 doi: 10.14457/KU.res.2020.15

การสำรวจ จำแนก และคัดเลือกเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซา ที่ละลายฟอสเฟตได้จากดินสวนมังคุด

Survey, Classification and Selection of Phosphate-solubilizing Ectomycorrhiza from Mangosteen Orchard Soils

ปิยะมาศ โสมภีร์[1*] ปวริศร์ อินทพุก[1] และ เฉลิมพล เอี่ยมพลับ[2]
Piyamat Somphee[1*], Pawarit Intapook[1] and Chalermpol Eiamplub[2]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาในกลุ่มเห็ดขนาดใหญ่ที่มีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตได้ จากการสำรวจเห็ดในสวนมังคุดของศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี ศูนย์พัฒนาไม้ผลเศรษฐกิจภาคตะวันออก และแปลงเกษตรกรในจังหวัดจันทบุรี จากนั้นนำมาคัดแยกเชื้อบริสุทธิ์ จำแนกและคัดเลือกเฉพาะเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซา ผลการทดลองพบว่า สำรวจพบเห็ดทั้งหมด 161 ชนิด สามารถคัดแยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ 33 ชนิด และเมื่อนำมาจำแนกพบว่าเป็นเห็ดเอ็คโตไมคอร์ไรซา 5 ชนิด คือ *Laccaria fraternal* (ไอโซเลท 109), *Clavaria vermicularis* (ไอโซเลท 134), *Amanita hemibapha* (ไอโซเลท 144), *Termitomyces tylerianus* (ไอโซเลท 146) และ *Boletus griseipurpureus* (ไอโซเลท 148) เมื่อทดสอบประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟต และหาปริมาณการละลายฟอสเฟตทดสอบบนอาหาร PDA และ PDB ที่เติม $Ca_3(PO_4)_2$ ตามลำดับ ที่ระยะ 3, 5, 7, 9 และ 11 วัน หลังจากปลูกถ่ายเชื้อบนอาหาร PDA เป็นเวลา 3 วัน พบว่า ไอโซเลท 134, 144, 146 และ 148 สามารถละลายฟอสเฟตบนอาหาร PDA ผสม $Ca_3(PO_4)_2$ โดยสร้างวงใสได้ ในขณะที่ในอาหาร PDB ผสม $Ca_3(PO_4)_2$ พบว่า ไอโซเลท 144 มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตได้มากที่สุด โดยให้ปริมาณฟอสฟอรัส 15.39±3.43 %ฟอสฟอรัส/กรัมน้ำหนักแห้งของเชื้อ

คำสำคัญ: เอ็คโตไมคอร์ไรซา, มังคุด, เชื้อราละลายฟอสเฟต

Abstract

The aim of this research was to select potential phosphate solubilizing ectomycorrhizal fungi. Survey of mangosteen orchards of Chanthaburi Horticultural Research Center, Eastern Fruit Crop Development Center and Chanthaburi growers were performed. There were 161 mushroom species collected and 33 species of which were able to be isolated into pure culture. Only five ectomycorrhizas were classified as *Laccaria fraternal* (isolate 109), *Clavaria vermicularis* (isolate 134), *Amanita hemibapha* (isolate 144), *Termitomyces tylerianus* (isolate 146) and *Boletus griseipurpureus* (isolate 148). Phosphate solubilizing efficiency and amount of solubilized phosphate gained were examined on PDA and PDB, respectively, both supplemented with $Ca_3(PO_4)_2$ at 3, 5, 7, 9 or 11 days. After 3 days on inoculation, the isolations 134, 144, 146 and 148 showed clear zone on PDA added with $Ca_3(PO_4)_2$, whilst on PDB added with $Ca_3(PO_4)_2$, the isolation 144 represented the greatest phosphate solubilizer ectomycorrhiza yielding 15.39±3.43 %P/g fungal DW.

Keywords: ectomycorrhizal, mangosteen, phosphate solubilizing fungi

คำนำ

เกษตรกรที่ปลูกมังคุดในเขตจังหวัดจันทบุรีใส่ปุ๋ยฟอสฟอรัสโดยเฉพาะสูตร 8-24-24 มาก ในช่วงกระตุ้นตาดอก ทำให้เกิดการตกค้างของปุ๋ยฟอสฟอรัส และเกิดสภาวะการตรึงฟอสฟอรัสทำให้พืชไม่สามารถดูดไปใช้ได้ จากการศึกษาของพันธุ์ทิพย์ (2543) ได้สำรวจปริมาณธาตุอาหารในดินปลูกมังคุด ตำบลพลับพลา อำเภอเมือง จังหวัดจันทบุรี

[1] ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี 22110

[1] Chanthaburi Horticultural Research Center, Horticultural Research Institute, Department of Agricultural, Khlung, Chanthaburi 22110

[2] สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 6 กรมวิชาการเกษตร อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี 22110

[2] Office of Agricultural Research and Development Region 6, Department of Agricultural, Khlung, Chanthaburi 22110

* Corresponding author: somphee@windowslive.com

 doi: 10.14457/KU.res.2020.15

พบว่ามีปริมาณฟอสฟอรัสในระดับสูง ซึ่งน่าจะเกิดจากการใส่ปุ๋ยที่มีฟอสฟอรัสในปริมาณมากเกินความจำเป็น จากการศึกษาของสุมิตรา และคณะ (2547) ซึ่งได้ศึกษาการจัดการธาตุอาหารในสวนมังคุด ในเขตจังหวัดจันทบุรี ระยอง และตราด โดยการเก็บตัวอย่างดินมากกว่า 1,500 ตัวอย่าง มาวิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหาร พบว่าตัวอย่างดินในสวนต่าง ๆ มากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณฟอสฟอรัสสะสมในดินอยู่เป็นจำนวนมากเกินความจำเป็น โดยบางสวนมีปริมาณธาตุฟอสฟอรัสสูงถึง 2,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ในขณะที่ปริมาณฟอสฟอรัสที่เหมาะสมและเพียงพอต่อความต้องการอยู่ระหว่าง 20-30 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เท่านั้น (สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร, 2557) การจัดการมักแนะนำให้ใส่เชื้อจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต หรือเอ็นโดไมคอร์ไรซา แต่เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดนี้เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่หาซื้อยากและเกษตรกรไม่สามารถขยายหัวเชื้อได้เอง จึงมีแนวทางใช้ประโยชน์จากเชื้อเห็ดเอ็คโตไมคอร์ไรซา ซึ่งเป็นเชื้อราในกลุ่มที่สามารถดูดใช้ฟอสฟอรัสให้แก่พืชได้เช่นเดียวกัน และเป็นเชื้อราที่นำมาขยายเชื้อได้ง่าย เพราะเป็นราขนาดใหญ่ (เห็ด) จากการสังเกตบริเวณโคนต้นมังคุดพบการเจริญเติบโตของเห็ดหลายชนิด ซึ่งบางชนิดเป็นเห็ดในกลุ่มของเอ็คโตไมคอร์ไรซา ที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟต และดูดซับฟอสฟอรัสให้เป็นประโยชน์แก่พืชได้ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกหาเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาที่มีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตได้ดี เพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งให้แก่เกษตรกรนำไปปรับใช้ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ขั้นตอนที่ 1 การสำรวจ และจำแนกเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซา

สำรวจหาเห็ดในแปลงทดลองมังคุดของศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี ศูนย์พัฒนาไม้ผลเศรษฐกิจภาคตะวันออก และแปลงเกษตรกรผู้ปลูกมังคุดในจังหวัดจันทบุรี นำเห็ดที่รวบรวมได้มาแยกเชื้อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ตามวิธีของจิตนา และ ศิริภา (2545) จากนั้นนำมาจำแนกเห็ดเอ็คโตไมคอร์ไรซาตามลักษณะสัณฐานวิทยา โดยใช้ตำรา เอกสารวิชาการ เกี่ยวกับการจัดจำแนกเห็ดของ อนงค์ (2550); อนงค์ และคณะ (2551); Pavlidis *et al*. (2005); Arumanayagam and Arunmani (2014) และ Degreef *et al*. (2016) โดยทำการสำรวจในช่วงเดือนตุลาคม 2558 ถึง เดือนกันยายน 2559

ขั้นตอนที่ 2 การทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟตของเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซา

นำเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซามาทำการปลูกเชื้อ (inoculate) ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาสามารถเจริญได้ดีจากขั้นตอนที่ 1 จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะส่วนขอบโคโลนีของเส้นใยมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เติมไตรแคลเซียมฟอสเฟต ($Ca_3(PO_4)_2$) 5 กรัม/ลิตร วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีและ clear zone แล้วนำมาคำนวณหาอัตราส่วนระหว่างโคโลนี ต่อ clear zone นำค่าที่ได้มาวิเคราะห์สถิติ แล้วเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพที่ดีจำนวน 5 ไอโซเลท เพื่อทำการทดสอบหาปริมาณการละลายฟอสเฟต โดยมีวิธีการคือ เลี้ยงเชื้อราที่มีประสิทธิภาพดีทั้ง 5 ไอโซเลท บนอาหาร PDA เมื่อเชื้อราเจริญเติบโตเต็มจานเพาะเชื้อ ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะเอาส่วนปลายของเส้นใยมาทำการปลูกถ่ายลงในอาหารเหลว PDB ที่มีการเติมแหล่งฟอสฟอรัสในรูปที่ละลายยาก คือ ไตรแคลเซียมฟอสเฟต (0.5 กรัม/25 มิลลิลิตร) เปรียบเทียบกับไม่ใส่เชื้อ นำมาหาปริมาณฟอสฟอรัสที่เวลา 3, 5, 7, 9 และ 11 วัน โดยนำมากรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 จากนั้นนำสารละลายที่กรองได้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมสาร vanadate reagent 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน KH_2PO_4 ที่ความเข้มข้น 0, 4, 8, 12, 16 และ 20 มิลลิกรัม/ลิตร นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่กรองได้ในส่วนที่เหลือนำมาวัดค่า pH และนำตัวอย่างเชื้อที่กรองได้ไปอบหาน้ำหนักแห้ง โดยชั่งน้ำหนักกระดาษกรองไว้ก่อน เมื่อกรองตัวอย่างเชื้อแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จนกว่าจะแห้ง จากนั้นนำมาหาน้ำหนักแห้ง เปรียบเทียบความสามารถในการละลายฟอสเฟตกับน้ำหนักแห้งของเชื้อ 1 กรัม นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์สถิติ เพื่อสรุปผล

ผลการทดลอง

การสำรวจ และจำแนกเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซา

จากการเก็บรวบรวมเชื้อเห็ดที่เจริญบริเวณโคนต้นมังคุด ในแปลงมังคุดของศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี ต.ตะปอน อ.ขลุง จ.จันทบุรี จำนวน 3 จุด ได้แก่ แปลงมังคุดศูนย์เรียนรู้ มีเนื้อที่ 12 ไร่, แปลงรวบรวมพันธุ์พืชสกุล *Garcinia* ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี เนื้อที่ 5 ไร่ และเส้นทางเดินโครงการท่องเที่ยวเชิงเกษตร ระยะทางประมาณ 700 เมตร, แปลงมังคุดศูนย์พัฒนาไม้ผลเศรษฐกิจภาคตะวันออก ต.บ่อเวฬุ อ.ขลุง จ.จันทบุรี เนื้อที่ 3 ไร่ และทำการสำรวจแปลงมังคุดของเกษตรกร จำนวน 1 แปลง ต.พลับพลา อ.เมืองฯ จ.จันทบุรี เนื้อที่ประมาณ 12 ไร่ สามารถเก็บรวบรวมได้จำนวน 161 ตัวอย่าง

นำตัวอย่างที่รวบรวมได้มาคัดแยกเชื้อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์สามารถคัดแยกได้ทั้งหมด 33 ตัวอย่าง คือ ไอโซเลท 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 เมื่อนำมาจำแนก พบว่าเป็นเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซา จำนวน 5

 doi: 10.14457/KU.res.2020.15

ตัวอย่างคือ *Laccaria fraternal* (ไอโซเลท 109), *Clavaria vermicularis* (ไอโซเลท 134), *Amanita hemibapha* (ไอโซเลท 144), *Termitomyces tylerianus* (ไอโซเลท 146) และ *Boletus griseipurpureus* (ไอโซเลท 148) (Table 1)

Table 1 Classification of ectomycorrhiza 5 isolates based on morphological characteristics.

Isolate number	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	Common name	Fig.
109	Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Tricholomataceae	*Laccaria*	*fraternal*	deceiver	
134	Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Clavariaceae	*Clavaria*	*vermicularis*	fairy fingers, เห็ดหนอนขาว, ปะการัง	
144	Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Pluteaceae	*Amanita*	*mibapha*	ไข่เหลือง, ระโงกเหลือง	
146	Basidiomycota	Agaricomycetes	Phallales	Lyophyllaceae	*Termitomyces*	*tylerianus*	โคนขาว	
148	Basidiomycota	Agaricomycetes	Boletales	Boletaceae	*Boletus*	*griseipurpureus*	เห็ดเสม็ด	

Note: The classification was based on อนงค์ (2550); อนงค์ และคณะ (2551); Pavlidis *et al*. (2005); Arumanayagam and Arunmani (2014) and Degreef *et al*. (2016).

การทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟตของเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซา

คัดเลือกเฉพาะเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาจำนวน 5 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท 109, 134, 144, 146 และ 148 พบว่า ไอโซเลท 144 มีอัตราส่วนระหว่างโคโลนีต่อวงใส (colony : clear zone) มากที่สุด 25.44±0.20 มิลลิเมตร รองลงมาคือ ไอโซเลท 146 และ ไอโซเลท 148 กับไอโซเลท 134 (21.11±1.17, 12.03±0.58 และ 10.67±1.15 มิลลิเมตร ตามลำดับ) ในขณะที่ไอโซเลท 109 ไม่สร้างวงใส (Table 2) จากนั้นนำตัวอย่างเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาทั้ง 5 ตัวอย่างมาทดสอบการละลายฟอสเฟตในอาหาร PDB โดยเติมไตรแคลเซียมฟอสเฟต หาปริมาณฟอสฟอรัสทุก 3, 5, 7, 9 และ 11 วัน ผลการทดลองพบว่า ไอโซเลท 109, 144, 146 และ 148 สามารถละลายฟอสฟอรัสออกมาได้มากที่สุดที่ 3 วัน โดยไอโซเลท 144 มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตได้มากที่สุด โดยให้ปริมาณฟอสฟอรัส 15.39±3.43 %ฟอสฟอรัส/1 กรัม น้ำหนักแห้งของเชื้อ รองลงมาคือไอโซเลท 146 มีปริมาณฟอสฟอรัส 11.02±0.56 %ฟอสฟอรัส/1 กรัม น้ำหนักแห้งของเชื้อ และไอโซเลท 148 พบ 5.11±1.35 %ฟอสฟอรัส/1 กรัม น้ำหนักแห้งของเชื้อ ส่วนไอโซเลท 109 และ 134 มีการดูดฟอสฟอรัสไปใช้ในการสร้างเซลล์จึงทำให้ปริมาณลดลง (1.58±0.23 และ 0.81±0.1 %ฟอสฟอรัส/1 กรัม น้ำหนักแห้งของเชื้อ ตามลำดับ) เปรียบเทียบกับ control (3.56±0.44%) อย่างไรก็ตามพบว่าเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซา ไอโซเลท 134 มีการปลดปล่อยฟอสฟอรัสออกมาตามระยะเวลา (Table 3) โดยพบว่าปริมาณฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ และ เมื่อนำอาหารเลี้ยงเชื้อที่กรองได้มาวัดค่า pH พบว่า ไอโซเลท 134 มีค่า pH มากกว่าตัวอย่างเชื้ออื่น (5.41±0.79 - 6.45±0.05) ในขณะที่ตัวอย่างเชื้ออื่น ๆ มีค่า pH อยู่ในช่วง 3-4 (Table 4)

 doi: 10.14457/KU.res.2020.15

Table 2 Ratio of colony to clean zone of ectomycorrhizal fungi after 3 days of incubation.

Isolate number	colony: clean (mm.)[1/]
109	no clean zone
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

± = standard deviation

[1/] = In a column, mean followed by a common letter are not significantly different at 5% level by LSD

** = highly significant

Table 3 Phosphate solubilizing capacity of ectomycorrhizal fungi at 3, 5, 7, 9 and 11 days after incubation.

Isolate number	%P (%P/dw. 1 g)[1/]				
	3 days	5 days	7 days	9 days	11 days
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	15.60	21.19

± = standard deviation

[1/] = In a column, mean followed by a common letter are not significantly different at 5% level by LSD

** = highly significant

Table 4 pH value of the medium after 3, 5, 7, 9 and 11 days of incubation.

Isolate number	pH of incubation periods[1/]				
	3 days	5 days	7 days	9 days	11 days
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

± = standard deviation

[1/] = In a column, mean followed by a common letter are not significantly different at 5% level by LSD

** = highly significant

 doi: 10.14457/KU.res.2020.15

วิจารณ์

จากการสำรวจเห็ดบริเวณโคนต้นมังคุด พบว่าบริเวณที่มีความชื้นมากไม่มีการกวาดใบมังคุดที่ร่วงหล่นทิ้งออกจากแปลงมังคุด มีการเจริญเติบโตของเห็ดมากกว่าสวนมังคุดที่มีการทำความสะอาดดี ทั้งนี้เนื่องจากการเจริญเติบโตของเห็ดมีปัจจัยที่เกี่ยวข้อง คือ แสงสว่าง อุณหภูมิ ความชื้นอากาศ ความเป็นกรด-ด่างของดิน สารอาหาร และแรงดึงดูดของโลก โดยทั่วไปเห็ดจะเจริญเติบโตได้ดีในที่อากาศถ่ายเทได้สะดวก ไม่มีน้ำท่วมขังหรือเปียกชื้นมากเกินไป มีระบบการระบายน้ำที่ดี ไม่เป็นแหล่งที่มีสารปนเปื้อนยาฆ่าแมลงและเชื้อราอื่น ๆ ลักษณะของสภาพดินไม่เป็นดินเค็มเพราะความเค็มของดินจะทำให้เส้นใยของเห็ดไม่รวมตัวกันเป็นดอกเห็ด (บุญยัง และ สันติ, 2559)

จากการทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟตของเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซา 5 ไอโซเลท พบว่า มี 4 ไอโซเลทที่สามารถสร้างวงใสได้ คือ ไอโซเลท 134 (*Clavaria vermicularis*), ไอโซเลท 144 (*Amanita hemibapha*), ไอโซเลท 146 (*Termitomyces tylerianus*) และ ไอโซเลท 148 (*Boletus griseipurpureus*) และเมื่อนำมาทดสอบในอาหาร PDB ที่เติม $Ca_3(PO_4)_2$ พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสได้ แสดงว่าเชื้อราทั้ง 4 ไอโซเลทนี้มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ phytase, phosphatase, nucleotidases และ glecerophosphatase นอกจากนี้เมื่อวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่ามีสภาพเป็นกรด ซึ่งกรดที่สร้างขึ้นอาจจะเป็นกรดอินทรีย์ เช่น กรดฟอร์มิค, อะซิติค, โปรปิโอนิค, แลคติค, ไกลโคลิค, ฟูมาริค และ ซัคซินิค หรือกรดอนินทรีย์ เช่น กรดไนตริค และซัลฟูริค (ธงชัย, 2550) กรดอินทรีย์ที่เชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาผลิตขึ้นนี้จะไปสลายพันธะของฟอสเฟตที่จับอยู่กับ สังกะสี, อะลูมิเนียม, แคลเซียม และแมกนีเซียม ที่ตกตะกอนให้กลับมาอยู่ในสารละลายดินและเป็นประโยชน์ต่อพืชได้ (Chung *et al*., 2005)

ในปัจจุบันมีการศึกษาพบเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซา ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและช่วยเพิ่มอัตราการอยู่รอด (survival rate) ของกล้าไม้เมื่อนำไปปลูกในพื้นที่แห้งแล้งและเสื่อมโทรม (Pampolina *et al*., 1999) เนื่องจากเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาจะช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวราก และผลิตธาตุอาหารบางชนิด ทำให้กล้าไม้ทนทานต่อสภาพแห้งแล้งและช่วยเร่งให้ต้นไม้มีอัตราการเติบโตสูงถึง 1-5 เท่าจากอัตราปกติ (Marx, 1972 และ Kikuchi *et al*., 1999) ซึ่ง Sihanonth and Todd (1977) รายงานว่าในเซลล์ท่อน้ำ และท่ออาหารของรากพืชที่มีเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาอาศัยอยู่จะมีธาตุแมกนีเซียม, ฟอสฟอรัส, กำมะถัน, โพแทสเซียม และ แคลเซียม มากกว่ารากพืชที่ไม่มีเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาอาศัยอยู่

การอยู่ร่วมกันของเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซา และพืช เป็นการอยู่ร่วมกันแบบภาวะพึ่งพากัน (mutualism) ระหว่างเชื้อรา (fungi) และรากพืช โดยที่พืชได้รับน้ำ และธาตุอาหาร เช่น ฟอสฟอรัส และไนโตรเจนจากเชื้อรา ในขณะที่เชื้อราได้รับสารอาหารที่จำเป็น เช่น น้ำตาล, กรดอะมิโน และวิตามินจากพืชผ่านทางระบบราก เส้นใยของเชื้อราจะเจริญรอบ ๆ ราก และสานตัวเป็นแผ่นหรือเป็นปลอกหุ้มเรียกว่าแมนเทิล (mantle) ซึ่งจะมีสีและความหนาแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อรา เส้นใยบางส่วนจากแมนเทิลจะเจริญเข้าไปอยู่ในช่องว่างระหว่างเซลล์ชั้นเอพิเดอร์มิส และชั้นคอร์เทกซ์ของรากพืช แล้วเจริญสานกันเป็นตาข่ายอยู่รอบ ๆ เซลล์ เรียกว่า ฮาทิกเนท (hartig net)

เชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาส่วนใหญ่อยู่ในไฟลัมเบสิดิโอไมโคตา (Phylum Basidiomycota) และบางส่วนอยู่ในไฟลัมแอสโคไมโคตา (Phylum Ascomycota) และไฟลัมไซโกไมโคตา (Phylum Zygomycota) เมื่ออยู่ในสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม เชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาจะสร้างดอกเห็ดทั้งที่อยู่บนดิน และใต้ดิน เชื้อราที่สร้างดอกเห็ดบนดิน เช่น เห็ดลูกฝุ่น (*Rhizopogon*) และเห็ดน้ำนม (*Lactarius*) เป็นต้น บางชนิดนิยมนำมารับประทาน เช่น เห็ดระโงกเหลือง (*Amanita hemibapha*) และเห็ดน้ำหมาก (*Russula*) เป็นต้น ส่วนเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาที่สร้างดอกเห็ดใต้ดิน เช่น เห็ดเผาะ (*Astraeus*) และเห็ดทรัฟเฟิล (truffle) ซึ่งเป็นเห็ดที่นิยมรับประทานมากในประเทศเขตหนาว (กฤษณา และคณะ, ม.ป.ป.)

สรุป

จากการสำรวจ รวบรวม และจำแนกเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาจากสวนมังคุดในศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี, ศูนย์พัฒนาไม้ผลเศรษฐกิจภาคตะวันออก และสวนเกษตรกรในจังหวัดจันทบุรี จำนวน 1 ราย พบเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซา 5 ชนิด คือ *Laccaria fraternal*, *Clavaria vermicularis*, *Amanita hemibapha*, *Termitomyces tylerianus* และ *Boletus griseipurpureus* แต่พบว่ามีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตเพียง 4 ไอโซเลท คือไอโซเลท 134 (*Clavaria vermicularis*), ไอโซเลท 144 (*Amanita hemibapha*), ไอโซเลท 146 (*Termitomyces tylerianus*) และ ไอโซเลท 148 (*Boletus griseipurpureus*)

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่สนับสนุนให้ทุนอุดหนุนวิจัย และขอขอบคุณผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่านที่ช่วยให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

 doi: 10.14457/KU.res.2020.15

เอกสารอ้างอิง

กฤษณา พงษ์พานิช, จันจิรา อายะวงศ์, จิรพรรณ โสภี, ปานรดา แจ้งสันเทียะ และ อำนาจ ภูขุนทด. ม.ป.ป. ความหลากชนิด บทบาทเชิงนิเวศ และการใช้ประโยชน์ของจุลินทรีย์ในพื้นที่กลุ่มป่าภูเขียว-น้ำหนาว. รายงานผลงานวิจัย สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช. 53 หน้า.

จิตนา บุพบรรพต และ ศิริภา โพธิ์พินิจ. 2545. การใช้ประโยชน์ของเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซากับกล้าไม้วงศ์ไม้ยาง : I. ความหลากหลายของเชื้อราเอ็คโตไมคอร์ไรซาในสวนป่าไม้วงศ์ยางบางชนิดและการแยกเชื้อรา, น. 394-406. *ใน* รายงานการประชุมวิชาการป่าไม้ ประจำปี 2545. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ธงชัย มาลา. 2550. ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ: เทคนิคการผลิตและการใช้ประโยชน์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

บุญยัง สิงห์เจริญ และ สันติ สาแก้ว. 2559. ระบบควบคุมอุณหภูมิและความชื้นในโรงเรือนเพาะเห็ด, น. 176-183. *ใน* การประชุมวิชาการระดับชาติมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ ครั้งที่ 1. 22 มิถุนายน 2559, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ. พระนครศรีอยุธยา.

พันธุ์ทิพย์ นนทรี. 2543. การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบมังคุด. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

สุมิตรา ภู่วโรดม, พรทิวา กัญยวงศ์หา, นุจรี บุญแปลง และ ชัยวัฒน์ มครเพศ. 2547. การวิเคราะห์พืชเพื่อเป็นแนวทางการใส่ปุ๋ยในมังคุด. รายงานผลการวิจัย สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. 160 หน้า.

สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร. 2557. ลดค่าปุ๋ยในไม้ผล. แหล่งที่มา: http://www.arda.or.th/ easyknowledge/ easy-articles-detail.php?id=327, 30 มีนาคม 2557.

อนงค์ จันทร์ศรีกุล. 2550. เห็ดในประเทศไทย ฉบับราชบัณฑิตสถาน. สำนักพิมพ์ราชบัณฑิตสถาน, กรุงเทพฯ.

อนงค์ จันทร์ศรีกุล, พูนพิไล สุวรรณฤทธิ์ และ อุทัยวรรณ แสงวณิช. 2551. ความหลากหลายของเห็ดและราขนาดใหญ่ในประเทศไทย. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

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.

Chung, H., M. Park, M. Madhaiyan, S. Seshadri, J. Song, H. Cho and T. Sa. 2005. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of crop plants of Korea. Soil Biology and Biochemistry 37: 1970-1974.

Degreef, J., L. Demuynck, 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.

Kikuchi, J., M. Ogawa and K. Iwase. 1999. Development of nursery techniques utilizing microorganisms, pp. 155-181. *In* Research Report on Reforestation of Tropical Forest. Kyoto, Japan.

Marx, D.H. 1972. Growth of mycorrhizal and nonmycorrhizal shortleaf pine in soil with *Phytophthora cinnamom*i. Phytopathol 63: 18-23.

Pampolina, N.M., R.E. de la Cruz and M.U. Garcia. 1999. Ectomycorrhizal root and fungi of *Philippine Dipterocarps*. ACIAR Canberra, Australia.

Pavlidis T., M. Ilieva, S. Bencheva and J. Stancheva. 2005. Researches on wood-destroying fungi division Ascomycota, Classis Ascomycetes. Available Source: file:///C:/Users/User/Downloads/ Researches_on_ wood-destroying_fungi_division_Ascom.pdf, October 1, 2019.

Sihanonth, P. and R.L. Todd. 1977. Transfer of nutrients from mycorrhizal fungi to plant root, pp. 392-397. *In* U. Lohm and T. Persson, eds. Ecological Bulletins no.25 from proceedings of the 6th International Colloquium on Soil Zoology. Swedish Natural Science Research Council, Stockholm.