สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่า และผลของเห็ดตับเต่าต่อการเจริญของต้นมะกอกน้ำ

OPTIMAL CONDITIONS FOR HYPHAL GROWTH OF *Boletus* sp. AND EFFECT OF *Boletus* sp. SEEDLING ON GROWTH OF *Elaeocarpus hygrophilus* Kurz.

T133000

ปุญยวีร์ อุดมรัตน์

พัชร์สิตา คงนวล

สุภาณี สุทธิลออ

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน...133000
วัน,เดือน,ปี...16 ก.ค. 2557

b.....
i.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2556

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

OPTIMAL CONDITIONS FOR HYPHAL GROWTH OF *Boletus* sp. AND EFFECT OF *Boletus* sp. SEEDLING ON GROWTH OF *Elaeocarpus hygrophilus* Kurz.

PUNYAWEE AUDOMRAT

PHATSITA KHONGNUAL

SUPANEE SUTHILA-OOR

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHLOR OF SCIENCE

IN INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADAMIC YEAR 2013

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่า และผลของเห็ดตับเต่าต่อการเจริญของต้นมะกอกน้ำ

Optimal conditions for hyphal growth of *Boletus* sp. and effect of *Boletus* sp. Seedling on growth of *Elaeocarpus hygrophilus* Kurz.

ชื่อนักศึกษา นางสาวปุญยวีร์ อุดมรัตน์

นางสาวพัชร์สิตา คงนวล

นางสาวสุภาณี สุทธิลออ

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ. มงคล เพ็ญสายใจ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2556

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ รศ. ดวงใจ โอชัยกุล	
กรรมการ ผศ. ลินจง สุขลำภู	
กรรมการ ผศ. มงคล เพ็ญสายใจ	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าและผลของเห็ดตับเต่าต่อการเจริญของต้นมะกอกน้ำ

ชื่อนักศึกษา นางสาวปุญยวีร์ อุดมรัตน์ รหัสนักศึกษา 53051482

นางสาวพัชร์สิตา คงนวล รหัสนักศึกษา 53051491

นางสาวสุภาณี สุทธิลออ รหัสนักศึกษา 53051480

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

ปีการศึกษา 2556

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ. มงคล เพ็ญสายใจ

บทคัดย่อ

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าบริสุทธิ์ในห้องปฏิบัติการโดยศึกษาผลของอาหารเลี้ยงเชื้อ อุณหภูมิ ความเป็นกรด – ด่าง แหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจนต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อเห็ดตับเต่า (*Boletus* sp.) โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยที่บ่มนาน 15 วัน พบว่า เส้นใยสามารถเจริญได้ใน อาหารทุกชนิด และสามารถเจริญได้ดีที่สุด ใน Murashige & Skoog agar (8.22 ± 0.72 cm) อุณหภูมิที่เหมาะสม ในการเจริญของเส้นใยคือที่ 30 องศาเซลเซียส ส่วน pH ที่เหมาะสมคือ 4.0 ในอาหาร Murashige & Skoog agar ที่มี fructose เป็นแหล่งคาร์บอน บอน และ Murashige & Skoog agar ที่มี NH_4NO_3 เป็นแหล่งไนโตรเจน เป็นสภาวะ ที่เหมาะสมที่สุดในการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่า เมื่อทำการศึกษาถึงความสัมพันธ์ของเห็ดตับเต่ากับการเจริญของต้นมะกอกน้ำ (*Elaeocarpus hygrophilus* Kurz.) โดยการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าให้กับต้นมะกอกน้ำในปริมาณ 10 20 และ 30 กรัม/ต้น พร้อมบันทึกข้อมูลทุกๆ 15 วัน จนครบ 180 วัน พบว่าการใส่เชื้อเห็ดตับเต่าไม่มีผล แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อขนาดเส้นรอบวง จำนวนใบ และปริมาณคลอโรฟิลล์ แต่การใส่เชื้อเห็ดตับเต่ามีผลทำให้ความสูงของต้นมะกอกน้ำมีอัตราการเจริญเติบโตดี โดยปริมาณหัวเชื้อเห็ดตับเต่า 30 กรัม ให้ผลการตอบสนองดีที่สุด

คำสำคัญ : เห็ดตับเต่า ต้นมะกอกน้ำ การเจริญเติบโต สภาวะเหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Optimal conditions for hyphal growth of *Boletus* sp. and effect of *Boletus* sp. Seedling on growth of *Elaeocarpus hygrophilus* Kurz.
Students	Miss Punyawee Audomrat Student ID 53051482
	Miss Phatsita Khongnual Student ID 53051491
	Miss Supanee Suthila-oor Student ID 53051480
Degree	Bachelor of Science
Major Program	Industrial Microbiology
Academic Year	2013
Advisor	Asst. Prof. Mongkol Phensaijai

ABSTRACT

The optimum mycelial growth of *Boletus* sp., the effect of culture temperature, pH carbon and nitrogen sources were determined as the diameter of mycelial incubated for 15 days. The results indicated that the mycelial can growth in all the media and the highest was Murashige & Skoog agar (8.22 ± 0.72 cm). The optimal temperature for mycelia growth was 30°C, the optimal pH was 4.0. Murashige & Skoog agar has component was fructose which carbon source and Murashige & Skoog agar has NH_4NO_3 as nitrogen source was the optimum mycelial growth of *Boletus* sp. The relationship of *Elaeocarpus hygrophilus* Kurz. with *Boletus* sp. was studied with spawn quantities : without and with 10 ,20 and 30 grams per plant ,observed every 15 days till 180 days. The result showed that all quantities of spawn had no significantly on stem diameter, leaves and amount of chlorophyll. But the inoculums 30 grams of spawn had effect on growth, gave maximum height of *Elaeocarpus hygrophilus* Kurz.

Keywords: *Boletus* sp. *Elaeocarpus hygrophilus* Kurz. Growth Optimum

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้ได้จัดทำตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ซึ่งสำเร็จได้ด้วยโดยได้รับความช่วยเหลือจากบุคคลผู้มีพระคุณหลายท่าน ดังนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ. มงคล เพ็ญสายใจ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษที่ให้ความรู้ คำปรึกษา คำแนะนำต่างๆที่เกี่ยวข้องกับการทดลอง ข้อเสนอแนะ การตอบข้อซักถามที่เกิดขึ้นในการทดลอง ให้กำลังใจและข้อคิดดีๆ รวมทั้งเป็นผู้ตรวจสอบความถูกต้องของโครงงานพิเศษ

ขอขอบพระคุณ รศ. ดวงใจ โอชัยกุล ประธานกรรมการสอบโครงงานพิเศษ และผศ. ลินจง สุขลำ ที่ได้สละเวลามาเป็นกรรมการสอบโครงงานพิเศษ ช่วยให้คำแนะนำที่ดี รวมทั้งช่วยตรวจสอบความถูกต้องของโครงงานพิเศษ

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ธุรการและพี่นักวิทยาศาสตร์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ ที่ช่วยอำนวยความสะดวกและจัดสรรเรื่องห้องปฏิบัติการ เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมีต่างๆที่เป็นประโยชน์ต่อการทดลอง

ขอขอบพระคุณบิดา มารดาของผู้จัดทำที่เป็นกำลังใจและสนับสนุนกำลังทรัพย์ในการทำโครงงานพิเศษครั้งนี้ คุณความดีหรือประโยชน์ที่ได้รับจากการทำโครงงานพิเศษนี้ ผู้จัดทำขอมอบแด่บุพการี ผู้มีพระคุณและครูอาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ให้แก่ผู้จัดทำตั้งแต่อดีตจนปัจจุบัน

ขอขอบพระคุณเพื่อนที่คอยให้ความช่วยเหลือในทุกเรื่องให้ข้อคิดเห็น กำลังใจ และมิตรภาพที่ดีตลอดมา

คณะผู้จัดทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	X
สารบัญรูป	XI
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	3
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	3
1.4 ขั้นตอนการดำเนินงาน	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 เห็ด (Mushroom)	5
2.1.1 การจัดจำแนกของเห็ด Basidiomycota	6
2.1.2 การดำรงชีวิต	8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.1.3 วงจรชีวิต	8
2.1.4 เห็ดโบลีทส์ (Bolete)	8
2.1.5 วงจรชีวิตของเห็ดโบลีทส์	9
2.1.6 โครงสร้างและลักษณะทั่วไปของเห็ดโบลีทส์	10
2.2 เห็ดตับเต่า	12
2.2.1 อนุกรมวิธานของเห็ดตับเต่า	13
2.2.2 ลักษณะโดยทั่วไปของเห็ดตับเต่า	14
2.3 ความสัมพันธ์ของเห็ดตับเต่ากับต้นมะกอกน้ำ	16
2.3.1 วิวัฒนาการและความหมายของความสัมพันธ์แบบไมคอร์ไรซา	16
2.3.2 ชนิดของราไมคอร์ไรซา	17
2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญ	25
2.4.1 การเจริญเติบโต (Growth)	25
2.4.2 อัตราการเจริญเติบโต	25
2.4.3 วิธีการวัดการเจริญเติบโต	26
2.4.4 ปัจจัยสำคัญในการเจริญของเส้นใย	26
2.4.5 ปัจจัยที่มีความสำคัญในการเจริญเติบโตของเชื้อราเอคโตไมคอร์ไรซา	26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.5 การผลิตหัวเชื้อเอคโตไมคอร์ไรซา	30
2.5.1 ขั้นตอนการผลิตหัวเชื้อเอคโตไมคอร์ไรซา	30
2.5.2 ชนิดของหัวเชื้อ	30
2.5.3 การผลิตหัวเชื้อโดยการใช้เมล็ดธัญพืช	31
2.5.4 การปลูกเชื้อให้กับพืชอาศัย	31
2.5.5 การศึกษาการเข้ารากพืชของเชื้อรา	32
2.5.6 ระยะเวลาการเข้ารากของเชื้อเอคโตมายคอร์ไรซา	32
2.6 มะกอกน้ำ (*Elaeocarpus hygrophilus* Kurz)	33
2.6.1 อนุกรมวิธานของมะกอกน้ำ	33
2.6.2 ลักษณะทั่วไป	33
2.6.3 ประโยชน์ของต้นมะกอกน้ำ	36
2.6.3.1 ด้านเป็นพืชอาหาร	36
2.6.3.2 ด้านสมุนไพร	37
2.6.3.3 ด้านการเป็นไม้ประดับ	37
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	
3.1 วัสดุอุปกรณ์	38
3.1.1 วัตถุดิบ	38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์	38
3.1.3 สารเคมี	39
3.1.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ	39
3.2 การแยกเชื้อเห็ดตับเต่าบริสุทธิ์	40
3.2.1 การแยกเชื้อเห็ดตับเต่า	40
3.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญของเห็ดตับเต่า	40
3.3.1 การศึกษาผลของอาหารวุ้นต่อการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า	40
3.3.2 การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเจริญของเส้นใยบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า	40
3.3.3 การศึกษาผลของพีเอชต่อการเจริญของเส้นใยบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า	41
3.3.4 การศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆต่อการเจริญของเส้นใยบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า	41
3.3.5 การศึกษาผลของแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆต่อการเจริญของเส้นใยบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า	41
3.4 ศึกษาถึงความสัมพันธ์ของเห็ดตับเต่ากับพืชอาศัย	
3.4.1 การปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าให้กับต้นพืช	42
3.4.2 การตรวจการเข้ารากของต้นพืช	42
3.4.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ	42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญของเห็ดตับเต่า 43

4.1.1 การศึกษาผลของอาหารวุ้นต่อการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า 43

4.1.2 การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า 45

4.1.3 การศึกษาผลของพีเอชต่อการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า 47

4.1.4 การศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆต่อการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า 49

4.1.5 การศึกษาผลของแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆต่อการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า 50

4.2 ศึกษาถึงความสัมพันธ์ของเห็ดตับเต่ากับพืชอาศัย 52

4.3 การศึกษาการเข้ารากของต้นพืช 56

บทที่ 5 สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ 58

เอกสารอ้างอิง 60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก ก	64
ภาคผนวก ข	69
ภาคผนวก ค	83
ภาคผนวก ง	94
ภาคผนวก จ	104
ภาคผนวก ฉ	108
ภาคผนวก ช	110
ภาคผนวก ซ	111
ภาคผนวก ฌ	112
ภาคผนวก ญ	113

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าในอาหารวุ้นชนิดต่างๆ	44
4.2 เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร) ของเส้นใยเห็ดตับเต่า ในอาหารวุ้นชนิดต่างๆ	45
4.3 อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าในอาหารวุ้น Murashige & Skoog aga บ่มที่อุณหภูมิต่างๆในที่มืด	46
4.4 เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร) โคโลนีของเส้นใยเห็ดตับเต่าในอาหารวุ้น Murashige & Skoog agar	46
4.5 น้ำหนักแห้ง (กรัม) ของเส้นใยเห็ดตับเต่าในอาหารเหลวMurashige & Skoog agar ที่มีค่าพีเอชต่างๆ	48
4.6 เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร) โคโลนีของเส้นใยเห็ดตับเต่าในอาหารวุ้น Murashige & Skoog agar ที่มีแหล่งคาร์บอนต่างๆ	49
4.7 เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร) โคโลนีของเส้นใยเห็ดตับเต่าในอาหารวุ้น Murashige & Skoog agar ที่มีแหล่งไนโตรเจนต่างๆ	51
4.8 อัตราการเจริญของต้นมะกอกน้ำ	53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 เห็ดชนิดต่างๆที่อยู่ในคลาส Basidiomycetes	6
2.2 การสร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของเห็ดรา	7
2.3 วงจรชีวิตของเห็ด	9
2.4 วงจรชีวิตของเห็ดโบลีทส์	10
2.5 โครงสร้างเห็ดโบลีทส์	12
2.6 เห็ดตับเต่า	13
2.7 โครงสร้างเห็ดตับเต่า	14
2.8 การวิวัฒนาการของพืชและหลักฐานฟอสซิลของความสัมพันธ์แบบต่างฝ่ายต่างได้รับประโยชน์ชนิดต่างๆ	16
2.9 ราเอคโตไมคอร์ไรซาที่สร้างเส้นใยรอบบริเวณรากต้นสน *Pinus radiate*	18
2.10 การตัดตามขวางของรากสนขาวที่มีราเอคโตไมคอร์ไรซาเจริญเป็นแผ่นแมนเทิลและเจริญเข้าไปภายในรากระหว่างเซลล์	18
2.11 แสดงลักษณะราเอนโดไมคอร์ไรซา *Glomus* sp.	20
2.12 แสดงลักษณะเวสสิเคิลของราเอนโดไมคอร์ไรซา *Glomus* sp. ในรากพืช	20
2.13 แสดงอิริคอยด์ไมคอร์ไรซา ในขนรากของ *Leucopogon verticillatus*	21
2.14 แสดงการตัดตามขวางของราก *Arbutus unedo*	22
รูปที่ 2.15 แสดงการตัดตามขวางของราก *Monotropa* sp.	23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
2.16 แสดงการตัดขวางรากกล้วยไม้ (*Rhizanthella gardneri*) ที่มีเส้นใยม้วนเป็นวง (pelotons) เป็นเส้นใยสีขาวล้อมรอบเซลล์สีน้ำตาล	24
2.17 แสดงการงอกของกล้วยไม้ *Rhizanthella gardneri* โดยมีออร์คิดไมคอร์ไรซาเจริญร่วมอยู่	25
2.18 ลักษณะใบของมะกอกน้ำ	34
2.19 ลักษณะช่อดอกของมะกอกน้ำ	35
2.20 ลักษณะผลของมะกอกน้ำ	36
4.1 การเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่า (*Boletus* sp.) ในอาหารวุ้นแต่ละชนิด	44
4.2 การเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่า (*Boletus* sp.) ที่บ่มในที่มืดอุณหภูมิต่างๆ	46
4.3 แสดงอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าในอาหารเหลว Murashige & Skoog agar ที่มีค่าพีเอชต่างๆ	47
4.4 แสดงอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าในอาหารวุ้น Murashige & Skoog agar ที่มีแหล่งคาร์บอนต่างๆ	49
4.5 แสดงอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าในอาหารวุ้น Murashige & Skoog agar ที่มีแหล่งไนโตรเจนต่างๆ	51
4.6 แสดงความสูงของต้นมะกอกน้ำ	54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.7 แสดงเส้นรอบวงลำต้นของต้นมะกอกน้ำ	54
4.8 แสดงจำนวนใบของต้นมะกอกน้ำ	55
4.9 แสดงปริมาณคลอโรฟิลล์	55
4.10 การตัดตามขวางของรากต้นมะกอกน้ำที่ไม่มีการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าให้กับต้นไม้	56
4.11 การตัดตามขวางของรากต้นมะกอกน้ำที่มีการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าให้กับต้นไม้	56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

ประเทศไทยจัดว่าเป็นประเทศเกษตรกรรมที่มีผลผลิตทางการเกษตรที่หลากหลาย มีอัตราการส่งออกพืชผลทางการเกษตรที่ค่อนข้างสูง มีพืชเศรษฐกิจหลายชนิดที่มีความสำคัญด้านมูลค่าและการส่งออกของประเทศไทยมาก อย่างไรก็ตาม ปัญหาที่มีความสำคัญเป็นอย่างมากต่อพืชเศรษฐกิจของไทยนั้นเริ่มประสบปัญหาและข้อจำกัดของทรัพยากรที่ดิน แหล่งน้ำ และป่าไม้ที่ถูกนำมาใช้ในระยะที่ผ่านมาในลักษณะที่ไม่ค่อยจะมีประสิทธิภาพ สิ้นเปลืองและขาดการอนุรักษ์ จึงทำให้ทรัพยากรธรรมชาติเหล่านี้มีสภาพเสื่อมโทรมลงโดยลำดับ จนมีปัญหาสิ่งแวดล้อมตามมาหลายด้าน ทั้งนี้มีผลทำให้อัตราขยายตัวของการผลิตภาคเกษตรของประเทศเริ่มชะลอตัวลง จึงมีการนำความรู้และกระบวนการทางวิทยาศาสตร์มาใช้ในการเพิ่มผลผลิตในด้านปริมาณและคุณภาพ (ชำนาญ, 2553) ซึ่งเห็ดตับเต่า (*Boletus edulis*) เป็นฟังไจชนิดเอคโตไมคอร์ไรซา (Ectomycorrhiza : ECM) มีความสำคัญต่อการเจริญของพืชในดินที่ขาดความอุดมสมบูรณ์ เนื่องจากเอคโตไมคอร์ไรซาจะทำให้การดูดซึมสารอาหารง่ายขึ้นและปรับปรุงความสามารถในการหาน้ำ รวมทั้งยังช่วยต่อต้านโรคให้แก่พืชที่เป็นโฮสต์ (สาวิตรี, 2553) ทั้งนี้ได้ใช้ต้นมะกอกน้ำ (*Elaeocarpus hygrophilus* Kurz.) เป็นโฮสต์ เนื่องจากต้นมะกอกน้ำ (*Elaeocarpus hygrophilus* Kurz.) เป็นพืชท้องถิ่นที่พบได้ทั่วไปในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ นิยมนำผลมารับประทาน นอกจากนี้ยังเป็นผลไม้ที่สำคัญทางเศรษฐกิจ รวมทั้งเคยมีประวัติการนำมาใช้เป็นสมุนไพรพื้นบ้าน ได้ทั้งผล เมล็ดและดอก

ไมคอร์ไรซา (Mycorrhiza) เป็นความสัมพันธ์ระหว่างรากพืชกับเชื้อราแบบพึ่งพาอาศัยกัน ในรากของพืชส่วนใหญ่มักจะมีเชื้อราไมคอร์ไรซาเจริญอยู่ร่วมด้วย (Brundrett และคณะ, 1996) เชื้อราไมคอร์ไรซามีหลายประเภท ซึ่งแบ่งตามความแตกต่างของเชื้อรา โครงสร้างในการเข้าสู่รากพืชของเชื้อราและพืชอาศัย เห็ดตับเต่าจัดเป็น เชื้อราที่อาศัยอยู่ร่วมกับรากพืช โดยเส้นใยของเชื้อราจะเข้าสู่รากพืชจะพบเส้นใยของเชื้อราสานตัวกันเป็นเยื่อหุ้ม (mantle) อยู่รอบๆรากพืช (นริษฎา, 2552) เห็ดตับเต่าจึงจัดเป็นเอคโตไมคอร์ไรซา (Ectomycorrhiza : ECM) โดยการอาศัยอยู่ร่วมกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของเชื้อรากับรากพืชอาศัยนั้นจะเป็นแบบพึ่งพาอาศัยกัน เอื้ออำนวยประโยชน์ซึ่งกันและกัน (Hawksworth และคณะ, 1995) กล่าวคือเชื้อราช่วยในการเพิ่มการดูดซับน้ำและแร่ธาตุให้กับพืชต่างๆ ทำให้พืชเจริญเติบโตได้รวดเร็วขึ้น มีความทนทานต่อความแห้งแล้งในดินได้มาก และต้านทานโรคที่เกิดกับรากได้ดีขึ้นด้วย ส่วนเชื้อราก็ได้รับสารอาหารพวกแป้ง น้ำตาล โปรตีน และวิตามินต่างๆ จากพืชผ่านมาทางระบบราก (นริษฎา, 2552) ส่วนใหญ่เห็ดตับเต่าพบได้ทั่วไปในภาคเหนือและภาคอีสาน ในภาคเหนือจะเรียกว่า เห็ดห้า เพราะเห็ดชนิดนี้ขึ้นบริเวณต้นห้า ส่วนในภาคอีสานจะเรียกเห็ดชนิดนี้ว่า เห็ดผึ้ง เนื่องจากมีสีคล้ายกับน้ำผึ้ง จัดเป็นเห็ดที่มีความนิยมในภาคเหนือและภาคอีสาน พบได้บางฤดูกาลเท่านั้น ซึ่งพบได้ในช่วงเดือนเมษายนถึงเดือนกันยายนของทุกปี (นริษฎา, 2552) เป็นเห็ดที่มีราคาสูงเนื่องจากเห็ดตับเต่าไม่สามารถออกดอกโดยปราศจากพืชอาศัย

การผลิตหัวเชื้อราเอคโตไมคอร์ไรซานั้น เป็นการเพิ่มปริมาณเชื้อให้มีปริมาณมากขึ้น โดยส่วนใหญ่การขยายเชื้อจากอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นอาจใช้เมล็ดธัญพืช เช่น ข้าวฟ่าง ข้าวไรย์ ข้าวบาร์เลย์ผสมขี้เลื่อย ข้าวผสมขี้เลื่อย เป็นต้น เพื่อนำเชื้อไปปลูกให้กับพืชอาศัยต่อไป พืชอาศัยของเห็ดตับเต่ามีได้หลายชนิด เช่น มะกอกน้ำ ลำไย และยูคาลิปตัส เป็นต้น (นริษฎา, 2552) หลังจากการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าให้กับพืชแล้ว จำเป็นต้องมีการศึกษาระยะเวลาในการเข้ารากของเชื้อ เนื่องจากเชื้อราแต่ละชนิดจะใช้เวลาในการเข้ารากแตกต่างกัน รวมถึงการตรวจสอบการเข้ากันได้ของต้นพืชกับเชื้อเอคโตไมคอร์ไรซาด้วย (นริษฎา, 2552) ซึ่งแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนเป็นสารอาหารหลักที่จำเป็นต่อการเจริญสำหรับเชื้อรา นอกจากนี้ยังมีสารอาหารอื่นๆ และวิตามินที่เชื้อราต้องการเพื่อใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึมซึ่งราแต่ละชนิดจะมีความต้องการปริมาณและแหล่งอาหารเหล่านี้เพื่อการเจริญของเส้นใยแตกต่างกัน (Brundrett และคณะ, 1996) นอกจากนี้ยังมีปัจจัยด้านอื่นๆ ที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยราได้แก่ พีเอช อุณหภูมิ เป็นต้น (นริษฎา, 2552)

ในธรรมชาติเห็ดตับเต่าจะออกดอกเห็ดได้จะต้องมีพืชอาศัย การคาดหวังที่จะผลิตเห็ดตับเต่าให้ออกดอกเห็ดในสภาพที่ปราศจากพืชอาศัยเช่นเดียวกับเห็ดเศรษฐกิจชนิดอื่น จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจเป็นอย่างมาก เพื่อพัฒนาการเพาะเลี้ยงเห็ดตับเต่าให้เป็นเห็ดเศรษฐกิจ ได้ในอนาคตนั้นการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่า และการศึกษาการผลิตหัวเชื้อในห้องปฏิบัติการจึงมีความสำคัญมาก เพื่อที่จะนำไปสู่การเพาะเลี้ยงเห็ดตับเต่าให้เป็นเห็ดเศรษฐกิจต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าบริสุทธิ์ในห้องปฏิบัติการ

1.2.2 เพื่อศึกษาถึงความสัมพันธ์ของเห็ดตับเต่ากับการเจริญของต้นมะกอกน้ำ

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเห็ดตับเต่า (*Boletus* sp.) โดยศึกษาผลของอาหารเลี้ยงเชื้อ อุณหภูมิ พีเอช แหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน จากนั้นศึกษาถึงความสัมพันธ์ของเห็ดตับเต่ากับพืชอาศัยโดยการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าให้กับต้นมะกอกน้ำ แล้วทำการวัดการเจริญเติบโตของต้นมะกอกน้ำ รวมทั้งการตรวจการเข้ารากของเส้นใยเห็ดที่แทรกอยู่ระหว่างเซลล์รากของต้นพืช

1.4 ขั้นตอนการดำเนินงาน

การดำเนินงานวิจัย แบ่งเป็นขั้นตอน ดังนี้

1.4.1 การแยกเชื้อเห็ดตับเต่าบริสุทธิ์บนอาหารวุ้นและการผลิตหัวเชื้อเพื่อใช้ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าต่อไป

1.4.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญของเห็ดตับเต่า

1.4.2.1 การศึกษาผลของอาหารวุ้นต่อการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า

1.4.2.2 การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเจริญของเส้นใยบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า

1.4.2.3 การศึกษาผลของพีเอชต่อการเจริญของเส้นใยบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า

1.4.2.4 การศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆต่อการเจริญของเส้นใยบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4.2.5 การศึกษาผลของแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆต่อการเจริญของเส้นใยบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า

1.4.3 ศึกษาถึงความสัมพันธ์ของเห็ดตับเต่ากับพืชอาศัย

1.4.3.1 การปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าให้กับต้นพืช มีการรดน้ำทุกวัน และทำการวัดการเจริญเติบโตของต้นมะกอกน้ำ เพื่อศึกษาถึงความสัมพันธ์ของเห็ดตับเต่ากับต้นมะกอกน้ำ

1.4.3.2 การตรวจการเข้ารากของต้นพืชตรวจการสร้างเมนเทิลชีส (mentle sheets) บริเวณรอบราก และการเข้ารากของเส้นใยเห็ดที่แทรกอยู่ระหว่างเซลล์พืช (hartic net)

1.4.4 การวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้ ANOVA (Duncan's multiple range test.)

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) วิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 เพื่อให้เส้นใยเห็ดตับเต่าบริสุทธิ์ที่แยกได้มีการเจริญเติบโตสูงสุด จึงต้องทำการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญของเส้นใยบริสุทธิ์ของเห็ดตับเต่าเพื่อนำไปผลิตหัวเชื้อที่มีประสิทธิภาพ

1.5.2 ในธรรมชาติเห็ดตับเต่าจะออกดอกเห็ดได้จะต้องมีพืชอาศัย การคาดหวังที่จะผลิตเห็ดตับเต่าให้ออกดอกเห็ดในสภาพที่ปราศจากพืชอาศัยเช่นเดียวกับเห็ดเศรษฐกิจชนิดอื่น

1.5.3 เพื่อพัฒนาการเพาะเลี้ยงเห็ดตับเต่าให้เป็นเห็ดเศรษฐกิจ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เห็ด (Mushroom)

เห็ดเป็นพืชชั้นต่ำประเภทราที่มีเส้นใยรวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อน เกิดเป็นดอกเห็ดอยู่เหนือพื้นดินหรือสิ่งที่อาศัยอยู่มีในเนื้อเห็ด (cortext) และมีครีบ (gill) คำว่า เห็ด มิได้หมายถึงดอกเห็ดที่มีเนื้อและมีครีบเท่านั้น แต่ยังหมายถึงราอีกหลายชนิดในหมวด Amastigomycota ที่ออกเป็นกลุ่มก้อนเห็ด ซึ่งอาจมีเนื้อนุ่ม แข็งหรือเหนียว มีครีบหรือไม่มีครีบก็ได้ เห็ดจัดเป็นราที่มีวิวัฒนาการสูงกว่าราอื่นๆส่วนใหญ่จัดอยู่ในราหมวดย่อย Basidio-mycotina ที่สร้างสปอร์บนเบสิเดียม (basidium) ในโครงสร้างเบสิดิโอคาร์ป (basidiocarp) และราในหมวดย่อย Ascomycotina ที่สร้างสปอร์ในแอสคัส (ascus) ในโครงสร้างแอสโคคาร์ป (ascocarp) ทั้งเบสิเดียม (basidium) และแอสคัส (ascus) อยู่ในเยื่อกำเนิดสปอร์ (hymenium) เยื่อกำเนิดสปอร์ของเห็ดบางชนิดมีเปลือกหนาหรือบางหุ้ม ซึ่งฉีกขาดหรือแตกออกเมื่อสปอร์แก่เพื่อให้กระจายพันธุ์ได้ แต่บางชนิดไม่มีเปลือกหุ้ม วงจรชีวิตของเห็ดทุกชนิดมีลักษณะคล้ายคลึงกัน เริ่มจากสปอร์ซึ่งเมื่อตกไปอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมก็จะงอกเป็นใยราและแผงใยรา (mycelium) แล้วรวมเป็นกลุ่มก้อนเกิดเป็นดอกเห็ด (เห็ดในประเทศไทย ราชบัณฑิตยสถาน, 2550) เมื่อดอกเห็ดเจริญเติบโตขึ้นก็จะสร้างสปอร์ซึ่งจะปลิวหรือหลุดไปงอกเป็นใยราได้อีก หมุนเวียนเช่นนี้เรื่อยไป

เห็ดราใน Class Basidiomycetes (รูปที่2.1) เป็นพวกที่มีวิวัฒนาการสูงสุดสมาชิกในคลาสนี้ได้แก่ พวกที่เรียกว่า เห็ด (mushroom) เช่น เห็ดลูกฝุ่น (puffballs) เห็ดร่างแห (stinkhorns) เห็ดหิ้ง (bracket fungi) เห็ดมีครีบ (gilled fungi, mushroom) เห็ดโบลีทส์ (boletes tube fungi) เห็ดขมิ้น (chanterelles) เห็ดหูหนู (jelly fungi) เห็ดดาวดิน (earth stars) ราสนิม (rust fungi) ราเขม่า (smut fungi) เป็นต้น (นริษฎา, 2552)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่2.1 เห็ดชนิดต่างๆที่อยู่ในคลาส Basidiomycetes
ที่มา : http://www.freshairphotography.co.uk
(วันที่สืบค้น 20/12/56)

2.1.1 การจัดจำแนกของเห็ด Basidiomycota

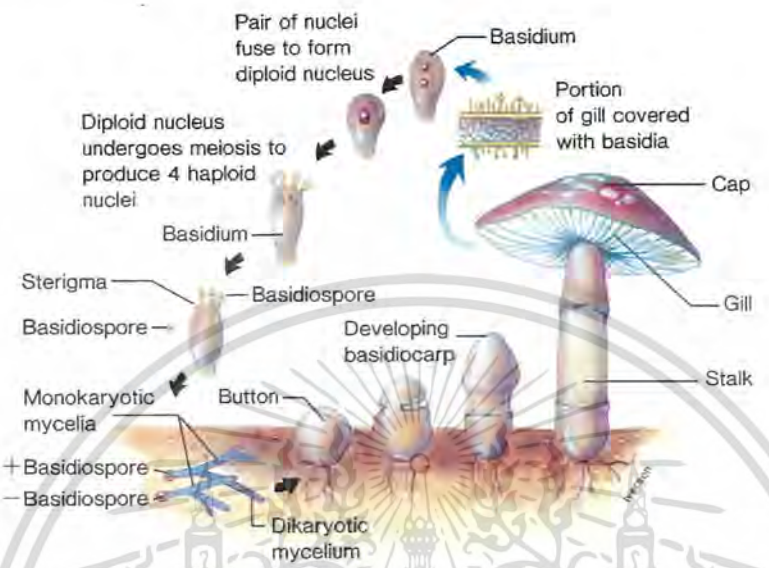
เห็ดราในไฟลัม Basidiomycota จัดเป็นเห็ดราชั้นสูง เช่นเดียวกับ Ascomycota (นริษฎา, 2552) มีสปอร์สืบพันธุ์อยู่ภายนอกเซลล์ หรืออยู่ด้านนอกของอวัยวะที่เรียกว่า เบสิเดียม (basidium) หรือฐานที่มีรูปร่างคล้ายใบพายแล้วจะก่อตัวเป็นดอกเห็ด (fruiting body) มีชื่อสามัญว่า Basidiomycetes หรือ Club Fungi ได้แก่ พวกเห็ด (mushroom) (เห็ดในประเทศไทย ราชบัณฑิตยสถาน, 2550) มีลักษณะสำคัญคือ

1. Hyphae มีผนังกั้น

2. สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยการสร้างสปอร์โดยแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส (meiosis) ได้สปอร์ 4 สปอร์ บนโครงสร้างคล้ายกระบองที่เรียกว่าเบสิเดีย (Basidia) เรียกว่า เบสิดิโอสปอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Basidiospores) ซึ่งเป็นสปอร์ที่มี 1 นิวเคลียส และเป็นชนิดแฮปพลอยด์ (haploid) อย่างไรก็ตาม Basidiomycota บางชนิดยังสร้างสปอร์แบบไม่อาศัยเพศอีกด้วย



รูปที่2.2 การสร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของเห็ดรา Basidiomycetes

ที่มา : http://www.studyblue.com/notes/note/n/bi-252-unikonta--fungi/deck/3250562 (วันที่สืบค้น 20/12/56)

3. เส้นใยมีผนังกันตามขวาง (dolipore septum)

4. เส้นใยของเชื้อราพวก Basidiomycetes มีการเจริญเป็น 3 ระยะคือ เป็นเส้นใยปฐมภูมิ (primary mycelium) เส้นใยทุติยภูมิ (secondary mycelium) และเส้นใยตติยภูมิ (tertiarymycelium) เส้นใยปฐมภูมิ เป็นเส้นใยที่เกิดจากการงอกของเบสิดิโอสปอร์มาเป็นเส้นใยที่มีผนังกั้นแต่ละเซลล์มี 1 นิวเคลียส ส่วนเส้นใยทุติยภูมิเกิดจากเส้นใยปฐมภูมิสองเซลล์มาแตะกัน จากนั้นไซโทพลาสซึมจากเซลล์หนึ่งไหลเข้ายังอีกเซลล์ หนึ่งเรียกว่า clamp connections ได้เป็นเซลล์ที่มี 2 นิวเคลียส แต่นิวเคลียสไม่รวมตัวกัน เรียกว่า dikaryotic hypha ส่วนเส้นใยตติยภูมินั้นเกิดจากการเส้นใยทุติยภูมิอัดตัวกันแน่นขึ้นเพื่อเป็นดอกเห็ด (fruiting body) ซึ่งในเส้นใยก็ยังคงเป็น dikaryotic cell (นริษฎา, 2552)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 การดำรงชีวิต

เห็ดราไม่สามารถสังเคราะห์อาหารได้ด้วยตนเอง เนื่องจากไม่มีคลอโรฟิลล์ (chlorophyll) เห็ดจึงดำรงชีวิตอยู่ได้ 3 แบบคือ

1. Saprophytism เป็นการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตบนสิ่งมีชีวิตที่ผุพังหรือตายไปแล้ว เช่น *Pholibia* sp., *Boletus* sp. และ *Lentinus lepidius*

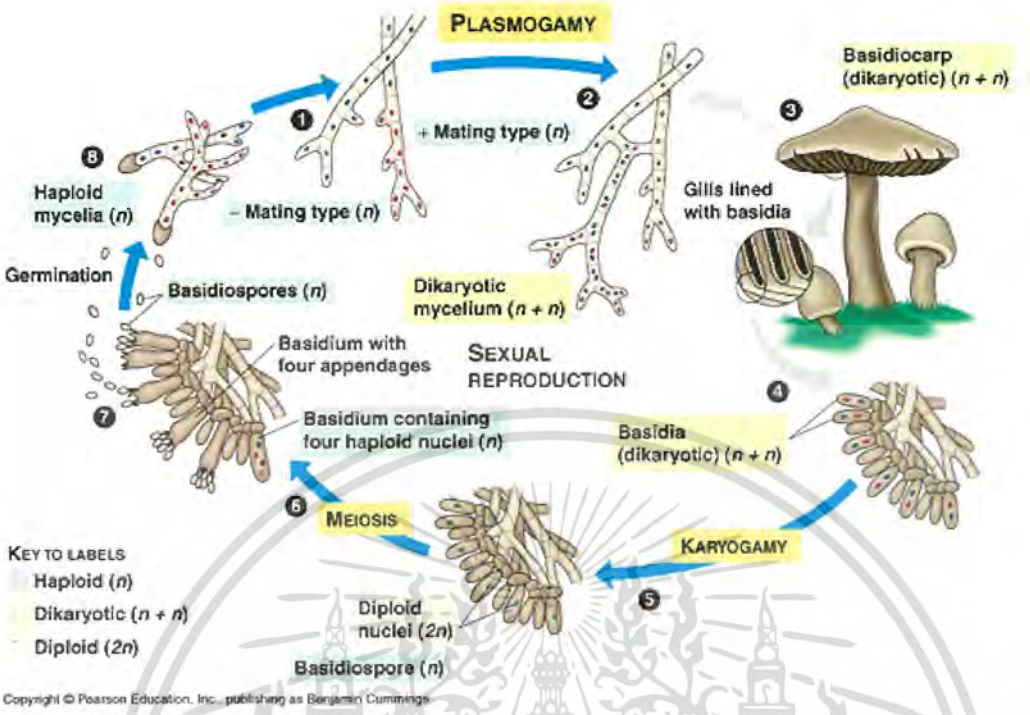
2. Parasitism เป็นการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตบนสิ่งมีชีวิตที่ยังมีชีวิตอยู่ เช่น *Polyporus* sp.

3. Symbiosis เป็นการดำรงชีวิตแบบพึ่งพาอาศัยกันของสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งกับสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งทั้งคู่ได้รับประโยชน์ซึ่งกันและกัน ซึ่งเห็ดที่มีการดำรงชีวิตแบบนี้เรียกว่า ไมคอร์ไรซา (mycorrhiza) (นริษฎา, 2552)

2.1.3 วงจรชีวิต

วงจรชีวิตของเห็ด (รูปที่2.3) จะเริ่มจากเบสิดิโอสปอร์งอกในสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญในช่วงนี้สั้น จากนั้นเส้นใยที่มีลักษณะเหมือนกันจะเกิดการเข้าคู่กัน เกิดการแลกเปลี่ยนนิวเคลียส (mating type) ไปเป็นระยะที่เรียกว่า พลาสโมแกมี (plasmogamy) ในระยะนี้จะมีนิวเคลียส 2 อันใน 1 เซลล์ (dikaryotic) เส้นใยมีการเจริญอย่างรวดเร็วจนเส้นใยรวมตัวกันเป็นดอกเห็ดซึ่งไดคาริออน (dikaryons) ของ Basidiomycetes จะมีช่วงระยะเวลานาน เพื่อผลิตดอกเห็ดในแต่ละปี คาริโอแกมี (karyogamy) จะพบในบริเวณปลายของเซลล์ dikaryotic ซึ่งพบบริเวณครีบเห็ดแต่ละเซลล์จะมีการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส ทำให้ได้สปอร์ที่มีแฮปพลอยด์ นิวเคลียส จำนวน 4 สปอร์ บน 1 เบสิเดียม และเมื่อสปอร์เจริญเติบโตเต็มที่ สปอร์ก็จะถูกปล่อยออกสู่ธรรมชาติโดยลม (นริษฎา, 2552)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่2.3 วงจรชีวิตของเห็ด

ที่มา : http://www.bio.miami.edu/dana/160/160S10_12.html

(วันที่สืบค้น 20/12/56)

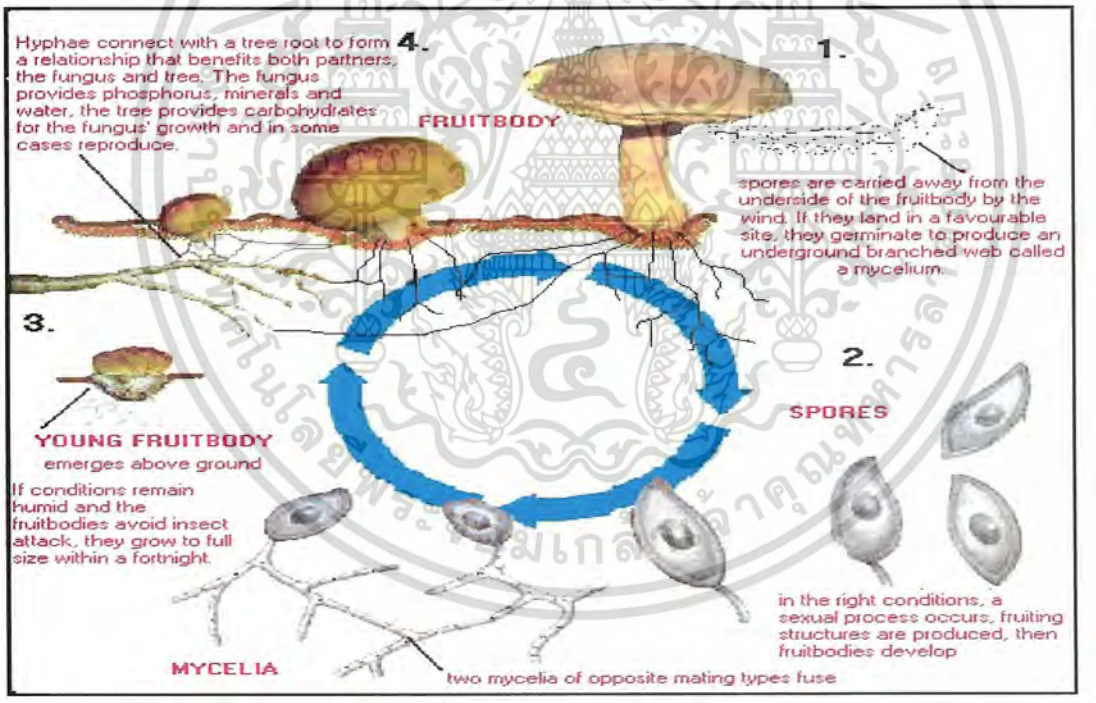
2.1.4 เห็ดโบลีทส์ (Bolete)

โบลีทส์จัดอยู่ในอาณาจักร Fungi ไฟลัม Basidiomycota ชั้น Hymenomycetes อันดับ Agaricales วงศ์ Boletaceae เป็นเห็ดในไฟลัม Basidiomycota จัดเป็นเห็ดทรงร่ม สร้างสปอร์ในรูใต้หมวกเห็ด ดอกเห็ดมีลักษณะอ่อนนุ่ม ส่วนใหญ่ก้านจะติดอยู่ตรงกลางหมวกเห็ด (Hawksworth และคณะ, 1995) โครงสร้างที่สร้างสปอร์มีลักษณะเป็นท่อ หรือรูที่สามารถแยกออกจากหมวกเห็ดได้อย่างง่าย เห็ดโบลีทส์มีประมาณ 70 สกุลและ 727 ชนิดพบได้ทั่วไปตามป่าหรือสนามหญ้า (Brundrett และคณะ, 1996) ส่วนใหญ่จัดเป็นพวกซาโพรบ (saprobe) หรือปรสิตกับสิ่งมีชีวิตอื่น และเป็นเอคโตไมคอร์ไรซา (ectomycorrhiza) กับพืชบางชนิด ส่วนใหญ่เป็นเห็ดกินได้มีส่วนน้อยที่มีพิษ (Seehanan และ Petcharat, 2007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.5 วงจรชีวิตของเห็ดโบลีทส์

สปอร์จะถูกพัดออกไปจากใต้หมวกเห็ดโดยลม หากตกลงในที่ที่เหมาะสมจะทำให้เกิดการงอกของสปอร์ เรียกว่าเส้นใย ในสภาวะที่เหมาะสมจะเกิดกระบวนการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ การสร้างดอกเห็ดจะถูกสร้างขึ้น เส้นใย 2 เส้นจะเกิดการรวมตัวกัน แล้วเกิดการแลกเปลี่ยนนิวเคลียสเกิดเป็นเส้นใยที่มีนิวเคลียส 2 นิวเคลียสใน 1 เซลล์ จากนั้นเส้นใยจะมีการเจริญอย่างรวดเร็วจนรวมตัวเป็นดอกเห็ดบนพื้นดิน เห็ดโบลีทส์พวกที่เป็นเอคโตไมคอร์ไรซานั้นเส้นใยจะเจริญเข้าสู่รากของต้นไม้ เป็นความสัมพันธ์ที่ได้ประโยชน์ทั้ง 2 ฝ่าย ระหว่างต้นไม้กับเห็ดรา โดยที่เห็ดจะให้ฟอสฟอรัส แร่ธาตุต่างๆ และ น้ำกับต้นไม้ ส่วนต้นไม้จะให้คาร์โบไฮเดรตกับเห็ดราเช่นเดียวกัน วงจรชีวิตของเห็ดโบลีทส์แสดงในรูปที่ 2.4 (นริษฎา, 2552)



รูปที่2.4 วงจรชีวิตของเห็ดโบลีทส์

ที่มา : http://facstaff.cbu.edu/~seisen/Fungi.htm

(วันที่สืบค้น 20/12/56)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.6 โครงสร้างและลักษณะทั่วไปของเห็ดโบลีทส์ (Wood, 1998)

ดอกเห็ด ประกอบด้วยส่วนต่างๆ ดังนี้ (รูปที่2.5)

หมวกเห็ด (Pileus)

หมวกเห็ดมีขนาด 2-15 เซนติเมตร หมวกเห็ดส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นทรงร่ม (convex) หมวกเห็ดมีสีดำไปถึงสีน้ำตาลชมพู หรือสีแดงสด มักเปลี่ยนสีเมื่อถูกอากาศ ในการจัดจำแนกโบลีทส์ส่วนใหญ่นั้นมักใช้ลักษณะของหมวกเห็ดและผิวเห็ดเป็นหลักสำคัญในการจำแนก

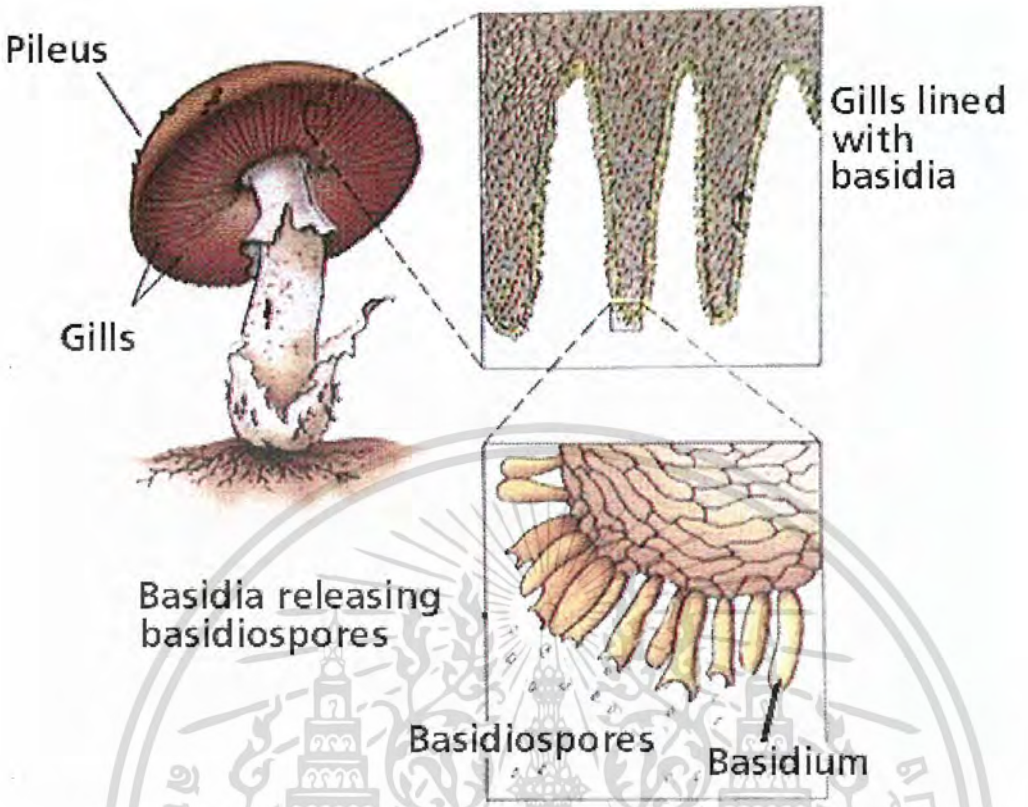
รูหรือท่อ (Pore)

เป็นโครงสร้างที่มีความสำคัญในการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ เพราะมีโครงสร้างที่ใช้สร้างเบสิดิโอสปอร์ในโครงสร้างดังกล่าว รูหรือท่อของเห็ดโบลีทส์นั้นจะมีลักษณะอ่อนนุ่ม ชื้นซึ่งแตกต่างกับเห็ดที่มีรูหรือท่อเช่นเดียวกันอย่างเช่น เห็ดพวกโพลีพอร์ (Polypore) เห็ดพวกนี้จะมีลักษณะแข็งแห้งและมักอยู่กับต้นไม้ ในโบลีทส์ส่วนใหญ่ รูหรือท่อจะแยกออกจากหมวกเห็ดได้ง่ายกว่าเห็ดกลุ่มอื่น

ก้าน (Stipe)

โบลีทส์ส่วนใหญ่มักมีก้านอยู่ตรงกลาง (central) ซึ่งส่วนใหญ่มักมีรูปร่างคล้ายกระบอง (clavate) ป่องโคน (bulbous) หรือโคนผอม (tapered)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่2.5 โครงสร้างเห็ดโบลีทส์

ที่มา : http://classroom.sdmesa.edu/eschmid/Lecture13-Microbio.htm

(วันที่สืบค้น 20/12/56)

2.2 เห็ดตับเต่า

เห็ดตับเต่าจัดเป็นไมคอร์ไรซา (mycorrhiza) พวกเอคโตไมคอร์ไรซา (ectomycorrhiza) อาศัยอยู่กับรากพืชแบบพึ่งพาอาศัยกัน ส่วนใหญ่เห็ดตับเต่าพบได้ทั่วไปในภาคเหนือและภาคอีสาน ในภาคเหนือจะเรียกว่า เห็ดห้า เพราะเห็ดชนิดนี้ขึ้นบริเวณต้นห้า ส่วนในภาคอีสานจะเรียกเห็ดชนิดนี้ว่า เห็ดผึ้ง เนื่องจากมีสีคล้ายกับน้ำผึ้ง จัดเป็นเห็ดที่มีความนิยมในภาคเหนือและภาคอีสาน พบได้บางฤดูกาลเท่านั้น ซึ่งพบได้ในช่วงเดือนเมษายนถึงเดือนกันยายนของทุกปี เป็นเห็ดที่มีราคาสูงเนื่องจากเห็ดห้าไม่สามารถออกดอกโดยปราศจากพืชอาศัยพืชอาศัยของเห็ดห้ามีหลายชนิด เช่น ต้นหว้า มะม่วง ลำไย โสนนา สะแก มะกอกน้ำ ยางนา และ ยูคาลิปตัส เป็นต้น (นริษฎา, 2552)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่2.6 เห็ดตับเต่า ที่มา : https://www.facebook.com/LamPhaen (วันที่สืบค้น 20/12/56)

2.2.1 อนุกรมวิธานของเห็ดตับเต่า (เห็ดในประเทศไทย ราชบัณฑิตยสถาน, 2550) สามารถจัดจำแนกได้ ดังนี้

Kingdom : Fungi

Phylum : Basidiomycota

Class : Agaricomycetes

Family : Boletaceae

Genus : Boletus

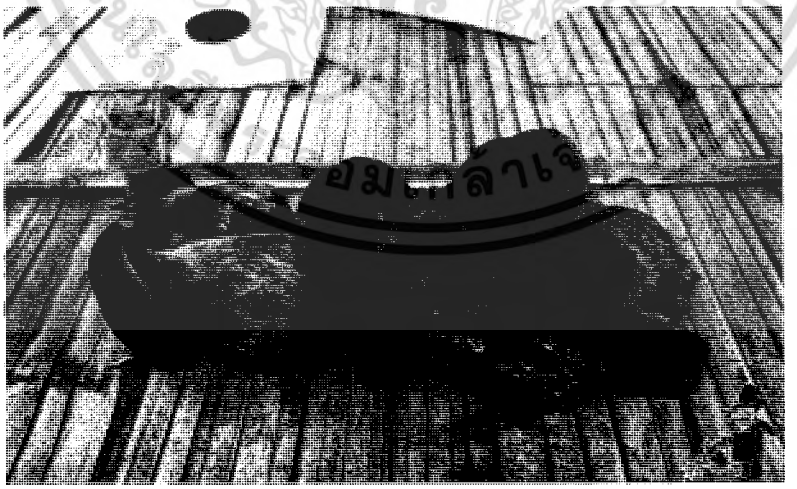
Species : *Boletus* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Synonym (เห็ดในประเทศไทย ราชบัณฑิตยสถาน, 2550)

- *Boletus chromapes* Frost. (เห็ดตับเต่าตีนเหลือง)
- *Boletus chrysenteron* Bull. (เห็ดตับเต่ากระแดง)
- *Boletus colossus* Heim (เห็ดผึ้ง, เห็ดน้ำผึ้ง (ตะวันออกเฉียงเหนือ))
- *Boletus griseipurpureus* Corner (เห็ดเสม็ด (ตะวันออก), เห็ดเหม็ด (ใต้))
- *Heimiella retispora* (เห็ดปอดม้า (เหนือ))
- *Phaeogyroporus portentosus* ชื่อพ้อง *Boletus portentosus* (เห็ดห้า (เหนือ))
- *Pulveroboletus ravenelii ชื่อพ้อง Boletus* ravenelii (เห็ดแท่งกำมะถัน)
- *Suillus granulatus* ชื่อพ้อง *Boletus granulatus* (เห็ดตับเต่าน้ำนม)
- *Tylopilus albo-ater* ชื่อพ้อง *Boletus albo-ater* (เห็ดตับเต่าดำ)
- *Fistulina hepatica* ชื่อพ้อง *Boletus hepatica* (เห็ดตับรู)

2.2.2 ลักษณะโดยทั่วไปของเห็ดตับเต่า



รูปที่2.7 โครงสร้างเห็ดตับเต่า

ที่มา : https://www.facebook.com/LamPhaen

(วันที่สืบค้น 20/12/56)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมวกเห็ด

โค้งนูนรูปกระทะคว่ำ สีน้ำตาล เส้นผ่านศูนย์กลาง 1-15 เซนติเมตร ผิวเรียบหนืด

รูหรือท่อ

ด้านล่างมีรูความยาว 0.5 เซนติเมตร มีสีน้ำตาลอ่อน เมื่อมีอายุมากขึ้นจะมีสีเข้มขึ้น

ก้าน

มีความยาว 4-10 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 2-4 เซนติเมตร มีสีน้ำตาล รูปร่างคล้ายกระบองโดยที่โคนใหญ่กว่าด้านปลาย ผิวขรุขระเป็นรอยย่น มีร่อง เนื้อค่อนข้างหนา เนื้อเยื่อเห็ดมีสีเหลือง

เบสิเดียม

รูปร่างแบบกระบอง มีขนาด 20–34 x 11–13 ไมโครเมตร มี 4 สปอร์ต่อ 1 เบสิเดียม

เบสิดิโอสปอร์

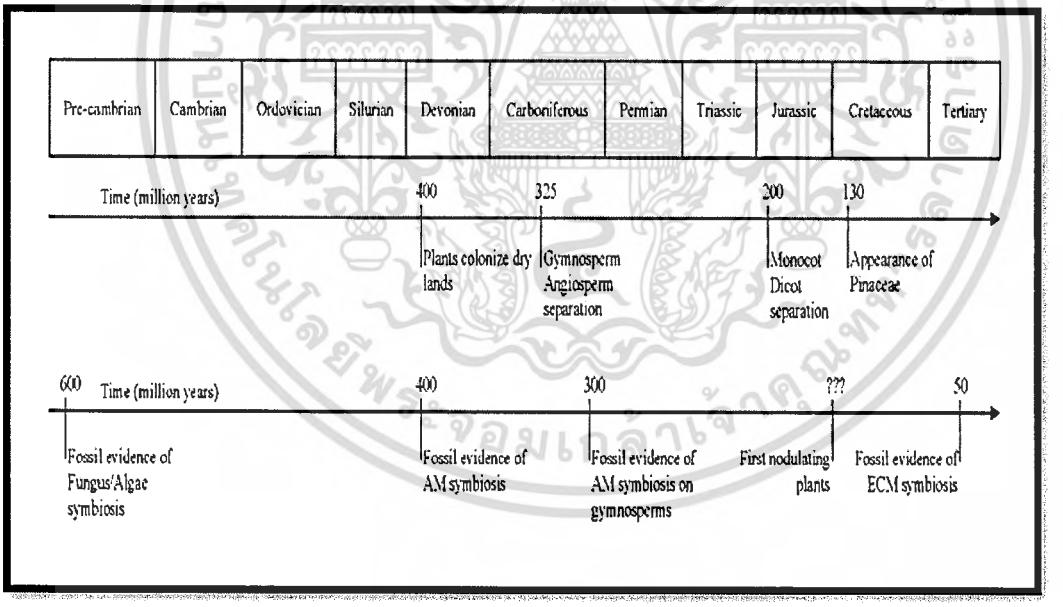
มีรูปร่างรีจนถึงค่อนข้างกลม ผิวเรียบ ผนังบาง มีขนาด 10.0-11.5 x 9.0 ไมโครเมตร มีสีเหลืองอมเขียว สีน้ำตาลอมเหลือง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ความสัมพันธ์ของเห็ดตับเต่ากับต้นมะกอกน้ำ

2.3.1 วิวัฒนาการและความหมายของความสัมพันธ์แบบไมคอร์ไรซา

หลักฐานฟอสซิลแสดงให้เห็นว่า ความสัมพันธ์แบบไมคอร์ไรซาระหว่างรากพืชและเชื้อราในดินมีมานานกว่า 400 ล้านปี โดยความสัมพันธ์นี้เชื่อว่ามีความเก่าแก่ที่สุดในพืชบก และน่าจะเริ่มต้นในช่วงแรกของการเกิดพืชบกสปีชีส์แรก เนื่องจากพืชและราจะวิวัฒนาการร่วมกันเพื่อปรับตัวให้เหมาะสมกับสิ่งแวดล้อมใหม่ ในช่วงยุค Carboniferous (ประมาณ 300 ล้านปีก่อน) หลักฐานฟอสซิล (fossil) แสดงถึงการแยกกันระหว่างพืชจิมโนสเปิร์ม (gymnosperm) และพืชแองจิโอสเปิร์ม (angiosperm) ออกจากบรรพบุรุษดั้งเดิม ซึ่งเป็นยุคที่มีการพบหลักฐานที่เก่าแก่ที่สุดของเอนโดไมคอร์ไรซาที่เจริญร่วมกับจิมโนสเปิร์ม ส่วนฟอสซิลความสัมพันธ์แบบเอคโตไมคอร์ไรซาที่เก่าแก่ที่สุดที่มีการค้นพบมีอายุ 50 ล้านปี พบกับพืชในกลุ่ม Pinaceae แต่เมื่อพิจารณาจากหลักฐานฟอสซิลของพืชและลำดับของช่วงเวลาการเกิดพืชชนิดแรกในกลุ่ม Pinaceae แล้วคาดว่าความสัมพันธ์แบบเอคโตไมคอร์ไรซาน่าจะมีมานานกว่า 100 ล้านปีแล้ว



รูปที่2.8 ลำดับการวิวัฒนาการของพืชและหลักฐานฟอสซิลของความสัมพันธ์แบบต่างฝ่ายต่างได้รับประโยชน์ชนิดต่างๆ (สุรเชษฐ์, 2551)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

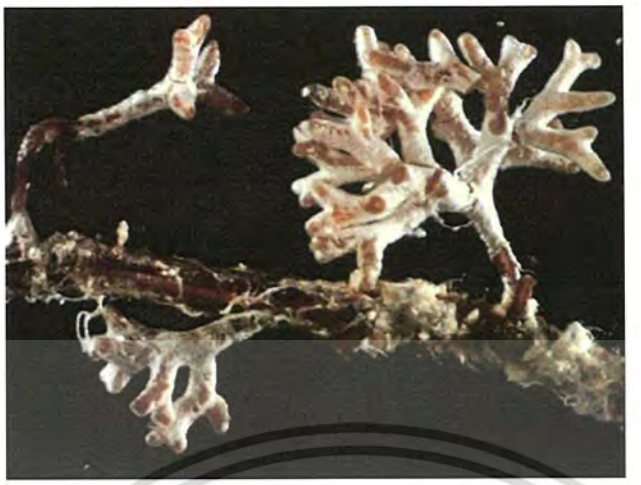
สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

2.3.2 ชนิดของราไมคอร์ไรซา

เมื่ออาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของรา จำแนกชนิดของราไมคอร์ไรซาได้เป็น 7 กลุ่ม ได้แก่ เอคโตไมคอร์ไรซา (Ectomycorrhiza), เอนโดไมคอร์ไรซา (Endomycorrhiza), เอคเทนโดไมคอร์ไรซา (Ectendomycorrhiza), อิริคอยด์ไมคอร์ไรซา (Ericoid mycorrhiza), อาร์บูทอยด์ไมคอร์ไรซา (Arbutoid mycorrhiza), โมโนโทรพอยด์ไมคอร์ไรซา (Monotropoid mycorrhiza) และ ออร์คิดไมคอร์ไรซา (Orchid mycorrhiza)

1. เอคโตไมคอร์ไรซา เป็นราที่สามารถสร้างเส้นใยรอบๆ รากพืชอัดกันแน่นเป็นแผ่นครอบคลุมผิวรากคล้ายกับเปลือกของรากอีกชั้นหนึ่ง ส่วนมากจะพบเป็น 2 ชั้นซึ่งเรียกโครงสร้างนี้ว่าแผ่นแมนเทิล (mantle sheat) สีของเส้นใยจะมีสีดำ ส้ม เหลือง น้ำตาล และไม่มีสีขึ้นอยู่กับชนิดของรา ในขณะเดียวกันเส้นใยของราบางส่วนจะเจริญเข้าไปภายในราก (intercellular hyphae) ระหว่างเซลล์เข้าสู่คอร์เท็กซ์ (cortext) เกิดลักษณะที่เป็นร่างแหเรียกว่า ฮาร์ติกเน็ท (hartig net) พบในพืชประมาณ 2,000 ชนิด ส่วนใหญ่เป็นไม้ป่า พืชอาศัยของเชื้อรา มีประมาณ 10-20 เปอร์เซ็นต์ของพืชชั้นสูง ที่สำคัญได้แก่ ไม้ในวงศ์สนเขา (Pinaceae) วงศ์ไม้ยาง (Dipterocarpaceae) วงศ์ไม้ยูคาลิปตัส (Myrtaceae) วงศ์ไม้มะค่าโมง (Caesalpinaceae) วงศ์ไม้ก่อ (Fagacea) วงศ์ไม้กำลังเสือโคร่ง (Betulaceae) เป็นต้น พืชพวกจิมโนสเปิร์ม ได้แก่ พืชใน Cypressaceae ส่วนพืชพวกแองจิโอสเปิร์ม (angiosperm) ที่เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ได้แก่ *Kobresia* sp. (วงศ์ Cryperceae) *Festuca* sp. (วงศ์ Gramineae) และ *Euerpe* sp. (วงศ์ Palmae) ส่วนพืชใบเลี้ยงคู่ ได้แก่ วงศ์ Betulaceae และ Salicaceae การอยู่ร่วมกันของเชื้อราพวกนี้ในรากพืชมีประโยชน์คือ สามารถทำให้ต้นไม้ได้รับธาตุอาหารพอเพียงที่จะทนทานต่อความแห้งแล้งได้ พันธุ์ไม้ชนิดหนึ่งอาจมีเชื้อราอาศัยได้อยู่หลายชนิด เช่น ในไม้สน (pine) ส่วนใหญ่จะมีราเอคโตไมคอร์ไรซาอยู่รวมกันตั้งแต่ 3 ชนิดขึ้นไป พบเชื้อราเอคโตไมคอร์ไรซาประมาณ 5,000 ชนิด ส่วนใหญ่เจริญเป็นเชื้อบริสุทธิ์ได้ในอาหารสังเคราะห์ ส่วนใหญ่ราเอคโตไมคอร์ไรซาเป็นราชั้นสูง จัดจำแนกอยู่ในไฟลัม Basidiomycota Ascomycota และ Zygomycota ราชนิดนี้มักจะสร้างดอกเห็ดเมื่ออยู่ในสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสม บางชนิดนิยมนำมารับประทาน เช่น *Amanita* spp. *Boletus* spp. และ *Russula* spp.

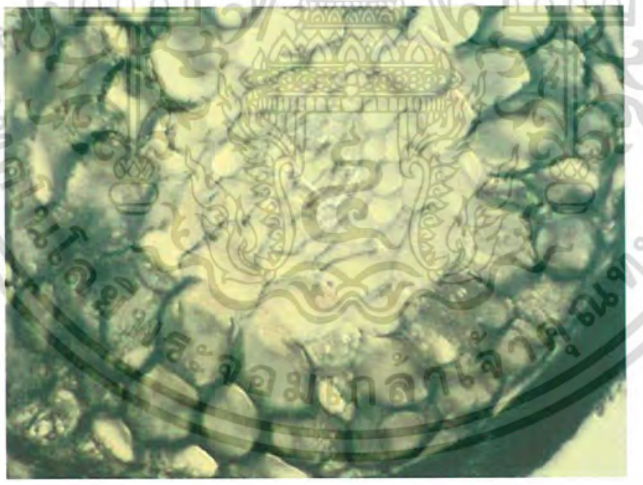
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
133000



รูปที่2.9 ราเอคโตไมคอร์ไรซาที่สร้างเส้นใยรอบบริเวณรากต้นสน *Pinus radiata*

ที่มา : http://mycorrhizas.info/ecm.html

(วันที่สืบค้น 20/12/56)



รูปที่2.10 การตัดตามขวางของรากสนขาวที่มีราเอคโตไมคอร์ไรซา เจริญเป็นแผ่นแมนเทิลและเจริญเข้าไปภายในรากระหว่างเซลล์

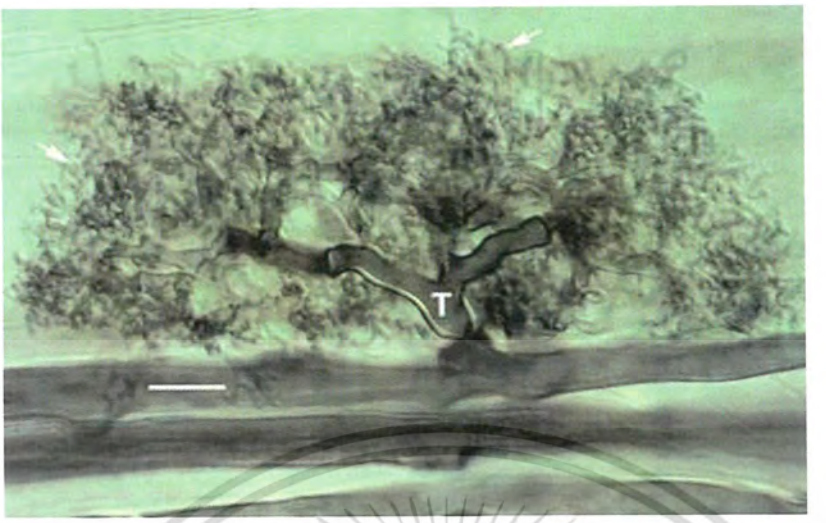
ที่มา : http://mycorrhizas.info/ecm.html

(วันที่สืบค้น 20/12/56)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. เอนโดไมคอร์ไรซา หรือ เวสสิคูลาร์-อาร์บัสคูลาร์ ไมคอร์ไรซา (Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza : VAM) เป็นราไมคอร์ไรซาที่มีเส้นใยเจริญสานกันอยู่หลวมๆ รอบรากพืชและบางส่วนของเส้นใยเจริญเข้าไปในเซลล์ของรากพืช (intracellular) และอาจเข้าไปอยู่ระหว่างเซลล์ (intracellular) ของรากพืชในชั้นคอร์เท็กซ์ นอกจากเส้นใยในรากแล้ว ยังสร้างโครงสร้างที่ไม่เหมือนราไมคอร์ไรซาแบบอื่นๆในเนื้อเยื่อราก 2 โครงสร้าง คือเวสสิเคิล (vesicle) และอาบัสคูล (arbuscule) เส้นใยอาจขดเป็นวงในเซลล์รากหรืออาจจะมีการแตกแขนงแบบไดโคโตมัส (dichotomous) จนเกือบเต็มเซลล์ ทำให้มีลักษณะคล้ายดอกกะหล่ำ หรือคล้ายต้นไม้อยู่ในเซลล์พืช เราเรียกโครงสร้างนั้นว่า อาบัสคูล โดยจะใช้เวลาในการเจริญประมาณ 4-5 วัน (Brundrett และคณะ , 1985) โครงสร้างอาบัสคูลนั้นเป็นโครงสร้างที่ซึ่งราใช้สะสมแร่ธาตุอาหารโดยเฉพาะฟอสฟอรัส ซึ่งเมื่อพืชย่อยสลายโครงสร้างนี้ สารอาหารสามารถถ่ายเทไปให้กับพืชได้ การถ่ายเทสารอาหารนั้นอาจเกิดจากการแลกเปลี่ยนสารอาหารที่บริเวณผิวหน้าของราที่อาบัสคูลสัมผัสกับเซลล์ และราจะได้รับสารคาร์โบไฮเดรตจากพืช โครงสร้างอาบัสคูลนี้จะมีอายุประมาณ 4- 15 วันก็จะสลายไป ในบางครั้งจะมีโครงสร้างซึ่งมีรูปร่างกลมหรือรูปไข่ ลักษณะคล้ายถุงผนังหนา เกิดที่ปลายของเส้นใย (terminal) หรือตรงกลางเส้นใย (intercalary) ซึ่งโป่งบวมออกมา ภายในมีหยดไขมันสีเหลืองบรรจุอยู่ เป็นโครงสร้างที่ใช้ในการสะสมอาหารของราและทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดี เรียกโครงสร้างนี้ว่าเวสสิเคิล บางครั้งไม่พบเวสสิเคิลในราก ราชนิดนี้สามารถเจริญร่วมกับพืชประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ของพืชทั้งหมด (สุรเชษฐ์, 2551) รากของพืชที่มีราอาศัยอยู่ร่วมด้วยจะสามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติและไม่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่2.11 แสดงลักษณะราเอนโดไมคอร์ไรซา *Glomus* sp.

ที่มา : http://mycorrhizas.info/ecm.html

(วันที่สืบค้น 20/12/56)

รูปที่2.12 แสดงลักษณะเวสสิเคิลของราเอนโดไมคอร์ไรซา *Glomus* sp. ในรากพืช

ที่มา : http://mycorrhizas.info/ecm.html

(วันที่สืบค้น 20/12/56)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

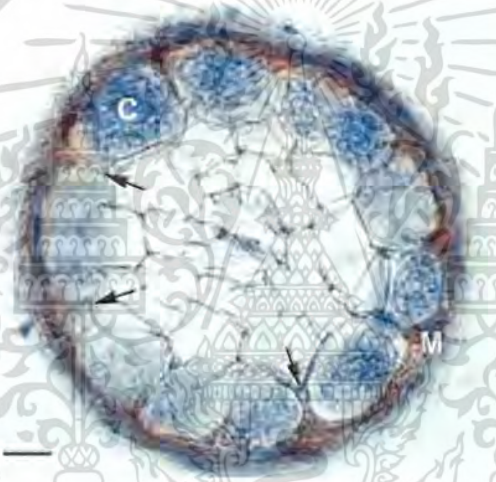
3. เอคเทนโดไมคอร์ไรซา เป็นราไมคอร์ไรซาที่มีลักษณะอยู่ระหว่างราเอคโตไมคอร์ไรซาและราเอนโดไมคอร์ไรซา อาจพบเส้นใยของราเจริญเกาะกันอยู่อย่างหลวมๆรอบๆรากพืชหรือไม่พบเลย มีเส้นใยบางส่วนเจริญเข้าสู่เซลล์พืช แล้วขดเป็นวงอยู่ภายในเซลล์ เส้นใยราจะทำให้เซลล์พืชในชั้นคอร์เท็กซ์มีขนาดยาวขึ้น บางครั้งพบเส้นใยเจริญเข้าไปอยู่ในช่องว่างระหว่างเซลล์ในชั้นคอร์เท็กซ์และสร้างฮาร์ทิกเน็ท ราที่มีการดำรงชีวิตแบบนี้เส้นใยจะมีผนังกั้น มีสีเข้ม จัดอยู่ในกลุ่ม Basidiomycetes และ Ascomycetes บางครั้งพบการสร้างคลามายโดสปอร์ (chlamydospore) เกิดขึ้นบนเส้นใย มีผนังหนา โป่งบวมออก ไม่พบโคนิเดีย (conidia) และโครงสร้างสืบพันธุ์อื่นๆ ตัวอย่างราเอคเทนโดไมคอร์ไรซา ได้แก่ *Rhizoctonia sylvestris* และ *Phiolocephala dimorphospora* พืชอาศัยของราเอคเทนโดไมคอร์ไรซาจะมีความคล้ายคลึงกับพืชอาศัยของราเอคโตไมคอร์ไรซา(Harley และ Smith, 1983) ซึ่งเป็นพืชในกลุ่ม Gymnospermae และ Angiospermae พบมากในรากของไม้สน (conifer) สปรูส (spruce) และบีช (beech)

4. อิริคอยด์ไมคอร์ไรซา เป็นราไมคอร์ไรซาของพืชในลำดับ Ericales ลักษณะสำคัญของ อิริคอยด์ไมคอร์ไรซา คือเส้นฝอยของราชนิดนี้จะมีผนังกั้น เป็นราในกลุ่ม Ascormycetes เช่น *Hymenoscyphus ericae* และ *Pezizella ericae* บางชนิดเป็นราในกลุ่ม Basidiomycetes *เช่น Clavaria argillacae* ราจะเจริญเข้าสู่เซลล์พืชแล้วม้วนขดเป็นวงอยู่ในเซลล์ของคอร์เท็กซ์ ไม่สร้างแผนเส้นใย พืชอาศัยเป็นไม้พุ่มหรือไม้ยืนต้นขนาดเล็กใน Ericaceae Epacridaceae และ Empetraceae (Harley และ Smith, 1983) เป็นไมคอร์ไรซาที่มีความสำคัญต่อพืชและระบบนิเวศน์เช่นเดียวกับราไมคอร์ไรซาชนิดอื่น แต่ที่สำคัญ คือ อิริคอยด์ไมคอร์ไรซามีบทบาทสำคัญมากสำหรับพืชที่ปลูกในดินที่มีความเป็นกรดสูง

รูปที่2.13 แสดงอิริคอยด์ไมคอร์ไรซา ในขนรากของ *Leucopogon verticillatus*
ที่มา : http://mycorrhizas.info/ecm.html
(วันที่สืบค้น 20/12/56)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

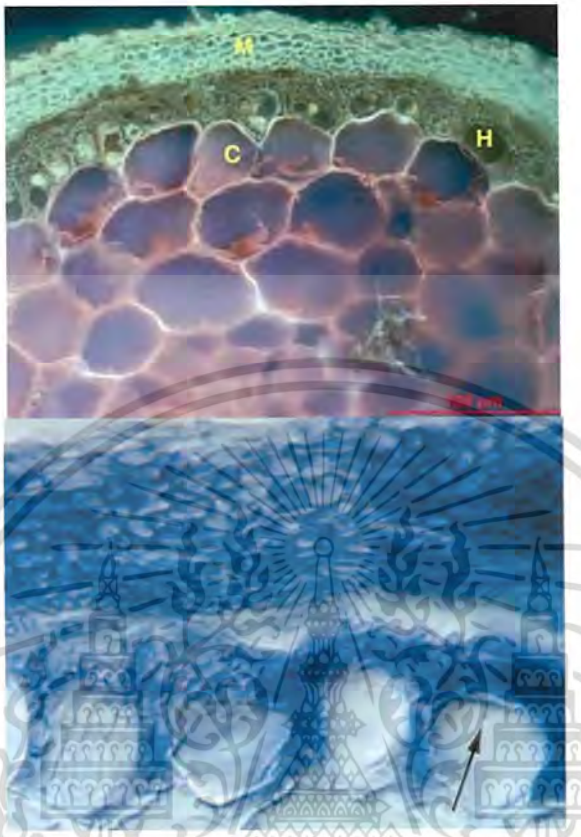
5. อาร์บูทอยด์ไมคอร์ไรซา เป็นราไมคอร์ไรซาของพืชในลำดับ Ericales อีกชนิดหนึ่งและเป็นพืชในสกุล Arbutus Pyrola และ Arctostaphylos โดยราที่อยู่ร่วมกับรากจะสร้างเส้นใยสานกันเป็นแผ่น ล้อมรอบราก ความหนาของแผ่นราขึ้นอยู่กับชนิดของราและพืชอาศัย บางครั้งอาจไม่พบแผ่นรารอบราก หลังจากนั้นเส้นใยบางส่วนเจริญเข้าไปอยู่ระหว่างเซลล์ในชั้นคอร์เท็กซ์สร้างฮาร์ทิกเน็ท และมีเส้นใยเล็กๆ งอกแทงเข้าสู่เซลล์แล้วเจริญขดม้วนเป็นวงอยู่ภายในเซลล์ มักพบในไม้ยืนต้นและไม้พุ่ม ที่โตเต็มที่แล้ว ซึ่งบางครั้งอาจมีความสัมพันธ์แบบเอคโตไมคอร์ไรซาหรือเอคเทนโดไมคอร์ไรซา กับพืชอาศัยชนิดอื่น เช่น *Cortinarius zakii* ซึ่งเป็น อาร์บูทอยด์ไมคอร์ไรซากับ *Arbutus menziesii* และเป็นเอคโตไมคอร์ไรซา กับ *Pseudotsuga douglasii* และกับ *Abies gandis* เป็นต้น



รูปที่2.14 แสดงการตัดตามขวางของราก *Arbutus unedo*
ที่มา : http://mycorrhizas.info/ecm.html
(วันที่สืบค้น 20/12/56)

6. โมโนโทรพอยด์ไมคอร์ไรซา เป็นไมคอร์ไรซาที่พบในพืช Monotropoidae ซึ่งเป็นพืชที่ไม่มีคลอโรฟิลล์ มีระบบรากเป็นรากแก้ว รากแขนงและรากฝอย บริเวณรากแขนงจะพบเส้นใยของราสานเป็นแผ่น หนา 2-3 ชั้น และมีเส้นใยสานกันเป็นตาข่ายล้อมรอบเซลล์ชั้นนอกสุดและชั้นคอร์เท็กซ์ของพืช เส้นใยนี้จะเชื่อมระหว่างรากของพืชใน Monotropoidae กับต้นไม้ยืนต้น ได้แก่ สน เนื่องจากพืชอาศัยของโมโนโทรพอยด์ไมคอร์ไรซาไม่สามารถสังเคราะห์แสงเองได้ โมโนโทรพอยด์ไมคอร์ไรซา จึงเป็นตัวถ่ายทอดสารอาหารจากไม้ยืนต้นไปยังพืชที่ไม่มีคลอโรฟิลล์ พืชอาศัยที่มีการศึกษากันมาก คือ *Monotropa hypopytis*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

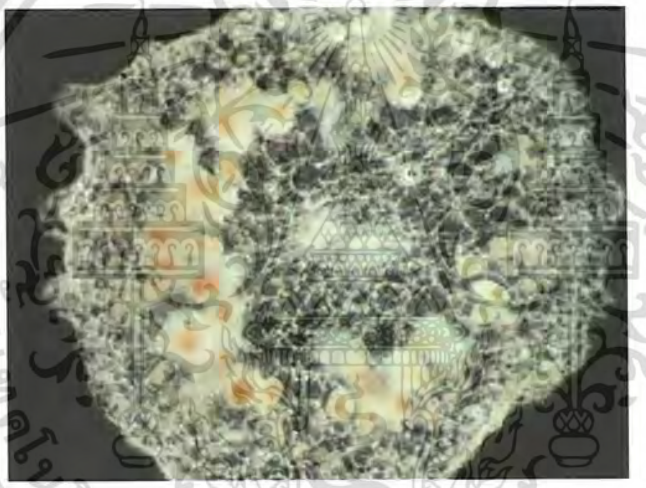


รูปที่2.15 แสดงการตัดตามขวางของราก *Monotropa* sp.
ที่มา : http://mycorrhizas.info/ecm.html
(วันที่สืบค้น 20/12/56)

7. ออร์คิดไมคอร์ไรซา เป็นราไมคอร์ไรซาที่อาศัยอยู่กับพืช Orchidaceae พบในรากกล้วยไม้ชนิดต่างๆ รวมทั้งในเมล็ดกล้วยไม้ช่วงพัฒนาจากต้นอ่อนไปเป็นต้นกล้า ราไมคอร์ไรซาชนิดนี้แตกต่างจากราไมคอร์ไรซาชนิดอื่นๆ คือ แทนที่จะได้อาหารจากพืช รากลับเป็นฝ่ายให้อาหารกับกล้วยไม้เสียเอง เนื่องจากเมล็ดกล้วยไม้มีขนาดเล็กมาก จึงมีอาหารสะสมไว้ภายในเมล็ดน้อย เมล็ดกล้วยไม้จะถูกกระตุ้นให้งอกก็ต่อเมื่อมีราไมคอร์ไรซาที่จำเพาะมาอยู่ด้วยราไมคอร์ไรซาพวกนี้จะเจริญอยู่ในดินที่มีสารอินทรีย์ โดยสามารถย่อยสลายเซลลูโลสและลิกนินได้ ราไมคอร์ไรซาชนิดนี้มีความสำคัญในการกระตุ้นการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ และให้สารอาหารที่ต้นกล้ากล้วยไม้ต้องการในการเจริญเติบโต เมื่อราไมคอร์ไรซาไปจับอยู่บนเมล็ดจะมีการงอกของเส้นใย เมล็ดกล้วยไม้จะดูดอาหารจากไมคอร์ไรซึ่งเป็นน้ำตาลชนิดหนึ่ง คือ น้ำตาล ทรีฮาโลส (Thehalose) ซึ่งเป็นตัวกระตุ้นให้เมล็ดกล้วยไม้งอก ราไมคอร์ไรซาให้อาหารกับ protocorn ซึ่งยังไม่มีคลอโรฟิลล์ ดังนั้นกล้วยไม้จึงต้องอาศัยอาหารจากราใน

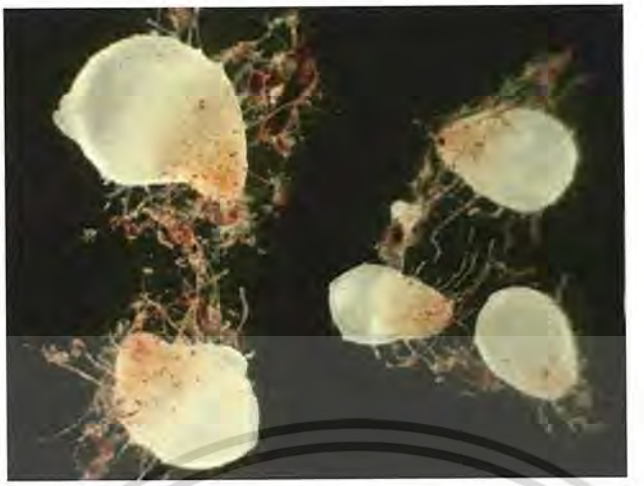
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ช่วงแรกของการเจริญเติบโตจนกว่ากล้วยไม้จากสร้างคลอโรฟิลล์ได้เอง ข้อมูลเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างเส้นใยราและ protocorn ยังคงมีอยู่น้อยมากและไม่มีหลักฐานที่บ่งชี้ว่า protocorn สร้างสารที่ชักนำให้เส้นใยรายืดยาวออกมาหาเมล็ดกล้วยไม้ เมื่อราเข้าไปในเซลล์พาเรงไคมา (parenchyma) ของรากแล้วเส้นใยจะม้วนเป็นวงเรียกว่า peloton หลังจากนั้นจะเกิดการแลกเปลี่ยนแร่ธาตุและอาหารกัน ระหว่าง peloton และโปรโตพลาสซึมของเซลล์พืช เชื้อรากลุ่มนี้ได้แก่ Rhizoctonia – like fungi ในระยะ perfect stage ที่เป็นพวก Tremellaceae และ Tulasnellaceae ซึ่งพึ่งพาอาศัยกับกล้วยไม้สีเขียว ส่วนเชื้อราพวก Basidiomycetes อาศัยอยู่รวมกับพืชพวก *Gastrodia elata* ในบางครั้งราในกลุ่มนี้อาจมีความสัมพันธ์แบบเอคโตไมคอร์ไรซา เช่น *Rhizoctonia gardneri* กับพืช *Melaleuca uncinata* และ *Eucalyptus* sp.



รูปที่2.16 แสดงการตัดขวางรากกล้วยไม้ (*Rhizanthella gardneri*) ที่มีเส้นใยม้วนเป็นวง (pelotons) เป็นเส้นใยสีขาวล้อมรอบเซลล์สีน้ำตาล
ที่มา : http://mycorrhizas.info/ecm.html
(วันที่สืบค้น 20/12/56)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่2.17 แสดงการงอกของกล้วยไม้ *Rhizanthella gardneri* โดยมีออร์คิดไมคอร์ไรซาเจริญร่วมอยู่
ที่มา : http://mycorrhizas.info/ecm.html
(วันที่สืบค้น 20/12/56)

2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญ (นริษฎา, 2552)

2.4.1 การเจริญเติบโต (Growth)

การเจริญเติบโตเป็นกระบวนการที่ซับซ้อน อาจจะเป็นการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์การเพิ่มน้ำหนัก การพัฒนา หรือการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เพื่อไปทำหน้าที่ต่างๆการเจริญเติบโตของเห็ดราในระดับเซลล์นั้น หมายถึง การที่เซลล์หลายๆ เซลล์เปลี่ยนไปทำหน้าที่ต่างๆ รวมถึงการเพิ่มจำนวนเซลล์และการขยายขนาด ก็จัดเป็นการเจริญเติบโตด้วย ซึ่งกระบวนการเจริญเติบของราที่เป็นเส้นสายย่อมมีความซับซ้อนกว่าพวกยีสต์

2.4.2 อัตราการเจริญเติบโต

ในการศึกษาเรื่องการเจริญเติบโตนั้น ก็คือการศึกษาถึงอัตราหรือจำนวนของเซลล์ที่เพิ่มขึ้นระหว่างการบ่ม ซึ่งการหาอัตราค่าเฉลี่ยของการเจริญเติบโตนั้น สังเกตโดยการวัดการเจริญเติบโตเทียบกับเวลา ซึ่งหมายถึงการวัดดูการเพิ่มขึ้นของมวลเซลล์ต่อหน่วยของเวลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.3 วิธีการวัดการเจริญเติบโต มีหลายวิธี ดังนี้

1. การวัดน้ำหนักแห้ง (Dry weight) เป็นวิธีที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง เป็นวิธีที่ง่าย และสามารถวัดการเจริญเติบโตได้ดี แต่มีข้อเสียก็คือไม่สามารถวัดเซลล์ที่มีปริมาณมาก และมีขนาดใหญ่ได้ ไม่สามารถใช้วัดการเจริญในอาหารแข็งได้ รวมทั้งใช้เวลามาก และการวัดจะไม่ต่อเนื่อง

2. การวัดขนาดของโคโลนี (Linear extension) เป็นวิธีการที่สามารถทำได้ต่อเนื่องสามารถใช้วัดในอาหารแข็งได้ แต่ข้อเสียก็คือไม่สามารถวัดในแนวดิ่งได้

3. การนับจำนวนเซลล์ (Cell number) ส่วนใหญ่ใช้กับยีสต์โดยใช้ Haemacytometer สามารถวัดทางอ้อมโดยการวัดความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อได้ แต่ข้อเสียก็คือไม่สามารถแยกเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ออกจากเซลล์ที่ไม่มีชีวิตได้

4. ความเข้มข้นขององค์ประกอบเซลล์ (Concentration of cell components) ดูการเปลี่ยนใน ไคติน (chitin) และกลูโคซามีน (glucosamine) ส่วนใหญ่ใช้การวัดการเจริญของพืช

2.4.4 ปัจจัยสำคัญในการเจริญของเส้นใย

สิ่งแวดล้อมนั้นมีผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ดมาก ซึ่งเห็ดแต่ละชนิดนั้นต้องการปัจจัยเหล่านี้ต่างกันออกไป ได้แก่ อาหารที่ใช้ในการเลี้ยง แร่ธาตุอาหาร พีเอช ของน้ำและอาหารที่ใช้เลี้ยง อากาศ อุณหภูมิ ความชื้น แสง และสิ่งมีชีวิตที่อยู่รอบข้าง

การแยกเชื้อและการเพาะเลี้ยงเชื้อบริสุทธิ์ของเชื้อราเอคโตไมคอร์ไรซา มีความสำคัญในการวิจัย ผู้เชี่ยวชาญทางด้านเห็ดรา นำเห็ดจากธรรมชาติมาทดลองทางสรีรวิทยาของเชื้อที่สนใจเกี่ยวกับปัจจัยทางด้านกายภาพ รวมถึงด้านชีวภาพ ที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อราเอคโตไมคอร์ไรซาในห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาปัจจัยต่างๆที่เห็ดแต่ละชนิดต้องการและเจริญเติบโตได้ดีที่สุด พร้อมทั้งศึกษาในสภาพสิ่งแวดล้อมจริงควบคู่กันไปด้วยซึ่งมีความสำคัญมาก

2.4.5 ปัจจัยที่มีความสำคัญในการเจริญเติบโตของเชื้อราเอคโตไมคอร์ไรซา

สารอาหาร

เห็ดและราส่วนใหญ่ ต้องการอาหารที่ค่อนข้างซับซ้อน และแตกต่างกันไปในแต่ละชนิดของเห็ด ธาตุและสารประกอบที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของเห็ด แบ่งออกเป็น 4 ประเภท ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. แหล่งคาร์บอน

แหล่งคาร์บอนเป็นสิ่งที่จำเป็นเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตของเห็ดรา โดยส่วนใหญ่มักใช้ที่ 3–28 เปอร์เซ็นต์ แหล่งคาร์บอนที่นำมาใช้เลี้ยงเห็ดรามีหลายชนิด เช่น โมโนแซคคาไรด์ (Monosaccharide) ได้แก่ กลูโคส ฟรุคโตส กาแลคโตส แมนโนส, โอลิโกแซคคาไรด์ (Oligosaccharide) ได้แก่ เซลโลไบโอส แลคโตส มอลโตส ซูโครส เซลลูโลส เดกซ์ทริน และ แป้ง (Polysaccharide) ธาตุคาร์บอนเมื่อถูกดูดซึมเข้าสู่เซลล์ในเส้นใยแล้วเซลล์จะนำธาตุคาร์บอนไปสร้างสารที่เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ใหม่ เช่น เซลลูโลส หรือ นำธาตุคาร์บอนไปใช้ในกระบวนการเมทาโบลิซึมของเซลล์ต่อไป โดยความต้องการแหล่งของคาร์บอนของเห็ดราแต่ละชนิดไม่เหมือนกัน

การศึกษาผลของคาร์บอนต่อการเจริญเติบโตของ *Psathyerella atroumbonata* ในอาหารเหลว ที่เติมแหล่งคาร์บอน 1 เปอร์เซ็นต์ ลงไปในแต่ละอาหารทดสอบ พบว่าเห็ด *P. atroumbonata* เจริญได้ดีที่สุดในอาหารที่มีกลูโคส เป็นแหล่งคาร์บอน ถัดมาเป็นแมนโนส เซลลูโลส และ แมนนิทอล เช่นเดียวกับเห็ดนางรม (*Pleurotus florida*) ที่เจริญได้ดีที่สุดในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคส ถัดมาเป็นแมนนิทอล กาแลคโตส และ ฟรุคโตส เมื่อนำเส้นใยเห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*) มาเลี้ยงเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนคือ ข้าวฟ่าง ข้าวโพด ข้าวเจ้า และข้าวไรย์ โดยใช้คาร์บอนแต่ละแหล่ง 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในอาหาร malt extract broth บ่มไว้ 3 วันปรากฏว่าเส้นใยเจริญได้มากที่สุดถึง 9.71 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในอาหาร malt extract broth ที่เติม ข้าวฟ่างลงไป

2. แหล่งไนโตรเจน

สูตรอาหารในห้องปฏิบัติการมักจะใช้เปปโตน กรดอะมิโน เช่น กรดกลูตามิก หรือ เอไมด์ เป็นแหล่งไนโตรเจน เนื่องจากสารเหล่านี้เส้นใยเห็ดสามารถนำไปใช้ได้ทันทีนอกจากนี้ยังมีแหล่งไนโตรเจนอื่นๆที่เส้นใยเห็ดราสามารถนำไปใช้ได้ โดยที่เชื้อเห็ดราแต่ละชนิดจะมีแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตไม่เหมือนกัน เช่น เมื่อหาแหล่งไนโตรเจนและความเข้มข้นที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดสกุล Boletinus โดยใช้อาหาร Ohta medium ที่มีแหล่งไนโตรเจนต่างๆ พบว่า เส้นใยเห็ดในสกุล Boletinus เจริญได้ดีในอาหาร Ohta medium ที่มี Ammonium tartrate เป็นแหล่งไนโตรเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. เกลือและแร่ธาตุต่างๆ

เกลือและแร่ธาตุต่างๆ จัดเป็นสิ่งที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของเห็ดเช่นเดียวกับพืชชั้นสูง ถ้าหากขาดธาตุดังกล่าว รูปร่างของเห็ดจะเปลี่ยนแปลงไปได้ ซึ่งเซลล์ของเห็ดราไม่ได้ต้องการเกลือและแร่ธาตุต่างๆในปริมาณที่มากเช่นเดียวกับ แหล่งของคาร์บอนและ ไนโตรเจน แต่ขาดไม่ได้ เพื่อที่จะใช้เป็นตัวกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ภายในเซลล์ให้ทำงานอย่างสม่ำเสมอ ตัวอย่างอาหารที่มีเกลือและแร่ธาตุในอาหารเช่น Fries medium และ Fungus – host medium agar เป็นต้น

4. สารประกอบอินทรีย์บางชนิด (Essential organic compound)

ได้แก่ พวกวิตามิน ช่วยให้เส้นใยเห็ดเจริญเติบโตได้ดี ช่วยในกระบวนการเมทาบอลิซึมของเซลล์ให้เกิดขึ้นอย่างสม่ำเสมอ ถ้าหากขาดสารต่างๆเหล่านี้เส้นใยอาจจะไม่เจริญเติบโตหรือเจริญช้า ตัวอย่างอาหารที่เติมสารประกอบอินทรีย์พวกวิตามิน ได้แก่ Modified Gamborg medium, Modified SH medium และ Murashige & Skoog agar เป็นต้น

อัตราส่วนของแหล่งคาร์บอนกับไนโตรเจน (C:N ratio)

โดยหลักแล้วเชื้อรามีความต้องการคาร์บอนต่อไนโตรเจนในอัตราส่วนที่แตกต่างกันไปตามชนิดของเห็ด โดยทั่วไปอัตราส่วนระหว่างแหล่งคาร์บอนต่อแหล่งไนโตรเจน (C:N ratio) ที่เหมาะกับการเจริญของเส้นใยเห็ดนั้นมีความแตกต่างกันไปตามชนิดของเห็ดเช่นเดียวกัน เช่นเมื่อหาค่า C:N ratios ที่เหมาะสมของเห็ดนางรมในอาหาร basal mediumโดยเลือกแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่ทำให้เชื้อเห็ดดังกล่าวเจริญได้สูงสุด นำมาทดสอบที่ความเข้มข้น 0.1 ต่อน้ำ 1,000 มิลลิลิตร นั้นได้ผลคือ เส้นใยเห็ดนางรม (*Pleurotus florida*) เจริญได้ดีที่สุดที่ อัตราส่วนระหว่างแหล่งคาร์บอนต่อแหล่งไนโตรเจน เท่ากับ 5:3 ส่วนค่า C:N ratios ที่เหมาะสมของเห็ด *Psathyerell atroumbonata* ซึ่งเป็นเห็ดกินได้ คือ 2:3 เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว basal medium โดยเลือกแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่ทำให้เชื้อเห็ดดังกล่าวเจริญได้สูงสุด นำมาทดสอบที่ความเข้มข้นเท่า 0.1 ต่อน้ำ 1,000 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พีเอช

พีเอชเป็นปัจจัยที่สำคัญที่มีผลต่อการเจริญของเส้นในเห็ดรา ส่วนใหญ่เชื้อรามักเจริญได้ดีในพีเอชใกล้เคียง 7 ค่อนไปทางกรดเล็กน้อยพีเอชที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเชื้อราชนิดต่างๆนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อรา และความต้องการสารอาหารที่จำเป็นในธรรมชาติ กล่าวคือเชื้อราชนิดต่างๆจะสามารถเจริญได้ดีที่พีเอชต่างกัน เช่น *Dendryphiella salina* เจริญได้ดีที่พีเอช 4-6, *Cladosporium herbarium* เจริญได้ดีที่พีเอช 5-6, *Monodictys pelagica* เจริญได้ดีที่พีเอช 6 และ *Alternaria* sp. เจริญได้ดีที่พีเอช 6-7 และจากการศึกษาผลของพีเอชต่อการเจริญเติบโตของเห็ดพวก ammonia fungi ที่เป็นซาโพรบ และเอคโตไมคอร์ไรซา ในอาหารเหลวที่มีพีเอชต่างๆพบว่าเห็ด amnonia fungi เจริญได้ดีที่พีเอช 7 และเมื่อนำเห็ดซาโพรบและเอคโตไมคอร์ไรซา จำนวน 15 ชนิด มาทำการศึกษาในอาหารเหลวที่มีพีเอชต่างๆ พบว่าพวกเห็ดซาโพรบส่วนใหญ่เจริญได้ดีที่พีเอช 7 หรือ 8 ส่วนเส้นใยเอคโตไมคอร์ไรซาส่วนใหญ่เจริญได้ดีที่พีเอช 5 หรือ 6 ส่วนเส้นใยบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า CMU 2100 เจริญได้ดีที่สุดที่พีเอช 4 โดยทำการทดลองในอาหารเหลวที่มีพีเอช ต่างๆซึ่งอยู่ระหว่างพีเอช 1-9 ซึ่งความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราเอคโตไมคอร์ไรซากับพีเอชที่เชื้อสามารถเจริญได้ดีสามารถนำมาใช้ในการจำแนกเห็ดได้ เห็ดในกลุ่ม Agaricales และ Aphyiiophorales ชอบพีเอชที่เป็นกลาง

อุณหภูมิ

อุณหภูมิเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญในการเจริญเติบโตของเชื้อรา ซึ่งเชื้อราชนิดต่างๆจะมีการเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิต่างกัน เช่น *Chrysosporium pannorum* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 20องศาเซลเซียส, *Thelebolus microsporus* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ส่วน*ใน Coriolus hirsutus* ซึ่งเป็นพวก woodrotting พบว่าเห็ดดังกล่าวสามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30-36 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกับเห็ดฟางจะเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เห็ดนางรมเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ส่วนเห็ด *Agrocybe aegerita* เจริญได้ดีที่ 25 หรือ 30 องศาเซลเซียส และ เห็ดหอมสามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ เท่ากับ 20 หรือ 30 องศาเซลเซียส สำหรับราเอคโตไมคอร์ไรซา อุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมก็มีผลต่อการเจริญการผลิตและกิจกรรมของเอนไซม์และการอยู่รอดของราเอคโตไมคอร์ไรซาเช่นกัน โดยส่วนใหญ่แล้วมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ที่ 18-27 องศาเซลเซียส (Harley และ Smith, 1983) ตัวอย่างเช่น เส้นใยบริสุทธิ์เห็ดตับเต่าสามารถเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในที่มืดเมื่อทำการทดสอบในอุณหภูมิต่างๆ ดังนี้ 20, 25, 30 และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

37 องศาเซลเซียส ในอาหาร MMN (Modified Melin Norkans) ซึ่งวัดการเจริญเติบโตโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเห็ดทุก 2 วัน

2.5 การผลิตหัวเชื้อเอคโตไมคอร์ไรซา

การแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และการคัดเลือกเชื้อแล้วผลิตหัวเชื้อเอคโตไมคอร์ไรซาเป็นส่วนสำคัญในการศึกษาเกี่ยวกับเอคโตไมคอร์ไรซา (Brundrett และคณะ, 1996)

2.5.1 ขั้นตอนการผลิตหัวเชื้อเอคโตไมคอร์ไรซา

มีขั้นตอนคล้ายกับการเพาะเลี้ยงเห็ดโดยทั่วไป โดยมีขั้นตอนหลักๆ (บรรณ, 2547)ดังนี้

1. การแยกเชื้อเห็ดให้บริสุทธิ์ โดยการนำเอาดอกเห็ดหรือ สปอร์มาเพาะให้เจริญขึ้นเป็นเส้นใยโดยในขั้นนี้จะเลี้ยงเส้นใยในอาหารวุ้น การแยกเชื้อเห็ดสามารถทำได้ 2 วิธีคือ

- การแยกเชื้อให้บริสุทธิ์จากสปอร์

- การแยกเชื้อบริสุทธิ์จากเนื้อเยื่อ โดยตัดเยื้อเยื่อของเห็ดมาเลี้ยงบนอาหารวุ้นในสภาพปลอดเชื้อ

2. การผลิตหัวเชื้อเห็ด เป็นขั้นตอนที่ทำให้มีปริมาณเชื้อมากขึ้น ส่วนใหญ่มักนิยมใช้เมล็ดธัญพืช เนื่องจาก ราคาถูก ดูแลจัดการได้ง่าย

3. การผลิตหัวเชื้อในขี้เลื่อย เป็นการเพิ่มปริมาณเส้นใย โดยให้ลักษณะใกล้เคียงกับธรรมชาติมากที่สุด เพื่อเป็นการส่งเสริมการออกดอกเห็ดนั่นเอง

2.5.2 ชนิดของหัวเชื้อ

1. หัวเชื้อจากดิน

โดยการใช้ดินที่อยู่บริเวณรากของต้นไม้ที่มีไมคอร์ไรซา มาเป็นหัวเชื้อในการรองก้นหลุมก่อนปลูกพืชอาศัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. หัวเชื้อจากสปอร์

หัวเชื้อแบบนี้เหมาะกับเห็ดที่มีปริมาณสปอร์มากเช่นเห็ดเผาะ เห็ดกรวด โดยการนำดอกเห็ดที่มีสปอร์แก่มาปั่นหรือบี้ แล้วนำไปรด หรือรองก้นหลุมให้กับต้นไม้

3. หัวเชื้อจากเส้นใย

โดยการแยกจากดอกเห็ด มาเลี้ยงในอาหารวุ้น จากนั้นขยายเชื้อในอาหารพวกธัญพืชต่อไป

2.5.3 การผลิตหัวเชื้อโดยการใช้เมล็ดธัญพืช

การผลิตหัวเชื้อเอคโตไมคอร์ไรซา เป็นการเพิ่มปริมาณเชื้อราให้มีปริมาณมากขึ้น เพื่อนำไปปลูกให้กับพืชอาศัยต่อไป โดยส่วนใหญ่มักนิยมขยายเชื้อในอาหารพวกธัญพืช เช่น เมล็ดข้าวไรย์ ข้าวบาร์เลย์ ข้าวฟ่าง ข้าวบาร์เลย์ผสมขี้เลื่อยข้าวผสมขี้เลื่อย เป็นต้น

การผลิตหัวเชื้อโดยการใช้เมล็ดธัญพืช เป็นวิธีที่นิยมกันมาก แต่วิธีนี้มีข้อเสียคือ เกิดการปนเปื้อนของเชื้ออื่นๆได้ง่าย เช่นมี แบคทีเรีย แอกติโนไมซีส ยีสต์ และ เชื้อราอื่นๆติดอยู่ที่เมล็ดธัญพืช ดังนั้นต้องมีการฆ่าเชื้อเมล็ดธัญพืชให้ดีก่อน เพื่อป้องการการปนเปื้อนของเชื้อดังกล่าว การทำหัวเชื้อเห็ด *Boletus* sp. ในอาหารธัญพืชหลายชนิด เช่น ข้าวบาร์เลย์ผสมขี้เลื่อย ข้าวผสมขี้เลื่อย ในอัตราส่วนต่างๆ และมีการเติมน้ำ และสารละลาย S Solution รวมทั้งวัดการเจริญของเส้นใยที่เจริญลงไปในอาหารทุก 3 วัน ปรากฏว่า เชื้อเห็ด *Boletus* sp. เจริญได้ดีในข้าวบาร์เลย์ผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ที่มีการเติมน้ำลงไป (นริษฎา, 2552)

2.5.4 การปลูกเชื้อให้กับพืชอาศัย

ในการปลูกเชื้อให้กับพืชอาศัยนั้นใช้หลักการให้เชื้อเอคโตไมคอร์ไรซา ได้มีโอกาสเจอกับรากมากที่สุด ซึ่งการเข้ารากของเชื้อเอคโตไมคอร์ไรซานั้นจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดและอายุพืชของอาศัยและเชื้อเอคโตไมคอร์ไรซาการเข้าไปอยู่ในรากของเชื้อราเอคโตไมคอร์ไรซานั้นจะช่วยให้พืชได้รับฟอสเฟตเพียงพอส่วนรากก็ช่วยให้เชื้อราเอคโตไมคอร์ไรซาให้ได้รับสารอาหารอย่างเพียงพอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.5 การศึกษาการเข้ารากพืชของเชื้อรา

หลังจากปลูกเชื้อเอคโตไมคอร์ไรซาให้กับพืชแล้ว ยังต้องมีการศึกษาการเข้ารากพืชของเชื้อรา โดยการนำรากพืชมาย้อมสีแล้วตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Laguette , 2000) โดยดูโครงสร้างของเชื้อราที่แทรกอยู่ระหว่างเซลล์พืชในชั้นคอร์เท็กซ์และสังเกตการรอดชีวิตของต้นกล้าด้วย

2.5.6 ระยะเวลาการเข้ารากของเชื้อเอคโตมายคอร์ไรซา

ระยะเวลาในการเข้ารากของเชื้อนั้นจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดและอายุพืชของอาศัยและชนิดเชื้อเอคโตไมคอร์ไรซาการเข้าราก *Eucalyptus grandis* และ *E. urophylla* ของเห็ด *Pisolithus* sp. ที่มีพืชอาศัยและแหล่งที่อยู่ต่างกัน จำนวน 29 ตัวอย่าง โดยทดลองภายใต้สภาวะโรงเรือน พบว่า *Pisolithus* sp. ที่เก็บจากบริเวณต้นสนสามารถเจริญเข้าราก *E. grandis* และ *E. urophylla* ได้ 0-5.2 เปอร์เซ็นต์ ส่วน *Pisolithus* sp. ที่เก็บจากบริเวณต้นยูคาลิปตัสสามารถเข้าราก *E. grandis* และ *E. urophylla* ได้ ถึง 0.8-89.4 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการเข้ารากของหัวเชื้อ *Lactarius* sp. ใน ต้น *Pinus pinaster* และ *P. sylvertris* ในสภาวะเรือนทดลอง พบว่าเส้นใยหัวเชื้อเห็ด *Lactarius* sp. ใช้เวลา 4 เดือนในการเข้ารากพืชทั้งสองชนิด การเข้าราก *Pinus densiflora* อายุ 11 สัปดาห์ของเชื้อ *Tricholoma matsutake* พบว่าเมื่อทำการปลูกเชื้อเป็นเวลา 4 สัปดาห์ เส้นใยเชื้อราสามารถเข้าไปอยู่ในเซลล์พืชได้ และยังสังเกตเห็นการสร้างฮาร์ทิกเน็ท ในสัปดาห์ที่ 4 อีกด้วย (Laguette, 2000)

2.6 มะกอกน้ำ (*Elaeocarpus hygrophilus* Kurz)

มะกอกน้ำเป็นพืชตระกูล Elaeocarpaceae มีอยู่ไม่น้อยกว่า 200 ชนิด แต่ที่สำคัญและรู้จักกันดีในประเทศไทยคือ มะกอกน้ำ (*Elaeocarpus hygrophilus* Kurz) พบอยู่ในประเทศแถบอินโดจีน มาเลเซีย และออสเตรเลีย เป็นพันธุ์ไม้ยืนต้นที่รู้จักมานานด้านสมุนไพร มะกอกน้ำเป็นพืชที่ทนน้ำได้ดี เพราะมีรากพิเศษงอกออกได้เมื่อน้ำท่วม และสามารถทนแล้งได้ดี มะกอกน้ำที่ปลูกตอนกิ่งจะออกดอกติดผลได้ตั้งแต่อายุ 1 ปีถึง 1 ปีครึ่ง ผลของมะกอกน้ำมีประโยชน์ในการใช้ดองเค็ม ดองหวาน แช่อิ่ม เชื่อม และที่สำคัญเมล็ดของมะกอกน้ำมีน้ำมันที่อาจใช้ประโยชน์เพื่อการบริโภคแทนน้ำมันโอลีฟ นอกจากนั้นมะกอกน้ำยังมีคุณสมบัติเด่นในการนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านสมุนไพร สำหรับสตรีหลังคลอดโดยต้นและเปลือกแห้งนำไปชงเป็นยาฟอกเลือดซึ่งถือว่าใช้แล้วปลอดภัย และยังเป็นพืชเศรษฐกิจอีกชนิดหนึ่งด้วย (สัมฤทธิ์ และคณะ, 2544)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.1 อนุกรมวิธานของมะกอกน้ำ

มะกอกน้ำ มีชื่อพื้นเมืองว่า สารภีน้ำ (ภาคกลาง), สมอพิพ่าย (ระยอง) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Elaeocarpus hygrophilus* Kurz. (สุดารัตน์, 2553)

สามารถจัดจำแนกได้

(http://arctos.database.museum/name/Elaeocarpus%20hygrophilus)

ดังนี้

Kingdom : Plantae

Divisions : Tracheophyta

Class : Magnoliopsida

Order : Malvales

Family : Elaeocarpaceae

Genus : Elaeocarpus

Species : *Elaeocarpus hygrophilus*

2.6.2 ลักษณะทั่วไป (สุดารัตน์, 2553)

ต้นไม้เป็นไม้ต้น ขนาดเล็กถึงขนาดกลาง สูง 8 - 10 เมตร เรือนยอดเป็นพุ่มกลม โปร่ง แตกกิ่งต่ำ สัดส่วนของเรือนยอด 70 เปอร์เซ็นต์ของลำต้น จึงมักพบว่ามีหลายลำต้นในต้นเดียวกัน ลำต้นมีเปลือกนอก สีเทา มีลายขาวของเราติดอยู่ทั่วไป เปลือกใน สีแดงอ่อน ๆ

ใบ

ใบเดี่ยว เรียงแบบบันไดเวียนห่าง ๆ รูปไข่กลับ หรือขอบขนานแกมไข่กลับ กว้าง 2 - 3 เซนติเมตร ยาว 5.5 – 8.5 เซนติเมตร ปลายใบมน โคนใบสอบแคบ ขอบใบหยักมนตื้นๆ และห่าง ๆ ใบเกลี้ยงก้านใบสีแดง ยาว 1 - 2 เซนติเมตร เส้นแขนงใบจำนวน 7 - 9 คู่ ออกเรียงสลับไม่เป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระเบียบ ปลายเส้นแขนงโค้งไปจรดเส้นถัดไป เส้นย่อยเป็นร่างแหชัดเจน ใบอ่อน สีเขียวอ่อน ใบแก่ สีเขียวเข้มและก่อนร่วงเปลี่ยนเป็นสีส้มแดง

รูปที่2.18 ลักษณะใบของมะกอกน้ำ

ที่มา : http://www.phargarden.com/main.php?action=viewpage&pid=88

(วันที่สืบค้น 20/12/56)

ดอก

ออกเป็นช่อตามง่ามใบ ยาว 4 - 5 เซนติเมตร มีขนสีขาวเป็นเงา กลีบรองกลีบดอก 5 กลีบ มีขนาดยาวกว่ากลีบดอกเล็กน้อย ขอบกลีบจักเป็นฝอย ลึกประมาณครึ่งหนึ่งของความยาว ไม่มีขนเกสรผู้จำนวนมาก มีขนสั้น ๆ รังไข่มีขนหยิกเป็นมัน ภายในมี 2 - 5 ช่อง แต่ละช่องมีไข่อ่อน 2 หน่วยหรือมากกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่2.19 ลักษณะช่อดอกของมะกอกน้ำ

ที่มา : http://www.phargarden.com/main.php?action=viewpage&pid=88

(วันที่สืบค้น 20/12/56)

ผล

ผลสด รูปรี ยาวประมาณ 2 - 3 เซนติเมตร สีเขียวอ่อน เนื้อนุ่ม เนื้อรับประทานได้ รสเปรี้ยวฝาด เมล็ดแข็งมีเมล็ดเดียว รูปรี ปลายแหลมทั้งสองด้าน ผิวเมล็ดขรุขระ ผลอ่อน สีเขียวนวล ๆ ผลแก่ สีเขียวอมเหลือง ระยะเวลาในการออกดอกและเป็นผลระหว่างเดือน เมษายน-พฤษภาคม และเป็นผลระหว่างเดือน ตุลาคม-ธันวาคม การขยายพันธุ์ นิยมใช้เมล็ด และการตอนกิ่ง ปัจจุบันนิยมปลูกเป็นไม้ผลยืนต้นทางเศรษฐกิจที่มีผลิผลิตสูงสม่ำเสมอ และ ราคาดีมาก ปลูกได้ง่าย เติบโตเร็ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่2.20 ลักษณะผลของมะกอกน้ำ

ที่มา : http://www.phargarden.com/main.php?action=viewpage&pid=88

(วันที่สืบค้น 20/12/56)

2.6.3 ประโยชน์ของต้นมะกอกน้ำ

2.6.3.1 ด้านเป็นพืชอาหาร มีส่วนที่เป็นอาหารคือ

ผล ผลแก่มีรสฝาดอมเปรี้ยว นิยมนำไปทุบพอยุบตัวแล้วต้มดองเป็นผลมะกอกดอง ใส่น้ำตาลพอหวานปะแล่ม ๆ อมเปรี้ยว รสฝาดจะหายไป เป็นผลไม้ดองที่นิยมกันมาก ด้วยเหตุนี้ มะกอกน้ำจึงมีการปลูกและจำหน่ายผลกันมาก มีตลาดแน่นอน ราคาสูง ไม่เน่าเสีย

ปริมาณคุณค่าสารอาหาร กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณะสุข ได้รายงานไว้ในปี พ.ศ. 2530 ว่าคุณค่าสารอาหารของผลมะกอกน้ำในส่วนที่กินได้ 100 กรัม ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายประกอบด้วย พลังงาน 86 แคลอรี น้ำ 75.8 กรัม ไขมัน 0.3 กรัม คาร์โบไฮเดรต 22.3 กรัม เยื่อใยในอาหาร 0.5 กรัม โปรตีน 1.0 กรัม แคลเซียม 14 มิลลิกรัม ฟอสฟอรัส 35 มิลลิกรัม เหล็ก 0.9 มิลลิกรัม วิตามินเอ 375 หน่วยสากล (I.U.) วิตามินบี1 0.09 มิลลิกรัม วิตามินบี2 0.05 มิลลิกรัม วิตามินซี 49 มิลลิกรัม ไนอะซิน 0.4 มิลลิกรัม (สุทิน และคณะ, 2553)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้น้ำมันมะกอกถือว่าเป็นน้ำมันที่มีคุณภาพในแง่โภชนาการ เนื่องจากน้ำมันมะกอกมีส่วนประกอบของ Mono unsaturated fatty acid โดยเฉพาะ oleic acid ที่พบในปริมาณสูง ผิดกับพืชน้ำมันอื่นๆ ที่มีส่วนประกอบใหญ่เป็น Poly unsaturated fatty acid โดยมีผลในการช่วยลดปริมาณของโคเลสเตอรอลในเส้นเลือดได้และยิ่งไปกว่านั้นยังช่วยลดปริมาณของ low density poprotein cholesterol (LDL) ซึ่งเป็นตัวการที่ก่อให้เกิดการอุดตันในเส้นเลือด (สัมฤทธิ์ และคณะ, 2544)

2.6.3.2 ด้านสมุนไพร ส่วนที่ใช้เป็นสมุนไพรและมีสรรพคุณคือ

เปลือกต้น รสเฝื่อน เปลือกแห้งชงน้ำดื่มกินเป็นยาฟอกเลือดหลังการคลอดบุตร

ผล รสฝาดเปรี้ยวหวาน ทำให้ชุ่มคอ แก้กระหายน้ำ โดยนำส่วนที่เป็นเนื้อ (mesocarp) ไปดองหรือเชื่อม (เสงี่ยม, 2514)

2.6.3.3 ด้านการเป็นไม้ประดับ

ความน่าสนใจของไม้ต้นนี้ คือเป็นไม้ที่ชอบขึ้นในที่ชุ่มชื้น ใกล้น้ำหรือน้ำท่วมขังก็ไม่ตาย แม้จะใช้เวลานานหลายเดือน ปลูกง่าย โตเร็ว เรือนยอดเป็นพุ่มกลมกว้างและโปร่ง มีดอกดกขาวเต็มต้น ผลแก่ดอกเปรี้ยวเค็มเป็นที่นิยมมาก พัฒนาเชิงพาณิชย์ได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการวิจัย

3.1 วัสดุอุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบ

3.1.1.1 หัวเชื้อข้าวฟ่าง

ก. หัวเชื้อเมล็ดข้าวฟ่างเห็ดตับเต่า (จากสถาบันอานนท์ไบโอเทค)

3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.1.2.1 ตู้อบลมร้อน (hot air oven) (รุ่น Thermotec2000 บริษัท Contherm)

3.1.2.2 ไมโครเวฟ (microwave) (รุ่น m1913 บริษัท Samsung)

3.1.2.3 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) (รุ่น HA-300MIV บริษัท Hirayama)

3.1.2.4 ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow) (รุ่น LA-CLEANLINE BS-120 บริษัท M-tech maxel technology)

3.1.2.5 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) (รุ่น Helios Alpha บริษัท BEC thai)

3.1.2.6 เครื่องเขย่า (skaker) (รุ่น Innova2000 บริษัท New Brunswick Scientific)

3.1.2.7 เครื่องชั่งสาร (balance) (รุ่น HA-300MIV บริษัท Hirayama)

3.1.2.8 โถดูดความชื้น (desiccator)

3.1.2.9 กล้องจุลทรรศน์ (microscope)

3.1.2.10 ชุดกรองสูญญากาศและกระดาษกรองวอทแมน เบอร์ 4

3.1.2.1 เวอร์เนียร์คาลิปเปอร์ (Vernier Calipers)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.2.1 เครื่องแก้ว ได้แก่ ฟลาสก์ บีกเกอร์ กระบอกตวง ปิเปต แท่งแก้วคนสาร จานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ขวดแก้วฝาเกลียว หลอดทดลอง หลอดหยดสาร

3.1.2.13 ปากคีบ

3.1.2.14 เข็มเขี่ยเชื้อปลายแหลม

3.1.2.15 คอร์กโบเรอร์ (corkborer)

3.1.2.16 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.1.2.17 ช้อนตักสาร

3.1.2.18 ไม้บรรทัด

3.1.2.19 สายวัด

3.1.2.20 บัวรดน้ำ

3.1.3 สารเคมี

3.1.3.1 สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ความเข้มข้นร้อยละ 10

3.1.3.2 สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ความเข้มข้นร้อยละ 10

3.1.3.3 กรดไฮโดรคลอริก (HCL) ความเข้มข้น 0.1 N

3.1.3.4 หมึกปากกา ความเข้มข้นร้อยละ 5 ในน้ำส้มสายชู (acetic acid) ความเข้มข้นร้อยละ 5

3.1.3.5 กลีเซอรอล (glycerol)

3.1.3.6 อะซีโตน (acetone) ความเข้มข้นร้อยละ 80

3.1.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1.4.1 อาหารสำเร็จรูป potato dextrose agar (PDA)

3.1.4.2 Murashige & Skoog agar (MS)

3.1.4.3 Malt extract agar medium (MEA)

3.1.4.4 Glucose – peptone – yeast extract agar (GPYA)

3.1.4.5 Corn meal agar (CMA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 การแยกเชื้อเห็ดตับเต่าบริสุทธิ์

3.2.1 การแยกเชื้อเห็ดตับเต่า

ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเห็ดตับเต่า (*Boletus* sp.) บนอาหารวุ้นและการผลิตหัวเชื้อนั้น ใช้เส้นใยเห็ดตับเต่าจากศูนย์วิจัยอานนท์ไบโอเทค เป็นตัวแทนในการศึกษา โดยทำการนำเส้นใยบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า นำไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อและ บ่มไว้ที่ 30 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญของส้นใยเห็ดตับเต่าต่อไป

3.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญของเห็ดตับเต่า

3.3.1 การศึกษาผลของอาหารวุ้นต่อการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า

ในการทดลองเพื่อทำการศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดตับเต่าบริสุทธิ์ เลือกใช้อาหารวุ้น 4 ชนิด ได้แก่ Murashige & Skoog agar , Malt extract agar, Corn meal agar และ Glucose-peptone-yeast extract agar นำมาศึกษา

อาหารทุกชนิดฆ่าเชื้อด้วยหม้อความดันไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเทอาหารบนจานเพาะเชื้อ ปริมาตรประมาณ 20 มิลลิลิตร ต่อ 1 จาน เมื่ออาหารแข็งแล้ว ใช้คอร์กโบเรอร์ (cork borer) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5 มิลลิเมตร ที่ฆ่าเชื้อแล้ว เจาะเส้นใยบริสุทธิ์เห็ดตับเต่าที่มีอายุประมาณ 15 วันนำไปวางบนอาหารที่ต้องการทดสอบ นำไปบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส ใน ดูการเจริญของเส้นใยทุก 3 วัน เป็นเวลา 15 วัน โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเส้นใย ทำการทดลอง 5 ซ้ำ วิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม SPSS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

3.3.2 การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเจริญของเส้นใยบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า

ในการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าใช้อาหารวุ้น Murashige & Skoog agar (MS agar) ในการเลี้ยงเชื้อ โดยเตรียมอาหาร เทอาหารและทำการเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกับในข้อ 3.3.1 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25, 30 และ 37 องศาเซลเซียส วัดการเจริญเติบโตโดยดูการเจริญของเส้นใยทุก 3 วัน เป็นเวลา 15 วัน โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเส้นใย ทำการทดลอง 5 ซ้ำ วิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม SPSS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.3 การศึกษาผลของพีเอชต่อการเจริญของเส้นใยบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า

ในการศึกษาผลของพีเอชต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่า ใช้อาหารเหลว Murashige & Skoog ที่พีเอช 3, 4 และ 5 ในการเลี้ยงเชื้อ โดยเตรียมอาหารเหลวชนิดละ 200 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อความดันไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นใช้ คอร์กโบเรอร์ (cork borer) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5 มิลลิเมตร ที่ฆ่าเชื้อแล้ว เจาะเส้นใยบริสุทธิ์เห็ดห้าแล้วนำไปใส่ในอาหารที่ต้องการทดสอบ นำไปบ่มที่เครื่องเขย่า 140 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน วัดการเจริญเติบโตโดยการวัดน้ำหนักแห้งเส้นใยเห็ดทุก 3 วัน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม SPSS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

3.3.4 การศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆต่อการเจริญของเส้นใยบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า

ในการศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่า ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Murashige & Skoog agar (MS agar) ที่มีแหล่งคาร์บอนต่างๆกัน ได้แก่ กลูโคส (Glucose), ฟรุคโตส (Fructose) และสารสกัดมอลต์ (Malt extract) โดยใช้ปริมาณของแต่ละแหล่งคาร์บอนเป็น 3 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ทำการฆ่าเชื้อ เทอาหาร และลงเชื้อ เช่นเดียวกับการทดลองข้อ 3.3.1 จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส วัดการเจริญเติบโตโดยดูการเจริญของเส้นใยทุก 3 วัน เป็นเวลา 15 วัน โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเส้นใย ทำการทดลอง 5 ซ้ำ วิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม SPSS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

3.3.5 การศึกษาผลของแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆต่อการเจริญของเส้นใยบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า

ในการศึกษาผลของแหล่งไนโตรเจนต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่า ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Murashige & Skoog agar (MS agar) ที่มีแหล่งไนโตรเจนต่างๆกัน ได้แก่ แอมโมเนียมไนเตรท (NH_4NO_3) ,โพแทสเซียมไนเตรท (KNO_3) และเปปโตน (Peptone) โดยใช้ปริมาณของแต่ละแหล่งไนโตรเจนเป็น 3.55 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ทำการฆ่าเชื้อ เทอาหาร และลงเชื้อ เช่นเดียวกับการทดลองข้อ 3.3.1 จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ30 องศาเซลเซียส วัดการเจริญเติบโตโดยดูการเจริญของเส้นใยทุก 3 วัน เป็นเวลา 15 วัน โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเส้นใย ทำการทดลอง 5 ซ้ำ วิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม SPSS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 ศึกษาถึงความสัมพันธ์ของเห็ดตับเต่ากับพืชอาศัย

3.4.1 การปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าให้กับต้นพืช

ทำการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าให้กับกล้าต้นมะกอกน้ำ (*Elaeocarpus hygrophilus* Kurz.) ที่ทำการปลูกในกระถางพลาสติกขนาด 15 นิ้วแล้วเป็นเวลา 30 วัน โดยการใช้หัวเชื้อในเมล็ดข้าวฟ่างลงบริเวณโดยรอบรากไม้ ลึกประมาณ 5 เซนติเมตร ทำการทดลอง 4 ทรีทเมนต์ ได้แก่ ทรีทเมนต์ที่ 1 ไม่ปลูกเชื้อ (control) ทรีทเมนต์ที่ 2 โรยหัวเชื้อข้าวฟ่างรอบราก ปริมาณ 10 กรัมต่อต้น ทรีทเมนต์ที่ 3 โรยหัวเชื้อข้าวฟ่างรอบราก ปริมาณ 20 กรัมต่อต้น และทรีทเมนต์ที่ 4 โรยหัวเชื้อข้าวฟ่างรอบราก ปริมาณ 30 กรัมต่อต้น ทำการทดลอง 5 ซ้ำ ดูแลรดน้ำทุกวัน วัดการเจริญเติบโตของต้นมะกอกน้ำ ดังนี้ 1) ความสูงของต้น (เซนติเมตร) โดยวัดจากส่วนของลำต้นจากผิววัสดุปลูกถึง ส่วนฐานของใบอ่อนที่สุด 2) เส้นรอบวงลำต้น โดยวัดที่ลำต้นสูงจากราก 4 เซนติเมตร 3) จำนวนใบ และ 4) ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/g tissue)

3.4.2 การตรวจการเข้ารากของต้นพืช

โดยการตรวจสอบเส้นใยของเชื้อราในรากต้นมะกอกน้ำที่ทำการปลูกมาเป็นเวลา 6 เดือน เปรียบเทียบต้นควบคุมที่ไม่ได้ปลูกเชื้อกับต้นที่ปลูกเชื้อ โดยทำการย้อมสีราก (Brundrett และคณะ, 1984; นริษฎา, 2552) และตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบ ตรวจการสร้างเมนเทิลชีส (mantle sheets) บริเวณรอบราก และการเข้ารากของเส้นใยเห็ดที่แทรกอยู่ระหว่างเซลล์พืช (hartic net)

3.4.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ประกอบด้วย 4 ทรีทเมนต์ๆ ละ 5 ซ้ำ ได้แก่ ทรีทเมนต์ที่ 1 ไม่ปลูกเชื้อ (control) ทรีทเมนต์ที่ 2 โรยหัวเชื้อข้าวฟ่างรอบราก ปริมาณ 10 กรัมต่อต้น ทรีทเมนต์ที่ 3 โรยหัวเชื้อข้าวฟ่างรอบราก ปริมาณ 20 กรัมต่อต้น และทรีทเมนต์ที่ 4 โรยหัวเชื้อข้าวฟ่างรอบราก ปริมาณ 30 กรัมต่อต้น บันทึกข้อมูลทุก 15 วัน เป็นเวลา 180 วัน และวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม SPSS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

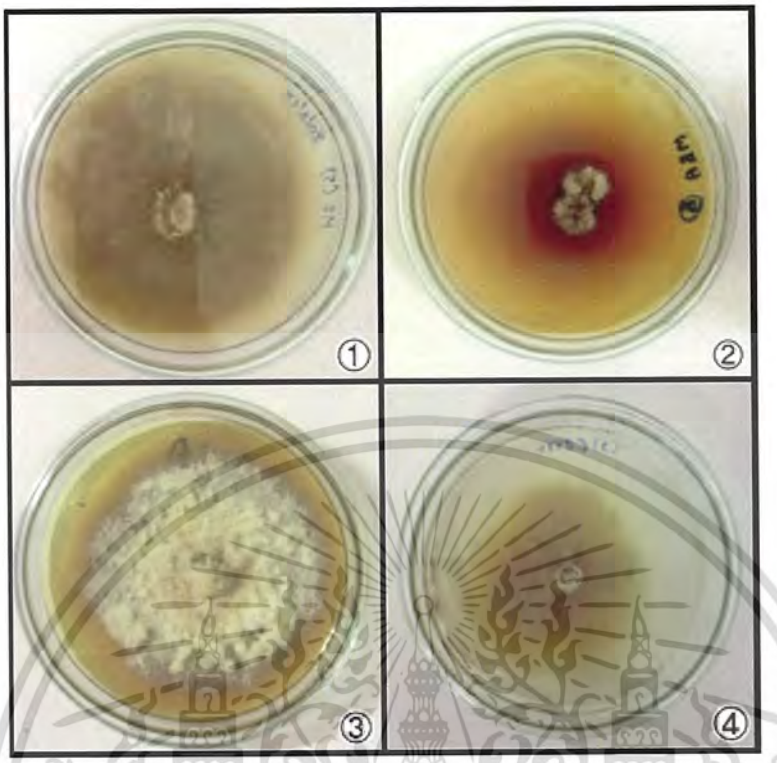
4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญของเห็ดตับเต่า

4.1.1 การศึกษาผลของอาหารวุ้นต่อการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า

ผลการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า (*Boletus* sp.) จากการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเส้นใยเห็ดตับเต่าที่เจริญบนอาหารวุ้น 4 ชนิด ได้แก่ 1) Murashige & Skoog agar, 2) Malt extract agar, 3) Glucose-peptone-yeast extract agar และ 4) Corn meal agar ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ในจานเพาะเลี้ยงเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร บ่มไว้ที่ 30 องศาเซลเซียส ในที่มืด เป็นเวลา 15 วัน พบว่า เส้นใยเห็ดตับเต่า สามารถเจริญบนอาหารวุ้นได้ทุกชนิดแต่มีอัตราในการเจริญแตกต่างกันในอาหารแต่ละชนิด (รูป 4.1) โดยในอาหาร Murashige & Skoog agar นั้น เส้นใยเจริญเร็วคลุมจานเพาะเชื้อภายใน 15 วัน มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเท่ากับ 8.22 ± 0.72 เซนติเมตร และเมื่อสังเกตดูลักษณะเส้นใยบนอาหาร Murashige & Skoog agar นั้น เส้นใยมีความ เหนียวและสานตัวกันแน่น เส้นใยมีสีน้ำตาลเข้ม ส่วนใน Malt extract agar มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเส้นใยเท่ากับ 1.02 ±0.13 เซนติเมตร เส้นใยมีสีขาว ลักษณะฟูขึ้นด้านบนมากกว่าการแผ่ออก สำหรับในอาหาร Glucose-peptone-yeast extract agar นั้นมีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเส้นใยเท่ากับ 6.30 ± 0.07 เซนติเมตร และลักษณะของเส้นใยบนอาหารมีการสานตัวแน่นจนมีลักษณะเป็นปุ่มก้อนขึ้น มีสีขาวนวล ในอาหาร Corn meal agar นั้น มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเส้นใยเท่ากับ 7.26 ± 1.07 เซนติเมตร เส้นใยมีลักษณะสานตัวค่อนข้างบางกว่าใน Murashige & Skoog agar มีเส้นใยสีน้ำตาล

ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าอาหารชนิด Murashige & Skoog agar ให้ผลการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดตับเต่าดีที่สุด เป็นอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่ามากกว่าอาหารชนิดอื่นๆ เนื่องจากอาหาร Murashige & Skoog agar เป็นอาหารที่ทราบองค์ประกอบที่แน่นอน และเป็นอาหารสังเคราะห์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีปัจจัยที่มีความจำเป็นในการขยายเซลล์ มีสารอินทรีย์และวิตามินเป็นองค์ประกอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ การเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่า (*Boletus* sp.) ในอาหารวุ้นแต่ละชนิด บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซสเซียส ในที่มืด ในวันที่ 15 ของการเพาะเลี้ยง

หมายเหตุ (1) Murashige & Skoog agar,(2) Malt extract agar ,(3) Glucose-Peptone- Yeast extract agar และ (4) Corn meal agar

ตารางที่4.1 อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าในอาหารวุ้นชนิดต่างๆ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลซียส ในที่มืด (วัดการเจริญทุก 3 วัน เป็นเวลา 15 วัน)

ชนิดอาหารวุ้น	เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร)				
	วันที่ 3	วันที่ 6	วันที่ 9	วันที่ 12	วันที่ 15
MS	2.2	4.22	6.4	7.14	8.22
MEA	0.4	0.84	0.88	0.94	1.02
GPYA	1.54	2.64	3.84	4.92	6.3
CMA	2.64	3.64	5.24	6.52	7.26

หมายเหตุ (MS: Murashige & Skoog agar, MEA: Malt extract agar ,GPYA: Glucose-Peptone- Yeast extract agarและ CMA:Corn meal agar)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.2 เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร) ของเส้นใยเห็ดตับเต่า ในอาหารวุ้นชนิดต่างๆ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในวันที่ 15

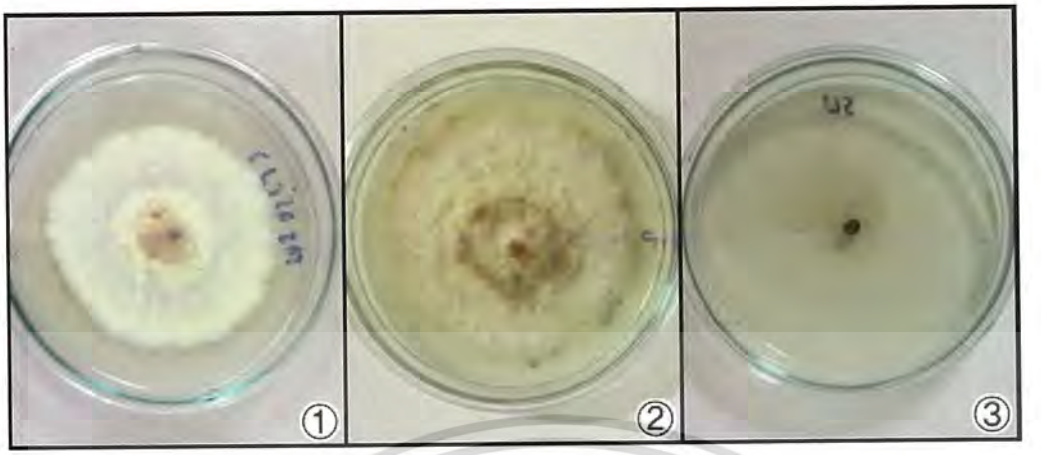
ชนิดอาหารวุ้น	เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร)
MS	8.22 ± 0.72^{a}
MEA	1.02 ± 0.13^{d}
GPYA	6.30 ± 0.07^{c}
CMA	7.26 ± 1.07^{b}

* ค่าที่มีตัวอักษรเหมือนกันหมายความว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p=0.05) โดยใช้วิธี Duncan's new multiple-range test.

4.1.2 การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า

ผลการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า (*Boletus* sp.) จากการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยเห็ดตับเต่าที่เจริญบนอาหารวุ้น Murashige & Skoog agar (MS agar) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ในจานเพาะเลี้ยงเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิต่างๆ ได้แก่ 25, 30 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน ในที่มืด พบว่าเส้นใยเห็ดตับเต่าเจริญได้ในอุณหภูมิ 25–37 องศาเซลเซียส ส่วนที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นั้นเส้นใยเห็ดตับเต่าไม่มีการเจริญเติบโต (รูป 4.2) ซึ่งในอาหาร MS agar ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของ เส้นใยเท่ากับ 8.32 ± 0.66 เซนติเมตร เป็นอุณหภูมิที่ทำให้เส้นใยเห็ดตับเต่ามีการเจริญดีที่สุด จัดเป็นอุณหภูมิที่มีความเหมาะสมในการเจริญของเส้นใยมากกว่าที่อุณหภูมิ 25 และ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเส้นใยเท่ากับ 5.98 ± 0.19 เซนติเมตร และ 0.00 ± 0.00 เซนติเมตร ตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 4.3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่4.2 การเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่า (*Boletus* sp.) ที่บ่มในที่มืด อุณหภูมิต่างๆ ในวันที่ 15 หมายเหตุ (1) บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ,(2) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และ (3) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

ตารางที่4.3 อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าในอาหารวุ้น Murashige & Skoog agar บ่มที่อุณหภูมิต่างๆ ในที่มืด (วัดการเจริญทุก 3 วัน เป็นเวลา 15 วัน)

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร)				
	วันที่ 3	วันที่ 6	วันที่ 9	วันที่ 12	วันที่ 15
25	0	1.98	3.28	5	5.98
30	2.58	4.44	5.38	6.92	8.32
37	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

ตารางที่4.4 เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร) โคโลนีของเส้นใยเห็ดตับเต่า ในอาหารวุ้น Murashige & Skoog agar บ่มที่อุณหภูมิต่างๆ ในวันที่ 15

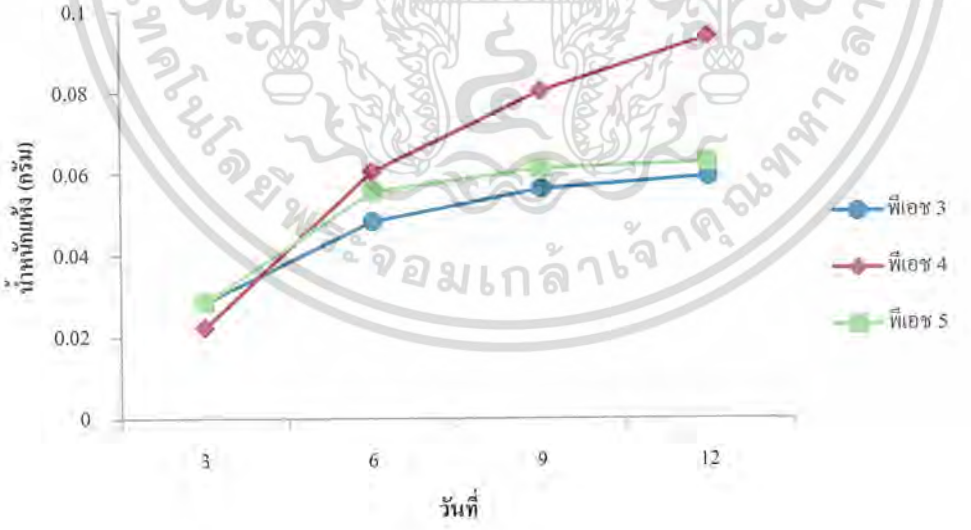
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร)
25	5.98 ± 0.19^{b}
30	8.32 ± 0.66^{a}
37	0.00 ± 0.00^{c}

* ค่าที่มีตัวอักษรเหมือนกันหมายความว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p=0.05) โดยใช้วิธี Duncan's new multiple-range test.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.3 การศึกษาผลของพีเอชต่อการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า

ผลการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า (*Boletus* sp.) จากการวัดน้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดตับเต่าที่เจริญบนอาหารเหลว Murashige & Skoog ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ที่พีเอช 3, 4 และ 5 ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่เครื่องเขย่า 140 รอบต่อนาที เป็นเวลา 12 วัน ในที่มืด พบว่าเส้นใยเห็ดตับเต่าสามารถเจริญได้ในทุกค่าพีเอชที่ทำการศึกษา แต่มีอัตราการเจริญแตกต่างกัน (รูป4.3) โดยเส้นใยเห็ดตับเต่าสามารถเจริญได้น้อยที่สุดที่พีเอชเท่ากับ 3 มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งเส้นใยเท่ากับ 0.0595 ± 0.001 กรัม ที่ค่าพีเอชเท่ากับ 5 มีอัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยดีมากกว่าที่พีเอชเท่ากับ 3 โดยมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งเส้นใยเท่ากับ 0.0630 ± 0.001 กรัม ส่วนที่ค่าพีเอชเท่ากับ 4 เส้นใยมีอัตราการเจริญเติบโตมากที่สุด ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งเท่ากับ 0.0937 ± 0.001 กรัม ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตาราง 4.5) จากผลการทดลองกล่าวได้ว่าเส้นใยสามารถเจริญเติบโตได้ในช่วงพีเอช 3 - 5 โดยที่พีเอช 4 เป็นพีเอชที่เหมาะสมที่สุด สอดคล้องกับที่กล่าวว่าเห็ดเป็นเชื้อราที่มีความทนทานต่อสภาพที่เป็นกรดได้ดี พีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราส่วนมากมักอยู่ในช่วงที่เป็นกรดถึงเป็นกลางและพีเอช 4 – 5.5 เป็นค่าพีเอชที่เหมาะสมของเห็ดไมคอร์ไรซา (นงนุช และณัฐนิสา, 2543)



รูปที่4.3 แสดงอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าในอาหารเหลว Murashige & Skoog agar ที่มีค่า พีเอชต่างๆกัน บ่มที่เครื่องเขย่า 140 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (วัดการเจริญทุก 3 วัน เป็นเวลา 12 วัน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.5 น้ำหนักแห้ง (กรัม) ของเส้นใยเห็ดตับเต่า ในอาหารเหลว Murashige & Skoog agar ที่มีค่าพีเอชต่างๆกัน บ่มที่เครื่องเขย่า 140 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในวันที่ 12

พีเอช	น้ำหนักแห้ง (กรัม)
3	0.0595 ± 0.001^{c}
4	0.0937 ± 0.001^{a}
5	0.0630 ± 0.001^{b}

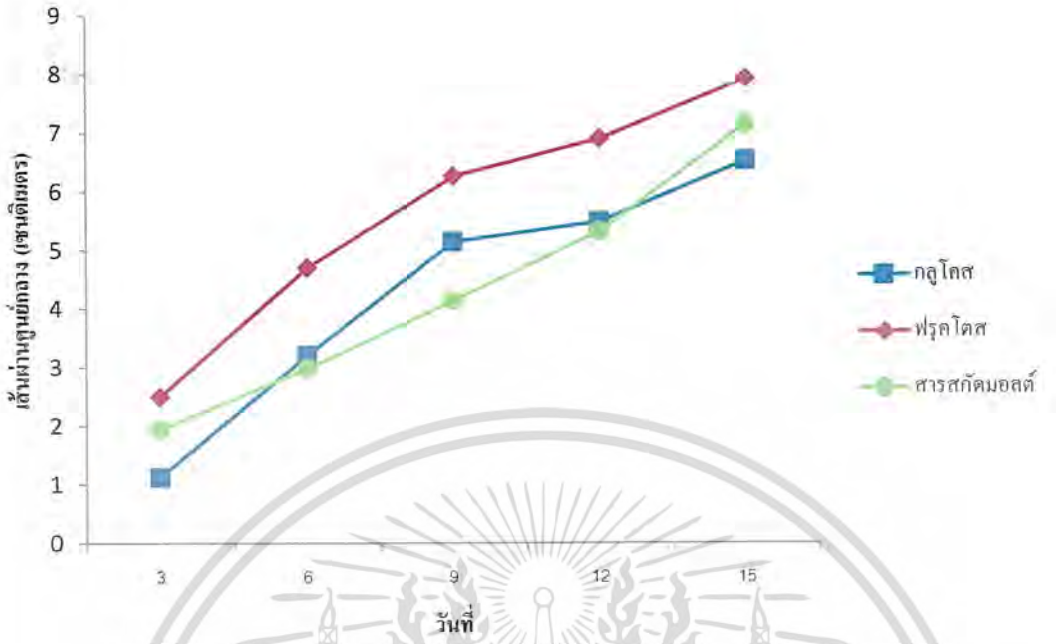
* ค่าที่มีตัวอักษรเหมือนกันหมายความว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p=0.05) โดยใช้วิธี Duncan's new multiple-range test.

4.1.4 การศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆต่อการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า

ผลการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า (*Boletus* sp.) จากการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเส้นใยเห็ดตับเต่าที่เจริญบนอาหารวุ้น Murashige & Skoog agar (MS agar) ที่มีแหล่งคาร์บอนต่างๆกันได้แก่ กลูโคส, ฟรุคโตส และสารสกัดมอลต์ (Malt extract) โดยใช้ปริมาณของแต่ละแหล่งคาร์บอนเป็น 3 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ในจานเพาะเลี้ยงเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน ในที่มืด พบว่าเส้นใยเห็ดตับเต่าเจริญได้ในแหล่งคาร์บอนทุกชนิด แต่มีอัตราการเจริญที่แตกต่างกัน (รูป 4.4) โดยอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคส มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเส้นใยเท่ากับ 6.52 ± 0.47 เซนติเมตร ฟรุคโตสมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเส้นใยเท่ากับ 7.92 ± 0.26 เซนติเมตร และสารสกัดมอลต์มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเส้นใยเท่ากับ 7.14 ± 0.81 เซนติเมตร ซึ่งการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าที่เจริญบนอาหารวุ้น Murashige & Skoog agar ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นฟรุคโตส มีอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดมากกว่าที่แหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคส และสารสกัดมอลต์ อย่างมีนัยสำคัญ ดังตารางที่ 4.6 สอดคล้องกับสาวิตรี(2553) ที่กล่าวว่าเชื้อเห็ดตับเต่าใช้ฟรุคโตส ซูโครส และแมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมที่สุด

ซึ่งจากการทดลองก็พบว่าเส้นใยเห็ดตับเต่าสามารถเจริญได้ดีที่สุดที่อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นฟรุคโตส เกิดจากการเลือกใช้สารอาหารที่สามารถนำไปใช้ได้ง่ายที่สุด เนื่องจากฟรุคโตสเป็นโมโนแซคคาไรด์ที่ไม่ต้องผ่านกระบวนการย่อยสลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่4.4 แสดงอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าในอาหารวุ้น Murashige & Skoog agar ที่มีแหล่งคาร์บอนต่างๆกัน บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในที่มืด (วัดการเจริญทุก 3 วัน เป็นเวลา 15 วัน)

ตารางที่4.6 เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร) โคโลนีของเส้นใยเห็ดตับเต่า ในอาหารวุ้น Murashige & Skoog agar ที่มีแหล่งคาร์บอนต่างๆกัน บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในวันที่ 15

แหล่งคาร์บอน	เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร)
กลูโคส	6.52 ± 0.47^{b}
ฟรุคโตส	7.92 ± 0.26^{a}
สารสกัดมอลต์	7.14 ± 0.81^{b}

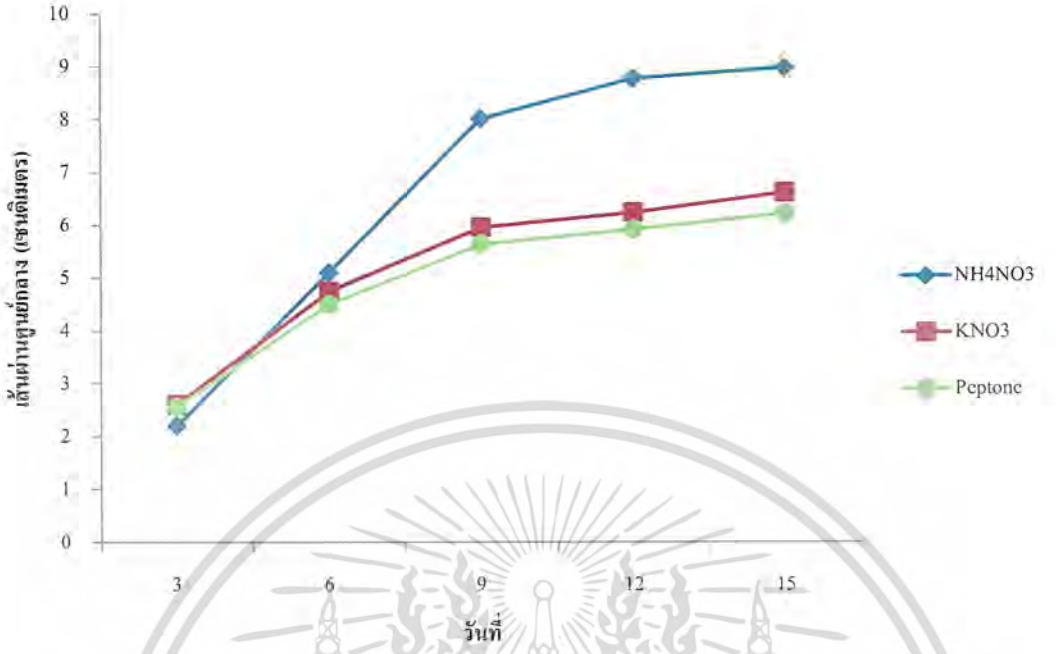
* ค่าที่มีตัวอักษรเหมือนกันหมายความว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p=0.05) โดยใช้วิธี Duncan's new multiple-range test.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.5 การศึกษาผลของแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆต่อการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า

ผลการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า (*Boletus* sp.) จากการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยเห็ดตับเต่าที่เจริญบนอาหารวุ้น Murashige & Skoog agar (MS agar) ที่มีแหล่งไนโตรเจนต่างๆกันได้แก่ แอมโมเนียมไนเตรท ,โพแทสเซียมไนเตรท และเปปโตน (Peptone) โดยใช้ปริมาณของแต่ละแหล่งไนโตรเจนเป็น 3.55 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ปริมาตร 20 มิลลิลิตรใน จานเพาะเลี้ยงเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน ในที่มืด พบว่าเส้นใยเห็ดตับเต่าเจริญได้ในแหล่งไนโตรเจนทุกชนิดแต่มีอัตราการเจริญที่แตกต่างกัน (รูป4.5) โดยอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าที่มีแหล่งไนโตรเจนเป็นแอมโมเนียมไนเตรท มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเส้นใยเท่ากับ 8.98 ± 0.45 เซนติเมตร โพแทสเซียมไนเตรทมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเส้นใยเท่ากับ 6.62 ± 0.33 เซนติเมตร และเปปโตนมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเส้นใยเท่ากับ 6.22 ± 0.49 เซนติเมตร ซึ่งการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าที่เจริญบนอาหารวุ้น Murashige & Skoog agar ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแอมโมเนียมไนเตรท มีอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดมากกว่าที่แหล่งไนโตรเจนเป็นโพแทสเซียมไนเตรท และเปปโตนอย่างมีนัยสำคัญ (ตาราง 4.7) โดยจากผลการทดลองแหล่งไนโตรเจนที่ส่งผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่ามากที่สุด คือ แอมโมเนียมไนเตรท เนื่องจากเป็นอนินทรีย์สารที่สามารถนำไปใช้ได้ง่ายที่สุดเมื่อเทียบกับสารสกัดเปปโตนเช่นเดียวกับการทดลองของแหล่งคาร์บอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่4.5 แสดงอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าในอาหารวุ้น Murashige & Skoog agar ที่มีแหล่งไนโตรเจนต่างๆกัน บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในที่มืด (วัดการเจริญทุก 3 วัน เป็น เวลา 15 วัน)

ตารางที่4.7 เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร) โคโลนีของเส้นใยเห็ดตับเต่า ในอาหารวุ้น Murashige & Skoog agar ที่มีแหล่งไนโตรเจนต่างๆกัน บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในวันที่ 15

แหล่งไนโตรเจน	เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร)
NH_4NO_3	8.98 ± 0.45^a
KNO_3	6.62 ± 0.33^b
Peptone	6.22 ± 0.49^b

* ค่าที่มีตัวอักษรเหมือนกันหมายความว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p=0.05) โดยใช้วิธี Duncan's new multiple-range test.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ศึกษาถึงความสัมพันธ์ของเห็ดตับเต่ากับพืชอาศัย

จากการวัดการเจริญเติบโตของต้นมะกอกน้ำที่ไม่มีการใส่หัวเชื้อและใส่หัวเชื้อข้าวฟ่างที่ปริมาณต่างๆคือ หัวเชื้อข้าวฟ่าง 10 กรัม ,20 กรัม และ 30 กรัม โดยมีการตรวจผลอัตราการเจริญเติบโตของต้นไม้ ดังนี้ 1) ความสูงของต้น (เซนติเมตร) โดยวัดจากส่วนของลำต้นจากผิววัสดุปลูกถึงส่วนฐานของใบอ่อนที่สุด 2) เส้นรอบวงลำต้น โดยวัดที่ลำต้นสูงจากราก 4 เซนติเมตร 3) จำนวนใบ และ 4) ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/g tissue) พบว่าที่ต้นมะกอกน้ำนั้นสูงขึ้นอย่างแตกต่างกันในแต่ละทรีทเมนต์อย่างมีนัยสำคัญ (รูป4.6) โดยความสูงของต้นมะกอกน้ำที่มีการใส่หัวเชื้อปริมาณ 30 กรัมมีค่าสูงที่สุด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 68.0 ± 17.11 เซนติเมตร ที่หัวเชื้อปริมาณ 10 และ 20 กรัม มีความสูงเฉลี่ยรองลงมาเท่ากับ 52.36 ± 15.93 และ 57.5 ± 11.82 เซนติเมตร ตามลำดับ และที่ไม่มีการใส่หัวเชื้อ มีความสูงต่ำที่สุดเฉลี่ย 47.5 ± 5.45 เซนติเมตร สำหรับการวัดอัตราการเจริญของต้นมะกอกน้ำโดยวิธีการวัดเส้นรอบวงลำต้นพบว่า ต้นมะกอกน้ำนั้นมีการเปลี่ยนแปลงของเส้นรอบวงลำต้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในแต่ละทรีทเมนต์ (รูป4.7) โดยเส้นรอบวงลำต้นของต้นมะกอกน้ำที่ไม่มีการปลูกเชื้อ ,ปลูกหัวเชื้อข้าวฟ่างที่ปริมาณ 10 ,20 และ 30 กรัม มีค่าเฉลี่ยเส้นรอบวงลำต้นเท่ากับ 3.5419 ± 0.79 ,3.2907 ± 0.70 ,3.7491 ± 0.75 และ 3.7868 ± 0.82 เซนติเมตร ตามลำดับ การวัดอัตราการเจริญของต้นมะกอกน้ำโดยวิธีการนับจำนวนใบพบว่า ต้นมะกอกน้ำนั้นมีการเปลี่ยนแปลงของจำนวนใบไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในแต่ละทรีทเมนต์ (รูป 4.8) โดยจำนวนใบของต้นมะกอกน้ำที่ไม่มีการปลูกเชื้อ ,ปลูกหัวเชื้อข้าวฟ่างที่ปริมาณ 10 ,20 และ 30 กรัม มีค่าเฉลี่ยจำนวนใบเท่ากับ 137.8 ± 35.05 ,157.2 ± 92.45 ,171.2 ± 27.26 และ 199.6 ± 39.88 ใบ ตามลำดับ และการวัดอัตราการเจริญของต้นมะกอกน้ำโดยวิธีการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์ของมะกอกน้ำที่ไม่มีการใส่หัวเชื้อและปลูกหัวเชื้อที่ปริมาณ 10 ,20 และ 30 กรัม มีปริมาณคลอโรฟิลล์เฉลี่ย 0.3789 ± 0.06 , 0.2778 ± 0.11 ,0.5269 ± 0.15 และ 0.5976 ± 0.11 มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ ผลการศึกษาถึงความสัมพันธ์ของเห็ดตับเต่ากับพืชอาศัยจากการวัดการเจริญเติบโตของต้นมะกอกน้ำที่ไม่มีการใส่หัวเชื้อและใส่หัวเชื้อข้าวฟ่างที่ปริมาณต่างๆ พบว่าต้นมะกอกน้ำมีผลการเปลี่ยนแปลงเส้นรอบวงของลำต้น จำนวนใบและปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/g tissue) ที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติแต่จากการทดลองนี้หัวเชื้อเห็ดตับเต่าที่ใส่ในปริมาณ 20 และ 30 กรัม สามารถเพิ่มเส้นรอบวงของลำต้นและจำนวนใบของต้นมะกอกน้ำได้ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นควบคุม สำหรับปริมาณคลอโรฟิลล์ มีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นและลดลงแตกต่างกันไปในแต่ละเดือน ซึ่งเกิดจากการมีปัจจัยภายนอกเข้ามามีผลกระทบ โดยจากการตรวจผลที่ช่วงก่อนการลงเชื้อหรือเดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

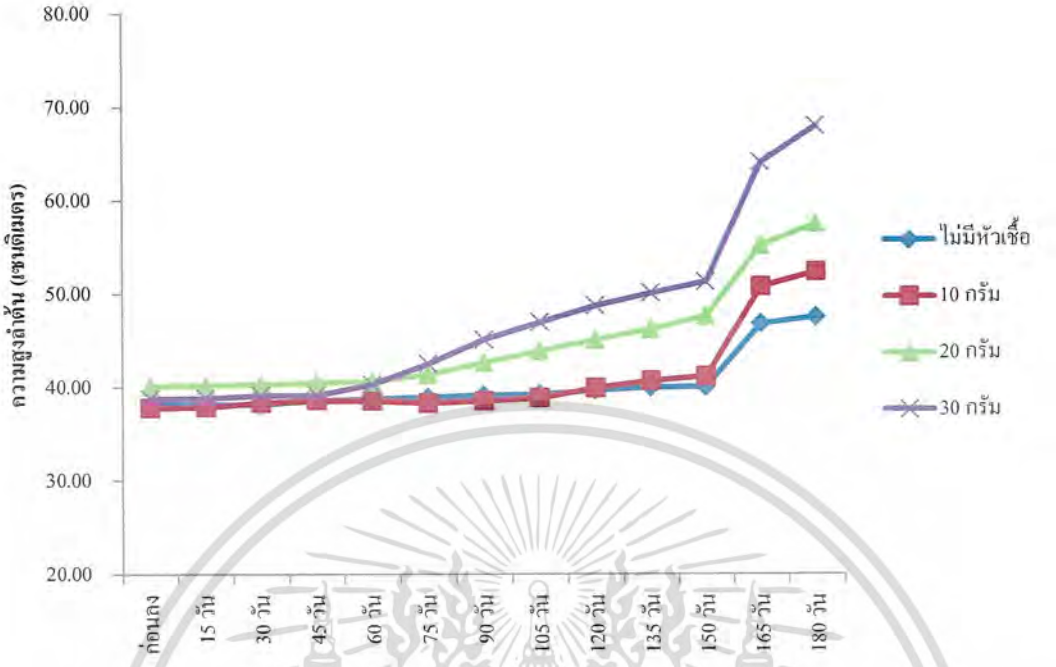
ตุลาคม ต้นไม้เกิดโรคเพลี้ยขาวใบม้วนและหงิกงอ และจากผลการทดลองช่วงเดือนธันวาคมถึงมกราคม (ตรวจผลเดือนที่ 2 และ 3) พบหนอนใบไม้ที่จะแพร่พันธุ์ในช่วงฤดูหนาวทำให้ใบพืชไม่สมบูรณ์จากการกัดกินของหนอนใบไม้ จึงทำการบำรุงรักษาโดยใช้น้ำหมักสมุนไพร ทำให้อาการของโรคดังกล่าวดีขึ้น ต้นมะกอกน้ำมีการฟื้นฟูจนกลับมาอยู่ในสภาพสมบูรณ์ เมื่อเข้าช่วงเดือนมีนาคม (ตรวจผลเดือนที่ 5) เป็นช่วงเข้าสู่ฤดูร้อน มีสภาพอากาศร้อนจัดและแดดแรง ทำให้ใบพืชไหม้บางส่วนและแห้งกรอบ ดังนั้นจึงทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ มีความแปรปรวนไม่มีแนวโน้มที่แน่ชัดจึงไม่สามารถสรุปผลทางสถิติได้ สำหรับส่วนความสูงของต้นมีความแตกต่างกันในแต่ละทรีทเมนต์อย่างมีนัยสำคัญ มีความสูงเพิ่มมากขึ้นตามปริมาณต่างๆของหัวเชื้อ โดยต้นมะกอกน้ำที่มีการใส่ หัวเชื้อ 30 กรัม ทำให้ต้นมะกอกน้ำมีค่าเฉลี่ยความสูงมากที่สุด ตามที่ นงนุชและณัฐนิสา (2543) กล่าวว่าไมคอร์ไรซาช่วยย่อยสลายและดูดซับธาตุอาหารจากหินแร่ในดินที่สลายตัวยากและพวกอินทรีย์สารต่างๆที่ยังสลายตัวไม่หมด ให้พืชสามารถนำเอาไปใช้ประโยชน์ได้ ดังนั้นจึงเป็นผลให้ต้นพืชที่มีการใส่หัวเชื้อเห็ดตับเต่าที่ปริมาณ 20 และ 30 กรัม มีอัตราการเจริญเติบโตที่ดีกว่า

ตารางที่4.8 อัตราการเจริญของต้นมะกอกน้ำ ที่มีการปลูกแบบใส่และไม่ใส่หัวเชื้อข้าวฟ่างเห็ดตับเต่าเป็นเวลา 6 เดือน

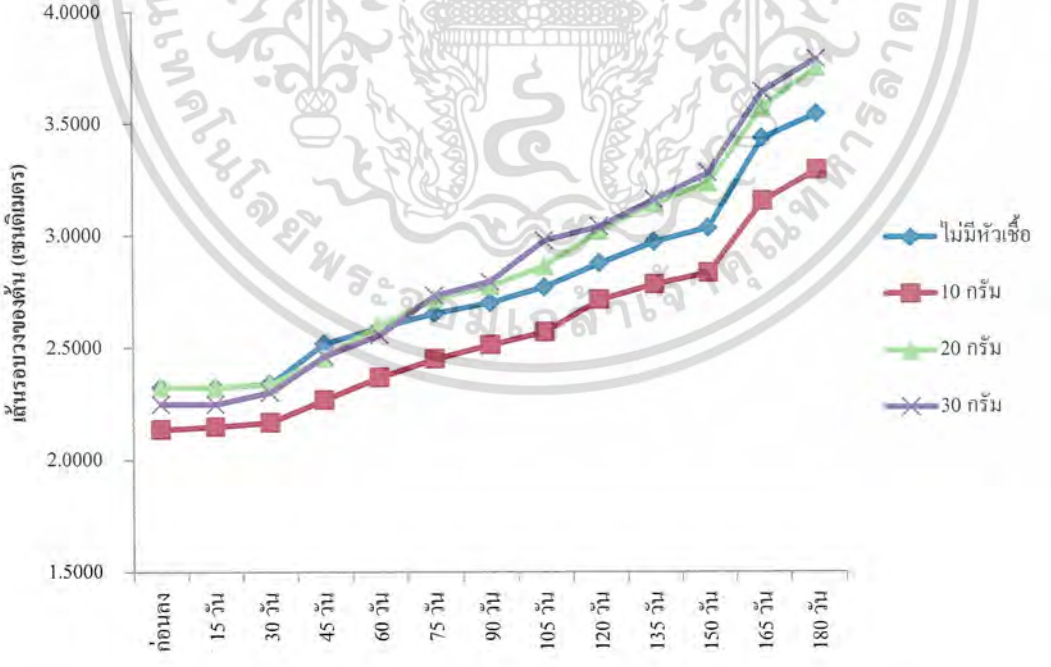
ปริมาณหัวเชื้อ	อัตราการเจริญเติบโต			
	ความสูงต้น (เซนติเมตร)	เส้นรอบวง (เซนติเมตร)	จำนวนใบ (ใบ)	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/g tissue)
ไม่มีหัวเชื้อ	47.5 ± 5.45^{b}	3.5419 ± 0.79^{a}	137.8 ± 35.05^{a}	0.3789 ± 0.06^{b}
หัวเชื้อ 10 กรัม	52.36 ± 15.93^{ab}	3.2907 ± 0.70^{a}	157.2 ± 92.45^{a}	0.2778 ± 0.11^{b}
หัวเชื้อ 20 กรัม	57.5 ± 11.82^{ab}	3.7491 ± 0.75^{a}	171.2 ± 27.26^{a}	0.5269 ± 0.15^{a}
หัวเชื้อ 30 กรัม	68.0 ± 17.11^{a}	3.7868 ± 0.82^{a}	199.6 ± 39.88^{a}	0.5976 ± 0.11^{a}

* ค่าที่มีตัวอักษรเหมือนกันหมายความว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p=0.05) โดยใช้วิธี Duncan's new multiple-range test.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

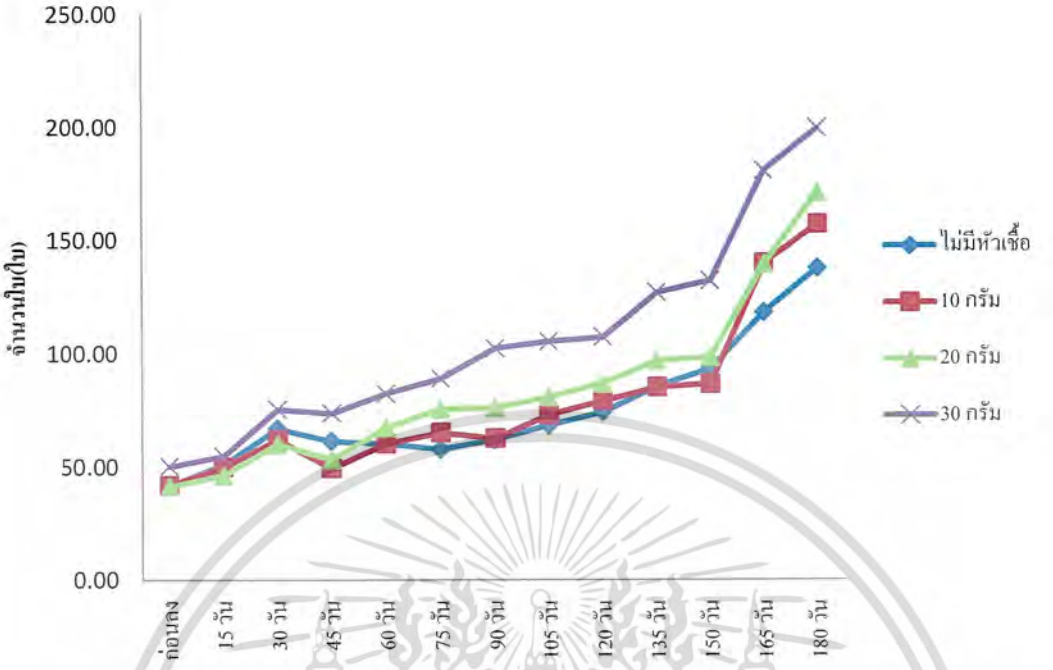


รูปที่4.6 แสดงความสูงของต้นมะกอกน้ำ (เซนติเมตร) บันทึกผลทุก 15 วัน เป็นเวลา 6 เดือน

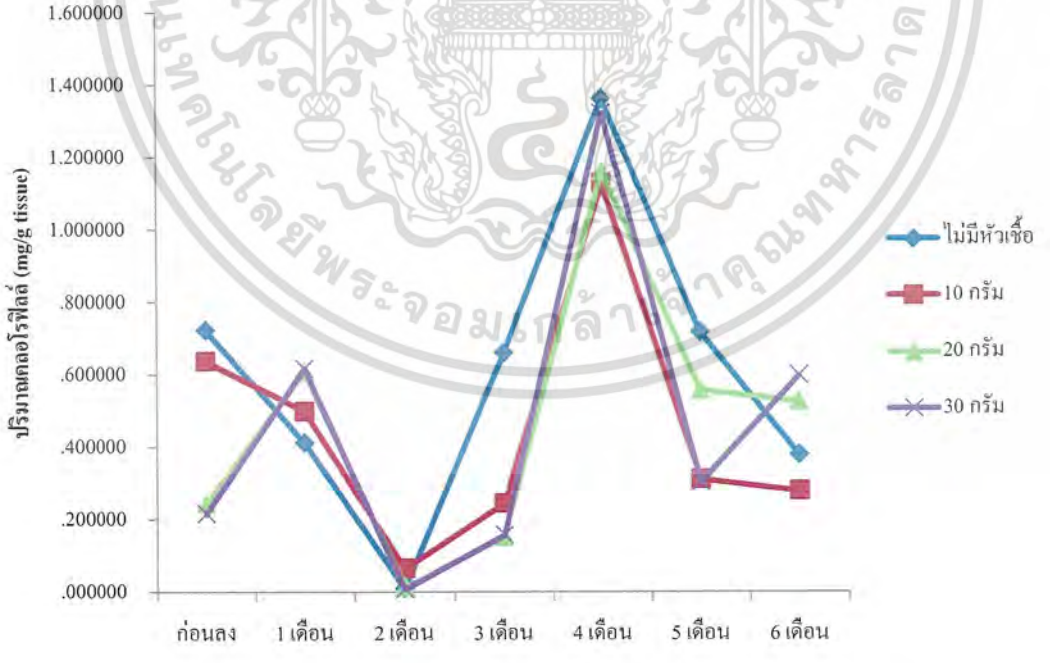


รูปที่4.7 แสดงเส้นรอบวงลำต้นของต้นมะกอกน้ำ (เซนติเมตร) บันทึกผลทุก 15 วัน เป็นเวลา 6 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่4.8 แสดงจำนวนใบของต้นมะกอกน้ำ (ใบ) บันทึกผลทุก 15 วัน เป็นเวลา 6 เดือน



รูปที่4.9 แสดงปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/g tissue) บันทึกผลทุกเดือน เป็นเวลา 6 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การศึกษาการเข้ารากของต้นพืช

เมื่อตรวจสอบการเข้ากันได้ของต้นพืชกับเชื้อเอกโตมายคอร์ไรซาด้วยการเก็บรากต้นมะกอกน้ำที่ปลูกเชื้อให้กับต้นไม้ 6 เดือน มาตรวจการเข้ารากด้วยกล้องจุลทรรศน์ เปรียบเทียบกับต้นพืชควบคุม (ไม่ได้ปลูกหัวเชื้อ) โดยสังเกต การสร้างเมนเทิลชีส (mantle sheat) บริเวณรอบราก การเข้ารากของเส้นใยเห็ดที่แทรกอยู่ระหว่างเซลล์พืช (hartig net) และตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่า รากต้นมะกอกน้ำที่ไม่ได้ปลูกหัวเชื้อ มีลักษณะที่ไม่แตกต่างกันกับไม่ได้ปลูกหัวเชื้อคือไม่พบการสร้างเมนเทิลชีส บริเวณรอบราก และการเข้ารากของเส้นใยเห็ดที่แทรกอยู่ระหว่างเซลล์พืช

รูปที่4.10 การตัดตามขวางของรากต้นมะกอกน้ำที่ไม่มีการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าให้กับต้นไม้

รูปที่4.11 การตัดตามขวางของรากต้นมะกอกน้ำที่มีการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าให้กับต้นไม้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการศึกษาการเข้ารากต้นมะกอกน้ำ ตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่า ไม่พบการสร้างเมนเทิลชีส บริเวณรอบราก และการเข้ารากของเส้นใยเห็ดที่แทรกอยู่ระหว่างเซลล์พืชทั้งที่มีและ ไม่มีการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าให้กับต้นไม้ สาวิตรี (2553) กล่าวว่าการใช้หัวเชื้อข้าวฟ่างซึ่งมีลักษณะเป็นเม็ดกลม มีพื้นที่สัมผัสกับรากน้อยจึงมีโอกาสเกาะติดกับรากได้น้อย ดังนั้นจึงอาจเป็นผลที่ทำให้ไม่พบการเข้าแทรกอยู่ระหว่างเซลล์พืชของเส้นใยเห็ดตับเต่าในต้นไม้ที่มีการปลูกหัวเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าบริสุทธิ์ (*Boletus* sp.) พบว่าอาหารวุ้นที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดตับเต่าบริสุทธิ์ ได้แก่ อาหาร Murashige & Skoog agar ซึ่งให้ผลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากที่สุดในเวลา 15 วัน ให้ผลเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเส้นใยเฉลี่ยเท่ากับ 8.22 ± 0.72 เซนติเมตร อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของเส้นใยในอาหาร Murashige & Skoog agar คือที่ 30 องศาเซลเซียส เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเส้นใยเฉลี่ยเท่ากับ 8.32 ± 0.66 เซนติเมตร ส่วนพีเอชที่เหมาะสมในการเจริญของเส้นใย ได้แก่ ที่พีเอชเท่ากับ 4 ให้ผลน้ำหนักแห้งเฉลี่ยเท่ากับ 0.0937 ± 0.001 กรัม แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมในอาหาร Murashige & Skoog agar คือมีฟรุคโตสเป็นแหล่งคาร์บอน มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเส้นใยเท่ากับ 7.92 ± 0.26 เซนติเมตรและแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมในอาหาร Murashige & Skoog agar ได้แก่ แอมโมเนียมไนเตรท ให้ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเส้นใยเท่ากับ 8.98 ± 0.45 เซนติเมตร

การศึกษาถึงความสัมพันธ์ของเห็ดตับเต่ากับพืชอาศัยมะกอกน้ำ พบว่า อัตราการเจริญเติบโตของต้นไม้ในด้านการเพิ่มของขนาดเส้นรอบวงลำต้น จำนวนใบ และปริมาณคลอโรฟิลล์นั้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่จากการทดลองพบว่าการใส่เชื้อเห็ดตับเต่าที่ปริมาณ 20 และ 30 กรัม สามารถเพิ่มขนาดเส้นรอบวงลำต้น และจำนวนใบของต้นมะกอกน้ำได้ดีกว่าที่การไม่ใส่หัวเชื้อเห็ดตับเต่า ส่วนอัตราการเจริญเติบโตของต้นไม้ในด้านความสูงของต้นมะกอกน้ำมีความแตกต่างกันทางด้านสถิติในแต่ละปริมาณหัวเชื้อเห็ดตับเต่าที่เพิ่มขึ้น โดยที่หัวเชื้อเห็ดตับเต่าปริมาณ 30 กรัม ให้ค่าเฉลี่ยความสูงมากที่สุดเท่ากับ 68.00 เซนติเมตร

จากการศึกษารากของต้นมะกอกน้ำที่มีการปลูกเชื้อและไม่ปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าให้แก่ ต้นมะกอกน้ำ เป็นเวลา 6 เดือน จากการตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่า ไม่มีการเข้ารากของเส้นใยเห็ดที่จะแทรกอยู่ระหว่างเซลล์ (hartig net) และไม่พบการสร้างเมนเทิลชีส (mantle sheat) บริเวณรอบรากพืชทั้งที่มี การปลูกเชื้อและไม่ปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าให้กับต้นไม้ จึงกล่าวได้ว่าในการศึกษาการเป็นเอคโตไมคอร์ไรซาของเห็ดตับเต่านี้ยังไม่สามารถบอกถึงผลการเข้ากับรากพืชได้ภายในระยะเวลา 6 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสนอแนะ

1. จากผลการวิจัยปริมาณหัวเชื้อเห็ดตับเต่าที่ใส่ให้กับต้นมะกอกน้ำ ที่ในปริมาณของหัวเชื้อ ที่มากขึ้นทำให้อัตราการเจริญเติบโตของต้นมะกอกน้ำมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นด้วย ดังนั้นหากมีการทดลองใส่หัวเชื้อเห็ดตับเต่าในปริมาณที่มากขึ้นก็อาจจะทำให้การส่งเสริมการเจริญของต้นมะกอกน้ำให้มีอัตราการเจริญที่มากขึ้นและดียิ่งขึ้น

2. การศึกษาอัตราการเจริญของต้นมะกอกน้ำควรมีการศึกษาต่อ ถัดไปควรทำการย้ายต้นไม้ปลูกลงดิน เนื่องจากต้นไม้เป็นไม้ยืนต้นต้องใช้พื้นที่อย่างมากในการขยายราก และการศึกษาที่นานขึ้นอาจทำให้พบการเข้าสู่รากต้นมะกอกน้ำของเส้นใยเห็ดตับเต่า และอาจเกิดดอกเห็ดขึ้นได้ในภายภาคหน้า

3. การใช้เครื่องวัดคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ในการวัดค่าปริมาณคลอโรฟิลล์ เพราะเป็นการประหยัดเวลา ได้ผลที่แม่นยำและไม่เป็นการทำลายใบพืชอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ชำนาญ พิทักษ์ทอง. 2553. เห็ดเศรษฐกิจ. พิมพ์ครั้งที่3. กรุงเทพฯ : เกษตรสยามบุ๊คส์

นงนุช จิรเสาวภาคย์. และณัฐนิสา ชอบรัมย์. 2543. การศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดตับเต่าในอาหารสูตรต่างๆ และการพัฒนาของเชื้อเห็ดตับเต่าในพืชอาศัย. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

นริษฎา ทองกลาง. 2552. สภาวะที่เหมาะสมในการเจริญของเส้นใยและการผลิตหัวเชื้อเห็ดห้า *(Phlebopus portentosus)*. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

บรรณ บูรณชนบท. 2547. คู่มือเพาะเห็ด. โรงพิมพ์เทพพิทักษ์, กรุงเทพฯ.

ราชบัณฑิตยสถาน. 2550. เห็ดในประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่3. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์ทีฟิลม์

สัมฤทธิ์ เฟื่องจันทร์ ทวีเกียรติ ยิ้มสวัสดิ์ โสพส จินดาประเสริฐ และรวมชาติ แต่พงษ์โสรัถ. 2544. การรวบรวมและการใช้ประโยชน์เชื้อพันธุ์มะกอกน้ำ. รายงานการวิจัยภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สาวิตรี วีระเสถียร ประภาพร ตั้งกิจโชติ และกวิศร์ วานิชกุล. 2553. ธาตุอาหารที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้ายูคาลิปตัสภายหลังการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่า. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 41(3/1), 201-204.

สุดารัตน์ หอมหวล. 2553. ฐานข้อมูลสมุนไพรไทยเขตอีสานใต้. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

สุทิน พรหมโชติ สาธิต พสุวิทยกุล และรักเกียรติ แสนประเสริฐ. 2553. โครงการการสำรวจและรวบรวมพันธุ์ไม้ผลพื้นเมืองบริเวณจังหวัดอุบลราชธานีเพื่อพัฒนาเป็นไม้ผลเศรษฐกิจชนิดใหม่. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุรเชษฐ์ พัฒนพานิชสวัสดิ์. 2551. การทดสอบการสร้างเอคโตไมคอร์ไรซากับรากพืชทดสอบโดยราเห็ดตับเต่าดำ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ มหาบัณฑิต, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

Brundrett, M.C., Piché, Y., and Peterson, RL. 1984. A new method for observing the morphology of vesiculararbuscular mycorrhizae. Canadian Journal of Botany. 62, 2128-2134.

Brundrett, M.C., Piché, Y., and Peterson, RL. 1985. A developmental study of the early stages of vesiculararbuscularmycorrhizae formation. Canadian Journal of Botany. 63, 184-194.

Brundrett, M.C., Bougher, N., Dell, B., Grove, T. and Malajczuk, N. 1996. Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture. ACIAR Monogreph32, ACIAR Canberra, Australia. 1996.374.

Harley, J.L. and Smith, S.E. 1983. Mycorrhizal symbioses. Academic Press, New York.

Hawksworth, D.L., Kirk, P.M., Sutton, B.C., and Pegler, D.N. 1995. Dictionary of the Fungi.

Laguette, A., 2000. Effects of experimental conditions on mycorrhizal relationships between *Pinus sylvestris* and *Lactarius deliciosus* and unprecedented fruit-body formation of the Saffron milk cap under controlled soilless conditions. Canadian Journal of Microbiology. 46, 790–799.

Seehanan, S and Petcharat, V. 2007. Some Species of Wild Boletes in Thailand. Journal of Agricultural Technology. 4(1), 109-118.

Wood T.C., 1998. MykoWeb. Mushrooms and other Fungi on the Web.(Online), Cab Internationnal Cambridge. Mycorrhizas in Forestry and Agriculture. ACIAR Monograph, Canberra. [http://www.mykoweb.com] Accessed 20 December 2013.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[Online].Available :http://arctos.database.museum/name/Elaeocarpus20hygrophilus

[Online].Available : http://www.bio.miami.edu/dana/160/160S10_12.html

[Online].Available : http://classroom.sdmesa.edu/eschmid/Lecture13-Microbio.htm

[Online].Available : https://www.facebook.com/LamPhaen

[Online].Available : http://facstaff.cbu.edu/~seisen/Fungi.htm

[Online].Available : http://www.freshairphotography.co.uk

[Online].Available : http://mycorrhizas.info/ecm.html

[Online].Available : http://www.phargarden.com/main.php?action=viewpage&pid=88

[Online].Available : http://www.studyblue.com/notes/bi252unikontafungi/de3250562

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ผลการศึกษาอาหารวุ้นที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า

ตารางที่ ก-1 เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร) ของเส้นใยเห็ดตับเต่า ในอาหารวุ้นชนิดต่างๆ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส วัดการเจริญทุก 3 วัน เป็นเวลา 15 วัน

ชนิดอาหารวุ้น	เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร)				
	วันที่ 3	วันที่ 6	วันที่ 9	วันที่ 12	วันที่ 15
MS	2.7	3.7	4.6	6.1	7.7
	1.3	3.5	5.7	6.4	7.8
	2.2	4.5	6.2	6.9	7.6
	2.5	4.8	7.8	8.2	9
	2.3	4.6	7.7	8.1	9
MEA	0.2	0.7	0.7	0.8	0.9
	0.5	0.8	0.8	0.8	0.9
	0.4	0.8	0.9	1	1.1
	0.5	0.9	0.9	1	1
	0.4	1	1.1	1.1	1.2
GPYA	1.5	2.5	3.7	4.8	6.2
	1.5	2.5	3.6	4.8	6.3
	1.7	2.8	4.2	5	6.4
	1.5	2.6	3.8	4.9	6.3
	1.5	2.8	3.9	5.1	6.3
Corn Meal	1.8	2.6	4.1	5.9	6.9
	3.7	5	5.4	6.1	6.8
	2	3	4	5.3	6
	3.8	5.6	8.1	8.8	8.8
	1.9	2	4.6	6.5	7.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า

ตารางที่ ก-2 เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร) ของเส้นใยเห็ดตับเต่า ในอาหาร Murashige & Skoog agar บ่มที่อุณหภูมิต่างๆ วัดการเจริญทุก 3 วัน เป็นเวลา 15 วัน

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร)				
	วันที่ 3	วันที่ 6	วันที่ 9	วันที่ 12	วันที่ 15
25	0	1.7	3	4.8	5.8
	0	2.3	3.4	5	5.9
	0	1.8	3.6	5	5.9
	0	1.9	3	5.1	6.3
	0	2.2	3.4	5.1	6
30	2.6	4.3	5.1	6.3	8.2
	2.6	4.9	5.5	7	7.8
	2.4	3.9	5.1	6.9	7.6
	2.7	4.6	5.7	7.3	9
	2.6	4.5	5.5	7.1	9
37	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการศึกษาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า

ตารางที่ ก-3 เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร) ของเส้นใยเห็ดตับเต่า ในอาหาร Murashige & Skoog agar ที่มีแหล่งคาร์บอนต่างๆ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส วัดการเจริญทุก 3 วัน เป็นเวลา 15 วัน

แหล่งคาร์บอน	เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร)				
	วันที่ 3	วันที่ 6	วันที่ 9	วันที่ 12	วันที่ 15
Glucose	1.1	3	5.1	5.5	6.8
	1.1	3.3	5.3	5.7	6.7
	1.1	3.4	5.4	5.5	6.6
	1.2	3.2	4.9	5.2	6.8
	1.1	3.1	5	5.5	5.7
Fructose	2.7	4.9	6.5	7.2	8
	2.7	5	6.2	6.4	7.7
	2	4	5.8	6.3	7.6
	2.6	4.9	6.6	7.5	8.2
	2.5	4.7	6.2	7.1	8.1
Malt extract	2.2	3.5	4.4	5.1	7
	1.9	2.5	2.9	3.8	6.4
	1.6	2.5	3.4	4.5	6.7
	1.9	2.7	3.7	5	7.1
	2.1	3.7	6.3	8.2	8.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า

ตารางที่ ก-4 เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร) ของเส้นใยเห็ดตับเต่าในอาหาร Murashige & Skoog agar ที่มีแหล่งไนโตรเจนต่างๆ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส วัดการเจริญทุก 3 วัน เป็นเวลา 15 วัน

แหล่งไนโตรเจน	เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร)				
	วันที่ 3	วันที่ 6	วันที่ 9	วันที่ 12	วันที่ 15
NH_4NO_3	2.2	5.4	8.6	9	9
	2.2	4.7	7.7	8.1	8.9
	2.2	5.2	7.3	9	9
	2.1	5	8.1	8.8	9
	2.3	5.2	8.4	9	9
KNO_3	2.6	4.75	6.1	6.1	6.1
	2.7	5	6	6.3	6.9
	2.6	4.7	6	6.2	6.7
	2.5	4.6	5.8	6.2	6.5
	2.6	4.7	5.9	6.4	6.9
Peptone	2.6	4.5	5.6	5.8	6.1
	2.5	4.7	6	6.4	7
	2.6	4.2	5.3	5.6	5.7
	2.5	4.6	5.7	6	6.3
	2.6	4.5	5.6	5.8	6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการศึกษาความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า

ตารางที่ ก-5 น้ำหนักแห้ง (กรัม) ของเส้นใยเห็ดตับเต่า ในอาหารเหลว Murashige & Skoog ที่มีค่า

พีเอชต่างๆกัน บ่มที่เครื่องเขย่า 140 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส วัดการเจริญทุก 3วัน เป็นเวลา 12 วัน

pH	น้ำหนักแห้ง (กรัม)			
	วันที่ 3	วันที่ 6	วันที่ 9	วันที่ 12
3	0.0398	0.046	0.0598	0.0603
	0.0269	0.0484	0.0564	0.0597
	0.0191	0.051	0.053	0.0584
4	0.0126	0.0667	0.084	0.0941
	0.0266	0.0568	0.0824	0.0923
	0.0282	0.0584	0.0745	0.0946
5	0.0278	0.0569	0.0592	0.0611
	0.043	0.0559	0.0619	0.0636
	0.0152	0.0545	0.0632	0.0642

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ผลการศึกษาถึงความสัมพันธ์ของเห็ดตับเต่ากับพืชอาศัย

ตารางที่ ข-1 ความสูงของต้นมะกอกน้ำที่ไม่มีการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าให้กับต้นพืช เป็นเวลา 180 วัน

จำนวนวัน	ความสูง (เซนติเมตร)				
	ต้นที่ 1	ต้นที่ 2	ต้นที่ 3	ต้นที่ 4	ต้นที่ 5
ก่อนลงหัวเชื้อ	37.3	37.8	38.2	41.4	36
15 วัน	37.3	37.8	38.2	41.4	36
30 วัน	37.3	37.8	38.2	41.4	36
45 วัน	37.5	38.4	39.1	41.4	36.5
60 วัน	37.5	39	39	41.4	37
75 วัน	37	39.5	39	41.6	37.6
90 วัน	37.4	39.7	39	41.6	38
105 วัน	37	39.6	39.5	41.6	38.4
120 วัน	38	40	39.8	41.6	38.9
135 วัน	38.2	40	40	41.6	40
150 วัน	38.5	40	40	41.6	40
165 วัน	39	50	50	53	42
180 วัน	39	50	50	53	45.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-2 ความสูงของต้นมะกอกน้ำที่มีการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าปริมาณ 10 กรัมให้กับต้นพืช เป็นเวลา 180 วัน

จำนวนวัน	ความสูง (เซนติเมตร)				
	ต้นที่ 1	ต้นที่ 2	ต้นที่ 3	ต้นที่ 4	ต้นที่ 5
ก่อนลงหัวเชื้อ	41.8	43	27	35	42.3
15 วัน	42	43	27.2	35	42.3
30 วัน	43.5	43.1	27.6	35.1	42.5
45 วัน	43.5	43.5	27.6	36	42.5
60 วัน	43.5	43.1	27.7	36	42.5
75 วัน	42.8	43.5	28	36	41.3
90 วัน	42.8	43.9	28	35.5	42.5
105 วัน	42.8	44	28.2	36.8	42.5
120 วัน	44.5	45	28	39.6	42.5
135 วัน	46	45.7	28	41	42.7
150 วัน	46.5	46.5	28	42.2	42.7
165 วัน	69	55	30	57	43
180 วัน	73	56.5	30	57	45.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-3 ความสูงของต้นมะกอกน้ำที่มีการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าปริมาณ 20 กรัมให้กับต้นพืช เป็นเวลา 180 วัน

จำนวนวัน	ความสูง (เซนติเมตร)				
	ต้นที่ 1	ต้นที่ 2	ต้นที่ 3	ต้นที่ 4	ต้นที่ 5
ก่อนลงหัวเชื้อ	37	40	36.3	40.2	47
15 วัน	37	40	36.5	40.5	47
30 วัน	37	40.1	36.8	40.5	47.4
45 วัน	37.1	40	36.5	40.8	48
60 วัน	38	40	36.5	40.8	48
75 วัน	38.7	41	38	41.3	48
90 วัน	37.8	43.3	42.8	41.3	48
105 วัน	37.8	47	45	41.5	48.2
120 วัน	38.1	49.3	48	41.5	48.5
135 วัน	40	51	49.6	41.8	48.8
150 วัน	43	53.5	51	41.8	48.8
165 วัน	54	62	67	43	50
180 วัน	55.5	70	69	43	50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-4 ความสูงของต้นมะกอกน้ำที่มีการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าปริมาณ 30 กรัมให้กับต้นพืช เป็นเวลา 180 วัน

จำนวนวัน	ความสูง (เซนติเมตร)				
	ต้นที่ 1	ต้นที่ 2	ต้นที่ 3	ต้นที่ 4	ต้นที่ 5
ก่อนลงหัวเชื้อ	37	37.1	44	41.5	34.3
15 วัน	37.1	37.1	44	41.5	34.5
30 วัน	37.4	37.5	44.1	41.5	35.1
45 วัน	37.6	37.5	44.1	41.5	35.1
60 วัน	37.6	43	44.4	41.5	35.1
75 วัน	37	50	49	41.5	35.1
90 วัน	36.8	55	57	41.1	35.6
105 วัน	37.1	58	59.8	43.5	36.4
120 วัน	37.5	60.3	62.1	46.8	37
135 วัน	37.5	62.4	63.8	48	38.8
150 วัน	37.5	65	65.5	48.5	40
165 วัน	50	83	83	57	47.5
180 วัน	53.5	86	84	68	48.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-5 เส้นรอบวงลำต้นของต้นมะกอกน้ำที่ไม่มีการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าให้กับต้นพืชเป็นเวลา 180 วัน

จำนวนวัน	เส้นรอบวงลำต้น (เซนติเมตร)				
	ต้นที่ 1	ต้นที่ 2	ต้นที่ 3	ต้นที่ 4	ต้นที่ 5
ก่อนลงหัวเชื้อ	2.198	2.512	2.198	2.826	1.884
15 วัน	2.198	2.512	2.198	2.826	1.884
30 วัน	2.198	2.5591	2.198	2.8574	1.884
45 วัน	2.2294	2.7632	2.3236	3.0772	2.198
60 วัน	2.2992	2.7946	2.512	3.14	2.198
75 วัน	2.2992	2.8888	2.6062	3.1714	2.2992
90 วัน	2.355	2.9202	2.6062	3.2656	2.355
105 วัน	2.5434	2.9202	2.7318	3.297	2.355
120 วัน	2.6376	3.0772	2.826	3.4854	2.355
135 วัน	2.7632	3.141	2.8888	3.7052	2.355
150 วัน	2.826	3.1714	3.0144	3.7994	2.355
165 วัน	3.1714	3.297	3.6738	4.6786	2.355
180 วัน	3.2028	3.6424	3.6738	4.6786	2.512

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-6 เส้นรอบวงลำต้นของต้นมะกอกน้ำที่มีการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าปริมาณ 10 กรัมให้กับต้นพืช เป็นเวลา 180 วัน

จำนวนวัน	เส้นรอบวงลำต้น (เซนติเมตร)				
	ต้นที่ 1	ต้นที่ 2	ต้นที่ 3	ต้นที่ 4	ต้นที่ 5
ก่อนลงหัวเชื้อ	2.198	2.512	1.884	1.884	2.198
15 วัน	2.198	2.512	1.884	1.9468	2.198
30 วัน	2.198	2.512	1.9154	2.0096	2.198
45 วัน	2.2608	2.512	1.9468	2.4178	2.198
60 วัน	2.512	2.6376	1.9468	2.512	2.2294
75 วัน	2.6376	2.669	1.9782	2.6062	2.355
90 วัน	2.669	2.669	2.198	2.6376	2.3864
105 วัน	2.7632	2.669	2.198	2.826	2.3864
120 วัน	2.8888	2.7946	2.198	3.0772	2.6062
135 วัน	2.983	2.826	2.198	3.1714	2.7318
150 วัน	3.0144	2.8888	2.198	3.2342	2.826
165 วัน	3.925	3.2342	2.198	3.3598	3.0458
180 วัน	3.925	3.768	2.198	3.5168	3.0458

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-7 เส้นรอบวงลำต้นของต้นมะกอกน้ำที่มีการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าปริมาณ 20 กรัมให้กับต้นพืช เป็นเวลา 180 วัน

จำนวนวัน	เส้นรอบวงลำต้น (เซนติเมตร)				
	ต้นที่ 1	ต้นที่ 2	ต้นที่ 3	ต้นที่ 4	ต้นที่ 5
ก่อนลงหัวเชื้อ	2.198	2.198	2.826	2.198	2.198
15 วัน	2.198	2.198	2.826	2.198	2.198
30 วัน	2.198	2.198	2.8888	2.198	2.198
45 วัน	2.5748	2.198	2.9202	2.3864	2.198
60 วัน	2.8888	2.355	2.9202	2.512	2.3236
75 วัน	2.8888	2.7318	2.9202	2.5434	2.512
90 วัน	3.0772	2.826	2.9202	2.5434	2.512
105 วัน	3.1086	3.2028	3.0772	2.4178	2.512
120 วัน	3.2028	3.611	3.2656	2.512	2.512
135 วัน	3.4226	3.7366	3.454	2.5435	2.5748
150 วัน	3.5482	3.8622	3.5482	2.6062	2.6062
165 วัน	4.082	4.239	3.8308	2.8888	2.826
180 วัน	4.1448	4.4274	4.3018	2.9202	2.9516

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-8 เส้นรอบวงลำต้นของต้นมะกอกน้ำที่มีการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าปริมาณ 30 กรัมให้กับต้นพืช เป็นเวลา 180 วัน

จำนวนวัน	เส้นรอบวงลำต้น (เซนติเมตร)				
	ต้นที่ 1	ต้นที่ 2	ต้นที่ 3	ต้นที่ 4	ต้นที่ 5
ก่อนลงหัวเชื้อ	2.512	2.1352	2.198	2.198	2.198
15 วัน	2.512	2.1352	2.198	2.198	2.198
30 วัน	2.5905	2.198	2.3236	2.198	2.198
45 วัน	2.7318	2.198	2.669	2.512	2.198
60 วัน	2.826	2.198	2.8888	2.669	2.198
75 วัน	2.9202	2.512	3.14	2.8888	2.198
90 วัน	2.9202	2.7318	3.0144	3.0144	2.2922
105 วัน	3.0458	2.8888	3.0144	3.0144	2.922
120 วัน	3.1086	3.0772	3.3284	3.4226	2.2608
135 วัน	3.1714	3.141	3.5796	3.6424	2.2608
150 วัน	3.2342	3.2656	3.768	3.8308	2.2922
165 วัน	3.3912	3.5796	4.082	4.6158	2.5434
180 วัน	3.4854	3.7052	4.5216	4.6158	2.6062

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-9 จำนวนใบของต้นมะกอกน้ำที่ไม่มีการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าให้กับต้นพืช เป็นเวลา 180 วัน

จำนวนวัน	จำนวนใบ (ใบ)				
	ต้นที่ 1	ต้นที่ 2	ต้นที่ 3	ต้นที่ 4	ต้นที่ 5
ก่อนลงหัวเชื้อ	30	31	25	92	30
15 วัน	51	33	32	108	31
30 วัน	78	41	47	130	39
45 วัน	77	35	51	97	47
60 วัน	70	42	51	102	36
75 วัน	63	42	56	111	17
90 วัน	54	45	53	118	40
105 วัน	72	38	91	95	46
120 วัน	87	56	83	103	42
135 วัน	99	69	91	120	48
150 วัน	112	80	87	143	44
165 วัน	133	89	117	175	77
180 วัน	140	119	125	197	108

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-10 จำนวนใบของต้นมะกอกน้ำที่มีการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าปริมาณ 10 กรัมให้กับต้นพืช เป็นเวลา 180 วัน

จำนวนวัน	จำนวนใบ (ใบ)				
	ต้นที่ 1	ต้นที่ 2	ต้นที่ 3	ต้นที่ 4	ต้นที่ 5
ก่อนลงหัวเชื้อ	40	50	33	29	57
15 วัน	62	51	38	30	69
30 วัน	73	55	43	54	85
45 วัน	64	50	24	55	54
60 วัน	74	60	51	61	56
75 วัน	89	74	38	69	56
90 วัน	82	69	37	67	58
105 วัน	105	81	43	79	57
120 วัน	122	98	46	80	50
135 วัน	130	121	48	72	55
150 วัน	134	123	46	81	49
165 วัน	220	214	37	152	77
180 วัน	238	249	40	174	85

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-11 จำนวนใบของต้นมะกอกน้ำที่มีการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าปริมาณ 20 กรัมให้กับต้นพืช เป็นเวลา 180 วัน

จำนวนวัน	จำนวนใบ (ใบ)				
	ต้นที่ 1	ต้นที่ 2	ต้นที่ 3	ต้นที่ 4	ต้นที่ 5
ก่อนลงหัวเชื้อ	51	43	44	31	38
15 วัน	46	50	58	40	37
30 วัน	51	87	72	62	28
45 วัน	48	79	66	52	22
60 วัน	54	97	89	60	37
75 วัน	58	110	102	63	45
90 วัน	65	108	105	56	46
105 วัน	76	114	99	70	46
120 วัน	89	123	103	72	47
135 วัน	110	146	110	77	42
150 วัน	117	151	104	72	48
165 วัน	170	108	164	123	133
180 วัน	203	135	193	159	166

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-12 จำนวนใบของต้นมะกอกน้ำที่มีการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าปริมาณ 30 กรัมให้กับต้นพืช เป็นเวลา 180 วัน

จำนวนวัน	จำนวนใบ (ใบ)				
	ต้นที่ 1	ต้นที่ 2	ต้นที่ 3	ต้นที่ 4	ต้นที่ 5
ก่อนลงหัวเชื้อ	70	49	48	52	32
15 วัน	78	45	50	62	39
30 วัน	107	49	79	79	63
45 วัน	95	61	61	98	54
60 วัน	91	64	86	94	77
75 วัน	88	67	102	94	94
90 วัน	113	88	110	111	90
105 วัน	108	99	121	113	86
120 วัน	132	101	114	100	90
135 วัน	156	112	130	123	114
150 วัน	178	115	136	129	103
165 วัน	233	193	198	171	109
180 วัน	248	206	212	194	138

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-13 ปริมาณคลอโรฟิลล์ของต้นมะกอกน้ำที่ไม่มีการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าให้กับต้นพืช เป็นเวลา 180 วัน

เดือนที่	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/g tissue)				
	ต้นที่ 1	ต้นที่ 2	ต้นที่ 3	ต้นที่ 4	ต้นที่ 5
ก่อนลงหัวเชื้อ	0.678584	0.952434	0.598698	0.86117	0.520428
1	0.543518	0.543458	0.432032	0.382364	0.158714
2	0.009268	0.012892	0.01007	0.00805	0.010486
3	0.849426	0.471454	0.662454	0.619768	0.70182
4	1.74115	1.17584	1.326414	1.384758	1.182286
5	0.736722	1.060956	0.703986	0.655536	0.430402
6	0.479616	0.346742	0.359458	0.383042	0.325804

ตารางที่ ข-14 ปริมาณคลอโรฟิลล์ของต้นมะกอกน้ำที่มีการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าปริมาณ 10 กรัม ให้กับต้นพืช เป็นเวลา 180 วัน

เดือนที่	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/g tissue)				
	ต้นที่ 1	ต้นที่ 2	ต้นที่ 3	ต้นที่ 4	ต้นที่ 5
ก่อนลงหัวเชื้อ	1.09905	0.447712	0.410464	0.594516	0.631738
1	0.499198	0.422142	0.527092	0.482176	0.560918
2	0.00603	0.073934	0.053944	0.018536	0.170856
3	0.364544	0.150252	0.22184	0.23595	0.246822
4	1.312814	1.093556	1.260938	1.169814	0.798516
5	0.330886	0.277328	0.373576	0.328274	0.241002
6	0.441146	0.269656	0.220734	0.298708	0.159006

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-15 ปริมาณคลอโรฟิลล์ของต้นมะกอกน้ำที่มีการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าปริมาณ 20 กรัม ให้กับต้นพืช เป็นเวลา 180 วัน

เดือนที่	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/g tissue)				
	ต้นที่ 1	ต้นที่ 2	ต้นที่ 3	ต้นที่ 4	ต้นที่ 5
ก่อนลงหัวเชื้อ	0.22956	0.242602	0.354916	0.234552	0.158388
1	0.606202	0.557928	0.227454	0.660172	0.99617
2	0.02608	0.012476	0.010842	0.008852	0.008852
3	0.181856	0.109462	0.18925	0.166734	0.11864
4	1.245734	1.154774	1.265252	1.122102	1.01472
5	0.703222	0.556796	0.565738	0.55626	0.403598
6	0.335668	0.74858	0.480688	0.536588	0.53326

ตารางที่ ข-16 ปริมาณคลอโรฟิลล์ของต้นมะกอกน้ำที่มีการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าปริมาณ 30 กรัม ให้กับต้นพืช เป็นเวลา 180 วัน

เดือนที่	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/g tissue)				
	ต้นที่ 1	ต้นที่ 2	ต้นที่ 3	ต้นที่ 4	ต้นที่ 5
ก่อนลงหัวเชื้อ	0.204668	0.176478	0.263454	0.273228	0.161
1	0.60239	0.579428	0.76562	0.71503	0.419912
2	0.008852	0.005228	0.005228	0.00805	0.008466
3	0.19944	0.13498	0.072244	0.15114	0.22793
4	1.679014	1.248728	1.384364	1.240948	1.05298
5	0.425826	0.285172	0.182444	0.363682	0.259212
6	0.74846	0.602742	0.587384	0.605796	0.444032

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของการศึกษาผลของอาหารวุ้นที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า

ตั้งสมมติฐาน

สมมติฐานหลัก (H_0) = อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าบนอาหารวุ้นทั้ง 4 ชนิด ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

สมมติฐานรอง (H_1) = อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าบนอาหารวุ้นทั้ง 4 ชนิด แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ตารางที่ ค-1 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าทั้งหมดบนอาหารวุ้นทั้ง 4 ชนิด

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	155.232	3	51.744	123.054	.000
Within Groups	6.728	16	.421		
Total	161.960	19			

จากตาราง เมื่อพิจารณาอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าทั้งหมด พบว่าค่า F(123.054) > ค่า Sig. (.000) จึงปฏิเสธสมมติฐานหลัก สรุปได้ว่า อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าทั้งหมดบนอาหารวุ้นทั้ง 4 ชนิด แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 แตกต่างกันอย่างน้อย 1 ค่า นำไปทดสอบหาคู่ที่แตกต่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-2 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) ของอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าบนอาหารวุ้นทั้ง 4 ชนิด

ชนิดอาหารวุ้น	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
MEA	5	1.0200			
GPYA	5		6.3000		
Corn meal	5			7.2600	
MS	5				8.2200
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของการศึกษาผลของอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า

ตั้งสมมติฐาน

สมมติฐานหลัก (H_0) = อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าที่บ่มในอุณหภูมิ 3 ค่าอุณหภูมิไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

สมมติฐานรอง (H_1) = อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าที่บ่มในอุณหภูมิ 3 ค่าอุณหภูมิแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-3 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าทั้งหมดที่บ่มในอุณหภูมิ 3 ค่าอุณหภูมิ

NOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	184.097	2	92.049	588.797	.000
Within Groups	1.876	12	.156		
Total	185.973	14			

จากตาราง เมื่อพิจารณาอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าทั้งหมด พบว่าค่า F(588.797) > ค่า Sig. (.000) จึงปฏิเสธสมมติฐานหลัก สรุปได้ว่า อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าทั้งหมดที่บ่มในอุณหภูมิ 3 ค่าอุณหภูมิ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 แตกต่างกันอย่างน้อย 1 ค่า นำไปทดสอบหาคู่ที่แตกต่าง

ตารางที่ ค-4 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) ของอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าที่บ่มในอุณหภูมิ 3 ค่าอุณหภูมิ

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
37	5	.0000		
25	5		5.9800	
30	5			8.3200
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของการศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า

ตั้งสมมติฐาน

สมมติฐานหลัก (H_0) = อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าบนอาหารวุ้นที่มีแหล่งคาร์บอนต่างกัน 3 ชนิด ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

สมมติฐานรอง (H_1) = อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าบนอาหารวุ้นทั้งที่มีแหล่งคาร์บอนต่างกัน 3 ชนิด แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ตารางที่ ค-5 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าทั้งหมดบนอาหารวุ้นที่มีแหล่งคาร์บอนต่างกัน 3 ชนิด

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.161	2	2.581	5.137	.024
Within Groups	6.028	12	.502		
Total	11.189	14			

จากตาราง เมื่อพิจารณาอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าทั้งหมด พบว่าค่า F(5.137) > ค่า Sig. (.024) จึงปฏิเสธสมมติฐานหลัก สรุปได้ว่า อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าทั้งหมดบนอาหารวุ้นที่มีแหล่งคาร์บอนต่างกัน 3 ชนิด แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 แตกต่างกันอย่างน้อย 1 ค่า นำไปทดสอบหาคู่ที่แตกต่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-6 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) ของอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าบนอาหารวุ้นที่มีแหล่งคาร์บอนต่างกัน 3 ชนิด

แหล่งคาร์บอน	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Glucose	5	6.5200	
Malt extract	5	6.9400	
Fructose	5		7.9200
Sig.		.367	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของการศึกษาผลของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า

ตั้งสมมติฐาน

สมมติฐานหลัก (H_0) = อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าบนอาหารวุ้นที่มีแหล่งไนโตรเจนต่างกัน 3 ชนิด ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

สมมติฐานรอง (H_1) = อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าบนอาหารวุ้นทั้งที่มีแหล่งไนโตรเจนต่างกัน 3 ชนิด แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-7 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าทั้งหมดบนอาหารวุ้นที่มีแหล่งไนโตรเจนต่างกัน 3 ชนิด

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	22.245	2	11.123	95.066	.000
Within Groups	1.404	12	.117		
Total	23.649	14			

จากตาราง เมื่อพิจารณาอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าทั้งหมด พบว่าค่า F(95.066) > ค่า Sig. (.000) จึงปฏิเสธสมมติฐานหลัก สรุปได้ว่า อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าทั้งหมดบนอาหารวุ้นที่มีแหล่งไนโตรเจนต่างกัน 3 ชนิด แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 แตกต่างกันอย่างน้อย 1 ค่า นำไปทดสอบหาคู่ที่แตกต่าง

ตารางที่ ค-8 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) ของอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าบนอาหารวุ้นที่มีแหล่งไนโตรเจนต่างกัน 3 ชนิด

แหล่งไนโตรเจน	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Peptone	5	6.220000	
KNO_3	5	6.620000	
NH_4NO_3	5		8.980000
Sig.		.089	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของการศึกษาผลของความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า

ตั้งสมมติฐาน

สมมติฐานหลัก (H_0) = อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าบนอาหารเหลวที่มีความเป็นกรดด่าง 3 ค่า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

สมมติฐานรอง (H_1) = อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าบนอาหารเหลวที่มีความเป็นกรดด่าง 3 ค่า แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ตารางที่ ค-9 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าทั้งหมดบนอาหารเหลวที่มีความเป็นกรดด่าง 3 ค่า

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.002	2	.001	623.595	.000
Within Groups	.000	6	.000		
Total	.002	8			

จากตาราง เมื่อพิจารณาอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าทั้งหมด พบว่าค่า F(623.595) > ค่า Sig. (.000) จึงปฏิเสธสมมติฐานหลัก สรุปได้ว่า อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าทั้งหมดบนอาหารเหลวที่มีความเป็นกรดด่าง 3 ค่า แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 แตกต่างกันอย่างน้อย 1 ค่า นำไปทดสอบหาคู่ที่แตกต่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-10 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) ของอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าบนอาหารเหลวที่มีความเป็นกรดด่าง 3 ค่า

พีเอช	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
3.00	3	.0595		
5.00	3		.0630	
4.00	3			.0937
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของการศึกษาผลของเห็ดตับเต่าต่อความสูงของต้นมะกอกน้ำ

ตั้งสมมติฐาน

สมมติฐานหลัก (H_0) = ความสูงของต้นมะกอกน้ำที่มีปริมาณหัวเชื้อเห็ดตับเต่าทั้ง 4 ค่า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

สมมติฐานรอง (H_1) = ความสูงของต้นมะกอกน้ำที่มีปริมาณหัวเชื้อเห็ดตับเต่าทั้ง 4 ค่า แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ตารางที่ ค-11 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความสูงของต้นมะกอกน้ำที่มีปริมาณหัวเชื้อเห็ดตับเต่าทั้ง 4 ค่า

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1156.436	3	385.479	2.154	.133
Within Groups	2862.992	16	178.937		
Total	4019.428	19			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตาราง เมื่อพิจารณาความสูงของต้นมะกอกน้ำทั้งหมด พบว่าค่า F(2.154) > ค่า Sig. (.133) จึงปฏิเสธสมมติฐานหลัก สรุปได้ว่า ความสูงของต้นมะกอกน้ำที่มีปริมาณหัวเชื้อเห็ดตับเต่าทั้ง 4 ค่า แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 แตกต่างกันอย่างน้อย 1 ค่า นำไปทดสอบหาคู่ที่แตกต่าง

ตารางที่ ค-12 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) ของความสูงของต้นมะกอกน้ำที่มีปริมาณหัวเชื้อเห็ดตับเต่าทั้ง 4 ค่า

ปริมาณหัวเชื้อ (กรัม)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.0000	5	47.500000	
10.0000	5	52.360000	52.360000
20.0000	5	57.500000	57.500000
30.0000	5		68.000000
Sig.		.279	.098

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของการศึกษาผลของเห็ดตับเต่าต่อเส้นรอบวงลำต้นของต้นมะกอกน้ำ

ตั้งสมมติฐาน

สมมติฐานหลัก (H_0) = เส้นรอบวงลำต้นของต้นมะกอกน้ำที่มีปริมาณหัวเชื้อเห็ดตับเต่าทั้ง 4 ค่า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

สมมติฐานรอง (H_1) = เส้นรอบวงลำต้นของต้นมะกอกน้ำที่มีปริมาณหัวเชื้อเห็ดตับเต่าทั้ง 4 ค่า แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-13 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของเส้นรอบวงลำต้นของต้นมะกอกน้ำที่มีปริมาณหัวเชื้อเห็ดตับเต่าทั้ง 4 ค่า

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.780	3	.260	.443	.726
Within Groups	9.394	16	.587		
Total	10.174	19			

จากตาราง เมื่อพิจารณาเส้นรอบวงลำต้นของต้นมะกอกน้ำทั้งหมด พบว่าค่า F(.443) < ค่า Sig. (.726) จึงยอมรับสมมติฐานหลัก สรุปได้ว่า เส้นรอบวงลำต้นของต้นมะกอกน้ำที่มีปริมาณหัวเชื้อเห็ดตับเต่าทั้ง 4 ค่า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของการศึกษาผลของเห็ดตับเต่าต่อจำนวนใบของต้นมะกอกน้ำ

ตั้งสมมติฐาน

สมมติฐานหลัก (H_0) = จำนวนใบของต้นมะกอกน้ำที่มีปริมาณหัวเชื้อเห็ดตับเต่าทั้ง 4 ค่า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

สมมติฐานรอง (H_1) = จำนวนใบของต้นมะกอกน้ำที่มีปริมาณหัวเชื้อเห็ดตับเต่าทั้ง 4 ค่า แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ตารางที่ ค-14 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของจำนวนใบของต้นมะกอกน้ำที่มีปริมาณหัวเชื้อเห็ดตับเต่าทั้ง 4 ค่า

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10139.350	3	3379.783	1.116	.372
Within Groups	48437.600	16	3027.350		
Total	58576.950	19			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตาราง เมื่อพิจารณาจำนวนใบของต้นมะกอกน้ำทั้งหมด พบว่าค่า F(1.116) > ค่า Sig. (.372) จึงปฏิเสธสมมติฐานหลัก สรุปได้ว่าจำนวนใบของต้นมะกอกน้ำที่มีปริมาณหัวเชื้อเห็ดตับเต่าทั้ง 4 ค่า แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ตารางที่ ค-15 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) ของจำนวนใบของต้นมะกอกน้ำที่มีปริมาณหัวเชื้อเห็ดตับเต่าทั้ง 4 ค่า

ปริมาณหัวเชื้อ (กรัม)	N	Subset for alpha = 0.05
		1
.0000	5	137.800000
10.0000	5	157.200000
20.0000	5	171.200000
30.0000	5	199.600000
Sig.		.121

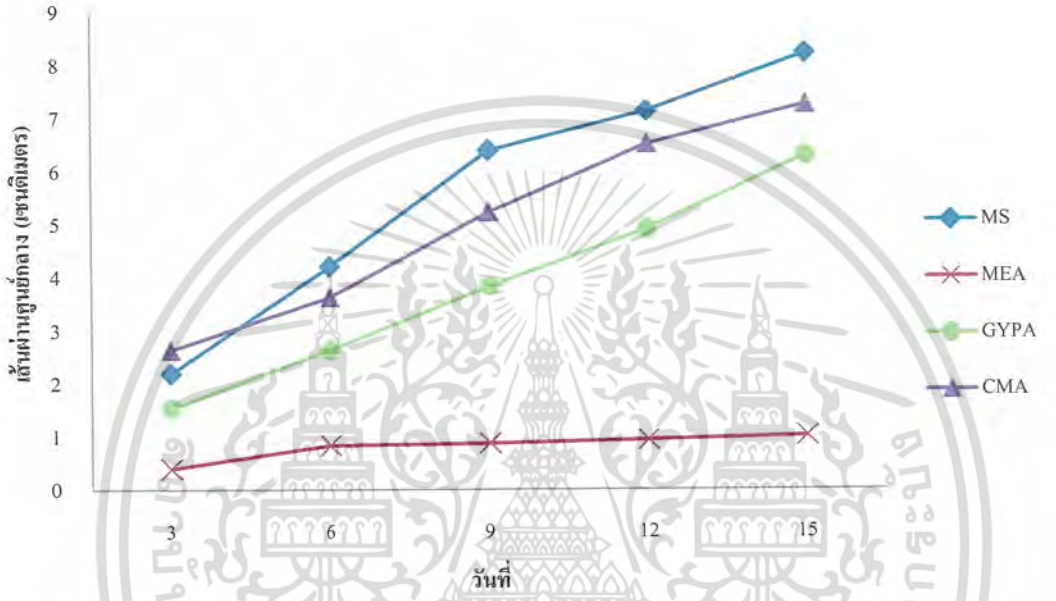
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

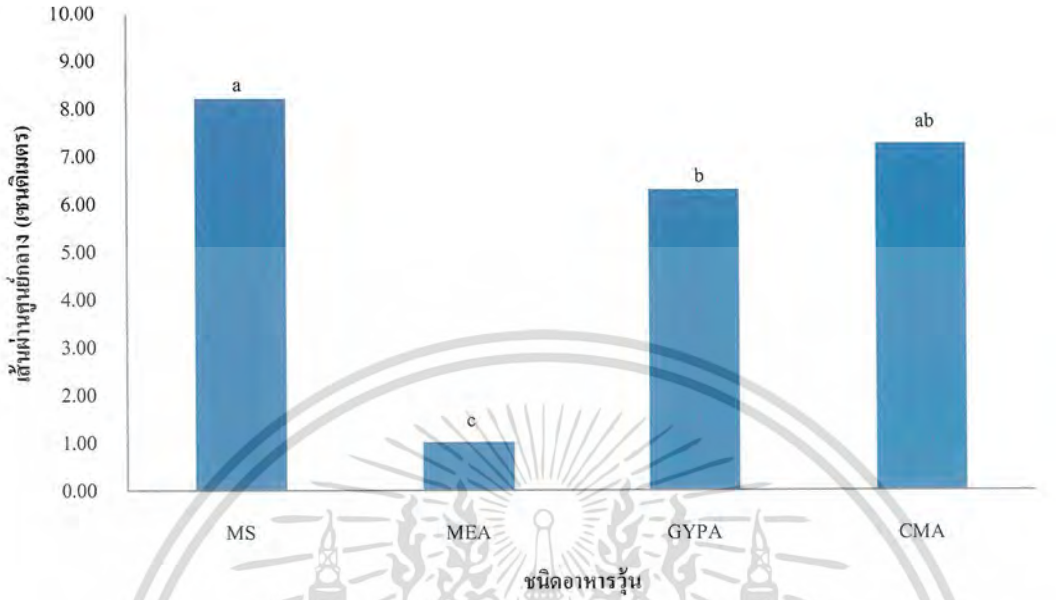
ภาคผนวก ง

ผลการศึกษาอาหารวุ้นที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า



รูปที่ ง-1 แสดงอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่า ในอาหารวุ้นชนิดต่างๆ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส วัดการเจริญทุก 3 วัน เป็นเวลา 15 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

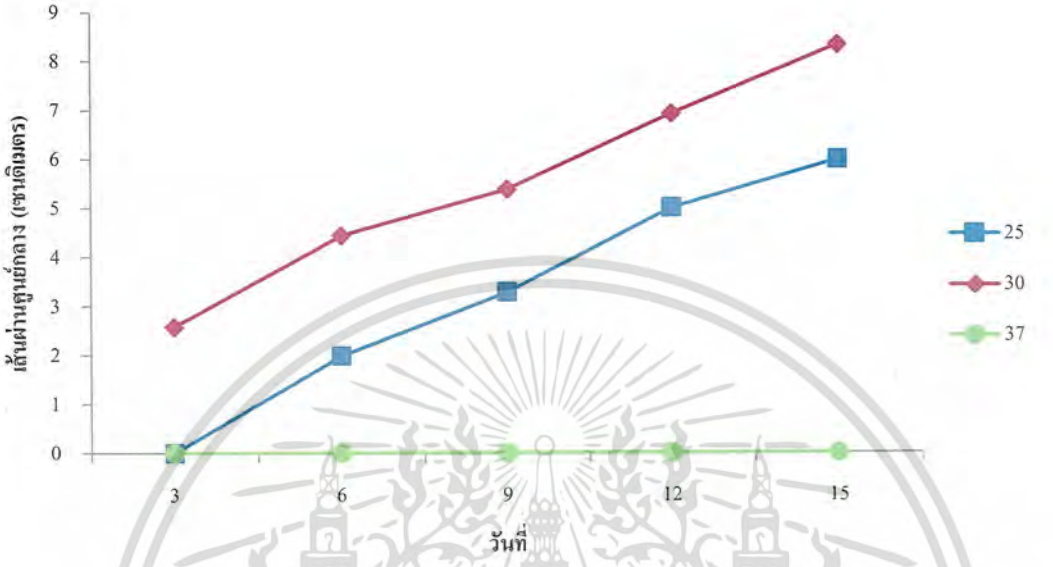


รูปที่ ง-2 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร) ของเส้นใยเห็ดตับเต่า ในอาหารวุ้นชนิดต่างๆ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน

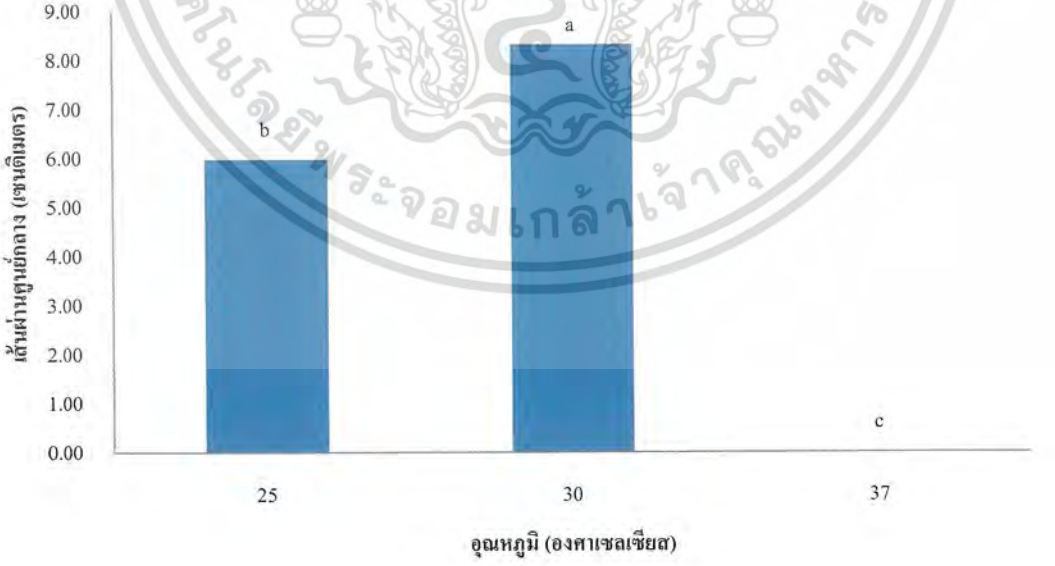
หมายเหตุ (MS: Murashige & Skoog agar, MEA: Malt extract agar ,GPYA: Glucose-Peptone- Yeast extract agarและ CMA:Corn meal agar)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า



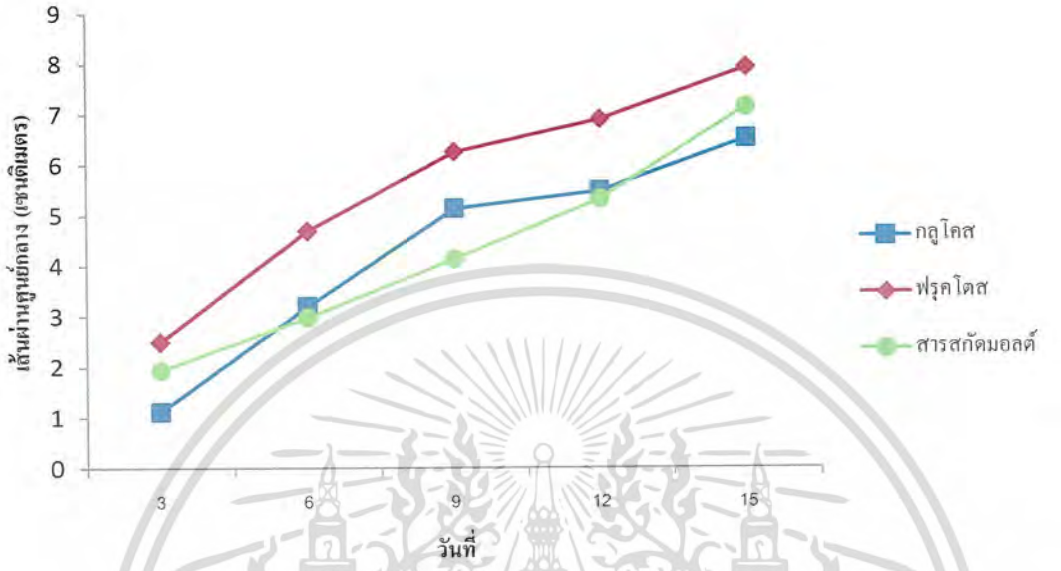
รูปที่ ง-3 แสดงอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่า ในอาหาร Murashige & Skoog agar บ่มที่อุณหภูมิต่างๆ วัดการเจริญทุก 3 วัน เป็นเวลา 15 วัน



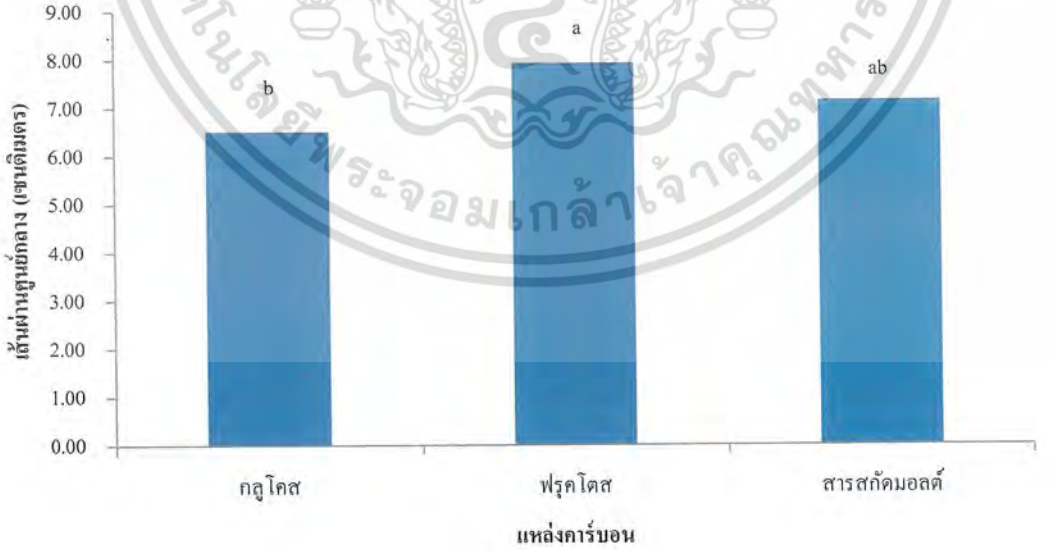
รูปที่ ง-4 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร) ของเส้นใยเห็ดตับเต่า ในอาหาร Murashige & Skoog agar บ่มที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 15 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการศึกษาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า



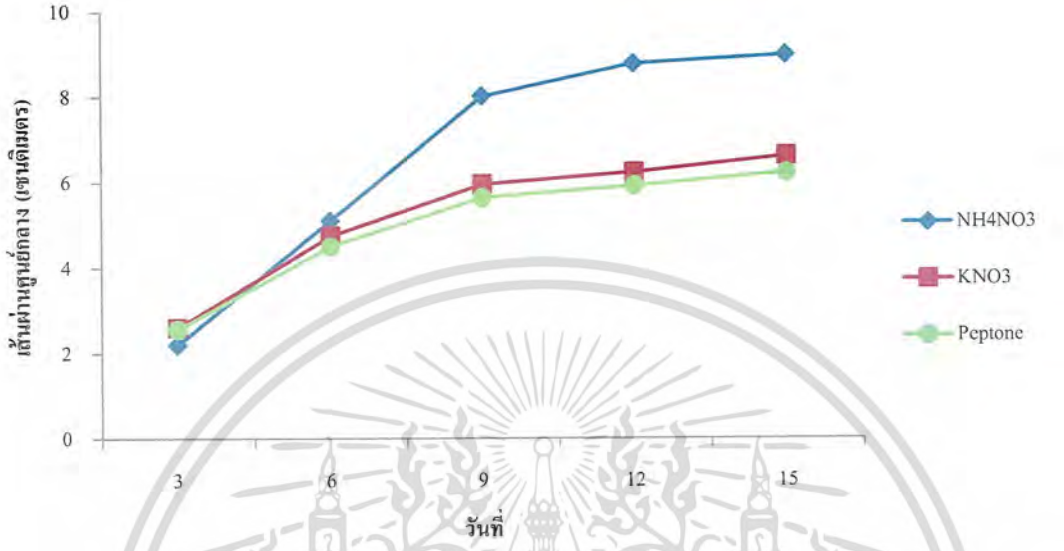
รูปที่ ง-5 แสดงอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่า ในอาหาร Murashige & Skoog agar ที่มีแหล่งคาร์บอนต่างๆ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส วัดการเจริญทุก 3 วัน เป็นเวลา 15 วัน



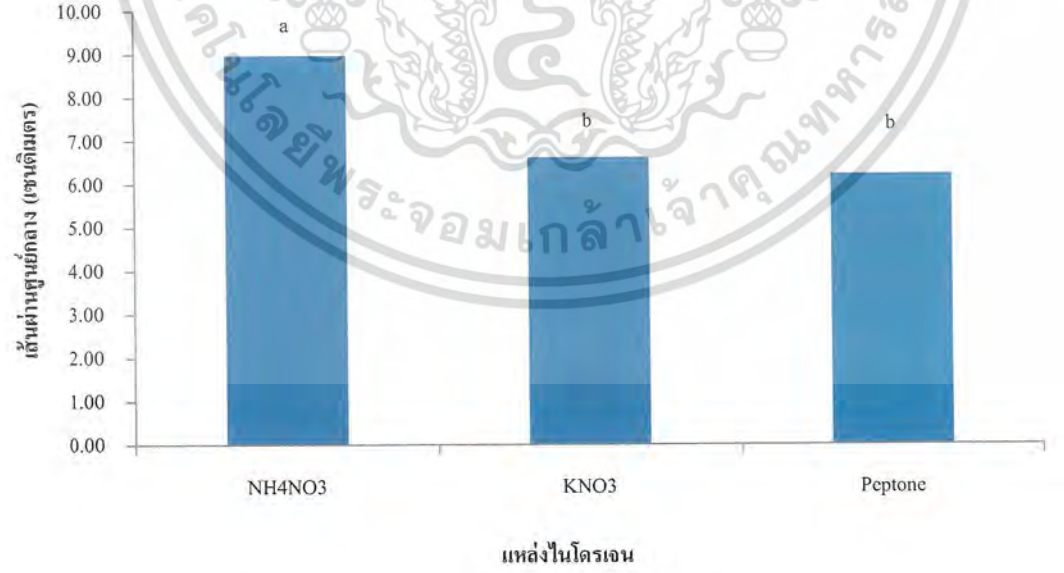
รูปที่ ง-6 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร) ของเส้นใยเห็ดตับเต่า ในอาหาร Murashige & Skoog agar ที่มีแหล่งคาร์บอนต่างๆ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า



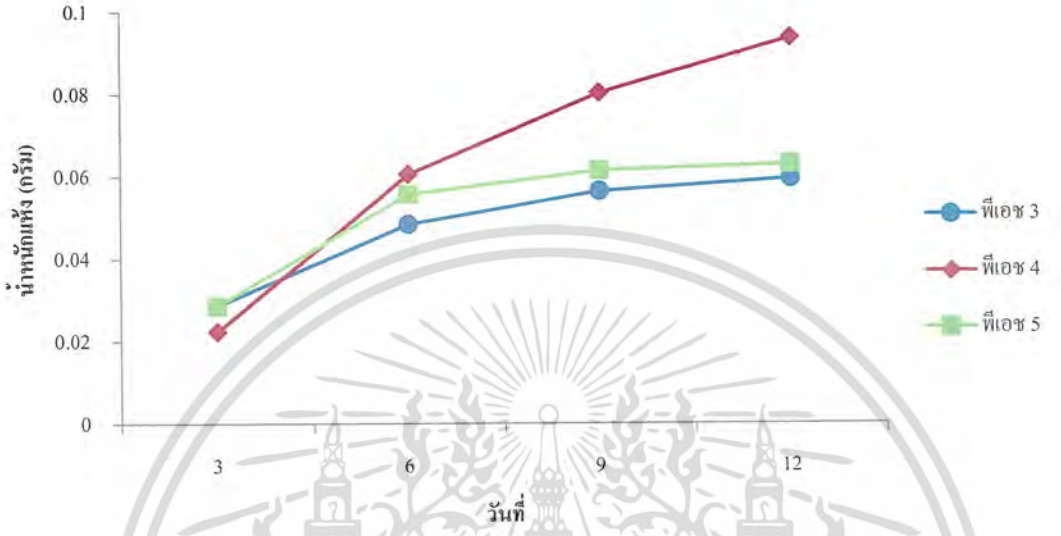
รูปที่ ง-7 แสดงอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่า ในอาหาร Murashige & Skoog agar ที่มีแหล่งไนโตรเจนต่างๆ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส วัดการเจริญทุก 3 วัน เป็นเวลา 15 วัน



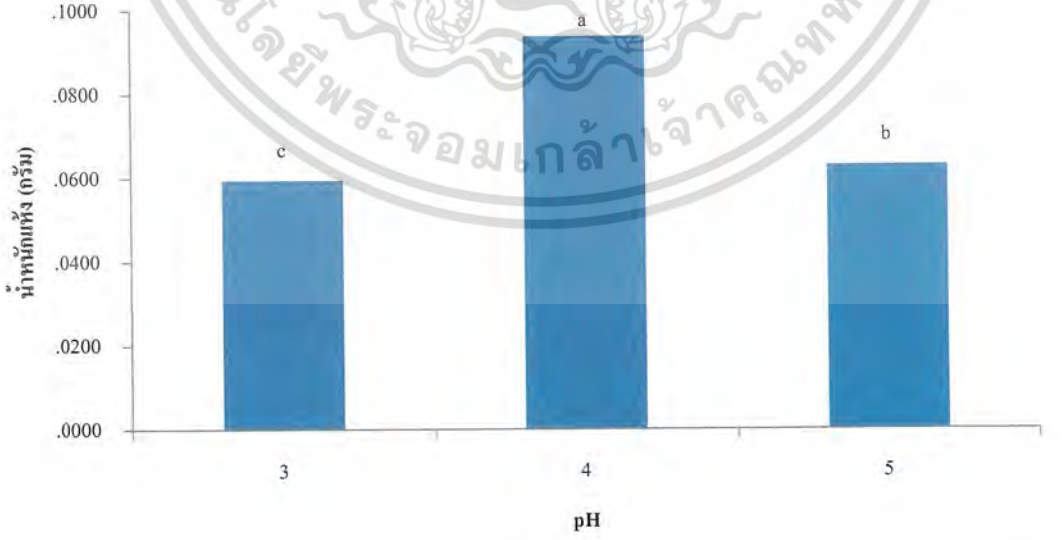
รูปที่ ง-8 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร) ของเส้นใยเห็ดตับเต่า ในอาหาร Murashige & Skoog agar ที่มีแหล่งไนโตรเจนต่างๆ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการศึกษาความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า



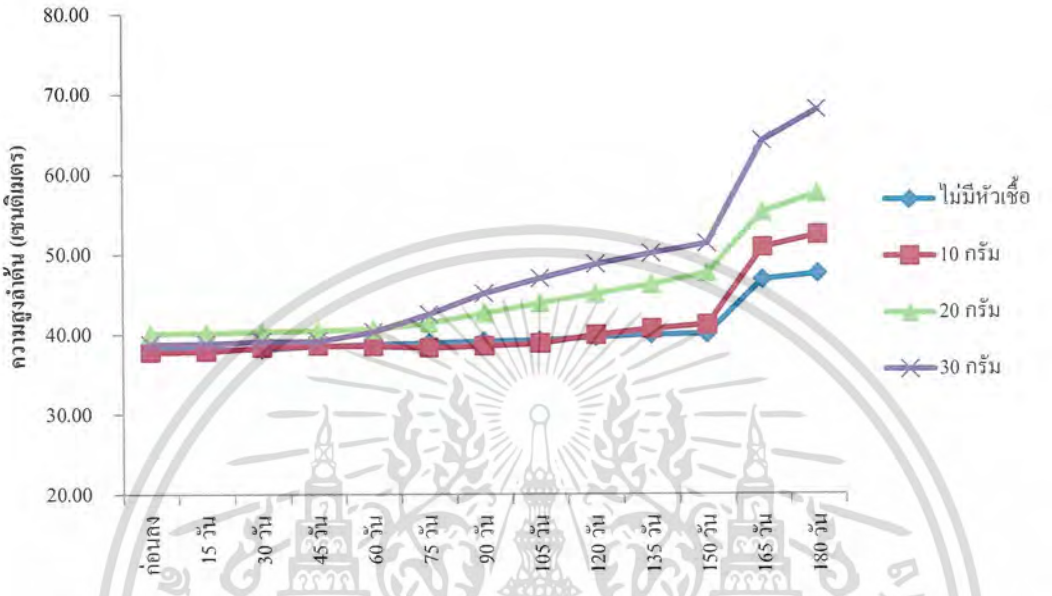
รูปที่ ง-9 แสดงอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่า ในอาหารเหลว Murashige & Skoog ที่มีค่าพีเอชต่างๆกัน บ่มที่เครื่องเขย่า 140 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส วัดการเจริญทุก 3 วัน เป็นเวลา 12 วัน



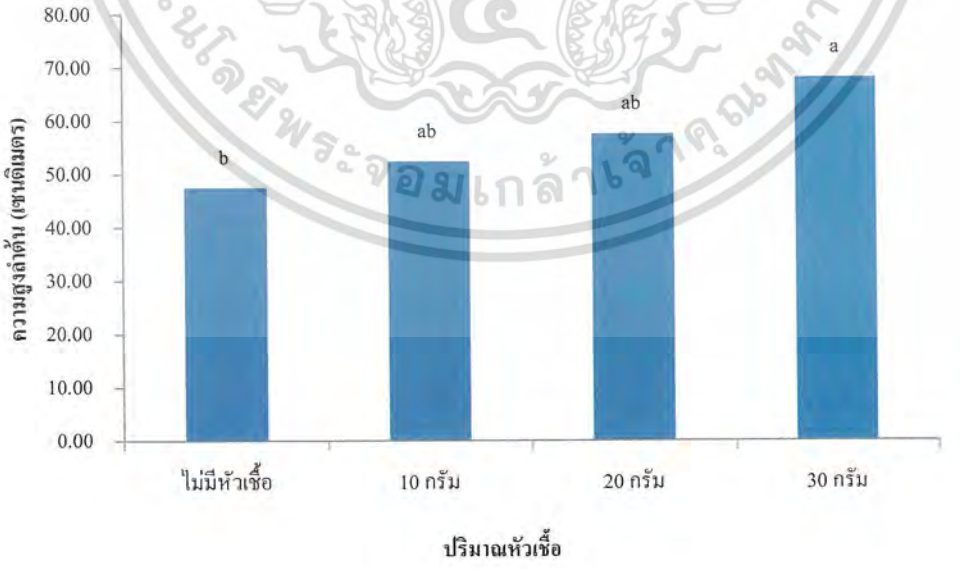
รูปที่ ง-10 แสดงน้ำหนักแห้ง (กรัม) ของเส้นใยเห็ดตับเต่า ในอาหารเหลว Murashige & Skoog ที่มีค่า pH ต่างๆกัน บ่มที่เครื่องเขย่า 140 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการศึกษาถึงความสัมพันธ์ของเห็ดตับเต่ากับพืชอาศัย

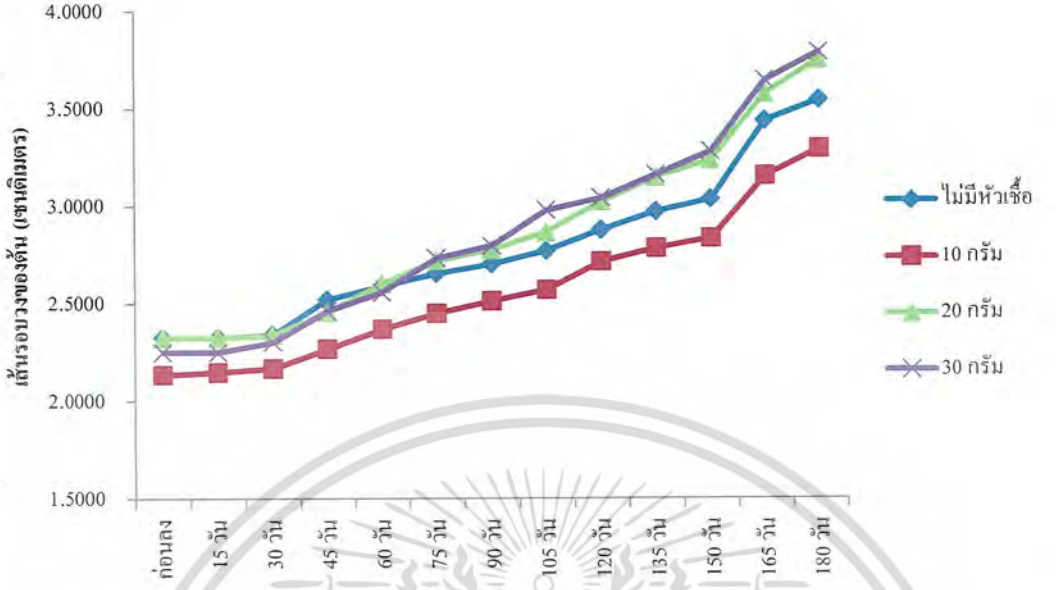


รูปที่ ง-11 แสดงผลความสูงของต้นมะกอกน้ำที่มีการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าให้กับต้นพืช บันทึกผลทุก 15 วัน เป็นเวลา 180 วัน

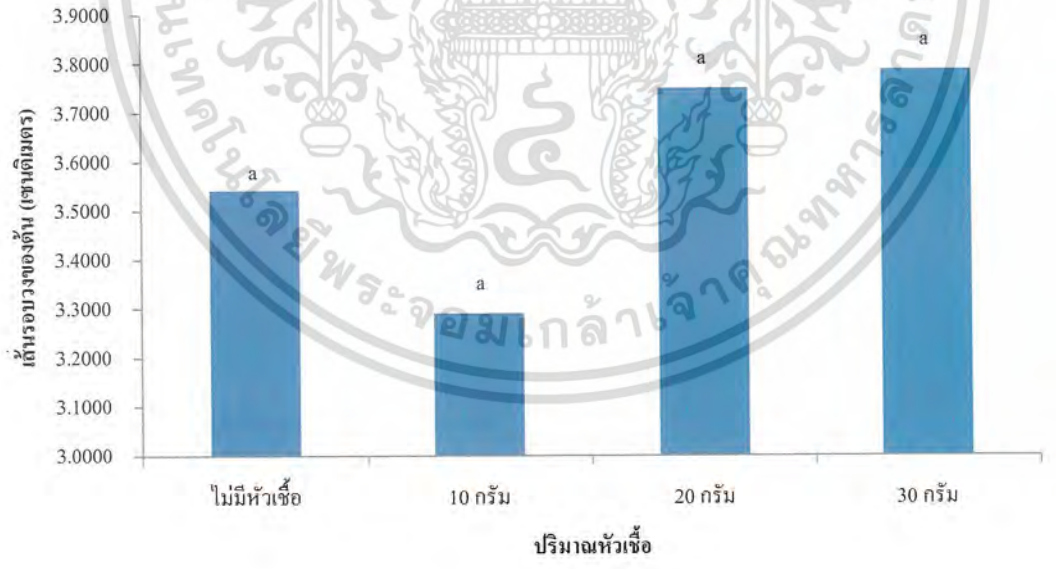


รูปที่ ง-12 แสดงความสูงของต้นมะกอกน้ำที่มีการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าให้กับต้นพืชเป็นเวลา 180 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

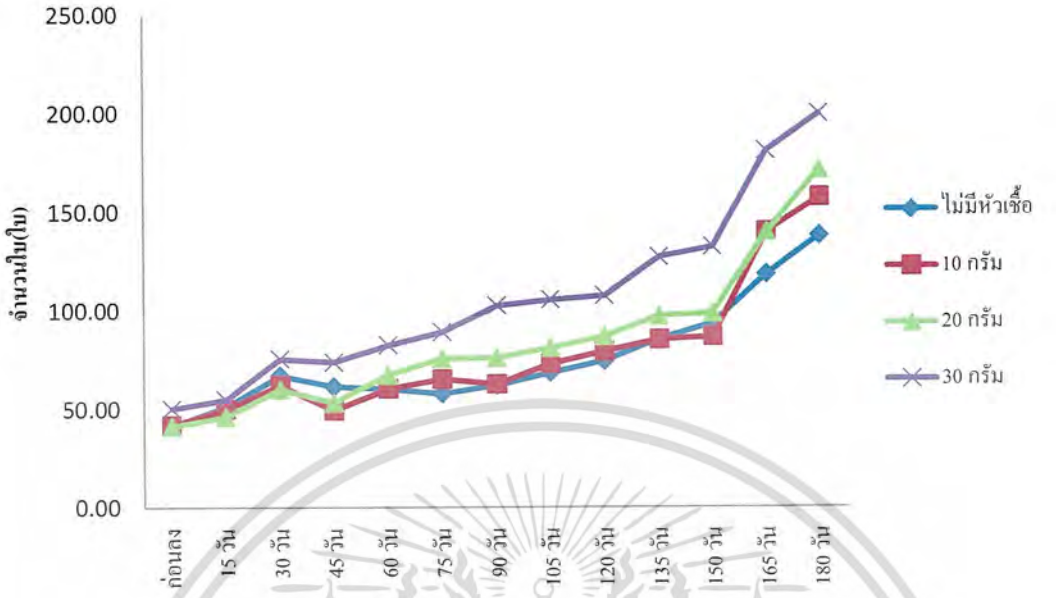


รูปที่ ง-13 แสดงผลเส้นรอบวงลำต้นของต้นมะกอกน้ำที่มีการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าให้กับต้นพืช บันทึกผลทุก 15 วัน เป็นเวลา 180 วัน

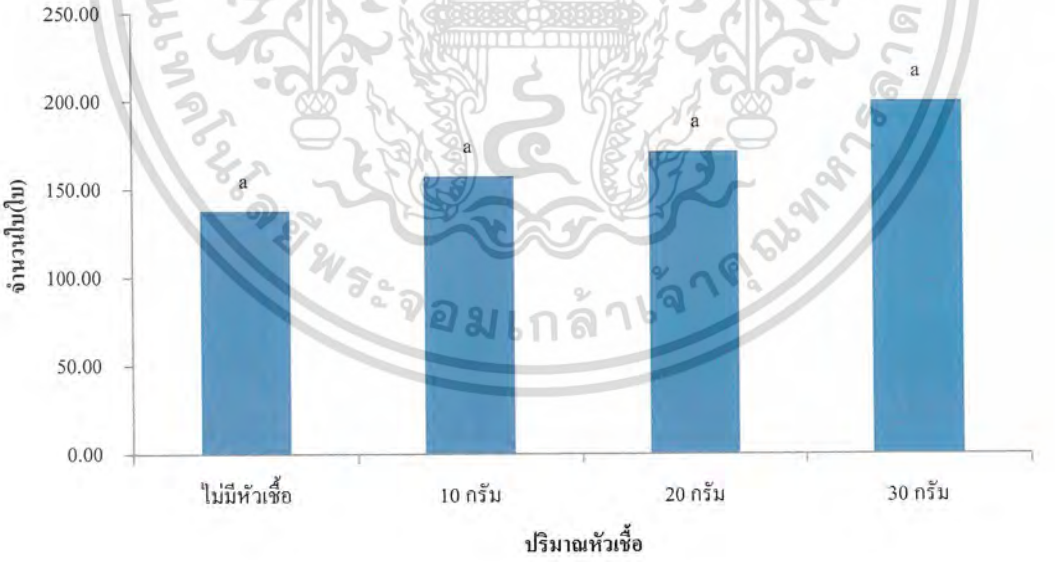


รูปที่ ง-14 แสดงเส้นรอบวงลำต้นของต้นมะกอกน้ำที่มีการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าให้กับต้นพืช เป็นเวลา 180 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

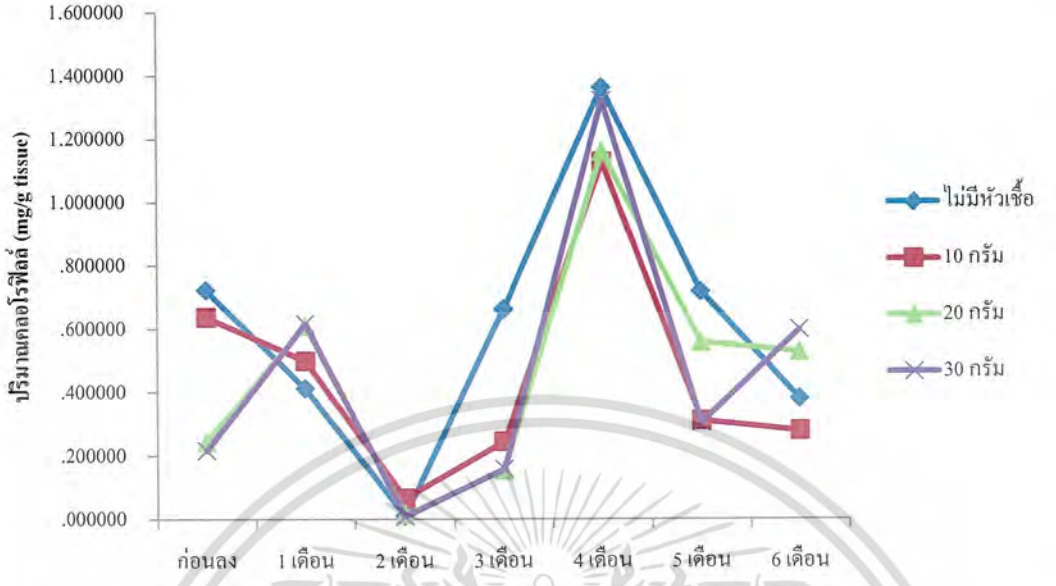


รูปที่ ง-16 แสดงผลจำนวนใบของต้นมะกอกน้ำที่มีการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าให้กับต้นพืช บันทึกผลทุก 15 วัน เป็นเวลา 180 วัน

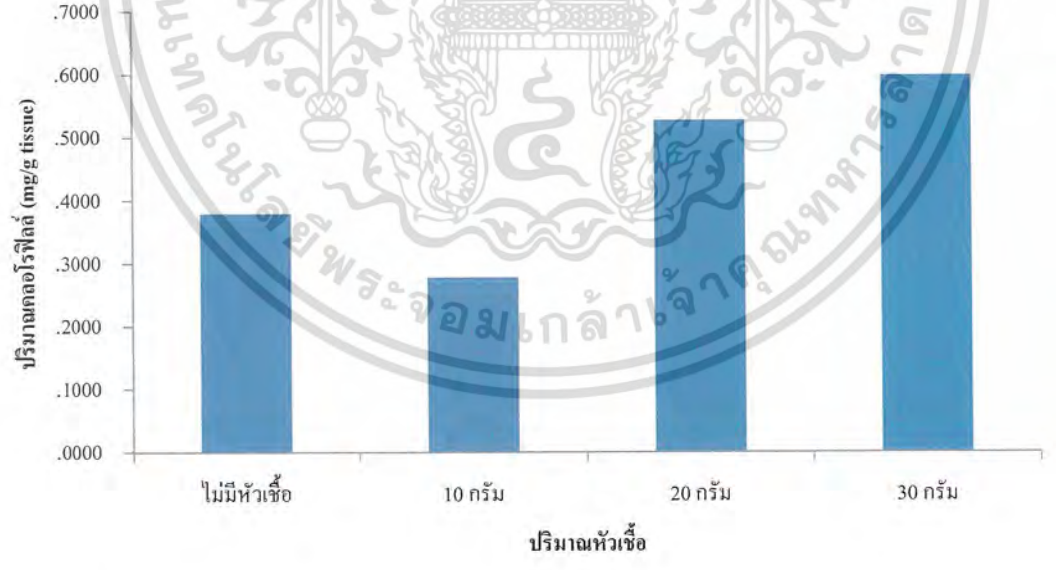


รูปที่ ง-17 แสดงจำนวนใบของต้นมะกอกน้ำที่มีการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าให้กับต้นพืช เป็นเวลา 180 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ง-18 แสดงผลปริมาณคลอโรฟิลล์ของต้นมะกอกน้ำที่มีการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าให้กับต้นพืช บันทึกผลทุก 15 วัน เป็นเวลา 6 เดือน



รูปที่ ง-19 แสดงปริมาณคลอโรฟิลล์ของต้นมะกอกน้ำที่มีการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าให้กับต้นพืช เป็นเวลา 6 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

อาหารเลี้ยงเชื้อ

การเตรียมอาหารที่ใช้ทดสอบการเจริญของเส้นใยบริสุทธิ์เห็ดตับเต่า

1. Murashige & Skoog agar

Stock 1 (g/l :w/v)

NH_4NO_3	165	กรัม
KNO_3	190	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

Stock 2 (g/l :w/v)

$MgSO_4.7H_2O$	37	กรัม
$MnSO_4.H_2O$	1.090	กรัม
$ZnSO_4.7H_2O$	0.860	กรัม
$CuSO_4.5H_2O$	0.0025	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

Stock 3 (g/l :w/v)

$CaCl_2.2H_2O$	44	กรัม
KI	0.083	กรัม
$CoCl_2.6H_2O$	0.0025	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

Stock 4 (g/l :w/v)

KH_2PO_4	17	กรัม
H_3BO_3	0.620	กรัม
$Na_2MoO_2.2H_2O$	0.25	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

Stock 5 (g/l :w/v)

$FeSO_4.7H_2O$	2.784	กรัม
Na_2EDTA	3.724	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

Stock 6 (g/l :w/v)

Inositol	2	กรัม
Nicothenic acid	0.01	กรัม
Pyridoxine HCL	0.01	กรัม
Thiamine HCL	0.002	กรัม
Glycine	0.04	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แหล่งคาร์บอน

Sucrose	30	กรัม
Agar	15	กรัม

โดยใช้

Stock 1-5	10 มิลลิลิตร/1,000 มิลลิลิตร
Stock 6	5 มิลลิลิตร/1,000 มิลลิลิตร

ผสมสารทั้งหมดให้เข้ากัน ปรับพีเอช 4- 5 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. Malt extract agar medium (g/l :w/v)

Peptone	1	กรัม

แหล่งคาร์บอน (g/l :w/v)

Malt extract	20	กรัม
Glucose	20	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ผสมสารทั้งหมดให้เข้ากัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. Glucose – peptone – yeast extract agar (g/l :w/v)

Peptone	5	กรัม
Yeast extract	5	กรัม

แหล่งคาร์บอน(g/l :w/v)

Glucose	40	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ผสมสารทั้งหมดให้เข้ากัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

4. Corn meal agar (g/l :w/v)

Corn (maize) meal	30	กรัม
Agar	20	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ผสมสารทั้งหมดให้เข้ากัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

5. Potato dextrose agar (PDA)

PDB	26.5	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ผสมสารทั้งหมดให้เข้ากัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ

การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการทดสอบการผลิตหัวเชื้อเห็ดห้า

1. MS solution

ดัดแปลงจาก Murashige & Skoog agar ซึ่งมีส่วนประกอบเช่นเดียวกัน แต่ไม่เติมวุ้น

2. The systhetic Solution (S solution) (ดัดแปลงจาก Ohta & Fujiwara, 2003)

Citric acid	1	กรัม
$(NH_4)_2C_4H_4O_6$	1	กรัม
KH_2PO_4	1	กรัม
$CaCl_2$	50	มิลลิกรัม
AA (acetylacetone)	5	ไมโครลิตร
$FeCl_3.6H_2O$	50	มิลลิกรัม
HEPES	7	กรัม

Stock 1

$ZnSO_4.7H_2O$	300	กรัม
$NiSO_4.6H_2O$	200	กรัม
$CuSO_4.5H_2O$	100	มิลลิกรัม
$MnSO_4.5H_2O$	50	มิลลิกรัม
$CoSO_4.7H_2O$	50	มิลลิกรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

Stock 2

Thiamine HCL	300	มิลลิกรัม
Nicotinic acid	5	มิลลิกรัม
Pyridoxine HCL	0.5	มิลลิกรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

โดยใช้

Stock 1และ 2	10 มิลลิลิตร/ 1,000 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผสมสารทั้งหมดให้เข้ากัน ปรับพีเอช 4- 5 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ช

สารเคมีที่ใช้ในการย้อมรากพืช

1. โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) สารละลายความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์
   ละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 10 กรัม ในน้ำ 90 มิลลิลิตร

2. สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) 10 เปอร์เซ็นต์ ในโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์ ตวงสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ มา 10 มิลลิลิตร เติมสารละลายความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 90 มิลลิลิตร

3. 0.1 N กรดไฮโดรคลอริก (HCL)
   ตวงกรดไฮโดรคลอริก 1 N มา 100 มิลลิลิตร เติมน้ำ 900 มิลลิลิตร

4. Trypan Blue: สารละลายเข้มข้น 0.05%

Lactic acid	100	มิลลิลิตร
Glycerol	100	มิลลิลิตร
น้ำ	100	มิลลิลิตร
Trypan blue	0.3	กรัม

หมายเหตุ หากไม่มี Trypan Blue สามารถใช้สารอื่นแทนได้ ดังนี้

1. Chlorazal black E
2. Acid fuchsin and cotton blue
3. หมึกปากกา 5 เปอร์เซ็นต์ ในน้ำส้มสายชู (acetic acid) 5 เปอร์เซ็นต์

ที่มา http://mycorrhizas.info/method.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ซ

วิธีการย้อมรากพืช

การตรวจการเข้ารากของต้นพืช

โดยตรวจสอบการเข้ากันได้ของต้นพืชกับเชื้อเอคโตไมคอร์ไรซาเปรียบเทียบกับต้นควบคุมที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ ด้วยการเก็บรากพืชมาตรวจการเข้ารากด้วยกล้องจุลทรรศน์ ที่ปลูกร่วมกับเชื้อเห็ดตับเต่าเป็นเวลา 6 เดือน

การย้อมสีราก มีขั้นตอน (นริษฎา ,2552) ดังนี้

1. นำ 10 เปอร์เซ็นต์ โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เติมในขวดที่บรรจุราก
2. จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที เพื่อให้รากใสเทของเหลวทิ้ง
3. จากนั้นเติม 10 เปอร์เซ็นต์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ใน 10 เปอร์เซ็นต์ โพแทสเซียม ไฮดรอกไซด์ ทิ้งไว้ 10 นาที เทของเหลวทิ้ง เติม 0.1 N กรดไฮโดรคลอริก ทิ้งไว้ ประมาณ 5 นาทีจากนั้นย้อมราก
4. ด้วย Trypan blue นำไปบ่มที่ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที จากนั้นทำการล้างสีย้อม (destain)
5. โดยใช้กลีเซอรอล ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง นำรากมาสังเกต การสร้างเมนเทิลชีส (mentle sheets) บริเวณรอบราก
6. ตรวจการเข้ารากของเส้นใยเห็ดตับเต่าที่แทรกอยู่ระหว่างเซลล์พืชด้วยกล้องจุลทรรศน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฌ

การวัดคลอโรฟิลล์

การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์

สุ่มตัวอย่างใบพืชจำนวน 3 ต้นจากแต่ละกลุ่มการทดลอง โดยนำใบล่างสุด นำมาชั่งน้ำหนักสดตัวอย่างใบพืชประมาณ 0.1 กรัม ทำการสกัด สารละลายคลอโรฟิลล์เข้มข้นจากใบพืชโดยนำใบพืช มาบดในโกร่งให้เป็นผงละเอียด แล้วจึงเติมอะซีโตน ความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ ลงไปทีละน้อย บดต่อไปเรื่อยๆ เติมอะซีโตนจนปริมาตรครบ 10 มิลลิลิตร บดจนสีเขียวละลายออกมาหมดจากนั้นทำการกรอง สารละลายผ่านกระดาษกรองด้วยชุดกรอง ใส่ในขวดแก้วมีฝาเกลียวปิด แล้วนำสารละลายคลอโรฟิลล์ที่ ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 645 และ 663 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer โดยใช้อะซีโตนความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ เป็น blank แล้วนำค่าที่ได้ไป คำนวณหาปริมาณ คลอโรฟิลล์ตามสมการ ดังนี้

คลอโรฟิลล์ เอ (mg/ g tissue) = [12.7 (A663) - 2.69 (A645)] x V / (1000 x W)

คลอโรฟิลล์ บี (mg/ g tissue) = [22.9 (A645) – 4.68 (A663)] x V / (1000 x W)

คลอโรฟิลล์รวม (mg/ g tissue) = [20.2 (A645) + 8.02 (A663)] x V / (1000 x W)

โดย V หมายถึง ปริมาตรทั้งหมดของ สารละลาย [leaf extract volume (ml)]

W หมายถึง น้ำหนักสดของใบ [leaf fresh weight) (g)]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ญ

การเตรียมวัสดุปลูกในการทดสอบการเข้ารากของเชื้อรากับพืชอาศัย

สูตรดินผสม

• ไม้ผลทั่วไป

สูตรที่ 1 ดินร่วน : ทราย : ใบไม้ผุ : ขุยมะพร้าว	1 : 1 : 1 : 1
สูตรที่ 2 ดินร่วน : ปุ๋ยคอก : ใบไม้ผุ	1 : 1 : 2
สูตรที่ 3 ดินร่วน : ปุ๋ยคอก : ปุ๋ยหมัก : แกลบดิบ	4 : 2 : 2 : 1
สูตรที่ 4 ดินร่วน : ปุ๋ยหมักหรือปุ๋ยคอก : ขุยมะพร้าว	3 : 1 : 1

ข้อเสนอแนะสำหรับการเตรียมวัสดุปลูก

1. การใช้ดินถุงสำหรับไม้กระถาง แนะนำให้นำมาคลุกเคล้ากับกาบมะพร้าวสับและปุ๋ยคอก เพื่อช่วยกักความชื้นและเพิ่มธาตุอาหารโดยใส่ปุ๋ยละลายช้าร่วมด้วย สังเกตว่าเมื่อใช้ไปสักพักวัสดุจะมีการยุบตัว ให้เติมดินผสมและปุ๋ยคอกเพิ่มเติม

2. หากดินในสวนมีคุณภาพไม่ดีนัก แนะนำให้ใช้ดินถุงปรับปรุงคุณภาพ (ดินใบก้ามปู) จากนั้นขุดดินให้ลึกตฤ+ามความต้องการเช่น ปลูกไม้พุ่มไม้คลุมดินให้ขุดลึก 25 - 35 เซนติเมตร ส่วนต้นไม้ใหญ่ขุดหลุมปลูกกว้างและลึกประมาณ 1 - 1.20 เมตร ให้ก้นหลุมแคบกว่าปากหลุมเล็กน้อย รองก้นแปลงหรือหลุมด้วยปุ๋ยคอก หว่านบางๆก่อนใส่ดินถุงลงไปหนาประมาณ 1 - 2 นิ้วแล้วจึงปลูกพืชตามลำดับ

3. หากดินถุงที่ซื้อมาเต็มไปด้วยวัสดุอื่นๆ มากกว่าเนื้อดินก่อนใช้งานแนะนำให้ผสมปุ๋ยคอกและเศษใบไม้แห้งเพิ่มเติมลงไปเพื่อช่วยปรับปรุงคุณภาพและเพิ่มธาตุอาหาร

หมายเหตุ - งานวิจัยนี้ใช้สูตรดินผสม (4) หรือจะเลือกใช้ตามวัสดุที่มี
- ที่มา: http://www.baanlaesuanfair.com

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้