

**ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดเผาะ (*Astreaus hygrometricus* Morgan)****บนอาหารแข็งวุ้นและอาหารแข็งเมล็ดธัญพืช**

วัชรีย์ หาญเมืองใจ

Factors Affecting on the Growth of Mycelium Hed-Pho (*Astreaus hygrometricus* Morgan) on Agar Medium and Cereal Grain Medium

Watcharee Hanmoungjai

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่

Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Chiang Mai Rajabhat University, Muang, Chiang Mai Province

Corresponding author. E-mail address: watchareec@hotmail.com

บทคัดย่อ

เห็ดเผาะ เป็นเห็ดป่าที่บริโภคได้ที่ได้รับความนิยมนำมารับประทานกันมาก โดยเฉพาะภาคเหนือของประเทศไทย ในการศึกษาครั้งนี้ ได้ทำการแยกเส้นใยบริสุทธิ์ของเห็ดเผาะจากตลาดแมริม อำเภอแมริม จังหวัดเชียงใหม่ จากการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดเผาะ (*Astreaus hygrometricus* Morgan LEL-CMRU 005) ได้แก่ ชนิดของอาหารแข็งวุ้น อุณหภูมิ และ pH พบว่าอาหารแข็งวุ้นสูตร MMN, MEA และ PDA และที่อุณหภูมิ 25 °C และ 30 °C และระดับ pH 5 และ pH6 เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดเผาะ จากการศึกษาอาหารแข็งจากเมล็ดธัญพืช พบว่าเมล็ดข้าวฟ่างเหมาะสมต่อการผลิตกล้าเชื้อเส้นใยเห็ดเผาะได้ดีที่สุด จากการศึกษาการเข้ารากของเชื้อเห็ดเผาะในต้นกล้าก่อแป้น (*Castanopsis diversifolia* King ex Hook.f.) ในสภาพโรงเรือน พบว่าเชื้อเห็ดเผาะสามารถเจริญเข้ารากของต้นกล้าก่อแป้นได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเข้ารากเฉลี่ย 97.78 เปอร์เซ็นต์ และมีความสูง ที่มีความแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

คำสำคัญ: ปัจจัยการเจริญ เห็ดเผาะ อาหารแข็งวุ้น อาหารเมล็ดธัญพืช ต้นก่อแป้น

Abstract

Hed-Pho (Hygroscopic earthstar; *Astreaus hygrometricus* Morgan), the wild edible mushroom, was a favorable ingredient in many dishes of Thai food, especially in the Northern part of Thailand. This study isolated the mycelium from the hygroscopic mushroom sample from traditional market in Mae-Rim district, Chiang Mai province. The LEL-CMRU 005 isolated strains was used to determine suitable source and conditions on mycelium growth rates by types of agar medium, temperatures and pH, respectively. The results showed that the most affected factors were MMN, MEA and PDA media at 25 °C and 30 °C and slightly acidic condition (pH 5 and 6), respectively. Moreover, in grain medium study, the sorghum was the most suitable medium source for inoculation from the infection ability of *A. hygrometricus* Morgan to the root part of wild chestnut (*Castanopsis diversifolia* King ex Hook.f.) at 97.78 % infection rate under control conditions in green house and differed significantly from control ($P \leq 0.05$).

Keywords: Factors affecting, *Astreaus hygrometricus*, Agar medium, Cereal grain medium, *Castanopsis diversifolia* King ex Hook.f.

บทนำ

ภาคเหนือของประเทศไทยตั้งอยู่ในเขตร้อนชื้นแถบเส้นศูนย์สูตรมีทรัพยากรป่าไม้ที่อุดมสมบูรณ์ มีความ

หลากหลายทางชีวภาพของพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ ทั้งด้านความหลากหลายของชนิด พันธุกรรม และความหลากหลายของระบบนิเวศ โดยเห็ดเป็นฟงไจชั้นสูงที่มีขนาดใหญ่ เส้นใยเห็ดเมื่อถึงระยะสร้างเซลล์สืบพันธุ์จะ



รวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อนสร้างเป็นดอกเห็ดที่มีรูปร่างสวยงามแตกต่างกันไป พบทั้งขนาดเล็กและใหญ่ บางชนิดเป็นไมคอร์ไรซาอาศัยอยู่กับรากพืชช่วยให้พืชเจริญเติบโตได้ดีขึ้น เพิ่มความอุดมสมบูรณ์ให้แก่ป่าไม้ เช่น เห็ดแดง เห็ดไข่ห่าน เห็ดเผาะ และเห็ดตับเต่า (ราชบัณฑิตยสถาน, 2539) เห็ดป่าส่วนใหญ่พบมากในฤดูฝนจึงเก็บได้ไม่ตลอดปี เห็ดป่าที่เก็บได้บางชนิดมีราคาแพง เช่น เห็ดโคน เห็ดเผาะ และเห็ดหล่ม สร้างรายได้เสริมให้แก่ชาวบ้านในชนบทที่เก็บมาขายได้เป็นอย่างดีในแต่ละปี แต่ปัจจุบันป่าไม้ถูกบุกรุก เป็นพื้นที่ทำกินมากขึ้น ทำให้ลดจำนวนลงมากและมีแนวโน้มว่าจะลดลงเรื่อยๆ ส่งผลต่อความหลากหลายของสิ่งมีชีวิต รวมทั้งเห็ดป่าเปลี่ยนแปลงไป เนื่องจากจำนวนและชนิดของสิ่งมีชีวิตจะจำเพาะต่อระบบนิเวศ เสี่ยงต่อการสูญพันธุ์มากยิ่งขึ้น การใช้ประโยชน์จากทรัพยากรธรรมชาติในพื้นที่ให้เกิดประโยชน์สูงสุดจะช่วยรักษาสภาพความหลากหลายทางชีวภาพและสมดุลของป่า เนื่องจากอาหารเป็นปัจจัยที่สำคัญยิ่งของมนุษย์ชาติ ซึ่งถือเป็นความมั่นคงอย่างหนึ่งตั้งแต่ละท้องถิ่นแต่ละพื้นที่จำเป็นต้องมีความมั่นคง ในแง่ทางโภชนาการนั้นถือว่าเห็ดเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยมีปริมาณโปรตีน กลีโคไซด์ และเส้นใยสูง แต่มีไขมันอยู่ในระดับต่ำ นอกจากนี้เห็ดป่าที่บริโภคได้ยังเป็นแหล่งอาหารและสร้างรายได้ของประชาชนในท้องถิ่นได้เป็นอย่างดี

เห็ดเผาะ เป็นชื่อสามัญที่เรียกกันในประเทศไทย ส่วนทางภาคเหนือจะเรียกว่า เห็ดถอบ มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Astraeus hygrometricus* Morgan อยู่ในวงศ์ *Astraeaceae* สามารถพบได้ทั่วโลก ส่วนการกระจายพันธุ์ในประเทศไทยสามารถพบได้ทั่วทุกภาค ยกเว้นภาคใต้ จัดอยู่ในกลุ่มของเห็ดที่บริโภคได้ (edible mushroom) ดอกเห็ดมีลักษณะเป็นก้อนกลมสีขาวหม่น มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง ประมาณ 1.5-3.5 เซนติเมตร ขึ้นเป็นดอกเดี่ยวกระจายเป็นกลุ่มใหญ่ในป่าสนและป่าเต็งรัง มักจะพบได้หลังจากฝนตก 2-3 วัน ที่มีอากาศร้อนอบอ้าว สามารถพบได้ในช่วงเดือน พฤษภาคม ถึง เดือน มิถุนายน (ราชบัณฑิตยสถาน, 2550) จากการรายงานของ อธิรญาณ์ปวีรศกร (2549) ได้ทำการศึกษานิตของวัสดุหลัก และวัสดุเสริมที่เหมาะสมในการผลิตหัวเชื้อเห็ดเผาะ พบว่า เมล็ดข้าวเจ้า เป็นวัสดุหลักที่

เหมาะสม มีการเจริญของเส้นใยหนาแน่น และวัสดุเสริมที่เหมาะสม คือ ดินร่วนโดยให้เส้นใยที่มีความหนาแน่น นอกจากนี้ ปัจจุบันยังไม่พบการรายงานการวิจัยการชักนำให้เกิดการสร้างดอกเห็ด (fruit body) โดยปราศจากพืชอาศัยของเห็ดเผาะ

จากเหตุผลดังกล่าวจึงทำให้นักวิจัยสนใจที่จะศึกษาการเจริญของเส้นใยเห็ดเผาะ (*Astraeus hygrometricus* Morgan) บนอาหารแข็งวุ้นและอาหารแข็งเมล็ดธัญพืช โดยมีวัตถุประสงค์ เพื่อหาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดเผาะ ในสภาพปลอดเชื้อในระดับห้องปฏิบัติการ และศึกษาการชักนำให้เกิดการสร้างดอกเห็ดในต้นก่อนแปรรูประดับห้องปฏิบัติการ และสามารถนำหัวเชื้อเห็ดเผาะจากการเพาะเลี้ยงในระดับห้องปฏิบัติการคืนสู่ธรรมชาติ เพื่อเป็นแหล่งอาหารให้กับชุมชนอย่างยั่งยืนต่อไป

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

1. ทำการแยกเส้นใยเห็ดเผาะ ที่วางขายในตลาดแม่ริม อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ ทำความสะอาดโดยปัดเศษดินที่ติดมากับดอกเห็ดดอกออก จากนั้นตัดชิ้นเนื้อเยื่อด้านในของหมวกเห็ดดอกออกเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วใช้เข็มเย็บเย็บย้ายชิ้นเนื้อเยื่อวางบนอาหารแข็งวุ้น PDA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 27 ± 2 °C เป็นเวลา 20 วัน จนได้เส้นใย และเก็บรักษาเส้นใยบริสุทธิ์ในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อเพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป
2. ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดเผาะ โดยเจาะปลายเส้นใยเห็ดเผาะที่บ่มที่อุณหภูมิ 27 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 20 วัน ด้วยปลายหลอดหยดสาร (dropper) ฆ่าเชื้อแล้ว ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร วางบนอาหารแข็งวุ้น 5 สูตร ที่ทำการศึกษา ได้แก่ Potato Dextrose Agar; (PDA), Malt Extract Agar; (MEA), Modified Melin Norkans Agar; (MMN), Hagem medium; (Hagem) และ Gamborg medium; (Gamborg) และศึกษาความเป็นกรด-ด่างต่างๆ ได้แก่ pH 5, 6, 7 และ 8 หลังจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 27 ± 2 °C เป็นระยะเวลา 20 วัน และศึกษาที่อุณหภูมิต่างๆ ได้แก่ 25, 30 และ 35 °C เป็นระยะเวลา 20 วัน บันทึกผลการเจริญของเส้นใยโดย



ใช้เวอร์เนียร์วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี ทุก 2 วัน และแต่ละชุดการทดลองทำ 3 ซ้ำ

3. ศึกษาการเจริญของเส้นใยเห็ดเผาะที่บริโภคได้ บนอาหารแข็งเมล็ดธัญพืช การเตรียมอาหารแข็งเมล็ดธัญพืช 5 ชนิด มีดังนี้ เมล็ดข้าวฟ่าง เมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ และเมล็ดข้าวโพดข้าวเหนียว ล้างให้สะอาด และทำการแช่น้ำสะอาดไว้ 1 คืน แล้วนำมาต้มให้เดือดจนเมล็ดเริ่มปริ แยก นำมาบรรจุในหลอดทดลอง หลอดละ 10 กรัม ปิดหลอดทดลองด้วยจุกสำลี ส่วนเมล็ดข้าวไร้ และเมล็ดข้าวบาเลย์ ล้างให้สะอาด สะเด็ดน้ำออก นำมาบรรจุในหลอดทดลอง หลอดละ 10 กรัม เติมน้ำ หลอดละ 9 มิลลิลิตร ปิดหลอดทดลองด้วยจุกสำลี จากนั้นนำอาหารเมล็ดธัญพืชทั้งหมดไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทำการเจาะปลายเส้นใยเห็ดเผาะที่เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 20 วัน ด้วยปลายหลอดหยดสาร (dropper) ฆ่าเชื้อแล้ว ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร จำนวน 4 ชิ้น วางลงด้านบนของอาหารแข็งเมล็ดธัญพืชที่ปราศจากเชื้อ และแต่ละชุดการทดลองทำ 3 ซ้ำ บ่มเชื้อในสภาวะมืด ที่อุณหภูมิ 27 ± 2 °C บันทึกผลการเจริญจนเส้นใยเจริญเต็มหลอดทดลอง

4. ศึกษาการชักนำการสร้างดอกเห็ด (fruiting body) ของเห็ดเผาะบนอาหารแข็งเมล็ดธัญพืช โดยเพาะเส้นใยเห็ดเผาะลงในเมล็ดข้าวฟ่าง ปริมาตร 15 กรัม ลงในงานเพาะเชื้อ เติมหาอาหารเหลว PDB ที่ฆ่าเชื้อ ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ทำการเจาะปลายเส้นใยเห็ดเผาะที่เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 20 วัน วางลงบนงานเพาะเชื้อพันทับด้วย parafilm บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 25 ± 1 °C ในที่มืด เป็นระยะเวลา 30 วัน จากนั้นย้ายมาเพาะเลี้ยงในที่มืด 12 ชั่วโมง และสลับเพาะเลี้ยงในที่มืด 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 ± 1 °C บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงของเส้นใยและการสร้างดอกเห็ด

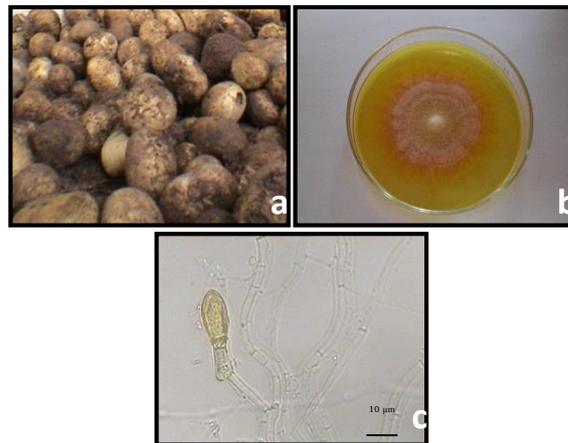
5. ศึกษาความสัมพันธ์ของต้นกล้าก่อแป้น (*Castanopsis diversifolia* King ex Hook.f.) กับเชื้อราเห็ดเผาะ ในสภาพโรงเรือน เตรียมวัสดุปลูกโดยใช้ดินผสมสำเร็จรูป นำมานึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นจากนั้นนำมานึ่งฆ่าเชื้ออีกครั้ง นำเมล็ด

ก่อแป้นแช่น้ำทิ้งไว้ 1 คืน คัดเอาเมล็ดก่อแป้น ที่ลอยน้ำทิ้งไปเลือกเอาเฉพาะเมล็ดที่จมน้ำ แช่ในโซเดียมไฮเพอร์คลอไรด์ เข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง จากนั้นกรอกดินลงถุงดำ วางเมล็ดก่อที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิวเมล็ดแล้วลงไป ถุงละ 2 เมล็ด รดน้ำวันละ 1 ครั้ง ให้ชุ่มพอประมาณ ปลูกเชื้อราเห็ดเผาะให้กับต้นกล้าก่อแป้น จำนวน 20 ต้น โดยรองกันกระถางที่เพาะด้วยถุงพลาสติก เทดินผสมที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที จากนั้นรองกันหลุมด้วยหัวเชื้อราเห็ดเผาะที่เจริญบนเมล็ดข้าวฟ่าง 5 กรัมต่อถุง ย้ายต้นกล้าก่อแป้นที่เพาะเลี้ยงจากเมล็ดที่มีความสูงใกล้เคียงกัน ประมาณ 16 เซนติเมตร อายุประมาณ 6 เดือน ลงปลูกในถุง กลบดินปิดหลุม จึงนำไปเพาะเลี้ยงในโรงเรือน ทำการรดน้ำทุกวัน วันละ 1 ครั้ง เป็นระยะเวลา 60 วัน วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) จึงนำมาหาเปอร์เซ็นต์การเข้ารากภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และศึกษาการตอบสนองต่อการเจริญ โดยการวัดความสูง (mm.) คอราก (mm.) มวลชีวภาพส่วนเหนือดิน (mg.) และมวลชีวภาพส่วนใต้ดิน (mg.)

6. วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยตามวิธีการ Duncan's New Multiple Range Test โดยใช้โปรแกรม SPSS ($P \leq 0.05$)

ผลการศึกษา

จากการแยกเส้นใยจากเห็ดเผาะ (*Astreaus hygrometricus* Morgan) ที่วางขายในตลาดแมริม อำเภอแมริม จังหวัดเชียงใหม่ โดยใช้อาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 27 ± 2 °C เป็นระยะเวลา 20 วัน จากผลการทดลองพบว่าสามารถแยกเส้นใยบริสุทธิ์ของเห็ดเผาะ ไอโซเลต LEL-CMRU 005 โดยพบว่าลักษณะของโคโลนีมีการสร้างเส้นใยสีเหลืองถึงสีเหลืองอมส้ม เส้นใยมีการเจริญได้ข้ามลักษณะบางส่วนตัวกันหนาแน่นมาก (รูปที่ 1b)



รูปที่ 1 ลักษณะดอกเห็ดสด (a) ลักษณะโคโลนี (b) และลักษณะเส้นใย (c) ของเห็ดเผาะ (*Astreaus hygrometricus* Morgan) LEL-CMRU 005 บนอาหาร PDA

จากผลการศึกษาการเจริญของเส้นใยเห็ดเผาะ (*A. hygrometricus* Morgan) LEL-CMRU 005 บนอาหารแข็งวุ้น โดยวัดจากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย พบว่าอาหารแข็งวุ้นที่เหมาะสมต่อการเจริญของเห็ดเผาะ ได้แก่ อาหารวุ้นแข็ง สูตร MMN และ MEA มีการเจริญของเส้นใยได้ดีที่สุด รองลงมาได้แก่อาหารสูตร Hagem, Gamborg และ PDA ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 82.80 ± 0.75 , 78.56 ± 1.17 , 65.80 ± 4.35 , 53.94 ± 1.73 และ 34.80 ± 9.98 มิลลิเมตรตามลำดับ (ตารางที่ 1) เส้นใยเห็ดเผาะที่เพาะเลี้ยงลงบนอาหารแข็งวุ้นสูตรต่างๆ มีลักษณะโคโลนีและความ

หนาแน่นของเส้นใยที่แตกต่างกัน โดยการเจริญบนอาหาร PDA, MEA และ MMN จะมีลักษณะโคโลนีมีสีเหลืองถึงเหลืองอมส้ม โดยเฉพาะอาหาร PDA มีการเจริญของเส้นใยหนาแน่นที่สุด (++++) ซึ่งมีความแตกต่างจากการเจริญของเส้นใยบนอาหาร Hagem และ Gamborg พบว่ามีโคโลนีสีครีมถึงสีเหลืองอมน้ำตาลอ่อน โดยเฉพาะอาหาร Gamborg มีการเจริญของเส้นใยบางที่สุด (++) การเจริญของเส้นใยที่เจริญบนอาหารแข็งวุ้นสูตรต่างๆ พบว่าไม่ทำให้สีอาหารเพาะเลี้ยงเปลี่ยนแปลงซึ่งให้ผลทางสถิติไม่แตกต่างกัน ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 1 การเจริญของเส้นใยเห็ดเผาะ (*Astreaus hygrometricus* Morgan) LEL-CMRU 005 บนอาหารแข็งวุ้น 5 สูตร ที่อุณหภูมิ 27 ± 2 °C เป็นเวลา 20 วัน (day)

สูตรอาหารแข็งวุ้น	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย (mm.) (\pm S.D.) *	ความหนาแน่นของเส้นใย **
PDA	34.80 ± 9.98 ^d	++++
MEA	78.56 ± 1.17 ^a	+++
MMN	82.80 ± 0.75 ^a	+++
Hagem	65.80 ± 4.35 ^b	+++
Gamborg	53.94 ± 1.73 ^c	++

หมายเหตุ : * a, b, c, d ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในคอลัมน์ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

: ** - เส้นใยไม่เจริญ, + เส้นใยบาง, ++ เส้นใยปานกลาง, +++ เส้นใยหนาแน่น, ++++ เส้นใยหนาแน่นมาก



จากการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดเผาะ (*A. hygrometricus* Morgan) LEL-CMRU 005 โดยวัดจากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย พบว่าที่อุณหภูมิ 25 °C บนอาหารแข็ง MEA และ PDA และที่อุณหภูมิ 30 °C บนอาหารแข็ง PDA, MMN และ Gamborg มีการเจริญของเส้นใยได้ดีที่สุด ซึ่งให้ผล

ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และที่อุณหภูมิ 35°C เส้นใยไม่สามารถเจริญได้ ซึ่งให้ผลที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และพบว่า การเจริญของเส้นใยบนอาหาร PDA และ MMN ที่อุณหภูมิ 25 °C และ 30 °C มีการเจริญของเส้นใยที่หนาแน่น (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 การเจริญของเส้นใยเห็ดเผาะ (*Astreaus hygrometricus* Morgan) LEL-CMRU 005 บนอาหารแข็งรุ่น 5 สูตรที่อุณหภูมิ 25, 30 และ 35°C เป็นเวลา 20 วัน (day)

สูตรอาหารแข็งรุ่น	อุณหภูมิ (°C)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย (mm.) (\pm S.D.) [*]	ความหนาแน่นของเส้นใย ^{**}
PDA	25	81.56 \pm 0.48 ^a	+++
	30	81.46 \pm 1.90 ^a	+++
	35	0.00 \pm 0.00 ^d	-
MEA	25	82.03 \pm 0.46 ^a	++
	30	69.43 \pm 1.24 ^b	++
	35	0.00 \pm 0.00 ^d	-
MMN	25	52.73 \pm 1.29 ^b	+++
	30	81.46 \pm 1.90 ^a	+++
	35	0.00 \pm 0.00 ^d	-
Hagem	25	48.30 \pm 0.59 ^c	++
	30	41.91 \pm 2.45 ^c	++
	35	0.00 \pm 0.00 ^d	-
Gamborg	25	79.56 \pm 6.64 ^a	++
	30	80.46 \pm 2.35 ^a	++
	35	0.00 \pm 0.00 ^d	-

หมายเหตุ : ^{*} a, b, c ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในกลุ่มมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

: ^{**} - เส้นใยไม่เจริญ, + เส้นใยบาง, ++ เส้นใยปานกลาง, +++ เส้นใยหนาแน่น, ++++ เส้นใยหนาแน่นมาก

จากการศึกษาผลของความเป็นกรด-ด่าง (pH) ต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดเผาะ (*A. hygrometricus* Morgan) LEL-CMRU 005 โดยวัดจากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย พบว่ามีการเจริญของเส้นใยบนอาหาร PDA, MMN ในทุก pH (5,6,7 และ 8) และ

อาหาร MEA ที่ pH 5 และ 6 และบนอาหาร Hagem และ Gamborg ที่ pH 6 ให้การเจริญของเส้นใยดีที่สุด ซึ่งให้ค่าทางสถิติไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) (ตารางที่ 3)



ตารางที่ 3 การเจริญของเส้นใยเห็ดเผาะ (*Astreaus hygrometricus* Morgan) LEL-CMRU 005 บนอาหารแข็งวัน 5 สูตร ที่ระดับ pH 5, 6, 7 และ 8 เป็นเวลา 20 วัน (day)

สูตรอาหารแข็งวัน	กรด-ด่าง (pH)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย (mm.) (\pm S.D.) ^a	ความหนาแน่นของเส้นใย ^{**}
PDA	pH 5	75.95 \pm 1.39 ^a	++++
	pH 6	75.50 \pm 0.53 ^a	++++
	pH 7	75.37 \pm 3.05 ^a	++++
	pH 8	72.52 \pm 3.09 ^a	++++
MEA	pH 5	75.57 \pm 0.45 ^a	+++
	pH 6	75.22 \pm 0.82 ^a	+++
	pH 7	67.58 \pm 1.84 ^b	+++
	pH 8	62.99 \pm 0.88 ^b	+++
MMN	pH 5	79.49 \pm 6.58 ^a	++
	pH 6	86.86 \pm 1.81 ^a	++
	pH 7	78.43 \pm 1.17 ^a	++
	pH 8	75.97 \pm 1.32 ^a	++
Hagem	pH 5	62.43 \pm 5.83 ^b	++
	pH 6	93.24 \pm 4.12 ^a	++
	pH 7	61.08 \pm 2.59 ^b	++
	pH 8	56.07 \pm 3.61 ^c	++
Gamborg	pH 5	70.84 \pm 3.15 ^b	+++
	pH 6	79.41 \pm 2.13 ^a	+++
	pH 7	70.36 \pm 4.59 ^b	+++
	pH 8	66.25 \pm 6.38 ^b	+++

หมายเหตุ : ^a, ^b, ^c ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในกลุ่มมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

:^{**} - เส้นใยไม่เจริญ, + เส้นใยบาง, ++ เส้นใยปานกลาง, +++ เส้นใยหนาแน่น, ++++ เส้นใยหนาแน่นมาก

จากผลการศึกษการเจริญของเส้นใยเห็ดเผาะ (*A. hygrometricus* Morgan) LEL-CMRU 005 บนอาหารแข็งเมล็ดธัญพืช ทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ เมล็ดข้าวฟ่าง เมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ เมล็ดข้าวโพดข้าวเหนียว เมล็ดข้าวไร และเมล็ดข้าวบาเลย์ เป็นระยะเวลา 60 วัน พบว่าเส้นใยสามารถเจริญจนเต็มหลอดทดลองได้เร็วที่สุดบน

อาหารแข็งเมล็ดข้าวฟ่าง โดยใช้ระยะเวลา 33 วัน ซึ่งเจริญได้เร็วกว่าเมล็ดข้าวไร และพบว่าสามารถเจริญได้ช้าซึ่งเจริญได้ไม่เต็มหลอดทดลองบนเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ เมล็ดข้าวโพดข้าวเหนียว และเมล็ดข้าวบาเลย์ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 การเจริญของเส้นใยเห็ดเผาะ (*Astreaus hygrometricus* Morgan) LEL-CMRU 005 บนอาหารแข็งเมล็ดธัญพืชเป็นเวลา 60 วัน (day)

ระยะการเจริญ (day)				
เมล็ดข้าวฟ่าง	เมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	เมล็ดข้าวโพดข้าวเหนียว	เมล็ดข้าวไร	เมล็ดข้าวบาเลย์
33	-	-	42	-

หมายเหตุ : - หมายถึง เส้นใยเจริญได้ไม่เต็มหลอดทดลอง



จากผลการศึกษาการเข้ารากของพืชอาศัยที่มีเชื้อเห็ดเผาะ (*A. hygrometricus* Morgan) LEL-CMRU 005 พบว่า ภายหลังจากการใส่หัวเชื้อเห็ดเผาะให้กับพืชอาศัย ได้แก่ ต้นกล้าก่อแป้น (*Castanopsis diversifolia* King ex Hook.f.) ที่มีอายุประมาณ 60 วัน ในสภาพโรงเรือน พบว่ามีการเจริญของเชื้อเห็ดเผาะภายในรากของต้นกล้าก่อแป้นได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเข้ารากเฉลี่ย 97.78 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) (ตารางที่ 5) และไม่ให้ผลการตอบสนองต่อการเจริญของต้นกล้าก่อแป้นในด้านระดับคอราก และน้ำหนักมวลชีวภาพส่วนใต้ดิน แต่สามารถให้ผลตอบสนองต่อการเจริญของต้นกล้าก่อแป้นในด้านความสูง และมวลชีวภาพเหนือดิน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งให้ค่าทางสถิติที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 5 การเจริญของต้นกล้าก่อแป้นในด้านต่าง ๆ ที่มีเชื้อเห็ดเผาะ (*Astreaus hygrometricus* Morgan) LEL-CMRU 005 เป็นระยะเวลา 60 วัน (day)

ชนิดของเห็ด	เปอร์เซ็นต์การเข้าราก (%)	ความสูง (mm.)	คอราก (mm.)	มวลชีวภาพส่วนเหนือดิน (mg.)	มวลชีวภาพส่วนใต้ดิน (mg.)
เห็ดเผาะ LEL-CMRU 005	97.78 ^a	27.59 ^a	3.36 ^a	949.74 ^b	347.08 ^a
ชุดควบคุม	43.13 ^b	21.48 ^b	3.74 ^a	1,290.76 ^a	378.72 ^a

หมายเหตุ : a, b, c ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในกลุ่มนั้น มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

อภิปรายผลการศึกษา

จากการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดเผาะ ในสภาพปลอดเชื้อในระดับห้องปฏิบัติการ และศึกษาในต้นกล้าก่อแป้นต่อการชักนำให้เกิดการสร้างดอกเห็ดในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่าสามารถแยกเส้นใยเห็ดเผาะ (*A. hygrometricus* Morgan) จากธรรมชาติ ให้ได้เส้นใยบริสุทธิ์บนอาหารแข็งได้ ได้แก่ ไอโซเลต LEL-CMRU 005 การศึกษาอาหารแข็งวันที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดเผาะ พบว่าอาหารแข็งวุ้นสูตร MMN, MEA และ PDA ที่อุณหภูมิ 25 °C และ 30 °C ระดับ pH 5 และ 6 เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใย ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ วสันต์ และผลิวัลย์ (2540) ที่พบว่าเส้นใย *Agaricus* sp. สามารถเจริญได้ดีบนอาหารสูตร MEA และ Corn meal agar (CMA) ได้เช่นเดียวกัน โดยระยะที่เหมาะสมต่อการแยกเส้นใยให้บริสุทธิ์คือระยะที่เห็ดกำลังบาน มีลักษณะแข็ง และดอกเห็ดมีความสมบูรณ์ไม่ถูกแมลงเข้ากัดกินหรือทำลายจะทำให้ได้เส้นใยที่มีความแข็งแรง

อุณหภูมิเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเจริญของเส้นใย ปัจจัยหนึ่งโดยทั่วไปอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของ

เชื้อราอยู่ระหว่าง 18–27 °C (Harley & Smith, 1983) ซึ่งเชื้อราแต่ละชนิดสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน (HacsKaylo, Palmer, & Vozzo, 1968) จากผลการศึกษาพบว่าเส้นใยเห็ดเผาะ สามารถเจริญบนอาหาร PDA, MEA และ MMN ที่อุณหภูมิ 25 °C และ 30 °C ได้ดีที่สุดใน เนื่องจากมีอุณหภูมิและความชื้นที่เหมาะสมต่อการเจริญในระยะการเจริญของเส้นใย โดยสามารถพบเห็ดเผาะได้ตั้งแต่ช่วงปลายฤดูร้อนถึงต้นฤดูฝน ในช่วงเดือนเมษายนจนถึงเดือนมิถุนายนของแต่ละปีได้ โดยอุณหภูมิผิวดินเฉลี่ย 27 °C อุณหภูมิใต้ดินเฉลี่ย 25 °C วัชรี, ประเสริฐ, และอัครสิทธิ์ (2552) ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของ Sanmee, Lumyong, Dell, & Lumyong (2010) ที่พบว่าที่อุณหภูมิ 37 °C เส้นใยเห็ดเผาะสามารถเจริญได้ดีเช่นเดียวกับการเจริญที่อุณหภูมิ 30 °C

ปัจจัยที่สำคัญต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อราจากเห็ดป่าที่บริโภคได้อีกปัจจัยหนึ่ง คือ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยส่วนใหญ่เชื้อราเจริญได้ดีที่ระดับ pH 5–6 (Yamanaka, 2003) จากผลการศึกษาพบว่าเห็ดเผาะสามารถเจริญบนอาหารสูตร PDA, MMN ที่ทุกระดับของ pH (pH 5, 6, 7 และ 8) ได้ดี ซึ่งมีสภาพ pH ใกล้เคียงกับสภาพ pH ของดินในธรรมชาติที่มีความเป็น



กรดอ่อนถึงเป็นกลาง และสอดคล้องกับการศึกษาของ Garraway, & Evans (1984) ที่พบว่าเชื้อรา *Dendryphiella salina* เจริญได้ดีที่ pH 4-6 ส่วนเชื้อรา *Cladosporium herbarium* เจริญได้ดีที่ pH 5-6

ผลจากการศึกษาการเจริญบนอาหารแข็งเมล็ดธัญพืช เพื่อผลิตเป็นกล้าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 25 °C และ pH 6 พบว่า เมล็ดข้าวฟ่างเหมาะสมต่อการผลิตกล้าเชื้อเส้นใยเห็ดเหาะมากที่สุด โดยเส้นใยเห็ดเหาะสามารถเจริญได้บนอาหารแข็งเมล็ดข้าวฟ่างจนเจริญได้เต็มหลอดทดลองเร็วที่สุด โดยใช้ระยะเวลา 33 วัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก เมล็ดข้าวฟ่างมีเปลือกหุ้มเมล็ดที่ค่อนข้างบางเส้นใยเชื้อราจึงสามารถเกาะและเจริญได้ดี นอกจากนี้ยังมี สารอาหารและแร่ธาตุต่าง ๆ เช่น แมกนีเซียม โพแทสเซียม และวิตามินบี 3 สูง และเมล็ดสามารถอุ้มน้ำได้ดีจึงทำให้มีความชื้นที่เหมาะสม เส้นใยเชื้อราจึงสามารถเจริญได้รวดเร็ว ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับงานวิจัยของ Sanmee, et al. (2010) ที่พบว่าอาหารแข็งเมล็ดข้าวฟ่างเหมาะสมที่สุดต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดเหาะ (เห็ดตับเต่า)

จากการศึกษาการเข้ารากของเส้นใยเห็ดเหาะในต้นกล้าก่อแป้น (*Castanopsis diversifolia* King ex Hook. f.) ในสภาพโรงเรือน โดยวิธีการใส่หัวเชื้อจากเมล็ดข้าวฟ่าง พบว่าเชื้อราเห็ดเหาะสามารถเจริญเข้ารากของต้นกล้าก่อแป้นได้ ภายหลังจากการใส่เชื้อเห็ดเหาะให้กับพืชอาศัย คือต้นกล้าก่อแป้น (*Castanopsis diversifolia* King ex Hook.f.) ที่มีอายุประมาณ 60 วัน ในสภาพโรงเรือน พบการเข้ารากของเชื้อเห็ดเหาะ ซึ่งพบโครงสร้างของเส้นใยที่ยื่นออกมาจากราก และเส้นใยที่แทรกอยู่ในชั้นของเนื้อเยื่อ แต่ไม่พบโครงสร้างที่เป็นแผ่นแมนเทิลที่ชัดเจน อาจเนื่องมาจากระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงสั้นเกินไป เส้นใยจึงยังไม่ประสานตัวเป็นแผ่นแมนเทิลชัดเจน ซึ่งปกติระยะเวลาในการเข้ารากของเชื้อราเห็ดป่าที่บริโภคได้แตกต่างกันไปตามชนิดของเชื้อราอายุและชนิดของพืชอาศัย เช่น เชื้อรา *Tricholoma matsutake* สามารถเข้าราก *Pinus densiflora* ได้ ภายหลังจากการปลูกเชื้อราเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (Laguette, et al., 2000) และเส้นใยเชื้อรา *Lactarius* sp. ใช้ระยะเวลา 4 เดือน ในการเข้าราก *P. pinaster* และ *P. sylvertris* (Parlade, Pera, & Luque, 2004)

นอกจากนี้ยังไม่ให้ผลการตอบสนองต่อการเจริญของต้นกล้าก่อแป้นทางด้านความสูง ระดับคอราก และน้ำหนักมวลชีวภาพส่วนเหนือดิน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ เชิดชัย (2548) ที่ศึกษาการสร้างเส้นใยของเชื้อรา *Astraeus* sp. ในต้นกล้าสนสามใบ โดยใช้ระยะเวลา 6 เดือน ไม่พบการตอบสนองต่อการเจริญของต้นกล้าทางด้านความสูง น้ำหนักมวลชีวภาพส่วนเหนือดินและใต้ดิน และการต่อเชื้อบ่ออาจส่งผลให้เส้นใยเชื้อราเห็ดป่าที่บริโภคได้ไม่แข็งแรงจึงทำให้ความสามารถในการสร้างเส้นใยในรากพืชอาศัยลดลงได้เช่นกัน (Marx, & Rowan, 1981) จากผลการศึกษาสามารถแยกเส้นใยบริสุทธิ์ของเห็ดป่าที่บริโภคได้จากธรรมชาติ และสามารถเพิ่มปริมาณเส้นใยเห็ดเหาะบนอาหารแข็งเมล็ดธัญพืชได้ เพื่อเป็นกล้าเชื้อกลับคืนสู่ในธรรมชาติได้ และเป็นแหล่งอาหารให้กับชุมชนได้อย่างยั่งยืน และจากการศึกษาในครั้งนี้ได้ขยายผลโดยการนำไปใช้ประโยชน์ให้กับชุมชน โดยการนำเชื้อเห็ดไปเพาะปลูกกับพืชอาศัยในป่าชุมชนของบ้านเอือก ตำบลสันป่ายาง อำเภอแม่แตง และบ้านพระพุทธบาทสี่รอย ตำบลสะลวง อำเภอแมริม จังหวัดเชียงใหม่

สรุปผลการศึกษา

จากการแยกเส้นใยเห็ดเหาะที่วางขายในตลาดแมริม อำเภอแมริม จังหวัดเชียงใหม่ สามารถแยกเส้นใยบริสุทธิ์จากเห็ดเหาะ (*Astraeus hygrometricus* Morgan) LEL-CMRU 005 ได้ จากการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดเหาะ พบว่าอาหารแข็งวุ้นสูตร MMN, MEA และ PDA เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดเหาะ และ ที่อุณหภูมิ 25 °C และ 30 °C เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดเหาะ ส่วนระดับ pH พบว่าอาหารแข็งส่วนใหญ่มีการเจริญของเส้นใยดีที่สุดที่ pH 5 และ pH 6 และการเจริญบนอาหารแข็งเมล็ดธัญพืชพบว่าเมล็ดข้าวฟ่างเหมาะสมต่อการผลิตกล้าเชื้อเส้นใยเห็ดเหาะได้ดีที่สุด จากการศึกษาการเข้ารากของเชื้อเห็ดเหาะในต้นกล้าก่อแป้น (*Castanopsis diversifolia* King ex Hook.f.) ในสภาพโรงเรือน พบว่าเชื้อเห็ดเหาะสามารถเจริญเข้ารากของต้นกล้าก่อแป้นได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเข้ารากเฉลี่ย 97.78 เปอร์เซ็นต์ และมีค่า



ความสูง ที่มีความแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ข้อเสนอแนะจากการศึกษา

อาหารแข็งเมล็ดธัญพืชควรมีการตัดแปลงโดยเติมสารเสริม เพื่อช่วยกระตุ้นในการเจริญของเส้นใยเห็ดป่าที่บริโภคได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ปี 2553 และมหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ที่ได้สนับสนุนทุนในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

เชิดชัย โพธิ์ศรี. (2548). การสร้างเอกโตไมคอร์ไรซาของรากกลุ่ม *Gasteromycetes* ในกล้าไม้ป่า (รายงานวิจัย). พิษณุโลก: มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม.

ราชบัณฑิตยสถาน. (2539). เห็ดกินได้และเห็ดมีพิษในประเทศไทย ราชบัณฑิตยสถาน. กรุงเทพฯ: ราชบัณฑิตยสถาน.

วสันต์ เพชรรัตน์ และผลิวัลย์ ขุนทอง. (2540). การเพาะเห็ดป่า: เห็ดนา (*Agaricus* sp.). วารสารสงขลานครินทร์, 19(3), 289-297.

วัชรีย์ หาญเมืองใจ, ประเสริฐ หาญเมืองใจ, และอัครสิทธิ์ บุญส่งแท้. (2552). การอนุรักษ์และการใช้ประโยชน์ความหลากหลายของเห็ดป่าในพื้นที่สะลอง อำเภอมแม่แตง และอำเภอมแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ (รายงานวิจัย). เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่.

อชิรญาณ์ปวีรศกร วัฒนโกศล. (2549). การผลิตหัวเชื้อเห็ดเผาะ I: วัสดุทำหัวเชื้อที่เหมาะสม. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 8(3), 36-48.

Garraway, M., & Evans, R. (1984). *Fungal nutrition and physiology*. Ohio: A Wiley-Interscience Publication.

HacsKaylo, E., Palmer, G., & Vozzo, J. A. (1968). Effect of temperature on growth and respiration of ectotrophic mycorrhizal fungi. *Mycologia*, 57, 748-756.

Harley, J. L., & Smith, S. E. (1983). *Mycorrhizal symbiosis*. London: Academic Press.

Laguette, A. G., Vaario, L. M., Gill, W. M., Lapeyrie, F., Matsushita, N., & Suzuki, K. (2000). Rapid in vitro ectomycorrhizal infection on *Pinus densiflora* roots by *Tricholoma matsutake*. *Mycoscience*, 41, 389-393.

Marx, D. H., & Rowan, S. J. (1981). Fungicides influences growth and development of specific ectomycorrhizae on loblolly pine seedlings. *Forest Sciences*, 27(1), 167-176.

Parlade, J., Pera, J., & Luque, J. (2004). Evaluation of mycelial inocula of edible *Lactarius* species for the production of *Pinus pinaster* and *P. sylvestris* mycorrhizal seedlings under greenhouse conditions. *Mycorrhiza*, 14, 171-176.

Sanmee, R., Lumyong, P., Dell, B., & Lumyong, S. (2010). In vitro cultivation and fruit body formation of the black bolete, *Phlebopus portentosus*, a popular edible ecto-mycorrhizal fungus in Thailand. *Mycoscience*, 51, 15-22.

Yamanaka, T. (2003). The effect of pH on the growth of saprotrophic and ectomycorrhizal ammonia fungi in vitro. *Mycologia*, 95, 584-589.