



รายงานวิจัย

เรื่อง

การสร้างเอคโตไมครอร์ไซชาของรากลุ่ม Gasteromycetes ในกล้าไม้ป่า

(Ectomycorrhizal Formation of Gasteromycete Fungi
in Forest Tree Seedlings)

นายเชิดชัย โพธิ์ศรี

พ.ศ. 2548

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากมหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อต้องการทดสอบการสร้างເອົາໂຕໄມຄອຣີຣ່າຂອງຮາໃນກຸ່ມ Gasteromycetes ໄດ້ແກ່ *Astraeus Pisolithus* และ *Scleroderma* ໄທແກ່ກລ້າສັນສາມໃບ (*Pinus kesiya* Royle ex Gordon) ໃນສປາພ *in vitro* ໂດຍทดสอบการสร้างເອົາໂຕໄມຄອຣີຣ່າ 2 ວິວີ່ ໄດ້ແກ່ ການทดสอบໃນວັດຖຸປະກູດໂດຍໃຫ້ຫລວດກາດລອງຂາດໃຫຍ່ (40 x 200 ມີລືມີເມຕີຣ) ແລະ ການทดสอบ ໃນຈານເພາະເຊື່ອ ພາກາຮີກາພບວ່າຮາໃນກຸ່ມ Gasteromycetes ສາມາດສ້າງເອົາໂຕໄມຄອຣີຣ່າ ໃນກລ້າໄຟສັນສາມໃບໃນສປາພ *in vitro* ໄດ້

ຜົລຂອງກາລີ່ຫວ່າເຊື່ອເສັ້ນໄຢຣາ *Astraeus* ຕ່ອກາຮ້າງເອົາໂຕໄມຄອຣີຣ່າ ແລະ ຜົລຕ່ອກາຮ້າງ ທອບສັນອກກາຈີ່ຈົງຂອງກລ້າໄຟສັນສາມໃບ ໃນເຮືອນເພາະຂໍາເທິບກັບຊຸດຄວບຄຸມ ພບວ່າ ກາລີ່ຫວ່າເຊື່ອເສັ້ນໄຢຣາບາງສາຍພັນອຸ່ນມີຜົລທຳໃຫ້ກາຈີ່ຈົງທາງຄວາມສູງຂອງລຳຕັ້ນ ເສັ້ນຜ່ານສູນຍົກລາງທີ່ຮະດັບຄອງຮາກຂອງລຳຕັ້ນ ນ້ຳໜັກແທ້ງໃນສ່ວນຂອງລຳຕັ້ນແລະໃບ ນ້ຳໜັກແທ້ງໃນສ່ວນຂອງຮາກ ເພີ່ມຂຶ້ນເມື່ອເທິບກັບຊຸດຄວບຄຸມ

Abstract

The study objective was aimed to test the selected isolates of Gasteromycete fungi i.e. *Astraeus* sp., *Pisolithus* sp. and *Scleroderma* sp. on ectomycorrhizal formation of pine seedlings (*Pinus kesiya* Royle ex Gordon) *in vitro* and under greenhouse conditions. By using large test tube and petri dish method some fungal isolates are able to form ectomycorrhizas with the tree seedlings.

The effect of inocula of *Astraeus* isolates in forming ectomycorrhizas and growth responses in *P. kesiya* was studied. The results revealed that height, root collar diameter, dry matter of shoot and root of seedlings after inoculation by some *Astraeus* isolates were increased.

กิตติกรรมประกาศ

รายงานการวิจัยฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดีด้วยการสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูล
สังคมรัฐ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี่ด้วย

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. ประกิต์สิน สีหనนทน์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้คำปรึกษาที่ดีมาตลอดการทำวิจัย

ขอขอบคุณ คุณนันทินี ศรีจุ่มป่า นักวิชาการเกษตร 8 ศูนย์วิจัยพืชสวน จังหวัด
เชียงราย ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเก็บตัวอย่าง

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่โปรแกรมวิชาชีววิทยาทุกท่านที่ได้สนับสนุนและช่วยเหลือในการ
ใช้เครื่องมือต่างๆในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณโปรแกรมวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราช
ภัฏพิบูลสังคมรัฐ ที่อนุญาตให้ใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่เคยให้กำลังใจ และสนับสนุนการ
ศึกษาวิจัยตลอดมาจนงานทุกอย่างสามารถสำเร็จลงได้ด้วยดี และขอบคุณเพื่อนๆทุกคน ที่ให้
ความช่วยเหลือและให้กำลังใจเสมอมา

เชิดชัย โพธิ์ศรี

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	๗
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	๘
กิตติกรรมประกาศ	๙
สารบัญ	๑๐
สารบัญตาราง	๑๑
สารบัญรูป	๑๒
บทที่ 1 บทนำ	๑
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	๓
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	๒๔
บทที่ 4 ผลการวิจัย	๓๐
บทที่ ๕ อภิปรายและสรุปผลการวิจัย	๔๑
เอกสารอ้างอิง	๔๕
ภาคผนวก	๕๖

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 พีชอาศัยของราอาร์บสคูลาร์ไมคอร์reira	5
2.2 ชนิดของราເອຄໂຕໃນຄອຮ්රීරෑ	6
2.3 ชนิดໄມ່ໃນເຂດອບອຸ່ນ ແລະເຂດຮ້ອນທີ່ມີຄວາມສັມພັນເຮົ່າແບບເອຄໂຕໃນຄອຮ්රීරෑ	7
4.2 ຮ້ອຍລະກາຮັດເຊື່ອຮາເອຄໂຕໃນຄອຮ්රීරෑ	37

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 รากເອົກໂຕໄມຄອຣີຣ່າ	4
2.2 ລັກຂະນະຂອງຮາວັບສຸກລ	8
2.3 ການຈັດຈຳແນກຮາບສຸກລາຮີໄມຄອຣີຣ່າ	9
2.4 ຮູບແບບການແຕກແຂஙງຂອງຮາກເອົກໂຕໄມຄອຣີຣ່າ	10
2.5 ລັກຂະນະຕອກເທື່ອຂອງຮາໃນກຸ່ມ Gasteromycets	23
3.1 ລັກຂະນະເສັ້ນໄຍຣາ <i>Astraeus</i> ແລະ <i>Scleroderma</i>	25
3.2 ການທົດສອບການສ້າງເອົກໂຕໄມຄອຣີຣ່າໃນຫລອດທດລອງ	26
3.3 ການທົດສອບການສ້າງເອົກໂຕໄມຄອຣີຣ່າໃນຈານເລີ່ມເຊື່ອພລາສົດຒກ	27
4.1 ການທົດສອບການສ້າງເອົກໂຕໄມຄອຣີຣ່າໃນກຳລັກສັນສາມໃນ	31
4.2 ລັກຂະນະກາຍໃຕ້ກລັອງຈຸລທຽບນ໌ ຂອງຮາກສັນສາມໃນ	32
4.3 ການທົດສອບການສ້າງເອົກໂຕໄມຄອຣີຣ່າໃນກຳລັກສັນສາມໃນໂດຍໃຊ້ຈານເລີ່ມເຊື່ອ	33
4.4 ລັກຂະນະຂອງຮາກສັນສາມໃນທີ່ເກີດກາຣຕິຕາເຊື່ອຮາ <i>Pisolithus</i>	34
4.5 ລັກຂະນະຂອງຮາກສັນສາມໃນທີ່ເກີດກາຣຕິຕາເຊື່ອຮາ <i>Astraeus</i>	35
4.6 ລັກຂະນະຂອງຮາກສັນສາມໃນທີ່ໄສ້ຫັວເຊື່ອເສັ້ນໄຍຣາ	39
4.7 ລັກຂະນະຂອງຮາກສັນສາມໃນທີ່ໄສ້ຫັວເຊື່ອເສັ້ນໄຍຣາ ກາຍໃຕ້ກລັອງຈຸລທຽບນ໌ແບບໃໝ່ແສງ	40

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ในครอร์เรชาคือโครงสร้างที่เกิดขึ้นจากการอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัย (symbiosis) ระหว่างรากรากพืชชั้นสูง โดยราที่อาศัยอยู่จะช่วยในการดูดซับสารอาหาร แล้วนำตุที่อยู่ในดิน โดยเฉพาะฟอสฟอรัส และลำเลียงสู่รากพืช ในขณะเดียวกันรากพืชจะปลดปล่อยสารบางชนิด (Root exudates) ที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญของรา ดังนั้นพืชที่มีราในครอร์เรชาอาศัย จึงมีความสามารถที่จะเจริญได้ดีกว่าพืชที่ไม่มีในครอร์เรชาอาศัย รวมทั้งสามารถเจริญได้ในสภาพพื้นที่แห้งแล้ง วิกฤต สภาพดินเป็นพิษ หรือกรดสูง และทนทานต่อเชื้อโรคพืช เป็นที่ทราบกันโดยทั่วไปว่าร้อยละ 95 ของพืชชั้นสูงจะมีความสัมพันธ์ดังกล่าว ราในครอร์เรชาส่วนใหญ่อยู่ในไฟลัม Basidiomycota, Ascomycota และ Glomeromycota ราในไฟลัม Basidiomycota จะสร้าง fruiting body ในหลายรูปแบบ เช่น mushroom, toadstool และ puffball ให้เห็นได้ชัดเจน ราในกลุ่มนี้ ประมาณ 5,000 สปีชีส์ จะสร้างในครอร์เรชาทั่วโลก ไม่ป่าที่มีความสำคัญทางการอนุรักษ์ และเศรษฐกิจ มากกว่า 2,000 ชนิด ตัวอย่างเช่น ไม้ตรรกะลสน (Pinaceae) ยุคคลิปตัส (Myrtaceae) ไม้ตรรกะลก่อ (Fagaceae) และไม้ตรรกะลายง (Dipterocarpaceae) เป็นต้น

ราในกลุ่ม Gasteromycetes สามารถที่จะเพาะเลี้ยง และเพิ่มปริมาณได้ง่าย เช่นรา *Pisolithus arhizus* (Scop.) Rauschert สามารถเจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ และสามารถสร้างเอโคโตในครอร์เรชาทั่วโลก ชนิด ในต่างประเทศมีการผลิตหัวเชื้อราเอโคโตในครอร์เรชา *Pisolithus arhizus* ในทางการค้า และใช้ได้ประสบความสำเร็จอย่างดีเยี่ยม ราในกลุ่มนี้บางชนิดนอกจากจะช่วยในการเจริญของกล้าไม้แล้ว ยังสามารถสร้างดอกเหตุสำหรับใช้เป็นอาหารได้อีกด้วย เช่น ราเหตุเผา (*Astraeus hygrometricus* (Pers.) Morgan) จึงเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญและมีความสำคัญในทางเศรษฐกิจต่อชุมชน

ในประเทศไทยมีรายงานพบว่า มีราเอโคโตในครอร์เรชาในกลุ่ม Gasteromycetes หลายชนิดที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ อย่างไรก็ตาม การเตรียมกล้าไม้สำหรับการปลูกป่าของประเทศไทยในปัจจุบันยังขาดความรู้ ความเข้าใจ การประยุกต์ใช้ราเอโคโตในครอร์เรชาให้กับกล้าไม้ ก่อนที่จะย้ายนำไปปลูก ดังนั้นโครงการวิจัยนี้จึงทำการคัดเลือกพันธุ์ราเอโคโตในครอร์เรชา ในกลุ่ม Gasteromycetes ที่มีอยู่ในประเทศไทย และเป็นสายพันธุ์ที่ได้ถูกคัดเลือกโดยธรรมชาติว่าเหมาะสมกับภูมิอากาศและสภาพแวดล้อมในประเทศไทย เพื่อที่จะใช้ผลิตเป็นหัวเชื้อเพาะให้กับกล้าไม้ในแปลงเพาะ ก่อนย้ายนำไปปลูก ซึ่งนอกจากจะช่วยเร่งอัตราการเจริญเติบโตของกล้าไม้ให้ดีร่วมชีวิตอยู่ตลอดปีในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมแล้ว ราเอโคโตในครอร์เรชาอาจจะสามารถสร้างดอกเหตุให้เป็นผลผลลัพธ์ได้ที่มีความสำคัญต่อชุมชนในพื้นที่ปลูกป่า ซึ่งจะทำให้การดำเนินการปลูกป่าได้ผลสมความมุ่งหมายต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

เพื่อทดสอบการสร้างไนคอร์ไรชาของราเอยโคトイไมคอร์ไรชากรุ่ม Gasteromycetes ที่คัดแยกได้จากดอกเห็ดชนิดที่มีความสำคัญ ที่สำรวจและเก็บรวบรวมได้จากแหล่งต่างๆ ในประเทศไทยกับกล้าไม้ป่า

1.3 สมมติฐานของโครงการวิจัย

ราเอยโคトイไมคอร์ไรชาสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้สามารถสร้างไนคอร์ไรชาและส่งเสริมการเจริญให้กับกล้าไม้ที่ใช้ทดสอบ ภายใต้สภาวะควบคุมในห้องปฏิบัติการหรือสภาพเรือนทดลอง

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

การศึกษานี้จะศึกษาเฉพาะราเอยโคトイไมคอร์ไรชาในกรุ่ม Gasteromycetes จากแหล่งเก็บต่างๆ ในภาคเหนือโดยเฉพาะในเขตภาคเหนือ ภาคเหนือตอนล่าง เช่น พิษณุโลก สุโขทัย ตาก เพชรบูรณ์ เป็นต้น หรือภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และเป็นชนิดที่สามารถเพาะเลี้ยงให้เจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ทดสอบกับกล้าไม้ภายใต้สภาพของห้องปฏิบัติการ หรือเรือนเพาะชำ

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ผลการศึกษาครั้งนี้จะได้สายพันธุ์ของราเอยโคトイไมคอร์ไรชาที่ดี และเหมาะสมต่อการผลิตหัวเชื้อเพื่อใช้เพาะให้กับกล้าไม้

1.5.2. วิธีการผลิตหัวเชื้อราเอยโคトイไมคอร์ไรชาที่เหมาะสม ที่สามารถเผยแพร่ให้กับหน่วยงาน ที่เกี่ยวข้อง เช่น กรมป่าไม้ สวนป่าเอกชน หรือเกษตรกรที่สนใจได้

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

บริเวณรากพืช (Rhizosphere) เป็นแหล่งที่มีจุลินทรีย์อาศัยอยู่จำนวนมากชายหาด ชนิด ซึ่งมีผลต่อการเติบโตของพืช ความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์ในตินกับพืช อาจจะอยู่ในรูปของการย่อยสลายชาติพืช (Saprotrophic) การทำให้เกิดโรค (Pathogenic) และการอาศัยอยู่ร่วมกัน (Biotrophic) เป็นต้น

2.1 ประเภทของไมโครไรซ่า

ไมโครไรซ่า (mycorrhiza) หรือ *fungus-root* มีรากศักดิ์มาจากภาษากรีกว่า “mykes” แปลว่ารา แล้ว “rhiza” แปลว่าราก หมายถึงโครงสร้างของรากที่เป็นผลมาจากการสัมพันธ์แบบพึ่งพาเกือบถูก แล้วอีกประโยชน์ซึ่งกันและกันระหว่างรากและรากพืช โดยรานั้น จะต้องไม่ใช่รากที่เป็นสาเหตุของโรคพืช (Jackson & Mason, 1984) ราจะช่วยดูดน้ำ และแร่ธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งธาตุฟอสฟอรัส (Kumar, 1988; Nopamornbodi, 1995) ในขณะที่รากพืชจะปลดปล่อยอินทรีย์สารจำนวนมาก คาร์บอนไดออกไซด์ วิตามิน และกรดอะมิโน ให้กับราก ลักษณะดังกล่าวนี้จึงเป็นเสน่ห์อนุกลาภสำคัญในการมีชีวิตอยู่รอดของทั้งราก และพืช ทำให้พืชเจริญอยู่ได้ในตินที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ ความเป็นกรดสูง ความแห้งแล้ง โรค อุณหภูมิสูง และสภาพแวดล้อมอื่น ๆ ที่ไม่เหมาะสม ไมโครไรซ่าจึงถือเป็นองค์ประกอบที่มีชีวิต และมีความสำคัญในติน มีสมบัติเป็นทั้งราก และรากที่มีประโยชน์ไปควบคู่กัน

Mark และ Foster (1973) รายงานว่า Unger เป็นบุคคลแรกที่ค้นพบราปรากภูมิอยู่บนรากพืช และต้นไม้ป่า แต่ไม่ทำให้เกิดโรค ต่อมาในปี 1885 Frank นักโภชนาตรีชาวเยอรมัน เรียกการอยู่ร่วมกันของรากบารากพืชนี้ว่า ไมโครไรซ่า โดยอาศัยโครงสร้าง และลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกัน สามารถสรุปและจำแนกชนิดของไมโครไรซ่าได้ดังตารางที่ 2.1 แต่ชนิดที่สำคัญทางการเกษตรและป่าไม้มีอยู่ 2 ประเภท คือ

2.1.1. เอคโตไมโครไรซ่า (Ectomycorrhiza; ECM) ราในกลุ่มนี้จะสร้างเส้นใยเป็นแผ่นหนาประมาณ 20-40 ไมโครเมตร (Agerer, 1987-1990; Issac, 1992; Brundrett et al., 1996) ปกคลุมบริเวณผิวรากเรียกแผ่นแมนเทล (mantle sheath) เส้นใยบางส่วนของแมนเทลจะเข้าไปเจริญอยู่ระหว่างเซลล์ผิว (epidermis) และในชั้นคอร์เทกซ์ของเซลล์ราก ปราศจากน้ำเป็นร่องแทเรียก ไชร์ติก (hartig net) แผ่นแมนเทลช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวน้ำดูดซึมให้แก่รากพืชและมีผลทำให้รากพืชเกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานได้ เช่น รากเกิดการแตกแขนงแบบแยกสองแฉก (dichotomous branching) ลักษณะของรากพืชที่ติดเชื้อราเอคโตไมโครไรซานิดต่าง ๆ ได้แสดงไว้ในรูปที่ 2.1 ราเอคโตไมโครไรซ่าจัดเป็นราชชั้นสูงใน Class Basidiomycetes เป็นส่วน

ตารางที่ 2.1 ชนิดของไมโครรากและลักษณะที่สำคัญ

ชนิด	พืชอาศัย	เชื้อร่าที่เกี่ยวข้อง	โครงสร้างสำคัญ	หน้าที่
Ectomycorrhizas	ส่วนใหญ่เป็นพืชเมล็ดเปลือย (Gymnosperms) และพืชในพืชดอก (Angiosperms) โดยเฉพาะพวงที่เป็นไม้เนื้อแข็ง (woody plants)	ส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่ม Basidiomycetes บางชนิดเป็น Ascomycetes	พับ Hartig net แผ่น mantle และ rhizomorph	-การดูดซับสารอาหาร -กระบวนการเปลี่ยนแปลงอินทรียสารภายในเดิน -การจับตัวของอนุภาคติน
Arbuscular mycorrhizas	Bryophytes, Pteridophytes, พืชเมล็ดเปลือยบางชนิด และพืชดอก	Glomeromycota	Arbuscules Vesicles Auxillary cells	-การดูดซับสารอาหาร -การจับตัวของอนุภาคติน
Ectedomycorrhizas	ส่วนใหญ่เป็นพืชเมล็ดเปลือย	Ascomycetes	Hartig net และ แผ่น mantle ที่บาง เส้นใยอาจแผ่เข้าไปภายในเซลล์	-ดูดซับสารอาหาร -กระบวนการเปลี่ยนแปลงอินทรียสารภายในเดิน
Orchid mycorrhizas	กล้วยไม้ (orchidaceae)	Basidiomycetes	สร้างชดเส้นไย (Hyphal coils)	ดูดซับคาร์บอน และวิตามินให้กับเอ็มบริโอ
Ericaceous mycorrhizas	พืชในอันดับ Ericales และวงศ์ Monotropaceae	Ascomycetes และ Basidiomycetes	บางครั้งพบ/ไม่พบแผ่น mantle และเส้นใยแผ่เข้าไปภายในเซลล์ คอร์เทกซ์ขั้นใน	-กระบวนการเปลี่ยนแปลงอินทรียสารภายในเดินและ การแลกเปลี่ยนสารอาหารระหว่างพืช

ตารางที่ 2.2 ชนิดของราเอยด์ไมโครริชา (ที่มา Miller, 1982; Brundrett et al., 1996)

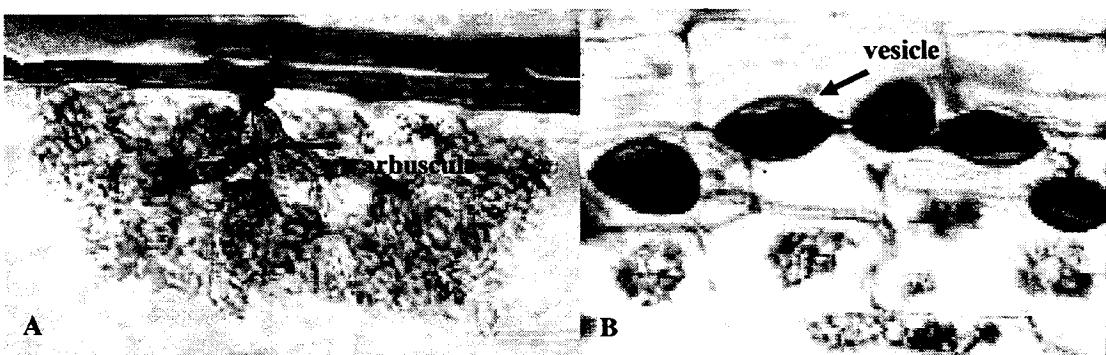
Phylum	Family	Genera
Ascomycota	Balsamiceae	<i>Balsamia</i>
	Elaphomycetaceae	<i>Elaphomyces</i>
	Geneaceae	<i>Genabea, Genea</i>
	Helvellaceae	<i>Hydnotrya</i>
	Pezizaceae	<i>Pachyphloeus</i>
	Terfeziaceae	<i>Choiromyces</i>
	Tuberaceae	<i>Tuber</i>
Basidiomycota	Amanitaceae	<i>Amanita, Limacella</i>
	Astraeaceae	<i>Astraeus</i>
	Boletaceae	<i>Alpova, Astroboletus, Aureoboletus, Boletus, Boletiellus, Fuscoboletinus, Gastroboletus, Gyroporus, Leccinum, Phylloporus, Pulveroboletus, Suillus, Truncocolumella, Tylopilus, Xerocomus</i>
	Cantharellaceae	<i>Cantharellus, Craterellus, Polyozellus</i>
	Chondrogastraceae	<i>Chondrogaster</i>
	Ramariaceae	<i>Ramaria</i>
	Corticiaceae	<i>Amphinema, Byssocorticium, Byssoporia, Piloderma,</i>
	Cortinariaceae	<i>Cortinarius, Dermocybe, Descolea, Hebeloma, Hymenogaster, Inocybe, Rozites, Entoloma</i>
	Entolomaceae	<i>Elasmomyces, Gymnomyces, Martellia, Zelleromyces</i>
	Elasmomycetaceae	<i>Brauniellula, Chroogonus, Cystogomphus, Gomphidius, Gomphogaster</i>
	Gomphidiaceae	<i>Dentinum, Hydnellum, Hydnnum</i>
	Hydnaceae	<i>Hygrophorus</i>
	Hygrophoraceae	<i>Hysterangiaceae</i>
	Hysterangiaceae	<i>Leucogastraceae</i>
	Leucogastraceae	<i>Melanogastraceae</i>
	Melanogastraceae	<i>Mesophelliaceae</i>
	Mesophelliaceae	<i>Octavianinaceae</i>
	Octavianinaceae	<i>Paxillaceae</i>
	Paxillaceae	<i>Scutigeraceae</i>
	Scutigeraceae	<i>Pisolithaceae</i>
	Pisolithaceae	<i>Russulaceae</i>
	Russulaceae	<i>Sclerodermataceae</i>
	Sclerodermataceae	<i>Lactarius, Russula</i>
		<i>Scleroderma</i>

ตารางที่ 2.3 ชนิดไม้ในเขตอุ่น และเขตหนาวที่มีความสัมพันธ์แบบเอกสารโดยรวม (ที่มา Brundrett et al., 1996)

Family	Genera
Aceraceae	<i>Acer</i>
Angiospermae	<i>Araliaceae, Didymopanax</i>
Betulaceae	<i>Alnus, Betula, Carpinus, Corylus, Ostrya, Ostryopsis</i>
Caesalpiniaceae	<i>Afzelia, Uapaca, Anthonona, Bauhinia, Berlinia, Brychystegia, Cassia, Eperua, Erythrophleum, Gilbertiodendron, Instia, Isoberlinia, Julbernardia, Microberlinia, Monopetalanthus, Paramacrolobium, Tetraberlinia</i>
Casuarinaceae	<i>Allocasuarina</i>
Cistaceae	<i>Citrus, Helianthemum, Tuberaria</i>
Corylaceae	<i>Corylus</i>
Cupressaceae	<i>Cupressus, Juniperus</i>
Dipterocarpaceae	<i>Anisoptera, Shorea, Balanocarpus, Cotylelobium, Dipterocarpus, Dryobalanops, Vateria, Vatica</i>
Fabaceae	<i>Gastrolobium, Gompholobium, Jacksonia, Mirbelia, Oxylobium, Percopsis</i>
Fagaceae	<i>Castanopsis, Fagus, Lithocarpus, Nothofagus, Pasania, Quercus, Trigonobalanus, Castanea</i>
Gnetaceae	<i>Gnetum</i>
Gymnospermae	<i>Abies, Cathaya, Cedrus, Larix, Keteleeria, Picea, Pinus, Tsuga, Pseudolarix</i>
Juglandaceae	<i>Carya, Juglans</i>
Letospermaceae	<i>Leptospermum</i>
Meliaceae	<i>Owenia</i>
Myrtaceae	<i>Agonis, Allosyncarpia, Angophora, Baeckea, Compomanesia, Eucalyptus, Eugenia, Leptospermum, Melaleuca, Tristaniopsis</i>
Mimosaceae	<i>Acacia</i>
Nyctaginaceae	<i>Neea, Pisonia</i>
Palmae	<i>Euterpe</i>
Papilionaceae	<i>Ormosia</i>
Polygonaceae	<i>Cocoloba, Rhamnaceae, Rhamnus</i>
Rhamnaceae	<i>Pomaderris, Trymalium</i>
Rosaceae	<i>Crataegus, Dryas, Malus, Pyrus, Sorbus</i>
Salicaceae	<i>Populus, Salix</i>
Sapindaceae	<i>Allophylus, Nephelium</i>
Tiliaceae	<i>Tilia</i>
Ulmaceae	<i>Ulmus</i>

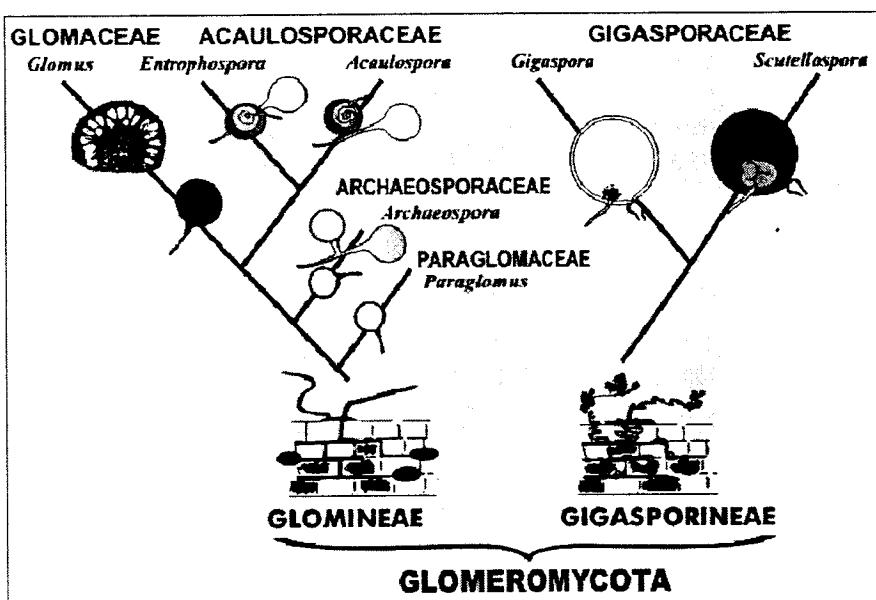
ในประเทศไทยพบว่าราเוכโตไมโครริชชา ประมาณ 69 ชนิด อยู่ร่วมกับพันธุ์ไม้ในระบบนิเวศน์ป่าเต็งรัง ซึ่งแสดงการสร้างเוכโตไมโครริชชาอย่างเด่นชัด ได้แก่ ไม้เต็ง (*Shorea obtusa* Wall.), รัง (*Shorea siamensis* Miq.), เหียง (*Dipterocarpus obtusifolius* Teijsm. ex Miq.), พلغ (*Dipterocarpus tuberculatus* Roxb.), และมะค่าโมง (*Afzelia xylocarpa* Craib.) (Chalermpongse, 1992)

2.1.2 อาร์บัสคูลาร์ไมโครริชชา (arbuscular mycorrhiza; AM หรือ Endomycorrhizas หรือ Vesicular-arbuscular mycorrhizas) ราในกลุ่มนี้จะมีเส้นใยเจริญอยู่ภายในเซลล์ราก ไม่รวมกันเป็นแผ่นแม่นเทล เส้นใยของราจะเจริญเข้าไปอยู่ภายในชั้นคอร์เทกซ์ ของเซลล์ราก และสร้างโครงสร้างพิเศษ 2 แบบ สำหรับดูดธาตุอาหาร ชื่นภายในเซลล์คอร์เทกซ์นั้น คือ arbuscule เป็นโครงสร้างที่มีผนังหนา และมีรูปร่างคล้ายตันไม้แตกกึ่งก้านสาขา (dwarf tree) และ vesicle ซึ่งเป็นโครงสร้างที่มีรูปร่างกลม หรือรี ผนังบาง แต่เดิมจึงอาจเรียกอีก ในชื่อที่นิยมว่า Vesicular-arbuscular mycorrhiza หรือ VA mycorrhizas (VAM) ปัจจุบันพบว่าราในกลุ่มนี้บางชนิดเท่านั้นที่สร้าง vesicle ตั้งนั้นจึงนิยมเรียกว่าอาร์บัสคูลาร์ไมโครริชชามากกว่า เนื่องจากโครงสร้างทั้งสองนี้เป็นโครงสร้างที่ไม่พบในราชนิดใด ๆ จึงทำให้สามารถใช้โครงสร้างนี้ในการบ่งชี้ว่ามีราชนิดนี้เข้าอยู่อาศัยในพืช รากของพืชที่มีราอาร์บัสคูลาร์ไมโครริชชาอาศัยร่วมอยู่ด้วยสามารถเจริญได้ตามปกติ และไม่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพ แต่หากพืชบางชนิดอาจพบการเปลี่ยนสีเป็นสีเหลืองอ่อน และไม่มีรากขน ซึ่งสีเหลืองนี้จะหายไปเมื่อถูกแสงสว่างและความเข้มของสีขึ้นอยู่กับปริมาณการเข้าสู่รากของรา (Harley & Smith, 1983)



รูปที่ 2.2. A. ลักษณะของอาร์บัสคูลที่มีลักษณะคล้ายตันไม้ (tree-like) B. ลักษณะของเวสิเคิล (ลูกศรชี้) และอาร์บัสคูล (Brundrett, 1984)

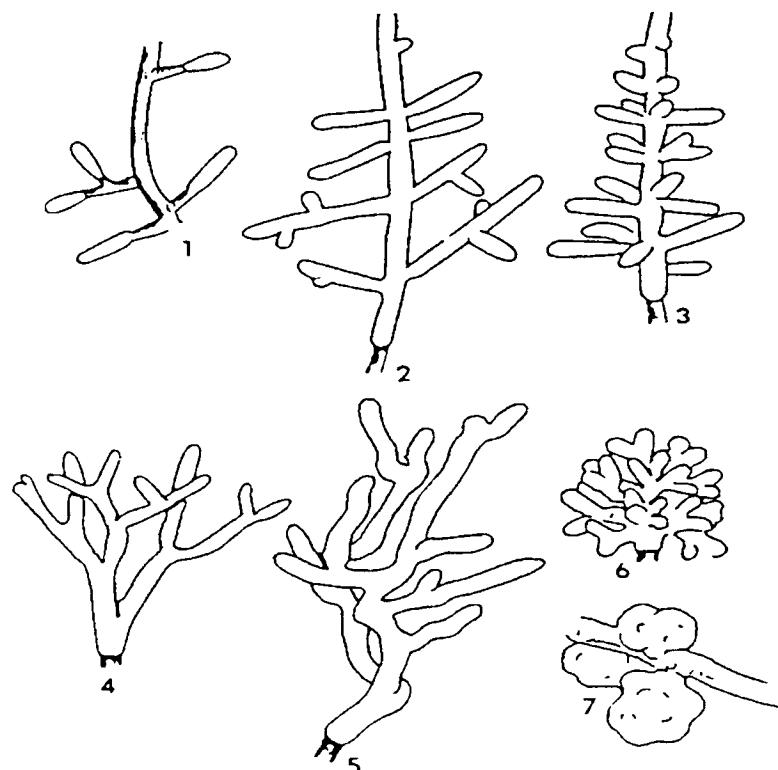
ราอาร์บสคูลารีไมโครไรชาอยู่ใน Phylum Glomeromycota จำแนกได้ประมาณ 150 ชนิด ส่วนใหญ่อยู่ในสกุล *Acaulospora* *Entrophospora* *Gigaspora* *Glomus* *Sclerocystis* และ *Scutellospora* (Schenck & Perez, 1987; Schüßler et al., 2001) เชื่อว่าเป็นไมโครไรชาชนิดที่เก่าแก่ที่สุด มีอายุมากกว่า 450 ล้านปีในยุค Ordovician (Redecker et al., 2000) รากกลุ่มนี้เมื่อใส่เป็นหัวเชือ จะสร้างไมโครไรชา สามารถเพิ่มผลผลิต และส่งเสริมการเติบโตให้กับพืชได้มากกว่า 25,000 ชนิด ทั้งพืชไร่ พืชสวน และกล้าไม้ป่า ซึ่งล้วนแต่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจได้แก่ สัก ประดู่ ข้าว ข้าวโพด ข้าวฟ่าง กافเฟ อุ่น แอปเปิล พลัม สับปะรด อะโวคาโด สดอร์เบอร์รี่ ราสเบอร์รี่ เชอร์รี่ แพร์ มันฝรั่ง เป็นต้น (Varma & Schuepp, 1995; Fortuna et al., 1996; Lovato et al., 1996; Azcon-Aguilar & Barea, 1996; Siqueira et al., 1998; Duffy & Cassells, 2000; Cardoso et al., 2003) การกระจายของราอาร์บสคูลารีไมโครไรชาจะพบได้ในตินทุกทันทุกแห่ง ทั้งในดินที่ใช้สำหรับการเกษตร ทุ่งหญ้า ป่าไม้หรือแม้กระทั่งดินที่ปล่อยไว้รกร้างในเหมืองเก่า ดังนั้นราอาร์บสคูลารีไมโครไรชาจึงถือได้ว่าเป็นองค์ประกอบที่สำคัญอย่างยิ่งในสังคมพืชตามธรรมชาติ อนิวรรต และอีรัตน์ (2525) พบว่าในระบบนิเวศน์ป่าดิบแล้งของไทยจะมีชนิดพันธุ์ไม้ที่มีความสัมพันธ์กับราอาร์บสคูลารีไมโครไรชาอยู่ด้วยกันทั้งสิ้น 113 ชนิด ที่สำคัญได้แก่ ประดู่ (*Pterocarpus macrocarpus* Kurz.) มะหยง (*Dalbergia cochinchinensis* Pierre), แตง (*Xylia xylocarpa* (Roxb.) Taub. Var. *kerrii* (Craib & Hutch) Nielsen) มะค่าแตง (*sindora siamensis* Teijsm. ex Miq.) กระบอก (*Irvingia malayana* Oliv. ex A. Benn.) เป็นต้น



รูปที่ 2.3 การจัดจำแนกราอาร์บสคูลารีไมโครไรชา (Morton, 1990)

2.2 ลักษณะของรากพืชที่ติดเชื้อราเอคโตไมคอร์ไรชา

ลักษณะของรากพืชที่มีเอคโตไมคอร์ไรชา จะแตกต่างไปจากรากพืชที่ไม่มีเอคโตไมคอร์ไรชา อย่างเห็นได้ชัด เช่น รูปร่าง สี ลักษณะของผิวราก นอกจากนี้ยังมีลักษณะอื่น ๆ ที่มีขนาดเล็กมากจนต้องใช้กล้องจุลทรรศน์ในการตรวจดู ลักษณะของรากที่เป็นผลมาจากการปนเปื้อนของรา ระหว่างรา และรากพืช รากพืชที่มีเอคโตไมคอร์ไรชาจะมีการแตกแขนงมากขึ้น Zak (1973) ระบุว่า รากไม้ในตะเกล Abies, Larix, Picea, Pseudotsuga และ Tsuga ที่มีเอคโตไมคอร์ไรชา จะมีรูปแบบการแตกแขนงของรากเป็นแบบ Pyramidally pinnate ขณะที่รากสนที่มีเอคโตไมคอร์ไรชาส่วนใหญ่จะมีลักษณะการแตกแขนงเป็นแบบ Monopodial, Bifurcates หรือ Coralloid รูปแบบของการแตกแขนงและชื่อเรียกแสดงไว้ในรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 รูปแบบการแตกแขนงของรากเอคโตไมคอร์ไรชา 1) simple or unramified, 2) monopodial-pinnate, 3) monopodial-pyramidal, 4) dichotomous, 5) irregularly pinnate, dichotomous-like, 6) coralloid, 7) tubercle-like (ที่มา Durall et al., 1996)

2.4 นิเวศวิทยาของรามายคอร์ไรชา

รามายคอร์ไรชา ก็เหมือนกับสิ่งมีชีวิตทั้งหลาย ที่ต้องมีการเจริญหรือทวีจำนวน ซึ่งการเจริญหรือทวีจำนวนนี้จะเกี่ยวข้องกับสภาพแวดล้อมทั้งหลายประการ เช่น อุณหภูมิ, ความชื้น, ความเป็นกรด-ด่าง และสารอาหาร เป็นต้น

2.4.1. อุณหภูมิ อุณหภูมิเป็นสภาพแวดล้อมที่มีความสำคัญยิ่งในการเจริญ และการปรับตัวให้อยู่รอดของรามายคอร์ไรชา ราเอคโตไมค์อร์ไรชาแต่ละชนิดแต่ละสายพันธุ์เจริญในช่วงอุณหภูมิแตกต่างกันออกไป (Hacskeyllo et al., 1965) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของราเอคโตไมค์อร์ไรชาส่วนใหญ่อยู่ระหว่าง 18-27 องศาเซลเซียส (Harley & Smith, 1983) ราเอคโตไมค์อร์ไรชาบางชนิดมีความทนทาน และสามารถเจริญได้ในสภาพที่อุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่านี้ France et al. (1979) รายงานว่า รา *Amanita citrina* (Schaeff.), *A. muscaria* (L. ex Fr.), *Cenococcum graniforme* (Sow.), *Pisolithus arhizus*, *Thelephora terrestris* (Ehrh. ex Fr.), *Suillus granulatus* (L. ex Fr.), *Suillus tomentosus* (Kauffm.) Singer, Shell & Dick, *Laccaria laccata* (Scop ex Fr.) Berk. & Br. และ *Hebeloma crustuliniforme* (Bull. ex St. Am.) Quel. สามารถเจริญ และอยู่รอดได้ร้อยละ 97 ภายหลังการเก็บที่ -10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นอกจากนี้รา *P. arhizus* ยังสามารถเจริญบนอาหาร Hagem agar ที่อุณหภูมิสูงถึง 42 องศาเซลเซียสได้ (Momoh & Gbadegesin, 1980) อุณหภูมิยังมีผลต่อการเจริญในระยะต่างๆ และการสร้างสปอร์ของราอาบสคูลาร์ไมค์อร์ไรชาในแต่ละสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน (Schenck & Schroder, 1974) อุณหภูมิที่เหมาะสมของ *Glomus fasciculatum* (Thaxt.) Gerd. & Trappe ที่ทำให้เกิดการติดเชื้อในถั่วลันเตาคือ 20-22 องศาเซลเซียส (Jain & Sethi, 1988)

2.4.2 ความชื้น บทบาทของความชื้นต่อราเอคโตไมค์อร์ไรชานั้น มีความสำคัญต่อการมีชีวิตอยู่รอด การเจริญของรา ที่ระดับความชื้นในดินต่ำ ๆ ประมาณร้อยละ 2-7 ราเอคโตไมค์อร์ไรชา ก็ยังสามารถเจริญอยู่ได้ และเจริญได้ดีที่ระดับความชื้นอยู่ในดินระหว่างร้อยละ 10-15 (Harley & Smith, 1983) รา *Cenococcum geophilum* Fr. เป็นราเอคโตไมค์อร์ไรชาที่สามารถเจริญ และอยู่ร่วมกับดินไม้ ในสภาพที่มีความแห้งแล้งสูงได้ (Trappe, 1977) การศึกษาการติดเชื้อราอาบสคูลาร์ไมค์อร์ไรชาใน *Brassica napus* ในดินที่มีความชื้นร้อยละ 18 22 26 และ 38 ตามลำดับ พบร่วมกับดินที่เหมาะสมที่สุดคือร้อยละ 18 (Mahmood & Iqbal, 1982) มีรายงานว่าในแปลงป่าลูก *Acacia albida* Delile จะพบสปอร์ของราอาบสคูลาร์ไมค์อร์ไรชาสกุล *Glomus*, *Gigaspora*, *Acaulospora* และ *Sclerocystis* ในถุงฟันมากกว่าถุงร้อน หากกว่าร้อยละ 262

2.4.3. ความเป็นกรด-ด่าง ในสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ที่ราเอคโตไมค์อร์ไรชาเจริญอยู่ได้นั้น จะมีความเป็นกรด-ด่างแตกต่างกันไปอย่างมาก ความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในการเจริญของราเอคโตไมค์อร์ไรชาส่วนใหญ่ อยู่ระหว่าง 4.5- 5.5 (Hung & Trappe, 1983) ราเอคโตไมค์อร์ไรชาแต่ละชนิด หรือต่างสายพันธุ์ จะมีความสามารถเจริญในสภาพที่มีความเป็นกรด-ด่าง

แตกต่างกันด้วย Willenborg et.al (1990) พบว่าความเป็นกรด-ต่างที่ส่งเสริมการเจริญของรา *Paxillus involutus* (Batsch) Fr. จำนวน 5 สายพันธุ์ มีค่าอยู่ระหว่าง 2.5-4.5 ดินที่เป็นกรดยังเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการออกและการเกิดสปอร์ของราอาบสคูลาร์ไมโครรีชา และเป็นส่วนสำคัญในการอธิบายการกระจายตัวของราอาบสคูลาร์ไมโครรีชาในตินชนิดต่างๆ (Mosse et al., 1981) เนื่องจากราแต่ละชนิดชอบความเป็นกรด-ต่างของดินต่างกัน มีรายงานว่าพบรากาบสคูลาร์ไมโครรีชาในราพืชที่เจริญในดินที่มีความเป็นกรด-ต่างสูงถึง 9.2 และในดินเหมืองบิทูมินส์ที่มีความเป็นกรด-ต่าง 2.7 แต่โดยปกติแล้วราอาบสคูลาร์ไมโครรีชาจะชอบดินที่เป็นกรด-ต่างปานกลางถึงสูงเล็กน้อย (Green et al., 1976) รา *Glomus epigaeum* B.A. Daniels & Trappe จะมีปอร์เซ็นต์การออกลดลงเมื่อความเป็นกรด-ต่างต่ำกว่า 7 อย่างไรก็ตามสำหรับราอาบสคูลาร์ไมโครรีชาบางชนิดความเป็นกรด-ต่างของดินก็ไม่มีผลต่อการออกและการเจริญ เช่น ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงการติดเชื้อของรา *G. fasciculatum* เมื่อความเป็นกรด-ต่างเพิ่มจาก 5.3 เป็น 7 แต่ ราอาบสคูลาร์ไมโครรีชาบางชนิดก็ชอบความเป็นกรด-ต่างที่ต่ำเล็กน้อย เช่น *Gigaspora coralloidea* Trappe, Gerd. & I. Ho และ *Gi. heterogama* (T.H. Nicolson & Gerd.) Gerd. & Trappe มีการออกที่ต่ำที่สุดที่ความเป็นกรด-ต่างเท่ากับ 5 และ 6 ตามลำดับ (Daniels & Trappe, 1980)

2.4.4. สารอาหาร สารอาหารที่จำเป็นในการเจริญของราเอโคโตไมโครรีชา เป็นได้ทั้งสารอินทรีย์และอนินทรีย์ โดยทั่วไปราเอโคโตไมโครรีชาสามารถเจริญได้ดีในอาหารเหลียงเชื้อที่มีน้ำตาลกลูโคส แมนโนส และเซลโลไบโอล เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน ส่วนน้ำตาลฟรุคโตสจะถูกใช้ได้โดยราเอโคโตไมโครรีชาบางชนิดหรือบางสายพันธุ์เท่านั้น (Cao & Crawford, 1993) Thapar (1988) รายงานว่า รา *Scleroderma bovista* Fr. รา *A. hygrometricus* และรา *C. graniforme* (Sowerby) Ferd. & Winge เจริญได้ดีบนอาหารที่มีน้ำตาลซูโคส และมอลโตส เป็นแหล่งคาร์บอน ส่วนที่เหลือในตอรเจนที่สำคัญต่อการเจริญของราเอโคโตไมโครรีชาแน่น จะอยู่ในรูปของอนินทรีย์ในตอรเจน ราเอโคโตไมโครรีชาสามารถเจริญได้ดีในอาหารเหลียงเชื้อที่มีแอมโมเนียม เป็นแหล่งในตอรเจน (France & Reid, 1982; Harley & Smith, 1983; Ek et al., 1994) ราเอโคโตไมโครรีชาบางชนิดสามารถเจริญได้บนอาหารที่มีในเตรตหรือสารอินทรีย์ในตอรเจน เช่น กรดอะมิโน เป็นแหล่งในตอรเจนได้ Scheromm et al. (1990) พบว่า รา *Hebeloma cylindrosporum* Romagn. มีอัตราการเจริญบนอาหารที่ใส่ในเตรตเป็นองค์ประกอบเพิ่มเป็น 10 เท่า เมื่อเทียบกับการเจริญบนอาหารเหลียงเชื้อที่ใส่แอมโมเนียมเป็นแหล่งในตอรเจน

2.4.5 ธาตุฟอสฟอรัส พืชที่มีราอาบสคูลาร์ไมโครรีชาจะเพิ่มการดูดสารอาหารจากดินโดยเฉพาะสารที่เคลื่อนที่ได้น้อย เช่นฟอสเฟต (Allen, 1981) แต่ถ้าพืชได้รับฟอสฟอรัสมากเกินจะส่งผลต่อปริมาณของราอาบสคูลาร์ไมโครรีชาในราที่ลดลง Ishii et al. (1998) ได้ศึกษาผลของการใส่ปุ๋ยฟอสฟอรัสในพืชตระกูลส้ม พบว่าจำนวนราอาบสคูลาร์ไมโครรีชาในราลดลง

เมื่อความเข้มข้นของปุ๋ยเพิ่มขึ้น Sharma & Adholeya (2000) รายงานว่าถ้าความเข้มข้นของฟอฟอรัสในดินเพิ่มจาก 10 ppm เป็น 20 ppm การติดเชื้อร้ายไมโครริเชาในรากของยูคาลิปตัสลดลงจากร้อยละ 30 เป็นร้อยละ 10

2.4.6 ธาตุในໂຕຣເຈນ Hayman (1970) รายงานว่าการเติมปุ๋ยในໂຕຣເຈນลงไปในดินจะทำให้รา_ABS₂O₃ริเชาในรากลดลง Abbott et al. (1984) รายงานว่าการให้ปุ๋ยในໂຕຣເຈນ มีผลยับยั้งการเจริญของเลี้นไยราในดินรวมทั้งลดการติดเชื้อในรากด้วย และพบว่าเกลือในเตรทยับยั้งการเจริญของรา_ABS₂O₃ริเชาได้มากกว่าเกลือแอมโมเนีย การให้ปุ๋ยในໂຕຣເຈນ และธาตุอาหารบางชนิด เช่น สังกะสี แมงกานีส มากเกินไปยังสามารถยับยั้งการเจริญและการติดเชื้อในรากของรา_ABS₂O₃ริเชาด้วย (Menge, 1984)

2.4.7 ความเข้มแสง แสงมีความสำคัญต่อการสังเคราะห์แสงของพืช ถ้าพืชได้รับแสงมากจะทำให้พืชสังเคราะห์แสงได้น้ำตาลจำนวนมาก ซึ่งเป็นอาหารของรา_ABS₂O₃ริเชา มีรายงานว่าความเข้มแสงที่มากขึ้นมีผลทำให้การติดเชื้อรา_ABS₂O₃ริเชาในรากพืช *Nectandra ambigens* เพิ่มขึ้น (Sanchez-Gallen et al., 1998) ถ้าพืชได้รับแสงน้อยลง ปริมาณเลี้นไยราลงและเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อในรากลดลง เนื่องจากพืชมีการสังเคราะห์ลดลง ทำให้เกิดการจำกัดการนำไปใช้เตรตในพืช ราชจึงได้รับการนำไปใช้เตรตลดลง (Heinemeyer & Fitter, 2001)

2.4.8 สารเคมีทางการเกษตร ยาฆ่ารา蒼ที่ใช้สำหรับป้องกันกำจัดโรคพืช มีผลต่อการเจริญของราເອົຄໂຕໃມຄອງຮູ້ໃຫຍ່ ยาฆ่ารา蒼คือ ยาฆ่ารา蒼บางชนิดจะไปยับยั้งการเจริญของราເອົຄໂຕໃມຄອງຮູ້ໃຫຍ່ (Mardisubroto & Wardana, 1982) หรืออาจจะไปกระตุ้นให้เจริญเร็วขึ้น เนื่องจากจุลินทรีย์อินบิเวนรากถูกทำลายลงไป (Torstensson & Wessen, 1984) ราເອົຄໂຕໃມຄອງຮູ້ໃຫຍ່ มีความสามารถที่จะทนทานต่อยาฆ่ารา蒼แต่ละชนิดที่ใช้ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ แตกต่างกัน Marx & Rowan (1981) พบว่า ยาฆ่ารา蒼 Benodanil ที่ระดับความเข้มข้น 3.4, 6.8, 13.7, และ 27.3 ในໂຄຣກຣມຕ່ວລິຕົກໃນอาหาร Modified Melin-Norkran (MMN) จะยับยั้งการเจริญ ของรา *Pisolithus arhizus* และ *Thelephora terrestris* ในขณะที่การใช้ Captan ที่ระดับความเข้มข้น 1.0, 2.0, 3.9, และ 8.8 ในໂຄຣກຣມຕ່ວລິຕົກ ไม่มีผลต่อการเจริญของราເອົຄໂຕໃມຄອງຮູ້ໃຫຍ່ ทั้งสองชนิด Hutchison (1990) รายงานว่าราເອົຄໂຕໃມຄອງຮູ້ໃຫຍ່ในสกุล *Boletinus*, *Boletellus*, *Boletus*, *Chalciporus*, *Lectinum*, *Suillus*, *Xerocomus*, *Pisolithus*, *Rhizopogon*, *Scleroderma*, *Hydnangium*, *Laccaria*, *Hygrophorus*, *Thelephora* และ *Paxillus* สามารถทนทานและเจริญบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) ที่มี Benomyl อยู่ในปริมาณ 10 ไม่ໂຄຣກຣມຕ່ວລິຕົກ แต่ราເອົຄໂຕໃມຄອງຮູ້ໃຫຍ່ *C. geophilum* และราເອົຄໂຕໃມຄອງຮູ້ໃຫຍ່ในสกุล *Hebeloma*, *Lactarius* และ *Russula* ไม่สามารถเจริญบนอาหาร PDA ที่ผสมด้วย Benomyl เป็นองค์ประกอบอยู่ได้ ยาฆ่ารา蒼 ยาฆ่าแมลงและยากำจัดวัชพืชมีผลยับยั้งการเจริญของรา_ABS₂O₃ริเชา

สารไมโครไรชา ยาผ่าเชื้อรา Bavistin, Dithane, Emisan, Fytolan, Thiram และ Ziram ยับยั้งการเจริญและการสร้างสปอร์ราอาบสคูลาร์ไมโครไรชาหลายชนิดในต้นถั่วลิสิง (*Arachis hypogea* L.) ส่งผลให้พืชลดการเจริญเติบโต (Sugavanam et al., 1994) carbendazim และ chlorothalonil ยับยั้งการงอกของสปอร์ของ *G. mosseae* (T.H. Nicolson & Gerd.) Gerd. & Trappe และลดการติดเชื้อในรากถั่วเหลือง (Venedikian et al., 1999)

2.4.9 จุลินทรีย์อื่นในดิน ราເອົກໂຕໄມຄອຣີໄຮຈາບາງໜິດ ໄນສາມາດຄືທີ່ຈະເຈັບຍຸດ ແລະ ແກ່ງແຍ່ງກັບຈຸລິນທີ່ຢູ່ໃນ ຈຸ່ງທີ່ອຳຍຸປະວັດຮອບ ຈຸ່ງຮາກພື້ນໄດ້ ຈຸໍລິນທີ່ບາງໜິດສາມາດຄສຽງສາրົພີຂຶ້ນໃນດິນ ເຊັ່ນ *Gliotoxin* ທີ່ອີງ *Griseofulvin* ທີ່ມີຜົນຍັບຍັດການເຈັບຍຸດຂອງຮາເອົກໂຕໄມຄອຣີໄຮຈາ (Jackson & Mason, 1984) Calvet et al. (1992) ຮາຍງານວ່າ *Trichoderma* sp. ສາມາດຄຮະຕັ້ນການເຈັບຍຸດຂອງເສັ້ນໄຍ້ *G. mosseae* ໂດຍໄປຍັບຍັດການເຈັບຍຸດຂອງຮາໂຮຄພື້ນ *Fusarium* sp. ແລະ *Verticillium* sp. ການສຶກຫາໂດຍ Mugnier ແລະ Mosse ໃນປີ 1987 ພບວ່າ *Streptomyces orientaris* ສາມາດຄຮະຕັ້ນການອົກຂອງສປອງຮາ *G. mosseae* ແລະເນື່ອເລີ່ມ *free-living microorganism* ຮ່ວມກັບ ສປອງຮາອາບສคູລາຣີໄມຄອຣີໄຮຈາພວບວ່າເສັ້ນໄຍ້ທີ່ອົກຈາກສປອງມີຄວາມຍາວແຕກແນ້ນນຳກວ່າເນື່ອເລີ່ມສປອງເພີ່ງອຍ່າງເຕີຍ (Azcon-Aguilar et al., 1986) ຄ້າຮາກພື້ນມີການຕິດເຂື້ອຍ່ແລ້ວດ້ວຍຮາ *Pythium* sp. ແລະ *Phytophthora* sp. ຈະທຳໄທການຕິດເຂື້ອຂອງ *Glomus macrocarpum* Tul. & C.Tul. ລດລງວ້ອຍລະ 30-35 ແລະການສຽງສປອງລົດລົງດ້ວຍ

2.4.10 ການຮັບກວນດິນ ການພຽນທີ່ໄດ້ດິນເປັນການຮັບກວນດິນຂັ້ນບົນທີ່ເປັນທີ່ອຳຍຸຂອງເສັ້ນໄຍ້ແລະສປອງຮາອາບສคູລາຣີໄມຄອຣີໄຮຈາ ກິຈกรรมເຫຼົ່ານີ້ຈະໄປຕັດເສັ້ນໄຍ້ຮາທີ່ກ່າວໄສ ແຕກ ທຳໄຫ້ລົດການຕິດເຂື້ອໃນຮາກ ຂ້າວໂພດຈະລົດການຕູດໝື່ມີພອສຟອຣັສ ແລະສັງກະສິລົງເນື່ອມີການຮັບກວນດິນ (Galvez et al. 2001)

2.5 ບຫບາຫທີ່ສໍາຄັນຂອງຮາເອົກໂຕໄມຄອຣີໄຮຈາໃນຮະບນນິເວສ

2.5.1 ຄວາມເປັນປະໂຍ່ນຕ່ອື່ພື້ນ

ກ) ການຕູດຂັ້ນແຮ່ຮາດຖາອາຫານແລະການຮະຕັ້ນການເຈັບຍຸດຂອງພື້ນ ຮາກພື້ນທີ່ມີຮາເອົກໂຕໄມຄອຣີໄຮຈາອາຄ່າຍ່ອງດ້ວຍ ຈະມີຂະດາໄຫດ່ ແລະແຕກແນ້ນນຳກ່າວ່າເສັ້ນໄຍ້ຂອງຮາທີ່ແຜ່ກະຈາຍໄປໃນດິນທຸກທີ່ສໍາຄັນ ຈະທຳຫ້າທີ່ເສີມອາກຝອຍ ຂ້າຍເພີ່ມພື້ນທີ່ຜົວໃນການຕູດໝື່ມີຮາດຖາອາຫານ ແລະນ້າຂອງຮາກ Marx & Ruehle (1988) ພບວ່າ ຮາກຂອງຕັ້ນສນ *Pinus taeda* ທີ່ໄສ່ຮາເອົກໂຕໄມຄອຣີໄຮຈາ *Pisolithus arhizus* ກາຍຫັ້ງການຍ້າຍປຸລູກ 2 ປີ ຈະສາມາດຄັ້ງເກີດເຫັນເສັ້ນໄຍ້ຂອງຮາແພໄປໃນດິນໄດ້ໄກລື້ງ 3 ເມືດຮັບ ເສັ້ນໄຍ້ທີ່ແພໄປໄດ້ໄກລ ຈຸ່ງສາມາດຕູດຮາດຖາອາຫານແລະນ້າໃນບຣິເວສທີ່ຮາກໄປໄມ໌ເຖິງສົ່ງມາໃຫ້ກັບຮາກສົ່ງຜລໃຫ້ການເຈັບຍຸດຂອງຕັ້ນໄມັດື່ຂຶ້ນ Rousseau et al. (1994) ພບວ່າ ພື້ນທີ່ຜົວໃນການຕູດໝື່ມີຮາກທີ່ເພີ່ມຂຶ້ນນັ້ນ ມີເສັ້ນໄຍ້ຂອງຮາເອົກໂຕໄມຄອຣີໄຮຈາເປັນສ່ວນປະກອບຄື້ງວ້ອຍລະ 75 Skinner & Bowen (1974) ໄດ້ໃຫ້ສາກົມມັນຕກພວງສື່ພອສຟອຣັສ-32 ຕຽບສອບພວບວ່າຮາກຂອງກຳລັງ

สน *Pinus radiata* ที่ใส่ราเอย์ด้วยราเอย์ *Rhizophagus luteolus* จะสามารถสะสมฟอสฟอรัสในราก ที่ได้จากการดูดซึมโดยเส้นใยของรา มากกว่ารากที่ไม่มีเอคโดไมค์ด้วยราเอย์ด้วยราเอย์ ที่ได้จากการดูดซึมโดยเส้นใยของราต่ออาหารในดินที่สลายด้วยเชื้อรา ซึ่งอยู่ในรูปที่พิชใช้ประโยชน์ไม่ได้ให้อยู่ในรูปที่พิชสามารถดูดไปใช้ได้ Cumming & Weinsten (1990) รายงานว่า กล้าสน *Pinus radiata* ที่ใส่ราเอย์ด้วยราเอย์ *P. arhizus* จะสามารถใช้ AlPO_4 เป็นแหล่งฟอสฟอรัสได้ เช่น Cumming (1993) อธิบายว่า การที่กล้าไม้มีราเอย์ด้วยราเอย์ สามารถใช้ฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปที่พิชดูดไปใช้ประโยชน์ไม่ได้ เนื่องจากราเอย์ด้วยราเอย์จะผลิตกรดอินทรีย์ออกมา ซึ่งจะมีผลต่อการละลายของ AlPO_4 โดยตรง Williamson & Alexander (1975) และ Ho & Zak (1979) พบว่า ราเอย์ด้วยราเอย์ สามารถสร้างเอนไซม์ Phosphatase สะสมไว้ในเซลล์ได้ และด้วยกิจกรรมของเอนไซม์ Phosphatase ที่ราเอย์ด้วยราเอย์จะผลิตชื่นมาเน่ ทำให้พิชสามารถใช้ฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปที่ละลายยาก เช่น p-nitrophynylphosphate, Calcium Phytates (Jackson & Mason 1984, Allen et al. 1981) ได้ ฟอสฟอรัสที่ถูกดูดเข้าไปนี้ ประมาณร้อยละ 90 จะถูกสะสมไว้ที่แผ่นแมนเทล (Harley & Smith, 1983; Jackson & Mason, 1984) ในรูปของ Soluble orthophosphate (Harley & Loughman, 1963), Soluble polyphosphate (Martin et al., 1983; Harley & Smith, 1983) หรือ Polyphosphate granules (Chilvers & Harley, 1980; White & Brown, 1979) เส้นใยของราเจิงทำหน้าที่เสมือนเป็นแหล่งกักเก็บธาตุฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์สำหรับพิช และจะปลดปล่อยให้พิชเมื่อพิชมีความต้องการธาตุอาหาร

Menge et al. (1977) ค้นพบว่าราบบสคูลาร์ไมค์ด้วยราเอย์สามารถกระตุนการเจริญของพิชสวนได้ โดยทดลองในสัม นอกจานนี้ยังสามารถกระตุนการเจริญพิชได้ ผัก ไม้ดอกไม้ประดับอีกด้วย และทำให้ผลผลิตที่ได้มีคุณภาพดีขึ้น เนื่องจากฟอสฟอรัสเป็นธาตุที่สำคัญต่อการเจริญของส่วนขยายพันธุ์ คือ ดอก ผล และเมล็ด เมื่อพิชที่ได้รับธาตุฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้น การเจริญของส่วนขยายพันธุ์ก็เพิ่มขึ้นด้วย เช่น การเพิ่มการออกดอกในพริกไทย (Dodd et al., 1983) เพิ่มการผลิตเมล็ดในถั่วเหลือง และข้าวบาร์เล่ย์ (Johansen & Jensen, 1996) นอกจากราบบสคูลาร์ไมค์ด้วยราเอย์จะช่วยในการดูดซึมธาตุฟอสฟอรัสแล้ว ยังช่วยเพิ่มการดูดซึมธาตุอาหารอื่นๆ อีกด้วย เช่น ในโตรเรน โพแทสเซียม ทองแดงและสังกะสี ทำให้ช่วยลดปริมาณการใช้ปุ๋ยเคมี

(ช) การป้องกันโรคระบบทางเดินหายใจ ราเอย์ด้วยราเอย์สามารถช่วยป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อรากที่เป็นสาเหตุของโรคระบบทางเดินหายใจ อาทิ ราเอย์ด้วยราเอย์จะทำหน้าที่เสมือนเกราะป้องกันเชื้อโรคที่จะเข้ามาทำลายราก (Marx, 1969a) ราเอย์ด้วยราเอย์ยังสามารถสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiotics) ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคได้ เช่น Marx (1969b) และ Marx & Davey (1969) พบว่า ราเอย์ด้วยราเอย์ *Leucopaxillus cerealis* var. *piceina* สามารถสร้างสารปฏิชีวนะ ชื่อ Diatretyne nitrile และ Diatretyne 3 ที่มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อรา *Phytophthora cinnamomi* ได้ Sinclair et al. (1982) พบว่า รากของกล้าสน

Pinus resinosa ที่ติดเชื้อร่าเอคโดยไมโครริรีชา *Laccaria laccata* (Scop.) Cooke สามารถป้องกันโรคที่เกิดจากเชื้อร่า *Fusarium oxysporum* E.F. Sm. & Swingle และส่งเสริมการเจริญของกล้าไม้ให้เป็นไปตามปกติได้ ในขณะที่ต้นกล้าที่ไม่มีราเอคโดยไมโครริรีชา จะมีอัตราการตายสูง หรือการเจริญของต้นกล้าจะช้ากว่าเดิม นอกจากที่กล่าวแล้ว ราเอคโดยไมโครริรีชาสามารถแก่งาย่งกับเชื้อโรคในดินได้ โดยการใช้คาร์บอไนเตอร์และสารเคมีอื่น ๆ ที่ถูกขับออกมากโดยรากจะมีอัตราการเจริญที่เร็วขึ้น เท่ากับเป็นการลดปริมาณของธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของเชื้อโรคในดินลง

ราาร์บสคูลาโดยไมโครริรีชาสามารถช่วยควบคุมการเกิดและความรุนแรงของโรคพืช โดยรากในสกุล *Glomus* sp. ช่วยลดการเกิดโรค Sheath blight ในข้าวได้ร้อยละ 30 เมื่อผสมรากกาบสคูลาโดยไมโครริรีชาดังกล่าวในดินที่ใช้ปลูก (Hag et al., 1987) รา *G. etunicatum* *G. macrocarpum* และ *Gi. margarita* ช่วยลดการเป็นโรคเหี้ยวจากเชื้อ *Fusarium solani* และเพิ่มผลผลิตของมันฝรั่งได้ (Pescua & Milagrosa, 1989)

(ค) การดูดซับความชื้น เส้นใยของราเอคโดยไมโครริรีชาที่แผ่กระจายลงไปในดินทุกทิศทาง นอกจากจะช่วยในการดูดธาตุอาหารแล้วยังช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวน้ำในการดูดน้ำของรากด้วย ราเอคโดยไมโครริรีชาจะมีความยาวและขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่ารากของพืชทั่วไป ช่วยเพิ่มพื้นที่ในการดูดซึมถึงร้อยละ 26-86 (Hadie & Leyton, 1981) แผ่นแมนเทลของราชทำหน้าที่เสมือนฟองน้ำที่ดูดซับความชื้นไว้ Duddridge et al. (1980) พบว่า Rhizomorph ของราเอคโดยไมโครริรีชา *Suillus bovinus* (Pers.) Roussel สามารถทำหน้าที่ลำเลียงน้ำชั่งอยู่ในรูปของสารกัมมันตภาพรังสี $^3\text{H}_2\text{O}$ สู่รากของกล้าสน *Pinus sylvestris* L. ได้ Foster (1981) อธิบายว่าเส้นใยของราเอคโดยไมโครริรีชา ที่รวมกันเป็น Rhizomorph นี้ จะมีโครงสร้างที่ประกอบด้วยเซลล์ผนังหนา 2 ชนิด และมี Polysacharide gel เป็นองค์ประกอบอยู่ร่อง ๆ ทำหน้าที่ป้องกันการสูญเสียน้ำ Jennifer et al. (1983) ยังพบว่า ในสภาพความชื้นในดินจำกัดราเอคโดยไมโครริรีชาจะมีอัตราการระเหยน้ำต่ำกว่ารากที่ไม่มีเอคโดยไมโครริรีชา

(ง) ความทนทานของต้นไม้ต่อความเป็นพิษของดิน ราเอคโดยไมโครริรีชาช่วยให้รากพืชมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ความเป็นพิษของดิน อุณหภูมิสูงโลหะหนัก หรือสารกัมมันตภาพรังสี เป็นต้น Jones และ Hutchinson (1988) พบว่ารากไม้ Birch ที่มีเอคโดยไมโครริรีชา สามารถเจริญในดินที่มี nickel (Ni) เป็นพิษอยู่สูงได้ ในขณะที่ Colpaert & Van Assche (1992) ระบุว่ารากกล้าสน *Pinus sylvestris* ที่มีเอคโดยไมโครริรีชา สามารถที่จะเจริญอย่างปกติในดินที่มี Zn เป็นพิษอยู่สูงได้เช่นกัน Denny & Wilkins (1987) ระบุว่า ปริมาณของ Zn ที่ดูดเข้าไป จะถูกสะสมไว้ในผนังเซลล์ของเส้นใยราเอคโดยไมโครริรีชา มีเพียงส่วนน้อยเท่านั้นที่จะถูกส่งลำเลียงไปยังพืช นอกจากนี้ Entry et al. (1994) ยังพบว่า กล้าสน *Pinus ponderosa* และ *Pinus radiata* ที่มีราเอคโดยไมโครริรีชา สามารถดูดซับสารกัมมันตภาพรังสี Strontium-90 (^{90}Sr) จากดินได้ ในปริมาณที่มากกว่าต้นกล้าที่ไม่มีราเอคโดยไมโครริรีชาถึง 3-5

เท่า ราอาร์บสคูลา ไมโครริราช่าช่วยให้พืชทนต่อความแห้งแล้ง ดินเคิม ดินเปรี้ยวได้ (Auge et al., 1992) Blal & Gianinazzi-Pearson (1990) รายงานว่า ราอาร์บสคูลา ไมโครริราช่าทำให้ ถั่วลันเตาและถั่วเหลืองทนต่อความแห้งแล้งและ/หรือเจริญกลับมาได้เป็นปกติเร็วขึ้นเมื่อผ่านช่วงน้ำไปแล้ว ปาล์มน้ำมันและสับปะรดที่มีราอาร์บสคูลา ไมโครริราชាសามารถเจริญได้ในดินเปรี้ยว

2.5.2 หน้าที่อื่นในระบบนิเวศ

(ก) การหมุนเวียนธาตุอาหาร และการอนุรักษ์ รามิโครริชา นอกจากจะมีบทบาทสำคัญต่อพืชแล้ว ยังมีความสำคัญในการอนุรักษ์สิ่งแวดล้อม ช่วยทำให้เกิดการหมุนเวียนของธาตุอาหารในดินป่าไม้ โดยเฉพาะธาตุ N, P และ K เมื่อรามิโครริราชายังธาตุอาหารทั้งหลายที่สะสมอยู่ภายในก็จะถูกปลดปล่อยกลับสู่ดิน (Harley & Smith, 1983)

Vogt & Edmonds (1980) ศึกษาการสะสมของธาตุอาหารชนิดต่าง ๆ ใน Fruiting body ของราษฎร 7 ชนิด รวมทั้งราเוכโตไมโครริชาในป่าสน พบว่า Fruiting body จะมีการสะสมธาตุ N, P และ K ได้มากกว่าเศษซากพืชที่ร่วงหล่นอยู่บนพื้นป่า ถึง 3, 2-7 และ 4-22 เท่า ตามลำดับ ซึ่งถือว่ามีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการหมุนเวียนของธาตุอาหารในระบบนิเวศ

(ข) การเคลื่อนย้ายคาร์บอนสู่จุลินทรีย์อื่นในดิน คาร์บอนเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญต่อการเจริญของจุลินทรีย์ในดิน การเจริญของจุลินทรีย์จะเป็นไปอย่างค่อนข้างช้าในสภาพของดินป่าไม้ ซึ่งมีอิฐมัส เป็นองค์ประกอบสำคัญอยู่สูงถึงร้อยละ 80-90 รามิโครริชาจะมีบทบาทสำคัญในการเคลื่อนย้ายคาร์บอนจากราษฎรพืชอาศัย คาร์บอนส่วนที่เหลือเกินความต้องการจะถูกเคลื่อนย้ายสู่ดินโดยโครงข่ายของเส้นไนรา (mycelial network) เป็นการช่วยในการเจริญของจุลินทรีย์อื่นในระบบนิเวศได้ Soderstrom (1993) พบว่ารามิโครริราชะช่วยเคลื่อนย้ายคาร์บอนที่เกินความต้องการสู่ดินได้ในปริมาณ 200 กรัมต่อตารางเมตรต่อปี

(ค) แหล่งอาหารสำหรับสัตว์นานาชนิด ราเוכโตไมโครริชา เป็นแหล่งอาหารของแมลง และสัตว์ขนาดเล็กในดิน อีกหลายชนิด เช่น Collembola Nematodes (Warnock et al. 1982) นอกจากนี้ Master et al. (1978) ยังตรวจสอบขึ้นส่วน หรือสปอร์ของราเוכโตไมโครริชา ในลำไส้ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมขนาดเล็กถึงร้อยละ 79

2.5.3 คุณค่าต่อมนุษย์

(ก) แหล่งอาหารที่สำคัญ นอกจากจะช่วยในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้าไม้แล้ว ราเוכโตไมโครริราชายังสามารถสร้างดอกเห็ด ที่มีความสำคัญในแขวงอาหารและยา และคุณค่าทางเศรษฐกิจต่อมนุษย์ (Trappe, 1977) ราเוכโตไมโครริราชายังชนิด สามารถนำมา กินเป็นอาหารได้ ที่สำคัญ เช่น เห็ดเผา (*A. hygrometricus*) เห็ดระโงกขาว (*Amanita sp.*) เห็ด ระโงกเหลือง (*A. caesarea*) เห็ดน้ำมากหรือเห็ดแดง (*Russula sanguinea* (Bull.) Fr., *R.*

emetica (Schaeff.) Pers.) เห็ดตะไครล (R. *delica* Fr.) เห็ดหลังเขียว (*R. virescens* (Schaeff.) Fr.) เห็ดตับเด่า (*Boletus edulis* Bull.) เห็ดเส้มดูค่า (*Tylopilus rubrobrunneus* Mazzer & A.H. Sm.) (อนิวรรด, 2539) ตอกเห็ดที่สร้างขึ้นมีคุณค่าสำคัญในทางอาหารและยาอย่างยิ่งต่อชุมชน (Chalermpongse, 1996; Chamratpan, 2003; Klinhom et al., 2003) ในอัฟริกา ชาวพื้นเมืองจะเก็บตอกเห็ดจากป่าเป็นอาหาร (Dijk et al. 2002) เห็ดไมโครริชาที่ใช้เป็นอาหารโดยส่วนใหญ่จะพบอยู่ในกลุ่มของ *Amanita*, *Cantharellus*, *Lactarius* และ *Russula* (Munyanziza, 2004) เป็นที่ยอมรับว่าเห็ดเหล่านี้เป็นแหล่งของโปรตีน วิตามิน และกรดอะมิโน ที่มีคุณค่าสำคัญในทางโภชนาการ คาดประมาณว่ามูลค่าของเห็ดไมโครริชาที่มีจำหน่ายอยู่ในตลาดโลก มีค่าถึง 3-6 พันล้านเหรียญสหรัฐ (Anonymous, 2001) ในทวีปยุโรปการเตรียมกล้าไม้ เช่น กล้าไม้ Oak ในฝรั่งเศสมีการประยุกต์ใช้ราเוכโตไมโครริชา เช่น รา *Tuber melanosporum* Vittad. และ *Tuber uncinatum* Chatin (Chevalier, 1988; Massanes et al., 1988) ซึ่งสามารถสร้างตอกเห็ด truffle เมื่อจำหน่ายในตลาดเห็ดชนิดนี้จะมีมูลค่าสูง ถึง 700 \$US ต่อน้ำหนักสดหนึ่งกิโลกรัม (Marx et al., 1992; Walsh 1996) นักวิทยาศาสตร์ได้พยายามเพาะเชื้อราเוכโตไมโครริชาที่สามารถสร้างตอกเห็ด หลายชนิดให้กับกล้าไม้ เช่น ในประเทศญี่ปุ่นมีการเพาะรา *Tricholoma matsutake* (S. Ito & S. Imai) Singer ให้กับกล้าไม้สน (Yun & Hall, 1988) ในประเทศจีนพบว่า การเพาะเชื้อรา *Suillus bovinus* ให้กับกล้าไม้สน เมื่อย้ายนำไปปลูก กล้าไม้ที่ได้รับการเพาะเชื้อสามารถสร้างตอกเห็ดได้ ภายในระยะเวลา 2.5 ปี (Chen et al., 2004) ตอกเห็ด หรือ Fruiting body ของราเוכโตไมโครริชานานาชนิด นอกจากจะเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญแล้ว ยังสามารถนำมาสกัดสี้อมได้หลากหลายสี เช่น สีแดงหรือสีชมพู สามารถสกัดได้จากการตอกเห็ดของราเוכโตไมโครริชาในสกุล *Cortinarius* สีส้ม สามารถสกัดได้จากการตอกเห็ดของราเוכโตไมโครริชา *Boletus edulis* สีน้ำตาลหรือดำสามารถสกัดได้จากการตอกเห็ดของราเוכโตไมโครริชา *Pisolithus arhizus* เป็นต้น (Rice & Beebee, 1980)

(ง) ตัวชี้คุณภาพสิ่งแวดล้อม ราเוכโตไมโครริชาเป็นตัวชี้ถึงความอุดมสมบูรณ์ของระบบวิเคราะห์ป่าไม้ ถ้าที่ใดมีราเוכโตไมโครริชาหากหลายชนิดแสดงว่ามีระบบป่าที่สมบูรณ์ แต่ถ้าที่ใดมีราเוכโตไมโครริชาน้อยชนิด แสดงว่าท้องที่นั้นมีการทำลายป่ามาก และมีมลพิษสูง Arnolds (1988) รายงานว่า การเกิดสภาวะฝนกรด มีผลต่อการลดลงของจำนวนนิตรราเוכโตไมโครริชา ในป่าสนเชตตอบอุ่น ขณะที่ Fellner & Peskova (1995) ระบุว่าความเสื่อมโทรมของระบบวิเคราะห์ป่าไม้ เนื่องจากมลพิษทางอากาศในระดับที่รุนแรงมาก มีผลทำให้ความหลากหลายในชนิดของราเוכโตไมโครริชาลดลงเหลือน้อยกว่าร้อยละ 20 ในขณะที่ในกลุ่ม *Lignicolous* จะเพิ่มขึ้นมากกว่าร้อยละ 55 Grime et al. (1987) ได้สร้างสังคมพืชจำลองขึ้น (microcosms) ประกอบด้วยหญ้าหายาหลายชนิดปลูกในดินหินปูน พบว่าถ้าในสังคมพืชนั้นไม่มีราาร์บสกูลา ในคุอร์ริชา ความหลากหลายของหญ้าจะลดลงเมื่อเทียบกับสังคมพืชที่มีราาร์บสกูลาไมคุอร์ริชา Wilson & Hartnett (1997) ทดลองสร้างสังคมพืชของ tallgrass prairie

เจริญร่วมกับราอาร์บสคูลาไมคอร์ไรชา โดยที่มีหนึ่งการทดลองได้ใส่ยาฆ่ารา苍ที่สามารถยับยั้งการเจริญของราอาร์บสคูลาไมคอร์ไรชาได้ พบรากการทดลองที่ไม่ใส่ยาฆ่ารา苍มีความเข้มแข็งของลังคมพิชที่มากกว่า

2.6 การทำหัวเชื้อราเอคโตไมคอร์ไรชาเพื่อใช้ในการเพิ่มผลผลิตของป่า

เนื่องจากประโยชน์ของราเอคโตไมคอร์ไรชาดังกล่าว จะเห็นว่ามีความจำเป็นอย่างยิ่งในการเพาะราเอคโตไมคอร์ไรชา ให้กับกล้าไม้ก่อนย้ายนำไปปลูก ในพื้นที่ที่ขาดราเอคโตไมคอร์ไรชา โดยเฉพาะในพื้นที่ป่าที่ถูกบุกรุกทำลาย หรือป่าเสื่อมโรม วิธีการที่นิยมใช้ในการเพาะราเอคโตไมคอร์ไรชา ให้กับกล้าไม้ในแปลงเพาะ มีดังต่อไปนี้

2.6.1 การใช้ดินเชื้อจากป่าธรรมชาติ (soil or humus containing natural inoculum)

วิธีนี้เป็นวิธีดั้งเดิม ง่าย และสะดวกกับศูนย์เพาะชำที่ดังอยู่ใกล้ป่าธรรมชาติ หรือสวนป่า ที่มีราเอคโตไมคอร์ไรชาเจริญอยู่ในดินอยู่แล้ว Inoculum ชนิดนี้เตรียมได้โดยชุดดิน หรือ ไข่มส จากป่า มาผสานกับดินที่ใช้ในการเพาะชำ อัตราส่วนที่ใช้ประมาณร้อยละ 10- 20 (Mikola, 1973) ข้อเสียของวิธีนี้คือ ดินมีน้ำหนักมาก เมื่อต้องใช้ในปริมาณสูง ๆ ยุ่งยากกับการขนส่ง โดยเฉพาะการขนย้ายเป็นระยะทางไกล ๆ ไม่สะดวก นอกจากนี้ในดินอาจมีศัตรูพิช หรือโรคพิช ที่อาจทำอันตรายก่อให้เกิดความเสียหายแก่กล้าไม้ได้

2.6.2 การใช้สปอร์ (spore inoculum)

ราเอคโตไมคอร์ไรชาหลายชนิด เช่น *Pisolithus arhizus*, *Rhizopogon* spp., *Scleroderma* spp., และ *Astraeus hygrometricus* ผลิตสปอร์ได้ปริมาณมาก สปอร์ของราเอคโตไมคอร์ไรชาที่ทราบชนิดแล้ว สามารถนำมาคลุกเคล้ากับดินที่จะใช้เพาะ คลุกเคล้ากับเมล็ดก่อนนำไปเพาะ หรือฉีดพ่นให้กับกล้าไม้ก็ได้ (Marx et al., 1991) ในสหรัฐอเมริกา ได้นำเอาสปอร์ของราเอคโตไมคอร์ไรชา *P.arhizus* มาเพาะให้กับกล้าสนในเรือนเพาะชำ และพบว่า สปอร์เพียง 1 มิลลิกรัม (1.1×10^6 สปอร์) สามารถใช้ได้ผลดี (Marx & Bryan, 1975; Marx et al., 1976, 1984 a,b) สปอร์ก่อนที่จะนำมาใช้ต้องร่อนด้วยตะแกรง ผึ้งให้แห้ง (ความชื้นประมาณ 18 %) และเก็บไว้ที่อุณหภูมิประมาณ 5 องศาเซลเซียส จะช่วยให้เก็บไว้ได้นานหลายปี (Marx et al., 1991)

ข้อดีของ spore inoculum คือ ไม่ต้องนำสปอร์ไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเทียม ภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ สามารถเก็บไว้ได้นาน ไม่ยุ่งยากในทางปฏิบัติ สะดวกในการขนย้าย แต่ก็มีข้อเสียคือ spore inoculum จะมีความแปรปรวนทางพันธุกรรมสูงหากเก็บร่วมมาจากหลาย ๆ พื้นที่ หรือพิชอาศัยด่างชนิดกัน นอกจากนี้การเกิดเอคโตไมคอร์ไรชา กับราคพิช ยังต้องใช้เวลานานกว่าการใช้เชื้อบริสุทธิ์ ถึง 4-6 สัปดาห์ (Marx et al., 1984a)

2.6.3 การใช้เชื้อปริสุทธิ์ (mycelial or vegetative inoculum)

วิธีนี้เป็นที่นิยมกันมากในปัจจุบัน เพราะทำให้สามารถคัดเลือกสายพันธุ์ราเוכโตไม่คอร์ไรชาที่ดีได้ โดยการเลี้ยงเส้นใยจากเนื้อเยื่อตอกเห็ด หรือแยกราเוכโตไม่คอร์ไรชาจากรากพืช แล้วนำไปขยายเพิ่มปริมาณโดยใช้ vermiculite กับ peat moss เป็นสับสเตรต และผสมอาหารเหลว Modified Melin-Norkrans (MMN) เลี้ยงนานประมาณ 3-4 เดือน ก่อนนำไปผสมตินเพาะให้กับกล้าไม้ (Marx & Kenny, 1982)

วิธีนี้มีข้อจำกัดคือ การนำเข้าไปใช้กับศูนย์เพาะชำขนาดใหญ่ยังมีปัญหา เนื่องจากไม่สามารถผลิตหัวเชื้อที่บริสุทธิ์ได้ในปริมาณเพียงพอเหมาะสมที่จะใช้กับจำนวนกล้าไม้ประมาณ 10,000-20,000 ต้น เท่านั้น (Marx et al., 1992) นอกจากนี้ราเוכโตไม่คอร์ไรชาบางชนิด ยังไม่สามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ เช่น รา *Lactarius* spp., *Cortinarius* spp., *Russula* spp. และ *Gomphidius* spp. เป็นต้น (Molina & Palmer, 1982)

2.6.4 การผลิตหัวเชื้อราเוכโตไม่คอร์ไรชาในทางการค้า

ปัจจุบันได้มีการพัฒนาวิธีการใช้เชื้อปริสุทธิ์ มาผลิตเป็นอุตสาหกรรมในเชิงการค้า ราเוכโตไม่คอร์ไรชาที่นิยมใช้เป็นหัวเชื้อ และผลิตเป็นการค้า เพื่อใช้ในการปลูกป่าในต่างประเทศ คือ *Pisolithus arhizus*, *Hebeloma crustuliniforme* (Bull. ex St. Am.), *Laccaria bicolor* (R. Mre) Orton หัวเชื้อที่ผลิตขึ้นนี้ ใช้ในอัตราส่วน 1 ลิตร (ราคาประมาณ 285 บาทต่อลิตร) ต่อ พื้นที่ 2.7 ตารางเมตร ก็มีประสิทธิภาพเพียงพอในการทำให้เกิดราเוכโตไม่คอร์ไรชา กับรากพืช (Marx et al., 1992) ปัจจุบันมีหลายบริษัทที่ทำการผลิตหัวเชื้อราเוכโตไม่คอร์ไรชา และวางแผนจ้างหน่วยในท้องตลาด เช่น Plant Health Care Inc. หรือจาก National Institute of Molecular Biology and Biotechnology ประเทศไทย ฟิลิปปินส์ เป็นต้น

2.7 การคัดเลือกราเוכโตไม่คอร์ไรชาเพื่อใช้ในการผลิตหัวเชื้อ

เนื่องจากโดยธรรมชาตินั้น ราเוכโตไม่คอร์ไรชาที่มีความสัมพันธ์กับรากพืชมีอยู่มากมาย หลายชนิด รวมแต่ละชนิดก็จะมีผลต่อพืชอาศัยในทางที่แตกต่างกัน การคัดเลือกชนิดของรา หรือสายพันธุ์ที่เหมาะสมให้กับพืชจึงเป็นเรื่องที่จำเป็นอย่างยิ่ง

Trappe (1977) กล่าวว่า เกณฑ์ที่ใช้ในการคัดเลือกราเוכโตไม่คอร์ไรชา หรือสายพันธุ์ที่เหมาะสม นั้นจะแตกต่างกันไป แล้วแต่ความต้องการ ซึ่งอาจจะพิจารณาจาก อัตราการเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ, ความสามารถในการตัดชีมธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อพืช, ความทนทานต่อ ความเป็นพิษของดิน, ความจำเพาะเจาะจงกับพืชอาศัย (host specificity), ความชื้น, อุณหภูมิ, ความเป็นกรดด่าง (pH) หรือความสามารถในการผลิตตอกเหตุเพื่อใช้เป็นอาหาร ในระหว่าง ปัจจัยเหล่านี้ อุณหภูมิ และ pH เป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเจริญของราเוכโตไม่คอร์ไรชา ราเוכโตไม่คอร์ไรชา หรือสายพันธุ์ที่เหมาะสมนั้น ควรจะสามารถปรับตัวให้เข้ากับอุณหภูมิ และ pH ของดินหรือสับสเตรตในเรือนเพาะชำ และพื้นที่ปลูกได้เป็นอย่างดี

Marx et al. (1992) กล่าวว่า ราเอยค์โอดไมโครริริชาที่ได้รับคัดเลือกว่าเหมาะสมนั้นควรจะมีลักษณะดังต่อไปนี้ คือ

1. สามารถเกิดราเอยค์โอดไมโครริริชาจำนวนมากกับพืชที่ต้องการ หรือกับพืชหลายชนิด
2. สามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วในอาหารเลี้ยงเชื้อ และมีความทนทานต่อการปรับปรุงเปลี่ยนแปลงสภาพทางกายภาพ เชমี และชีวภาพ
3. ในสภาพหัวเชื้อเส้นใย (Inoculum) สามารถมีชีวิตอยู่รอดได้เป็นเวลานานๆ หลายสัปดาห์ และสิ่งสำคัญประการสุดท้ายคือ
4. สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพทางนิเวศของแต่ละพื้นที่ได้

รา Gasteromycetes (Gasteromycete Fungi)

ราในกลุ่ม Gasteromycetes ประกอบด้วยราหลายชนิดที่สร้าง fruiting body แบบด่างๆ กัน ได้แก่ puffball, earthball, earthstar, stinkhorn และ birds' nest แต่โดยทั่วไปราในกลุ่มนี้มีลักษณะที่คล้ายกันคือ มีผนัง (peridium) ห่อหุ้มที่หนาหรือบาง มีชั้นเดียวหรือหลายชั้น อยู่ในสภาพปิดตลอดเวลาหรือเปิดเมื่อสปอร์แก่ (Alexopoulos et al., 1996) Hawksworth et al. (1995) แบ่งรา Gasteromycetes ออกเป็น 8 อันดับ 30 วงศ์ 106 สกุล 787 ชนิด อันดับที่สำคัญได้แก่ Gautieriales Hymenogastrales Lycoperdales Melanogastrales Nidulariales Phallales Tulostomalales และ Sclerodermatales

ราอันดับ Sclerodermatales เป็นราที่พบได้ง่ายและกระจายอยู่ทั่วไป เจริญเป็น saprobe ในดิน ไม้ผุหรือเป็น mycorrhizas กับราพืชชั้นสูงหลายชนิด (Hawksworth et al., 1995) ลักษณะของ fruiting body ประกอบด้วย peridium ที่หนาและแข็ง มีชั้นของ gleba ที่มีสีเข้ม เมื่อแก่ gleba จะแห้งและเป็นผง (Alexopoulos et al., 1996) ประกอบด้วย 4 วงศ์ ได้แก่ Astraceae Broomeiaceae Pisolithaceae และ Sclerodermataceae (Sim et al., 1995) สกุลที่สำคัญและพบได้ทั่วไป ได้แก่ *Astraeus* *Pisolithus* และ *Scleroderma*

ราในสกุล *Scleroderma* มีลักษณะสำคัญคือ สร้าง fruiting body บนผิวน้ำดิน มีรูปร่างเกือบกลม มีผนังที่หนาและแข็ง ผิวเรียบหรือรุขระ ภายในสร้าง glebal chamber เมื่อแก่ gleba มีสีเข้ม basidium เกิดอยู่ในชั้นของ glebal chamber สร้างสปอร์ได้ 2-5 สปอร์ เมื่อแก่ gleba และ basidium จะสลายตัว เหลือแต่สปอร์ซึ่งแห้งและมีสีเข้มเป็นผงอยู่ภายใน fruiting body ผิวประดับบนสปอร์มีลักษณะเป็นหนาม (spiny) หรือเป็นร่องแผล (reticulate) (Richter 1992) แตกต่างจากราสกุล *Pisolithus* คือไม่ปราภูมิลักษณะของ peridiole ที่ชั้ตเจนในชั้นของ gleba และแตกต่างจากราสกุล *Astreus* โดยผนังจะเกิดรอยร้าวและแตกออกเป็นแฟกไม่สม่ำเสมอ ขณะที่ราในสกุล *Astreus* เมื่อแก่ผนังจะแตกออกเป็นแฟกคล้ายรูปดาวที่สม่ำเสมอ เมื่อแก่ ราในสกุล *Scleroderma* ที่พบแล้วมีจำนวน 25 สปีชีส์ และพบได้พร่ำหลายที่โลก ในเขต

ร้อน และเขตตอบอุ่นสามารถสร้างในคอร์ไรชาได้ทั้งกับพืชตระกูลสน และไม่ใบกว้าง มากกว่า 39 สกุล (Jeffries, 1999; Sims et al., 1999; Trappe, 1962)

รา *Pisolithus arhizus* เป็นราในกลุ่ม Gasteromycetes อันดับ Sclerodermatales (Kendrick, 1992) อีกชนิดหนึ่งที่สามารถพบได้ในเขตหนาว และเขตตอบอุ่น ทุกภาคพื้นทวีป รวม 33 ประเทศ ทั่วโลก (Marx, 1977; Martin et al. 2002) สามารถพบรากซึ่งได้ในสภาพพื้นที่ต่าง ๆ เช่น ดินเป็นกรวดจัด ดินที่มีการพังทลายสูง ดินเหมืองแร่ ดินเหมืองถ่านหิน ดินที่มีความเป็นพิษของ Mg และ Al สูง เป็นต้น (Marx & Ruehle, 1988) รา *P. arhizus* เป็นราเอคโตในคอร์ไรชาที่เหมาะสมสำหรับที่จะเพาะให้กับกล้าไม้ เนื่องจากมีความสัมพันธ์กับกล้าไม้สน และไม่ใบกว้าง มากกว่า 70 ชนิด (Marx 1977; Martin et al. 2002) สามารถแยกเส้นใยบริสุทธิ์จากเนื้อยื่นได้ง่าย และเจริญได้ตีบnakอาหารเลี้ยงเชื้อ แม้อุณหภูมิสูงถึง 40-42 องศาเซลเซียส ก็ยังเจริญได้ (Momoh & Gbadegesin, 1980) นอกจากนี้เมื่อเกิดเอคโตในคอร์ไรชา กับรากรพืชแล้ว จะสามารถสังเกตเห็น และตรวจสอบได้ง่าย ๆ เนื่องจากเส้นใยจะมีสีน้ำตาลทอง (Golden brown or Mustard) เต่นชัด ในประเทศไทยรายงานว่า สามารถพบรา *P. arhizus* อยู่ร่วมกับรากรไม้สน สองใบ สนสามใบ สนควรเบีย ยุคลิปตัส ไม้วงศ์ยาง ไม้เต็งและรัง และไม้ก่อชníดต่าง ๆ ทางภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลางของประเทศไทย (อนิวรรต, 2525; Kanchanaprayudh et al., 2003) ในปัจจุบันพบว่ารา *P. arhizus* อาจจะประกอบด้วยราอีกหลายสปีชีส์ จำนวนไม่น้อยกว่า 12 ชนิด (Martin et al., 2002; Reddy et al. 2005)

รา *Astraeus* เป็นราในกลุ่ม Gasteromycetes อันดับ Sclerodermatales อีกชนิดหนึ่งที่สามารถพบได้ทั่วไปในเขตตอบอุ่น และเขตหนาวซึ่ง ไม่น้อยกว่า 34 ประเทศ (Morgan, 1889; Lloyd, 1902; Brand & Finlay, 1996; Coker & Couch, 1928; Archer, 1962; Johnson, 1974; Cunningham, 1944; Bottomley, 1948; Dring, 1964; Nouhra & de Toledo, 1998; Demoulin, 1975; Arnolds & De Vries, 1993; Jalink, 1995; Liu, 1984) สามารถพบรากซึ่งอยู่ร่วมกับไม้ตระกูลสน และไม่ใบกว้างหลายชนิด เช่น *Alnus* *Eucalyptus* *Cistus* *Castanopsis* *Quercus* และ *Lithocarpus* เป็นต้น (Lloyd, 1902; Trappe, 1967; Molina, 1979; Malajczuk et al., 1982)

รา *Astraeus* สามารถจำแนกออกจากรา *Scleroderma* และ *Pisolithus* โดยง่าย เมื่อแกะผนังจะแตกออก成มาเป็นแฉกรูปร่างคล้ายดาว (Miller & Miller, 1988) Morgan (1889) เป็นคนแรกที่พบรากชนิดนี้ และตั้งชื่อว่ารา *Astraeus hygrometricus* (Pers.) Morgan ปัจจุบันมีรายงานว่ารา *Astraeus* น่าจะมีจำนวนสปีชีส์ไม่น้อยกว่า 4 ชนิด ได้แก่ *A. hygrometricus*, *A. pteridis* (Shear) Zeller, *A. odoratus* Phosri, Watling, Martin & Whalley และ *A. asiaticus* Phosri, Martin & Watling (Phosri et al., 2004, 2007)

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 สำรวจเก็บตัวอย่างเห็ดราในกลุ่ม Gasteromycetes จากแหล่งต่าง ๆ ของประเทศไทย

สำรวจและเก็บตัวอย่าง เห็ดในกลุ่ม Gasteromycetes จากแหล่งต่าง ๆ ในธรรมชาติ ทั้ง ในป่าสนเข้า ป่าเต็งรัง และสวนป่ายุคاليปิตัส ในพื้นที่ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และ ภาคกลาง ระหว่างช่วงฤดูฝนแต่ละปี ตั้งแต่เดือนสิงหาคม 2548 ถึงกันยายน 2548 และ ระหว่างเดือนมิถุนายน 2549 ถึงกันยายน 2549

3.2. การแยกเส้นใยราชอคตไมโครไรซ่าจากตอกเห็ด ให้ได้เส้นใยที่บริสุทธิ์

แยกเนื้อเยื่อจากตอกเห็ดที่เก็บได้ในข้อ 3.1 เลือกเหตุตอกอ่อนที่มีสภาพสมบูรณ์ ไม่มี รอยฉีกขาด ใช้เช้มเชี่ยวที่ล่อนไฟฟ้าเชื่อมแล้ว เชี่ยเนื้อเยื่อที่อยู่ภายใต้ นำไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยง เชื้อแข็ง Modified Melin-Norkrans (MMN) (Molina & Palmer, 1982) ในภาชนะลึกลงเชือ โดยมี pH ประมาณ 5.7-5.8 และผ่านการผ่าเชื้อในหม้อนความดันไอน้ำ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนต์ ต่อตารางนิวตัน เป็นเวลา 20 นาที บ่มเชือที่อุณหภูมิห้อง (24-25 องศาเซลเซียส) ประมาณ 3-4 สัปดาห์ ทำการ subculture จนกระหั้ง ได้เส้นใยของราที่ บริสุทธิ์ ตรวจยืนยันความบริสุทธิ์ของเส้นใยที่แยกได้ โดยเชี่ยเส้นใยของรา ลงบนแผ่นสไลด์ ปั๊มด้วย Lactophenol cotton blue ศึกษาดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยดูลักษณะพิเศษของราใน กลุ่ม Basidiomycetes คือ เส้นใยมี Clamp connection และไม่สร้างสปอร์ เมื่อแยกเส้นใยจาก เนื้อเยื่อเห็ดที่เก็บรวมได้ สามารถแยกเส้นใยได้เส้นใยที่บริสุทธิ์ จำนวนหั้งสิบ 7 สายพันธุ์ มี บางสายพันธุ์ที่ไม่สามารถแยกเส้นใยที่บริสุทธิ์ได้ เนื่องจากมีอัตราการเจริญช้ามาก จนทำให้มี การปนเปื้อนของราชนิดอื่น หั้ง 7 สายพันธุ์นี้ จะนำไปใช้ทดสอบในการทดลองขั้นต่อไป

3.3 การทดสอบการสร้างราชอคตไมโครไรซ่า และเปรียบเทียบอัตราการเจริญของกล้าไม้ป่า ที่ มีการใส่หัวเชื้อเส้นใย และชุดควบคุม

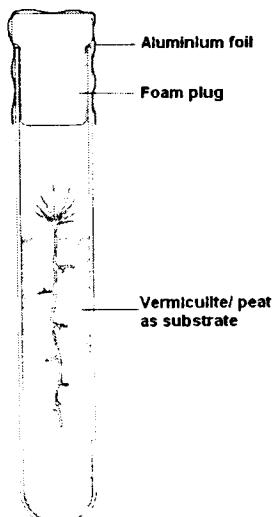
3.3.1 การเตรียมเมล็ดไม้สนสามใบ

ก) การคัดเลือกเมล็ดสนสามใบเพื่อนำมาใช้ทดสอบ นำเมล็ดไม้สนมาแช่ในน้ำกลัน 24 ชั่วโมง คัดเมล็ดที่ลอยน้ำทิ้งไป เก็บเมล็ดที่จมน้ำไว้ทำการทดลองต่อไป

ข) การผ่าเชื้อที่ผิวของเมล็ด นำเมล็ดที่เก็บได้จากข้อ 3.3.1 (ก) มาผ่าเชื้อที่ผิว โดยแช่ ในเอทอฮานอล เชั่วโมง 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3-5 นาที จากนั้นผ่าเชื้อด้วยไอโอดีเจนเปอร์ ออกไซด์ เชั่วโมง 30 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาที ล้างด้วยน้ำกลันที่นึ่งผ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง (Brundrett et al., 1996)

ในวัสดุปูกลูกที่เตรียมไว้ชั้งต้น ใส่เมล็ดสนสามใบที่ทำการฝ่าเชื้อแล้วในหลอดทดลองที่มีเส้นใยราเจริญอยู่ นำไปปั่นที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ที่ความชื้น 60 เปอร์เซ็นต์ และให้แสงนาน 12 ชั่วโมงต่อวัน เป็นระยะเวลานาน 3 เดือน

ค) ตรวจสอบรากเพื่อหาการสร้างเอคโตไมโคริโซชาของรา โดยนำรากตัวอย่างมาส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ ถ่ายรูปและดูลักษณะของรากที่เกิดขึ้น นำรากตัวอย่างมาข้อมูลตามวิธีของ Phillips & Hayman (1970)



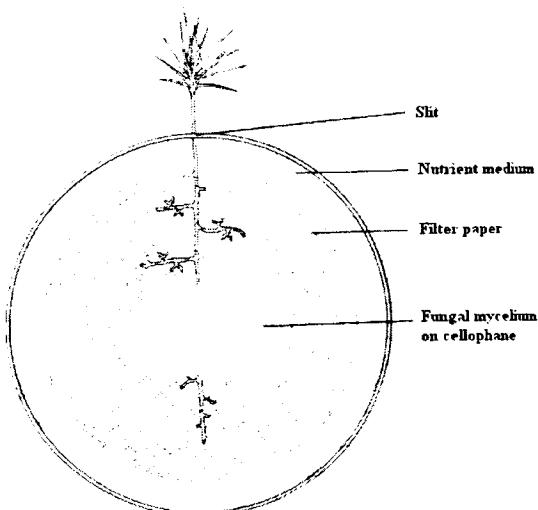
รูปที่ 3.2 การทดสอบการสร้างเอคโตไมโคริโซชาในหลอดทดลองขนาดใหญ่ ภายในหลอดทดลอง ประกอบด้วยสับสติเรตคือ vermiculite ผสมกับ peat moss และอาหารเลี้ยงเชื้อเหلا

3.3.3 การทดสอบในงานเลี้ยงเชื้อพลาสติกขนาด 90x25 มิลลิเมตร (Wong & Fortin, 1989)

- ก) การเตรียมเมล็ดสนสามใบ ใช้วิธีเดียวกับข้อ 3.3.1 (ก)
- ข) การเตรียมเลี้นไยราทดสอบ นำรากทั้ง 7 สายพันธุ์มาเพาะเลี้ยงบนงานเพาะเชื้อที่มีอาหาร PACH บรรจุอยู่ ใส่กระดาษเซลโลฟันที่ฝ่าเชื้อลงบนผิวน้ำอาหาร ใช้เครื่องเจาะจุกคอร์กจะเส้นใยบริเวณขอบรอบนอกของโคลนีที่เจริญอยู่ในงานเพาะเชื้อที่เตรียมไว้ ใส่หัวเชื้อรา 1 ชิ้นต่อ 1 งานเพาะเชื้อ บริเวณกลางงานเพาะเชื้อ นำไปปั่นที่ 28 องศาเซลเซียส นาน 2 สัปดาห์

ค) การเตรียมจานเลี้ยงเชื้อพลาสติก เทอาหารร้อนแข็ง PACH ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อพลาสติก เมื่ออาหารร้อนแข็งตัว วางทับตัวยกระดាចกรองที่นึ่งผ่าเชื้อแล้วบนผิวน้ำอาหาร ใช้มีดผ่าตัดที่ลินไฟผ่าเชื้อตัดบริเวณขอบฝาด้านบน และด้านล่างของจานให้เป็นช่องขนาดเล็กที่สามารถสอดกล้าไม้ลังไปได้ (รูปที่ 3.3)

ง) การทดสอบการสร้างเอกโนไมโคอร์เรชา เมื่อกล้าสนสามใบอายุได้ ประมาณ 2 สัปดาห์ ย้ายต้นกล้าลงในจานตามข้อ 3.3.3 (ค) โดยให้ส่วนของใบและลำต้นอยู่ภายนอกจาน เฉพาะส่วนของraigway สมดังอยู่กับผิวน้ำอาหาร ตัดกระดาษเซลโลฟันที่มีเส้นใยราเจริญอยู่เป็นชั้นขนาดเล็กประมาณ 2×2 เซนติเมตร แล้วย้ายกระดาษเซลโลฟันลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อพลาสติกที่มีต้นกล้าวางอยู่ โดยค่าว่าด้านที่มีเส้นใยราลงบนรากรพืช ปิดช่องที่ตัดบนจานด้วยวาวสลีน หรือ Lanolin ที่นึ่งผ่าเชื้อแล้ว ห่อจานด้วยกระดาษอลูมิเนียมเพื่อป้องกันการรบกวนของแสงต่อราก นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง ให้แสงนาน 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นระยะเวลา 90 วัน



รูปที่ 3.3 การทดสอบการสร้างเอกโนไมโคอร์เรชาในจานเลี้ยงเชื้อพลาสติก ภายในจานประชอบด้วยสับสเตรตคืออาหารเลี้ยงเชื้อ กระดาษกรอง เชื้อรากที่เจริญบนกระดาษเซลโลฟัน

จ) ตรวจสอบรากเพื่อทำการสร้างเอกโนไมโคอร์เรชาของรา โดยนำรากตัวอย่างมาส่องตู้ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบ stereovisual ถ่ายรูปและตูลักษณะของรากที่เกิดขึ้น เมื่อกล้าไม้อายุครบ 90 วัน นำรากตัวอย่างมาข้อมือตามวิธีของ Phillips & Hayman (1970) นำรากที่ผ่านการข้อมือมาตรวจน้ำโดยได้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงหรือกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน เพื่อติดการสร้างเอกโนไมโคอร์เรชาของรา

3.3.4 การทดสอบการสร้างไนโตรไรซ่าในสภาวะเรือนกระจก

3.3.4.1 การเพิ่มจำนวนเส้นใยด้วยการเพาะเลี้ยงในวัสดุสมควร์มิคิวไลท์

เตรียมหัวเชือเส้นไนรา *Astraeus* ทั้ง 4 สายพันธุ์ โดยนำรากสายพันธุ์ที่คัดแยกได้ มาเลี้ยงในอาหารวุนกึ่งแข็ง PACH ที่บรรจุอยู่ในชุดทดลองขนาด 250 มิลลิลิตร เป็นเวลา 2-3 สัปดาห์ ในระหว่างการปั่นเชือเข้าชุดทดลองเป็นบางครั้งเพื่อระดับการเจริญของเส้นไนรา และให้เกิดการขยายของเส้นใย เตรียมวัสดุสมควร์มิคิวไลท์(vermiculite) และดินพฐ (peat) ในอัตราส่วน 8:1 (Marx et al., 1984a) บรรจุวัสดุดังกล่าวในชุดทดลองขนาด 1,000 มิลลิลิตรหรือถุงพลาสติก ที่ใช้เพาะเห็ด ผสมอาหารเลี้ยงเชือเหลว MMN ในอัตราส่วนวัสดุที่ใช้ทำหัวเชือ ต่ออาหารเลี้ยง เชือ 2 : 1 โดยปริมาตร น้ำผ่าเชือที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จำนวน 2 ครั้ง โดยทิ้งช่วงเวลาในการนึ่งครั้งที่ 2 ห่างจากครั้งแรก นาน 24 ชั่วโมง ใส่รากที่เตรียมไว้ลงในวัสดุที่ใช้ทำหัวเชือ ดังกล่าว บ่มเชือที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 3-4 เดือน เมื่อจะนำมาใช้ให้ล้างอาหารเลี้ยงเชือออกจากหัวเชือ ด้วยน้ำประปา กรองด้วยผ้าขาวบาง บีบเน่าข้าวอกให้หมด ผึงให้แห้ง ก่อนที่จะนำไปผสมกับวัสดุที่ใช้ปลูกต่อไป

3.3.4.2 การเตรียมวัสดุที่จะใช้ในการเพาะกล้าไม้สนสามใบ

ก) การเตรียมถادเพาะชำ นำแท่งเพาะชำทรงสูง ปริมาตร 300 มิลลิลิตร มาผ่าเชือที่บริเวณผิวของถادเพาะ โดยล้างด้วยน้ำสะอาด และใช้อุ่นอล เช้มชัน 70 เปอร์เซ็นต์ เชือให้ทั่วต้านในของแท่งเพาะชำ

ช) การเตรียมวัสดุที่ใช้เพาะ นำทรายผสมกับชุยมะพร้าว เปลือกถั่ว และหน้าดิน (top soil) ด้วยอัตราส่วน 2:1:1 และ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร (pH ของวัสดุที่ใช้เพาะเท่ากับ 5.8) ซึ่งได้ผ่านการนึ่งผ่าเชือที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ผสมคลุกเคล้ากับหัวเชือเส้นใย ที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.4.1 ด้วยอัตราส่วน 6:1 โดยปริมาตร บรรจุลงในถادเพาะชำแบบหลุมที่ได้เตรียมไว้ในข้อ 3.3.4.2 เตรียมชุดการทดลองควบคุม ผสมกับดินเพาะที่เตรียมได้ชั่งตัน นำเมล็ดไม้ที่เตรียมไว้ มาทยอดลงในวัสดุเพาะในหลุมถادเพาะชำ โดยใส่หลุมละ 2-3 เมล็ด มีจำนวนข้าของทดลองเท่ากับ 32 ช้า

ค) การตูแลรักษากล้าไม้ ลดน้ำก้าล้าไม้ในกระถางทั้งหมด ให้ชุ่มพอประมาณ อย่าให้แห้งเกินไป ในตอนเช้า และเย็นอย่างสม่ำเสมอ จนกล้าอายุครบ 6 เดือน ซึ่งเสร็จสิ้นการทดลอง ใส่ปุ๋ยในตอรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ในระดับปานกลาง (ภาชนะ) ทุก ๆ 2 สัปดาห์

ง) การเก็บข้อมูล เปรียบเทียบหาอัตราการเติบโตของกล้าไม้สนสามใบ ที่มีการใส่ราอे�คโตไนโตรไรซ่า และชุดควบคุมที่ใส่ราอे�คโตไนโตรไรซ่าซึ่งผ่านการนึ่งผ่าเชือ เมื่ออายุ 6 เดือน สุ่มตอกกล้าสนสามใบ จากถادเพาะชำ จำนวน 16 ต้น โดยวัด

-ความสูงของลำต้น และเส้นผ่านศูนย์กลางที่ระดับครากของลำต้น เมื่อกล้าไม้ อายุครบ 6 เดือน

-หามวลชีวภาพในแต่ละส่วนของกล้าไม้ แยกเป็นส่วนของลำต้น ใบ และรากของแต่ละต้น จากนั้นนำทั้ง 3 ส่วน ไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ซึ่ง หน้าหานักแห้งเพื่อหามวลชีวภาพส่วนต่าง ๆ ของกล้าไม้แต่ละต้นต่อไป

-หาเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อ (Percent Infection) ของราेकโตไมคอร์โรชา ของกล้าไม้สนสามใบ และยูคอลิปตัส โดยตัดรากออกเป็นชิ้น ให้มีความยาวประมาณชิ้นละ 1-1.5 เซนติเมตร ย้อมสีรากตามวิธีของ Phillips และ Hayman (1970) สุ่มชิ้นส่วนของรากที่ย้อมสีแล้ว มา 50 ชิ้น วางบนแผ่นสไลต์ ครั้งละ 5 ชิ้น นับจำนวนชิ้นส่วนของรากที่พบว่ามีเชื้อราเรคโตไมค์โรชา ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ของแต่ละชุดการทดลอง เพื่อคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อ

จ) การวิเคราะห์ข้อมูล วิเคราะห์ข้อมูลการเจริญเติบโตของความสูงลำต้น เส้นผ่านศูนย์กลางที่ระดับครากของลำต้น มวลชีวภาพส่วนต่าง ๆ ของกล้าไม้ ในแต่ละชุดการทดลอง และเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อรา เมื่ออายุครบ 6 เดือน โดยวิธี Analysis of variance (ANOVA) หากมีนัยสำคัญทางสถิติ ก็ทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Turkey's multiple pair-wise comparisons ($P=0.05$)

บทที่ 4

ผลการวิจัย

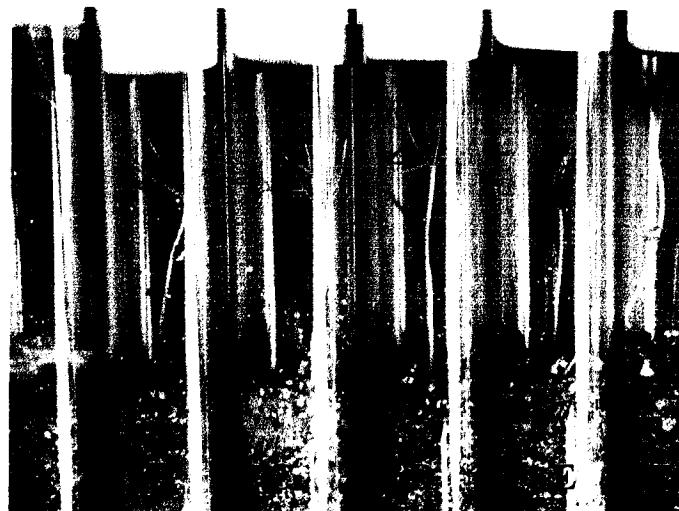
4.1 การทดสอบการสร้าง_ecoโดยไม่ครอบครัวโดยใช้หลอดทดลองขนาดใหญ่ (40 x 200 มิลลิเมตร)

การทดสอบการสร้าง_ecoโดยไม่ครอบครัวของรา *Astraeus*, *Pisolithus* และ *Scleroderma* ที่คัดแยกได้จำนวน 7 สายพันธุ์กับกล้าสันสามใบในหลอดทดลองขนาดใหญ่ที่มี vermiculite และ peat moss เป็นวัสดุปูลูก ในอัตราส่วน 8:1 และเติมอาหารเหลว MMN ในอัตราส่วน 1:2 ของวัสดุปูลูก ผลการทดลองพบว่ากล้าสันสามใบสามารถเจริญได้ในหลอดทดลองที่มี vermiculite และ peat moss เป็นวัสดุปูลูก ในช่วงเดือนแรกอาหารจะแห้งค่อนข้างเร็วทำให้จำกัด การเจริญของหัวเชื้อเส้นใยที่ใส่ลงไปได้ ดังนั้นจำเป็นที่จะต้องเติมอาหารเหลวลงไปอีก (หลอด ละ 20 มิลลิลิตร) ภายใน 1 สัปดาห์หลังจากที่เติมอาหารเหลวพบการปนเปื้อนของรา *Penicilium* sp. ในหลอดทดลองที่ใส่หัวเชื้อราบางสายพันธุ์ ทำให้กล้าสันสามใบตาย ดังนั้นผล การทดลองโดยใช้วิธีแรกนี้จะไม่รวมถึงการใส่หัวเชื้อราทั้งหมดทุกสายพันธุ์ กล้าไม้ภายใต้หลอดทดลองเมื่ออายุ 3 เดือนมีการเติบโตดี มีรากแก้วที่ยาวชัดเจน รากมีลักษณะเป็นรากเดี่ยวไม่แตกแขนงหรือมีการแตกแขนงค่อนข้างน้อย เมื่อนำรากกล้าไม้ที่ทดสอบมาตรวจสอบการสร้าง_ecoโดยไม่ครอบครัวพบการสร้างเส้นใยราพันอยู่รอบรากอย่างหลวงๆ และมี rhizomorph ที่ปรากฏเห็นได้ชัดเจน ไม่พบการสร้างแผ่นแมนเทล ลักษณะของปลายรากมีสีใส บวมพอง ไม่พบราก เมื่อนำรากมาย้อมสีและตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สามารถเห็นเส้นใยราที่พันอยู่รอบๆ ราก และพบ clamp connection ด้วย

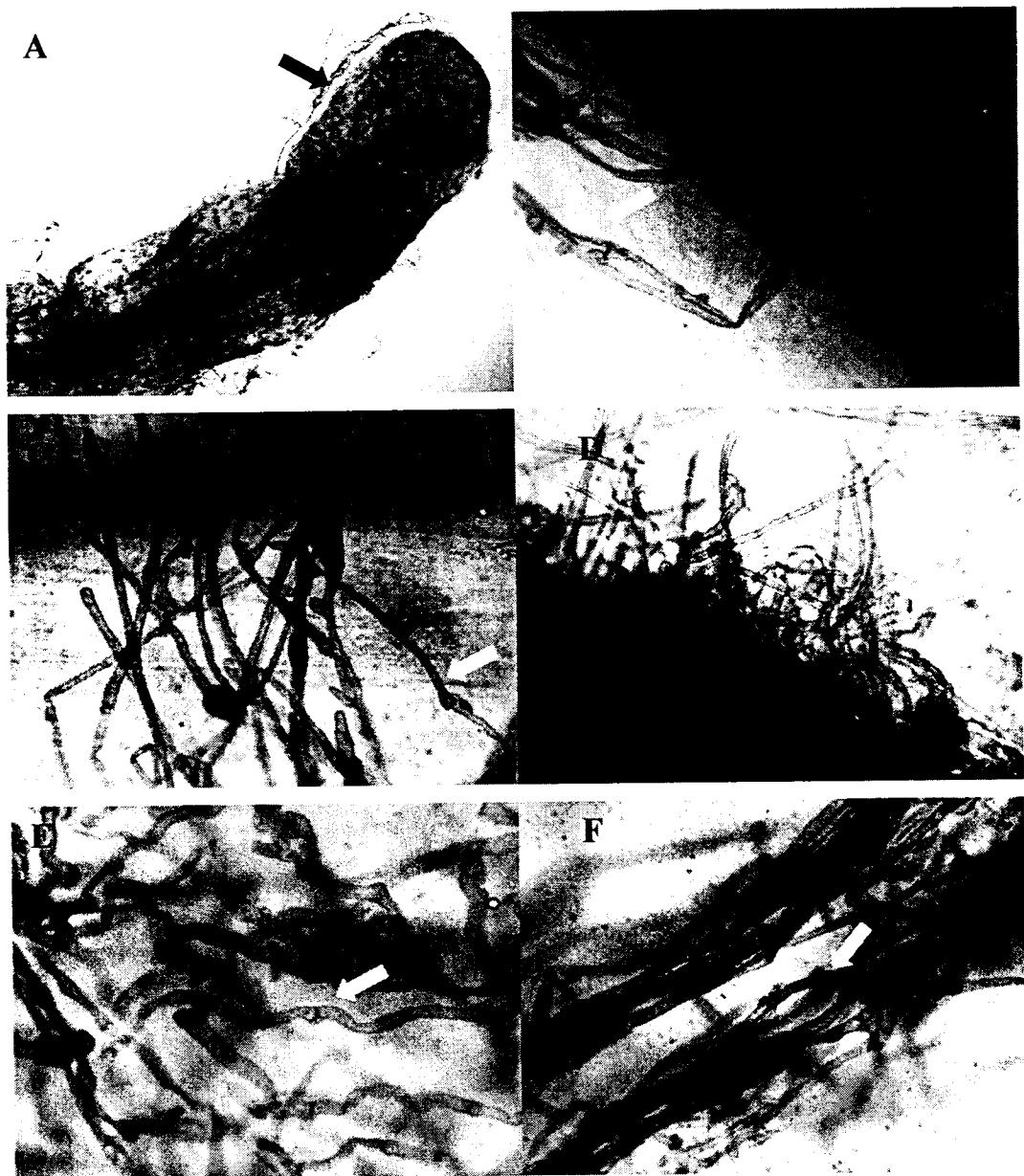
4.2 การทดสอบในงานเลี้ยงเชือพลาสติกขนาด 90x25 มิลลิเมตร

การทดสอบการสร้าง_ecoโดยไม่ครอบครัวของรา *Astraeus* และ *Pisolithus* กับกล้าไม้สันสามใบที่เจริญอยู่ในงานอาหารแข็ง PACH ตรวจสอบการสร้าง_ecoโดยไม่ครอบครัวของราพบว่า รากของกล้าสันสามใบที่ใส่หัวเชื้อรา *Pisolithus* ทั้งสองสายพันธุ์ ถูกปอกคลุมด้วยเส้นใยราภัยในส่องสัปดาห์ เส้นใยราเจริญฟูชีนสู่อากาศ มีสีน้ำตาลหรือสีเหลืองทอง ในขณะที่กล้าสันสามใบที่ใส่หัวเชื้อรา *Astraeus* ทั้ง 4 สายพันธุ์ พบร่องรอยเส้นใยเติบโตได้ช้ากว่า ไม่สร้างเส้นใยที่ฟูชีนไปในอากาศ มักจะแบบราบอยู่กับผิวน้ำอาหาร เกิดการปนเปื้อนโดยรา *Penicilium* sp. โดยง่าย ที่ระยะเวลา 3 เดือน พบรากที่ติดเชื้อของรา *Pisolithus albus* และ *Pisolithus* sp. 5 ในรากของกล้าสันสามใบที่ชัดเจน โดยมีร้อยละของรากที่ติดเชื้อรา ecoโดยไม่ครอบครัวเท่ากับ 42.10 และ 27.09 ตามลำดับ รากที่ติดเชื้อรา *Astraeus* จะมีจำนวนน้อยกว่า โดยกล้าสันสามใบ

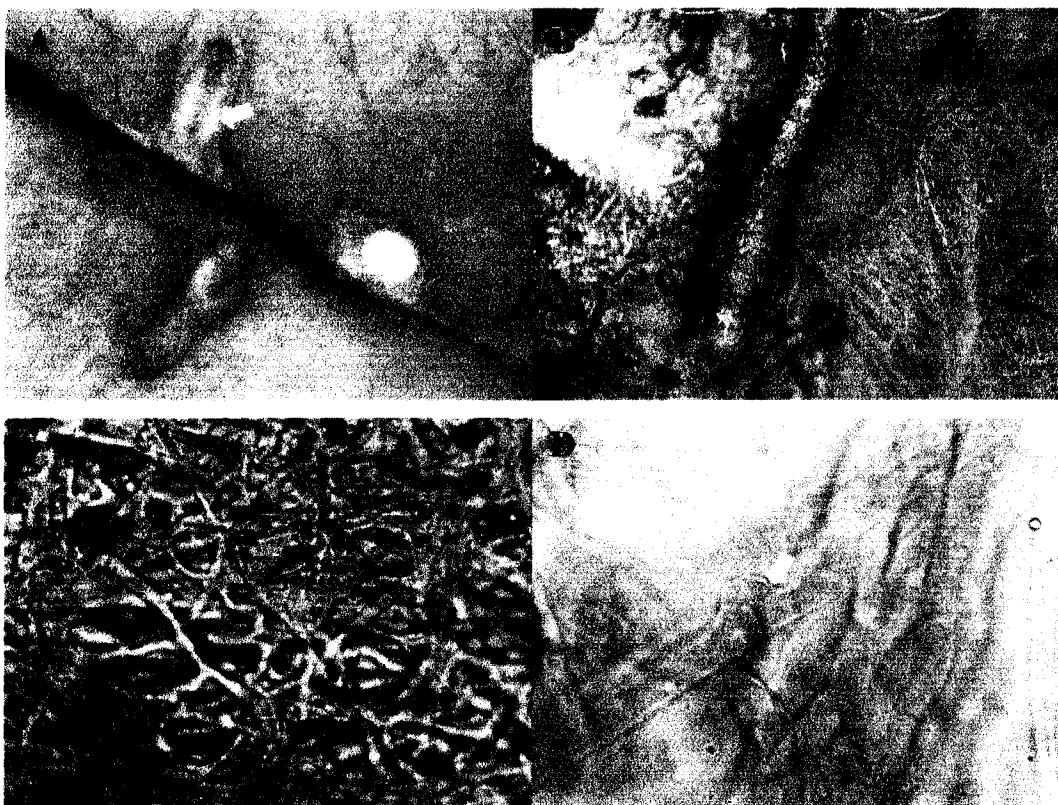
ที่ใส่หัวเชื้อรา *Astraeus* สายพันธุ์ที่ 3 มีร้อยละของการติดเชื้อราเอคโตไมโครไรชาต่าที่สุด (ตารางที่ 4.1) รากที่ติดเชื้อรา *Pisolithus* และ *Astraeus* มีลักษณะเป็นรากเดี่ยวที่ไม่มีการแตกแขนง ลักษณะของรากมีการเปลี่ยนสีเป็นสีเข้ม รากบวมพอง ไม่พบรากและพบรากเส้นใยราพันอยู่รอบๆ รากเป็นแผ่นแม่นเทลที่ชัดเจน (รูปที่ 4.4 และ 4.5) ส่วนรากที่ไม่พบรากติดเชื้อมีลักษณะเป็นรากที่มีขนาดยาว และเล็ก มีขนาดรากจำนวนมากอยู่รอบๆ การทดลองนี้ไม่พบรากสร้างเอคโตไมโครไรชาของรา *Astraeus* สายพันธุ์ที่ 1 และ 2 กับกล้าสนสามใบ



รูปที่ 4.1 การทดสอบการสร้างเอคโตไมโครไรชาในกล้าสนสามใบโดยใช้หลอดทดลองขนาดใหญ่
 (A) *Pisolithus* spp. 5 (B) *P. albus* (C) *S. sinnamariense* (D) *Astraeus* สายพันธุ์ที่ 4 (E) *Astraeus* สายพันธุ์ที่ 1 (F) *Astraeus* สายพันธุ์ที่ 2



รูปที่ 4.2 ลักษณะภายใต้กล้องของรา肯สามใบ ที่ปรากฏการพันอยู่ย่างหลวมๆ ของเส้นไยราเอคตติไมคอร์ ไรชาสายพันธุ์ต่างๆ ที่ได้เป็นหัวเชื้อ (A) เส้นไยรา *A. asiaticus* สายพันธุ์ที่ 3 (ลูกศรชี้, X100) (B) เส้นไยรา *Astraeus* สายพันธุ์ที่ 4 (ลูกศรชี้, X100) (C) เส้นไยรา *Astraeus* สายพันธุ์ที่ 3 (ลูกศรชี้, X600) (D) *Astraeus* สายพันธุ์ที่ 2 (ลูกศรชี้, X100) (E) & (F) เส้นไยรา *Scleroderma sinnamariense* สายพันธุ์ที่ 7 (ลูกศรชี้, X600)



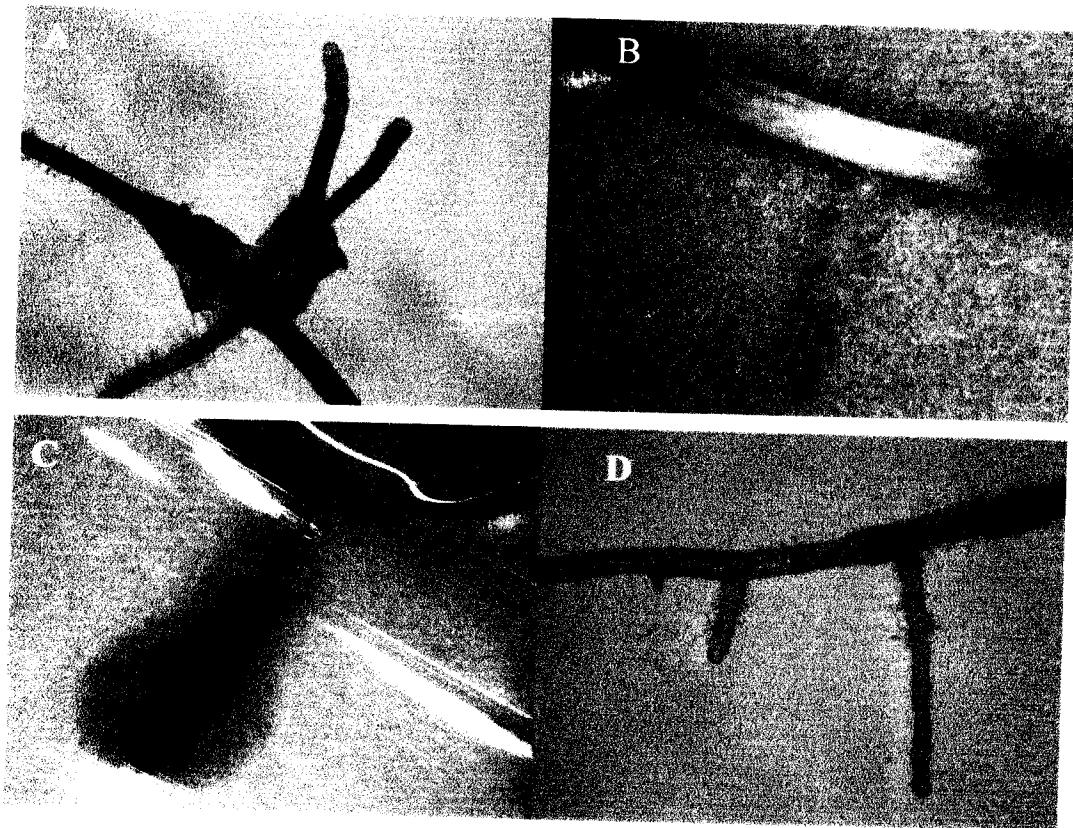
รูปที่ 4.4 ลักษณะของรากสนสามใบที่เกิดการติดเชื้อราเอคโตไมโคร์ไรชา *Pisolithus*

(A) ปลายรากแข็งที่ติดเชื้อรา *P. albus* สังเกตเห็นเส้นใยราหุ่มรากชัดเจน (ลูกศรชี้)

(B) ปลายรากแข็งที่ติดเชื้อรา *Pisolithus* sp. 5

(C) ลักษณะของแผ่นแม่นเทิลของรา *P. albus* ที่ปอกคลุมราก เห็นเส้นใยพันธนาณ เป็นตาข่ายหนาแน่น (x600)

(D) ลักษณะของ clamp connection ของเส้นใยรา *P.albus* (x1000)



รูปที่ 4.5 ลักษณะของรากระสนสามใบที่เกิดการติดเชื้อราเอคโตไมโคร์ไรชา *Astraeus*

- (A) รากระสนที่ติดเชื้อรา *Astraeus* สายพันธุ์ที่ 4 สังเกตเห็นเลี้นไยราหุ้มรากระสนอย่างบาง รากระสนมีการแตกแขนงชัดเจน
- (B) รากระสนที่ไม่มีการติดเชื้อรา *Astraeus* สายพันธุ์ที่ 4 สังเกตเห็นรากระสนฟ้อยชัดเจน
- (C) รากระสนที่ติดเชื้อรา *Astraeus* สายพันธุ์ที่ 3 สังเกตเห็นเลี้นไยราหุ้มรากระสนอย่างบาง รากระสนไม่มีการแตกแขนง ปลายรากระสนบวมพองชัดเจน
- (D) รากระสนที่ไม่มีการติดเชื้อรา *Astraeus* สายพันธุ์ที่ 3 สังเกตเห็นรากระสนฟ้อยชัดเจน

4.3 การทดสอบการสร้างไมโครไรซ่าในสภาวะเรือนกระจก

การเพิ่มปริมาณหัวเชือของรา *Astraeus* โดยใช้ vermiculite และ peat moss ในอัตราส่วน 8:1 และเติมอาหารเหลว PACH ในอัตราส่วน 1:2 ของวัสดุปลูก ภายหลังที่ใส่หัวเชือเล่นไยราลงไปและบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 2-3 สัปดาห์ จะพบเล่นไยเริ่มมีการเจริญ และเจริญปักคลุมหัวทั้งชุด ภายในระยะเวลาประมาณ 2 เดือน ยกเว้นรา *Astraeus* สายพันธุ์ที่ 4 ที่มีการเจริญของเล่นไยค่อนข้างช้าและปักคลุมวัสดุปลูกน้อยกว่ารา *Astraeus* สายพันธุ์อื่น เมื่อสุ่มน้ำด้วยร่างวัสดุปลูกที่มีเชือเจริญอยู่มาเลี้ยงทดสอบในอาหารเลี้ยงเชือ PACH พบว่าเชือที่เจริญยังเป็นเชือราເອົກໂຕໄມຄອຣໃຈ່າຂອງรา *Astraeus* โดยมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเล่นไยเหมือนเชือตั้งตัน และสามารถลังเกตเห็น clamp connection

เมื่อนำหัวเข็มเส้นไขของรา *Astraenus* ทั้ง 4 สายพันธุ์ มาใส่ให้กับกล้าไม้สนสามใบ ในเรือนเพาซ์ฯ เปรียบเทียบผลของราทั้ง 4 สายพันธุ์ต่อการเจริญของกล้าไม้กับชุดควบคุม วัดเปรียบเทียบการเจริญของกล้าไม้ อายุ 6 เดือน ดังนี้

อัตราการเจริญทางความสูงของลำต้นกล้าสนสามใบ

เปรียบเทียบการเจริญโดยเรียงความสูงของลำต้นกล้าสนสามใบ เมื่อไส้หัวเชื้อรา *Astraeus* สายพันธุ์ต่างๆ พบว่า ความสูงของลำต้นกล้าสนสามใบ เมื่อไส้หัวเชื้อราสายพันธุ์ที่ 3 12 และ 4 มีค่า 14.6, 13.8, 13.0 และ 11.1 เซนติเมตร ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ความสูงของลำต้นกล้าสนสามใบที่ไส้หัวเชื้อรา *Astraeus* สายพันธุ์ที่ 12 และ 3 และชุดควบคุม ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.2) ยกเว้นสายพันธุ์ที่ 4

ตารางที่ 4.2 ร้อยละการติดเชื้อราເອົກໂໄມຄອຣີຣ່າ *Astroaeus* และการเจริญของกล້າໄມ້ສນສາມ
ໃປໃນດ້ານຕ່າງໆເພື່ອໄສ່ຫວັງເຂົ້າເລັ້ນຢ່າງ

สายพันธุ์	% การติดเชื้อ	ความสูง (เซนติเมตร)	เส้นผ่าศูนย์กลางที่ ระดับคอราก (มิลลิเมตร)	มวลชีวภาพ ส่วนเหนือดิน (มิลลิกรัม)	มวลชีวภาพ ส่วนใต้ดิน (มิลลิกรัม)
1	64.0 ab	13.8ab	0.25 ab	448.8 a	219.4 a
2	85.0 a	13.0 b	0.27 a	463.8 a	200.6 ab
3	65.0 ab	14.6 a	0.27 a	495.0 a	218.8 a
4	24.0 ab	11.1 c	0.23 bc	326.3 b	153.1 b
ชุดควบคุม	5.0 b	13.4 ab	0.21 c	402.5 ab	166.9 ab

* เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวดัง ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับด้านข้างต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P=0.05$)

อัตราการเจริญทางเส้นผ่านศูนย์กลางที่ระดับครองของลำต้นกล้าสนสามใบ

เปรียบเทียบการเจริญโดยเรียงเส้นผ่านศูนย์กลางที่ระดับครองของลำต้นกล้าสนสามใบ เมื่อใส่หัวเชื้อรา *Astraeus* สายพันธุ์ต่าง ๆ พบร้า เส้นผ่านศูนย์กลางที่ระดับครองของลำต้นกล้าสนสามใบ เมื่อใส่หัวเชื้อรา *Astraeus* สายพันธุ์ที่ 2 3 1 และ 4 มีค่า 0.27 0.27 0.25 และ 0.23 เช่นเดิม ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติตัวบิรี่ Turkey's test พบร้า เส้นผ่านศูนย์กลางที่ระดับครองของลำต้นกล้าสนสามใบที่ใส่หัวเชื้อหง 4 สายพันธุ์ ไม่มีความแตกต่าง กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.2) เมื่อเปรียบเทียบการเจริญทางเส้นผ่านศูนย์กลางที่ระดับครองของลำต้นกล้าสนสามใบที่ใส่หัวเชื้อ กับชุดควบคุมในแต่ละสายพันธุ์ของรา *Astraeus* พบร้า กล้าสนสามใบที่ใส่หัวเชื้อราหง 4 สาย พันธุ์ มีค่ามากกว่าในชุดควบคุม แต่เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลทางสถิติตัวบิรี่ Turkey's test พบร้า ไม่มีความแตกต่างของการใส่หัวเชื้อราสายพันธุ์ที่ 4 และชุดควบคุม อย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

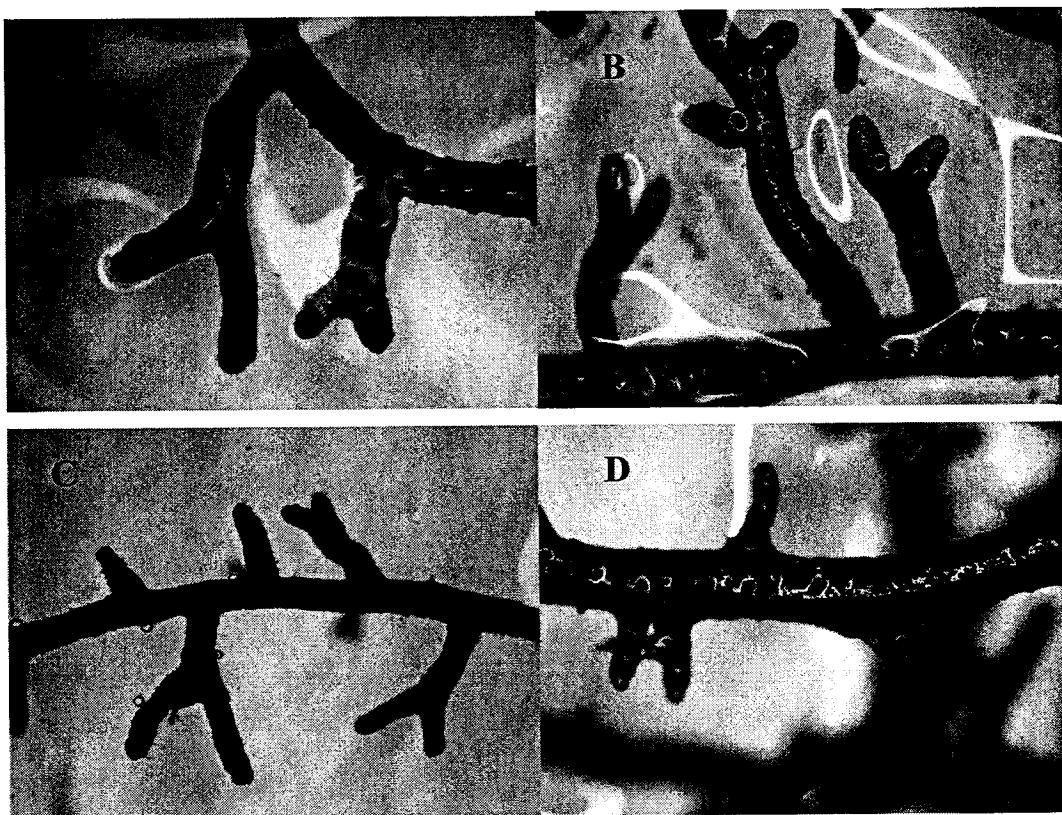
อัตราการเจริญมวลชีวภาพส่วนเหนือติน (น้ำหนักแห้งของใบ และลำต้น) ของกล้าไม้สันสามใบ

เปรียบเทียบการเจริญโดยเรียงมวลชีวภาพส่วนเหนือตินของกล้าไม้สันสามใบ เมื่อใส่หัว เชื้อรา *Astraeus* สายพันธุ์ต่าง ๆ พบร้า มวลชีวภาพส่วนเหนือตินของกล้าไม้สันสามใบ เมื่อใส่ หัวเชื้อสายพันธุ์ที่ 3 2 1 และ 4 มีค่า 495.0, 463.8, 448.4 และ 326.3 มิลลิกรัมต่อต้น ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติตัวบิรี่ Turkey's test พบร้า มวลชีวภาพส่วนเหนือตินของกล้าไม้สัน สามใบที่ใส่หัวเชื้อรา *Astraeus* สายพันธุ์ที่ 1, 2 และ 3 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลทางสถิติ ตัวบิรี่ Turkey's test พบร้า ไม่มีความแตกต่างของการใส่หัวเชื้อและชุดควบคุม อย่างมี นัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

อัตราการเจริญมวลชีวภาพส่วนใต้ติน (น้ำหนักแห้งของราก) ของกล้าสนสามใบ

เปรียบเทียบการเจริญโดยเรียงมวลชีวภาพส่วนใต้ตินของกล้าสนสามใบ ที่ใส่หัวเชื้อเส้น ไยรา *Astraeus* สายพันธุ์ต่าง ๆ พบร้า มวลชีวภาพส่วนใต้ตินของกล้าสนสามใบ เมื่อใส่หัวเชื้อ สายพันธุ์ที่ 1 3 2 และ 4 มีค่า 219.4, 218.8, 200.6 และ 153.1 มิลลิกรัมต่อต้น ตามลำดับ เมื่อ วิเคราะห์ผลทางสถิติตัวบิรี่ Turkey's test พบร้า มวลชีวภาพส่วนใต้ตินของกล้าสนสามใบที่ใส่ หัวเชื้อราหง 4 สายพันธุ์ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.2) เปรียบเทียบมวลชีวภาพส่วนใต้ตินของกล้าสนสามใบ ที่ใส่หัวเชื้อ

กับชุดควบคุม พบว่า กล้าสันสามใบที่ใส่หัวเชือสายพันธุ์ที่ 1 2 และ 3 มีมวลชีวภาพส่วนได้ดินมากกว่าชุดควบคุม ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลทางสถิติด้วยวิธี Turkey's test พบว่ามีความแตกต่างของการใส่หัวเชือและชุดควบคุม ในสายพันธุ์ 1 2 และ 3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้นที่ใส่หัวเชือสายพันธุ์ที่ 4 ที่ไม่แตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

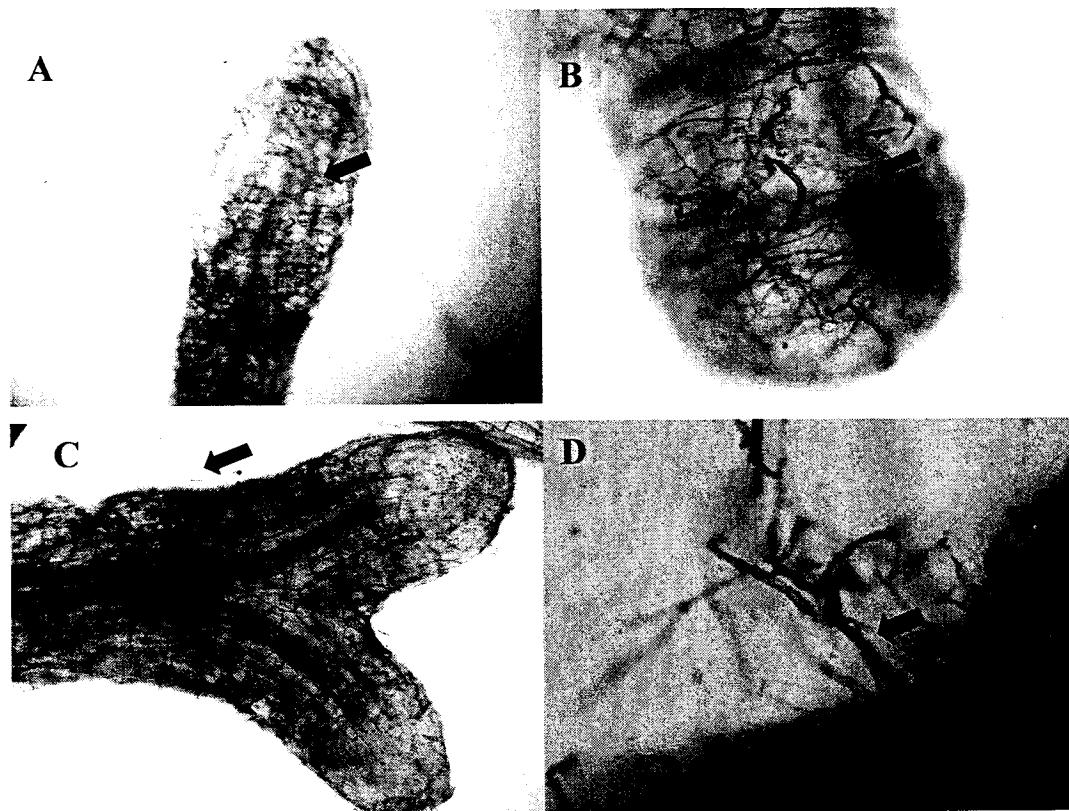


รูปที่ 4.6 ลักษณะของรากสันสามใบที่ใส่หัวเชือเส้นไยราสายพันธุ์ต่างๆ (A) สายพันธุ์ที่ 1 (B) สายพันธุ์ที่ 3 (C) สายพันธุ์ที่ 2 (D) ชุดควบคุม

การทดสอบการติดเชื้อราเอโคโตไมโครรีซากับกล้าไม้สันสามใบ

เปรียบเทียบโดยเรียงเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเอโคโตไมโครรีซาก *Astraeus* ในกล้าไม้สันสามใบเมื่อใส่หัวเชือราสายพันธุ์ต่างๆ พบร้า เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อในกล้าไม้สันสามใบ เมื่อใส่ราสายพันธุ์ที่ 2 3 1 และ 4 มีค่า 85.0, 65.0, 64.0 และ 24.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี Turkey's test พบว่า เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อของกล้าไม้สันสามใบที่ใส่หัวเชือราทั้ง 4 สายพันธุ์ที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95

เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อของกล้าไม้สนสามใบที่ใส่หัวเชือเส้นไฮรากับชุดควบคุม พบว่า กล้าไม้สนสามใบที่ใส่หัวเชือทั้ง 4 สายพันธุ์ มีการติดเชื้อมากกว่าชุดควบคุม ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลทางสถิติ ด้วยวิธี Turkey's test พบว่า มีความแตกต่างของการใส่หัวเชือในสายพันธุ์ที่ 2 และชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 4.7 ลักษณะของรากสนสามใบที่ใส่หัวเชือเส้นไฮราสายพันธุ์ต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงสังเกตเห็นและเส้นไฮราปกคลุมอยู่ (A) สายพันธุ์ที่ 2 ($\times 100$) (B) สายพันธุ์ที่ 2 ($\times 600$) (C) เส้นไฮรา *Astraeus* สายพันธุ์ที่ 3 ที่ยื่นออกมาจากราก ($\times 100$) (D) เส้นไฮรา *Astraeus* สายพันธุ์ที่ 3 ที่ยื่นออกมาจากราก ($\times 600$)

บทที่ 5

สรุป และอภิปรายผลการวิจัย

การทดสอบการสร้างเอคโตไมคอร์ไรชา (Pure culture synthesis) เป็นสิ่งสำคัญที่จะทำให้ทราบว่า ราและพืชชนิดใดที่มีความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน (Palm & Stewart, 1984) วิธีที่ใช้ในการทดสอบแบบ *in vitro* สามารถทำได้หลายวิธีด้วยกัน (Chu-Chou, 1979; Molina, 1979; Duddridge & Read, 1984; Yang & Wilcox, 1984) วิธีการทดสอบโดยใช้หลอดทดลองขนาดใหญ่ (38×300 มิลลิเมตร) ที่ภายในบรรจุด้วยวัสดุปลูกคือ เวอร์มิคราฟท์และ peat moss เป็นอีกวิธีหนึ่งที่นิยมใช้กันแพร่หลาย และมีรายงานว่าประสบผลสำเร็จได้ผลเป็นอย่างดี กับกล้าไม้หลายชนิด ได้แก่ สน ยุคคลิปตัส และไม้ตระกูลโอ๊ค (Molina, 1979; Malajczuk, 1982; Jacobson & Miller, 1991)

ผลการศึกษาการทดสอบการสร้างเอคโตไมคอร์ไรชาโดยการใช้หลอดทดลองขนาดใหญ่ (40×200 มิลลิเมตร) พบว่ารากแขนงของกล้าไม้สนสามใบจะถูกปอกคลุมด้วยเส้นไยราอย่างบางๆ ไม่เห็นเป็นแผ่นแนบทึบ แต่อย่างไรก็ตามมีได้หมายความว่าราที่ใช้ในการทดสอบนี้ไม่ได้เป็นราเอคโตไมคอร์ไรชา (Trappe, 1967; Riffle, 1973; Molina & Palmer, 1982) Danielson (1984) และ Richter & Bruhn (1989) รายงานว่า *A. hygrometricus* สามารถสร้างเอคโตไมคอร์ไรชา กับกล้าไม้สน *Pinus banksiana* และ *Pinus resinosa* ได้ นอกจากนี้ Trappe (1962), Richter & Bruhn (1986) Richter & Bruhn (1989) พบว่า *Scleroderma citrinum* สามารถสร้างเอคโตไมคอร์ไรชา กับไม้ตระกูลสนและไม้ใบกว้างอีกหลายชนิด ได้แก่ *Picea abies*, *Pinus mugo*, *P. strobus*, *P. sylvestris*, *P. virginiana*, *P. banksiana* และ *P. resinosa* สำหรับการสร้างเอคโตไมคอร์ไรชาของรา *S. sinnamariense* ยังไม่มีรายงาน แต่ Lee et al. (1997) ได้รายงานว่า *S. sinnamariense* น่าจะเป็นราไมคอร์ไรชาที่มีความสัมพันธ์กับไม้ตระกูลเต็งรัง (*Shorea leprosula*)

การทดสอบการสร้างเอคโตไมคอร์ไรชาโดยใช้หลอดทดลองขนาดใหญ่เป็นวิธีที่สามารถทำได้โดยง่ายและสะดวก อย่างไรก็ตามวิธีนี้มีข้อจำกัดคือ สภาพที่ใช้เป็นระบบปิด ปริมาณของออกซิเจนจำกัด เมื่อรากอยู่ในสภาพ anaerobic เพาะ殖ดกซ้อกซิเจนสำหรับหายใจ กิจกรรมการหายใจในราก (root respiration) จะหยุดชะงัก สารสังเคราะห์ที่ถูกขับจากราก (root exudate) ที่จำเป็นต่อการเจริญของราเอคโตไมคอร์ไรชา ก็จะถูกจำกัดลง สภาพ anaerobic ที่เกิดขึ้นยังส่งผลต่อการเจริญของราเอคโตไมคอร์ไรชาด้วย เพราะโดยปกติแล้วราเอคโตไมคอร์ไรชานั้นต้องการระดับออกซิเจนที่เหมาะสมในการเจริญ (Harley & Smith, 1983) จึงทำให้การสร้างเอคโตไมคอร์ไรชานั้นเกิดขึ้นต่ำลงไปด้วย นอกจากนี้ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ ค่อนข้างจำกัด และอาจทำให้มีการสะสมของแก๊สເອົ້າລືນກາຍในหลอด ที่ส่งผลกระทบต่อการเจริญของรา และกล้าไม้ได้ (Straatsma et al., 1986) ปริมาณของอาหารเหลวที่อยู่ในหลอดก็เป็น

ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยรา ราอาจต้องใช้ระยะเวลาในการสร้างไมโครริ่รชา กับรากพืช แต่อาหารที่ใส่ไว้ในหลอดทดลองสามารถแห้งโดยง่าย จึงจำกัดการเจริญของเส้นใย และการสร้างไมโครริ่รชาได้

จากข้อสืบสานของการใช้หลอดทดลองขนาดใหญ่ดังกล่าวข้างต้น จึงได้มีการปรับปรุงวิธีทดสอบการสร้างเอคโตไมโครริ่รชาไว้ใหม่ขึ้น โดยให้ส่วนของลำต้น และใบพืชอยู่ในระบบเปิดเจริญในสภาพอากาศปกติ เนื่องจากเท่านั้นที่อยู่ในระบบปิดหรือสภาพที่ปลดล็อกเชื้อ (Duddridge, 1986) และใช้วัสดุปูลูกเช่น vermiculite และตินพู เป็นสับสตรด Chilvers et al. (1986) ได้พัฒนาวิธี “paper-sandwich” technique ขึ้น โดยการเพาะเลี้ยงเส้นใยราให้เจริญบนแผ่นกระดาษกรองหรือเซลโลฟันก่อน จากนั้นจึงย้ายเชื้อที่เจริญบนแผ่นกระดาษไปไว้บนรากของพืชที่จะใช้ทดสอบที่อยู่ภายใต้กระดาษ เนื่องจากสามารถใช้ได้ผลดีกับกล้าไม้ที่มีขนาดเล็ก เช่น *Eucalyptus globulus* subsp. *bicostata* และ *Pisolithus arhizus* *Paxillus involutus* การวิจัยนี้ได้ปรับปรุงโดยใช้หั้งสองวิธีร่วมกัน โดยการเพาะเลี้ยงเส้นใยราบนกระดาษเซลโลฟันที่วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อก่อน เมื่อเส้นใยราเจริญดีจึงย้ายไปวางลงบนกล้าสนสามใบในจานพลาสติกที่เตรียมไว้ วิธีนี้ใช้ได้ผลดีกับรา *Pisolithus* เนื่องจากมีการเจริญและสามารถสร้างเส้นใยปุกคลุมรากได้เร็วกว่ารา *Astraeus*

มีรายงานว่ารา *Pisolithus* ที่พับขึ้นอยู่กับปูคอลิปตัสไม่สามารถสร้างไมโครริ่รชาได้กับไม้ตระกูลสน (Chilvers, 1973; Malajczuk et al., 1990; Burgess et al., 1994) แต่จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า รา *Pisolithus* สายพันธุ์ที่ 5 ที่เก็บได้จากสวนป่ายุคอลิปตัส สามารถสร้างรากเอคโตไมโครริ่รชา กับกล้าสนสามใบได้ อาจเป็นไปได้ว่าความสามารถในการสร้างเอคโตไมโครริ่รชา นั้นขึ้นกับว่าใช้สายพันธุ์ใดในการทดสอบด้วย ราเอคโตไมโครริ่รชาชนิดเดียวกันแต่ต่างสายพันธุ์กันมีความสามารถในการสร้างเอคโตไมโครริ่รชาที่แตกต่างกัน

Danielson (1984) และ Richter & Bruhn (1989) รายงานการสร้างเอคโตไมโครริ่รชาของรา *Astraeus* เช่น *Astraeus hygrometricus* กับกล้าไม้ตระกูลสน จากการวิจัยนี้พบว่าการสร้างเอคโตไมโครริ่รชาของรา *Astraeus* โดยใช้วิธีเพาะในจานเลี้ยงเชื้อพลาสติก หั้งสี่สายพันธุ์ มีร้อยละของการติดเชื้อที่ค่อนข้างต่ำ (0-4%) สาเหตุอาจเนื่องมาจากการเส้นใยรา มีการเจริญและปักคุณรากได้ช้ากว่า หรือมีประสิทธิภาพในการสร้างเอคโตไมโครริ่รชาต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับรา *Pisolithus* (Wong & Fortin, 1989) นอกจากนี้รา *Astraeus* หั้งสี่ไม่ได้เก็บมาจากป่าสนด้วย

การทดสอบการสร้างไมโครริ่รชาในสภาวะเรือนกระจก

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบการสร้างเอคโตไมโครริ่รชาของรา *Astraeus* กับกล้าไม้สนสามใบ จากการศึกษาพบว่าการใส่หัวเชื้อราให้กับกล้าไม้ไม่ให้ผลการตอบสนองต่อการเจริญของกล้าไม้ทางความสูง น้ำหนักมวลซึ่งภาพส่วนหนึ่งอดิน และได้ดินที่แตกต่างจากชุดควบคุมภายในได้สภาวะที่กำหนด หั้งนี้อาจมีสาเหตุที่เกิดจากไม่เกิดการสร้างไมโครริ่รชาที่แท้จริง

หากส่วนใหญ่ถูกปกคลุมด้วยเส้นใยบางๆ ไม่ปราศจากแฝ้นแม่นเทิลที่ชัดเจน สภาพอุณหภูมิที่สูงเกินไปและการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศสมีผลต่อการสร้างไมโครรีชาด้วย แม้จะมีรายงานว่า *Astreus* สามารถเติบโตและปรับตัวกับอุณหภูมิสูงได้ (Phelps, 1973; Redhead & Watling, 1979) Marx & Rowan (1981) พบว่าการต่อขยายเชื้อบ่อยๆ มีผลทำให้ความสามารถในการสร้างเยอคโตไมโครรีชาลดลงด้วย

การศึกษาการสร้างเยอคโตไมโครรีชาของราในกลุ่ม Gasteromycetes ผลการศึกษาสรุปได้ดังนี้ ราเยอคโตไมโครรีชาในกลุ่ม Gasteromycetes มีการกระจายพันธุ์ทั่วโลก สามารถพบได้ในทุกภาคของประเทศไทย ยกเว้นภาคใต้ที่ไม่ได้มีการสำรวจ สามารถพบได้ในช่วงฤดูฝนระหว่างเดือนมิถุนายน- กันยายน ในป่าสนเข้า ป่าเต็งรัง และสวนป่ายุคอลิปตัส สามารถแยกเส้นใยที่บริสุทธิ์ของราได้ทั้งหมด 7 สายพันธุ์ ซึ่งทั้ง 7 สายพันธุ์นี้ จะอาศัยอยู่กับพืชจำพวกสนสามใบ (*P. kesiyai*) และ ยูคอลิปตัส (*E. camaldulensis*) เป็นส่วนใหญ่

1. ราในกลุ่ม Gasteromycetes สามารถเพิ่มปริมาณในวัสดุปลูกได้ โดยรวมแต่ละชนิดแต่ละสายพันธุ์มีความสามารถในการเจริญในวัสดุปลูกที่ต่างกัน

2. รา *Astraeus Pisolithus* และ *Scleroderma* สามารถสร้างเยอคโตไมโครรีชา กับกล้าไม้สนสามใบใน *in vitro system* ได้ แต่ทั้งนี้ความสามารถในการสร้างเยอคโตไมโครรีชาจะแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ราที่ใช้ทดสอบ ราบางสายพันธุ์สามารถสร้างไมโครรีชาที่แท้จริงแต่ราบางสายพันธุ์สร้างเส้นใยราปักคลุมที่ผิวนอกอย่างบางๆ

3. ผลของรา *Astraeus* สายพันธุ์ที่ใช้ทดสอบในการวิจัยนี้ ต่อการเจริญของกล้าไม้สนสามใบ เมื่อใส่หัวเชือเส้นใยของราเยอคโตไมโครรีชาทั้ง 4 สายพันธุ์ที่คัดแยกได้ ให้กับกล้าไม้สนสามใบในเรือนเพาะชำ เปรียบเทียบผลกับชุดควบคุม ผลสรุปได้ดังนี้

3.1) การเจริญของความสูงลำต้น พบร้า การใส่หัวเชือเส้นใยราให้กับกล้าไม้สนสามใบให้กล้าไม่มีการเจริญของความสูงลำต้น มากกว่ากล้าไม้สนสามใบ ในทรีตเมนต์ชุดควบคุมยกเว้นในกล้าไม้สนสามใบที่ใส่หัวเชือเส้นใยสายพันธุ์ที่ 2 และ 4 การใส่หัวเชือเส้นใยรา สายพันธุ์ที่ 3 ให้ความสูงของลำต้นสูงสุด (14.60 ซม.)

3.2) การเจริญของเส้นผ่าศูนย์กลางที่ระดับครากของลำต้น พบร้า การใส่หัวเชือเส้นใยราให้กับกล้าไม้สนสามใบ ทำให้กล้าไม่มีการเจริญทางเส้นผ่าศูนย์กลางที่ระดับครากลำต้น มากกว่า กล้าไม้สนสามใบในทรีตเมนต์ชุดควบคุมทุกสายพันธุ์ การใส่หัวเชือเส้นใยสายพันธุ์ที่ 2 และ 3 ทำให้กล้าไม่มีการเจริญทางเส้นผ่าศูนย์กลางที่ระดับครากของลำต้นมากที่สุด (0.27 มม.)

3.3) การเจริญมวลชีวภาพส่วนเหนือดิน (น้ำหนักแห้งของใบ และลำต้น) พบร้า การใส่หัวเชือเส้นใยราให้กับกล้าไม้สนสามใบ ทำให้กล้าไม่มีการเจริญมวลชีวภาพส่วนเหนือดินมากกว่ากล้าไม้สนสามใบในทรีตเมนต์ชุดควบคุม การใส่หัวเชือเส้นใยราสายพันธุ์ที่ 3 ทำให้กล้าไม่มีการเจริญมวลชีวภาพส่วนเหนือดินมากที่สุด (495.0 มก./ต้น)

3.4) การเจริญมวลด้วยภาพส่วนได้ดิน (น้ำหนักแห้งของราก) พบว่า การใส่หัวเชือเด่นในรากให้กับกล้าไม้สนสามใบ ทำให้กล้าไม้มีการเจริญมวลด้วยภาพส่วนได้ดินสูงกว่ากล้าไม้ในชุดควบคุม ยกเว้นการใส่เลี้นโดยรายพันธุ์ที่ 4 มีการเจริญมวลด้วยภาพส่วนได้ดินสูงสุดในทรีตเมนต์ที่ใส่หัวเชือเด่นโดยรายพันธุ์ที่ 1 (219.4 mg./ตัน)

4. ราเอคโตไมครอร์เรชา ไม่ได้มีความจำเพาะเฉพาะจังกับพืชอาศัย แต่ร้ายแต่ละสายพันธุ์จะมีความแตกต่างกันในระดับของการเข้ากันได้เหมาะสม (compatible) หรือเข้ากันไม่ได้เหมาะสม (incompatible) กับพืชอาศัย

ข้อเสนอแนะ

จากการทดลองนี้ จะเห็นได้ว่า การเพาะกล้าไม้สนสามใบ และยูคาลิปตัส สามารถใส่เชื้อราเอคโตไมครอร์เรชาให้กับกล้าไม้ทั้งสองแต่ควรจะได้มีการวิจัยและพัฒนาในชั้นรายละเอียดเพิ่มเติมต่อไป ได้แก่

1) การศึกษาความเข้ากันได้ (compatible) หรือเข้ากันไม่ได้ (incompatible) ของราเอคโตไมครอร์เรชา กับพืชอาศัยชนิดต่าง ๆ

2) การศึกษาถึงปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสภาพสิ่งแวดล้อม (ecological specificity) โดยละเอียด ทั้งปัจจัยสิ่งมีชีวิต และไม่มีชีวิต ที่อาจมีผลต่อการเจริญ หรือการเกิดไมครอร์เรชา กับ รากพืช

3) การศึกษาการนำไบโอจิริงในทางปฏิบัติ เนื่องจากผลการทดลองในห้องปฏิบัติการไม่อาจจะแสดงผลที่แท้จริงเมื่อยื่นในสภาพธรรมชาติได้ ดังนั้นการนำกล้าไม้ที่ติดเชื้อราเอคโตไมครอร์เรชา ไปทดลองในสูกจริงในภาคสนาม จึงเป็นเรื่องที่จำเป็น ที่จะแสดงให้เห็นว่า กล้าไม้ที่ติดเชื้อราเอคโตไมครอร์เรชา สามารถเจริญได้ดีกว่ากล้าไม้ที่ไม่ได้รับการใส่เชือ เพื่อเป็นการพิสูจน์ว่าราเอคโตไมครอร์เรชาที่ได้ใส่เข้าไปสามารถจะไปแก่งแย่งกับจุลทรีชนิดอื่น ตลอดจน ราไมครอร์เรชา ที่มีอยู่ตามธรรมชาติได้ และมีความคุ้มทุน เหมาะสมที่จะนำไปปฏิบัติจริง

4) ศึกษาการคัดเลือกสายพันธุ์รากในกลุ่ม Gasteromycetes ที่มีการเจริญ และมีการติดเชื้อกับรากพืชได้ดีเปรียบเทียบกับราเอคโตไมครอร์เรชาชนิดอื่น ๆ เนื่องจากในสภาพธรรมชาติโดยเฉพาะ ในป่าสนเชา หรือป่าเต็งรัง จะมีความหลากหลายในชนิดของราเอคโตไมครอร์เรชา มากมาย นอกจากนี้การคัดเลือกพันธุ์หรือสายพันธุ์ราเอคโตไมครอร์เรชา ที่นอกจากจะส่งเสริมการเจริญของกล้าไม้แล้ว ควรจะพิจารณาประโยชน์ในแบ่งอื่น ๆ เช่น สามารถเป็นแหล่งอาหาร หรือยา草 สำหรับประชาชนในพื้นที่ป่า ซึ่งอาจจะช่วยให้进程การปลูกป่า ประสบผลสำเร็จดังเป้าหมาย เพราะประชาชนจะมีความหวังแทน รู้คุณค่า และช่วยกันดูแล

รักษาป่าให้คงอยู่อย่างยั่งยืน ดังนั้นราเוכโตไมโครเรไซจ์อาจจะเป็นยุทธศาสตร์หนึ่งที่จะช่วยทำให้โครงการปลูกป่าพื้นฟูสภาพแวดล้อมในประเทศไทย ประสบความสำเร็จได้

ເອກສາຣອ້າງອີງ

ภาษาไทย

อนิวรรตน์ เฉลิมพงษ์ และอีรวัฒน์ บุญทวีคุณ. 2525. การสำรวจเอคโตไมโคร์ไรชาในระบบ
นิเวศวิทยาป่าดิบแล้ง. กรุงเทพมหานคร: กรมป่าไม้.

อนิวรรตน์ เฉลิมพงษ์. 2539. เท็ดเอคโตไมโคร์ไรชาที่ช่วยในการปลูกป่าภาคอิสาน.
กรุงเทพมหานคร: สำนักวิชาการกรมป่าไม้.

ภาษาต่างประเทศ

A

- Abbott LK & Robson AD. 1984. The effect of VA mycorrhizae on plant growth. In CL Powell and DJ Bagyaraj (eds.), VA mycorrhiza, pp. 113-130. Florida : CRC Press.
- Agerer R. 1987- 1990. Colour atlas of Ectomycorrhizae. München: Einhorn-Verlag Eduard Dietenberger.
- Alexopoulos CJ, Mims CW & Blackwell M. 1996. Introductory Mycology. New York: John Wiley & Son.
- Allen MF, Sexton JC, Moore Jr. TS & Christensen M. 1981. Influence of phosphate source on vesicular-arbuscular mycorrhizae of *Bouteloua gracilis*. New Phytologist. 87: 687-694.
- Anonymous. 2001. www.mycopat.slu.se.
- Archer S. 1962. Preliminary studies on the germination of the basidiospores of *Astreaus hygrometricus*. Oklahoma, National Science Foundation. 13 p.
- Arnolds E. 1988. The changing macromycete flora in Netherlands. Transaction of the British Mycological Society, 90: 391-406.
- Arnolds E & De Vries B. 1993. Conservation of fungi in Europe. In Fungi of Europe: Investigation, Recording and Conservation. eds Pegler DN, Boddy L, Ing B & Kirk PM. pp. 211- 230. London: Royal Botanical Garden, Kew.
- Auge RM, Stodola AJW, Brown MS & Bethlenfalvay GJ. 1992. Stomatal response of mycorrhizal cowpea and soybean to short term osmotic stress. New Phytologist. 120: 117-125.
- Azcón-Aguilar C, Barea JM. 1996. Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture: significance and potentials. Scientia horticulture 68: 1-24.
- Azcon-Aguilar C, Diaz-Rodriguez RM & Barea JM. 1986. Effect of soil microorganisms on spore germination and growth of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus moseae*. Transaction of British Mycological Society. 86 : 337-340.

B

- Blal B & Gianinazzi-Pearson V. 1990. Interest of endomycorrhizae for the production of micropropagated oil palm clones. Agricultural, Ecosystem & Environment. 29 (1-4): 39-43.
- Bottomey AM. 1948. Gasteromycetes of the South Africa. In Bothalia;A record of contributions from the National Herbarium. Ed. Dyer RA. pp. 481- 765. Pretoria: Union of South Africa.
- Brand AW & Finlay J. 1996. *Astreaus hygrometricus*, an uncommon earthstar. Mycologist. 10: 109.
- Brundrett MC. 1984. Pictorial supplement to the fifth Kingdom - Chapter 17. February 24, 2007, from:<http://images.google.co.th/imgres?imgurl=http://www.mycolog.com/>
- Brundrett M, Bouger N, Dell B, Grove T. & Malajczuk N. 1996. Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture. ACIAR Monograph. 374 p.

Brundrett MC & Trappe JM. 1990. Mycorrhizae-mutualistic plant-fungus symbioses. February 24, 2007, <http://images.google.co.th/imgres>.

Burgess T, Dell B & Malajczuk N. 1994. Variations in mycorrhizal development and growth stimulation by 20 *Pisolithus* isolates inoculated on to *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden. New Phytologist. 127: 731-739.

C

- Calvet C, Barea JM & Pera J. 1992. In vitro interaction between the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus moseae* and some saprophytic fungi isolated from organic substrates. Soil Biology & Biochemistry. 24: 775-780.
- Cao W. & Crawford DL. 1993. Carbon nutrition and hydrolytic and cellulolytic activity in the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius*. Canadian Journal of Microbiology. 39(5): 529-535.
- Cardoso IM, Boddington C, Janssen BH, Oenema O & Kuyper TW. 2003. Distribution of mycorrhizal fungal spores in soils under agroforestry and monocultural coffee systems in Brazil. Agroforestry Systems 58: 33-43.
- Chalermpongse A. 1992. Biodiversity of Ectomycorrhizal Fungi in the Dipterocarp Forest of Thailand. In Bio – Refor Tsukuba Workshop, Pp. 143-145, Tssukuba, Japan.
- Chalermpongse A. 1996. Ectomycorrhizas in reforestation (in Thai). Bangkok: The Royal Forest Department.
- Chamratpan S. 2003. Biodiversity of medicinal mushrooms in Northeast, Thailand. In The 2nd International Conference on Medicinal mushroom, Biotechnology, National centre for Genetic Engineering and (ed) pp. 271-276: Pattaya, Thailand.
- Chen, Y.L., Dell, B. & Kang, L.H. (2004). Cultivation of *Suillus bovinus* (Boletaceae) on *Pinus elliottii* in south China. In *The IV Asia-Pacific Mycological Congress*: Chiangmai, Thailand.
- Chilvers GA. 1973. Host range of some eucalypt mycorrhizal fungi. Australian Journal of Botany. 21: 103-111.
- Chevalier G. 1988. The truffle cultivation in France: assesment of the situation after 25 year of intensive use of mycorrhizal seedlings. In The 2nd International Conference on Mycorrhiza: Uppsala, Sweden.
- Chilvers GA, Douglass PA & Lapeyrie FF. 1986. A paper-sandwich technique for rapid synthesis of ectomycorrhizas. New Phytologist. 103: 397-402.
- Chilvers GA & Harley JL. 1980. Visualization of phosphate accumulation in beech mycorrhizal. New Phytologist. 4: 319-326.
- Chu Chou M. 1979. Mycorrhizal fungi of *Pinus radiata* in New Zealand. Soil Biology and Biochemistry. 11: 557-562.
- Coker WC & Couch JN. 1928. The Gasteromycetes of the Eastern United States and Canada: University of North Carolina Press, Chapel Hill.
- Colpaert JV & Assche JA. 1992. Zinc toxicity in ectomycorrhizal *Pinus sylvestris*. Plant and soil, 143: 201-211.
- Cumming JR. 1993. Growth and nutrition of nonmycorrhizal and mycorrhizal Pitch pine (*Pinus rigida*) seedlings under phosphorus limitation. Tree Physiology. 13(2): 173-187.
- Cumming JR & Weinstein LH. 1990. Utilization of AlPO₄ as a phosphorus source by ectomycorrhizal *Pinus rigida* Mill. seedlings. New Phytologist. 116: 99-106.
- Cunningham GH. 1944. Gasteromycetes of Australia and New Zealand. Dunedin.

D

- Daniels BA & Trappe JM. 1980. Factors affecting the vesicular arbuscular mycorrhiza fungus *Glomus epigeous*. *Mycologia*. 72 : 457-471.
- Danielson RM. 1984. Ectomycorrhizal associations in jack pine stands in northeastern Alberta. *Canadian Journal of Botany*. 62: 932-939.
- Denny HJ & Wilkins DA. 1987. Zinc tolerance in *Betula* spp. III. Variation in response to zinc among ectomycorrhizal associates. *New Phytologist*. 106: 535-544.
- Demoulin V. 1975. Les Gasteromycetes Introduction a l'étude des Gasteromycetes de Belgique. *Les Naturalistes Belges*. 56: 192- 200.
- Dijk VH, Neree AO & Kuyper TW. 2002. Knowledge and utilization of edible mushrooms by local populations of the rain forest of south Cameroon. *AMBIO*. 32, 19-23.
- Dodd J, Krikun J & Hass J. 1983. Relative effectiveness of indigenous populations of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi from four sites in Negev, Israel. *Israel Journal of Botany*. 32: 10-21.
- Dring DM. 1964. Gasteromycetes of West Tropical Africa. *Mycological Papers*. 98, 1- 60.
- Duddridge JA. 1986. The development and ultrastructure of ectomycorrhizas. III. Compatible and incompatible interactions between *Suillus grevillei* (Klotzsch.) Sing. and 11 species of ectomycorrhizal hosts in vitro in the absence of exogenous carbohydrate. *New Phytologist*. 103: 457-464.
- Duddridge JA, Malibari AS. & Read DJ. 1980. Structure and function of mycorrhizal rhizomorph with special reference to their role in water transport. *Nature*. 287:834-836.
- Duddridge JA & Read DJ. 1984. The development and ultrastructure of ectomycorrhizas. II. Ectomycorrhizal development on pine in vitro. *New Phytologist*. 96: 575-582.
- Duffy EM & Cassells AC. 2000. The effect of inoculation of potato (*Solanum tuberosum* L.) microplants with arbuscular mycorrhizal fungi on tuber yield and tuber size distribution. *Applied Soil Ecology* 15; 137-144.
- Durall DM, Harniman SMK, Berch SM, & Goodman DM. 1996. Morphology of ectomycorrhizal system (Dissection Microscope). In D.M. Goodman, D.M. Durall, J.A. Trofymow, and S.M. Berch,(eds.), Concise Descriptions of North American Ectomycorrhizal, Pp. CDE1.1- CDE1.4 , Mycologue Publications and Canada – B.C. Forest Resource Development Agreement, Canadian forest service.

E

- Ek H, Anderson S, Arnebrant K. & Soderstrom B. 1994. Growth and assimilation of NH_4^+ and NO_3^- by *Paxillus involutus* in association with *Betula pendula* and *Picea abies* as affected by substrate pH. *New Phytologist*. 128: 629-637.
- Entry JA, Rygiewicz PT, & Emmingham WH. 1994. ^{90}Sr uptake by *Pinus ponderosa* and *Pinus radiata* seedlings inoculated with ectomycorrhizal fungi. *Environmental Pollution*. 86(2): 201-206.

F

- Fellner R. & Peskova V. 1995. Effect of industrial pollutants on ectomycorrhizal relationships in temperate forest. *Canadian Journal of Botany*. 73 (suppl.1): 1310-1315.
- Fortuna P, Citernesi AS, Morini S, Vitagliano C, Giovannetti M. 1996. Influence of arbuscular mycorrhizae and phosphate fertilization on shoot apical growth of micropropagated apple and plum rootstocks. *Tree Physiology* 16 (9): 757-763.
- Foster RC. 1981. Mycelial strands of *Pinus radiata* D. Don : Ultrastructure and histochemistry. *New Phytologist*. 88: 705-712.
- France, RC, Cline ML & Reid CPP. 1979. Recovery of ectomycorrhizal fungi after exposure to subfreezing temperature. *Canadian Journal of Botany*. 57:1845-1848.

France RC & Reid CPP. 1982. Interaction of nitrogen and carbon in the physiology of ectomycorrhizae. Canadian Journal of Botany. 61: 964-984.

G

- Gavez L, Douds DD, Drinkwater LE & Wagoner P. 2001. Effect of tillage and farming system upon VAM fungus populations and mycorrhizas and nutrient uptake of maize. Plant and Soil. 228: 299-308.
- Green NE, Graham SO & Schenck NC. 1976. The influence of pH on germination of vesicular arbuscular mycorrhiza spores. Mycologia. 68: 929-934.
- Grime JP, Mackey JML, Hillier SH & Read DJ. 1987. Floristic diversity in a model system using experimental microcosms. Nature. 328: 420-422.

H

- Harley JL & Loughman BC. 1963. The uptake of phosphate by excised mycorrhizal roots of beech IX. The nature of phosphate compounds passing to the host. New Phytologist. 62: 350-359.
- Harley JL & Smith SE. 1983. Mycorrhizal symbiosis. London, Academic Press. 483 p.
- Hardie K. & Leyton L. 1981. The influence of vesicular-arbuscular mycorrhiza on growth and water relations of red clover. I. In phosphate-deficient soil. New Phytologist. 89: 599-608.
- Hacskeylo E, Palmer G, & Vozzo JA. 1965. Effect of temperature on growth and respiration of ectotrophic mycorrhizal fungi. Mycologia. 57: 748-756.
- Hawksworth DL, Kirk PM, Sutton BC & Pegler DN. 1995. Dictionary of the fungi, Ed. 8. UK: CAB International.
- Hayman DS. 1970. Endogone spore number in soil and vesicular-arbuscular mycorrhiza in wheat was influenced by season and soil treatment. Transaction of British Mycological Society. 54: 55-63.
- Heinemeyer A. & Fitter AH. 2001. Influence of temperature and light on the functioning of arbuscular mycorrhizal (AM) and on the extraradical hyphae growth: implications of climate change. The third International Conference on Mycorrhizas, Adelaide Convention Centre, Adelaide, Australia.
- Ho I & Zak B. 1979. Acid phosphatase activity of six ectomycorrhizal fungi. Canadian Journal of Botany. 57:120-1205.
- Hung LL & Trappe JM. 1983. Growth variation between and within species of ectomycorrhizal fungi in response to pH in vitro. Mycologia 75(2): 234-241.
- Hutchison LJ. 1990. Studies on the systematics of ectomycorrhizal fungi in axenic culture. IV. The effect of some selected fungi toxic compounds upon linear growth. Canadian Journal of Botany. 68: 2172-2178.

I

- Ishii T, Sunao K, Ming Z, Jiro A, Isao M & Kazuomi K. 1998. Effect of the reduction of phosphorus fertilizer for *Citrus iyo* orchards on the development of vesicular-arbuscular mycorrhizae and the quality of fruit. The 2nd International Conference on Mycorrhiza. 5-10 July. Uppsala, SWEDEN.
- Issaac S. 1992. Mutualistic Symbiosis, In Chapman and Hall (eds.), Fungal – Plant Interaction, pp. 270-277. Cambridge, University Printing house.

J

- Jacobson KM & Miller OK. 1991. Physiological variation between tree-associated populations of *Suillus granulatus* as determined by invitro mycorrhizal synthesis experiments. Canadian Journal of Botany. 70: 26-31.

- Jackson RM & Mason PA. 1984. Mycorrhiza. Studies in Biology No. 159. London, Edward Arnold.
- Jalink LM. 1995. De Aardsterren van Nederland en Belgie. Leiden: Rijksherbarium.
- Jain RK & Sethi CL. 1988. Influence of endomycorrhizal fungi *Glomus fasciculatum* and *G. epigaeus* on penetration and development of *Heterodera cajani* on cowpea. Indian Journal of Nematologist. 18: 89-93.
- Jeffries P. 1999. *Scleroderma*. In Ectomycorrhizal fungi: Key Genera in profile. eds Cairney, JWG. & Chambers SM. pp. 369 p. Berlin: Springer.
- Jennifer LP, Linderman RG, & Black CH. 1983. The role of ectomycorrhizas in drought tolerance of Douglas-fir seedlings. New Phytologist. 95: 83-95.
- Johansen A & Jensen ES. 1996. Transfer of N and P from intact or decomposing roots of pea to barley interconnected by an arbuscular mycorrhizal fungus. Soil Biology. & Biochemistry. 28(1): 78-81.
- Johnson MM. 1974. The Gasteromycetes of Ohio: Puffballs, Birds'- Nest fungi and stinkhorns. Ohio Biological Survey Bulletin, 5, 271-352.
- Jones MD & Hutchinson TC. 1988. Nickel toxicity in mycorrhizal Birch seedling infected with *Lactarius rufus* or *Scleroderma flavidum* I. Effects on growth, photosynthesis, respiration and transpiration. New Phytologist. 108: 451-459.

K

- Kanchanaprayudh K, Zhou Z, Yomyart S, Sihanonth P & Hogetsu T. 2003. Molecular phylogeny of ectomycorrhizal *Pisolithus* fungi associated with pine, dipterocarp, and eucalyptus trees in Thailand. Mycosciences. 44: 287-294.
- Kendrick B. 1992. The fifth kingdom. Waterloo: Mycolouge Publications.
- Klinhom U, Klinhom W & Kanchanamayoon W. 2003. Mushrooms and traditional knowledge in Northeastern Thailand. In The 2nd International Conference on Medicinal mushroom, Biotechnology, National centre for Genetic Engineering and (ed) pp. 177-181: Pattaya, Thailand.
- Kumar D. 1988. Mycorrhizae; A complete system for nutrient mobilization and cycling. In A. Mahadevan, N. Raman and K. Natarajan (eds.), Mycorrhizae for Green Asian 1st Asian Conference Mycorrhizae, Jan.29-31, Pp. 329-332, Madras, India.

L

- Lee SS, Alexander IJ & Watling R. 1997. Ectomycorrhizas and putative ectomycorrhizal fungi of *Shorea leprosula* Miq. (Dipterocarpaceae). Mycorrhiza. 7: 63-81.
- Liu B. 1984. In The Gasteromycetes of China. pp. 238. Vaduz, Germany: Nova Hedwigia.
- Ilag LL, Rosales AM & Mew TW. 1987. Use of endomycorrhizal fungus to challenge *Rhizoctonia* infection in selected field crops. Philippines Phytopathologist. 23(1-2): 33-34.
- Lloyd CG. 1902. The Geastrae. Cincinnati. 43 p.
- Lovato PE, Gianinazzi-Pearson V, Trouvelot A & Gianinazzi S. 1996. The state of art of mycorrhizas and micropropagation. Advanced Horticulture Science 10: 46-52.

M

- Mahmood T & Iqbal, SH. 1982. Influence of soil moisture contents on VA mycorrhizae and pathogenic infection by *Rhizoctonia solani* in *Brassica napus*. Pakistan Journal of Agricultural Research. 3: 45-49.
- Malajczuk N, Lapeyrie F & Garbaye J. 1990. Infectivity of pine and *Eucalyptus* isolates of *Pisolithus tinctorius* on roots of *Eucalyptus urophylla* in vitro. New Phytologist. 114: 627- 631.
- Malajczuk N, Molina R & Trappe JM. 1982. Ectomycorrhiza formation in *Eucalyptus* I. Pure culture synthesis, host specificity and mycorrhizal compatibility with *Pinus radiata*.

New Phytologist. 91: 467- 482.

- Mardisubroto S. & Warnada NMK.1982. The Development of ectomycorrhizae on seedlings of *Pinus merkusii* after fungicides – application. In IFS Provision report no.12, Training Serdang, Malaysia, May, 1982.
- Mark GC & Foster RC. 1973. Structure, Morphogenesis and Ultrastructure of Ectomycorrhizae. In GC Mark and TT Kozlowski (eds.), Ectomycorrhizae: Their Ecology and Physiology, Pp. 2-41. New York, Academic press.
- Martin F, Canet D, Rolin D, Marchal JP. & Lahrer F. 1983. Phosphorus-31 nuclear magnetic resonance study of polyphosphate metabolism in intact ectomycorrhizal fungi. Plant and soil. 71: 469-476.
- Martin F, Diez J, Dell B & Delaruelle C. 2002. Phylogeography of the ectomycorrhizal *Pisolithus* species as inferred from nuclear ribosomal DNA ITS sequences. New Phytologist. 153: 345- 357.
- Marx DH. 1969a. The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infection. I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. Phytopathologist. 59: 153-163.
- Marx DH. 1969b. The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infection. II. Identification, production, and biological activity of antibiotics produced by *Leucopaxillus cerealis* var. piceina. Phytopathologist. 59: 411-417.
- Marx DH. 1976. Synthesis of ectomycorrhizae on loblolly pine seedlings with basidiospores of *Pisolithus tinctorius*. Forest Sciences. 22: 13-20.
- Marx DH. 1977. Tree host range and world distribution of the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius*. Canadian Journal of Microbiology. 23: 217-223.
- Marx DH. & Bryan WC. 1975. Growth and ectomycorrhizal development of loblolly pine seedling in fumigated soil infested with the fungal symbiont *Pisolithus tinctorius*. Forest Sciences. 21:245-254.
- Marx DH, Bryan WC & Cordell CE. 1976. Growth and ectomycorrhizal development of pine seedlings in nursery soil infested with the fungal symbiont *Pisolithus tinctorius*. Forest Sciences. 22: 91-100.
- Marx DH, Cordell CE, Kenny DS, Mexal JC, Artman, JD, Riffle JW & Molina RJ. 1984a. Commercial vegetative inoculum of *Pisolithus tinctorius* and inoculation techniques for development of ectomycorrhizae on bare- root seedlings. Forest. Sciences Monograph. 25. 101 p.
- Marx DH & Davey CB. 1969. The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infection. IV. Resistance of aseptically mycorrhizae to infection *Phytophthora cinnamomi*. Phytopathologist. 59: 549-558.
- Marx DH & Kenny DS. 1982. Production of Ectomycorrhizal fungus inoculum. In Methods and Principles of Mycorrhizal Research. ed Schenck, N.C. pp. 131- 146. St. Paul, Minnesota: The American Phytopathological Society.
- Marx DH, Maaul SB & Cordell CE. 1992. Application of specific ectomycorrhizal fungi in world forestry. In GF Leafham (ed.), Fronties in industrial mycology, pp. 79-98. Chapman and Hall Inc. USA.
- Marx DH & Rowan SJ. 1981. Fungicides influences growth and development of specific ectomycorrhizae on loblolly pine seedlings. Forest Sciences. 27(1): 167-176.
- Marx DH & Ruehle JL. 1988. Ectomycorrhizae as biological tools in reclamation and revegetation of waste lands. In A. Mahadevan, N.Raman and K. Natarajan (eds.), Mycorrhizae for green Asia 1st Asian conference on mycorrhizae, Jan. 29-31, pp. 339-344. Maadras, India, 1988.
- Marx DH, Jarl K, Ruehle JL & Bell W. 1984b. Development of *Pisolithus tinctorius* ectomycorrhizae on pine seedlings using basidiospore-encapsulated seeds. Forest Sciences. 30: 897-907.

- Marx DH, Ruehle JL & Cordell CE. 1991. Method for studying nursery and field response of trees to specific ectomycorrhiza . In JR. Norris, DJ Read and AK Varma (eds.), Method in Microbiology vol. 23, Pp. 383-411. London, Academic press.
- Master C, Trappe JM. & Nussbaum RA. 1978. Fungal – small mammal interrelationships with emphasis on Oregon coniferous forest. Ecology 59: 799-809.
- Massanes R, Robin B & Robin M. 1988. Some aspects of our experiences with mass production of seedlings mycorrhizal with edible species. In The 2nd International Conference on Mycorrhiza: Uppsala, Sweden.
- Menge JA. 1984. Inoculum production. In Powell CL and Bagyaraj DJ (eds.), VA mycorrhiza, 187-203. Florida : CRC Press.
- Menge JA, Lembright H & Johnson ELV. 1977. Utilization of mycorrhizal fungi in citrus nurseries. Proceeding of International Society of Citric 1: 129-132.
- Mikola P. 1973. Application of mycorrhizal symbiosis in forestry practice. In GC Mark and TT Kozlowski (eds.), Ectomycorrhizae: Their Ecology and Physiology, Pp. 383-411. New York, Academic press.
- Miller OK. 1982. Taxonomy of ecto – and ectendomycorrhizal fungi. In NC Schenck (ed.), Method and Principles of Mycorrhizal research, pp.91-101. St. Paul Minnesota, American Phytopathological Society Publication.
- Miller OK & Miller SL. 1988. Gasteromycetes. Eureka: Mad River Press.
- Molina R. 1979. Ectomycorrhizal inoculation of containerized Douglas-fir and Lodgepole pine seedlings with six isolates of *Pisolithus tinctorius*. Forest Sciences. 25: 585-590.
- Molina R & Palmer JG. 1982. Isolation, maintenance and pure culture manipulation of ectomycorrhizal fungi. In NC Schenck (ed.), Method and Principles of Mycorrhizal research, Pp. 115-29. St. Paul, Minnesota. The American phytopathological Society publication.
- Momoh ZO & Gbadegesin RA. 1980. Field performance of *Pisolithus tinctorius* as a mycorrhizal fungus of pine in Nigeria. In P Mikola (ed.) Tropical Mycorrhiza Research, pp. 73-79. New York; Oxford University Press.
- Morgan AP. 1889. North American Fungi: The Gasteromycetes. Journal Cincinnati Society Natural History. 12: 8- 22.
- Morton JB. 1990. Evolutionary relationships among arbuscular mycorrhizal fungi in the Endogonaceae. Mycologia. 82: 192-207.
- Mugnier J & Mosse B. 1987. Spore germination and viability of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus moseae*. Transaction of British mycological society. 88:411-413.
- Mosse B, Stribley DP & Letacon F. 1981. Ecology of mycorrhizae. Advance in Microbial Ecology. 5: 137-210.
- Munyanziza. 2004. Domestication of mushrooms from the miombo woodlnads: current status and crucial issues for agroforestry. FAO.

N

- Nopamornbodi O. 1995. Effect of mycorrhizae on plant growth and soil fertility. In International Training Course on Soil Management Technique “Fertility Improvement” March 6- May 31, ADRC and JICAS, ADRC Khonkaen, Thailand.
- Nouhra ER & De Toledo LD. 1998. The first record of *Astraeus hygrometricus* from Argentina. Mycologist. 12: 112-113.

P

- Palm ME & Stewart EL. 1984. In vitro synthesis of mycorrhizae between presumed specific and nonspecific *Pinus+Suillus* combinations. Mycologia, 76, 579-600.

- Pescua CM & Milagrosa SP. 1989. Mycorrhizas as biological control agent of some pathogens on white potato. Philippine Journal of Crop Science. 14: 35-37.
- Phelps JW. 1973. Microfungi in two Wisconsin sand blows. Transaction of the British Mycological Society. 61: 386-390.
- Phillips JM & Hayman DS. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transaction of British Mycological society. 55 (1): 158-161.
- Phosri C, Watling R, Martin MP & Whalley AJS. 2004. The genus *Astraeus* in Thailand. Mycotaxon. 89: 453-463.
- Phosri C, Martin MP, Watling R, Sihanonth P, & Whalley AJS & Watling R. 2007. Molecular study of the genus *Astraeus*. Mycological Research. 111 (3): 275-286.

R

- Redecker D, Kodner R & Graham LE. 2000. Glomalean fungi from the Ordovician. Science 289: 1920-1921.
- Reddy MS, Singla S, Natarajan K & Senthilarasu G. 2005. *Pisolithus indicus*, a new species of ectomycorrhizal fungus associated with Dipetocarps in India. Mycologia. 97: 838-843.
- Redhead SA. & Watling R. 1979. A new psammophilic *Leccinum*. Canadian Journal of Botany. 57: 117-119.
- Rice M & Beebe D. 1980. Mushrooms for color. California, Eureka Printing Company, Inc. 153 p.
- Richter DL. 1992. Six species of *Scleroderma* (Gasteromycetes, Sclerodermatales) described from pure cultures. Mycotaxon. 55: 461-571.
- Richter DL & Bruhn JN. 1986. Pure culture synthesis of *Pinus resinosa* ectomycorrhizae with *Scleroderma aurantium*. Mycologia. 78: 139- 142.
- Richter DL & Bruhn JN. 1989. Field survival of containerized red and jack pine seedlings inoculated with mycelial slurries of ectomycorrhizal fungi. New Forests. 3: 247-258.
- Riffle JW. 1973. Pure culture synthesis of ectomycorrhizae on *Pinus ponderosa* with species of *Amanita*, *Suillus*, and *Lactarius*. Forest Sciences. 19: 242-250.
- Rousseau JVD, Sylvia DM & Fox AJ. 1994. Contribution of ectomycorrhiza to the potential nutrient – absorbing surface of pine. New Phytologist. 128: 639-644.

S

- Sanchez-Gallen I, Javier F. & Alvarez-Sanchez F. 1998. Effect of AM fungi on growth and survivorship of tree seedlings under differential conditions of light and nutrients availability in a tropical lowland rain forest in Mexico. The Second Internatoinal Conference on Mycorrhizae, July 5-10. Sweden.
- Schenck NC & Perez N. 1987. Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi. University of Florida, Gainesville, Florida, U.S.A.
- Schenck NC & Schroder VN. 1974. Temperature response of Endogone mycorrhiza on soybean roots. Mycologia. 66: 605.
- Scheromm P, Plassard C & Saldac L. 1990. Effect of nitrate and ammonium nutrition on the metabolism of the ectomycorrhizal basidiomycete, *Hebeloma cylindrosporum* Romagn. New Phytologist. 114:227-234.
- Schubler A, Schwarzott D & Walker C. 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. Mycological Research. 105:1413-1421.

- Sharma MP & Adholeya A. 2000. Response of *Eucalyptus tereticornis* to inoculation with indigenous AM fungi in a semiarid alfisol achieved with different concentrations of available soil P. Microbiology Research. 154(4): 394-354.
- Sims K, Sen R, Watling R. & Jeffries P. 1999. Species and population structures of *Pisolithus* and *Scleroderma* identified by combined phynotypic and genomic marker analysis. Mycological Research. 103: 449-458.
- Sims K, Watling R. & Jeffries P. 1995. A revised key to the genus *Scleroderma*. Mycotaxon, 56: 403-420.
- Sinclair WA, Sylvia DM & Larsen AO. 1982. Disease suppression and growth promotion in Douglas-fir seedlings by the ectomycorrhizal fungus *Laccaria laccata*. Forest Sciences. 28(2): 191-201.
- Siqueira J, Saggin-Junior OJ, Flores-Aylas WW & Guimaraes PTG. 1998. Arbuscular mycorrhizal inoculation and superphosphate application influence plant development and yield of coffee in Brazil. Mycorrhiza. 7: 293-300.
- Skinner MF & Bowen GD. 1974. The uptake and translocation of phosphate by mycelial strands of pine mycorrhizas. Soil Biology & Biochemistry. 6: 57-81.
- Soderstrom B. 1993. The ecological potential of the ectomycorrhizal mycelium. In DJ. Read, AH Fitter, DH Leis and IJ Alexander (eds.), Mycorrhizas in ecosystem, pp. 77-83. UK, Cab international.
- Straatsma G, Van Griensven LJLD & Bruinsma J. 1986. Root influence on in vitro growth of hyphae of the mycorrhizal mushroom *Cantharellus cibarius* replaced by carbon dioxide. Physiology Plant. 67: 521-528.
- Sugavanam V, Udaiyan K & Manian S. 1994. Effect of fungicides on vesicular- arbuscular mycorrhizal infection and nodulation in groundnut (*Arachis hypogaea* L.). Agriculture, Ecosystem & Environment. 43(3): 285-293.

T

- Thapar HS. 1988. Nutritional studies on ectomycorrhizal fungi of Chir pine in culture. In A. Mahadevan, N. Raman and K. Natarajan.(eds.), Mycorrhizae for Green Asia. 1st Asian Conference on Mycorrhizae, Jan.29-31,Pp179-183, Madras, India, 1988.
- Torstensson L & Wessen B.1984. Interaction between the fungicide benomyl and soil microorganisms. Soil Biology & Biochemistry. 16(5): 445-452.
- Trappe JM. 1962. Fungus associates of ectotrophic mycorrhizae. Botanical review: 28: 538-608.
- Trappe JM. 1967. Pure culture synthesis of Douglas-fir mycorrhizae with species of *Hebeloma*, *Suillus*, *Rhizopogon*, and *Astraeus*. Forest Sciences. 13: 121-130.
- Trappe JM. 1977. Selection of fungi for ectomycorrhizal inoculation in nurseries. Annual Review of Phytopathologist. 15: 203-222.

V

- Varma A & Schuepp H. 1995. Mycorrhization of the commercially important micropagated plants.Critical Reviews in Biotechnology. 15 (3-4); 313-328.
- Venaedikian N, Chiocchio V, Martinez A, Menendez A, Ocampo JA & Godeas A. 1999. Influence of the fungicides carbendazim and growth of soybean plants. Agrochimical. 43(3-4): 105-109.
- Vogt KA & Edmonds RL.1980. Pattern of nutrient concentration in basidiocarps in Western Washington. Canadian Journal of Botany. 58: 694-698.

W

- Walsh R. 1996. Seeking the truffle. Natural history, 1.
- Warnock JH, Fitter AH & Asher MB. 1982. The Influence of a springtail, *Folsomia canndida* (insecta Collembola) on the mycorrhizal association of leek, *Allium porrum* and the vesicular – arbuscular endophyte, *Glomus fasciculatus*. New phytologist. 90: 283-292.
- White JA & Brown MF. 1979. Ultrastructure and X-ray analysis of phosphorus grannules in a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. Canadian Journal of Botany. 57: 2812-2818.
- Willenborg A, Schmitz D, & Lelly J. 1990. Effect of environment stress factors on ectomycorrhizal fungi in vitro. Canadian Journal of Botany. 68: 1741-1746.
- Williamson B & Alexander I. 1975. Acid phosphatases localized in the sheath of beech mycorrhiza. Soil Biology & Biochemistry. 7: 195-198.
- Wilson GWT, Hartnett DC. 1997. Effects of mycorrhizae on plants growth and dynamics in experimental tallgrass prairie microcosms. American Journal of Botany. 84: 478-482.
- Wong KKY & Fortin JA. 1989. A Petri dish technique for the aseptic synthesis of ectomycorrhizae. Canadian Journal of Botany. 67: 1713-1716.

Y

- Yang CS & Wilcox HE. 1984. Technique for observation of mycorrhizal development under monoxenic conditions. Canadian Journal of Botany. 62: 251-254.
- Yun W & Hall IR. 1988. Matsutake-a prized edible mushroom in Japan. In The 2nd International Conference on Mycorrhiza: Uppsala, Sweden.

Z

- Zak B. 1973. Classification of ectomycorrhizae. In GC Marks and TT Kozlowski (eds.), Ectomycorrhizal : Their Ecology and Physiology, pp. 43-78. New York, Academic press.

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1. องค์ประกอบและชนิดของอาหารเลี้ยงราเอคโตไมโครรีเช่

องค์ประกอบ	ชนิดอาหารและปริมาณขององค์ประกอบต่าง ๆ				
	MMN	PACH	FDA	Gamborg	Fries
Mineral nutrients (mg/L)					
(NH ₄) ₂ HPO ₄	250				
NH ₄ Cl		500			
(NH ₄) ₂ SO ₄				1652	
C ₄ H ₁₂ N ₂ O ₆		500			1000
KH ₂ PO ₄	500	1000	500	163	200
MgSO ₄ .7H ₂ O	150	500	500	246	100
CaCl ₂ 2H ₂ O	50	50		147	26
NaCl	25				20
FeEDTA	20	20			
FeSO ₄ .7H ₂ O				28	1
H ₃ BO ₃		2.8		3.1	
MnCl ₂ .2H ₂ O		3.0			
MnSO ₄ .4H ₂ O				10.1	0.81
ZnSO ₄ .7H ₂ O		2.3		2.0	0.88
CuCl ₂ .2H ₂ O		0.63			
CuSO ₄				3.0	
Na ₂ Mo ₄ .2H ₂ O		0.27		2.0	
CoCl ₂ .6H ₂ O				0.025	
Carbohydrate source (g/L)					
Maltose		5			
Glucose	10	20	20		4
Matl extract	3		5		1
Dextrose				5	
Vitamins (μg/L)					
Thiamine HCl	0.1	0.1		(ดูในตารางผนวกที่ 2)	
ความเป็นกรด-ด่าง					
ปรับเป็น	5.8	5.4	5.0	5.5	5.5

ตารางผนวกที่ 2. ชนิดของวิตามินและสารอาหารเสริมบางประเภทที่ใช้ในอาหารเลี้ยงราอีคโตไมครอร์เรชาต่างๆ

ชนิด	ปริมาณที่ใช้ในอาหารต่างๆ (mg/L)			
	Fries (1978)	Gamborg (et al. 1968)	Molina & Palmer (1982)	Ohta (1990)
Thiamine HCl	0.1	10.0	0.5	3.0
Pyridoxine HCl	0.1	1.0		0.05
Riboflavin	0.1			
Biotin	0.025		0.01	0.05
Nicotinic acid	0.1	1.0		0.05
Folic Acid				0.03
p- Amino benzoic acid	0.1			
Panthonic acid	0.1			
Myoinositol	10.0			
Carnitine chloride				0.01
Adenine H ₂ SO ₄ 2H ₂ O				0.03
Choline Chloride				0.03

ตารางผนวกที่ 3. ชนิดของยาปฏิชีวนะและสารฟ้อเซอร์บองประเภทที่ใช้ในอาหารเลี้ยง
ราเอยค์โตไมโครรีซ่าต่างๆ

ชนิด	ปริมาณที่ใช้ในอาหาร	ชนิดของจุลินทรีย์ที่ ยับยั้ง
	ต่ำสูง (mg/L)	
Streptomycin	0.133-10	Bacteria
Chlortetramycin	10-30	Bacteria
Colistin sulphate	10	Bacteria
Trimethoprim	10	Bacteria
Benomyl	1	Ascomycete fungi

สูตรปุ๋ย

NH_4NO_3	15 กรัม/น้ำ 500 มิลลิลิตร ใช้ 1 มิลลิลิตร/น้ำ 1 ลิตร ได้อร่าตุ N 10.5 ppm
Na_2HPO_4	11.5 กรัม/น้ำ 250 มิลลิลิตร ใช้ 1 มิลลิลิตร/น้ำ 1 ลิตร ได้อร่าตุ P 10.0 ppm
KCl	4.5 กรัม/น้ำ 250 มิลลิลิตร ใช้ 1 มิลลิลิตร/น้ำ 1 ลิตร ได้อร่าตุ K 9.4 ppm
CaCl_2	7 กรัม/น้ำ 250 มิลลิลิตร ใช้ 1 มิลลิลิตร/น้ำ 1 ลิตร ได้อร่าตุ Ca 10.1 ppm
MgSO_4	24 กรัม/น้ำ 400 มิลลิลิตร ใช้ 1 มิลลิลิตร/น้ำ 1 ลิตร ได้อร่าตุ Mg 40 ppm
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	25 มิลลิกรัม/น้ำ 100 มิลลิลิตร ทำ dilution 10^{-2} ใช้ 1 มิลลิลิตร/น้ำ 1 ลิตร ได้อร่าตุ Mo 0.001 ppm
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	15 มิลลิกรัม/น้ำ 100 มิลลิลิตร ทำ dilution 10^{-1} ใช้ 1 มิลลิลิตร/น้ำ 1 ลิตร ได้อร่าตุ Cu 0.006 ppm
H_3BO_3	64 มิลลิกรัม/น้ำ 100 มิลลิลิตร ใช้ 1 มิลลิลิตร/น้ำ 1 ลิตร
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	44 มิลลิกรัม/น้ำ 100 มิลลิลิตร ใช้ 1 มิลลิลิตร/น้ำ 1 ลิตร ได้อร่าตุ Zn 0.1 ppm
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.25 กรัม/น้ำ 100 มิลลิลิตร ใช้ 1 มิลลิลิตร/น้ำ 1 ลิตร ได้อร่าตุ Mn 0.7 ppm