วารสารแก่นเกษตร
THAIJO

Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

Journal Home Page : https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj

การศึกษาชนิดของพืชอาศัยและปริมาณเชื้อเห็ดระโงกที่เหมาะสมต่อการเจริญของกล้าไม้วงศ์ยางภายใต้สภาวะโรงเรือนปลูกพืช

The study on host plants and the quantity of ectomycorrhiza (*Amanita princeps*) mushroom suitable for growth in Dipterocarpaceae seedlings under greenhouse

ธนภักษ์ อินยอด[1]*, ธนากร ลัทธิ์ถีระสุวรรณ[2], ธนภัทร เติมอารมย์[1], ชาตรี กอนี[1], สุริมา ญาติโสม[1], ณัฐพัชร์ ศรีหะนัลต[3], อนุพงศ์ กาบจันทร์[4] และอลิษา อินจันทร์[2]

Tanapak Inyod[1]*, Thanakorn Lattirasuvan[2], Thanapat Termarom[1], Chatree Konee[1], Surima Yatsom[1], Natthapach Srihanant[3], Anupong Gabjun[4] and Alisa Injan[2]

[1] *สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) อ. คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120*
[1] *Thailand Institute of Scientific and Technological Research (TISTR), Khlong Luang, Pathum Thani 12120*
[2] *มหาวิทยาลัยแม่โจ้-แพร่ เฉลิมพระเกียรติ อ. ร้องกวาง จ. แพร่ 54140*
[2] *Maejo University, Phrae Campus, Rong Kwang, Phrae 54140*
[3] *มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา 90110*
[3] *Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkla 90110*
[4] *สถานีวิจัยต้นน้ำน่าน อ. เวียงสา จ. น่าน 55110*
[4] *Nan Watershed Research Station, Wiang Sa, Nan 55110*

บทคัดย่อ: เห็ดระโงกขาว (*Amanita princeps* Corner & Bas) เป็นเห็ดป่าไมคอร์ไรซาเจริญบริเวณรอบรากพืช ดำรงชีวิตแบบพึ่งพาอาศัยเกื้อกูลกันกับพืช (symbiosis) และมีมูลค่าทางเศรษฐกิจสูงในประเทศไทย การแยกเชื้อบริสุทธิ์จากดอกเห็ดระโงกขาวบนอาหาร Modified Melin-Norkrans (MMN) พบว่าเส้นใยสามารถเจริญบนอาหารเพาะเลี้ยงใช้เวลา 60 วัน จากนั้นนำมาวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์สามารถจัดจำแนกชนิดของเห็ดระโงกขาวโดยมีค่าความเหมือนทางพันธุกรรม 99.57 เปอร์เซ็นต์ (ON794332.1) จึงนำมาทดสอบชนิดของพืชอาศัยและปริมาณเชื้อเห็ดระโงกขาวที่เหมาะสมต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช และหาเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซามากที่สุด ในไม้วงศ์ยาง 4 ชนิด ได้แก่ ต้นยางนา (*Dipterocarpus alatus* Roxb. ex G.Don), พะยอม (*Shorea roxburghii* G.Don), รัง (*Shorea siamensis*) และตะเคียนทอง (*Hopea odorata*) อายุ 6 เดือน วางแผนการทดลอง 3x4 แฟกทอเรียล ในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยใส่เชื้อเห็ดระโงกอัตรา 0, 25 และ 50 มิลลิลิตร/ต้น ผลการทดลองพบว่าอัตราการใส่เชื้อที่ 25 มิลลิลิตร/ต้น เป็นอัตราที่เหมาะสมที่สุด และต้นยางนาเป็นกล้าไม้พืชอาศัยที่เหมาะสมของเชื้อเห็ดระโงกขาว โดยส่งผลต่อการเจริญเติบโตมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกล้าไม้ชนิดอื่นและต้นที่ไม่ได้รับการใส่เชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยมีอัตราการเจริญเติบโต (growth rate) ด้านความสูง เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น ความยาวราก จำนวนราก ปริมาณมวลชีวภาพส่วนเหนือดิน และเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซา เฉลี่ยเท่ากับ 19.80±0.44 เซนติเมตร, 5.62±0.28 มิลลิเมตร, 1,397.42±17.07 เซนติเมตร, 5,919.67 ราก/ต้น, 31.87±3.31 กรัม และ 65.30±5.59 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ
คำสำคัญ: เห็ดระโงกขาว; นิวคลีโอไทด์; ไม้วงศ์ยาง; เอคโตไมคอร์ไรซา; มวลชีวภาพ

ABSTRACT: Micorrizal mushroom (*Amanita princeps* Corner & Bas) normally grows around the plant roots with survival of its symbiosis system, and it presents high economic value in Thailand. The purification of *A. princeps,* growing on Modified Melin-Norkrans (MMN) exhibited the mycelia that was in the full growth within 60 days. The

* Corresponding author: Tanapuk@tistr.or.th

Received: date; January 11, 2023 Accepted: date; October 17, 2023 Published: date

results showed 99.57% (ON794332.1) genetic similarity to that of the nucleotides of this micorrizal mushroom. Then, the investigation on finding the suitable host plants and the appropriate quantity of inoculum of *A. princeps* for promoting ectomycorrhiza rooting in 4 species of 6-month-age-Dipterocarpaceae family: *Dipterocarpus alatus* Roxb. ex G.Don*, Shorea roxburghii* G.Don, *Shorea siamensis,* and *Hopea odorata,* were carried out. The process was on factorial arrangement in a completely randomized design by using inoculum at 0, 25, and 50 ml/plant for the treatments. The experiments revealed that the 25 ml/plant was the most appropriate concentration and *D. alatus* was the best representative plant host for *A. princeps* growth. According to the results, this mushroom could significantly grow in *D. alatus*, much better than those of the other plants (P≤0.05). The growth rate in their seedling height, stem diameter, roots length, lateral root numbers, biomass of mushroom growing above the ground, and percentage of ectomycorrhiza roots were represented as 19.80±0.44 cm, 5.62±0.28 mm, 1,397±17.07 cm, 5,919.67 root/plant, 31.87±3.31 gram, and 65.30±5.59 percent, respectively.
Keywords: *Amanita princeps*; Dipterocarpaceae; ectomycorrhiza; biomass

บทนำ

ไมคอร์ไรซา (mycorrhizas) เป็นกลุ่มเชื้อราที่อาศัยอยู่ร่วมกับรากพืชแบบพึ่งพาอาศัยกัน เอื้อประโยชน์ซึ่งกันและกัน (mutualistic symbiosis) แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ (1) กลุ่มที่อาศัยอยู่ภายในเซลล์ผิวของรากของต้นไม้ เรียกว่าเอ็นโดไมคอร์ไรซา (endomycorrhiza) บางครั้งเรียกว่า Vesicular Arbuscular Mycorrhiza (VAM) ราไมคอร์ไรซากลุ่มนี้ไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า แต่ตรวจสอบได้โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ เชื้อราสร้างสปอร์รูปทรงกลม เส้นใยมี 2 ลักษณะได้แก่ เส้นใย รูปกระบอง (vesicles) และเส้นใยขนาดเล็กประสานกันเป็นกระจุก (arbusculars) และ (2) กลุ่มที่อาศัยอยู่กับเซลล์ผิวของรากต้นไม้ เรียกว่า เอคโตไมคอร์ไรซา (ectomycorrhiza) หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า เห็ดไมคอร์ไรซา เชื้อราอาศัยอยู่บริเวณเซลล์ผิวของรากและเจริญออกมาภายนอกรากของต้นไม้ โดยเส้นใยเชื้อราจะประสานจับตัวกันแน่นภายนอกผิวรากคล้ายรากฝอย มีสีต่างๆ กัน เช่น สีขาว สีทอง สีเหลือง สีน้ำตาล สีแดง สีดำ รากพืชที่มีเส้นใยเห็ดไมคอร์ไรซาเกาะบริเวณผิวรากแตกเป็นง่าม (external hyphae) และสานรวมตัวเป็นกระจุกของเส้นใย (rhizomorph) (Harley and Smith, 1983) โดยเห็ดไมคอร์ไรซาจะช่วยดูดน้ำและธาตุอาหารจากดิน โดยเฉพาะฟอสฟอรัส (P) ให้แก่พืช นอกจากนี้น้ำย่อยของเห็ดไมคอร์ไรซา ยังช่วยให้แร่ธาตุในดินแปรสภาพมาอยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืชทำให้พืชเจริญเติบโตได้ดี ส่วนเห็ดไมคอร์ไรซาก็ได้สารอาหารจากพืชที่ขับออกมาทางรากสำหรับใช้ในการเจริญเติบโต เช่น น้ำตาล โปรตีนและวิตามินต่างๆ (Nopamornbodi, 1995; Brundrett, 2006) นอกจากนี้เส้นใยเห็ดไมคอร์ไรซาที่ห่อหุ้มรากสามารถดูดซับความชุ่มชื้น ทำให้พืชทนต่อสภาพแล้งได้ดี อีกทั้งยังทำหน้าที่เหมือนราเจ้าถิ่นทำให้เชื้อราก่อโรคพืชต่างๆ เข้าทำลายพืชได้ยากขึ้น ส่งผลให้ต้นไม้ที่มีเชื้อเห็ดอาศัยอยู่มีความแข็งแรงต้านทานต่อเชื้อราโรคพืชได้มากขึ้น (ธนภักษ์ และคณะ, 2564) ในปัจจุบันเห็ดไมคอร์ไรซาส่วนใหญ่ยังไม่สามารถเพาะในระบบโรงเรือนได้ ในขณะที่เห็ดกลุ่มนี้หลายชนิดมีความต้องการในตลาดและสร้างมูลค่าทางเศรษฐกิจสูง เช่น เห็ดระโงก เห็ดตะไคล เห็ดถ่าน เห็ดน้ำหมาก และเห็ดเผาะ ราคาอยู่ในช่วงกิโลกรัมละ 40-410 บาท ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับช่วงเวลา ซึ่งเห็ดที่ออกใหม่ๆ ช่วงต้นฤดูฝนจะมีราคาสูง (อุทัยวรรณ, 2547)

เห็ดระโงก เป็นเห็ดไมคอร์ไรซาชนิดหนึ่ง มีความสัมพันธ์กับไม้วงศ์ยางเหมือนเห็ดเผาะ ลักษณะการอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัยกัน เอื้อประโยชน์ซึ่งกันและกันกับรากพืช (Allen, 1991) โดยที่ต่างฝ่ายก็ได้รับประโยชน์ซึ่งกันและกัน อนิวรรต (2542) ได้สำรวจเห็ดป่าไมคอร์ไรซาที่มีความสัมพันธ์กับรากของกล้าไม้ บริเวณพื้นที่สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช พบว่าพันธุ์ไม้ที่มีลักษณะรากเป็นเอคโตไมคอร์ไรซา คือไม้วงศ์ยาง (Dipterocarpaceae) เช่น ยางนา ตะเคียน พะยอม เหียง เต็ง และ รัง เป็นต้น สอดคล้องกับ อัจฉรา และคณะ (2543) พบว่าบริเวณป่าในตำบลเสียว อำเภอโพธิ์ศรีสุวรรณ จังหวัดศรีสะเกษ มีต้นยางนาเป็นต้นไม้ชนิดหลักในพื้นที่ โดยชนิดของเห็ดที่พบในพื้นที่ ได้แก่ เห็ดระโงกขาว เห็ดระโงกเหลือง เห็ดเผาะ และเห็ดตะไคล เป็นต้น ในขณะที่ ประเสริฐ และคณะ (2545) กล่าวคือบริเวณที่เก็บเห็ดไมคอร์ไรซาเป็นจำนวนมาก ได้แก่ บริเวณที่มีต้นพะยอมโดยสามารถพบเห็ดบริเวณใกล้รอบทรงพุ่มเป็นจำนวนมาก ได้แก่ เห็ดน้ำหมาก เห็ดก่อ และเห็ดระโงก ในประเทศไทยมีเห็ดระโงกหลายชนิด เช่น ระโงกแดง ระโงกเหลือง และระโงกขาว โดยชนิดที่กินได้และได้รับความนิยม คือเห็ดระโงกขาว หรือเห็ดไข่ห่านขาว มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Amanita princeps* Corner & Bas สามารถนำมารับประทานได้ ในระยะดอกเห็ดอ่อนมีเนื้อเยื่อหนาสีขาวห่อหุ้ม ทำให้มีลักษณะเป็นก้อนกลมๆ เมื่อดอกเห็ดเจริญเต็มที่

หมวกเห็ด (cap) หนา รูปกลมหรือรูปไข่ สีขาวนวล มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8-17 เซนติเมตร ผิวเรียบเป็นมัน ก้านเห็ด (stalk) ยาว 5-13 เซนติเมตร สีขาว มีรูกลวง เปราะและหักง่าย ส่วนครีบ (gills) ยาวเป็นแผ่นใหญ่ติดอยู่กับก้านดอกซึ่งเป็นลักษณะสำคัญของเห็ดระโงกขาว (ราชบัณฑิตยสถาน, 2550; เกษม, 2537) ส่วนใหญ่สามารถพบเห็ดชนิดนี้ตลอดช่วงฤดูฝนตั้งแต่เดือนพฤษภาคม ถึง กันยายน ที่มีสภาพอากาศในบริเวณที่พบดอกค่อนข้างชื้น ความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 94 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิประมาณ 25-30 องศาเซลเซียส มักพบขึ้นเป็นดอกเดี่ยวหรือเป็นกลุ่ม 4-5 ดอกกระจายอยู่ทั่วไปในป่า (พรรณพร และ ปิยะนุช, 2554)

การนำความรู้เรื่องเห็ดเอกโตไมคอร์ไรซามาประยุกต์ใช้ โดยนำเชื้อมาใส่ลงบริเวณรากของกล้าไม้ เพื่อให้ได้กล้าไม้ที่มีเส้นใยเห็ดไมคอร์ไรซาอยู่ที่รากก่อนที่จะนำไปปลูกในป่าหรือพื้นที่สวนหลังบ้าน สามารถช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของกล้าไม้มากขึ้น และเกิดผลผลิตเป็นดอกเห็ดที่สามารถสร้างรายได้ ส่งผลให้เกิดการปลูกการอนุรักษ์ป่าอย่างยั่งยืน ดังนั้นการศึกษาจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดพืชอาศัยและปริมาณเชื้อเห็ดระโงกขาว ที่เหมาะสมต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโต และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซามากที่สุด ในไม้วงศ์ยาง 4 ชนิด ได้แก่ ยางนา (*Dipterocarpus alatus* Roxb. Ex G.Don), พะยอม (*Shorea roxburghii* G.Don), รัง (*Shorea siamensis*) และตะเคียนทอง (*Hopea odorata*) ในสภาพเรือนทดลอง เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการเลือกใช้กล้าไม้ที่เหมาะสมสำหรับเป็นพืชอาศัยที่ดีของเห็ดระโงก ซึ่งในอนาคตการปลูกป่าปลูกเห็ดจะเป็นประโยชน์ในการแก้ปัญหาเศรษฐกิจชุมชนอย่างยั่งยืน

วิธีการศึกษา

การแยกเชื้อบริสุทธิ์จากดอกเห็ดระโงกขาว

การแยกเชื้อบริสุทธิ์จากดอกเห็ดเริ่มจากคัดเลือกดอกที่สะอาดและสมบูรณ์ ใช้เข็มเขี่ยปลอดเชื้อกรีดเนื้อเห็ดตรงกลางดอกออกเป็นชิ้นเล็ก นำไปวางบนอาหาร Modified Melin-Norkrans Medium (MMN) (Molina and Palmer, 1982) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส แรงดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 วัน จากนั้นนำมาเลี้ยงขยายเพื่อเพิ่มปริมาณเส้นใยในอาหาร MMN ชนิดเหลว บรรจุในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะบริเวณรัศมีรอบนอกของเส้นใยเชื้อรา ใช้เข็มเขี่ยปลอดเชื้อย้ายชิ้นวุ้นที่ตัดจำนวน 3 ชิ้น/ขวด นำไปบ่มเชื้อแบบเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 30 วัน จากนั้นนำเส้นใยเชื้อราในขวดอาหารเตรียมให้อยู่ในรูปสารแขวนลอยเชื้อเห็ด ให้มีปริมาณมวลชีวภาพของเส้นใยเห็ด 4 กรัมต่อ 1 ลิตร ก่อนนำไปใช้ทดสอบพืชอาศัยต่อไป

การระบุชนิดของเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกจากเห็ดระโงกด้วยข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของ Internal transcribed spacer (ITS)

การสกัดดีเอ็นเอจากเส้นใยเห็ดระโงกขาวด้วยการดัดแปลงวิธีการของ CTAB/Chloroform-Isoamyl Alcohol DNA Extraction Protocol (Doyle and Dickson 1987; Cullings 1992) ตรวจสอบด้วยวิธีเจลอิเล็กโทรโพรีซิส ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ดีเอ็นเอ ปริมาตร 2 ไมโครลิตร ผสมกับสีย้อมนิวคลีอิก (Novel Juice/GeneDireX) ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร บรรจุส่วนผสมลงในช่อง (well) แยกชิ้นของดีเอ็นเอ ด้วยกระแสไฟฟ้าคงที่ 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที เปรียบเทียบกับดีเอ็นเอ มาตรฐาน 1 kb (Fermentas, USA)

การทดสอบความจำเพาะของดีเอ็นเอเส้นใยเห็ดระโงกด้วยวิธีพีซีอาร์ โดยการใช้ชุดไพรเมอร์ ITS1 และ ITS4 (White, et al., 1990) ปฏิกิริยาพีซีอาร์ทั้งหมด 12 ไมโครลิตร ประกอบด้วย deonized dH_2O 6.6 ไมโครลิตร, 10X buffer Taq (Vivantis, USA) ปริมาตร 1.2 ไมโครลิตร, 5 พิโคลโมร์/ไมโครลิตร ITS 1F (5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3') และ ITS 4R (5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3') อย่างละ 0.5 ไมโครลิตร, 2 มิลลิโมลาร์ dNTP (Vivantis, USA) ปริมาตร 1.2 ไมโครลิตร, 25 มิลลิโมลาร์ $MgCl_2$ ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร, Taq DNA (Vivantis, USA) ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร และ 10 นาโนกรัม ดีเอ็นเอ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร นำเข้าเครื่องทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ มีจำนวนรอบ เวลา และอุณหภูมิของแต่ละช่วงเวลาดังนี้ denaturation ที่ 94 องศาเซลเซียส 30 วินาที, annealing 55 องศาเซลเซียส 30 วินาที, extension 72 องศาเซลเซียส 1 นาที ทั้งหมด 30 รอบ เมื่อจบปฏิกิริยาทำการตรวจสอบด้วยวิธีเจลอิเล็กโทรโพรีซิส เปรียบเทียบดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 kb นำมาวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ Internal

transcribed spacer (ITS) region เปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราที่มีอยู่ในฐานข้อมูล GenBank หรือ National Center for Biotechnological Information (NCBI) ประเทศสหรัฐอเมริกา (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast. Nucleotides)

การทดสอบชนิดของพืชอาศัย และปริมาณเชื้อเห็ดระโงกขาวที่เหมาะสมภายใต้สภาวะโรงเรือน

เตรียมกล้าไม้เพื่อศึกษาชนิดของพืชอาศัยที่เหมาะสมต่อเชื้อเห็ดระโงกขาว วัสดุที่ใช้เพาะกล้าได้แก่ ทรายผสมขุยมะพร้าว และหน้าดิน (top soil) ในอัตราส่วน 2:1:1 และปรับ pH ของวัสดุเพาะเท่ากับ 5 (ใช้ปูนขาวเพิ่มค่า pH ให้ดิน และใช้ซัลเฟอร์ลดค่า pH ในดิน) นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง บรรจุลงในถุงเพาะชำขนาด 6X10 นิ้ว (กี่กิโลกรัม/ถุง) นำเมล็ดไม้วงศ์ยาง 4 ชนิด ได้แก่ ยางนา พะยอม รัง และตะเคียนทอง ปลูกและดูแลภายใต้สภาพโรงเรือน หลังจากกล้าไม้มีอายุ 4 เดือน นำมาใช้ทดสอบอัตราการใส่เชื้อเห็ดระโงก 3 ระดับ คือ 0, 25 และ 50 มิลลิลิตร/ต้น

หลังจากใส่เชื้อเห็ดเป็นเวลา 6 เดือน วัดอัตราการเจริญเติบโตทางความสูง เส้นผ่านศูนย์กลางทางคอรากของลำต้น ความกว้างทรงพุ่ม จำนวนใบ โดยวัดอัตราการเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้น (growth rate) และคะแนนสุขภาพของกล้าไม้ (ระดับคะแนน 1 = ต่ำที่สุด ถึง 3 = ดีที่สุด ด้วยระบบการให้คะแนน 4 ด้าน ประกอบด้วย ด้านความสูง ด้านรูปร่างทรงพุ่ม ด้านความสมบูรณ์ของใบ และด้านการเข้าทำลายของโรคและแมลง) ปริมาณมวลชีวภาพส่วนเหนือดิน (น้ำหนักแห้งในส่วนของใบและลำต้น) มวลชีวภาพส่วนใต้ดิน (น้ำหนักแห้งของราก) จำนวนรากแขนง ความยาวราก (โดยเครื่อง EPSON PERFECTION V700 PHOTO) การตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซาภายใต้กล้องสเตอริโอกำลังขยายสูง วางแผนการทดลอง 3x4 แฟกทอเรียล ในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Factorial arrangement in a completely randomized design) โดยปัจจัยที่ 1 คือปริมาณเชื้อ ประกอบด้วย: ชุดควบคุม (ไม่ใส่เชื้อ), ใส่เชื้อ 20 มิลลิลิตร/ต้น และใส่เชื้อ 50 มิลลิลิตร/ต้น ร่วมกับปัจจัยที่ 2 คือชนิดของกล้าไม้ 4 ชนิด คือ ได้แก่ ยางนา พะยอม รัง และตะเคียนทอง สิ่งทดลองละ 5 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ต้น นำข้อมูลที่ได้วิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยโปรแกรม SAS version 9.1 โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธีทางสถิติ Duncan's New Multiple Range Test ในระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลการแยกเชื้อบริสุทธิ์จากดอกเห็ดระโงกขาว

การแยกเชื้อบริสุทธิ์จากดอกเห็ดระโงกขาว บนอาหารเพาะเลี้ยงชนิดแข็ง MMN (Modified Melin-Norkrans) พบเส้นใยมีลักษณะหนา ฟู วงนอกมีสีขาวขุ่นวงในสีน้ำตาล **(Figure 1A)** และสามารถเจริญออกมาตามแนวรัศมีประมาณ 2 เซนติเมตร ใช้ระยะเวลา 60 วัน เนื่องจากอาหาร MMN มีสารอาหารจำพวก คาร์โบไฮเดรต โปรตีน วิตามิน แร่ธาตุ อีกทั้งองค์ประกอบของน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน และ Malt Extract ซึ่งเป็นแหล่งไนโตรเจน ที่จำเป็นต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด ส่วนการศึกษาเพิ่มปริมาณของเส้นใยเห็ดระโงกในอาหารเพาะเลี้ยง MMN ชนิดเหลว (pH 6.0) ในสภาวะเขย่า ซึ่งเป็นการเลี้ยงในอาหารเหลว ทำให้เนื้อเยื่อของเห็ดได้สัมผัสอาหารโดยตรง รวมถึงการเลี้ยงแบบสภาวะเขย่าเป็นการเพิ่มปริมาณออกซิเจนให้แก่เส้นใย ซึ่งมีส่วนสำคัญที่ช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตและเพิ่มขยายของเส้นใยเห็ด โดยเส้นใยที่ได้จะมีลักษณะกลมรี (pellet) สีขาวขุ่นถึงสีเหลืองอ่อน เกาะกันแบบหลวมๆ **(Figure 1B)** เมื่อนำมาตรวจวิเคราะห์คุณภาพของเส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง 63 เท่า ลักษณะการเจริญของเส้นใย จะยืดยาวและแตกกิ่งก้านออกไปเรื่อย ๆ มีการเจริญเป็นตาข่ายสานกันไปมา โดยเฉพาะอย่างยิ่งตรงบริเวณส่วนปลายของเส้นใยมีการสร้างข้อต่อยึดระหว่างเส้นใย (clamp connection) **(Figure 1C)**

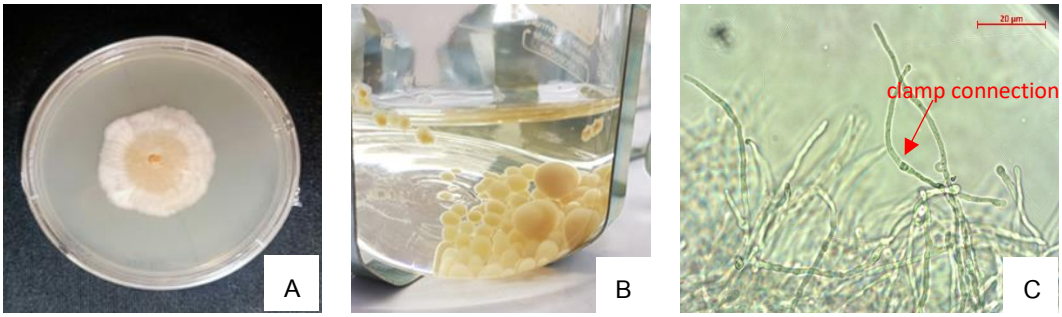

Figure 1 Mycelium of *A. princeps* on MMN agar for 60 days (A), mycelium in MMN liquid medium for 30 days (B) and characteristics of mycelium under a microscope for 63X (C)

ผลการตรวจสอบเส้นใยเห็ดระโงกขาวโดยวิธีพีซีอาร์ และเปรียบเทียบความเหมือนทางพันธุกรรมกับฐานข้อมูลใน GenBank

ผลการสกัดจีโนมิกส์ดีเอ็นเอจากตัวอย่างเห็ดระโงกขาวตรวจสอบด้วยวิธีเจลอิเล็กโทรโพรีซิส เปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 kb จะพบแถบจีโนมิกส์ดีเอ็นเอมีความสูงกว่าแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน ส่วนผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์ โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะบนตำแหน่ง ITS ของเส้นใยเห็ดระโงก พบว่าผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้สามารถเพิ่มแถบดีเอ็นเอเพียงแถบเดียวมีขนาดประมาณ 300 bp ส่วนผลวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้เปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล Gen Bank ด้วยโปรแกรม BLAST พบว่าสามารถจัดจำแนกชนิดของเห็ดระโงกขาวได้ชัดเจน โดยมีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมของเห็ดระโงกขาว (*Amanita princeps* Corner & Bas) ระบุได้ 99.57 เปอร์เซ็นต์ (ON794332.1) **(Table 1)** สอดคล้องกับงานวิจัยของ Adams et al. (2005) ศึกษาการใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลเป็นเครื่องมือในการจำแนกเห็ดสกุล *Amanita* โดยใช้จีโนมของ *Amanita bisporigera* มาออกแบบไพรเมอร์ที่จำเพาะกับลำดับเบสเป้าหมายในดีเอ็นเอต้นแบบเพื่อใช้ในการจำแนกระดับชนิด เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Sudip et al. (2013) ได้จำแนกเห็ดป่าด้วยไพรเมอร์ที่จำเพาะ คือ ITS1 และ ITS2 ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเห็ดป่าที่สามารถบริโภคได้ โดยสามารถจำแนกเห็ดป่าได้ 8 ชนิด ซึ่งแสดงว่าเครื่องหมายทางพันธุกรรมในส่วนของยีน ITS มีประสิทธิภาพสำหรับการศึกษาสามารถความแตกต่างของสายพันธุ์เห็ดได้

Table 1 BLAST results of *Amanita princeps* Corner & Bas comparative of the nucleotide sequence similarity with databases in the Gen Bank

Strain in code	NCBI accession numbers	Reference taxon (strain)	Identity (%)
AP01	ON794332.1	*Amanita princeps*	99.57

ผลการเจริญทางความสูง ความกว้างทรงพุ่ม เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นที่ระดับคอราก และจำนวนใบ ภายหลังการปลูกถ่ายเชื้อเห็ดระโงกลงในกล้าไม้วงศ์ยาง

จากการทดลองชนิดของพืชอาศัยและปริมาณเชื้อเห็ดระโงกที่เหมาะสมภายใต้สภาวะเรือนปลูกพืช จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ ยางนา, พะยอม, รัง และตะเคียนทอง เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยวัดการเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้น (growth rate) พบว่าปริมาณการใส่เชื้อเห็ดระโงก และชนิดของพืชอาศัยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ต่อการเจริญทางด้านความสูง ความกว้างทรงพุ่ม เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น จำนวนใบ และจำนวนราก มากกว่าต้นที่ไม่ได้รับการใส่เชื้อ **(Table 2-3)** และเมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างปริมาณเชื้อและชนิดของพืชอาศัย พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยเฉพาะกล้าไม้ยางนา และรัง ที่ใส่เชื้อเห็ดระโงกรอัตรา 25 มิลลิลิตร/ต้น มีความสูงเฉลี่ยเพิ่มขึ้นมากที่สุด 19.80±0.44 และ 16.00±0.98 เซนติเมตร ตามลำดับ ในขณะที่ต้น

พะยอม และต้นตะเคียนทอง ที่ไม่ได้รับการใส่เชื้อมีความสูงเฉลี่ยเพิ่มขึ้นน้อยที่สุดเพียง 4.40±1.18 และ 4.40±0.46 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนความกว้างทรงพุ่ม พบว่าต้นตะเคียนทอง ที่ใส่เชื้อเห็ดอัตรา 25 และ 50 มิลลิลิตร/ต้น มีความกว้างทรงพุ่มเฉลี่ยเพิ่มขึ้นมากที่สุด 23.60±0.46 และ 21.40±0.54 เซนติเมตร ตามลำดับ รองลงมาคือต้นยางนา และต้นรัง มีความกว้างทรงพุ่มเพิ่มขึ้นเฉลี่ย 13.20±1.11 และ 12.00±0.85 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับต้นยางนา และรัง ที่ไม่ได้รับการใส่เชื้อพบว่ามีความกว้างทรงพุ่มเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเพียง 5.80±0.44 และ 5.00±0.28 เซนติเมตร ตามลำดับ การเจริญทางด้านเส้นผ่านศูนย์ลำต้น พบว่าต้นยางนา และต้นพะยอม ที่ได้รับเชื้อเห็ดอัตรา 25 มิลลิลิตร/ต้น มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นเพิ่มขึ้นมากที่สุด 5.62±0.28 และ 4.80±0.50 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนผลด้านจำนวนใบพบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ การใส่เชื้อเห็ดระโงกที่อัตรา 25 มิลลิลิตร/ต้น ให้จำนวนใบเพิ่มขึ้นมากที่สุดโดยเฉพาะต้นตะเคียนทอง 21.80±1.83 ใบ/ต้น **(Table 1, Figure 2)** จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าการใส่เชื้อเห็ดระโงกในอัตรา 25 มิลลิลิตร/ต้น ให้ผลการเจริญเติบโตดีกว่าใส่เชื้อในอัตรา 50 มิลลิลิตร/ต้น เนื่องจากการใส่เชื้อในปริมาณที่มากเกินไปในขณะที่กล้าไม้ยังมีขนาดเล็กซึ่งอาจทำให้เกิดการหยุดชะงักการเจริญเติบโตอย่างชั่วคราว แต่อย่างไรก็ตาม ทั้ง 2 ปริมาตรให้ผลสอดคล้องไปในแนวทางเดียวกัน คือมีผลความสูง เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น จำนวนใบ และความกว้างทรงพุ่มมากกว่าต้นที่ไม่ได้รับการใส่เชื้อเห็ดระโงก เนื่องจากเห็ดป่าไมคอร์ไรซาเส้นใยส่วนใหญ่เจริญบริเวณรอบรากพืชช่วยการดูดซับน้ำและแร่ธาตุที่สำคัญต่อการเจริญเติบโต อีกทั้งเส้นใยไมคอร์ไรซามีเอนไซม์ฟอสฟาเตส (phosphatase) ช่วยในการปลดปล่อยฟอสเฟตออกมาจากสารประกอบอินทรีย์ และถูกดูดซับโดยเส้นใยของไมคอร์ไรซาที่อยู่ในดิน ทำให้พืชสามารถนำฟอสฟอรัสที่ย่อยสลายแล้วไปใช้ได้มากกว่าต้นที่ไม่ได้ใส่เชื้อเห็ดไมคอร์ไรซา (Nopamornbodi, 1995; Brundrett, 2006) สอดคล้องกับงานวิจัยของ ปาริชาด และคณะ (2564) ศึกษาความทนแล้งของกล้าไม้พะยอมและรังที่ใส่เชื้อเห็ดเอคโตไมคอร์ไรซา (เห็ดเผาะหนัง) บริเวณรากของกล้าไม้ พบว่ากล้าไม้ที่ปลูกเชื้อมีการเจริญเติบโตทางด้านความสูง เส้นผ่านศูนย์กลางที่คอราก และพื้นที่ผิวใบ มากกว่ากล้าไม้ที่ไม่ปลูกเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Table 2 Height seedling, canopy width, stem diameter number of leaves and Number of roots in host plants were compare with inoculated mycorrhiza (*Amanita princeps* Corner & Bas) and non-inoculated seedlings for 6 months

Inoculum voiume	Host plant	Height seedling (cm)	Canopy width (cm)	Stem diameter (mm)	Number of leaves (per plant)	Number of roots (per plant)
control	*D. alatus*	11.20±1.18cd	5.80±0.44fg	2.04±0.16gh	3.80±0.75ghi	2879.00±151.89fg
	S. roxburghii	4.40±0.61f	3.00±0.40g	1.86±0.12h	2.40±0.49i	1570.00±173.35hi
	S. siamensis	10.60±0.97cd	5.00±0.28g	2.90±0.15defg	3.20±0.40hi	1036.33±123.26i
	H. odorata	4.40±0.46f	20.40±1.52b	2.26±0.36fgh	12.20±1.94c	2779.67±128.55fg
25 ml	*D. alatus*	19.80±0.44a	13.20±1.11c	5.62±0.28a	8.80±1.33d	5919.67±412.72a
	S. roxburghii	9.10±0.94de	9.40±0.67de	4.80±0.50ab	5.40±0.49efg	4306.33±463.75cd
	S. siamensis	16.00±0.98b	12.00±0.85cd	3.76±0.36cd	6.40±1.02e	3996.00±214.15de
	H. odorata	10.00±0.90d	23.60±0.46a	3.48±0.33cde	21.80±1.83a	4949.67±350.86bc
50 ml	*D. alatus*	14.00±2.03bc	9.80±1.51de	3.24±0.31cdef	5.60±0.49ef	5770.33±234.09ab
	S. roxburghii	6.00±1.42ef	5.80±0.52fg	3.74±0.27	3.40±0.49hi	2759.67±108.26fg
	S. siamensis	12.60±1.16bcd	8.60±1.05ef	3.96±0.28bc	4.40±1.02fgh	2381.33±183.97gh
	H. odorata	8.80±1.43de	21.40±0.54ab	2.60±0.19efgh	16.00±1.26b	3366.00±73.76ef
A – Inoculum		**	*	**	*	**
B – Host plant		**	**	ns	**	**
F-A*B		**	**	**	**	**
% CV		26.58	19.08	21.91	15.64	15.18

Mean in the same column followed by the same latter are not significantly different by DMRT at P=0.05.
**,* Significant at 0.01and 0.05 probability levels, respectively. , ns non-significant

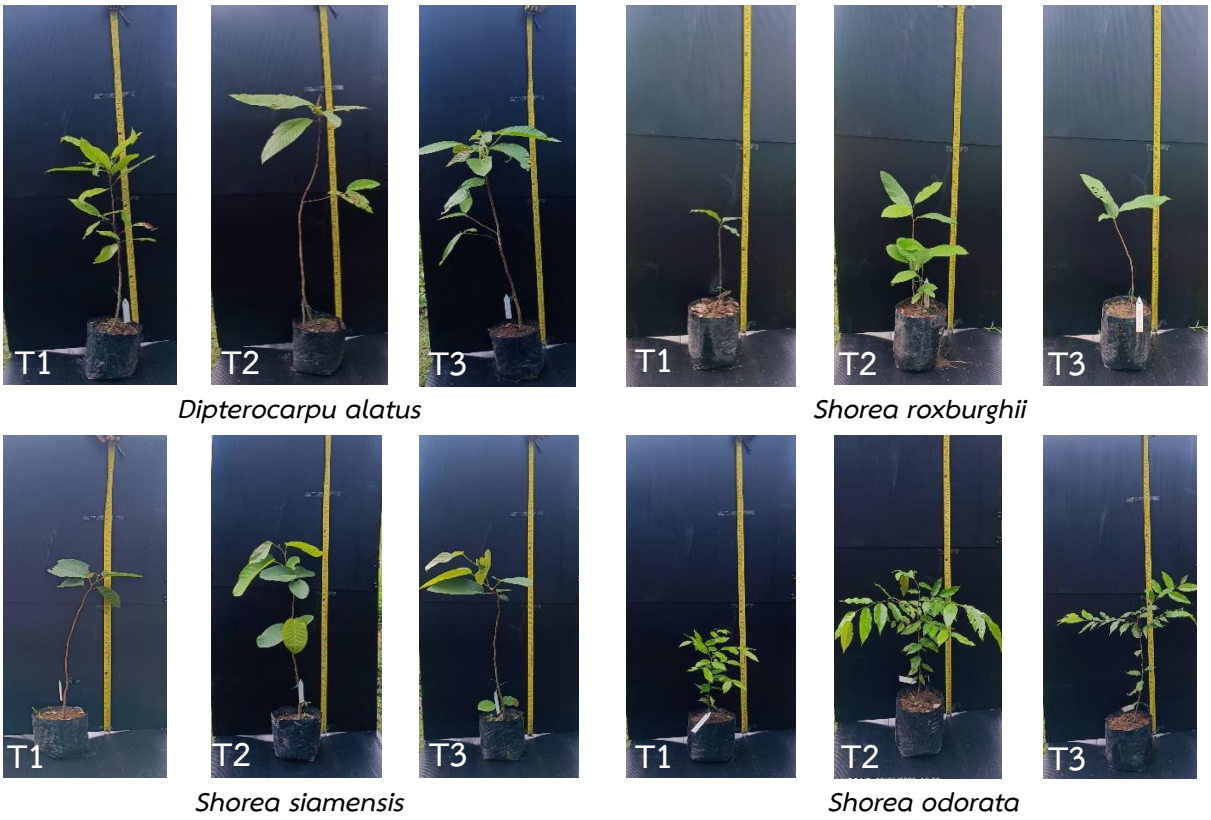

Figure 2 Growing time of *Dipterocarpus alatus*, *Shorea roxburghii*, *Shorea siamensis* and *Hopea odorata* were inoculated of *Amanita princeps* at 25 ml (T2) and 50 ml (T3) when compare with non-inoculated (T1) at 6 months.

ผลการตรวจนับจำนวนราก ความยาวราก คะแนนสุขภาพของกล้าไม้ และเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซาภายหลังการปลูกถ่ายเชื้อเห็ดระโงกลงในกล้าไม้วงศ์ยาง

ผลการตรวจนับจำนวนรากแขนงโดยเครื่อง Epson Perfection V700 Photo ในต้นยางนา พะยอม รัง และตะเคียนทอง พบว่าต้นกล้าทั้ง 4 ชนิด ที่ได้รับการใส่เชื้อเห็ดมีจำนวนรากมากกว่าต้นที่ไม่ได้รับการใส่เชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเฉพาะต้นกล้าที่ใส่เชื้อในอัตรา 25 มิลลิลิตร/ต้น มีจำนวนรากมากที่สุด คือ ต้นยางนา 5,919±412.72 ราก/ต้น รองลงมาคือ ต้นตะเคียนทอง 4,949±350.86 ราก/ต้น เมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้ายางนาและตะเคียนทองที่ไม่ได้รับการใส่เชื้อมีจำนวนรากเพียง 2,879±180 และ 2,779±157 ราก/ต้น ตามลำดับ **(Table 1 and Figure 3)** เช่นเดียวกับผลของความยาวราก พบว่าต้นยางนาที่ใส่เชื้ออัตรา 25 มิลลิลิตร/ต้น มีความยาวมากสุด เท่ากับ 1,397±17.07 เซนติเมตร **(Table 2 and Figure 3)** สอดคล้องกับงานวิจัยของ Smith and Read (2010) ได้อธิบายไว้ว่าเห็ดเอคโตไมคอร์ไรซามีส่วนช่วยในการเพิ่มพื้นที่ผิวของราก การแผ่ขยายตัวของรากทำให้ สามารถดูดซึมน้ำและแร่ธาตุส่งผลให้กล้าไม้ที่ปลูกเชื้อ จึงมีการเติบโตที่ดีกว่ากล้าไม้ที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ ส่วนผลของเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเอคโต ไมคอร์ไรซาของกล้าไม้ พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยต้นกล้าที่ใส่เชื้ออัตรา 25 และ 50 มิลลิลิตร/ต้น มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซามากที่สุด คือต้นยางนา และต้นพะยอม เท่ากับ 65.30±5.59 และ 61.22±4.28 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ต้นที่ไม่ได้ใส่เชื้อมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซาอยู่ระหว่าง 5.48±1.33 - 8.40±2.83 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kaewgrajang et al. (2013) พบว่ากล้าไม้ยางนาที่ปลูกเชื้อเห็ดเผาะหนังมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซา เท่ากับ 60.97 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Charoenpakdee et al. (2010) ศึกษาการเกิดรากไมคอร์ไรซาในต้นสบู่ดำ (*Jatropha curcas*) จำนวน 10 พื้นที่ พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากไมคอร์ไรซา อยู่ระหว่าง 37.7-94.3 เปอร์เซ็นต์ ส่วนผลด้านคะแนนสุขภาพของกล้าไม้ พบว่ากล้าไม้ทั้ง 4 ชนิดที่ได้รับการใส่

เชื้อเห็ดระโงกมีคะแนนสูงกว่าต้นที่ไม่ได้รับการใส่เชื้อ และมีกล้าไม้ 2 ชนิดที่ ได้แก่ ต้นตะเคียนทอง และรัง โดยที่อัตราการใส่เชื้อ 25 มิลลิลิตร/ต้น มีคะแนนสุขภาพของกล้าไม้สูงสุดเฉลี่ย 2.62±0.31 และ 2.50±0.19 คะแนน ตามลำดับ ในขณะที่ต้นไม่ได้รับการใส่เชื้อมีคะแนนสุขภาพเฉลี่ยเพียง 1.90±0.51 และ 2.38±0.23 คะแนน ตามลำดับ **(Table 3)** จากผลการทดลองนี้พบว่ากล้าไม้ที่ได้รับการใส่เชื้อเห็ดระโงกมีการเจริญเติบโตดีกว่าต้นควบคุมในทุกด้านซึ่งสอดคล้องกับหลายงานวิจัยที่ผ่านมาซึ่งพบว่ากล้าไม้วงศ์ยางที่มีเชื้อเอคโตไมคอร์ไรซาจะมีการเติบโตทางด้านขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น จำนวนใบ ความยาวราก และความสูงมากกว่ากล้าไม้ที่ไม่ปลูกเชื้อ (Sangtiean and Sangwanit, 1994; ธนภักษ์ และคณะ 2564)

Table 3 Roots length, percentages of ectomycorrhizal, tree health and biomass in host plants were compare with inoculated mycorrhiza (*Amanita princeps* Corner & Bas) and non-inoculated seedlings for 6 months

Inoculum voiume	Host plant	Roots length (cm)	percentages of ectomycorrhizal	Tree health (score)	Aboveground by biomass (g)	Underground by biomass (g)
control	*D. alatus*	715.04±9.85d	5.48±1.33e	2.18±0.39abcd	25.59±0.61c	6.44±0.23d
	S. roxburghii	352.66±11.69f	7.70±2.39e	1.28±0.20e	2.06±0.44h	1.67±0.01g
	S. siamensis	311.03±27.24f	6.76±1.32e	1.90±0.51cd	20.21±0.51d	20.24±0.37b
	H. odorata	573.93±21.03e	8.40±2.83e	2.38±0.23abc	10.09±0.78f	2.93±0.07fg
25 ml	*D. alatus*	1397.42±17.07a	65.30±5.59a	2.18±0.13abcd	31.87±3.31a	11.85±1.23c
	S. roxburghii	734.59±24.98d	59.64±5.95abc	1.96±0.64bcd	8.08±0.79fg	6.23±0.65d
	S. siamensis	644.57±28.42de	54.00±3.37bcd	2.50±0.19ab	29.02±0.87b	24.25±1.06a
	H. odorata	956.08±27.96c	50.60±7.41d	2.62±0.13a	18.69±0.55d	5.46±0.39de
50 ml	*D. alatus*	1099.98±30.12b	60.58±2.71ab	2.14±0.17abcd	31.82±1.40a	10.93±1.10c
	S. roxburghii	650.08±5.16de	61.22±4.28ab	1.64±0.48de	6.01±0.42g	5.76±0.16d
	S. siamensis	307.09±0.89f	55.20±4.77bcd	2.22±0.31abc	24.47±0.67c	20.60±1.09b
	H. odorata	1141.17±65.30b	52.74±7.50cd	2.58±0.12a	13.90±0.35e	4.18±0.54ef
A – Inoculum		*	**	ns	ns	ns
B – Host plant		**	ns	**	**	**
F-A*B		**	**	**	**	**
% CV		7.89	12.67	17.64	7.84	

Mean in the same column followed by the same latter are not significantly different by DMRT at P=0.05.

**,* Significant at 0.01and 0.05 probability levels, respectively. , ns non-significant

Note: Score 3 = high growing, Score 2 = moderate growing and Score 1= low growing.

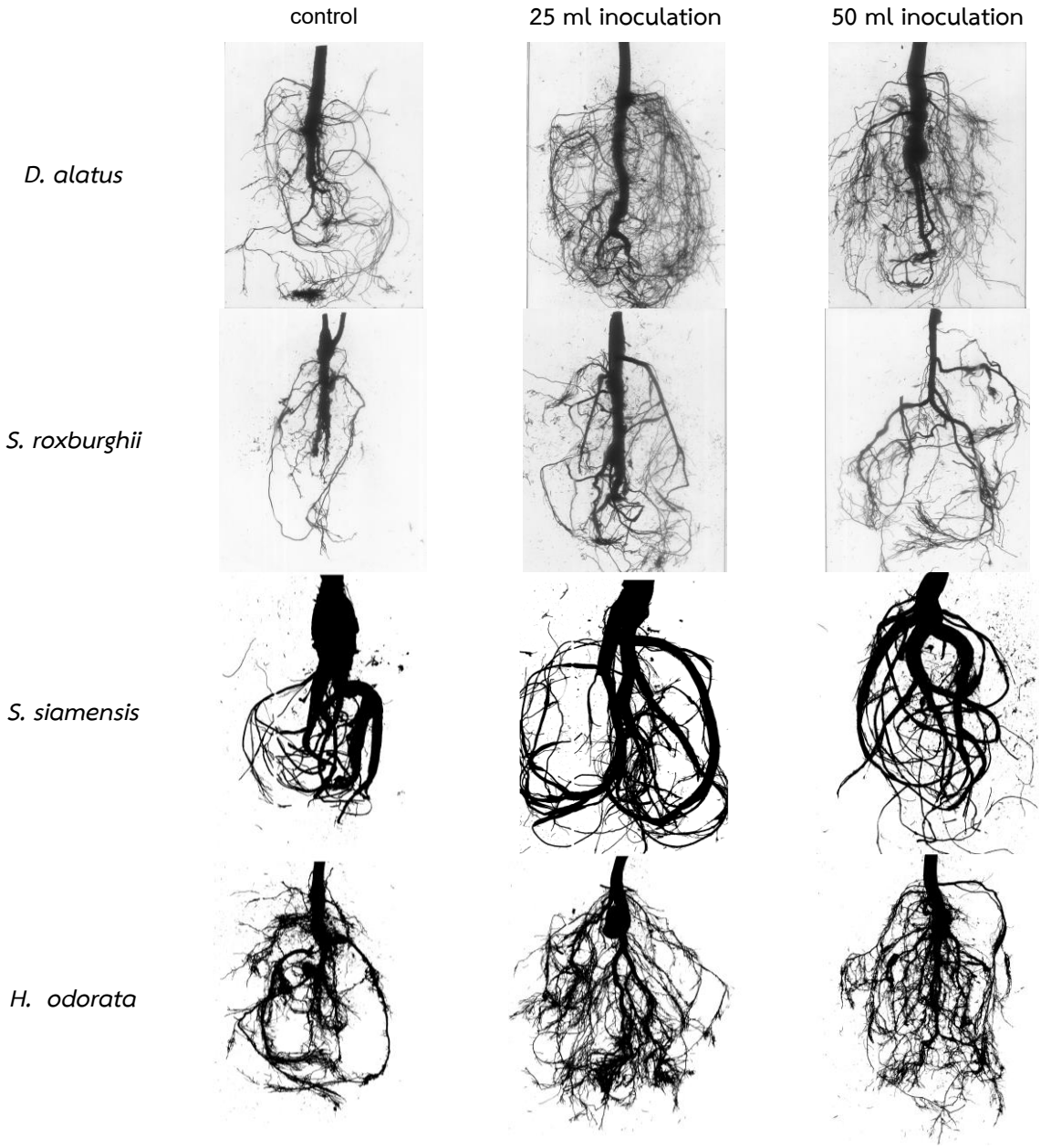

Figure 3 Characteristics of the lateral root numbers of *Dipterocarpus alatus*, *Shorea roxburghii*, *Shorea siamensis* and *Hopea odorata* were inoculated of *Amanita princeps* at 25 ml and 50 ml when compare with non-inoculated at 6 months

ผลของปริมาณมวลชีวภาพส่วนเหนือดิน และส่วนใต้ดิน ภายหลังการปลูกถ่ายเชื้อเห็ดระโงกลงในกล้าไม้วงศ์ยาง

ผลของปริมาณมวลชีวภาพส่วนเหนือดิน (น้ำหนักแห้งใบและลำต้น) ในต้นกล้ายางนา พะยอม รัง และตะเคียนทอง ที่ได้รับการใส่เชื้อเห็ดระโงกมีปริมาณมวลชีวภาพส่วนเหนือดินสูงกว่าต้นที่ไม่ได้ใส่เชื้อ โดยเฉพาะต้นยางนาที่ได้รับการใส่เชื้ออัตรา 25 มิลลิลิตร/ต้น พบว่ามีปริมาณมวลชีวภาพสูงสุด 31.87±3.31 กรัม รองลงมาคือ ต้นรัง เท่ากับ 29.02±0.87 กรัม เมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้าที่ไม่ได้ปลูกเชื้อมีมวลชีวภาพเพียง 25.59±0.61 และ 20.21±0.51 กรัม ตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณมวลชีวภาพส่วนใต้ดิน (น้ำหนักแห้งของราก) พบว่าต้นกล้ารังที่ได้รับการใส่เชื้อเห็ดอัตรา 25, 50 และ 0 มิลลิลิตร/ต้น มีมวลชีวภาพส่วนใต้ดินมากที่สุดเท่ากับ 24.25±1.06, 20.60±1.09 และ 20.24±0.37 กรัม ตามลำดับ รองลงมาคือ ต้นยางนามีค่าเท่ากับ 11.85±1.23 กรัม เปรียบเทียบกับต้นกล้ายางนา พะยอม และตะเคียนทอง ที่ไม่ได้ปลูกเชื้อเห็ดมีมวลชีวภาพส่วนใต้ดินเพียง 6.44±0.23, 1.67±0.01 และ 2.93±0.07 กรัม ตามลำดับ **(Table 3)** สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kaewgrajang et al. (2013) ศึกษาการเจริญเติบโตของต้นยางนาภายหลังการปลูก

ถ่ายเชื้อเห็ดเผาะโดยใช้สปอร์แขวนลอย (spore suspension) ปริมาตร 10, 25 และ 50 มิลลิลิตร/ต้น และใช้เส้นใย (mycelium) 25 มิลลิลิตร/ต้น พบว่าการใช้สปอร์ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ให้ปริมาณมวลชีวภาพส่วนเหนือดินและส่วนใต้ดินมากที่สุด Kaewgrajang et al. (2019) ได้ศึกษาการการใส่เชื้อเห็ดเผาะหนังซึ่งเป็นเอคโตไมคอร์ไรซาที่ราก ช่วยส่งผลให้มีการเติบโตทางด้านน้ำหนักแห้งของต้นพรวงและต้นพะยอมเพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับการใส่เชื้อ

สรุป

เห็ดระโงกขาวสามารถเจริญเติบโตบนอาหารแข็ง Modified Melin-Norkrans Medium (MMN) เส้นใยมีลักษณะหนา ฟูวงนอกมีสีขาวขุ่นวงในสีน้ำตาล เมื่อนำไปเพาะเลี้ยงในอาหาร MMN ชนิดเหลว เป็นเวลา 30 วัน เส้นใยเห็ดที่ได้จะสานกันแบบหลวมๆ เป็นก้อนกลมรี (pellet) สีขาวขุ่นถึงสีเหลืองอ่อน จากนั้นนำสารแขวนลอยเส้นใยเห็ดไปทดสอบชนิดของพืชอาศัยและปริมาณเชื้อเห็ดระโงกขาวที่เหมาะสมต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโต และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซา ในกล้าไม้วงศ์ยาง 4 ชนิด ได้แก่ ยางนา พะยอม รัง และตะเคียนทอง ในสภาพเรือนทดลอง โดยใส่เชื้อในอัตรา 0, 25 และ 50 มิลลิลิตร/ต้น พบว่าการใส่เชื้อเห็ดระโงกอัตรา 25 มิลลิลิตร/ต้น เป็นอัตราที่เหมาะสมทำให้พืชมีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด และต้นยางนาเป็นชนิดของกล้าไม้ที่เหมาะสมในการเป็นพืชอาศัยของเห็ดระโงกขาว โดยให้ผลเป็นการเจริญเติบโตมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกล้าไม้ชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ทั้งทางด้านความสูง เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น จำนวนราก ความยาวราก ปริมาณมวลชีวภาพส่วนเหนือดิน และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซามากที่สุด งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้น ในการพิจารณาปลูกถ่ายเชื้อเห็ดระโงกขาวให้กับพืชอาศัยที่เหมาะสม เพื่อให้กล้าไม้มีอัตราการรอดชีวิตสูงเมื่อนำไปปลูกในธรรมชาติ ซึ่งในอนาคตการปลูกป่าปลูกเห็ดจะเป็นประโยชน์ในการแก้ปัญหาเศรษฐกิจชุมชนอย่างยั่งยืน

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยใคร่ขอขอบคุณ สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) และสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) (สวก.) ในการสนับสนุนทุนวิจัยเรื่อง การพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตพืชป่าไมคอร์ไรซาในสภาพพื้นที่ไร่ป่าแบบธรรมชาติ (ปีที่ 2) ประจำปีงบประมาณ 2565

เอกสารอ้างอิง

เกษม สร้อยทอง. 2537. เห็ดและราขนาดใหญ่ในประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1. อุบลราชธานี: ศิริธรรม ออฟเซ็ท.

ธนภักษ์ อินยอด, ธนากร ลัทธิถีระสุวรรณ, ขนิษฐา ชวนะนรเศรษฐ์, ธนภัทร เติมอารมณ์, ชาตรี กอนี, สุริมา ญาติโสม, สุจิตรา บัวลอย และปิยะดา เอี่ยมประสงค์. 2564. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดเอคโตไมคอร์ไรซาบางชนิดในสภาพปลอดเชื้อ. วารสารเกษตรนเรศวร. 18(1): 1-13.

ปาริชาด แสงงาม, ฉันท์ทิพา ศรีดาวงษ์, ซูลฟา หยีราเหม, อรญา บุราไกร, เจษฎา วงศ์พรหม, นิสา เหล็กสูงเนิน และธารารัตน์ แก้วกระจ่าง. 2564. การเพิ่มความทนแล้งของกล้าไม้พะยอมและรังที่มีเห็ดเผาะหนังอยู่ร่วมที่รากแบบเอคโตไมคอร์ไรซา. วารสารวนศาสตร์ไทย. 40(2): 69–82.

ประเสริฐ วุฒิคัมภีร์, วิทยา ศรีทานันท์, นิรัตน์ ศรีวงษา, ชาติ เทียมทอง และพจรจิตร์ นวลผิว. 2545. การศึกษาสภาพแวดล้อมและฟื้นฟูระบบนิเวศเห็ดรับประทานได้จากป่าอนุรักษ์และสวนป่าในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง. ฝ่ายวิจัยระบบเกษตรกรรม สำนักวิจัยและพัฒนาเกษตรเขตที่ 4 กรมวิชาการเกษตร, จังหวัดอุบลราชธานี.

พรรณพร กุลมา และปิยะนุช สินันตา. 2554. เห็ดป่ารับประทานได้และมูลค่าราคาในจังหวัดน่าน. งานประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยมหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 21. วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ. 14(3): 65-75.

ราชบัณฑิตยสถาน. 2550. เห็ดในประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: ราชบัณฑิตยสถาน.

อนิวรรต เฉลิมพงษ์. 2542. เห็ดป่าไมคอร์ไรซ่า. เห็ดไทย 2542. สมาคมนักวิจัยและเพาะเห็ดแห่งประเทศไทย บริษัทนิวธรรมดาการพิมพ์ (ประเทศไทย) จำกัด หน้า 25-31.

อุทัยวรรณ แสงวณิช. 2547. ศักยภาพของเห็ดป่าในการเพิ่มรายได้ของเกษตรกรในระบบวนเกษตร. เอกสารประกอบการบรรยายในการประชุมวิชาการวนเกษตร ครั้งที่ 1 “มิติของระบบวนเกษตร สำหรับชุมชนอนาคต” วันที่ 1-3กรกฎาคม 2547 ณ โรงแรมท็อปแลนด์พลาซ่า อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก.

อัจฉริยา ธรรมเที่ยง, สุกัญญา แขมคำ, วิจิตรา เทียมใสย์, พีรชัย วงษ์เลิศ, ดำเนิน อ้วนผุย และสมเลือน คำพินิจ. 2543. โครงงานวิทยาศาสตร์ เรื่อง รู้เห็ดอีกสักนิด เพื่อชีวิตปลอดภัย. โรงเรียนบ้านอีเซ (คุรุราษฎวิทยา), ศรีสะเกษ.

Adams, R. I., H. E. Hallen, and A. Pringle. 2005. Using the incomplete genome of the ectomycorrhizal fungus *Amanita bisporigera* to identify molecular polymorphisms in the related *Amanita phalloides*. Molecular Ecology Notes. (6): 218-220.

Allen, M.F. 1991. The Ecology of Mycorrhizae. In Journal of Tropical Ecology, A. C. Newton, ed. pp 194. Cambridge: Cambridge University Press.

Brundrett, M.C. 2006. Understanding the roles of multifunctional mycorrhizal and endophytic fungi. Soil Biology journal. 38(9): 281-298.

Charoenpakdee, S., C. Phosri, B. Dell, and S. Lumyong. 2010. The mycorrhizal status of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi of physic nut (*Jatropha curcas*) in Thailand. Mycosphere. 1(2): 167-181.

Cullings, K. W. 1992. Design and testing of a plant-specific PCR primer for ecological and evolutionary studies. Molecular Ecology. 1(4): 233–240.

Doyle, J. J., and E. E. Dickson. 1987. Preservation of plant samples for DNA restriction endonuclease analysis. Taxon. 36: 715-722.

Harley, J. L., and S. E. Smith. 1983. Mycorrhizal symbiosis. In Scientific Research, J. Dighton, ed. pp 483. London: Academic Press.

Kaewgrajang, T., B. Sakolrak, and U. Sangwanit. 2019. Growth response of *Dipterocarpus tuberculatus* and *Shorea roxburghii* seedlings to *Astraeus odoratus*. Environment and Natural Resources Journal. 17(3): 80-88.

Kaewgrajang, T., U. Sangwanit, K. Iwase, M. Kodama, and M. Yamato. 2013. Effects of ectomycorrhizal fungus *Astraeus odoratus* on *Dipterocarpus alatus* seedlings. Journal of Tropical Forest Science. 25(2): 200–205.

Molina, R., and J.G. Palmer. 1982. Isolation, maintenance, and pure culture manipulation of ectomycorrhizal fungi. In N.C., Schenck (Eds.), *Methods and Principles of Mycorrhizal Research.* (pp. 115-129). Minnesota: The American Phytopathological Society.

Nopamornbodi, O. 1995. Effect of mycorrhizae on plant growth and soil fertility. In International Training Course on Soil Management Technique “Fertility Improvement”, ADRC, ed. Khonkaen: JICAS ADRC.

Sangtiean, T., and U. Sangwanit. 1994. Growth of *Dipterocarpus alatus* Roxb. seedlings inoculated with ectomycorrhizal fungi. Thai Journal of Forestry. 13: 22-28. (in Thai).

Smith, S.E., and D. J. Read. 2010. Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press, New York.

Sudip, K. D., M. Aninda, K. D. Animesh, G. Sudha, P. Rita, S. Aditi, S. Sonali, and K. D. Priyanka. 2013. Nucleotide sequencing and identification of some wild mushrooms. The Scientific World Journal. 13(1): 1-7.

White, T., T. Bruns, S. Lee, and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In M. A. Innes, D. H. Gelfand, J. S. Sninsky, and T. J. White (Eds.), PCR protocols: a guide to methods and applications (315–322). London: Academic Press.