

นิพนธ์ต้นฉบับ

ผลของวัสดุปลูกและอุณหภูมิในการเก็บรักษาสปอร์เห็ดเผาะหนัง
(*Astraeus odoratus*) ต่อการเติบโตและการเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซา
ของกล้าไม้ยางนา (*Dipterocarpus alatus*)

Effect of Planting Material and Spore Preservation Temperature
of *Astraeus odoratus* on the Growth and Ectomycorrhizal Root
Formation in *Dipterocarpus alatus* seedlings

ฐาปนา ฉาบไธสง¹Thapana Chabthaisong¹ธารรัตน์ แก้วกระจ่าง^{1*}Tharnrat Kaewgrajang^{1*}¹ภาควิชาชีววิทยาป่าไม้ คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900¹Forest Biology Department, Faculty of Forestry, Kasetsart University, Bangkok 10900

*Corresponding Author; E-mail: ffortrk@ku.ac.th

รับต้นฉบับ 2 มิถุนายน 2564

รับแก้ไข 15 กรกฎาคม 2564

รับลงพิมพ์ 21 กรกฎาคม 2564

ABSTRACT

The objectives of this study were to study the effect of planting materials and temperature on the preservation of *Astraeus odoratus* spores and their ability to grow and form ectomycorrhizal (ECM) root in *Dipterocarpus alatus* seedlings. Two formulae of planting materials included Formula 1 consisting of vermiculite + peat moss (8:2); and Formula 2 consisting of soil + granules black rice husk + coconut husk (1:1:1), were used in the experiment. The result indicated that seedlings inoculated with Formula 1 formed ECM colonization at a rate of 42.09%, which was not observed with Formula 2. Moreover, a relative growth rate of height was observed which was significantly higher than that in seedlings inoculated with Formula 2. To study the effect of temperature on preservation of *A. odoratus* spores, we preserved the spores for two years under three different temperatures including room temperature, 4 °C, and -20 °C. The result indicated that a 2-year-old preserved spore can be used as an ECM inoculum. The appropriate temperature for preservation spore was -20 °C. In addition, the inoculated seedlings with spores preserved at -20 °C showed a significantly higher ECM colonization rate (61.04%) than the inoculated seedlings with spores preserved at room temperature (22.51%).

Keywords: Relative growth rate, Mycorrhiza, Dipterocarpaceae, Spore suspension

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของวัสดุปลูกและอุณหภูมิต่อการเก็บรักษาสปอร์เห็ดเผาะหนึ่ง และความสามารถต่อการเติบโตและการเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซาของกล้าไม้ยางนา โดยทำการทดสอบวัสดุปลูก 2 สูตร คือ สูตรที่ 1 เวอร์มิคิวไลต์ + พีทมอสส์ (8:2) และ สูตรที่ 2 ดิน + แกลบดำ + ขุยมะพร้าว (1:1:1) ผลการศึกษาพบว่ากล้าไม้ที่ปลูกในวัสดุปลูกสูตรที่ 1 มีอัตราการเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซา 42.09 เปอร์เซ็นต์ และมีการเติบโตสัมพันธ์ทางด้านความสูงมากกว่ากล้าไม้ที่ปลูกด้วยวัสดุปลูกสูตรที่ 2 ที่ไม่มีการเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซา สำหรับการทดสอบผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาสปอร์เห็ดเผาะหนึ่งเป็นเวลานาน 2 ปี ด้วยอุณหภูมิที่ต่างกัน 3 ระดับ ได้แก่ อุณหภูมิห้อง 4 องศาเซลเซียส และ -20 องศาเซลเซียสในการปลูกเชื้อ ผลการศึกษาพบว่าสปอร์เห็ดเผาะหนึ่งที่เก็บรักษาไว้นาน 2 ปี สามารถทำให้กล้าไม้เกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซาได้ โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษาสปอร์เห็ดเผาะหนึ่ง คือ -20 องศาเซลเซียส ซึ่งพบว่ากล้าไม้ที่ปลูกด้วยสปอร์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ส่งผลให้อัตราการเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซาสูงกว่า (61.04 เปอร์เซ็นต์) กล้าไม้ที่ปลูกด้วยสปอร์ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง (22.51 เปอร์เซ็นต์)

คำสำคัญ: การเติบโตสัมพันธ์ ไมคอร์ไรซา ไม้วงศ์ยาง สปอร์แฉวนลอย

คำนำ

เอคโตไมคอร์ไรซา (ectomycorrhiza) คือ ความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยกัน (mutualism symbiosis) ระหว่างเชื้อรากับรากของพืชชั้นสูง (higher plant) โดยเชื้อราจะได้รับอาหารที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยแสงจากพืช ในทางกลับกันเชื้อรายังช่วยให้พืชมีการเติบโตเพิ่มขึ้น เพิ่มความทนทานของพืชในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม รวมไปถึงป้องกันรากพืชจากจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคพืชอีกด้วย (Smith and Read, 2010) เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม เชื้อราจะมีการสร้างดอกเห็ด ซึ่งเห็ดเอคโตไมคอร์ไรซาหลายชนิดสามารถรับประทานได้ Sangwanit *et al.* (2013) รายงานว่ามากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ของเห็ดที่รับประทานได้ในประเทศไทยนั้นเป็นเห็ดเอคโตไมคอร์ไรซา อาทิ สกุลเห็ดตระโงก (*Amanita* spp.) สกุลเห็ดหล่ม (*Russula* spp.) สกุลเห็ดมันปู (*Cantharellus* spp.) สกุลเห็ดเผาะ

(*Astraeus* spp.) เป็นต้น ในปัจจุบันประเทศไทยพบเห็ดเอคโตไมคอร์ไรซาส่วนใหญ่มีความสัมพันธ์กับไม้ยืนต้น ได้แก่ ไม้วงศ์ก่อ (Fagaceae) ไม้วงศ์ยาง (Dipterocarpaceae) ไม้วงศ์ชมพู่ (Myrtaceae) ไม้วงศ์ถั่ว (Fabaceae) และไม้วงศ์สน (Pinaceae) เป็นต้น (Chalermpongse and Boonthavikoon, 1981, 1982; Dokmai *et al.*, 2015; Yuwa-Amornpitak *et al.*, 2006) รวมถึงมีการรายงานถึงเห็ดทรัฟเฟิล (*Tuber thailandicum*) ที่พบอยู่ร่วมกับไม้วงศ์กำลังเสือโคร่ง (Butulaceae) ในประเทศไทยครั้งแรกอีกด้วย (Suwannarach *et al.*, 2015) ยางนา (*Dipterocarpus alatus*) เป็นไม้ยืนต้นในวงศ์ยางที่มีความแข็งแรงทางด้านเนื้อไม้ส่งผลให้เป็นชนิดไม้ที่ได้รับการส่งเสริมให้มีการปลูกเป็นไม้เศรษฐกิจที่สร้างมูลค่าได้ จากรายงานที่ผ่านมาพบว่ายางนามีความสัมพันธ์กับเห็ดเผาะหนึ่ง (*Astraeus odoratus*) แบบเอคโตไมคอร์ไรซา

นอกจากนี้เห็ดเผาะหนังยังเป็นเห็ดที่มีศักยภาพในการผลิตเป็นหัวเชื้อเพื่อนำมาผลิตกล้าไม้วางศ์ยางให้มีราเอคโต-ไมคอร์ไรซาที่ราก (Sangtjean and Sangwanit, 1994; Klinton, 2010; Kaewgrajang *et al.*, 2013, 2015) สำหรับในประเทศไทยมีการรายงานพบเห็ดเผาะ (*Astraeus* spp.) 3 ชนิด ได้แก่ เห็ดเผาะหนัง (*Astraeus odoratus*) เห็ดเผาะฝ้าย (*Astraeus asiaticus*) (Phosri *et al.*, 2004) และเห็ดเผาะสิรินธร (*Astraeus sirindhorniae*) (Phosri *et al.*, 2014) โดยเห็ดเผาะทั้ง 3 ชนิดนี้สามารถรับประทานได้ แต่เนื่องจากจากเห็ดเผาะฝ้ายมีผนังชั้นนอกมีลักษณะเป็นปุยฝ้าย และเห็ดเผาะหนังสิรินธรมีผนังชั้นนอกที่หนา ทำให้คนนิยมรับประทานเห็ดเผาะหนังมากกว่าเห็ดเผาะชนิดอื่นๆ ส่งผลให้เห็ดเผาะหนังมีมูลค่าสูง นำไปสู่การส่งเสริมให้มีการปลูกเชื้อเห็ดเผาะหนังร่วมกับต้นกล้าไม้วางศ์ยางกันอย่างแพร่หลาย

เทคนิคในการปลูกเชื้อเอคโตไมคอร์ไรซาให้กับกล้าไม้นั้นมีหลายวิธี แต่วิธีที่สามารถระบุชนิดของเห็ดเอคโตไมคอร์ไรซาที่จะเข้าไปอาศัยในรากของกล้าได้นั้นมี 2 วิธี คือ การใช้สปอร์ และการใช้เส้นใยบริสุทธิ์ ซึ่งการใช้เส้นใยบริสุทธิ์นั้นยังมีข้อจำกัด คือเห็ดเอคโตไมคอร์ไรซาบางชนิดเท่านั้นที่สามารถเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ และกระบวนการในการเพาะเลี้ยงเส้นใยบริสุทธิ์นั้นมีความซับซ้อน ยากแก่การนำไปปฏิบัติ (Brundrett *et al.*, 1996) จากการศึกษาของ Kaewgrajang *et al.* (2013) ซึ่งพบว่า การปลูกเชื้อด้วยสปอร์แขวนลอยและสารเส้นใยบริสุทธิ์แขวนลอยของเห็ดเผาะหนังนั้น ทำให้กล้าไม้อย่างมีการเติบโตไม่แตกต่างกัน ดังนั้นการปลูกเชื้อโดยใช้สปอร์แขวนลอยจึงเป็นวิธีที่นิยมเลือกใช้ในการผลิตกล้าไม้วางศ์ยาง แม้ว่าการใช้สปอร์เป็นวิธีการที่ง่าย แต่มีข้อจำกัดที่สามารถทำได้เฉพาะในฤดูฝน ซึ่งเป็นช่วงที่

เห็ดออกเท่านั้น ดังนั้นหากต้องการผลิตกล้าไม้ที่มีราของเห็ดเอคโตไมคอร์ไรซาที่รากโดยใช้สปอร์เป็นหัวเชื้อในช่วงฤดูแล้ง หรือนอกฤดูกาลที่เห็ดออกจำเป็นต้องนำสปอร์มาเก็บรักษาไว้สำหรับใช้ในเวลาที่ต้องการ ปัจจุบันมีการศึกษาเกี่ยวกับการงอกและการพักตัวของสปอร์ของราเอคโตไมคอร์ไรซาน้อยมาก (Nara, 2009) ดังนั้น การศึกษาเกี่ยวกับการใช้อุณหภูมิที่แตกต่างกันในการเก็บรักษาสปอร์ ตลอดจนการเลือกใช้วัสดุปลูกที่มีความเหมาะสมในการเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซา โดยจะเห็นได้ว่าปัจจุบันมีเกษตรกรทำการเพาะกล้าไม้วางศ์ยางร่วมกับราเอคโตไมคอร์ไรซาอย่างแพร่หลาย มีทั้งใช้วัสดุทั่วไปที่หาซื้อได้ง่าย ตลอดจนการไปขุดหน้าดินมาทำเป็นวัสดุเพาะกล้าไม้ซึ่งปัจจุบันยังไม่ทราบแน่ชัดว่าคุณสมบัติของธาตุอาหารในวัสดุปลูกแบบใด จะมีความเหมาะสมในการนำมาเพาะกล้าไม้อย่างนาให้มีราเอคโตไมคอร์ไรซาอยู่ที่ราก จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจและจำเป็นต้องมีการศึกษาการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของวัสดุปลูกและอุณหภูมิในการเก็บรักษาสปอร์เห็ดเผาะหนังและความสามารถต่อการเติบโตและการเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซาของยางนา โดยผลจากการศึกษาจะสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการผลิตหัวเชื้อเห็ดเผาะหนังและกล้าไม้อย่างนาให้มีราเอคโตไมคอร์ไรซาที่รากอย่างมีคุณภาพต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมเมล็ดยางนา

นำเมล็ดยางนาที่แก่เต็มที่มาตัดปีกออกจากนั้นนำไปล้างด้วยน้ำเปล่า 3 ครั้ง หลังจากนั้นแช่เมล็ดเป็นเวลา 1 คืน นำไปใส่ในกระสอบป่าน รดน้ำทุกวันจนกว่าเมล็ดยางนางอก ซึ่งใช้เวลาประมาณ 10-14 วัน รากจะมีความยาวประมาณ 1 นิ้ว

การเตรียมสปอร์แขวนลอย

นำเห็ดเผาะหนึ่งมาฉีกผนังชั้นนอกของเห็ดออก นำสปอร์มาร่อนบนตะแกรงลวด เมื่อได้ผงสปอร์แล้วนำมาผสมน้ำในอัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เติมน้ำยาล้างจาน (teepol) 2-3 หยดเพื่อลดแรงตึงผิวของน้ำ จากนั้นนำผงสปอร์ที่แขวนลอยในน้ำใส่ลงในเครื่องปั่นน้ำผลไม้ ปั่นนาน 1-2 วินาที หาความหนาแน่นของสปอร์โดยการนับสปอร์ด้วย Hemocytometer ปรับความเข้มข้นของสปอร์แขวนลอยให้ได้เท่ากับ 1×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

การศึกษาผลของวัสดุปลูกต่อการเติบโตและการเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซา

ในเดือนมีนาคมปี พ.ศ. 2563 ทำการทดสอบผลของวัสดุปลูก 2 สูตร ได้แก่ สูตรที่ 1 (VI) เวอร์มิคิวไลต์ (vermiculite) 8 ส่วนกับพีตมอสส์ (peat moss) 2 ส่วน โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และสูตรที่ 2 (SI) ดินยี่ห้อ TOPTEN 1 ส่วน แกลบดำ 1 ส่วน และขุยมะพร้าว 1 ส่วน โดยน้ำหนักต่อปริมาตร นำเมล็ดยางนาที่งอกรากในข้อ 1 ปลูกในวัสดุปลูกทั้ง 2 สูตร เพาะกล้าไม้เป็นระยะเวลา 1 เดือนเมื่อครบ 1 เดือน (เมษายน) คัดเลือกกล้าไม้ให้มีขนาดใกล้เคียงกัน มาวัสดุปลูกสูตรละ 10 ต้น รวมกล้าไม้ที่ใช้ในการศึกษาทั้งหมด 20 ต้น ในการทดลองนี้ได้นำดอกเห็ดเผาะหนังที่เก็บจากบริเวณป่าเต็งรัง อ.เมือง จ.สุโขทัย ในช่วงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2562 มาใช้เป็นหัวเชื้อ โดยการเตรียมสปอร์แขวนลอยปฏิบัติตามข้อ 2 หลังจากนั้นปลูกเชื้อเห็ดเผาะหนังด้วยสารแขวนลอยสปอร์ปริมาณ 10 มิลลิลิตร/ต้น ทำการวัดความสูงและเส้นผ่านศูนย์กลางที่คอรากทันที ควบคุมการให้น้ำกล้าไม้ 25 มิลลิลิตร/ต้น และแสงภายใต้สภาพแวดล้อมเดียวกัน วัดข้อมูลอีกครั้งเมื่อกล้าไม้มีอายุครบ 6 เดือน

ในเดือนตุลาคมปี พ.ศ. 2563 เมื่อสิ้นสุดการทดลองได้ทำการคำนวณหาค่าการเติบโตสัมพัทธ์ (relative growth rate) ทั้งทางด้านความสูงและเส้นผ่านศูนย์กลางที่คอราก โดยคำนวณตามสมการ

$$\text{การเติบโตสัมพัทธ์} = \ln(T1) - \ln(T0) / \text{เวลา (เดือน)}$$

โดย \ln = natural log,

T1 = ค่าเมื่อสิ้นสุดการทดลอง และ T0 เป็นค่าเมื่อเริ่มต้นทดลอง

และทำการสุ่มกล้าไม้จำนวนทริตเมนต์ละ 3 ต้น เพื่อตรวจหาเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซาตามวิธีการของ Brundrett *et al.* (1996) นำข้อมูลทั้งหมดไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้ t-test ด้วยโปรแกรม R นอกจากนี้ได้สุ่มเก็บตัวอย่างวัสดุปลูกทั้งสองสูตร ปริมาณสูตรละ 100 กรัม ส่งไปวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหาร ความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณอินทรีย์วัตถุ (organic matter) ที่ห้องปฏิบัติการปฐพีวิทยา ภาควิชาวนวัฒนวิทยา คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การศึกษาผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาสปอร์เห็ดเผาะหนังต่อการเติบโตและการเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซา

เห็ดเผาะหนังที่ใช้ในการศึกษาเก็บจากบริเวณป่าเต็งรัง อ.เมือง จ.สุโขทัย ในปี พ.ศ. 2561 นำดอกเห็ดมาเก็บรักษาเป็นระยะเวลานาน 2 ปี ด้วยอุณหภูมิที่แตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 1) อุณหภูมิห้อง 2) 4 องศาเซลเซียส และ 3) -20 องศาเซลเซียส จากนั้นนำดอกเห็ดที่เก็บรักษาด้วยวิธีการดังกล่าวมาใช้เป็นหัวเชื้อ โดยเตรียมสปอร์แขวนลอยตามข้อ 2 แล้วนำสปอร์แขวนลอยที่ได้ไปปลูกเชื้อให้กับกล้าไม้ยางนาอายุ 1 เดือน ที่ปลูกในเดือน

มีนาคม ปี พ.ศ. 2563 ในวัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของ เวอร์มิคิวไลต์กับพีทมอสส์ ในอัตราส่วน 8:2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปลูกเชื้อทริตเมนต์ละ 10 ซีซี รวมทั้งสิ้นใช้กล้าไม้จำนวน 30 ต้น วัดความสูงและเส้นผ่านศูนย์กลางที่คอรากครั้งแรกเมื่อปลูกเชื้อให้กับกล้าไม้ ทำการควบคุมการให้น้ำกล้าไม้ 25 มิลลิลิตร/ต้น และแสงภายใต้สภาพแวดล้อมเดียวกัน วัดข้อมูลอีกครั้งเมื่อกล้าไม้มีอายุครบ 6 เดือน ในเดือนตุลาคมปี พ.ศ. 2563 เมื่อสิ้นสุดการทดลองได้ทำการคำนวณหาค่าการเติบโตสัมพัทธ์ (relative growth rate) ทั้งทางด้านความสูงและเส้นผ่านศูนย์กลางที่คอราก โดยคำนวณตามสมการที่กล่าวมาข้างต้น อีกทั้งได้ทำการสุ่มกล้าไม้ทริตเมนต์ละ 3 ต้น เพื่อตรวจหาเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซาตามวิธีการของ Brundrett *et al.* (1996) นำข้อมูลการเติบโตสัมพัทธ์ด้านความสูง การเติบโตสัมพัทธ์ด้านเส้นผ่านศูนย์กลางที่คอราก และเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเอคโต

ไมคอร์ไรซาไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติด้วย One-Way ANOVA แล้วเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ LSD' test ด้วยโปรแกรม R

ผลและวิจารณ์ผล

ผลของวัสดุปลูกต่อการเติบโตและการเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซา

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติผลการเติบโตสัมพัทธ์ของกล้าไม้ที่ปลูกในวัสดุปลูกทั้งสองสูตรด้วย t-test พบว่ากล้าไม้อย่างหน้าที่ปลูกในวัสดุปลูกต่างกันมีการเติบโตสัมพัทธ์ทางด้านเส้นผ่านศูนย์กลางที่คอรากแตกต่างกันอย่างไม่นัยสำคัญทางสถิติ (Table 1) แต่มีการเติบโตสัมพัทธ์ทางด้านความสูงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 1) โดยพบว่าวัสดุปลูกสูตรที่ 1 (เวอร์มิคิวไลต์ + พีทมอสส์, VI) กล้าไม้มีการเติบโตสัมพัทธ์ทางด้านความสูงมากกว่าต้นกล้าที่ปลูกในวัสดุปลูกสูตรที่ 2 (ดิน + แกลบดำ + ขุยมะพร้าว, SI)

Table 1 Relative growth rate of diameter at root collar and height of inoculated *Dipterocarpus alatus* seedlings with spore suspension of *Astraeus odoratus*.

Treatments	Relative growth rate of diameter at root collar \pm SD (mm/mm/month)	Relative growth rate of height \pm SD (cm/cm/month)
VI	0.102 ^a \pm 0.016	0.086 ^a \pm 0.021
SI	0.093 ^a \pm 0.025	0.068 ^b \pm 0.014
	t=0.937, P=0.361	t=2.351, P=0.030

Remark: SI = soil + granules black rice husk + coconut husk, VI = vermiculite + peat moss; the same letter in each column indicates a statistically insignificant difference (t-test, n = 20).

จากการสุ่มรากแล้วนำมาตรวจหาเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซาในกล้ายางนา พบว่ากล้ายางนาที่ปลูกในวัสดุปลูกสูตรที่ 1 (VI) มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซา 42.09 ± 4.71 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ไม่พบการเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซาในกล้ายางนาที่ปลูกในวัสดุปลูกสูตรที่ 2 (SI) (Figure 1) ซึ่งจากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรากเอคโตไมคอร์ไรซาของยางนาที่มีเห็ดเผาะหนึ่งอาศัยที่รากมีลักษณะการแตกแขนงเป็นรูปขนนก (monopodial-pinnate) สีครีมถึงสีน้ำตาลอ่อน ผิวแวววาว พบการรวมกลุ่มของเส้นใยรามมีลักษณะยาวเป็นสายคล้ายราก (rhizomorph) และกลุ่มของเส้นใยรามารวมกันเป็นก้อน (sclerotium) สีน้ำตาลเจริญพันธุ์อยู่ทั่วรอบ ๆ รากด้วย ในขณะที่รากที่ไม่มีเอคโตไมคอร์ไรซาที่รากนั้นมีการแตกแขนงน้อย และมีขนาดเล็กกว่า 1-2 เท่า (Figure 2) ซึ่งลักษณะทางสัณฐานวิทยาดังกล่าวนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Kaewgrajang *et al.* (2013)

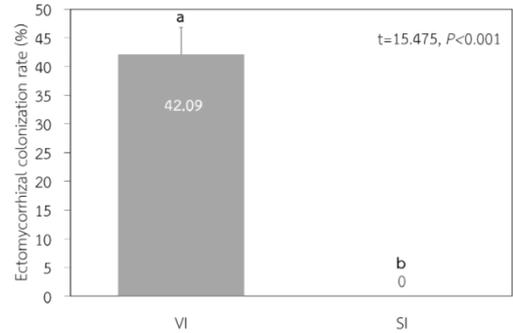


Figure 1 Ectomycorrhizal colonization rate of inoculated *Dipterocarpus alatus* seedlings planted with two different planting materials (VI = vermiculite + peat moss; SI = soil + granules black rice husk + coconut husk). The same letters above the bar indicate a statistically insignificant difference as obtained from the t-test.



Figure 2 *Dipterocarpus alatus* roots. (A), non ectomycorrhizal root; (B), ectomycorrhizal roots associated with *Astraeus odoratus* (S = sclerotium, R = rhizomorph).

ผลการศึกษาพบว่ากล้าไม้ที่ปลูกในวัสดุปลูกสูตรที่ 2 (SI) ไม่มีรากเอคโตไมคอร์ไรซาเกิดขึ้น ทั้งนี้ อาจเป็นไปได้ว่าในวัสดุปลูกที่ 2 มีปริมาณธาตุอาหาร

สูงโดยเฉพาะอย่างยิ่งธาตุฟอสฟอรัส (P) และโพแทสเซียม (K) ดังแสดงใน Table 2 โดยปริมาณธาตุอาหารอาจส่งผลต่อการเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซา

ซึ่งงานวิจัยที่ผ่านมา พบว่าการศึกษเกี่ยวกับปริมาณธาตุอาหารนั้นมีผลในการยับยั้ง หรือลดการเข้าอยู่อาศัยในรากของเชื้อราไมคอร์ไรซา ซึ่งมีการรายงานอย่างแพร่หลายโดยเฉพาะในราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (arbuscular mycorrhiza fungi) เช่น งานวิจัยของ Youpensuk (2006) พบว่าเชื้ออาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในพีชจะเกิดขึ้นได้ดีในสภาพดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ หากมีปริมาณฟอสฟอรัสในดินสูงส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การเกิดรากไมคอร์ไรซาลดน้อยลง นอกจากนี้ Lu and Koide (1994) พบว่าดินที่ใส่ปุ๋ยฟอสฟอรัสสูง ส่งผลให้ความยาวของรากและการเข้าอาศัยของราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาต่ำกว่าดินที่ไม่มีการใส่ปุ๋ยฟอสฟอรัส Beltrano *et al.* (2013) ได้เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดรากของต้นพริก (*Capsicum annum* L.) ที่มีราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (*Glomus intraradices*) ร่วมอยู่ที่ราก เมื่อนำไปปลูกในดินที่มีธาตุฟอสฟอรัส 2 ระดับ คือ 10 และ 40 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของฟอสฟอรัสเท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม กล้าพริกมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากไมคอร์ไรซา(80 เปอร์เซ็นต์) มากกว่า และที่ระดับความเข้มข้นของฟอสฟอรัส 40 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (65 เปอร์เซ็นต์) Poomipan *et al.* (2020) ได้ทำการทดลองความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสในดินต่อประสิทธิภาพของราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา พบว่าราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซามีประสิทธิภาพสูงสุด เมื่ออยู่ในดินที่มีธาตุฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพีช (available phosphorus) เท่ากับ 7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และรองลงมา คือ ดินที่มีฟอสฟอรัสเป็นประโยชน์ต่อพีช 18 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ Lin *et al.* (2020) ได้ทำการศึกษาในภาคสนามในพื้นที่ที่มีการทับถมของไนโตรเจน และได้เติมธาตุฟอสฟอรัสในดินแตกต่างกัน 2 ระดับ คือ 20 และ 40 มิลลิกรัมต่อ

กิโลกรัม โดยพบว่าการเติมฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นส่งผลต่อการสร้างราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในรากพีชของต้น Chinese Fir (*Cunninghamia lanceolata*) อีกทั้งยังทำให้ความหนาแน่นของสปอร์บริเวณรอบ ๆ รากของพีชลดลงร่วมด้วย สำหรับงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับผลของปริมาณธาตุอาหารในดินกับการเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซานั้นมีข้อมูลที่น้อยมาก โดย Clausing *et al.* (2020) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับผลกระทบของการเติมไนโตรเจน (N) และ ฟอสฟอรัส (P) ต่อจุลินทรีย์และสิ่งมีชีวิตภายในดินบริเวณป่าชายหาด ซึ่งผู้ศึกษามีสมมติฐานว่าเมื่อพื้นที่ที่มีความอุดมสมบูรณ์ของธาตุอาหารโดยเฉพาะธาตุอาหารหลัก คือ ไนโตรเจน (N) และฟอสฟอรัส (P) ย่อมส่งผลให้ความหลากหลายของชนิด (species richness) มากไปด้วย โดยพบว่าไม่เกิดกับเห็ดที่เป็นราเอคโตไมคอร์ไรซา จากงานวิจัยดังกล่าวรวมถึงการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าราเอคโตไมคอร์ไรซาของเห็ดเผาะหนึ่งที่ไม่พบในวัสดุปลูกที่ 2 อาจเนื่องมาจากอิทธิพลของธาตุอาหารหลัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งธาตุฟอสฟอรัส (P) ที่มากเกินไปส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเกิดรากของราเอคโตไมคอร์ไรซา ดังนั้นจึงควรศึกษาเพิ่มเติมถึงปริมาณของธาตุอาหารที่มีผลต่อการยับยั้งการเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซา ตลอดจนกลไกในการยับยั้งการเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซาด้วย

จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าวัสดุปลูกสูตรที่ 1 (VI) ที่มีปริมาณธาตุอาหารที่น้อยกว่าวัสดุปลูกสูตรที่ 2 (SI) แต่กล้าไม้ยางนาที่ปลูกในวัสดุปลูกสูตรที่ 1 (VI) ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์รากเอคโตไมคอร์ไรซาเท่ากับ 42.07 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีการเติบโตสัมพันธ์ทางด้านความสูงมากกว่ากล้าไม้ที่ปลูกในวัสดุปลูกที่ 2 แสดงให้เห็นว่าราเอคโตไมคอร์ไรซาที่อยู่ในรากของกล้าไม้ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการดูดธาตุอาหารให้แก่กล้าไม้สอดคล้องกับ Duangkae (2002) ซึ่งรายงานว่ารากเอคโต

ไมคอร์ไรซาช่วยในการเพิ่มความสามารถในการดูดซับน้ำและแร่ธาตุให้แก่ต้นไม้ และการศึกษาของ Kaewgrajang *et al.* (2013) ซึ่งพบว่าเมื่อกล้าไม้ยาง

นามีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซามากขึ้น ส่งผลให้กล้าไม้มีการเติบโตมากยิ่งขึ้นด้วย

Table 2 pH, organic matter, and nutrient concentration of two different planting materials (VI = vermiculite + peat moss, SI = soil + granules black rice husk + coconut husk) .

Plant material	pH	% Om	%Total N	P (mg/kg)	K (mg/kg)	Mg (mg/kg)	Cu (mg/kg)
VI	7.04	18.39	0.275	32.7	103.12	319.7	1.9425
SI	7.2	22.405	0.165	644	1615.3	532.9	2.6775

Remark: pH=Positive potential of the Hydrogen ions, % Om=Precent of organic matter, %Total N= Precent of total Nitrogen, P=available phosphorus, K=Potassium, Mg=Magnesium, and Cu=Copper.

ผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาสปอร์ต่อการเติบโตและการเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซา

จากการปลูกเชื้อเห็ดเพาะหนึ่งด้วยสปอร์แขวนลอย ซึ่งเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน 3 ระดับ ให้กับกล้าไม้ยางนาเป็นเวลานาน 6 เดือน

พบว่าเมื่อนำข้อมูลการเติบโตสัมพัทธ์ของกล้าไม้ยางนาไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติด้วย One-way ANOVA กล้าไม้ยางนามีการเติบโตสัมพัทธ์ทางด้านความสูงและเส้นผ่านศูนย์กลางที่คอรากแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 3)

Table 3 Relative growth rate of diameter at root collar and height of *Dipterocarpus alatus* seedlings inoculated with spore suspension of *Astraeus odoratus* kept under different temperature preservation methods.

Treatments	Relative growth rate of diameter at root collar (mm/mm/month)	Relative growth rate of height (cm/cm/month)
Preservation at room temperature	0.086 ^a ±0.022	0.074 ^a ±0.012
Preservation at 4 °C	0.085 ^a ±0.027	0.072 ^a ±0.022
Preservation at -20 °C	0.087 ^a ±0.020	0.074 ^a ±0.014
	F=0.026, P=0.974	F=0.074, P=0.928

Remark: The same letters in each column indicate insignificant difference (LSD test).

จากการสุ่มรากกล้ายางนาเพื่อตรวจเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซา แล้วนำไป

วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติด้วย One-way ANOVA พบว่ากล้าไม้ยางนาที่ปลูกเชื้อด้วยสปอร์เห็ด

เพาะหน้ที่เก็บรักษาด้วยอุณหภูมิแตกต่างกันนั้น มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซาแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F=15.964$, $P=0.001$) เมื่อนำค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซาแต่ละทรีตเมนต์ไปเปรียบเทียบโดย Least Significant Difference Test พบว่ากล้าไม้ที่ปลูกเชื้อด้วยสปอร์แขวนลอยที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ทำให้เกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซาสูงที่สุด เท่ากับ 61.043 ± 5.050 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซานี้ แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ กับกล้าไม้ที่ปลูกเชื้อด้วยสปอร์แขวนลอยที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ส่วนการเก็บรักษาสปอร์ที่อุณหภูมิห้องทำให้กล้าไม้ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซาน้อยที่สุด เท่ากับ 22.514 ± 15.014 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทรีตเมนต์อื่น (Figure 3)

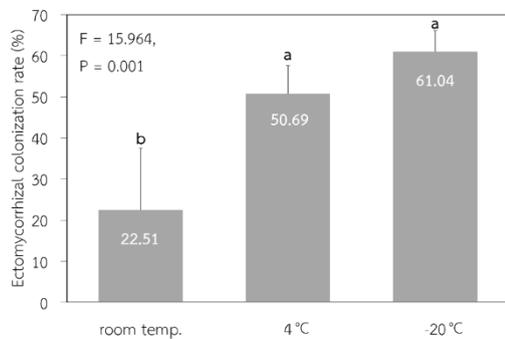


Figure 3 Ectomycorrhizal colonization rate of inoculated *Dipterocarpus alatus* seedlings with different preservation temperatures of *Astraeus odoratus* spores. The same letters on the bars indicate statistically insignificant difference (LSD test).

จากการศึกษาของ Ishida *et al.* (2008) พบว่าสปอร์ของเห็ดเอคโตไมคอร์ไรซาไม่สามารถงอกได้โดยปราศจากพืชอาศัย ดังนั้นวิธีการเก็บรักษาสปอร์ของเห็ดย่อมมีผลต่อการงอกและประสิทธิภาพในการเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซา วิธีการหนึ่งที่ยอมรับเก็บรักษาสปอร์คือการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำมากถึง -80 องศาเซลเซียส หรือ -196 องศาเซลเซียส ซึ่งสปอร์ของเห็ดเอคโตไมคอร์ไรซาแต่ละชนิดนั้นมีความทนทานต่อการเก็บในอุณหภูมิต่ำได้แตกต่างกัน (Corbery and Le Tacon, 1997) จากผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการปลูกเชื้อเห็ดเพาะหน้ด้วยสปอร์แขวนลอย ที่เก็บรักษาด้วยอุณหภูมิแตกต่างกัน 3 ระดับ คือ อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 - 32 องศาเซลเซียส) เป็นเวลานาน 2 ปีนั้น สามารถใช้ในการปลูกเชื้อและทำให้กล้าไม้เกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซาที่รากได้ นอกจากนี้ยังพบว่าอุณหภูมิมิมีผลต่อความสามารถของสปอร์เห็ดเพาะหน้ต่อการทำให้เกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซาในกล้าไม้ที่แตกต่างกัน หากเก็บสปอร์ที่อุณหภูมิสูงและใช้เวลาในการเก็บสปอร์นาน ยิ่งส่งผลให้มีความสามารถในการเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซาน้อยลง Juge *et al.* (2002) รายงานว่าความเย็นหรืออุณหภูมิต่ำ ทำให้เกิดการกระตุ้นสปอร์จากการพักตัว แต่อย่างไรก็ตาม รากเอคโตไมคอร์ไรซานั้นมีช่วงอุณหภูมิที่ต่ำที่เหมาะสมต่อการกระตุ้นการพักตัวของสปอร์แตกต่างกันไป ในการศึกษาครั้งนี้แม้ว่ากล้าไม้ที่ปลูกเชื้อด้วยสปอร์แขวนลอยของเห็ดเพาะหน้ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้องนั้น มีการเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซาน้อยกว่ากล้าไม้ที่ปลูกเชื้อด้วยสปอร์แขวนลอยที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 และ 4 องศาเซลเซียส ก็ตามแต่การเติบโตสัมพัทธ์ทั้งทางด้าน

ความสูงและเส้นผ่านศูนย์กลางที่คอรากของกล้าไม้ที่นั้นแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการศึกษาของ Kaewgrajang *et al.* (2013) แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้งทั้งหมด (total dry weight) ของกล้าไม้ยงนาอายุ 7 เดือนกับรากเอคโตไมคอร์ไรซาที่เกิดในกล้าไม้ พบว่าเมื่อเปอร์เซ็นต์รากเอคโตไมคอร์ไรซาที่เพิ่มสูงขึ้นส่งผลให้น้ำหนักแห้งของกล้าไม้เพิ่มขึ้นสูงขึ้นไปด้วย แสดงให้เห็นว่าการเติบโตของกล้าไม้ยงนาระยะเวลาเพียง 6 เดือน อาจไม่เพียงพอที่จะแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างของข้อมูลอย่างชัดเจน โดยควรมีการเก็บข้อมูลนานอย่างน้อย 7 เดือนหรือมากกว่านั้น และทั้งนี้ควรต้องมีการเก็บข้อมูลทางด้านสรีรวิทยาอื่น ๆ เพิ่มเติม เช่น พื้นที่ผิวใบ ศักยภาพของคลอโรฟิลล์ จำนวนใบ รวมไปถึงน้ำหนักแห้งในส่วนของลำต้น ใบ ราก เพื่อนำมาใช้ในการเปรียบเทียบร่วมด้วย ซึ่งอาจทำให้เห็นผลการเติบโตของกล้าไม้ที่ชัดเจนยิ่งขึ้น

สรุป

จากผลของวัสดุปลูกต่อการเติบโตและการเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซา พบว่าการใช้วัสดุปลูกที่มีธาตุอาหารที่เหมาะสม ส่งผลทำให้กล้าไม้มีการเติบโตดี และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเอคโตไมคอร์ไรซาสูง ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้ วัสดุปลูกสูตรที่ 1 (เวอร์มิคูลไลท์ + พีทมอสส์, 8:2) เป็นวัสดุปลูกที่เหมาะสมในการปลูกเชื้อเห็ดเผาะหนึ่งให้กับกล้าไม้ยงนาที่สุคนอกจากนี้ยังพบว่าสปอร์เห็ดเผาะหนึ่งที่เก็บรักษาไว้นาน 2 ปี ยังสามารถนำมาใช้เป็นหัวเชื้อเอคโตไมคอร์ไรซาได้ อย่างไรก็ตามหากเก็บรักษาสปอร์เห็ดเผาะหนึ่งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จะสามารถเก็บรักษาสปอร์เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อได้ดีที่สุด การศึกษาครั้งนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในด้านการผลิตหัวเชื้อและ

ผลิตกล้าไม้วงศ์ยางให้มีเชื้อเอคโตไมคอร์ไรซาที่รากต่อไปได้

คำนิยาม

ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยาป่าไม้ และชมรมเรือนเพาะชำ คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่อำนวยความสะดวกให้ใช้สถานที่ในการทดลอง ตลอดจนห้องปฏิบัติการและอุปกรณ์ต่าง ๆ

REFERENCES

- Beltrano, J., M. Ruscitti, M.C. Arango and M. Ronco. 2013. Effects of arbuscular mycorrhiza inoculation on plant growth, biological and physiological parameters and mineral nutrition in pepper grown under different salinity and p levels. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 13(1): 123-141.
- Brundrett, M.C., N. Bougher, B. Dell, T. Grove and N. Malajczuk. 1996. *Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture*. ACIAR Monograph 32. Pirie Printers, Canberra.
- Chalermpongse, A. and T. Boonthavikoon. 1981. *The Investigation of Mycorrhizal Fungi Associated with Roots of Trees in Sakaerat Dry-Dipterocarp Forest Ecosystem*. Forest pest control branch, Royal Forest Department, Bangkok.
- Chalermpongse, A. and T. Boonthavikoon. 1982. *The Investigation of Ectomycorrhiza in Dry-Evergreen*

- Forest Ecosystem.** Forest pest control branch, Royal Forest Department, Bangkok.
- Clausing, S., L.E. Likulunga, D. Janz, H.Y. Feng, D. Schneider, R. Daniel, J. Krüger, F. Lang and A. Polle. 2020. Impact of nitrogen and phosphorus addition on resident soil and root mycobiomes in beech forests. **bioRxiv** (unpublished preprints) : <https://doi.org/10.1101/2020.12.29.424645>.
- Corbery, Y. and F.L. Tacon. 1997. Storage of ectomycorrhizal fungi by freezing. **Ann. sci. for. (online)** 54(2): 211-217.
- Dokmai, P., C. Phosri, R. Khangrang and N. Suwannasai. 2015. Above- and below-ground ectomycorrhizal diversity in a pine-oak forest in northeastern Thailand. **Chiang Mai J. Sci.** 42(1): 80-88
- Duangkae, K. 2002. Mycorrhiza: diversity and development, pp. 187-252. *In Proceedings of Biodiversity of Forest Resources and Wildlife "Progress Report and Activities in 2005"*. August 22-28, 2002. Department of National Parks, Wildlife and Plant Conservation, Bangkok. (in Thai)
- Ishida, T.C., K. Nara, M. Tanaka, A. Kinoshita and T. Hogetsu. 2008. Germination and infectivity of ectomycorrhizal fungal spores in relation to their ecological traits during primary succession. **New Phytol.** 180(2): 491–500.
- Juge, C., J. Samson, C. Bastien, H. Vierheilig, A. Coughlan and Y. Piché. 2002. Breaking dormancy in spores of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*: a critical cold-storage period. **Mycorrhiza** 12: 37–42.
- Kaewgrajang, T., U. Sangwanit, K. Iwase, M. Kodama and M. Yamato. 2013. Effects of ectomycorrhizal fungus *Astraeus odoratus* on *Dipterocarpus alatus* seedlings. **J. Trop. For. Sci.** 25(2): 200–205.
- Kaewgrajang, T., B. Sakolrak, U. Sangwanit and J. Wongprom. 2015. Growth responses of *Shorea roxburghii* G. Don seedlings associated with *Astraeus odoratus* ectomycorrhizal mushroom, pp. 66-69. *In Forest Research: Forest Annual Conference 2015*. April 22-26, 2015. Faculty of Forestry Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)
- Klinton, W. 2010. **Effects of *Astraeus* spp. Mycelial Inocula on Mycorrhizal Formation and Growth Simulation of *Dipterocarpus alatus* Roxb. ex G. Don Seedlings**. M.S. Thesis, Chulalongkorn University. (in Thai)
- Lin, C., Y. Wang, M. Liu, Q. Li, W. Xiao and X. Song. 2020. Effects of nitrogen

- deposition and phosphorus addition on arbuscular mycorrhizal fungi of Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata*). **Sci. Rep.** 10: 12260.
- Lu, X. and R.T. Koide. 1994. The effects of mycorrhizal infection on components of plant growth and reproduction. **New Phytol.** 128: 211–218.
- Nara, K. 2009. Spore of ectomycorrhizal fungi: ecological strategies for germination and dormancy. **New Phytol.** 181: 245-248.
- Phosri, C., R. Watling, M.P. Martin and A.J.S. Whalley. 2004. The genus *Astraeus* in Thailand. **Mycotaxon** 89: 453–463.
- Phosri, C., R. Watling, N. Suwannasa, A. Wilson and M.P. Martin. 2014. A new representative of star-shaped fungi: *Astraeus sirindhorniae* sp. nov. from Thailand. **PLoS One** 9(5): e71160. doi:10.1371/journal.pone.0071160.
- Poomipan, P., S. Sammayo and P. Reunsuk. 2020. Effect of available phosphorus in soil on efficiency of Arbuscular mycorrhizal fungi, *Glomus intraradices*. **Thai Science and Technology Journal** 28(2): 294-307.
- Sangtiew, T. and U. Sangwanit. 1994. Growth of *Dipterocarpus alatus* Roxb. seedlings inoculated with ectomycorrhizal fungi. **J. For** 13: 22-28. (in Thai)
- Sangwanit, U., P. Suwannarit, A. Payappanon, J. Luangsaard, A. Chandrasrikul and B. Sakolrak. 2013. **List of Mushrooms. Biodiversity-Based Economy Development Office** (Public Organization), Bangkok. (in Thai)
- Smith, S.E. and D. Read. 2010. **Mycorrhizal Symbiosis**. Academic Press, New York.
- Suwanarach, N., J. Kumla and S. Lumyong. 2015. A new whitish truffle, *Tuber thailandicum* from northern Thailand and its ectomycorrhizal association. **Mycol. Prog.** 14(10): 83
- Youpensuk, S. 2006. **Mycorrhiza**. Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai. (in Thai)
- Yuwa-Amornpitak, T., T. Vichitsoonthonkul, M. Tanticharoen, S. Cheevadhanarak and S. Ratchadawong. 2006. Diversity of ectomycorrhizal fungi on Dipterocarpaceae in Thailand. **J. Biol. Sci.** 6(6): 1059-1064
-