchit Youpensuk	Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University
Ms. Wonwinee Piwpueak	Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University
Prof. Dr. Benjavan Rerkasem	Department of Plant Science and natural resources, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University

E-mail Address: scboi027@chiangmai.ac.th

Project Period: 2 years

Abstract

Tangerine variety Sainamphung is generally grown by grafting on rootstocks of other variety or other citrus species due to it is susceptible to root rot disease. The objectives of this study are (1) to investigate the effects of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi on resistance to *Phytophthora parasitica* and the growth of seedlings of *Citrus* spp. and (2) to study the effect of AM fungi and rootstocks of *Citrus* spp. on growth of the scions of tangerine variety Sainamphung. The citrus species used in this experiment were Common tangerine variety Sainamphung (*Citrus reticulata*) and Cleopatra tangerine (*C. reshni*), lime (*C. aurantifolia*), pomelo (*C. grandis*), Swingle citrumelo (*Citrus paradisi*×*Poncirus trifoliata*) and Troyer citrange (*Citrus sinensis*×*Poncirus trifoliata*). The results showed that AM fungi reduced disease severity of the citrus plants about 2-16 times of the non-mycorrhizal plants. Citrus plants without AM fungi showed that tangerine variety Sainamphung was the most susceptible to *P. parasitica* followed by Troyer citrange, lime, pomelo and Swingle citrumelo, respectively. Whereas, Cleopatra tangerine was the most resistant to *P. parasitica*. AM fungi improved the highest growth of lime seedling. The effect of AM fungi on the growth of tangerine variety Sainamphung scions which grafting on the citrus rootstocks of Cleopatra tangerine, Troyer citrange, Swingle citrumelo, lime and pomelo was investigated for three months. It was found that the scions of tangerine variety Sainamphung grew best and accumulated the highest phosphorus and potassium contents on the lime rootstock inoculated with AM fungi.

Keywords: *Citrus* spp., rootstock, arbuscular mycorrhizal fungi, root rot disease

Executive summary

Project Title: **Effect of some tangerine varieties and some other *Citrus* species used for rootstocks of tangerine variety Sainamphung on response to arbuscular mycorrhizal fungi and root rot fungus**

Investigator:

Asst. Prof. Dr. Somchit Youpensuk	Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University
Ms. Wonwinee Piwpueak	Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University
Prof. Dr. Benjavan Rerkasem	Department of Plant Science and natural resources, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University

Project Period: 2 years

Tangerine variety Sainamphung (*Citrus reticulata*) is widely grown in northern region of Thailand. It is a delicious variety but it is not resistant to root rot disease. Tangerine variety Sainumphung is generally grown by grafting on rootstocks of other citrus species such as Swingle citrumelo (*Citrus paradisi*×*Poncirus trifoliata*) and Troyer citrange (*Citrus sinensis*×*Poncirus trifoliata*). Arbuscular mycorrhizal (AM) fungi are mutualistic associations with plant roots. Interest in these associations is mainly because of the manifold benefits conferred on the host by the fungus. AM fungi are an important part of sustainable agricultural systems that have low inputs of chemical fertilizers and pesticides. Therefore, we are interested in investigating *Citrus* spp. to be used as rootstocks of tangerine variety Sainamphung, especially for their potential to utilize benefits from association with the AM fungi and resistance to root rot fungus (*Phytophthora parasitica*). The objectives of this research are (1) to investigate the effects of AM fungi on resistance to *P. parasitica* and the growth of seedlings of citrus species and (2) to study the effect of AM fungi and citrus species as rootstocks on the growth of the scion, tangerine variety Sainamphung.

Experiment 1. Investigation of the effects of AM fungi on resistance to *P. parasitica* and growth of seedlings of citrus species.

The experiment was a full factorial of six citrus species, two treatments of AM inoculation (inoculated and non-inoculated treatments) and two treatments of *P. parasitica* inoculation, (inoculated and non-inoculated treatments) with four replications. The citrus species used in this experiment were tangerine varieties Sainamphung (*Citrus reticulata*) Cleopatra tangerine (*C. reshni*), lime (*C. aurantifolia*), pomelo (*C. grandis*), Swingle citrumelo (*Citrus paradisi*×*Poncirus trifoliata*) and Troyer citrange (*Citrus sinensis*×*Poncirus trifoliata*). Seeds of *Citrus* spp. were grown in sterilized soil. One month old seedlings were transplanted to sterilized soil in pots and about 400 spores of mixed species of AM fungi were inoculated under the roots of the seedlings. Two months after AM fungal inoculation, about 10^5 zoospores of *P. parasitica* were inoculated around the root zone of the seedlings. Symptom of root rot disease of citrus seedlings was evaluated about one month after *P. parasitica* inoculation. The growth of the citrus seedlings was also determined. The results showed that AM fungi reduced disease severity of the citrus plants about 2-16 times of the non-mycorrhizal plants. Citrus plants without AM fungi showed that tangerine variety Sainamphung was the most susceptible to *P. parasitica* followed by Troyer citrange, lime, pomelo and Swingle citrumelo, respectively. Whereas, Cleopatra tangerine was the most resistant to *P. parasitica*. AM fungi improved the highest growth of lime seedling.

Experiment 2. Study the effect of AM fungi and citrus species as rootstocks on the growth of the scion, tangerine variety Sainamphung.

The experiment was a full factorial of five species of citrus used as rootstocks (seven-month old plants of Cleopatra tangerine, lime, pomelo, Swingle citrumelo and Troyer citrange) with two treatments of AM inoculation (inoculated and non-inoculated treatments) in four replications. Scions of tangerine variety Sainamphung were grafted on the citrus rootstocks. Three months after grafting, dry weight, nitrogen, phosphorus, potassium, calcium and magnesium contents of the scions were evaluated. The results showed that the scion of tangerine variety Sainamphung grew best and accumulated the highest phosphorus and potassium contents on the lime rootstock inoculated with AM fungi. Seeds of lime are very cheap compared to the other citrus species such as Troyer citrange and Swingle citrumelo. Therefore, lime with AM fungi is interesting for using for rootstock of tangerine variety Sainamphung.

บทนำและวัตถุประสงค์

ส้มเป็นพืชในสกุล *Citrus* ที่สามารถปลูกได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทย ส้มที่ปลูกเป็นการค้า ได้แก่ ส้มเขียวหวาน ส้มโอ ส้มตราหรือส้มแซ่ ส้มเกลี้ยง และมะนาว สำหรับส้มเขียวหวานที่ปลูกกันมาก ได้แก่ ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งค่อนข้างอ่อนแอต่อโรครากเน่าและโรคโคนเน่า ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* เป็นเชื้อราที่พบได้ทั่วไปในแหล่งปลูกส้ม เข้าทำลายส้มได้ทุกส่วน และทุกระยะของการเจริญของส้ม เชื้อเจริญได้ดีในดินที่มีสภาพชื้นแฉะ อาการเน่าเป็นแบบค่อย ๆ ลุกลาม และแสดงอาการรุนแรงเมื่อรากถูกทำลายมากมากขึ้น อาการภายนอกที่เห็นได้ก่อนคือใบของส้มจะเหลือง ใบร่วง กิ่งแห้งตายจากปลายกิ่งเข้ามา ต้นโทรม มีอาการคล้ายกับอาการขาดธาตุอาหาร จึงนิยมปลูกส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งโดยการเสียบยอดของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งกับต้นตอส้มบางชนิด โดยการใช้ต้นตอที่เพาะจากเมล็ดพันธุ์ส้มที่ต้านทานโรครากเน่า โคนเน่า เชื้อรา *P. parasitica* ก่อความเสียหายกับพืช หากมีอาการรุนแรงอาจทำให้ส้มยืนต้นตาย มีการใช้สารเคมีในการกำจัดโรคพืชในปริมาณมาก มีผลทำให้ต้นทุนในการผลิตสูงขึ้นและยังส่งผลเสียต่อสุขภาพทั้งของเกษตรกร ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม

เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (arbuscular mycorrhizal fungi หรือ AM fungi) เป็นเชื้อราชนิดหนึ่งที่อาศัยอยู่ร่วมกับรากพืชแบบพึ่งพาอาศัยกัน (mutualistic symbiosis) โดยที่เส้นใยของราจะช่วยเพิ่มพื้นที่ของการดูดซับน้ำและธาตุอาหารในดินให้แก่พืช นอกจากนี้เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซายังช่วยปรับปรุงโครงสร้างของดิน เนื่องจากเส้นใยของเชื้อราจะช่วยทำให้เกิดการจับตัวกันของอนุภาคดิน ทำให้เกิดเม็ดดิน ช่วยทำให้ดินร่วนซุย เหมาะแก่การระบายน้ำและอากาศนอกจากนี้ยังช่วยทำให้พืชต้านทานต่อการเข้าทำลายของจุลินทรีย์ในดินที่เป็นสาเหตุโรคพืชได้มากขึ้นอีกด้วย

งานวิจัยนี้ศึกษาผลของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาต่อการเจริญเติบโตและการยับยั้งโรครากเน่าของต้นกล้าส้มเขียวหวานและกล้าพืชตระกูลส้มชนิดต่างๆ และศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาต่อการเจริญเติบโตของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งที่เสียบยอดอยู่บนต้นตอของพืชตระกูลส้มชนิดต่างๆ ซึ่งผลจากการศึกษานี้จะช่วยลดปัญหาโรครากเน่าที่เกิดกับต้นส้มให้กับเกษตรกร ทำให้ลดต้นทุนในการผลิตจากการใช้ปุ๋ยและสารเคมีในการปลูกและดูแลรักษา ทั้งช่วยลดปัญหาสิ่งแวดล้อมเป็นพิษ และยังเป็นการส่งเสริมการทำเกษตรอินทรีย์

วัตถุประสงค์

- (1) เพื่อศึกษาผลของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาต่อการเจริญเติบโตและการต้านทานเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ของต้นกล้าพืชสกุลส้ม
- (2) เพื่อศึกษาผลของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาและพืชสกุลส้มที่ใช้เป็นต้นตอ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของตาของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอพืชสกุลส้มชนิดต่างๆ

วิธีทดลอง

การทดลองที่ 1 ผลของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาต่อการเจริญเติบโตและการยับยั้งโรครากเน่าของต้นกล้าส้ม

1. การทดลองนี้ประกอบด้วยดำรับการทดลองแบบ factorial ของ 3 ปัจจัย ได้แก่ ส้ม 6 ชนิด (ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้ง ส้มเขียวหวานพันธุ์คัลลิโอพัตรา ส้มลูกผสมพันธุ์ทรอยเลอร์ ส้มลูกผสมพันธุ์สวิงเกิล มะนาวแป้น และส้มโอ) เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (ใส่ และไม่ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา) และเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรครากเน่า (ใส่ และไม่ใส่เชื้อรา *P. parasitica*) การทดลองนี้มีทั้งหมด 4 ซ้ำ

2. นำเมล็ดพันธุ์ของพืชสกุลส้มที่ใช้ในการวิจัย มาลอกเปลือกนอกของเมล็ดออก นำเมล็ดส้มแต่ละชนิดไปเพาะในดินที่ผ่านการนึ่งฆ่าแล้ว ในถาดหลุมเพาะกล้าโดยปลูก 1 เมล็ดต่อหนึ่งหลุม รดน้ำวันละ 1-2 ครั้ง และเมื่อกล้าส้มมีอายุประมาณ 1 เดือน

3. ย้ายต้นกล้าส้มที่มีอายุ 1 เดือน ไปปลูกในการถาดทดลองที่มีดินที่ผ่านการนึ่งฆ่าแล้ว กระถางละ 5 กิโลกรัม สำหรับชุดทดลองที่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา ใส่สปอร์ของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาชชนิดต่างๆที่อยู่ในดินประมาณ 400 สปอร์ ที่ก้นหลุมในกระถางปลูกก่อนวางรากต้นกล้าส้มเพื่อให้เชื้อราอยู่ใกล้รากมากที่สุด จากนั้นกลบดินแล้วรดด้วยน้ำ โดยรดน้ำวันละ 1 ครั้ง เป็นระยะเวลา 2 เดือน

4. หลังจากนั้น ทำการใส่เชื้อรา *P. parasitica* ประมาณ 10^5 สปอร์ต่อกระถาง ที่บริเวณรอบระบบรากของต้นกล้าส้ม ลงในชุดทดลองที่มีเชื้อรา *P. parasitica* และตรวจสอบอาการของโรคที่ระยะเวลาประมาณ 1 เดือน หลังการใส่เชื้อรา *P. parasitica*

การทดลองที่ 2 ผลของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาต่อการเจริญเติบโตของตาส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอส้มชนิดต่าง ๆ

1. การทดลองนี้มีดำรับการทดลองแบบ factorial ของ 2 ปัจจัย ได้แก่ ส้ม 5 ชนิด (ส้มเขียวหวานพันธุ์คัลลิโอพัตรา ส้มลูกผสมพันธุ์ทรอยเลอร์ ส้มลูกผสมพันธุ์สวิงเกิล มะนาวแป้น และส้มโอ) และเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (ใส่ และไม่ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา) การทดลองนี้มีทั้งหมด 4 ซ้ำ

2. ต้นส้มชนิดต่างๆ 5 ชนิดที่ปลูกเตรียมไว้ มีอายุประมาณ 7 เดือน (เพื่อให้ได้ขนาดของลำต้นที่พอจะใช้เป็นต้นตอได้) โดยมีทั้งชุดที่ไม่ใส่ และชุดที่ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาไว้แล้ว จากนั้นจึงทำการเสียบยอดของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้ง (เสียบตาของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้ง) บนต้นตอส้มทั้ง 5 ชนิดดังกล่าว โดยนำกิ่งพันธุ์ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้ง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำ

ต้นประมาณ 0.25-0.30 เซนติเมตร (ซ.ม.) มี 3-5 ตา มาต่อบนต้นต่อด้วยวิธีการเสียบยอดแบบเสียบลิ้ม จากนั้นคลุมด้วยถุงพลาสติกขนาด 20 x 28 นิ้ว มัดปากถุงให้แน่นเพื่อควบคุมความชื้นภายใน ป้องกันลมและน้ำจากภายนอก พรางแสงประมาณ 70 - 80% เป็นเวลา 1 เดือน

3. เมื่อตาของกิ่งพันธุ์ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งเริ่มเจริญ นำถุงพลาสติกที่คลุมออก พรางแสงประมาณ 50% เป็นเวลา 2 สัปดาห์ แล้วให้ได้รับแสงแดดปกติ

4. เมื่อเสียบยอดครบ 3 เดือน ทำการวัดความสูงยอดส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นต่อสัมผัสชนิดต่างๆ ตัดส่วนของกิ่งพันธุ์ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งที่เจริญบนต้นต่อ ซึ่งน้ำหนักแห้งของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้ง ตรวจสอบปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน (Kjedahl method) ฟอสฟอรัส (Dry ashing and molybdovanado-phosphoric acid) โพแทสเซียม (Dry ashing and atomic absorption spectrophotometer method) และแมกนีเซียม (Dry ashing and atomic absorption spectrophotometer method)

5. นำรากของต้นต่อสัมผัสชนิดต่างๆ มาตรวจเปอร์เซ็นต์ของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา ภายใตราก ตรวจนับปริมาณสปอร์ของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา

การตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ colonization ในรากของต้นส้ม

แยกรากตัวอย่างที่ออกจากตัวอย่างดินที่เก็บมา นำรากมาล้างด้วยน้ำประปา และตัดรากเป็นท่อนๆ ยาวประมาณ 1 เซนติเมตร ใส่ตัวอย่างรากในขวดปากกว้าง แล้วเติม 10% KOH ลงในตัวอย่างรากที่ตัดได้ และนำไปนึ่งในหม้อนึ่งอัตโนมัติ ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นล้าง KOH ออกจากรากด้วยน้ำประปา โดยล้างบนตะแกรง จากนั้นใช้ปากคีบน้ำตัวอย่างรากใส่ในขวด แล้วเติมสีย้อม 0.05% trypan blue ใน lactoglycerol แล้วนึ่งในหม้อนึ่งอัตโนมัติที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที สุ่มตัวอย่างรากที่ผ่านการย้อมแล้วนี้ มาอย่างน้อย 30 ชิ้น ต่อหนึ่งตัวอย่างที่เก็บจากสวนส้ม ตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ colonization ของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในราก ภายใต้อกล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบ โดยใช้วิธีการของ McGonigle et al. (1990)

การตรวจสอบสปอร์ของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา

แยกสปอร์จากตัวอย่างดินด้วยวิธีการ wet sieving and 50% sucrose centrifugation method (Brundrett et al., 1996) แล้วเก็บกระดาศกรงที่มีสปอร์ไว้ในจานเลี้ยงเชื้อ กระดาศกรงที่ขีดตารางขนาดประมาณ 7 ตารางมิลลิเมตร นับจำนวนสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสามมิติ นำสปอร์แบบต่างๆที่พบไปทำ wet mount บนกระจกสไลด์ ตรวจสอบลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบ

ผลการทดลอง

ผลการทดลองที่ 1 ผลของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาต่อการเจริญเติบโตและการยับยั้งโรคจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ของต้นกล้วยส้ม

1. ผลของเชื้อราต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้วยส้ม

1.1 การเจริญเติบโตด้านความสูง

เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาช่วยเพิ่มความสูงของต้นกล้วยส้ม จากการทดลองพบว่าที่ระยะเวลา 3 เดือนหลังจากใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (AMF) ช่วยเพิ่มความสูงของต้นกล้วยส้มพันธุ์ทรอยเลอร์ มะนาวแป้น และส้มโออย่างมีนัยสำคัญ ต้นส้มที่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาที่มีความสูงมากที่สุด ได้แก่ ต้นส้มลูกผสมพันธุ์ทรอยเลอร์ (35.0 ซม.) รองลงมาได้แก่ มะนาวแป้น (33.6 ซม.) ส้มลูกผสมพันธุ์สวิงเกิล (28.5 ซม.) และส้มโอ (21.3 ซม.) ตามลำดับ (ตาราง 1) ส่วนส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งและพันธุ์คลิฟตรามีความสูงน้อยที่สุด เชื้อรา *P. parasitica* ไม่มีผลต่อความสูงของต้นกล้วยส้ม

ตาราง 1. ผลของเชื้อราต่อความสูงของต้นกล้วยส้ม

ชนิดต้นกล้วยส้ม	ความสูง (ซ.ม.)			
	Control	<i>P. parasitica</i>	AM fungi	AM fungi + <i>P. parasitica</i>
Sainamphung	12.0de	10.4e	17.1cde	18.0cde
Cleopatra	12.6de	14.4de	17.3cde	20.5bcd
Troyer	17.2cde	21.4bcd	35.0a	26.4abc
Swingle	21.3bcd	18.3cde	28.5ab	21.8bcd
Lime	25.6abc	18.0cde	33.6a	27.6ab
Pomelo	9.9e	15.0de	21.3bcd	20.6bcd

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

1.2 การเจริญเติบโตด้านน้ำหนักของส่วนต้นส้ม

เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาช่วยเพิ่มน้ำหนักของต้นกล้าส้มพันธุ์ทรอยเลอร์ ส้มพันธุ์สวิงเกิล มะนาวแป้น และส้มโออย่างมีนัยสำคัญ แต่ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งและพันธุ์คัสโอฟิตราไม่ตอบสนองต่อเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา มะนาวแป้นที่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซามีน้ำหนักแห้งของส่วนต้นมากที่สุด (7.0 กรัม) รองลงมาได้แก่ ส้มลูกผสมพันธุ์ทรอยเลอร์ (5.0 กรัม) ส้มลูกผสมพันธุ์สวิงเกิล (4.3 กรัม) และส้มโอ (3.3 กรัม) ตามลำดับ (ตาราง 2) ต้นกล้าส้มทุกชนิดที่ไม่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา ทั้งในชุดทดลองที่มีและไม่มี เชื้อรา *P. parasitica* น้ำหนักแห้งของต้นกล้าส้มไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ในขณะที่ชุดทดลองที่ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาและมีเชื้อรา *P. parasitica* น้ำหนักแห้งของส้มพันธุ์สวิงเกิลและมะนาวแป้นมีน้ำหนักแห้งลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาเพียงอย่างเดียว

ตาราง 2. ผลของเชื้อราต่อของน้ำหนักแห้งของส่วนต้นของกล้าส้ม

ชนิดต้นกล้าส้ม	น้ำหนักแห้งของส่วนต้นของกล้าส้ม (กรัม)			
	Control	<i>P. parasitica</i>	AM fungi	AM fungi + <i>P. parasitica</i>
Sainamphung	0.6d	0.6d	0.6d	1.4cd
Cleopatra	0.7d	1.1cd	1.4cd	1.9cd
Troyer	0.8d	0.8d	5.0ab	2.8bcd
Swingle	1.6cd	1.2cd	4.3b	1.4cd
Lime	1.8cd	1.5cd	7.0a	4.8b
Pomelo	0.6d	1.0d	3.3bc	2.3bcd

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

1.3 การเจริญเติบโตด้านน้ำหนักของรากส้ม

เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาช่วยเพิ่มการเจริญของรากของมะนาวแป้นและส้มลูกผสมพันธุ์ทรอยเยอร์ ในขณะที่น้ำหนักแห้งของรากส้มลูกผสมพันธุ์ทรอยเยอร์ที่มีทั้งเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาและเชื้อรา *P. parasitica* มีน้ำหนักลดลง ส่วนน้ำหนักแห้งของรากต้นส้มทุกชนิดที่ไม่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตาราง 3)

ตาราง 3. ผลของเชื้อราต่อของน้ำหนักแห้งของส่วนรากของกล่ำส้ม

ชนิดต้นกล่ำส้ม	น้ำหนักแห้งส่วนของรากส้ม (กรัม)			
	Control	<i>P. parasitica</i>	AM fungi	AM fungi + <i>P. parasitica</i>
Sainamphung	0.4d	0.5d	0.8d	1.6cd
Cleopatra	1.1d	1.1d	1.1d	1.3cd
Troyer	1.4cd	1.0d	3.4ab	1.2cd
Swingle	1.4cd	1.2cd	3.1abc	1.1d
Lime	2.3bcd	2.0bcd	5.0a	3.5ab
Pomelo	1.2cd	1.7bcd	2.3bcd	1.5cd

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

1.4 การเจริญเติบโตด้านน้ำหนักทั้งหมดทั้งส่วนต้นและรากของต้นกล้าส้ม

เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของต้นมะนาวแป้นและต้นส้มลูกผสมพันธุ์ทรอยเลอร์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งมะนาวแป้นมีการตอบสนองต่อเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาได้ดีที่สุด มีน้ำหนักแห้งรวมทั้งต้นมากที่สุด (12.0 กรัม) รองลงมาได้แก่ ส้มลูกผสมพันธุ์ทรอยเลอร์ (8.4 กรัม) ส่วนส้มลูกผสมพันธุ์สวิงเกิลมีการตอบสนองต่อเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาก่อนข้างดี มีน้ำหนักแห้ง 7.4 กรัมโดยรองลงมาจากส้มลูกผสมพันธุ์ทรอยเลอร์ แต่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักแห้งของต้นกลาส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งและพันธุ์คัสโอฟัตรา ส่วนต้นส้มแต่ละชนิดที่ไม่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซามีน้ำหนักแห้งของทั้งต้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่เชื้อรา *P. parasitica* ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสถิติของน้ำหนักต้นส้ม

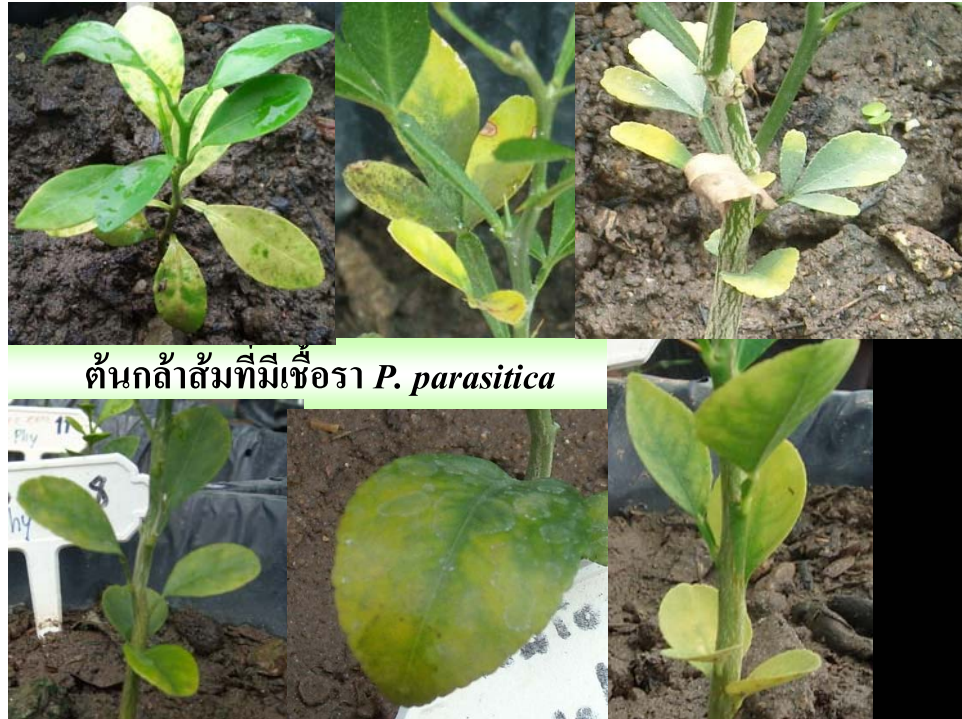
ตาราง 4. ผลของเชื้อราต่อของน้ำหนักแห้งทั้งหมดทั้งส่วนต้นและรากของต้นกลาส้ม

ชนิดต้นกลาส้ม	น้ำหนักแห้งทั้งหมดของต้นส้ม (กรัม)			
	Control	<i>P. parasitica</i>	AM fungi	AM fungi + <i>P. parasitica</i>
Sainamphung	1.0d	1.1d	1.4d	3.0cd
Cleopatra	1.8d	2.2d	2.5cd	3.2cd
Troyer	2.2d	1.8d	8.4ab	4.0bcd
Swingle	3.0cd	2.4cd	7.4abc	2.5cd
Lime	4.1bcd	3.5bcd	12.0a	8.3ab
Pomelo	1.8d	2.7cd	5.6bcd	3.8bcd

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

2. ผลของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาต่อการยับยั้งโรคจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ของต้นกล้วยสั้ม

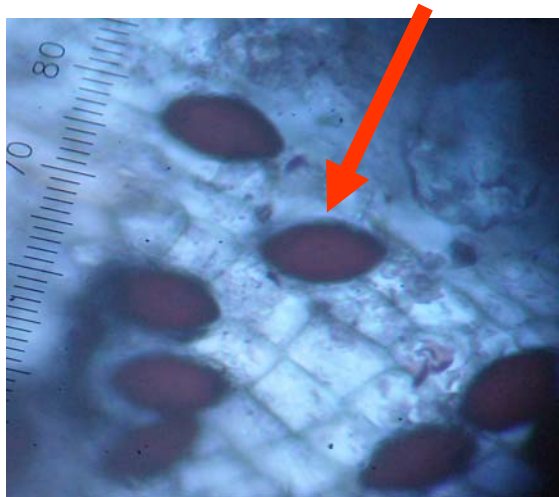
หลังจากการใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาให้กับต้นกล้วยสั้ม ประมาณ 400 สปอร์ต่อกระถาง เป็นระยะเวลา 2 เดือน แล้วทำการใส่เชื้อรา *P. parasitica* ประมาณ 10^5 สปอร์ต่อกระถาง ที่บริเวณรอบระบบรากของต้นกล้วยสั้ม ลงในชุดทดลองที่มีเชื้อรา *P. parasitica* และตรวจสอบอาการของโรคที่ระยะเวลาประมาณ 1 เดือน หลังการใส่เชื้อรา *P. parasitica* ต้นสั้มเริ่มแสดงอาการใบเหลือง ผิวใบดำน บางใบเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและร่วง เมื่อตรวจสอบรากของสั้มบางส่วนมีสีคล้ำและเปื่อยยุ่ยเนื่องจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. parasitica* (ภาพ 1 - ภาพ 4) ตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของสั้มแต่ละต้น โดยนับจำนวนใบที่แสดงอาการเนื่องจากผลของเชื้อรา *P. parasitica* และจำนวนใบที่ปกติไม่แสดงอาการของโรค ผลการทดลองพบว่า ต้นสั้มในชุดการทดลองที่ไม่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาแสดงอาการของโรคมากกว่าต้นสั้มในชุดการทดลองที่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (ตาราง 5) ถึงแม้ว่าสั้มแต่ละชนิดมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไม่แตกต่างกันทางสถิติอย่างชัดเจน แต่มีแนวโน้มที่แสดงให้เห็นว่าสั้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งแสดงอาการของโรคมากที่สุด 17.2% รองลงมาได้แก่ สั้มลูกผสมพันธุ์ทรอยเยอร์ มะนาวแป้น สั้มโอ และสั้มเขียวหวานพันธุ์คลีโอพัตราซึ่งแสดงอาการของโรคน้อยที่สุด แต่ในชุดทดลองที่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาพบว่าสั้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้ง สั้มลูกผสมพันธุ์ทรอยเยอร์ และมะนาวแป้นมีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคลดลงอย่างมีนัยสำคัญ และปริมาณ zoospores ของ *P. parasitica* ในดินในกระถางที่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา น้อยกว่าในกระถางที่ไม่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา และจากการตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ colonization ของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในรากต้นสั้ม (ภาพ 5 - ภาพ 6) ผลการตรวจสอบพบว่ามะนาวแป้นมีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในรากต้นสั้มมากที่สุด (87-89%) โดยเปอร์เซ็นต์ colonization ของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในรากต้นสั้มที่มีและไม่มีเชื้อรา *P. parasitica* มีเปอร์เซ็นต์ที่ใกล้เคียงกัน (ตาราง 6)



ภาพ 1 ต้นกล้าส้มชนิดต่างๆ ที่แสดงอาการของโรคหลังการใส่เชื้อรา *P. parasitica* เป็นระยะเวลา 1 เดือน



ภาพ 2 รากบางส่วนมีสีคล้ำและเปื่อยยุ่ยเนื่องจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. parasitica*

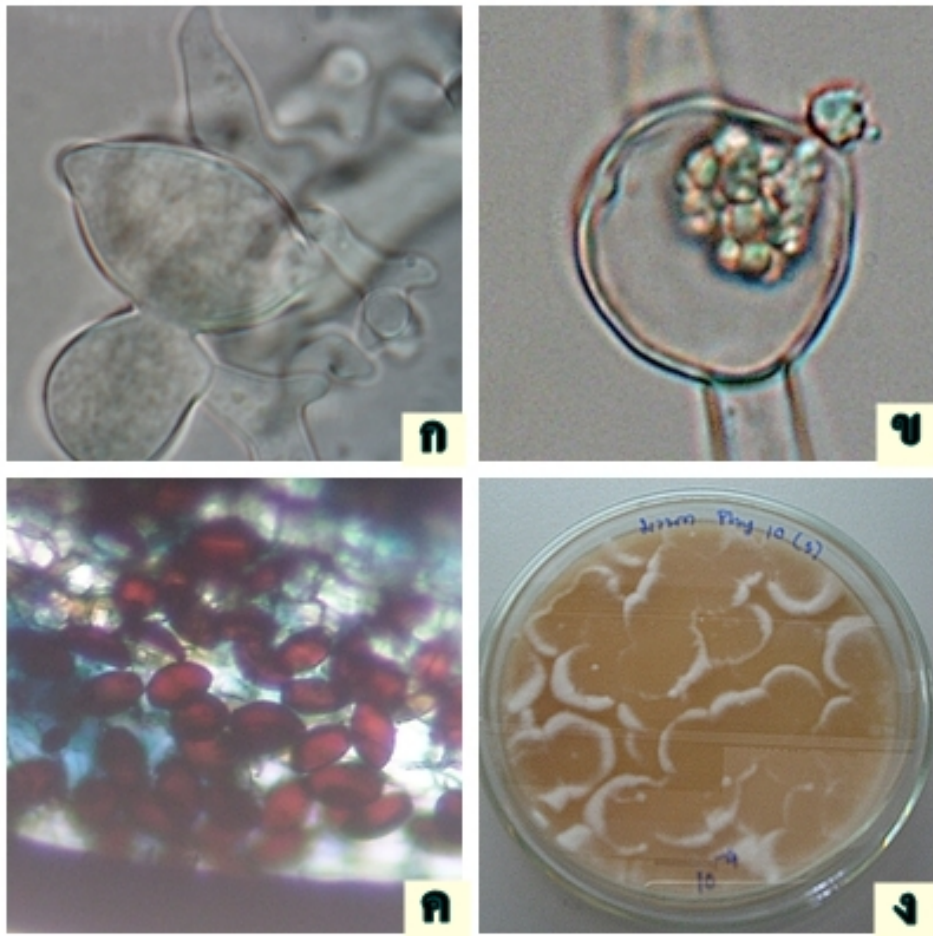


ภาพ 3 Sporangium (zoosporangium) (สปอร์) ของเชื้อรา *P. parasitica* ที่รากของต้นส้ม

ตาราง 5 การเกิดโรคของต้นกล่ำส้ม และปริมาณ zoospores ของเชื้อรา *Phytophthora parasitica*

ชนิดต้นกล่ำส้ม	ความรุนแรงในการเกิดโรค (%)		ปริมาณ zoospores ของ <i>P. parasitica</i> (cfu / ดิน 1 กรัม)	
	<i>P. parasitica</i>	AM fungi + <i>P. parasitica</i>	<i>P. parasitica</i>	AM fungi + <i>P. parasitica</i>
Sainamphung	54.5a	7.0d	7.2×10^5	1.9×10^4
Cleopatra	21.3c	1.3d	6.8×10^5	4.1×10^3
Troyer	50.0a	13.3cd	6.2×10^5	3.2×10^4
Swingle	31.1b	18.4c	2.8×10^5	4.7×10^4
Lime	49.5a	4.8d	2.3×10^6	3.1×10^4
Pomelo	32.7b	6.3d	2.4×10^5	1.5×10^5

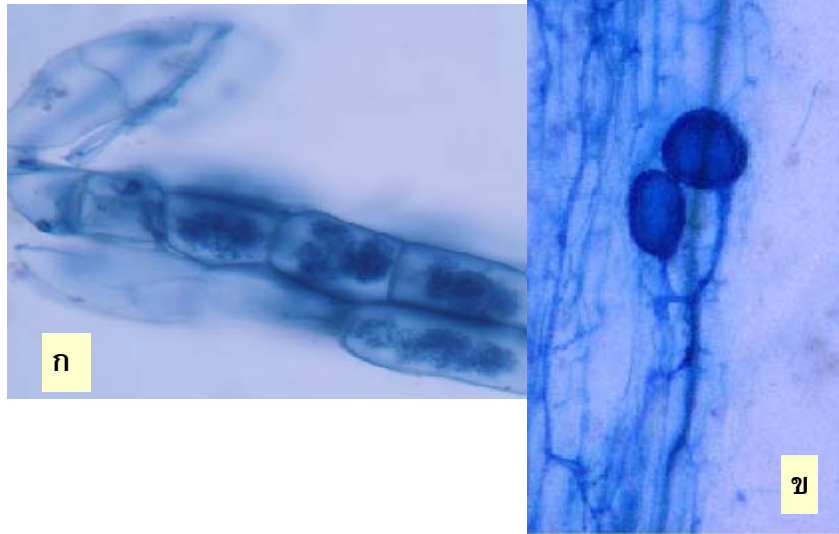
ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)



ภาพ 4 (ก) Zoosporangium ของเชื้อรา *P. parasitica* ภายใต้อกล้องจุลทรรศน์
 (ข) เชื้อรา *P. parasitica* ขณะปล่อย zoospores ออกจาก zoosporangium
 (ค) Zoosporangia ที่พบในราก
 (ง) Colony ของเชื้อรา *P. parasitica* ที่เจริญจาก zoospores บนอาหาร V-8 juice agar

ตาราง 6 เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในรากต้นส้ม (AM fungal colonization)

ชนิดต้นกล้ำส้ม	เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในรากต้นส้ม (%)	
	AM fungi	AM fungi + <i>P. parasitica</i>
Sainamphung	69.1b	71.4b
Cleopatra	47.0c	49.0c
Troyer	64.5b	72.5b
Swingle	74.8ab	83.7a
Lime	86.7a	88.8a
Pomelo	72.1b	71.0b



ภาพ 5 รากส้มที่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา

- (ก) โครงสร้าง arbuscule ของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในเซลล์ชั้น cortex ของราก
 (ข) เส้นใยและ vesicle ของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในราก



ภาพ 6 รากส้มจากชุดทดลองที่ไม่ได้ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา

ผลการทดลองที่ 2 ผลของต้นตอสมันชนิดต่าง ๆ และเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาต่อการเจริญเติบโตของตาส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้ง

1. ผลของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาต่อความสูงของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอสมันชนิดต่าง ๆ

ชนิดของต้นตอมีผลต่อความสูงของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตออย่างมีนัยสำคัญ ต้นตอของส้มลูกผสมพันธุ์สวิงเกิ้ลที่ไม่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซามีผลต่อความสูงของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งน้อยที่สุด ต้นตอมะนาวแป้นมีผลทำให้ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งมีความสูงมากที่สุด และการใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาให้กับต้นตอช่วยเพิ่มความสูงของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้ง (ภาพ 7 - 11) โดยเฉพาะอย่างยิ่งต้นตอส้มลูกผสมพันธุ์สวิงเกิ้ลที่ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซามีความสูงของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอเกือบ 4 เท่าของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอส้มลูกผสมพันธุ์สวิงเกิ้ลที่ไม่ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (ตาราง 7)

ตาราง 7 ความสูงส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอสมันชนิดต่าง ๆ

ชนิดของต้นตอ	ความสูงส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอสมันชนิดต่าง ๆ (ซ.ม.)	
	Control	AM fungi
Cleopatra	15.5bc	18.2bc
Troyer	18.5bc	24.0ab
Swingle	9.3c	34.6a
Lime	25.6ab	36.5a
Pomelo	17.0bc	19.0bc

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)



ภาพ 7 ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นต่อส้มเขียวหวานพันธุ์กลีไคตรา
(ก) ไม่ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (ข) ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา



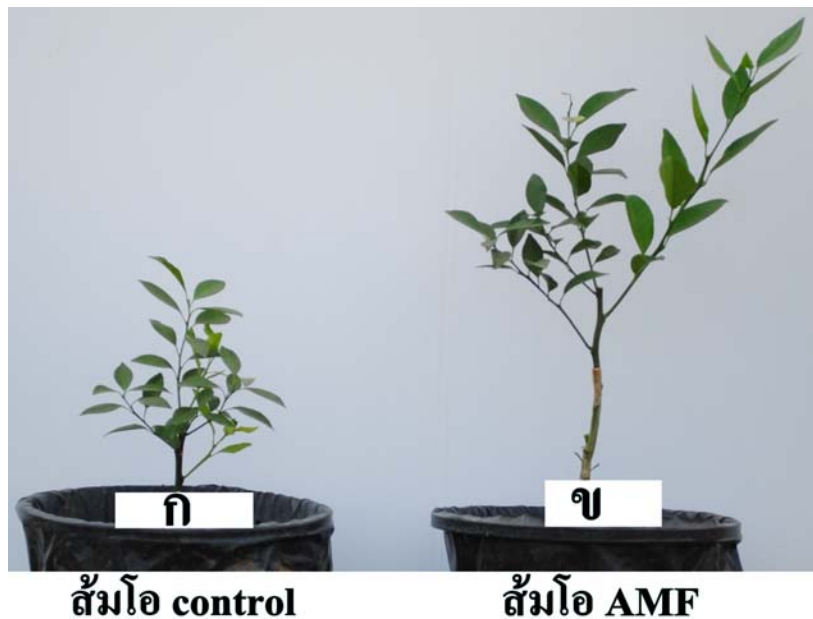
ภาพ 8 ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นต่อส้มลูกผสมพันธุ์ทรอยเออร์
(ก) ไม่ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (ข) ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา



ภาพ 9 ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นต่อสัณฐานผสมพันธุ์สวึงเกิด
(ก) ไม่ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (ข) ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา



ภาพ 10 ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นต่อมะนาวแป้น
(ก) ไม่ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (ข) ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ ไมคอร์ไรซา



ภาพ 11 ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นต่อส้มโอ
(ก) ไม่ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (ข) ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา

2. ผลของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาต่อน้ำหนักแห้งของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นต่อส้มชนิดต่าง ๆ

ชนิดของต้นต่อมีผลต่อน้ำหนักแห้งของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งอย่างมีนัยสำคัญ ต้นต่อมะนาวแป้นทำให้ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งมีการเจริญเติบโตดีที่สุด โดยพบว่ามีน้ำหนักแห้งมากที่สุด เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาที่ใส่ให้กับต้นต่อส้มช่วยเพิ่มน้ำหนักแห้งของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นต่อส้มทุกชนิด ยกเว้นบนต้นต่อส้มส้มเขียวหวานพันธุ์พันธุ์คลีโอพัตรา (ตาราง 8)

ตาราง 8 น้ำหนักแห้งสัสมะเขี้ยวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอสมชนิดต่างๆ

ชนิดของต้นตอ	น้ำหนักแห้งสัสมะเขี้ยวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอ (กรัม)	
	Control	AM fungi
Cleopatra	20.7c	20.7c
Troyer	21.0c	23.7b
Swingle	16.8d	24.3b
Lime	23.0b	26.9a
Pomelo	14.0e	21.0c

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

3. ผลของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาต่อปริมาณธาตุอาหารในสัสมะเขี้ยวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอสมชนิดต่างๆ

3.1 ปริมาณธาตุไนโตรเจนในสัสมะเขี้ยวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอสมชนิดต่างๆ

ในชุดทดลองที่ไม่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา สัสมะเขี้ยวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอสมโอมีปริมาณธาตุไนโตรเจนน้อยที่สุด รองลงมาได้แก่สัสมะเขี้ยวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอสมลูกผสมพันธุ์สวิงเกิ้ล เมื่อเปรียบเทียบกับสัสมะเขี้ยวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอสมอื่นๆ แต่ในชุดทดลองที่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา พบว่าเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาช่วยเพิ่มปริมาณธาตุไนโตรเจนให้กับกิ่งพันธุ์สัสมะเขี้ยวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอสมโอและสัสมลูกผสมพันธุ์สวิงเกิ้ลได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกิ่งพันธุ์สัสมะเขี้ยวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอสมโอที่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา มีปริมาณไนโตรเจนมากกว่าต้นตอที่ไม่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา ประมาณ 2.5 เท่า (ตาราง 9)

ตาราง 9 ปริมาณธาตุไนโตรเจนของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอ

ชนิดของต้นตอ	ปริมาณธาตุไนโตรเจน (มก./ต้น)	
	Control	AM fungi
Cleopatra	496cd	497cd
Troyer	502c	505c
Swingle	433d	631a
Lime	484cd	543bc
Pomelo	231e	571ab

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

3.2 ปริมาณธาตุฟอสฟอรัสในส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอสมชนิดต่าง ๆ

เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาช่วยเพิ่มปริมาณธาตุฟอสฟอรัสในส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอมะนาวแป้น ส้มโอ และส้มลูกผสมพันธุ์สวิงเกิ้ลได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยพบว่าส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอมะนาวแป้นที่ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการดูดธาตุฟอสฟอรัสให้กับกิ่งพันธุ์ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งมากที่สุด (ตาราง 10)

ตาราง 10 ปริมาณธาตุฟอสฟอรัสของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอ

ชนิดของต้นตอ	ปริมาณธาตุฟอสฟอรัส (มก./ต้น)	
	Control	AM fungi
Cleopatra	38bc	31cd
Troyer	32cd	35bc
Swingle	26de	42b
Lime	27de	126a
Pomelo	22e	37bc

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

3.3 ปริมาณธาตุโพแทสเซียมในส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอสมชนิดต่าง ๆ

ชนิดของต้นตอมีประสิทธิภาพในการดูดธาตุอาหารโพแทสเซียมได้แตกต่างกัน ในชุดทดลองที่ไม่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอมะนาวแป้นมีปริมาณโพแทสเซียมมากที่สุด ส่วนส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอของส้มโอมีปริมาณโพแทสเซียมน้อยที่สุด เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการดูดธาตุโพแทสเซียมของต้นตอส้มอย่างมีนัยสำคัญ ยกเว้นส้มส้มเขียวหวานพันธุ์คัสโอสตรา ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอมะนาวแป้นที่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซามีปริมาณโพแทสเซียมสูงที่สุด (ตาราง 11)

ตาราง 11 ปริมาณธาตุโพแทสเซียมของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอ

ชนิดของต้นตอ	ปริมาณธาตุโพแทสเซียม (มก. / ต้น)	
	Control	AM fungi
Cleopatra	360e	345e
Troyer	563bc	503d
Swingle	385e	558cd
Lime	608b	789a
Pomelo	269f	538cd

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

3.4 ปริมาณธาตุแคลเซียมในส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอส้มชนิดต่าง ๆ

เมื่อเปรียบเทียบชนิดของต้นตอในชุดทดลองที่ไม่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา พบว่าต้นตอส้มเขียวหวานพันธุ์คลีโอพัตราช่วยให้กิ่งพันธุ์ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งมีปริมาณของธาตุแคลเซียมมากที่สุด (233 มก./ต้น) ส่วนส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอส้มลูกผสมพันธุ์สวิงเกิ้ลที่ไม่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซามีปริมาณของธาตุแคลเซียมน้อยที่สุด (149 มก./ต้น) แต่ในชุดทดลองที่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา พบว่าปริมาณแคลเซียมของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอส้มเขียวหวานพันธุ์คลีโอพัตราไม่มีความแตกต่างกันระหว่างมีและไม่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา ในขณะที่ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอส้มลูกผสมพันธุ์สวิงเกิ้ลที่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาลกลับมีปริมาณของธาตุแคลเซียมมากที่สุด (253 มก./ต้น) (ตาราง 12)

ตาราง 12 ปริมาณธาตุแคลเซียมของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอ

ชนิดของต้นตอ	ปริมาณธาตุแคลเซียม (มก. / ต้น)	
	Control	AM fungi
Cleopatra	228ab	238ab
Troyer	176de	208bcd
Swingle	149e	253a
Lime	158e	222abc
Pomelo	185cde	207bcd

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

3.5 ปริมาณธาตุแมกนีเซียมในส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอส้มชนิดต่าง ๆ

ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอส้มเขียวหวานพันธุ์คลีโอพัตรา มีธาตุแมกนีเซียมมากกว่าบนต้นตอส้มพันธุ์อื่นๆ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างต้นที่มีและไม่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา ในขณะที่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาช่วยเพิ่มธาตุแมกนีเซียมให้กับส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอส้มพันธุ์อื่นๆอย่างมีนัยสำคัญ (ตาราง 13)

ตาราง 13 ปริมาณธาตุแมกนีเซียมของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอ

ชนิดของต้นตอ	ปริมาณธาตุแมกนีเซียม (มก. / ต้น)	
	Control	AM fungi
Cleopatra	48ab	52a
Troyer	30cd	42b
Swingle	29cd	45b
Lime	30cd	43b
Pomelo	26d	35c

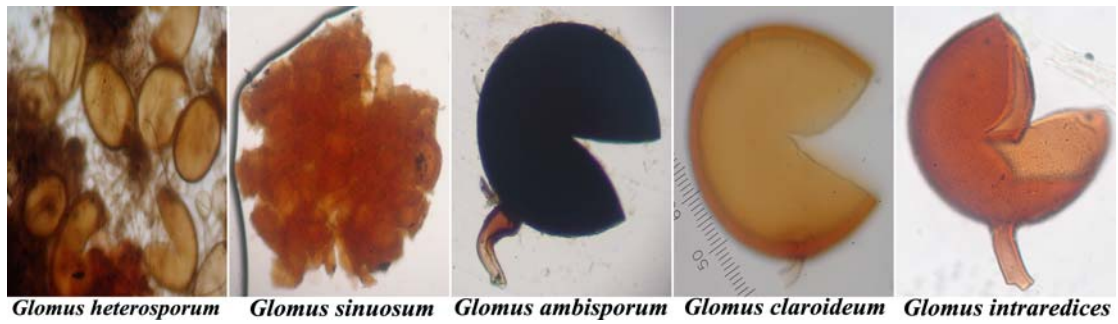
ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

4. ชนิดของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในกระถาง

หลังจากใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาให้กับต้นส้มที่ใช้เป็นต้นตอตลอดระยะเวลาของการทดลองจนเก็บผลการทดลอง ชนิดของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาส่วนใหญ่อยู่ในจีนัส *Glomus* (ภาพ 12) รองลงมาได้แก่จีนัส *Acaulospora* (ภาพ 13) และ *Scutellospora* ตามลำดับ (ตาราง 14)

ตาราง 14 จำนวนสปีชีส์ของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในกระถางทดลอง

จีนัสของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา	จำนวนสปีชีส์ของ เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา
<i>Acaulospora</i>	13
<i>Archaeospora</i>	1
<i>Gigaspora</i>	1
<i>Glomus</i>	25
<i>Scutellospora</i>	4



ภาพ 12 ตัวอย่างชนิดของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในจีนัส *Glomus* ในกระถางทดลอง



ภาพ 13 ตัวอย่างชนิดของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในจีนัส *Acaulospora* ในกระถางทดลอง

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

ผลของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาต่อการยับยั้งโรครากเน่าของต้นกล้าส้ม

ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งที่ใส่เชื้อรา *Phytophthora parasitica* แสดงอาการของโรคมามากที่สุดในชุดทดลองที่ไม่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา ส่วนต้นส้มเขียวหวานพันธุ์คลีโอพัตราเป็นสายพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อการเกิดโรครากเน่าได้ดีกว่าต้นกล้าส้มชนิดอื่นที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Colburn and Graham (2007) ที่รายงานว่า ส้มเขียวหวานพันธุ์คลีโอพัตรามีความสามารถทนทานต่อโรครากเน่าได้ดีกว่าส้มลูกผสมพันธุ์ทรอยเลอร์ พืชแต่ละชนิดมีความสามารถในการต้านทานโรคแต่ละชนิดได้แตกต่างกันจากระบบภูมิคุ้มกันของต้นพืชเอง (immune system) ทั้งจากลักษณะทางกายภาพ สารเคมีที่ป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อ รวมถึงกลไกในการตอบสนองที่ช่วยต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อโรค (Kachroo and kachroo, 2009) นอกจากนี้ยังมีกลไกเหนี่ยวนำให้เกิดการต้านทานในต้นพืช (induced systemic resistance) โดยการกระตุ้นจากการเข้าสู่รากพืช (colonization) โดยจุลินทรีย์บริเวณรากพืช (rhizosphere) ที่ไม่ได้เป็นสาเหตุของโรค (Van Loon et al., 1998)

การวิจัยครั้งนี้พบว่าเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาช่วยยับยั้งการเกิดโรครากเน่าที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *P. parasitica* ของต้นกล้าส้ม โดยส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งและมะนาวแป้นที่ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซามีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคลดลงมากเมื่อเปรียบเทียบกับชุดที่ไม่ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา และมีปริมาณ zoospores ของเชื้อรา *P. parasitica* ในดินลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดที่ไม่ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา โดยเฉพาะดินในกระถางปลูกส้มเขียวหวานพันธุ์คลีโอพัตราและมะนาวแป้นที่ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซามีปริมาณ zoospores ของเชื้อรา *P. parasitica* ลดลงอย่างชัดเจนมากกว่า 100 เท่า เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์ root colonization ของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในรากของต้นมะนาวแป้นมีเปอร์เซ็นต์สูงที่สุด มีผลช่วยให้ต้นกล้าส้มมีความสามารถทนทานต่อโรครากเน่าได้มากขึ้นจากการที่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาช่วยส่งเสริมให้พืชมีความแข็งแรง ดูดซับธาตุฟอสฟอรัสให้กับพืชอาศัยได้มาก ฟอสฟอรัสเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของโครงสร้างหลักของสารหลายชนิดในพืชที่เกี่ยวข้องในกระบวนการเมแทบอลิซึมของพืช ส่งผลให้การเกิดโรครากเน่าลดลงเมื่อใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาให้กับต้นกล้าส้ม Davis and Menge (1980) ศึกษาผลของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในสปีชีส์ *Glomus fasciculatum* ต่อเชื้อรา *Phytophthora* spp. ในส้ม ผลการทดลองพบว่าในดินที่มีปริมาณฟอสฟอรัสต่ำ รากส้มที่มีเชื้อรา *Glomus fasciculatum* จะเกิดความเสียหายน้อยกว่ารากส้มที่ไม่มีเชื้อรา *G. fasciculatum* แต่ถ้าดินมีปริมาณฟอสฟอรัสสูงจะไม่มี ความแตกต่างกันระหว่างต้นส้มที่มีและไม่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา การเข้าสู่รากพืชของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา นอกจากจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการดูดน้ำและแร่ธาตุให้กับพืชอาศัยแล้ว ยังช่วยกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองของพืชให้เกิดการต้านทานต่อโรคพืชได้ด้วย (Smith and Read, 2008)

ผลของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าส้ม

การศึกษาผลของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าส้มที่ปลูกโดยใช้เมล็ดทั้ง 6 ชนิด ได้แก่ ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้ง ส้มเขียวหวานพันธุ์คัสโอฟัตรา ส้มลูกผสมพันธุ์ทรอยเลอร์ ส้มลูกผสมพันธุ์สวิงเกิ้ล มะนาวแป้น และส้มโอ ผลการเจริญเติบโตภายหลังใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาเป็นเวลา 3 เดือนพบว่าต้นกล้าส้มที่ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาช่วยเพิ่มน้ำหนักแห้งของ มะนาวแป้น ส้มลูกผสมพันธุ์ทรอยเลอร์ ส้มลูกผสมพันธุ์สวิงเกิ้ล และส้มโอ แต่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาไม่มีผลต่อน้ำหนักแห้งของต้นกล้าส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งและพันธุ์คัสโอฟัตรา ส่วนความสูงของต้นกล้าเป็นเพียงส่วนหนึ่งในการตรวจสอบการเจริญเติบโต เนื่องมาจากการเจริญเติบโตสามารถเกิดการแตกกิ่งทางด้านข้าง เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาช่วยเพิ่มน้ำหนักแห้งลำต้น น้ำหนักแห้งราก และน้ำหนักแห้งทั้งหมดของมะนาวแป้นและส้มลูกผสมพันธุ์ทรอยเลอร์ ให้เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งมะนาวแป้นมีการตอบสนองต่อเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาได้ดีที่สุด เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาช่วยเพิ่มการเจริญเติบโต ทั้งน้ำหนักแห้งของต้นและราก การมีรากมากมีผลทำให้สามารถดูดธาตุอาหารได้มาก นอกจากนี้ยังมีเปอร์เซ็นต์ root colonization ของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในรากของต้นมะนาวแป้นมีเปอร์เซ็นต์สูงที่สุด (87-89%) ทำให้เพิ่มประสิทธิภาพในการดูดธาตุอาหารของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาให้แก่มะนาวได้มากยิ่งขึ้น

ผลของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาต่อการเจริญเติบโตของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอ

จากการเสียบยอดส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอส้มที่มีอายุประมาณ 7 เดือนจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ ส้มเขียวหวานพันธุ์คัสโอฟัตรา ส้มลูกผสมพันธุ์ทรอยเลอร์ ส้มลูกผสมพันธุ์สวิงเกิ้ล มะนาวแป้น และส้มโอ เป็นเวลา 3 เดือน โดยมะนาวแป้นเป็นต้นตอที่ทำให้การเจริญเติบโตในด้านความสูงของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งได้มากที่สุด และการทดลองนี้พบว่า ความสูงของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอส้มลูกผสมพันธุ์สวิงเกิ้ลที่ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซามีการเจริญเติบโตในด้านความสูงเพิ่มขึ้นแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา อย่างไรก็ตามการวัดความสูงเพียงอย่างเดียว นั้น ไม่สามารถสรุปผลต้นตอที่เหมาะสมได้ เนื่องจากการเจริญเติบโตโดยมีการแตกกิ่งด้านข้างด้วย ซึ่งต้องพิจารณาน้ำหนักแห้งของกิ่งพันธุ์ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอส้ม พบว่าการใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาให้กับต้นตอ มีผลทำให้กิ่งพันธุ์ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอมีน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ยกเว้นกิ่งพันธุ์ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอส้มเขียวหวานพันธุ์คัสโอฟัตรา นอกจากจะพิจารณาจากความสูงและน้ำหนักแห้งแล้ว การประสานรอยแผลที่เกิดจากการต่อกิ่งก็มีอิทธิพลต่อการเจริญของกิ่งพันธุ์บนต้นตอเช่นเดียวกัน ซึ่งหากการประสานรอยแผลเป็นไปด้วยดี กิ่งพันธุ์ก็จะ

ได้รับน้ำและอาหารจากต้นตอ ดังนั้นการตรวจสอบปริมาณธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตจึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่จะใช้พิจารณาต้นตอที่เหมาะสมได้

ผลของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาต่อปริมาณธาตุอาหารในใบส้ม

จากการวิเคราะห์ธาตุอาหารในโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียมและแมกนีเซียมของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอส้มทั้ง 5 ชนิด เพื่อตรวจประสิทธิภาพในการลำเลียงธาตุอาหารจากต้นตอสู่กิ่งพันธุ์ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้ง สำหรับการทดลองครั้งนี้การใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาให้กับต้นตอส้มโดยเฉพาะต้นตอส้มลูกผสมพันธุ์สวิงเกิ้ล และต้นตอส้มโอ ซึ่งช่วยเพิ่มปริมาณไนโตรเจนในส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งได้มากขึ้นแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับต้นตอดังกล่าวที่ไม่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา เส้นใยของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาที่อยู่นอกรากช่วยในการดูดธาตุอาหารจากดินเข้าสู่รากพืช (Frey and Schuepp, 1993) ไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของโปรตีน เอนไซม์ กรดนิวคลีอิก วิตามิน และคลอโรฟิลล์ ปริมาณฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมในส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอมะนาวที่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา มีปริมาณสูงกว่าในยอดส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอส้มชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของโปรตีน กรดนิวคลีอิก ฟอสโฟลิพิด (phospholipid) และ ATP (Adenosine triphosphate) ปริมาณโพแทสเซียมของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอมะนาวแป้นมีปริมาณมากบนต้นตอส้มชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ดุสิต (2535) กล่าวว่าส้มที่อยู่ในระยะแตกใบอ่อนต้องการโพแทสเซียมในปริมาณสูง เนื่องจากโพแทสเซียมมีบทบาทในการเคลื่อนย้ายน้ำตาลและช่วยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ ตลอดจนควบคุมการทำงานของธาตุต่างๆ เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซามีบทบาทเด่นในการช่วยเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสให้แก่พืช และอาจช่วยดูดธาตุอาหารอื่นๆหรืออาจไม่ช่วยในการดูดธาตุอาหารอื่นๆขึ้นกับชนิดของพืชอาศัยและสภาพแวดล้อม (Marschner and Dell, 1994; Taylor and Harrier, 2001; Youpensuk et al., 2006) เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาช่วยเพิ่มปริมาณแมกนีเซียมให้กับส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอเมื่อเทียบกับชุดที่ไม่ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา ยกเว้นส้มเขียวหวานพันธุ์คลีโอพัตราซึ่งมีปริมาณแมกนีเซียมสูงทั้งที่ใส่และไม่ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา ธาตุแมกนีเซียมเป็นองค์ประกอบของคลอโรฟิลล์ รวมทั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์แสงและการหายใจ ปริมาณแคลเซียมในส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอของส้มลูกผสมพันธุ์สวิงเกิ้ลและมะนาวแป้นที่ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซามีปริมาณแคลเซียมเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดที่ไม่ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาอย่างมีนัยสำคัญ แต่ต้นตอส้มเขียวหวานพันธุ์คลีโอพัตรา ต้นตอส้มลูกผสมพันธุ์ทรอยเลอร์ และต้นตอส้มโอมีปริมาณแคลเซียมของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งในชุดที่ใส่และไม่ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาไม่แตกต่างกันทางสถิติ แคลเซียมช่วยให้เซลล์พืชคงรูปและเป็นส่วนประกอบของ calcium pectate ในส่วนของ middle lamella ที่ช่วยเชื่อมเซลล์ติดกัน และช่วยในการเจริญของเนื้อเยื่อ นอกจากนี้แคลเซียมในไซโทพลาซึมในเซลล์ (cytosolic free Ca^{2+}) ยังเป็น

ส่วนประกอบของ signal transduction pathways ที่เกี่ยวข้องในปฏิกิริยาการตอบสนองของพืชต่อเชื้อโรค ช่วยกระตุ้นให้พืชเกิดการต้านทานโรค (Scheel, 1998; Sanders et al., 2002; Strange, 2003)

สรุปผลการทดลอง

เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของมะนาวแป้นได้ดีที่สุด ในขณะที่ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งและส้มเขียวหวานพันธุ์พันธุ์คลีโอพัตรามีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด ส่วนต้นกล้าที่ไม่ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา ต้นกล้าส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งอ่อนแอต่อเชื้อรา *P. parasitica* มากที่สุด ส่วนส้มเขียวหวานพันธุ์พันธุ์คลีโอพัตรามีความต้านทานโรคมามากที่สุด เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาช่วยเพิ่มความต้านทานโรครากเน่า และช่วยลดปริมาณ zoospores ของเชื้อรา *P. parasitica* ในกระถางทดลอง

การเสียบยอดของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอสมชนิดต่างๆ พบว่าต้นส้มที่ใช้เป็นต้นตอทุกชนิดที่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาช่วยเพิ่มน้ำหนักแห้งของส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งเมื่อเปรียบเทียบกับต้นตอที่ไม่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา ยกเว้นบนต้นตอของส้มพันธุ์คลีโอพัตรา ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอมะนาวแป้นมีการเจริญเติบโตดีที่สุดทั้งที่ใส่และไม่ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา ต้นตอมะนาวแป้นที่ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาช่วยเพิ่มการสะสมปริมาณฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมในส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งได้ดีที่สุด ส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งบนต้นตอสมลูกผสมพันธุ์สวิงเกิ้ลที่ใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา มีปริมาณไนโตรเจนและแคลเซียมมากที่สุด

ข้อเสนอแนะ มะนาวแป้นเป็นอีกตัวเลือกที่น่าสนใจ ที่จะนำมาใช้เป็นต้นตอให้กับส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้ง เนื่องจากเป็นพืชอาศัยที่ตอบสนองต่อเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาได้ดีทั้งช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและยับยั้งโรครากเน่าของต้นตอที่เกิดจากเชื้อรา *P. parasitica* อีกทั้งเมล็ดพันธุ์ก็หาได้ง่ายและราคาถูก เมื่อเปรียบเทียบกับต้นตอของสมลูกผสมพันธุ์ทรอยเลอร์ที่เกษตรกรชาวสวนส้มนิยมใช้เป็นต้นตอให้กับส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้ง ซึ่งเมล็ดพันธุ์หาซื้อได้ยากและมีราคาแพง

เอกสารอ้างอิง

ดุสิต มานะจุติ. 2535. ปฐพีวิทยาทั่วไป ภาควิชาปฐพีศาสตร์และอนุรักษศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่.

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

Colburn, G.C. and Graham, J.H. 2007. Protection of Citrus Rootstocks Against *Phytophthora* spp. with a hypovirulent isolate of *Phytophthora nicotianae*. Phytopathol. 97: 958-963.

Davis, R.M. and Menge, J.A. 1980. Influence of *Glomus fasciculatus* and soil phosphorus on *Phytophthora* root rot of Citrus. Phytopathol. 70: 447-452.

Frey, B. and Schuepp, H. 1993. Acquisition of nitrogen by external hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Zae mays* L. New Phytology. 124:221-230.

Kachroo, A. and Kachroo, P. 2009. Fatty acid–derived signals in plant defense. Annu. Rev. Phytopathol. 47: 153–76.

Marschner, H. and Dell, B. 1994. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. Plant Soil. 159: 89-102.

McGonigle, T.P., Evans, D.G. and Miller, M.H. 1990. Effect of degree of soil disturbance on mycorrhizal colonization and phosphorus absorption by maize in growth chamber and field experiment. New Phytol. 116: 629-636.

Sanders, D., Pelloux, J., Brownlee, C. and Harper, J.F. 2002. Calcium at the crossroads of signaling. Plant Cell. 14: 401-417.

Scheel, D. 1998. Resistance response physiology and signal transduction. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 1: 305-310.

Smith, S.E. and Read, D.J. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press. London.

Strange, R. N. 2003. *Introduction to Plant Pathology*. John Wiley & Sons Ltd., London.

Taylor, J. and Harrier, L.A. 2001. A comparison of development and mineral nutrition of micropropagated *Fragaria x ananassa* cv. Elvira (strawberry) when colonised by nine species of arbuscular mycorrhizal fungi. *Appl. Soil Ecol.* 18: 205-215.

Van Loon, L.C., Bakker P.A. and Pieterse, C.M. 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 36: 453–83.

Youpensuk S., Lordkaew, S. and Rerkasem, B. 2006. Comparing the effect of arbuscular mycorrhizal fungi on upland rice and *Macaranga denticulata* in soil with different level of acidity. *Science Asia* 32: 121-126.

ภาคผนวก

Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกว.

1. ผลงานได้ส่งตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ (อยู่ระหว่างการพิจารณาในการตีพิมพ์)
2. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์
 - ในเชิงวิชาการ โดยใช้ในการพัฒนาการเรียนการสอน และสร้างนักวิจัยใหม่ที่สามารถทำงานวิจัยเกี่ยวกับการนำเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาไปใช้ประโยชน์
 - สามารถนำผลงานวิจัยนี้ไปใช้ประโยชน์ในการปลูกส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้ง และลดความรุนแรงของโรคจากการใช้เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา และการมะนาวแป้นนำมาใช้เป็นต้นตอให้กับส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้ง เพื่อเป็นทางเลือกในการลดต้นทุนจากการใช้เมล็ดพันธุ์ผสมปลูกผสมเป็นต้นตอ

Manuscript ที่ใช้ในการส่งตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ

Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on resistance to *Phytophthora parasitica* of *Citrus* spp. and on growth of tangerine variety Sainamphung scions on rootstocks of *Citrus* spp.

Somchit Youpensuk^{1*}, Wonwinee Piwpueak¹, Benjavan Rerkasem²

¹Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

²Department of Plant Science and natural resources, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University Chiang Mai 50200, Thailand

Abstract

Tangerine variety Sainamphung is generally grown by grafting on rootstocks of other variety or other citrus species due to it is susceptible to root rot disease. The objectives of this study are (1) to investigate the effects of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi on resistance to *Phytophthora parasitica* and the growth of seedlings of *Citrus* spp. and (2) to study the effect of AM fungi and rootstocks of *Citrus* spp. on growth of the scions of tangerine variety Sainamphung. The citrus species used in this experiment were Common tangerine variety Sainamphung (*Citrus reticulata*) and Cleopatra tangerine (*C. reshni*), lime (*C. aurantifolia*), pomelo (*C. grandis*), Swingle citrumelo (*Citrus paradisi*×*Poncirus trifoliata*) and Troyer citrange (*Citrus sinensis*×*Poncirus trifoliata*).

The results showed that AM fungi reduced disease severity of the citrus plants about 2-16 times of the non-mycorrhizal plants. Citrus plants without AM fungi showed that tangerine variety Sainamphung was the most susceptible to *P. parasitica* followed by Troyer citrange, lime, pomelo and Swingle citrumelo, respectively. Whereas, Cleopatra tangerine was the most resistant to *P. parasitica*. AM fungi improved the highest growth of lime seedling. The effect of AM fungi on the growth of tangerine variety Sainamphung scions which grafting on the citrus rootstocks of Cleopatra tangerine, Troyer citrange, Swingle citrumelo, lime and pomelo was investigated for three months. It was found that the scions of tangerine variety Sainamphung grew best and accumulated the highest phosphorus and potassium contents on the lime rootstock inoculated with AM fungi.

Keywords: *Citrus* spp., rootstock, arbuscular mycorrhizal fungi, root rot disease

Introduction

Tangerine or Common Mandarin (*Citrus reticulata*) has many varieties in the world. Tangerine variety Sainumphung is widely grown in many parts of Thailand. It is a delicious variety but it is susceptible to root rot disease. *Phytophthora parasitica* is the most important soilborne pathogen of the disease. The suitable condition for growth of the fungus is very moist soil. The disease is gradually developed causing brown necrosis on the roots. The visible symptoms of the disease are yellow blight and die of leaves. Therefore, tangerine variety Sainumphung is generally grown by grafting on rootstocks of other citrus species such as Cleopatra Mandarin (*C. reshni*), Swingle citrumelo (*Citrus paradisi*×*Poncirus trifoliata*) and Troyer citrange (*Citrus sinensis*×*Poncirus trifoliata*). Arbuscular mycorrhizal (AM) fungi are mutualistic associations with plant roots. They

enhance mineral uptake through plant roots and reduce disease severity caused by fungal soilborne pathogens (Trotta et al., 1996; Akkopru and Demir, 2006; Ozgonen and Erkilic, 2007). Therefore, AM fungi are an important part of sustainable agricultural systems that have low inputs of chemical fertilizers and pesticides. In this research, we are interested in investigating *Citrus* spp. to be used as rootstocks of tangerine variety Sainamphung, especially for their potential to utilize benefits from association with the AM fungi and resistance to the root rot fungus (*P. parasitica*). The objectives of this research are (1) to investigate the effects of AM fungi on the growth and resistance to *P. parasitica* of seedlings of *Citrus* spp. and (2) to study the effect of AM fungi and *Citrus* spp. as rootstocks on the growth of the scion, tangerine variety Sainamphung.

Materials and Methods

Experiment 1. Effects of AM fungi on growth and resistance to *P. parasitica* of citrus seedlings

The citrus species used in this experiment were tangerine variety Sainamphung (*Citrus reticulata*) Cleopatra tangerine (*C. reshni*), lime (*C. aurantifolia*), pomelo (*C. grandis*), Swingle citrumelo (*Citrus paradisi*×*Poncirus trifoliata*) and Troyer citrange (*Citrus sinensis*×*Poncirus trifoliata*). The factorial of this experiment consisted of six citrus species, two treatments of AM inoculation (inoculated and non-inoculated treatments) and two treatments of *P. parasitica* inoculation, (inoculated and non-inoculated treatments) with four replications. Seeds of the *Citrus* spp. used in this experiment were peel off their outer seed coats and the seeds were grown in mixture of sterilized soil and sand (1:1, v/v) in plastic tray. One month old seedlings were

transplanted with one plant per pot which contained with mixture of five kg of mixture sterilized clay loam soil and leaf litter (2:1, v/v). For AM fungal inoculated treatment, about 400 spores of mixed species of AM fungi in soil inoculum were placed under the roots of the seedlings. The plants were watered once a day. Two months after AM fungal inoculation, about 10^5 zoospores of *P. parasitica* were inoculated around the root zone of the seedlings.

Evaluation the effect of *P. parasitica* on the citrus plants

Symptom of root rot disease of citrus seedlings was evaluated about one month after *P. parasitica* inoculation. The disease severity based on levels of visible symptom of the disease that showed yellow and brown leaves per entire plant. Soil samples of the *Citrus* spp. were sampling to evaluate zoospores in the pot experiment by using both haemocytometer and spread plate technique for calculation of zoospore numbers.

Effect of AM fungi on the citrus plants

Plant shoot and root dry weight was measured to determine the effect of AM fungi on the growth of the citrus seedlings. In the AM inoculate treatments, roots of the citrus were cleared in 10% KOH, stained with 0.05% trypan blue at 121°C for 15 minutes and determined of AM root colonization as described by Brundrette et al. (1996).

Experiment 2. Effect of AM fungi and citrus species as rootstocks on the growth of the scion, tangerine variety Sainamphung.

Seven-month old plants of five citrus species with and without AM fungal inoculation used as rootstocks were Cleopatra tangerine, lime, pomelo, Swingle citrumelo

and Troyer citrange in four replications. The plants were grown in the same condition and the same time as the above experiment. Scions of tangerine variety Sainamphung from a garden in Chiang Mai province, northern of Thailand were grafted on the citrus rootstocks. Three months after grafting, dry weight, nitrogen, phosphorus, potassium, calcium and magnesium contents of the scions were evaluated.

Results

Effects of AM fungi on resistance to *P. parasitica* of citrus seedlings

One month after inoculation with *P. parasitica*, the citrus seedling showed symptoms of some leaves with yellow, dull, brown and fell down. Disease incidence was calculated according from visible symptoms. The results showed that AM fungi reduced disease severity of the citrus plants about 2-16 times of the non-mycorrhizal plants (Table 1). Citrus plants without AM fungi showed that tangerine variety Sainamphung was the most susceptible to *P. parasitica*, it had the highest disease severity followed by Troyer citrange, lime, pomelo and Swingle citrumelo. Whereas, Cleopatra tangerine was the most resistant to *P. parasitica*, especially in Cleopatra tangerine inoculated with AM fungi disease severity was lower than the non-mycorrhizal plant about 16 times.

Zoospores of *P. parasitica* in soil from the pots inoculated with AM fungi were lower than from the pots without AM fungi. The amount of zoospores of *P. parasitica* in the soil had high correlation with disease severity of the citrus plants (Figure 1). Colonization by AM fungi in the citrus roots varied from 47.0% to 88.8% (Table 2). Percentage of AM colonization in the citrus roots with *P. parasitica* was similar to the citrus roots without *P. parasitica*. Lime had the highest AM colonization roots about 88%.

In the other citrus roots had AM colonization about 70% except in Cleopatra tangerine roots that AM colonization was about 48%. However, AM fungi still had effect on reduction of the disease severity as the above mention.

Effects of AM fungi and *P. parasitica* on growth of citrus seedlings

In the non-mycorrhizal seedlings with and without *P. parasitica*, shoot dry weight of all citrus species did not have significant difference. Whereas, AM fungi significantly increased shoot dry weight of Troyer citrange, Swingle citrumelo, lime and pomelo, except tangerine variety Sainamphung and Cleopatra tangerine. The citrus plants inoculated with AM fungi, lime was the highest shoot dry weight followed by Troyer citrange. In the mycorrhizal plants with *P. parasitica*, shoot dry weight of Troyer citrange, Swingle citrumelo, lime and pomelo was lower than the mycorrhizal plants without *P. parasitica*, especially in the Swingle citrumelo and lime plants that had shoot dry weight significantly lower than the plants with *P. parasitica* (Table 3).

Root dry weight of non-mycorrhizal seedlings with and without *P. parasitica* did not have significantly difference. AM fungi significantly increased root dry weight of Troyer citrange, Swingle citrumelo and lime about 2 times compared with the non-mycorrhizal plants. Root dry weight of lime with AM fungi was highest followed by Troyer citrange and Swingle citrumelo, but root dry weight of Troyer citrange and Swingle citrumelo with AM fungi and *P. parasitica* was very low (Table 4).

Effect of AM fungi and citrus species as rootstocks on growth of the tangerine variety Sainamphung scions

In the treatment without AM fungi, height of the scion of tangerine variety Sainamphung was lowest on the rootstock of Swingle citrumelo and highest on the rootstock of lime. However, AM fungi significantly increased height of the scion on rootstock of Swingle citrumelo nearly 4 times of the scion on the rootstock without AM fungi, and it was not significant difference with the scion on rootstock of lime with AM fungi. AM fungi increased dry weight of the scions on lime, pomelo, Swingle citrumelo and Troyer citrange rootstocks except Cleopatra tangerine. Dry weight of the scion of tangerine variety Sainamphung was highest on the lime rootstock (Table 5).

Effect of AM fungi and citrus species as rootstocks on nutrient contents of the tangerine variety Sainamphung scions

In the Table 6, the results showed that AM fungi did not have effect on N, P, K, Ca and Mg contents of the scions on the Cleopatra tangerine rootstocks. However, Cleopatra tangerine rootstock had efficient uptake Ca and Mg compared with the other citrus rootstocks. AM fungi significantly increased most of the nutrient contents of the tangerine variety Sainamphung scions on the Swingle citrumelo, lime and pomelo rootstocks. Nitrogen contents in the scions on the Swingle citrumelo and pomelo rootstocks with AM fungi significantly higher than both of the rootstocks without AM fungi. Especially, in the scion on the pomelo rootstock which had N content about 2.5 times of the pomelo rootstock without AM fungi. Phosphorus content in the scion on the lime rootstock inoculated with AM fungi was more than 4 times of the non-inoculated one. The scions of tangerine variety Sainamphung accumulated the highest phosphorus and potassium contents on the lime rootstock inoculated with AM fungi.

Discussion

Although, AM fungi are obligate symbiosis of most terrestrial plant species (Smith and Read, 2008). However, different plant species had different responses to AM fungi (Requena, et al., 2001; Jifon et al., 2002; Youpensuk, 2006). Seedlings of Troyer citrange, Swingle citrumelo, lime and pomelo had shoot dry weight higher than the non-inoculated ones. Whereas, the citrus plants inoculated with AM fungi and *P. parasitica*, only lime seedlings had shoot dry weight significantly higher than the non-inoculated ones. However, shoot dry weight of lime inoculated with AM fungi and *P. parasitica* was lower than the one inoculated with only AM fungi because of the competition effect between AM fungi and *P. parasitica*. Lime was the best response to AM fungi it had the highest both shoot and root dry weight compared with the other citrus plants. The more amount of roots helped increasing of nutrient uptake for the growth of the shoots. Moreover, root colonization of AM fungi in lime was also very high about 87-89% causing of increasing efficiency of nutrient uptake to the host.

Plant species and varieties are also different resistance to plant pathogens. The results of this experiment showed that tangerine variety Sainamphung was most susceptible of the citrus plants without AM fungi and Cleopatra tangerine was the most resistant to *P. parasitica*. Colburn and Graham (2007) reported that Cleopatra tangerine rootstock was more resistant to root rot disease than Troyer citrange rootstock. In this experiment, AM fungi significantly reduced disease severity caused by *P. parasitica* of all the citrus plants. It is known that plants have their own immune system including physical and chemical barriers and several active mechanisms (Kachroo and kachroo, 2009). Interactions between plants and microbes result in plant disease or symbiosis. Plants detect both pathogenic and symbiotic microbes by a similar set of genes (Zhao and Qi, 2008).

Induced systemic resistance can be activated upon colonization of roots by nonpathogenic microbes (Van Loon et al., 1998). Many studies indicated that root colonization of AM fungi could reduce disease severity of pathogens via several mechanisms including induced disease resistance, increasing the nutrient uptake and plant growth (Sundaresan et al., 1993; Trotta et al., 1996; Ozgonen and Erkilic, 2007; Kapoor, 2008). Amount of zoospores of *P. parasitica* in pot experiment inoculated with AM fungi were lower than in the one without AM fungi. Especially in the pots of Cleopatra tangerine and lime, zoospores of *P. parasitica* in the pot inoculated with AM fungi were decreased more than 100 times of the pots without AM fungi. Reduction of zoospores of *P. parasitica* in the pots may due to the competition with AM fungi and resistance of the citrus plants inoculated with AM fungi.

Three months after grafting the scions of tangerine variety Sainamphung on the seven-month old seedlings of Cleopatra tangerine, lime, pomelo, Swingle citrumelo and Troyer citrange root stocks, the results showed that AM fungi significantly increased height of the scions of tangerine variety Sainamphung only on the root stock of Swingle citrumelo. Whereas, AM fungi significantly increased shoot dry weight of the scions on lime, pomelo, Swingle citrumelo and Troyer citrange root stocks except Cleopatra tangerine rootstock. The only height did not indicate the growth of plants because the plants can grow by increasing height and branches. The scion of tangerine variety Sainamphung grew best on the root stock of lime with AM fungi. It had the highest both height and shoot dry weight on the lime rootstock inoculated with AM fungi. AM fungi and citrus rootstocks also had different effect on accumulation of mineral contents of in the tangerine variety Sainamphung scions. AM fungi did not have significant effect on N, P, K, Ca and Mg contents of the tangerine variety Sainamphung scions on the rootstocks

of Cleopatra tangerine. In this study Cleopatra tangerine had root colonization of AM fungi about 47-49% that was lower than in the other citrus roots. Whereas, Swingle citrumelo, lime and Pomelo with AM fungi significantly increased of most nutrient contents of N, P, K, Ca and Mg in the tangerine variety Sainamphung scions compared with the non-mycorrhizal plants. Hyphae of AM fungi are both internal and external roots of the host plants. External hyphae of AM fungi associated with roots of the host plants increase mineral uptake to the host plants (Frey and Schuepp, 1993). AM fungi increased many kinds of nutrient contents according to the host plants and soil conditions (Marschner and Dell, 1994; Taylor and Harrier, 2001; Youpensuk et al., 2006). The tangerine variety Sainamphung scions on the lime rootstocks with AM fungi had P and K contents significantly higher than the scions on the other citrus rootstocks. Ca and Mg contents in were high in the tangerine variety Sainamphung scions on the rootstocks of Cleopatra tangerine with and without AM fungi. Pectic substances that cross-link with calcium in middle lamella become calcium pectate, which increase strength of plant cell resistance to plant pathogens. Moreover, Cytosolic Ca^{2+} in plant is a component of signals in resistance to plant pathogens (Scheel, 1998; Sanders et al., 2002; Strange, 2003). Therefore, the increase of Ca contents in plants causes increasing in disease resistance.

Conclusion of this research, Growth of lime seedling with AM fungi was highest, while growth of tangerine variety Sainamphung and Cleopatra tangerine was lowest. In the citrus seedlings without AM fungi, tangerine variety Sainamphung was the most susceptible and Cleopatra tangerine was the most resistance to *P. parasitica*. AM fungi increased resistance to *P. parasitica* of all citrus plants used in this research.

AM fungi increased growth of the scions of tangerine variety Sainamphung on the citrus rootstocks except on the Cleopatra tangerine rootstock. Lime with AM fungi was the best rootstock for growth of the tangerine variety Sainamphung scion.

Acknowledgements

We are grateful to the Thailand Research Fund and the Commission on Higher Education for financial support of this research. Thanks to the Multiple Cropping Centre for facility of pot experiment.

References

- Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T. and Malajczuk, N. 1996. Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture. ACIAR Monograph. Canberra, Australia.
- Colburn, G.C. and Graham, J.H. 2007. Protection of Citrus Rootstocks Against *Phytophthora* spp. with a hypovirulent isolate of *Phytophthora nicotianae*. Phytopathol. 97: 958-963.
- Frey, B. and Schuepp, H. 1993. Acquisition of nitrogen by external hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Zae mays* L. New Phytology. 124:221-230.
- Jifon, J.L., Graham, J.H., Drouillard, D.L., Syvertsen, P. 2002. Growth depression of mycorrhizal *Citrus* seedlings grown at high phosphorus supply is mitigated by elevated CO₂. *New phytologist*. 153:133-142.
- Kachroo, A. 2008. Induced resistance in mycorrhizal tomato is correlated to concentration of jasmonic acid. J. Biol. Sci. 8: 49-56.

- Kachroo, A. and Kachroo, P. 2009. Fatty acid–derived signals in plant defense. *Annu. Rev. Phytopathol.* 47: 153–76.
- Marschner, H. and Dell, B. 1994. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant Soil.* 159: 89-102.
- McGonigle, T.P., Evans, D.G. and Miller, M.H. 1990. Effect of degree of soil disturbance on mycorrhizal colonization and phosphorus absorption by maize in growth chamber and field experiment. *New Phytol.* 116: 629-636.
- Ozgonen, H. and Erkilic, A. 2007. Growth enhancement and *Phytophthora* blight (*Phytophthora capsici* Leonian) control by arbuscular mycorrhizal fungal inoculation in pepper. *Crop Protect.* 26: 1682-1688.
- Requena, N., Perez-Solis, E., Azcon-Aguilar, C. Jeffries, P. and Barea, J. 2001. Management of indigenous plant-microbe symbioses aids restoration of desertified ecosystems. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 495-498.
- Sanders, D., Pelloux, J., Brownlee, C. and Harper, J.F. 2002. Calcium at the crossroads of signaling. *Plant Cell.* 14: 401-417.
- Scheel, D. 1998. Resistance response physiology and signal transduction. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 1: 305-310.
- Smith, S.E. and Read, D.J. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press. London.
- Strange, R. N. 2003. *Introduction to Plant Pathology*. John Wiley & Sons Ltd., London.
- Sundaresan, P., Ubalthouse Raja, N. and Gunasekaran, P. 1993. Induction and accumulation of phytoalexins in cowpea roots infected with a mycorrhizal fungus *Glomus fasciculatum* and their resistance to *Fusarium* wilt disease. *J. Biosci.* 18: 291-301.

- Taylor, J. and Harrier, L.A. 2001. A comparison of development and mineral nutrition of micropropagated *Fragaria x ananassa* cv. Elvira (strawberry) when colonised by nine species of arbuscular mycorrhizal fungi. *Appl. Soil Ecol.* 18: 205-215.
- Trotta, A., Varesc, G.C., Gnani, E., Fusconi, A., Sampo, S., Berta, G. 1996. Interactions between the soilborne root pathogen *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* and the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* in tomato plants. *Plant Soil.* 185: 199-209.
- Van Loon, L.C., Bakker P.A. and Pieterse, C.M. 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 36: 453–83.
- Youpensuk S., Lordkaew, S. and Rerkasem, B. 2006. Comparing the effect of arbuscular mycorrhizal fungi on upland rice and *Macaranga denticulata* in soil with different level of acidity. *Science Asia* 32: 121-126.
- Zhao, S. and Qi, X. 2008. Signaling in plant disease resistance and symbiosis. *J. Integrat. Plant Biol.* 50: 799–807.

Table 1 Effect of AM fungi on disease severity of *P. parasitica* in citrus plants

Citrus plant	Disease severity (%)	
	<i>P. parasitica</i>	AM fungi and <i>P. parasitica</i>
Sainamphung	54.5a	7.0d
Cleopatra	21.3c	1.3d
Troyer	50.0a	13.3cd
Swingle	31.1b	18.4c
Lime	49.5a	4.8d
Pomelo	32.7b	6.3d

Means followed by different letters are significantly different ($P \leq 0.05$) by Duncan's Multiple Range Test.

Table 2 Root colonization of AM fungi in citrus plants

Citrus plant	Root colonization of AM fungi (%)	
	AM fungi	AM fungi + <i>P. parasitica</i>
Sainamphung	69.1b	71.4b
Cleopatra	47.0c	49.0c
Troyer	64.5b	72.5b
Swingle	74.8ab	83.7a
Lime	86.7a	88.8a
Pomelo	72.1b	71.0b

Means followed by different letters are significantly different ($P \leq 0.05$) by Duncan's Multiple Range Test.

Table 3 Effect of AM fungi and *P. parasitica* on shoot dry weight of citrus plants

citrus plant	Shoot dry weight of citrus plants (g)			
	Control	AM fungi	<i>P. parasitica</i>	AM fungi + <i>P. parasitica</i>
Sainamphung	0.6d	0.6d	0.6d	1.4cd
Cleopatra	0.7d	1.4cd	1.1cd	1.9cd
Troyer	0.8d	5.0ab	0.8d	2.8bcd
Swingle	1.6cd	4.3b	1.2cd	1.4cd
Lime	1.8cd	7.0a	1.5cd	4.8b
Pomelo	0.6d	3.3bc	1.0d	2.3bcd

Means followed by different letters are significantly different ($P \leq 0.05$) by Duncan's Multiple Range Test.

Table 4 Effect of AM fungi and *P. parasitica* on root dry weight of citrus plants

Citrus plant	Root dry weight of citrus plants (g)			
	Control	AM fungi	<i>P. parasitica</i>	AM fungi + <i>P. parasitica</i>
Sainamphung	0.4d	0.8d	0.5d	1.6cd
Cleopatra	1.1d	1.1d	1.1d	1.3cd
Troyer	1.4cd	3.4ab	1.0d	1.2cd
Swingle	1.4cd	3.1abc	1.2cd	1.1d
Lime	2.3bcd	5.0a	2.0bcd	3.5ab
Pomelo	1.2cd	2.3bcd	1.7bcd	1.5cd

Means followed by different letters are significantly different ($P \leq 0.05$) by Duncan's Multiple Range Test.

Table 5 Effect of AM fungi and rootstocks of *Citrus* spp. on growth of the scions of tangerine variety Sainamphung

Citrus root stock	Growth of the scions of tangerine variety Sainamphung	
	Height of the scions (cm)	Dry weight of the scions (g)
Cleopatra	15.5bc	20.7c
Cleopatra + AM	18.2bc	20.7c
Troyer	18.5bc	21.0c
Troyer + AM	24.0ab	23.7b
Swingle	9.3c	16.8d
Swingle + AM	34.6a	24.3b
Lime	25.6ab	23.0b
Lime + AM	36.5a	26.9a
Pomelo	17.0bc	14.0e
Pomelo + AM	19.0bc	21.0c

Means in the same column followed by different letters are significantly different ($P \leq 0.05$) by Duncan's Multiple Range Test.

Table 6 Effect of AM fungi and rootstocks of *Citrus* spp. on nutrient contents of the scions of tangerine variety Sainamphung

Citrus root stock	Nutrient contents of the scions of tangerine variety Sainamphung (mg/plant)				
	N	P	K	Ca	Mg
Cleopatra	496cd	38bc	360e	228ab	48ab
Cleopatra + AM	497cd	31cd	345e	238ab	52a
Troyer	502c	32cd	563bc	176de	30cd
Troyer + AM	505c	35bc	503d	208bcd	42b
Swingle	433d	26de	385e	149e	29cd
Swingle + AM	631a	42b	558cd	253a	45b
Lime	484cd	27de	608b	158e	30cd
Lime + AM	543bc	126a	789a	222abc	43b
Pomelo	231e	22e	269f	185cde	26d
Pomelo + AM	571ab	37bc	538cd	207bcd	35c

Means in the same column followed by different letters are significantly different ($P \leq 0.05$) by Duncan's Multiple Range Test.

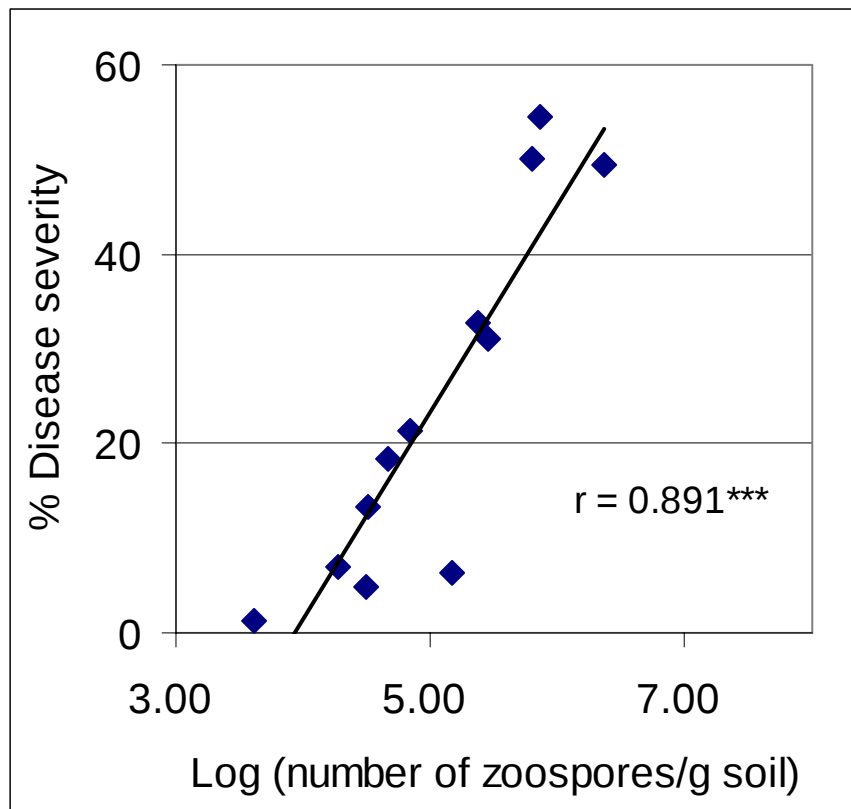


Figure 1 Correlation between disease severity of the citrus plants and the amount of zoospores of *P. parasitica*.