

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

1. แผนงานวิจัย : แผนบูรณาการวิจัยและพัฒนาไม้ผลเศรษฐกิจ (สับปะรด ลำไย
ทุเรียน มังคุด มะม่วง)
2. โครงการวิจัย : การเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ฟอสฟอรัสในดินปลูกมังคุด
กิจกรรม : กิจกรรมที่ 1 การสำรวจเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาใน
สวนมังคุด (ปีงบประมาณ 2559-2561)
3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : การสำรวจ คัดเลือกและจำแนกเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไร-
ซาที่ละลายฟอสเฟตได้ (ปี 2559-2561)
- ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Survey selection and detection of phosphate-
solubilizing ectomycorrhizal (2016-2018)
4. คณะผู้ดำเนินงาน : นางสาวปิยะมาศ โสมภีร์¹ ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี
หัวหน้าการทดลอง : นางสาวปิยะมาศ โสมภีร์¹ ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี
ผู้ร่วมงาน : นางชมภู จันทน์¹ ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี
นางอรุณี กอร์ปไพบูลย์¹ ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี
นายเฉลิมพล เอี่ยมพลับ² สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่
6
5. บทคัดย่อ

เชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาที่มีความสามารถในการดูดซับฟอสฟอรัส และละลายฟอสเฟตให้เป็นประโยชน์แก่พืชได้ จึงนำมาใช้ประโยชน์ในการแก้ไขปัญหาสภาวะฟอสฟอรัสตกค้างในดินสวนมังคุด โดยสำรวจเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาบริเวณโคนต้นมังคุด จากนั้นนำมาคัดเชื้อบริสุทธิ์ และจำแนก พบเชื้อเอ็คโตไมคอร์ไรซา 5 ชนิด คือ *Laccaria fraternal* (No.109), *Clavaria vermicularis* Fr. (No.134), *Amanita hemibapha* [Berk.&Br.] Sacc.javanica Cor.&Bas (No.144), *Termitomyces tylerianus* Otieno (No.146) และ *Boletus griseipurpureus* Corner (No.148) แล้วนำมาทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟตบนอาหาร PDA ผสม $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ และใน PDB ผสม $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ได้เชื้อที่มีประสิทธิภาพดี 4 ไอโซเลท คือ 134, 144, 146 และ 148 นำมาปลูกถ่ายลงในต้นกล้ามังคุดที่ปลูกในดินที่ผสมหินฟอสเฟตเปรียบเทียบกับไม่ใส่เชื้อ นำตัวอย่างดิน และพืช

¹ ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร อ.ขลุง จ.จันทบุรี

² สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 6 กรมวิชาการเกษตร อ.ขลุง จ.จันทบุรี

วิเคราะห์ปริมาณธาตุฟอสฟอรัสทั้งหมดและฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ การดูดใช้ฟอสฟอรัสเปอร์เซ็นต์การเข้าราก และการเจริญเติบโตของต้นมันฝรั่ง ที่ 3, 6 และ 9 เดือน พบว่า เชื้อรา *Clavaria vermicularis* Fr. (No.134) สามารถละลายฟอสเฟตออกมาได้มากที่สุด 332.00, 606.20 และ 335.50 มก./กก. ตามลำดับ และที่ระยะ 9 เดือน ยังมีเปอร์เซ็นต์การเข้ารากมากที่สุด 18.33% ส่วนปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดดิน ฟอสฟอรัสในพืช และการเจริญเติบโตของต้นมันฝรั่งแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

6. คำนำ

เกษตรกรที่ปลูกมันฝรั่งในเขตจังหวัดจันทบุรีใส่ปุ๋ยฟอสฟอรัสมาก โดยเฉพาะสูตร 8-24-24 ที่ใส่ในช่วงกระตุ้นตาดอก ทำให้เกิดการตกค้างของปุ๋ยฟอสฟอรัส และเกิดสภาวะการตรึงฟอสฟอรัสทำให้พืชไม่สามารถดูดไปใช้ได้ จากการศึกษาของพันธุ์ทิพย์ (2543) ได้สำรวจปริมาณธาตุอาหารในดินปลูกมันฝรั่ง ตำบลลลับพลา อำเภอเมืองฯ จังหวัดจันทบุรี พบว่ามีปริมาณฟอสฟอรัสในระดับสูง ซึ่งน่าจะเกิดจากการใส่ปุ๋ยที่มีฟอสฟอรัสในปริมาณมากเกินความจำเป็น จากศึกษาของสุมิตรา ภู่วโรดม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ศึกษาการจัดการธาตุอาหารในสวนมันฝรั่ง ในเขตจังหวัดจันทบุรี ระยะยง และตราด โดยการเก็บตัวอย่างดินมากกว่า 1,500 ตัวอย่าง มาวิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหาร พบว่าตัวอย่างดินในสวนต่างๆมากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณฟอสฟอรัสสะสมในดินอยู่เป็นจำนวนมากเกินความจำเป็น โดยบางสวนมีปริมาณธาตุฟอสฟอรัสสูงถึง 2,000 ส่วนในล้านส่วน ในขณะที่ปริมาณฟอสฟอรัสที่เหมาะสมและเพียงพอต่อความต้องการอยู่ระหว่าง 20-30 ส่วนในล้านส่วน เท่านั้น (สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร, 2557)

การแก้ไขมักแนะนำให้ใส่เชื้อจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต หรือ เชื้อราเอ็นโดไมคอร์ไรซา แต่เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดนี้เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่หาซื้อยากและเกษตรกรไม่สามารถขยายหัวเชื้อได้เอง จึงมีแนวทางใช้ประโยชน์จากเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซา ซึ่งเป็นเชื้อราในกลุ่มที่สามารถดูดใช้ฟอสฟอรัสให้แก่พืชได้เช่นเดียวกัน และเป็นเชื้อราที่ง่ายต่อการขยายเชื้อ เพราะเป็นราขนาดใหญ่ (เห็ด) และจากการสังเกตบริเวณโคนต้นมันฝรั่งพบการเจริญเติบโตของเห็ดหลายชนิด ซึ่งบางชนิดเป็นเห็ดในกลุ่มของเอ็คโตไมคอร์ไรซา ที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟต และดูดซับฟอสฟอรัส ให้เป็นประโยชน์แก่พืชได้ ดังนั้นจึงควรที่จะคัดเลือกหาเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาที่มีประสิทธิภาพดีสามารถเจริญเติบโตร่วมกับมันฝรั่งได้ เพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งให้แก่เกษตรกรนำไปปรับใช้ต่อไป

วัตถุประสงค์

เพื่อสำรวจ รวบรวม และคัดเลือกเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาบริเวณโคนต้นมันฝรั่งเพื่อไปใช้ประโยชน์ในการแก้ไขปัญหาสภาวะการตรึงฟอสฟอรัสในดินที่ปลูกมันฝรั่ง

7. วิธีดำเนินการ :

- อุปกรณ์

1. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ เช่น หม้อนึ่งความดัน เครื่องวัดการดูดกลืนแสง ตู้แช่แข็ง ฯลฯ
2. สารเคมีสำหรับการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ และวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัส การย้อมราก
3. เครื่องแก้ว
4. อุปกรณ์ และเครื่องมือทางการเกษตร

- วิธีการ

ขั้นตอนที่ 1 การสำรวจ และคัดเลือกเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซา

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. สำรวจหาเห็ดที่เป็นเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซา ในแปลงทดลองของศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี และแปลงเกษตรกรผู้ปลูกมังคุดในจังหวัดจันทบุรี
2. นำเชื้อเห็ดเอ็คโตไมคอร์ไรซาที่รวบรวมได้มาแยกเชื้อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ตามวิธีของจิตนา และศิริภา (2545) เพื่อศึกษาความเหมาะสมของอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซา
3. จำแนกเห็ดเอ็คโตไมคอร์ไรซาตามลักษณะสัณฐานวิทยา โดยใช้ตำรา เอกสารวิชาการ

การบันทึกข้อมูล

- ทำการบันทึกชนิดของเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาที่ทำการคัดเลือก และจำแนกได้ ตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ขั้นตอนที่ 2 การทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟตของเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซา

วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยจำนวนกรรมวิธีเท่ากับจำนวนของเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาที่ทำการคัดแยกได้ ทำทั้งหมด 3 ซ้ำ

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. นำเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซามาทำการปลูกถ่าย (Inoculate) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาสามารถเจริญได้ดีจากขั้นตอนที่ 1
2. จากนั้นใช้ Cork Borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะเอาส่วนปลายของเส้นใยมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เติม ไตรแคลเซียมฟอสเฟต ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี และ Clear Zone แล้วนำมาคำนวณหาอัตราส่วนระหว่างโคโลนี ต่อ Clear Zone
3. นำค่าที่ได้มาวิเคราะห์สถิติ แล้วเลือก Isolate ที่มีประสิทธิภาพที่ดี เพื่อทำการทดสอบหาปริมาณการละลายฟอสเฟต โดยมีวิธีการคือ หาปริมาณเริ่มต้นโดยทำเช่นเดียวกันกับขั้นตอนที่ 1 ถึง 2 จากนั้นใช้ Cork Borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะเอาส่วนปลายของเส้นใยมาทำการปลูกถ่ายลงใน (Inoculate) อาหารเหลวที่เหมาะสมกับการเจริญของเชื้อรา

เอ็คโตไมคอร์ไรซา ที่มีการเติมแหล่งฟอสฟอรัสในรูปที่ละลายยาก คือ ไตรแคลเซียมฟอสเฟต เปรียบเทียบกับไม่ใส่เชื้อ นำมาหาปริมาณฟอสฟอรัสทุก 3, 5, 7, 9 และ 11 วัน โดยนำสารละลายที่ได้มา 1 มิลลิเมตร เติมสาร Vanadate Reagent 5 มิลลิเมตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 25 มิลลิเมตร นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร เปรียบกับสารละลายมาตรฐาน KH_2PO_4 ที่ความเข้มข้น 0, 4, 8, 12, 16 และ 20 ส่วนในล้านส่วน

4. นำตัวอย่างเชื้อที่กรองได้อบหาน้ำหนักแห้ง โดยชั่งน้ำหนักกระดาษกรองไว้ก่อน เมื่อกรองตัวอย่างเชื้อแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จนกว่าจะแห้ง จากนั้นนำมาหาน้ำหนักแห้ง
5. นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์สถิติ เพื่อสรุปผล

การบันทึกข้อมูล

- ทำการบันทึกเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี และ Clear Zone เพื่อหาอัตราส่วนระหว่างขนาดของโคโลนี และ Clear Zone
- ทำการบันทึกความสามารถในการละลายฟอสเฟตที่ระยะ 3, 5, 7, 9 และ 11 วัน

ขั้นตอนที่ 3 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาในกล้ามังคุด

แบบและวิธีการทดลอง วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 5 กรรมวิธี ทำทั้งหมด 6 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ต้น ดังนี้
กรรมวิธีที่ 1 ไม่ปลูกเชื้อ

กรรมวิธีที่ 2 เชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซา Isolates 134

กรรมวิธีที่ 3 เชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซา Isolates 144

กรรมวิธีที่ 4 เชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซา Isolates 146

กรรมวิธีที่ 5 เชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซา Isolates 148

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. นำเมล็ดมังคุดมาลอกเอาเยื่อหุ้มเมล็ดออกเพาะบนทรายที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง
2. เมื่อต้นกล้าสูงประมาณ 10 เซนติเมตร นำมาเพาะลงในดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง โดยใช้ 1 เมล็ดต่อ 1 กระถาง
3. เตรียมดินปลูก โดยนำดินมานึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นึ่งฆ่าเชื้อทั้งหมด 3 ครั้ง แต่แต่ละครั้งห่างกัน 3 วัน ผสมหินฟอสเฟตอัตรา ดิน 5 กิโลกรัม ต่อ หินฟอสเฟต 1 กิโลกรัม นำมาวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด และฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์เริ่มต้นในดิน
4. ขยายเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาลงบนก้อนหัวเชื้อเห็ด

5. ปลุกถ่ายเชื้อราเอ็กซ์โคไมคอร์ไรซาลงบริเวณรากของกล้ามังคุดไอโซเลท ละ 2 กรัม/กระถาง และใส่เชื้อซ้ำทุก 1 เดือน
6. เก็บตัวอย่างดินและพีชมาวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่ระยะ 3, 6 และ 9 เดือน
7. วัดการเจริญเติบโตของมังคุด (ความสูงต้น ทรงพุ่มต้น จำนวนใบ ขนาดใบ เส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้น) ที่ระยะ 3, 6 และ 9 เดือน
8. ตรวจสอบการเข้าราก (Root Infection) โดยการตัดส่วนของ Root tip ย้อมสีตามวิธีของ บุศกร (2540) ที่ระยะ 3, 6 และ 9 เดือน
9. บันทึก รวบรวม วิเคราะห์ข้อมูลและสรุปผล

การบันทึกข้อมูล

- ทำการบันทึกปริมาณฟอสฟอรัสในมังคุด ที่ระยะต่างระยะ 3, 6 และ 9 เดือน
- ทำการบันทึกข้อมูลการเข้าราก (Root Infection) บริเวณ Root tip ที่ระยะ 3, 6 และ 9 เดือน
- ทำการบันทึกข้อมูลการเจริญเติบโต (ความสูงต้น ทรงพุ่มต้น จำนวนใบ ขนาดใบ เส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้น) ที่ระยะ 3, 6 และ 9 เดือน
- เวลาและสถานที่
เริ่มทำการทดลอง 1 ตุลาคม 2559 – 30 กันยายน 2561 ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

ขั้นตอนที่ 1 การสำรวจ และคัดเลือกเชื้อราเอ็กซ์โคไมคอร์ไรซา

จากเก็บรวบรวมเชื้อเห็ดที่เจริญบริเวณโคนต้นมังคุด จากแปลงมังคุดของศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี โดยมีจำนวน 3 จุด คือ แปลงมังคุดศูนย์เรียนรู้ มีเนื้อที่ 12 ไร่ แปลงรวบรวมพันธุ์พืชสกุล *Garcinia* ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี เนื้อที่ประมาณ 5 ไร่ และเส้นทางเดินโครงการท่องเที่ยวเชิงเกษตร ระยะทางประมาณ 700 เมตร แปลงมังคุดศูนย์พัฒนาไม้ผลเศรษฐกิจภาคตะวันออก อ.ขลุง จ.จันทบุรี เนื้อที่ 3 ไร่ และทำการสำรวจแปลงมังคุดของเกษตรกรจำนวน 1 แปลง ต.พลับพลา อ.เมืองฯ จ.จันทบุรี เนื้อที่ประมาณ 12 ไร่ สามารถเก็บรวบรวมได้ 161 ตัวอย่าง

นำตัวอย่างที่รวบรวมได้มาคัดแยกเชื้อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์สามารถคัดแยกได้ทั้งหมด 33 ตัวอย่าง คือ รหัสตัวอย่างที่ 101, 104, 106, 109, 113, 121, 122, 126, 127, 134, 137, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 160 และ 161 เมื่อนำมาจำแนกสามารถจำแนกพบว่าเป็นเชื้อราเอ็กซ์โคไมคอร์ไรซา จำนวน 5 ตัวอย่างคือ *Laccaria fraternal* (No.109), *Clavaria vermicularis* Fr. (No.134), *Amanita hemibapha* [Berk.&Br.] Sacc.javanica Cor.&Bas (No.144), *Termitomyces tylerianus* Otieno (No.146) และ *Boletus griseipurpureus* Corner (No.148) (ตารางที่ 1) จากการสำรวจพบว่าบริเวณที่มีความชื้นมากไม่มีการกวาดใบมังคุดที่ร่วงทิ้ง

นอกจากแปลงพบการเจริญเติบโตของเห็ดมากกว่าสวนมังคุดที่มีการทำความสะอาดดีและสามารถพบเชื้อเห็ดที่เป็นเอ็คโตไมคอร์ไรซาด้วย

ซึ่งการอยู่ร่วมกันของเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาและพืช เป็นการอยู่ร่วมกันแบบภาวะพึ่งพากัน (Mutualism) ระหว่างเชื้อรา (Fungi) และรากพืช โดยที่พืชได้รับน้ำและธาตุอาหาร เช่น ฟอสฟอรัส และไนโตรเจนจากเชื้อรา ในขณะที่เชื้อราได้รับสารอาหารที่จำเป็น เช่น น้ำตาล กรดอะมิโนและวิตามินจากพืชผ่านทางระบบราก เส้นใยของเชื้อราหรือ โดยไฮฟาของเชื้อราจะเจริญรอบๆ รากและสานตัวเป็นแผ่นหรือเป็นปลอก หุ้มเรียกว่าแมนเทิล (Mantle) ซึ่งจะมีสีและความหนาแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อรา ไฮฟาบางส่วนจากแมนเทิลจะเจริญเข้าไปอยู่ในช่องว่างระหว่างเซลล์ชั้นเอพิเดอร์มิสและชั้นคอร์เทกซ์ของรากพืช แล้วเจริญสานกันเป็นตาข่ายอยู่รอบๆ เซลล์ เรียกว่าฮาติกเนต (Hartig net)

จากการศึกษา พบว่า รากของพืชเกือบทุกชนิดมีเชื้อราไมคอร์ไรซาอาศัยอยู่ และมีส่วนช่วยให้พืชรอดชีวิตเมื่อเจริญบนดินที่มีสภาพไม่เหมาะสมได้ เช่น ดินที่มีความเป็นกรดสูง ดินเค็มและดินที่ขาดธาตุอาหาร เป็นต้น นอกจากนี้เชื้อราไมคอร์ไรซายังช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของราที่เป็นสาเหตุของโรคพืช เชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซามีมากกว่า 5,000 ชนิดและอยู่ร่วมกับรากของพืชใบเลี้ยงคู่ที่เป็นไม้พุ่มและไม้ต้นประมาณ 8,000 ชนิด เช่นพืชในวงศ์สน (Pinaceae) และวงศ์ยาง (Dipterocarpaceae) เป็นต้น แต่ไม่พบเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาอยู่ร่วมกับรากของพืชใบเลี้ยงเดี่ยว

เชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาส่วนใหญ่อยู่ในไฟลัมเบสิดิโอไมโคตา (Phylum Basidiomycota) และบางส่วนอยู่ในไฟลัมแอสโคไมโคตา (Phylum Ascomycota) และไฟลัมไซโกไมโคตา (Phylum Zygomycota) เมื่ออยู่ในสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม เชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาจะสร้างดอกเห็ดทั้งที่อยู่บนดินและใต้ดิน เชื้อราที่สร้างดอกเห็ดบนดิน เช่น เห็ดลูกฟูก (Rhizopogon) และเห็ดน้ำนม (Lactarius) เป็นต้น บางชนิดนิยมนำมารับประทาน เช่น เห็ดระโงกเหลือง (*Amanita hemibapha*) และเห็ดน้ำหมาก (*Russula*) เป็นต้น ส่วนเชื้อราที่สร้างดอกเห็ดใต้ดิน เช่น เห็ดเผาะ (*Astraeus*) และเห็ดทรัฟเฟิล (Truffle) ซึ่งเป็นเห็ดที่นิยมรับประทานมากในประเทศเขตร้อน มีราคาแพงเนื่องจากมีรสชาติอร่อยและไม่สามารถเพาะได้ต้องเก็บจากป่าเท่านั้น (ภุชญา และคณะ, ไม่ปรากฏปีที่พิมพ์)

ขั้นตอนที่ 2 การทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟตของเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซา

การทดสอบความสามารถในการละลายทำการคัดเลือกจากเชื้อบริสุทธิ์ในขั้นตอนที่ 1 มาเฉพาะเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซา 5 ไอโซเลท (No. 134, 144, 146 และ 148) พบว่า รหัสตัวอย่างที่ 144 มีอัตราส่วนระหว่างโคโลนีต่อวงใส (Colony : Clear Zone) มากที่สุด 25.44 ± 0.20 มิลลิเมตร รองลงมาคือ 146 และ 148 กับ 134 (21.11 ± 1.17 , 12.03 ± 0.58 และ 10.67 ± 1.15 มิลลิเมตร ตามลำดับ) ในขณะที่รหัสตัวอย่าง 109 ไม่สร้างวงใส (ตารางที่ 2) การเกิดวงใสคือเชื้อราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ Phytase, Phosphatase, Nucleotidases และ Glycerophosphatase เพื่อแปรสภาพอินทรีย์ฟอสฟอรัสให้อยู่ในรูปของอนินทรีย์

ฟอสฟอรัสที่เรียกว่า ออโรฟอสเฟต (Orthophosphate) ซึ่งเป็นพวกรโมน (Mono) และ ไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Dihydrogen Phosphate) (ธงชัย, 2550)

จากนั้นนำตัวอย่างเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาทั้ง 5 ตัวอย่างมาทดสอบการละลายฟอสเฟตในอาหาร PDB โดยเติมไตรแคลเซียมฟอสเฟต หาปริมาณทุก 3, 5, 7, 9 และ 11 วัน ผลการทดลองพบว่า ตัวอย่างเชื้อที่ 109, 144, 146 และ 148 สามารถละลายฟอสฟอรัสออกมาได้มากที่สุดที่ 3 วัน โดยตัวอย่างที่ 144 มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตได้มากที่สุด โดยให้ปริมาณฟอสฟอรัส 15.39 ± 3.43 %ฟอสฟอรัส/1 กรัม น้ำหนักแห้งของเชื้อ รองลงมาคือรหัสตัวอย่างที่ 146 มีปริมาณฟอสฟอรัส 11.02 ± 0.56 %ฟอสฟอรัส/1 กรัม น้ำหนักแห้งของเชื้อ ตามด้วยรหัสตัวอย่างที่ 148 คือ 5.11 ± 1.35 %ฟอสฟอรัส/1 กรัม น้ำหนักแห้งของเชื้อ ส่วนรหัสตัวอย่างที่ 109 และ 134 มีการดูดฟอสฟอรัสไปใช้ในการสร้างเซลล์จึงทำให้ปริมาณลดลง (1.58 ± 0.23 และ 0.81 ± 0.1 %ฟอสฟอรัส/1 กรัม น้ำหนักแห้งของเชื้อ ตามลำดับ) เมื่อเทียบกับ control (3.56 ± 0.44 %) แต่สังเกตได้ว่ารหัสตัวอย่างที่ 134 มีการปลดปล่อยฟอสฟอรัสออกมาตามระยะเวลา จากตารางที่ 3 ปริมาณฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ และ เมื่อนำอาหารเลี้ยงเชื้อที่กรองได้มาวัดค่า pH พบว่า รหัสตัวอย่างที่ 134 มีค่า pH มากกว่าตัวอย่างเชื้ออื่น (5.41 ± 0.79 - 6.45 ± 0.05) ในขณะที่ตัวอย่างเชื้ออื่นมีค่า pH อยู่ในช่วง 3-4 (ตารางที่ 4) จากข้อมูลแสดงให้เห็นว่าเชื้อเอ็คโตไมคอร์ไรซาทั้ง 5 ชนิดนี้สามารถสร้างกรดละลายฟอสเฟตได้ ซึ่งกรดที่สามารถสร้างได้มีทั้งกรดอินทรีย์ เช่น กรดฟอร์มิก อะซิติก โปรปิโอนิก แลคติก โกลโคลิก พูมาริก และ ซัคซินิก และกรดอนินทรีย์ เช่น กรดไนตริก และซัลฟูริก (ธงชัย, 2550)

ขั้นตอนที่ 3 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาในกล้ามังคุด

จากขั้นตอนที่ 2 เลือกตัวอย่างเชื้อไอโซเลทที่ 134, 144, 146 และ 148 มาทดสอบประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟต โดยทดสอบกับกล้ามังคุดเปรียบเทียบกับไม่ใส่เชื้อ วัดการเจริญเติบโตของต้นมังคุดเริ่มต้นตั้งนี้ ความสูงต้น ทรงพุ่มต้น จำนวนใบ ขนาดใบ เส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้น (ตารางที่ 5) พบว่า การเจริญเติบโตทางด้านความสูงต้นแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) ขนาดของทรงพุ่ม กรรมวิธีที่ใส่เชื้อ 134 และ 144 กับไม่ใส่เชื้อ มีขนาดทรงพุ่มมากกว่ากรรมวิธีที่ใส่เชื้อ 146 และ 148 (22.28, 22.90 และ 21.03 เซนติเมตร ตามลำดับ) แต่ที่ 9 เดือน แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$)

ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น พบว่า กรรมวิธีที่ใส่เชื้อ 134 มีขนาดกว้างกว่ากรรมวิธีอื่นๆ (0.75 เซนติเมตร) แต่ที่ 9 เดือน แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) (ตารางที่ 5)

จำนวนใบของมังคุดที่ 3 เดือน พบว่า กรรมวิธีที่ไม่ใส่เชื้อ ใส่เชื้อ 134 และ 146 มีจำนวนใบมากกว่ากรรมวิธีที่ใส่เชื้อ 144 และ 148 ($p \leq 0.05$) แต่ที่ 6 เดือน มีจำนวนใบที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p \geq 0.05$) เดือนที่ 9 กรรมวิธีที่ใส่เชื้อ 144, 148 และไม่ใส่เชื้อ มีจำนวนใบมากกว่า กรรมวิธี 134 และ 144 ส่วนความกว้างใบพบว่าทั้ง 3, 6 และ 9 เดือน แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) ความยาวใบพบความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ที่ 3 เดือน คือ กรรมวิธีไม่ใส่เชื้อ ใส่เชื้อ 134 และ 144 มีความยาวใบมากกว่า

กรรมวิธีที่ใส่เชื้อ 146 และ 148 (11.52, 11.83 และ 10.88 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วน 6 เดือนและ 9 เดือน แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) (ตารางที่ 6)

ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในดินมีปริมาณลดลงตามระยะเวลา โดยที่ 3 เดือน พบว่า ในกรรมวิธีที่มีการปลูกถ่ายเชื้อไอโซเลท 148 มีปริมาณลดลงมากกว่ากรรมวิธีอื่น เท่ากับ 6.98 มิลลิกรัม/ แต่ที่ 6 เดือน กลับพบว่าในทุกระบบวิธีมีปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดเพิ่มขึ้นแทนที่จะต้องลดลง ที่ระยะ 9 เดือน ทุกกรรมวิธีแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) แต่เมื่อเทียบกับระยะ 6 เดือน พบว่ามีปริมาณลดลงทุกกรรมวิธี (ตารางที่ 7) แสดงให้เห็นว่าเกิดสภาวะการตรึงฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้น ซึ่งดินสามารถตรึงฟอสเฟตได้หลายปฏิกิริยาด้วยกันโดยสามารถแบ่งได้ 3 ชนิด คือ

1) ปฏิกิริยาการดูดซับอยู่ตามผิวดิน (Adsorption Reaction) โดยอนุภาคของดินที่มีขนาดเล็กที่อยู่ในสภาพของคอลลอยด์ เช่นแร่ดินเหนียวต่างๆ อินทรีย์วัตถุ และออกไซด์ของเหล็ก และอะลูมิเนียม มีประจุไฟฟ้าแฝงอยู่ และไอออนฟอสเฟตที่มีประจุไฟฟ้าแฝงอยู่เช่นเดียวกัน จึงทำให้สามารถดูดซับยึดกันไว้

2) ปฏิกิริยาการแทนที่ด้วยไอออนที่มีขนาดไอออนเท่ากัน (Isomorphous Replacement) ไอออนฟอสเฟตที่ถูกดูดซับอยู่โดยรอบพื้นผิวของแร่ดินเหนียวจะค่อยๆ เคลื่อนตัวเข้าไปอยู่ในช่องว่างระหว่างผลึกต่อผลึกของ Clay Colloid ไอออนฟอสเฟตบางไอออนจะค่อยเปลี่ยนจากสภาพที่ถูกดูดซับ เป็นการเข้าแทนที่แอนไอออนของผลึก เช่น Hydroxyl, Silicate แล้วไอออนฟอสเฟตจะจับตัวกับคอลลอยด์ด้วยพันธะทางเคมี ฟอสเฟตนี้จะถูกตรึงโดยไม่มีโอกาสหลุดออกมาอยู่ในสารละลายดินอีก

3) ปฏิกิริยาการแตกตัวแล้วทำปฏิกิริยา (Double Decomposition) สารประกอบฟอสเฟตที่ละลายได้ดี จะละลายและแตกตัวให้ไอออนฟอสเฟต และไอออนบวกอื่นๆ ในดินมีสารประกอบต่างๆ เช่น เหล็กออกไซด์ เหล็กไฮดรอกไซด์ อะลูมิเนียมไฮดรอกไซด์ แคลเซียมคาร์บอเนต แมกนีเซียมคาร์บอเนต เมื่ออยู่ในสภาพที่เหมาะสมสารประกอบเหล่านี้จะละลายและแตกตัวให้ไอออนบวกต่างๆ เช่น แคตไอออนของเหล็ก อะลูมิเนียม แคลเซียม และแมกนีเซียม อยู่ในสารละลายดิน และเมื่อไอออนฟอสเฟตกับแคตไอออนเหล่านี้พบกัน จะทำปฏิกิริยากัน เกิดเป็นสารประกอบฟอสเฟตที่ละลายยากยิ่งขึ้น เช่น เกิดเป็นเหล็กฟอสเฟต อะลูมิเนียมฟอสเฟต แคลเซียมฟอสเฟต และสารประกอบที่มีสูตรโมเลกุลสลับซับซ้อนยิ่งขึ้น เมื่อเกิดสารประกอบฟอสเฟตที่ละลายยากยิ่งขึ้นจึงเป็นการตรึงฟอสเฟต (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2541)

สำหรับปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์หากเชื้อเอ็คโตไมคอร์ไรซาสามารถละลายฟอสเฟตออกมาได้จริงปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต้องเพิ่มขึ้น ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า เพิ่มขึ้นจริงทุกไอโซเลทเมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่ใส่เชื้อ โดยที่ 3 เดือน ทุกกรรมวิธีที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ 6 เดือน พบว่า กรรมวิธีที่ใส่เชื้อ 134 และ 148 มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์เพิ่มขึ้นมากกว่ากรรมวิธีที่ใส่เชื้อ 144 และโดยมีปริมาณเพิ่มขึ้น 606.20 และ 406.70 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ ที่ระยะ 9 เดือน พบว่า กรรมวิธีที่ใส่เชื้อ 134, 148 และ ไม่ใส่เชื้อ มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์มากกว่ากรรมวิธีที่ใส่เชื้อ 144 และ 146 แต่เมื่อนำมาหักลบกับปริมาณเริ่มต้น กรรมวิธีที่ใส่เชื้อ 134 มีปริมาณมากกว่ากรรมวิธีอื่นๆ (335.50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) (ตารางที่ 8)

ความสามารถในการดูดใช้ฟอสฟอรัสของต้นมังคุดพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติทั้งที่ระยะ 3, 6 และ 9 โดยในช่วง 3 เดือน การใส่เชื้อไอโซเลทที่ 148 มีการดูดใช้ฟอสฟอรัสได้ดีที่สุด 3.61% หลังจากนั้นลดความสามารถลง จนกระทั่งเดือนที่ 9 พบว่าในกรรมวิธีที่ใส่เชื้อทั้ง 4 ไอโซเลท มีความสามารถในการดูดใช้ฟอสฟอรัสได้ดีกว่ากรรมวิธีที่ไม่ใส่เชื้อ (ชุดควบคุม) (ตารางที่ 9)

การเข้ารากของเชื้อเอ็คโตไมคอร์ไรซาที่ 3 เดือน พบว่า ไอโซเลทที่ 134, 144 และ 146 โดยมีการเข้ารากได้มากกว่า 148 (13.06, 15.04 และ 11.85%) และ ไม่พบการเข้ารากในกรรมวิธีที่ไม่ใส่เชื้อ แต่ที่ระยะ 6 เดือน พบว่า เชื้อเอ็คโตไมคอร์ไรซาไอโซเลทที่ 134, 144 และ 148 มีเปอร์เซ็นต์การเข้ามีรากมากกว่าไอโซเลทอื่นๆ ที่ระยะ 9 เดือน เชื้อไอโซเลทที่ 134 สามารถเข้ารากได้มากที่สุด 18.33% (ตารางที่ 10)

จากข้อมูลปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในดิน ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดิน และปริมาณฟอสฟอรัสในต้นมังคุด ในระยะแรกเชื้อราที่มีประสิทธิภาพดีคือ ไอโซเลทที่ 144 แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไปเป็นไอโซเลทที่ 134 อาจเนื่องจากการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ช้าต้องอาศัยเวลานาน แต่มีผลดีในระยะยาวเนื่องจากมังคุดเป็นพืชอายุยืน และสังเกตได้ว่าปริมาณฟอสฟอรัสที่ละลายออกมาได้นั้นสัมพันธ์กับความสามารถในการเข้ารากของเชื้อรา โดยไอโซเลทที่ 134 เมื่อเวลานานขึ้นที่ 9 เดือนมีการเข้ารากมากกว่าเชื้อราอื่นๆ และจากขั้นตอนการสำรวจ ภาพที่ 1 เห็นได้ชัดเจนว่ารากของมังคุดมีเส้นใยของเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาอาศัยอยู่ ซึ่งเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาสร้างเส้นใยอยู่บริเวณรอบๆ ผิวรากพืช ครอบคลุมผิวรากภายนอกอัดกันแน่นเป็นแผ่นคล้ายเป็นเปลือกราก บางส่วนของเส้นใยจะเข้าไปอยู่ระหว่างเซลล์ภายในรากพืช และเข้าไปถึงชั้นของคอร์เท็กซ์ (cortex) (ภาพที่ 2) เชื้อเอ็คโตไมโคไรซาส่วนใหญ่จะพบอยู่ในพืชจำพวกไม้ยืนต้น ไม้ป่า เช่น สน ยูคาลิปตัส ต้นโอ๊ค การอยู่ร่วมกันของเชื้อนี้กับรากพืชทำให้ต้นพืชได้รับธาตุอาหารเพียงพอและทนแล้งได้ดี

จากการศึกษาของเชื้อรานิดนี้พบว่าช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและช่วยเพิ่มอัตราการรอดตาย (Survival Rate) ของกล้าไม้เมื่อนำไปปลูกในพื้นที่แห้งแล้ง และเสื่อมโทรม (Pampolina *et al.*, 1999) เนื่องจากเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาจะช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวราก ผลผลิตธาตุอาหารบางชนิด ทำให้กล้าไม้ทนทานต่อสภาพแห้งแล้ง และช่วยเร่งให้ต้นไม้มีอัตราการเติบโตสูงถึง 1-5 เท่าจากอัตราปกติ (Marx, 1972; Kikuchi *et al.*, 1999) Burgess *et al.* (1993) ทดสอบปลูกเชื้อ (inoculation) เอ็คโตไมคอร์ไรซา ทั้งหมด 16 ไอโซเลท (isolates) ให้กับต้นยูคาลิปตัส (*Eucalyptus diversicolor* F. Muell.) บริเวณราก พบว่าเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซา *L. laccata* และ *S. verrucosum* มีประสิทธิภาพในการช่วยเพิ่มดูดธาตุฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้น 4 มิลลิกรัม ฟอสฟอรัส/กิโลกรัม ในสภาพดินทราย

Sihanonth and Todd (1977) รายงานว่าในเซลล์ท่อน้ำและท่ออาหารของรากพืชที่มีเชื้อรา เอ็คโตไมคอร์ไรซาอาศัยอยู่จะมีธาตุแมกนีเซียม ฟอสฟอรัส กำมะถัน โพแทสเซียม และแคลเซียม มากกว่ารากพืชที่ไม่มีเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาอาศัยอยู่ นอกจากนี้ยังช่วยป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคทางระบบราก (root diseases) (Marx, 1969a, 1969b) ตัวอย่างเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซา (Ectomycorrhiza) เช่น เห็ดละโงกเหลือง (*Amanitahemibapha* subsp. *javanica*), เห็ดละโงกแดง (*Amanita hemibapha*

subsp. hemibapha), เห็ดละโรงขาว (*Amanita princeps* Corner et Bas), เห็ดไข่เยี่ยวม้า (*Amanita vaginata* (Bull. ex Fr.) Vitt.), เห็ดโคนหาย (*Amanita lepidella*), เห็ดแดง (*Russula lepida*), เห็ด *Scleroderma aereolatum* Fr., เห็ด *Scleroderma neosaccadia*, เห็ด *Lactarius* sp. และ เห็ด *Clavulina* sp. เห็ดตับเต่าหรือเห็ดผึ้ง (*Boletus edulis* Bull.ex Fr.) (จิตนา และ ศิริภา, 2545; สาวิตรี และ คณะ, 2553)

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการสำรวจ รวบรวมและคัดเลือกเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาจากสวนมังคุดในศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี ศูนย์วิจัยและพัฒนาไม้ผลเศรษฐกิจภาคตะวันออก และสวนเกษตรกรในจังหวัดจันทบุรี 1 ราย พบเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซา 5 ชนิด คือ *Laccaria fraternal*, *Clavaria vermicularis* Fr., *Amanita hemibapha* [Berk.&Br.] Sacc.javanica Cor.&Bas, *Termitomyces tylerianus* Otieno และ *Boletus griseipurpureus* Corner เชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตได้ดีที่สุดคือ *Clavaria vermicularis* Fr.

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

นำตัวอย่างเชื้อรา *Clavaria vermicularis* Fr. ไปใช้ในการทดลองที่ 2.1 การใช้เชื้อราไมคอร์ไรซา (เอ็คโตไมคอร์ไรซา และเอ็นโดไมคอร์ไรซา) ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตกับมังคุด (ปี 2562-2563) เพื่อคัดเลือกวิธีการแก้ไขปัญหาสภาวะตกค้างของฟอสฟอรัสในดินสวนมังคุดที่ดี และเหมาะสมที่สุด และนำไปถ่ายทอดให้แก่เกษตรกรนำไปปรับใช้ต่อไป

11. คำขอบคุณ (ถ้ามี)

ขอขอบคุณนายชลกานต์ พลพัฒน์ นักศึกษา จากสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก และนางสาวอังคณา อางไธสง (อดีตนักวิชาการเกษตร) ที่ช่วยสำรวจหาเชื้อเอ็คโตไมคอร์ไรซาในสวนมังคุด

12. เอกสารอ้างอิง

กฤษณา พงษ์พานิช จันจิรา อายะวงศ์ จิรพรรณ โสภี ปานรดดา แจ็งสันเทียะ และ อำนาจ ภูขุนทด. ไม้ปรากฏปีที่พิมพ์. ความหลากหลายชนิด บทบาทเชิงนิเวศ และการใช้ประโยชน์ของจุลินทรีย์ในพื้นที่กลุ่มป่าภูเขียว-น้ำหนาว. รายงานผลงานวิจัย สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช. 53. คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2541. ปฐพีวิทยาเบื้องต้น. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์: กรุงเทพฯ. 547.

- จิตนา บุพบรรพต และ ศิริภา โพธิ์พินิจ. 2545. การใช้ประโยชน์ของเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาก็กับกล้าไม้วงศ์ไม้
 ยาง I. ความหลากหลายของเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาในสวนป่าไม้วงศ์ยางบางชนิด และการแยกเชื้อ
 รา. รายงานการประชุมวิชาการป่าไม้ ประจำปี 2545. 394-406.
- ธงชัย มาลา. 2550. ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ: เทคนิคการผลิตและการใช้ประโยชน์.
 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 300.
- บุษกร มงคลพิทยากร. 2540. การใช้เชื้อไวเอไมคอร์ไรซาในการเพิ่มประสิทธิภาพการย้ายปลูกต้นกล้าสตอเบอร์รี่
 ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในเรือนเพาะชำ. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาปฐพี
 ศาสตร์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 120.
- พันธุ์ทิพย์ นนทรี. 2543. การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบมังคุด. ปัญหาพิเศษปริญญาวิทยา
 ศาสตร์บัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- สาวิตรี วีระเสถียร ประภาพร ตั้งกิจโชติ และกวีศรี วานิชกุล. 2553. ธาตุอาหารที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของ
 ต้นกล้วยคาลิปตัสมายหลังการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่า. ว.วิทย กษ. 41(3/1)(พิเศษ): 201-204.
- สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร. 2557. ลดค่าปุ๋ยในไม้ผล. แหล่งที่มา [http://www.arda.or.th/
 easyknowledge/easy-articles-detail.php?id=327](http://www.arda.or.th/easyknowledge/easy-articles-detail.php?id=327) (30/4/2557).
- อนงค์ จันทร์ศรีกุล พูนพิไล สุวรรณฤทธิ์ และอุทัยวรรณ แสงวงษ์. 2551. ความหลากหลายของเห็ดและรา
 ขนาดใหญ่ในประเทศไทย. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 514.
- อนงค์ จันทร์ศรีกุล. 2550. เห็ดในประเทศไทย. ราชบัณฑิตสถาน. กรุงเทพฯ. 256.
- Arumanayagam S. and M. Arunmani. 2014. Rock phosphate solubilization by the
 ectomycorrhizal fungus *Laccaria fraternal* and its associated mycorrhizal helper
 bacterial strains. African Journal of Biotechnology. 13(5):2524-2530.
- Burgess, T.I., N., Malajczuk and T.S., Grove. 1993. The ability of 16 ectomycorrhizal fungi to
 increase growth and phosphorus uptake of *Eucalyptus globulus* Labill. and *E.*
diversicolor F. Muell. Plant and Soil. 153(2): 155-164.
- Degreef J., L. Demuyne, A. Mukandera, G. Nyirandayambaje, B. Nzigidahera and A.D. Kesel.
 2016. Wild edible mushrooms, a valuable resource for food security and rural
 development in Burundi and Rwanda. Biotechnology Agronomy Society and
 Environment. 20(4): 441-452.
- Marx, D.H. 1969a. Growth of mycorrhizal and nonmycorrhizal shortleaf pine seedling in soil
 with *Phytophthora cinnamomi*. Phytopathol. 63: 18-23.
- Marx, D.H. 1969b. The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine
 roots to pathogenic infections. I Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic
 fungi and soil bacteria. Phytopathology. 59: 153-163.

- Marx, D.H. 1972. Ectomycorrhizae as biological deterrents to pathogenic root infections. *Annual Review of Phytopathology*. 10: 429-454.
- Pampolina, N.M., R. E., de la Cruz and M.U., Garcia. 1999. Ectomycorrhizal Root and Fungi of Philippine Dipterocarps. ACIAR Canberra Australia. 475 p.
- Pavlidis T., M. Ilieva, S. Bencheva and J. Stancheva. 2005. Researches on wood-destroying fungi division Ascomycota, Classic Ascomycetes. *Proc. Nat. Sci.* 109: 143-148.
- Sihanonth, P. and R.L., Todd. 1977. Transfer of nutrients from mycorrhizal fungi to plant root. *Soil. Zoology Colloquium. Ecol. Bull.* 25: 392-397.

ตารางที่ 1 การจัดจำแนกเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาทั้ง 5 ไอโซเลท

ที่	รหัส เชื้อ (code)	ไฟลัม (Phylum)	ชั้น (Class)	อันดับ (Order)	วงศ์ (Family)	สกุล (Genus)	สปีชีส์ (Species)	ชื่อสามัญ (Common name)	ชนิด (Type)	ภาพ (Fig)
1	109	Agaricomycetes	Basidiomycetes	Agaricales	Tricholomataceae	<i>Laccaria</i>	<i>Laccaria fraternal</i>	A deceiver	ectomycorrhiza	
2	134	Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Clavariaceae	<i>Clavaria</i>	<i>Clavaria vermicularis</i> Fr.	fairy fingers เห็ดหนอน ขาว ปะการัง	ectomycorrhiza	
3	144	Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Pluteaceae	<i>Amanita</i>	<i>Amanita hemibapha</i> [Berk.&Br.] <i>Sacc.javanica</i> Cor.&Bas	ไข่เห็ดลือ, ระ โงกเห็ดลือ	ectomycorrhiza	
4	146	Basidiomycota	Agaricomycetes	Phallales	Lyophyllaceae	<i>Termitomyces</i>	<i>Termitomyces tylerianus</i> Otieno	โคนขาว	ectomycorrhiza	
5	148	Basidiomycota	Agaricomycetes	Boetales	Boletaceae	<i>Boletus</i>	<i>Boletus griseipurpureus</i> Corner	เห็ดเสม็ด	ectomycorrhiza	

อนงค์ (2550); อนงค์ และคณะ (2551); Degreef *et al.* (2005); Pavlidis *et al.* (2005); Arumanayagam and Arunmani (2014)

ตารางที่ 2 อัตราส่วนระหว่างโคลินต่อวงใสของเชื้อราเอ็กซ์โทไมคอร์ไรซา

รหัสตัวอย่าง	อัตราส่วนระหว่างโคลินต่อวงใส (มม.)
109	ไม่สร้างวงใส
134	10.67±1.15 ^c
144	25.44±0.20 ^a
146	21.11±1.17 ^b
148	12.03±0.58 ^c
F-test	**
C.V. (%)	5.06

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยตามแนวตั้งที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี LSD, ** = แตกต่างกันทางสถิติ $p < 0.01$

ตารางที่ 3 ความสามารถในการละลายฟอสเฟตของเชื้อราเอ็กซ์โทไมคอร์ไรซาที่ระยะเวลา 3, 5, 7, 9 และ 11 วัน

รหัสตัวอย่าง	ปริมาณฟอสฟอรัส (%P/dw. 1 g) ที่เวลาต่างๆ				
	3 วัน	5 วัน	7 วัน	9 วัน	11 วัน
109	1.58±0.23 ^{de}	0.99±0.36 ^b	0.80±0.15 ^c	0.89±0.12 ^c	0.83±0.12 ^c
134	0.81±0.17 ^e	0.80±0.06 ^b	0.89±0.30 ^c	1.21±0.72 ^c	2.34±0.72 ^b
144	15.39±3.43 ^a	3.41±1.33 ^a	2.00±0.46 ^b	1.34±0.11 ^c	1.34±0.11 ^c
146	11.02±0.56 ^b	3.51±0.53 ^a	2.97±0.31 ^a	1.80±0.03 ^b	2.05±0.05 ^b
148	5.11±1.35 ^c	4.46±1.55 ^a	3.29±0.69 ^a	2.28±0.58 ^b	1.16±0.58 ^c
control	3.56±0.44 ^{cd}	3.14±0.48 ^a	2.89±0.44 ^a	3.63±0.15 ^a	3.28±0.15 ^a
F-test	**	**	**	**	**
C.V. (%)	24.62	32.98	20.00	15.6	21.19

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยตามแนวตั้งที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี LSD, ** = แตกต่างกันทางสถิติ $p < 0.01$

ตารางที่ 4 ค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อที่กรองได้ของแต่ละตัวอย่างที่ระยะเวลา 3, 5, 7, 9 และ 11 วัน

รหัสตัวอย่าง	ค่า pH ที่เวลาต่างๆ				
	3 วัน	5 วัน	7 วัน	9 วัน	11 วัน
109	3.91±0.01 ^{cd}	3.98±0.07 ^c	3.62±0.08 ^c	3.39±0.07 ^c	2.50±0.14 ^c
134	5.41±0.79 ^a	6.09±0.09 ^a	6.45±0.05 ^a	6.08±0.11 ^a	5.66±0.14 ^a
144	4.69±0.08 ^b	4.65±0.25 ^b	5.18±0.21 ^b	4.83±0.31 ^b	3.28±0.53 ^b
146	4.41±0.01 ^{bc}	3.26±0.07 ^d	4.12±0.06 ^c	3.74±0.23 ^c	2.25±0.32 ^c
148	3.38±0.03 ^d	4.17±0.10 ^c	4.06±1.19 ^c	4.96±0.71 ^b	5.60±0.18 ^a
control	4.35±0.04 ^{bc}	4.65±0.05 ^b	4.42±0.02 ^{bc}	4.58±0.07 ^b	3.33±0.02 ^b
F-test	**	**	**	**	**
C.V. (%)	7.42	2.76	10.70	7.28	7.32

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยตามแนวตั้งที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ $p \leq 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี LSD, ** = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.01$

ตารางที่ 5 การเจริญเติบโตลำต้นของต้นมังคุดที่ระยะ 3, 6 และ 9 เดือน ของแต่ละกรรมวิธี

กรรมวิธี	ความสูงต้น (ซม.)				ทรงพุ่ม (ซม.)				เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น (ซม.)			
	เริ่มต้น	3 ด.	6 ด.	9 ด.	เริ่มต้น	3 ด.	6 ด.	9 ด.	เริ่มต้น	3 ด.	6 ด.	9 ด.
ไม่ใส่เชื้อ	10.25	11.73	15.37	16.75	22.18 ^a	22.28 ^a	25.35 ^a	23.55	0.38	0.47 ^b	0.70 ^{ab}	0.67
134	12.27	13.33	15.82	16.33	22.33 ^a	22.90 ^a	23.93 ^a	23.62	0.41	0.57 ^a	0.75 ^a	0.75
144	11.30	12.73	15.97	19.5	20.35 ^{ab}	21.03 ^{ab}	21.47 ^{ab}	25.33	0.40	0.48 ^b	0.62 ^{bc}	0.68
146	10.73	11.93	12.9	16.25	19.03 ^b	20.20 ^b	17.17 ^b	25.05	0.36	0.41 ^b	0.50 ^c	0.63
148	11.10	12.12	16.78	16.94	19.13 ^b	19.82 ^b	22.28 ^{ab}	19.59	0.39	0.44 ^b	0.67 ^{ab}	0.67
F-test	ns	ns	ns	ns	**	*	*	ns	ns	**	**	ns
C.V. (%)	13.16	12.86	20.96	17.94	8.26	8.06	20.35	30.77	17.57	16.28	15.67	13.14

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยตามแนวตั้งที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ $p \leq 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี LSD, ns= แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ $p \geq 0.05$, *=แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.05$, ** = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.01$

ตารางที่ 6 การเจริญเติบโตของต้นมังคุดที่ระยะ 3, 6 และ 9 เดือน ของแต่ละกรรมวิธี

กรรมวิธี	จำนวนใบ				ความกว้างใบ (ซม.)				ความยาวใบ (ซม.)			
	เริ่มต้น	3 ด.	6 ด.	9 ด.	เริ่มต้น	3 ด.	6 ด.	9 ด.	เริ่มต้น	3 ด.	6 ด.	9 ด.
ไม่ใส่เชื้อ	13	17 ^a	19	22 ^{ab}	3.73	3.73	4.50	4.70	11.02	11.52 ^a	13.18	14.78
134	14	17 ^a	19	20 ^b	3.97	4.05	3.83	4.28	11.37	11.83 ^a	11.20	12.28
144	13	15 ^b	20	24 ^a	3.65	3.75	3.67	4.45	10.77	10.88 ^{ab}	12.63	15.17
146	13	17 ^a	19	19 ^b	3.37	3.67	3.92	4.85	9.88	10.20 ^b	12.27	14.43
148	13	15 ^b	22	24 ^a	3.30	3.37	4.04	4.13	9.98	10.27 ^b	12.73	13.12
F-test	ns	**	ns	**	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns
C.V. (%)	10.32	7.45	18.07	12.17	16.19	14.39	17.85	16.48	11.39	9.27	19.15	23.58

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยตามแนวตั้งที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ $p \leq 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี LSD, ns=แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ $p \geq 0.05$, * =แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.05$, ** = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ $p \leq 0.01$

ตารางที่ 7 ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในดินที่ระยะ 3, 6 และ 9 เดือน ของแต่ละกรรมวิธี

กรรมวิธี	ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในดิน (%) ที่ระยะเวลาต่างๆ			
	เริ่มต้น	3 ด.	6 ด.	9 ด.
ไม่ใส่เชื้อ	8.91	8.14 ^a	10.68 ^b	9.64
134	8.92	8.04 ^a	12.61 ^a	8.95
144	8.88	7.66 ^a	9.98 ^b	9.53
146	8.86	8.19 ^a	10.87 ^b	9.59
148	9.58	6.98 ^b	10.20 ^b	8.75

F-test	ns	**	*	ns
C.V. (%)	8.25	7.01	12.35	13.65

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยตามแนวตั้งที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ $p \leq 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี LSD, ns=แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ $p \geq 0.05$, *=แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.05$, ** = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ $p \leq 0.01$

ตารางที่ 8 ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินที่ระยะ 3, 6 และ 9 เดือน ของแต่ละกรรมวิธี

กรรมวิธี	ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดิน (มก./กก.)				ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินที่ละลาย		
	ที่ระยะเวลาต่างๆ				ออกมาได้ (มก./กก.) ที่ระยะเวลาต่างๆ		
	เริ่มต้น	3 ด.	6 ด.	9 ด.	3 ด.-เริ่มต้น	6 ด.-เริ่มต้น	9 ด.-เริ่มต้น
ไม่ใส่เชื้อ	2,588.30 ^a	2,668.30	2,681.20 ^{ab}	2653.20 ^a	80.00	92.90	64.90
134	2,255.00 ^{bc}	2,587.00	2,861.20 ^a	2590.50 ^{ab}	332.00	606.20	335.50
144	2,160.00 ^c	2,714.30	2,341.70 ^c	2394.50 ^c	554.33	175.70	234.50
146	2,331.70 ^{bc}	2,699.60	2,443.30 ^{bc}	2437.20 ^{bc}	367.90	111.60	105.50
148	2,463.30 ^{ab}	2,645.20	2,870.00 ^a	2482.10 ^{abc}	181.83	406.70	18.80
F-test	**	ns	**	*			
C.V. (%)	7.88	6.49	7.42	5.81			

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยตามแนวตั้งที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ $p \leq 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี LSD, ns=แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ $p \geq 0.05$, *=แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.05$, ** = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ $p \leq 0.01$

ตารางที่ 9 ความสามารถในการดูดใช้ฟอสฟอรัสที่ระยะ 3, 6 และ 9 เดือน ของแต่ละกรรมวิธี

กรรมวิธี	การดูดใช้ฟอสฟอรัสของพืช (%) ที่ระยะเวลาต่างๆ		
	3 ด.	6 ด.	9 ด.
ไม่ใส่เชื้อ	2.38 ^b	0.065 ^a	0.035 ^b

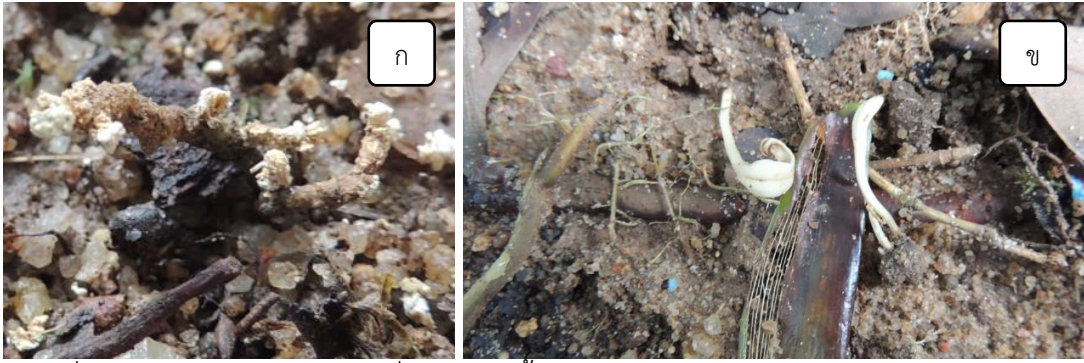
134	1.69 ^c	0.046 ^b	0.052 ^a
144	2.57 ^b	0.05 ^{ab}	0.045 ^{ab}
146	2.94 ^b	0.037 ^b	0.053 ^a
148	3.61 ^a	0.053 ^{ab}	0.054 ^a
F-test	**	*	*
C.V. (%)	19.48	27.32	23.68

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยตามแนวตั้งที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ $p \leq 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี LSD, * = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.05$, ** = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ $p \leq 0.01$

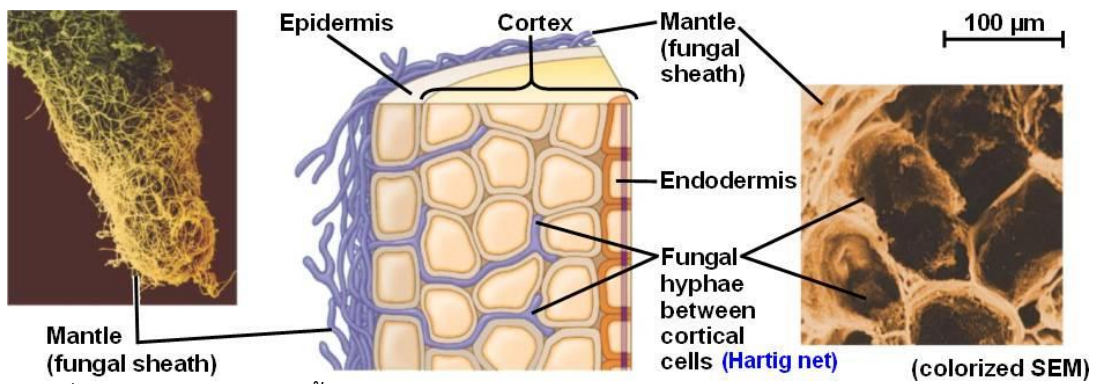
ตารางที่ 10 การเข้ารากของเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาที่ระยะ 3, 6 และ 9 เดือน ของแต่ละกรรมวิธี

กรรมวิธี	การเข้ารากของเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาที่ระยะเวลาต่างๆ (%)		
	3 ด.	6 ด.	9 ด.
ไม่ใส่เชื้อ	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c
134	13.06 ^{ab}	4.44 ^{ab}	18.33 ^a
144	15.09 ^a	4.54 ^{ab}	6.67 ^b
146	11.86 ^{ab}	3.33 ^b	8.34 ^b
148	9.82 ^b	6.67 ^a	6.12 ^b
F-test	**	**	**
C.V. (%)	38.16	52.56	48.98

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยตามแนวตั้งที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ $p \leq 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี LSD, ** = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ $p \leq 0.01$



ภาพที่ 1 ก) ลักษณะรากลมังกุดที่มีเส้นใยเชื้อรา *Clavaria vermicularis* Fr. ปกคลุม ข) เชื้อรา *Clavaria vermicularis* Fr. เจริญบริเวณรากลมังกุด



ภาพที่ 2 การเข้าสู่รากของเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซา (Wikiwand, 2562)