16981

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี

เรื่อง

การศึกษาการเจริญของเชื้อเห็ดตับเต่าในอาหารสูตรต่างๆ และการพัฒนาของเชื้อเห็ดตับเต่าในพืชอาศัย

Study on Ectomycorrhiza (Boletus edulis) Mycelium In vitro and Development of Artificial Mycorrhizal Inoculation on Plant Host

โดย

นางสาวนงนุช จิรเสาวภาคย์

นางสาวณัฐนิสา ชอบรัมย์

สาขาวิชาพืชไร่

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

T100003

ฝ่าย,
ผ 1397
ส 5 ก

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....00003
วัน,เดือน,ปี.....17 JUN 2009

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์วิชัย ลิ้มกาญจนะพงศ

อาจารย์อัญชลี เชียงกูล

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญา วิทยาศาตรบัณฑิต(เกษตรศาสตร์)

พุทธศักราช 2542

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาเศษปริญญาตรี

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

เรื่อง

การศึกษาการเจริญของเชื้อเห็ดตับเต่าในอาหารสูตรต่างๆ และ

การพัฒนาของเชื้อเห็ดตับเต่าในพืชอาศัย

Study on Ectomycorrhiza (Boletus edulis) Mycelium In vitro and

Development of Artificial Mycorrhizal Inoculation on Plant Host

โดย

นางสาวนงนุช จิรเสาวภาคย์

นางสาวณัฐนิสา ชอบรัมย์

ได้รับความเห็นชอบโดย

.....

(อาจารย์วิชัย ลิ้มกาญจนะพงศ์)

อาจารย์ที่ปรึกษา

.....

(อาจารย์อัญชลี เชียงกูล)

อาจารย์ที่ปรึกษา

5 - ก.ย. 2543

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(อาจารย์วิชัย ลิ้มกาญจนะพงศ์)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

วันที่ 27 เดือน ส.ค. พ.ศ. 2543

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปพ
ม 139 ก
2542

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อเรื่อง การศึกษาการเจริญของเชื้อเห็ดตับเต่าในอาหารสูตรต่างๆและการพัฒนาของเชื้อเห็ดตับเต่าในพืชอาศัย

Study on Ectomycorrhiza (Boletus edulis) Mycelium In vitro and Development of Artificial Mycorrhizal Inoculation on Plant Host

โดย นางสาวนงนุช จิรเสาวภาคย์
นางสาวณัฐนิสา ชอบรัมย์
สาขาวิชาพืชไร่ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์วิชัย ลิ้มกาญจนะพงศ
อาจารย์อัญชลี เชียงกูล

บทคัดย่อ

การศึกษาการเจริญของเชื้อเห็ดตับเต่าและการพัฒนาของเชื้อเห็ดตับเต่าในพืชอาศัยโดยในการศึกษาเส้นใยเห็ดตับเต่าในอาหาร PDA สูตรที่ใช้มันฝรั่ง กับสูตรที่ใช้มันเทศแทนมันฝรั่งที่ไม่ใช้น้ำมะพร้าวและ ที่ใช้น้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์และ 20 เปอร์เซ็นต์ พบว่า อาหารสูตรที่ใช้มันเทศแทนมันฝรั่งมีการเจริญเติบโตของเส้นใยดีกว่า เมื่อมีน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ อาหารสูตรที่ใช้มันเทศแทนมันฝรั่ง พบการเจริญเติบโต ของเส้นใยดีมาก แต่เมื่อเพิ่มน้ำมะพร้าวเป็น 20 เปอร์เซ็นต์ พบว่า การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดตับเต่าลดลง

การศึกษาการเจริญพัฒนาของเชื้อเห็ดตับเต่าในพืชอาศัย โดยการโรยฝังเชื้อที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารเหลวในปริมาณ 0 , 8, 16 และ 32 กรัมต่อต้น เมื่อทำการตรวจสอบ การเจริญของเชื้อเห็ดตับเต่าในรากพืชอาศัย ทุกระยะเวลา 2 ,4 และ 6 เดือนหลังการโรยฝัง โดยนำรากมาทำการ Freehand Section แล้วทำการย้อมสีด้วย Safranin O และส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ ไม่พบการเจริญของเชื้อเห็ดตับเต่าในรากพืชอาศัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ผลงานการทดลองครั้งนี้ สำเร็จผลด้วยดี ซึ่งนอกจากจะอาศัยความเอาใจใส่ ความเพียรพยายามของเราสองคนแล้ว ยังได้รับความกรุณาจากบุคคลเหล่านี้ ซึ่งทุกท่านได้ตอบข้อสงสัย ได้เสนอแนะข้อมูลต่างๆแก่เราสองคน

เราผู้จัดทำ จึงใคร่ขอขอบพระคุณ อาจารย์วิชัย ลิ้มกาญจนะพงศ ซึ่งท่านเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาให้คำแนะนำในด้านการค้นคว้าหาข้อมูล รวมถึงการให้คำปรึกษาวิธีการทดลองต่างๆ

ขอบพระคุณอาจารย์อัญชลี เชียงกูล กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ซึ่งท่านได้กรุณาให้คำปรึกษารวมถึงการสละเวลาอันมีค่าช่วยเหลือในงานทดลอง

ขอบพระคุณอาจารย์อรอุมา รุ่งน้อย ซึ่งท่านได้กรุณาให้คำปรึกษา ในด้านวิเคราะห์ข้อมูลในการทดลอง

และท้ายสุด ขอบพระคุณคุณพ่อคุณแม่ของสองเรา ที่ให้การอนุเคราะห์ช่วยเหลือด้านทุนทรัพย์เพื่อใช้ในการเดินทาง การค้นคว้าข้อมูลต่างๆ รวมถึงกำลังใจที่มีให้แก่เรามากมาย ซึ่งเป็นสิ่งสำคัญในการผลักดันการทำงานของสองเรา

นงนุช จิรเสาวภาคย์

ณัฐนิสา ชอบรัมย์

มีนาคม 2543

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	ก
สารบัญภาพ	ข
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
การศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดตับเต่าในอาหารสูตรต่างๆ	
อุปกรณ์และวิธีการ	12
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลทดลอง	16
สรุปผลการทดลอง	18
การพัฒนาของเชื้อเห็ดตับเต่าในพืชอาศัย	
อุปกรณ์และวิธีการ	22
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	26
สรุปผลการทดลอง	30
บรรณานุกรม	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงผลการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดตับเต่าในอาหารสูตรต่างๆ หลังจากการบ่มเชื้อ 25 วัน	16
2	แสดงผลการติดสีของ Safranin O หลังจากการโรยฝังเชื้อเห็ดตับเต่าให้กับต้นทองหลาง เป็นระยะเวลา 2 เดือน	28
3	แสดงผลการติดสีของ Safranin O หลังจากการโรยฝังเชื้อเห็ดตับเต่าให้กับต้นทองหลาง เป็นระยะเวลา 4 เดือน	28
4	แสดงผลการติดสีของ Safranin O หลังจากการโรยฝังเชื้อเห็ดตับเต่าให้กับต้นทองหลาง เป็นระยะเวลา 6 เดือน	29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดตับเต่าในอาหาร PDA ที่ใช้มันฝรั่ง	19
2	แสดงการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดตับเต่าในอาหาร สูตรที่ใช้มันเทศแทนมันฝรั่ง	20
3	เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดตับเต่าในอาหาร PDA ที่ใช้มันฝรั่ง และอาหารสูตรที่ใช้มันเทศแทนมันฝรั่ง ในอาหารสูตรที่ไม่ใช้น้ำมะพร้าวและอาหารสูตรที่ใช้น้ำมะพร้าวในความเข้มข้นต่างกัน	21
4	แสดงการติดสีของรากพืชอาศัย (ทองหลาง) หลังจากการย้อมสี Safranin O	31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

จากการที่เห็ดเป็นพืชที่มีคุณค่าทางอาหาร ราคาประหยัดและปราศจากสารเคมีที่มีพิษ เหตุผลหลายข้อนี้ล้วนสร้างความสนใจให้แก่เห็ดเป็นอย่างดี ซึ่งเห็ดในบ้านเรามีหลากหลายชนิดเป็นที่รู้จักกันดี เพราะเป็นอาหารของชาวบ้านทั่วไปมาช้านานแล้ว ปัจจุบันมีวิวัฒนาการความก้าวหน้ามากยิ่งขึ้น การเพาะเห็ดทั้งพันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์ใหม่ขายไปทั่ว และกลายเป็นพืชพันธุ์ที่นำรายได้มาสู่เกษตรกรที่ปลูกเลี้ยงทั่วไป

เห็ดตับเต่าเป็นเห็ดพื้นบ้านที่ขึ้นโดยทั่วไปแทบทุกภาคของประเทศ (โดยจะมีวางจำหน่ายในต้นฤดูฝน) เป็นเห็ดที่เจริญขึ้นงอกงามโดย อาศัยรากไม้ของต้นไม้ใหญ่หรือต้นไม้ยืนต้นเห็ดตับเต่าจะมีสีน้ำตาลดำเข้มไม่สวยงาม ส่วนในด้านของเห็ดตับเต่านั้น จัดว่าเป็นอาหารที่มีรสชาติดี กลิ่นดี แต่มีข้อเสียที่ทำให้คนไม่ชอบคือเมื่อนำไปประกอบอาหารจะมีเมือกลื่นๆ การแก้ไขให้รสชาติอร่อยถูกปากควรใช้เห็ดที่มีดอกอ่อนที่ยังโตไม่เต็มที่ จะได้เนื้อแน่นดี สำหรับการเตรียมก่อนนำไปปรุงอาหาร อาจนำไปหั่นแล้วแช่ในน้ำปูนใสหรือน้ำส้มเจือจางประมาณ 4 – 5 นาที เพื่อให้เห็ดมีเนื้อกรุบแข็งขึ้นและไม่มีเมือกเหนียว หรืออาจนำไปหั่นเป็นชิ้นแล้วเทลงในน้ำเดือดที่ใส่มะขามเปียกลงไปเล็กน้อยพอมีรสเปรี้ยว จะช่วยในการลดเมือกได้

การที่เห็ดตับเต่าเป็นเห็ดที่อาศัยอยู่ร่วมกับรากพืช (Ectomycorhiza) จัดว่าเป็นอุปสรรคที่สำคัญข้อหนึ่ง ที่ทำให้การพัฒนาเห็ดตับเต่าไม่สามารถนำมาเพาะเลี้ยงจนถึงขั้นให้เกิดดอกได้บนอาหารที่สังเคราะห์ ฉะนั้นจึงเกิดความพยายามสร้างเส้นใย และขยายหัวเชื้อของเห็ดตับเต่าขึ้น และทำการนำเส้นใยหรือหัวเชื้อดังกล่าว ไปฝังรอบๆโคนไม้ยืนต้น ซึ่งการทดลองนี้ได้ทำการนำเชื้อเห็ดตับเต่าไปฝังรอบๆโคนของต้นทองหลาง จุดประสงค์เพื่อให้มีเชื้อในดินและเติบโตต่อไปตามธรรมชาติ และถึงขั้นเชื้อมีกำลังพอที่จะเกิดดอก (เชื้อดังกล่าวอาจไม่เจริญหรือไม่สามารถออกดอกได้หากถูกภัยธรรมชาติทำลายเสียก่อน)

ปัจจุบันบุคคลทั่วไปได้ให้ความสนใจแก่เห็ดมากยิ่งขึ้น ทำให้เกิดการศึกษาค้นคว้า และส่งเสริมความรู้เรื่องเห็ด ซึ่งอาจเนื่องจากปัจจุบัน การดำรงชีวิตของมนุษย์มีการคำนึงถึงสุขภาพยิ่งขึ้นกว่าเดิม ส่งผลให้อาหารปลอดสารพิษได้รับความสนใจ แม้แต่ชาวญี่ปุ่นยังนิยมรับประทานเห็ดกันมาก เนื่องจากเชื่อกันว่า เห็ดมีสารต่อต้านการเกิดมะเร็ง หรือชาวจีนเชื่อว่าเห็ดเป็นอาหารอายุวัฒนะ เป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมุนไพรที่ดีเลิศ ซึ่งไม่ว่าเห็ดจะมีสรรพคุณอย่างไร แต่ที่แน่ๆ เห็ดเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางอาหารที่ไม่ควรมองข้าม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาสูตรอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อและขยายเชื้อเห็ดตับเต่า (ในงานทดลองสูตรอาหาร)
2. เพื่อศึกษาการพัฒนาของเชื้อเห็ดตับเต่าที่นำไปโรยฝังในพืชอาศัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจเอกสาร

เห็ด จัดเป็นฟังไจชนิดหนึ่ง ซึ่งฟังไจเป็นสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำอยู่ใน Division eumycophyta โดยฟังไจนี้เป็นสิ่งมีชีวิตที่ไม่มีสารสีเขียว หรือ chlorophyll จึงไม่สามารถสังเคราะห์อาหารได้ด้วยแสง ดำรงชีวิตแบบ heterotroph (พวกที่อาศัยอาหารจากแหล่งอื่น) โดยเส้นใยเห็ดจะปล่อยน้ำย่อยออกมาย่อยสารพวกอินทรียวัตถุ แล้วดูดซึมสารอาหารเข้าไปในเซลล์ นักวิทยาศาสตร์ได้ทำการศึกษาลักษณะโครงร่าง การดำรงชีพ และการขยายพันธุ์ ทำให้สามารถจำแนกฟังไจออกได้ดังนี้ (ขวัญชัย,2537)

การจำแนกฟังไจตามลักษณะการดำรงชีพ (ขวัญชัย,2537)

การดำรงชีวิตของฟังไจจะอาศัยสารอาหารจากสิ่งมีชีวิตอื่นหรือจากสิ่งมีชีวิตที่ตายแล้ว เพื่อนำสารอาหารมาใช้ในการเจริญเติบโต โดยจำแนกตามลักษณะการดำรงชีพได้

1. พวกพาราสิต (parasite) แบ่งได้เป็น

Obligate parasite หรือเรียกว่า พาราสิตถาวร โดยอาศัยอาหารจากสิ่งที่มีชีวิตเท่านั้นได้แก่ ราต่างๆที่ทำให้เกิดโรคกับพืชและมนุษย์

Facultative parasite หรือเรียกว่า พาราสิตตามโอกาสโดยฟังไจนั้นเจริญบนสิ่งมีชีวิตต่อมาเมื่อสิ่งมีชีวิตนั้นตายลง ฟังไจนี้ก็ยังสามารถเจริญบนซากของสิ่งมีชีวิตนั้นต่อไปได้

2. พวกซาโปรไฟท์ (saprophyte)

เจริญได้บนสิ่งมีชีวิตที่ตายแล้ว

3. พวกมูทัวลิซึม (mutualism) หรือ Symbiosis

เป็นฟังไจที่อาศัยอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน ต่างได้รับประโยชน์ซึ่งกันและกัน เช่นเห็ดที่อาศัยตามรากพืช เรียกเห็ดที่มีการดำรงชีพแบบนี้ว่า Mycorrhiza โดยเห็ดประเภทนี้มักเกิดบนต้นไม้ใหญ่ ไม้ยืนต้น เช่น มะม่วง ทองหลาง (อนงค์และอัจฉรา,2530) โดยเห็ดอาศัยน้ำและอาหารจากต้นไม้ที่เห็ดเจริญอยู่โดยสร้างเส้นใยคล้ายรากเรียก Mycorrhiza ไปโอบหุ้มรากแล้วเจริญเข้าไปในบริเวณ cortex , phloem และ xylem บางชนิดแทรก Mycorrhiza เข้าไปในบริเวณรากของ host ด้วย (มาลินทร์,2524) เช่นเห็ดในวงศ์ Boletaceae

นอกจากแบ่งเห็ดตาม การดำรงชีพแล้ว (มาลินทร์,2524) ยังพบว่ามีการจำแนกเห็ดเป็นอีกหลายประเภท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. เห็ดที่ใช้เป็นยารักษาโรค (Medicinal mushroom)

เห็ดในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่เป็นเห็ดที่รับประทานได้ มีบางชนิดที่อาจมีพิษในตัวมันเองแต่ถ้าใช้ในปริมาณน้อยหรือผสมกับสารอื่นทำให้มีสมบัติรักษาโรคได้

อนงค์ (2520) และ Griffiths (1977) กล่าวถึงเห็ดชนิดต่างๆที่สามารถนำไปรักษาบำบัดโรคได้ ในที่นี้จะสรุปเฉพาะชนิดที่พบทั่วๆไปในไทย เช่น

1.1 Auricularia auricula (เห็ดหูหนู)

สรรพคุณ : แก้โรคร้อนใน หายใจไม่สะดวก แก้โรคความดัน ห้ามเลือด และแก้ปวดแผล

1.2 Boletus edulis (เห็ดตับเต่า)

สรรพคุณ : แก้หวัด และโรคปวดในข้อ

1.3 Tremella fucifomis (เห็ดหูหนูขาว)

สรรพคุณ : ทำให้การทำงานของไต ปอด ลำไส้ กระเพาะ หัวใจและสมองดีขึ้น

2. เห็ดที่รับประทานได้ (Edible mushroom)

หนังสือบางเล่มพบว่ามี 2 คำ คือ mushroom และ toadstool ในอเมริกา toadstool หมายถึง เห็ดพิษ ส่วน mushroom หมายถึง เห็ดที่รับประทานได้โดยเห็ดที่รับประทานได้แบ่งออกเป็น 2 พวก

2.1 เห็ดซึ่งนำมาเพาะปลูกเพื่อให้ได้ปริมาณมากๆ

เป็นเห็ดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ และเป็นที่นิยม เช่น เห็ดฟาง เห็ดหูหนู

2.2 เห็ดซึ่งพบในธรรมชาติ

Astraeus hygrometricus (เห็ดเผาะ) พบมากในภาคเหนือ ภาคอีสาน และจังหวัดกาญจนบุรี

Boletus edulis (เห็ดตับเต่าดำ) พบทางภาคใต้มาก พบในฤดูฝน ระยะฝนตกชุก เจริญบนดิน หญ้า รสขมเล็กน้อย (เห็ดพวกนี้มีหมวกเห็ด,ก้านดอกเห็ดมีสีดำ เนื้อเยื่อภายในสีเหลือง และมียางเมื่อสัมผัสเนื้อเยื่อจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล สปอร์สีดำ เห็ดพวกนี้ไม่มีครีบ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. เห็ดพิษ (Poisonous mushroom)

พิษเห็ดจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับชนิดเห็ด โดยเห็ดบางชนิดเป็นพิษขณะที่ยังไม่สุกเมื่อต้มสุกแล้วพิษจะเจือจางลง หรือไม่มีพิษเลย

4. เห็ดที่ขึ้นตามธรรมชาติ (ขวัญชัย,2537)

เห็ดที่ขึ้นตามธรรมชาติจะเกิดจากวัสดุที่ต่างกันออกไป ดังนั้นการที่จะนำเห็ดมาเพาะเลี้ยง ต้องจัดหาวัสดุเพราะให้มีลักษณะเหมือนหรือใกล้เคียงกับวัสดุที่ขึ้นตามธรรมชาติให้มากที่สุด เห็ดที่ขึ้นตามธรรมชาติแบ่งได้ 3 ประเภท

4.1 เห็ดที่ขึ้นตามขอนไม้

ได้แก่ เห็ดหูหนู เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม เห็ดหอม เห็ดเป๋าฮื้อ โดยเห็ดที่ขึ้นตามขอนไม้ส่วนใหญ่สามารถนำมาเพาะเลี้ยงให้ออกดอกได้

4.2 เห็ดที่ขึ้นตามใบไม้เน่า ตามกองปุ๋ยหมัก หรือตามดินที่มีอินทรียวัตถุสูง ได้แก่ เห็ดฟาง เห็มแชมปิญอง เห็ดขี้ควาย เห็ดพวกนี้นำมาเพาะเลี้ยงให้ออกดอกทำเป็นการค้าได้

4.3 เห็ดที่ขึ้นตามพื้นดิน ได้แก่ เห็ดโคน เห็ดถอบ เห็ดเผาะ เห็ดดินชนิดต่างๆ โดยเห็ดที่ขึ้นในดินส่วนใหญ่ เรายังไม่สามารถจัดหาวัสดุเพื่อนำมาใช้เพาะให้เห็ดเจริญจนออกดอกเพื่อทำเป็นการค้าได้ โดยเห็ดในกลุ่มนี้รวมถึงเห็ดในกลุ่ม Mycorrhiza

เห็ดตับเต่าจัดเป็นเห็ดตระกูล Boletaceae ใน Class Basidiomycotina ซึ่งเห็ดในตระกูลนี้เป็นเห็ด Mycorrhiza ชนิดที่เป็น Ectomycorrhiza (วนิดาและนัยนา, 2534)

เชื้อรา Mycorrhiza มีประโยชน์อย่างสำคัญยิ่งต่อการพัฒนาการเพิ่มผลผลิตทางด้านการเกษตร ในปัจจุบันเป็นที่ทราบกันดีว่าในพื้นที่ดินเลว พืชและต้นไม้ที่มี Mycorrhiza จะเจริญเติบโตดีกว่าพืชและต้นไม้ที่ขาด Mycorrhiza (อนิวรรต,2542)

มีผู้ให้ความหมายของ Mycorrhiz ไว้ดังนี้

มาลินทร์ (2524) กล่าวว่า ส่วนที่ยึดโคนของก้านดอกเห็ดให้ติดกับดินหรือกิ่งไม้เป็นกลุ่มของเส้นใยทำหน้าที่คล้ายรากของพืชชั้นสูง เรียกส่วนนี้ว่า Mycorrhiza ทำหน้าที่ดูดอาหารยึดเห็ดทั้งดอกไว้ Mycorrhiza ของเห็ดบางชนิดจะยาวมากไชซอนไปในดินได้ไกล บางชนิดจะทะลุเข้าไปในเซลล์ของต้นไม้ที่เห็ดอาศัยอยู่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นักวิทยาศาสตร์ชาวเยอรมันชื่อ A.B.Frank ได้ศึกษาระบบรากพืชพบว่ามีเส้นใยของเชื้อราอาศัยอยู่ร่วมกับระบบรากพืชและต้นไม้ป่า แต่ไม่ทำให้เกิดโรค (Diseases) เขาจึงเรียกความสัมพันธ์นี้ว่า ไมคอร์ไรซ่า (Mycorrhiza)

อาจกล่าวได้โดยสรุป คือ

ไมคอร์ไรซ่า (Mycorrhiza) คือ การอาศัยอยู่ร่วมกัน (Symbiosis) แบบเอื้อประโยชน์ซึ่งกันและกันระหว่างเชื้อรา (Fungi) กับระบบรากแขนงหรือรากหาอาหาร(Feeder root) ของต้นไม้ ไมคอร์ไรซ่ามีประโยชน์อย่างยิ่งต่อการช่วยป้องกันการติดเชื้อโรคทางระบบรากของกล้าไม้และต้นไม้ ช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวของรากทำให้มีประสิทธิภาพในการดูดซับน้ำและอาหารให้แก่ต้นไม้มากกว่าปกติ ช่วยทำให้เกิดการหมุนเวียนของธาตุอาหารในดินดีขึ้น ช่วยเปลี่ยนแปลงแร่ธาตุอาหารในดินจากสภาพที่ต้นไม้นำไปใช้ประโยชน์ไม่ได้ให้กลายสภาพที่ต้นไม้นำไปใช้ประโยชน์ได้ ช่วยทำให้ระบบรากของต้นไม้มีความแข็งแรงมีอายุยืนยาวนาน ทนทานต่อสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงแห้งแล้ง ความรุนแรงของสภาพดินฟ้าอากาศ เช่น ร้อนจัด หนาวจัด สารพิษในดิน ความเป็นกรดหรือด่างที่มากหรือน้อยเกินไป เป็นต้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งสามารถช่วยทำให้กล้าไม้มีอัตราการรอดตายสูงและช่วยเร่งให้ต้นมีอัตราเจริญเติบโตสูงถึง 1-7 เท่าจากอัตรปกติ (ประกิตติ์สิน,2523 ; อนิวรรต,2542 ; Marx,1972 ; Zak,1964)

ชนิดของเชื้อรา Mycorrhiza

Marx (1976,1977) ได้แบ่งกลุ่มไมคอร์ไรซ่า (Mycorrhiza)ที่มีความสัมพันธ์กับรากต้นไม้ออกได้เป็น 3 ประเภทใหญ่ๆ

1. Ectomycorrhiza
2. Endomycorrhiza
3. Ectendomycorrhiza

1. เอ็คโตไมคอร์ไรซ่า (Ectomycorrhiza)

เชื้อราพวกนี้จะสร้างเส้นใย (Mycelium) เป็นแผ่นหนาปกคลุมรากแขนงของต้นไม้เรียกแผ่นนี้ว่า แผ่นแมนเทิล (Mantle sheath) เส้นใยของเชื้อราจากแผ่นแมนเทิลนี้ จะเข้าไปเจริญอยู่ระหว่างเซลล์ผิว (Epidermis) และเซลล์ชั้นใน (Cortex cells) ของเซลล์รากโดยอยู่รอบๆ corticle cell สานติดต่อเป็นร่างแห เรียกว่า เส้นใยฮาร์ติก(Hartig net) เส้นใย Hartig net ที่สร้างขึ้นประกอบด้วยสาร pectic ยึดกันแน่นอยู่ระหว่าง Corticle cell กับดินรอบนอก เชื้อราเหล่านี้จะไม่เกาะติดกับเนื้อเยื่อเจริญหรือท่อน้ำท่ออาหาร (Marx and Barnett,1974) เชื้อราที่มีปฏิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัมพันธ์กับรากของต้นไม้แบบนี้ส่วนใหญ่เป็นเชื้อราชั้นสูง (Basidiomycotina) ซึ่งสามารถสร้างดอกเห็ด (Mushroom) และพัฟบอลล์โผล่เหนือผิวดินให้เห็นได้

2. เอ็นโดไมคอร์ไรซ่า (Endomycorrhiza or Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza)

เชื้อราพวกนี้จะสร้างเส้นใยเจาะไชเข้าไปเจริญอยู่ภายในเซลล์ผิวและเซลล์ชั้นในของรากต้นไม้นอกจากนั้นเชื้อรายังสามารถสร้างโครงสร้างพิเศษ 2 แบบคือ เวสซิเคิล (Vesicles) เป็นแบบกลมคล้ายรูปไข่ผนังบาง ทำหน้าที่เป็นแหล่งเก็บพลังงาน และ อาบัลคูล (Arbuscules) เป็นแบบแตกกิ่งก้านสาขาคล้ายรากไม้ ทำหน้าที่ในการเก็บสะสมแร่ธาตุอาหารต่างๆ (Marx and Barnett,1974) ดังนั้นจึงนิยมเรียกไมคอร์ไรซ่าพวกนี้ว่า เวสซิคิลล่าร์-อาบัสคิลล่าร์ ไมคอร์ไรซ่า (Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza)

3. เอ็คเทนโดไมคอร์ไรซ่า (Ectendomycorrhiza)

เชื้อราพวกนี้จะสร้างเส้นใยปกคลุมเซลล์ผิวของราก(Ectomycorrhiza) และมีเส้นใยของเชื้อราเจาะไชทะลุเข้าไปอาศัยอยู่ภายในของเซลล์ผิวของราก (Endomycorrhiza) ไมคอร์ไรซ่าพวกนี้จะพบว่ามีอยู่น้อยมากในธรรมชาติ

ความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อรา (Fungi) และระบบรากหาอาหาร (Feeder roots) ของพืชชั้นสูง

ต้นไม้ได้รับน้ำและแร่ธาตุที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิต ส่วนเชื้อราก็จะได้รับสารอาหารที่ต้นไม้ขับถ่ายออกมาทางระบบราก (อนิวรรต,2542)

Melin (1962) กล่าวว่า เชื้อราที่สามารถก่อให้เกิดไมคอร์ไรซ่าต้องการอาหารและสิ่งจำเป็นบางอย่างที่รากของต้นไม้สังเคราะห์ขึ้น เช่น สาร Thiamine, B-vitamins และในขณะเดียวกันรากของต้นไม้ก็ได้รับอาหารและสิ่งจำเป็นบางอย่างที่ hypha ของเชื้อราสังเคราะห์ขึ้น เช่น Complex organic compound ของ Carbohydates พวก auxin ซึ่งเรียกได้ว่าการอยู่ร่วมกันทั้งเชื้อราและรากต้นไม้มีประโยชน์ต่อการเจริญเติบโต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประโยชน์ของเห็ดราไมคอร์ไรซ่า (อนิวรรต,2542)

1. ช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวและปริมาณของรากพืชและของต้นไม้ จะชอนไชหาอาหารบริเวณผิวดินลึก 10-20 cm. (อนิวรรต,2521)

2. ช่วยเพิ่มความแข็งแรงและความทนทานให้แก่ระบบรากของต้นไม้

3. ช่วยเพิ่มความสามารถในการดูดซับน้ำและแร่ธาตุอาหารให้แก่ต้นไม้ เช่น ฟอสฟอรัส (P) ไนโตรเจน (N) โปรแตสเซี่ยม (K) แคลเซี่ยม (Ca) และธาตุอื่นๆ ซึ่งธาตุเหล่านี้เชื้อราจะดูดซับไว้และสะสมในรากและซึมซับขึ้นส่วนต่างๆของต้นไม้ ช่วยในการสังเคราะห์แสง (Photosynthesis) ของพืช และช่วยลดปริมาณของแป้ง ของต้นไม้ที่ผลิตเกินความต้องการ (อนิวรรต,2521)

4. ช่วยย่อยสลายและดูดซับธาตุอาหารจากหินแร่ในดินที่สลายตัวยาก และพวกอินทรีย์สารต่างๆที่ยังสลายตัวไม่หมด ให้พืชสามารถนำเอาไปใช้ประโยชน์ได้

5. ช่วยเพิ่มอายุให้แก่ระบบรากของพืชและต้นไม้

6. ช่วยป้องกันโรคที่จะเกิดกับระบบรากของพืชและต้นไม้ โดยสร้างเส้นใยประสานกันเป็นแผ่น (Manttes) รอบรากเป็นเกราะกันโรค (อนิวรรต,2521)

7. ช่วยให้ต้นไม้มีความแข็งแรง ทนทานต่อสภาพพื้นที่ที่แห้งแล้ง ทนทานต่อความเป็นพิษของดิน และทนทานต่อความเป็นกระ-ด่างของดิน ช่วยปรับความเป็นกรด-ด่างของดินให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นไม้

8. ช่วยเพิ่มพูนความเจริญเติบโตของต้นไม้ 1-7 เท่าจากอัตราปกติ

9. ดอกเห็ดไมคอร์ไรซ่าสามารถใช้เป็นอาหารรับประทานได้ แม้ว่าบางชนิดจะมีพิษอยู่บ้างแต่เป็นส่วนน้อย บางชนิดใช้เป็นเห็ดสมุนไพร

10. ช่วยให้มีการย่อยสลายของซากพืชและแร่ธาตุที่ไม่เป็นประโยชน์ให้กลับกลายเป็นธาตุอาหารที่มีประโยชน์ต่อต้นไม้

11. ช่วยเสริมสร้างระบบนิเวศป่าไม้ให้มีความอุดมสมบูรณ์มากขึ้น ทำให้ป่ามีความอุดมสมบูรณ์ขึ้น

12. เชื้อราไมคอร์ไรซ่าจะผลิตสารปฏิชีวนะ (antibiotics) ที่บริเวณรอบรากซึ่งเป็นพิษต่อการเจริญเติบโตของเชื้อโรคและจุลินทรีย์ต่างๆ (Zak,1964)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เทคนิคในการเพาะและขยายพันธุ์เชื้อราไมคอร์ไรซ่า (อนิวรรต,2521)

วิธีที่ 1 การใช้ดินเชื้อจากป่าสนธรรมชาติ

นำดินที่มีเชื้อของรา Mrcorrhiza มาเพาะเมล็ด,ต้นกล้า

ข้อดี ประหยัดค่าใช้จ่าย ไม่ยุ่งยาก

ข้อเสีย ดินมีน้ำหนักมาก ขนย้ายไม่สะดวก (อนิวรรต,2542)

ในดินเชื้อที่เก็บมาจากป่าธรรมชาติมีเชื้อที่ทำให้เกิดโรครากเน่าติดมาด้วย

วิธีที่ 2 ใช้กล้าไม้เชื้อไปเพาะ

นำกล้าไม้ที่มีเชื้อไมคอร์ไรซ่าติดรากดีแล้ว ปลูกแทรกกล้าไม้ในแปลงเพาะที่ยังไม่มีเชื้อราไมคอร์ไรซ่า

ข้อเสีย ไม่สามารถทราบชื่อชนิดของเชื้อราไมคอร์ไรซ่าที่นำมาเพาะได้

วิธีที่ 3 การใช้สปอร์ หรือเนื้อเยื่อจากดอกเห็ดไปเพาะในดินแปลงเพาะ

นำสปอร์หรือชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อจากดอกเห็ดโดยตรง สับให้ละเอียดแล้วนำไปคลุกดินในแปลงเพาะ

วิธีที่ 4 การใช้เชื้อบริสุทธิ์ซึ่งเลี้ยงด้วยอาหารเทียมในห้องปฏิบัติการแล้วเพาะขยายพันธุ์ในแปลงเพาะ (Pure culture-inoculation)

การใช้เชื้อราไมคอร์ไรซ่าที่บริสุทธิ์เลี้ยงในอาหารเทียม (pure culture) ก่อน แล้วนำไปเพาะขยายพันธุ์ในดินแปลงเพาะ ถือเป็นวิธีที่ดีที่สุด เพราะไม่ต้องใช้เนื้อที่กว้างขวาง ได้เชื้อบริสุทธิ์ ง่ายต่อการขนย้าย และปฏิบัติ ไม่ต้องเสี่ยงต่อการติดเชื้อโรคของกล้าไม้

การเลี้ยงเชื้อจากดอกเห็ด เป็นวิธีที่นิยมกันมากในปัจจุบัน เพราะเราสามารถคัดเลือกสายพันธุ์เห็ดราไมคอร์ไรซ่าพันธุ์ดี เพื่อนำไปขยายได้ (อนิวรรต,2542)

ในการเลี้ยงเชื้อเห็ดวงศ์ Boletaceae ใช้การเลี้ยงเชื้อโดยวิธี tissueculture จะดีกว่า spore culture (การใช้สปอร์) เนื่องจากดอกเห็ดให้สปอร์ในปริมาณน้อย (วนิดาและนัยนา,2534)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราไมคอร์ไรซ่า (บุญฤทธิ์และชุบ,2521)

การแพร่ของเชื้อราและการเจริญเติบโตของเชื้อราไมคอร์ไรซ่าทั้งในสภาพธรรมชาติและเรือนเพาะชำ มีความสัมพันธ์กับปัจจัยที่สำคัญๆคือ

1. อุณหภูมิและความแห้งแล้ง

อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อเห็ด อยู่ระหว่าง 18-27 องศาเซลเซียส

2. ความเป็นกรด-ด่างของดิน

ปกติเชื้อราไมคอร์ไรซ่ามีชีวิตและแพร่พันธุ์ได้ดีในสภาพดินที่มี pH อยู่ระหว่าง 4.0-5.5

3. ความชื้น

ขึ้นกับชนิดของเชื้อเป็นปัจจัยสำคัญในการเพาะเชื้อราเพราะความชื้นในดินมีความสำคัญยิ่งต่อสรีรวิทยาของเชื้อรา และมีอิทธิพลต่อการผลิตสปอร์ของเชื้อราเป็นอย่างมาก

4. อินทรียวัตถุในดิน

เชื้อราต้องการสารประกอบในรูปต่างๆของคาร์บอนและไนโตรเจนจากอินทรียวัตถุในดินเพื่อสังเคราะห์ คาร์โบไฮเดรต และโปรตีนอันเป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโต

5. พวกจุลินทรีย์ในดิน

Harley (1972) กล่าวว่า เชื้อราไมคอร์ไรซ่าบางชนิดไม่สามารถทนทานต่อการแก่งแย่งกับพวกจุลินทรีย์จึงไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ แต่เชื้อราไมคอร์ไรซ่าบางชนิดสามารถปล่อยสารพิษที่ต่อต้านโรคได้ (อนิวรรต,2520)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาการเจริญของเชื้อเห็ดตับเต่าในอาหารสูตรต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เชื้อเห็ดตับเต่า
2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำอาหารวุ้น
   - มันฝรั่ง
   - มันเทศ
   - น้ำมะพร้าวอ่อน
   - วุ้นผง
   - เครื่องชั่ง
   - เครื่องแก้ว
   - น้ำตาล
   - น้ำกลั่น
   - Hot plate
   - หม้อนึ่งความดัน
3. อุปกรณ์ตัดชิ้นส่วนหัวเชื้อเห็ด (Corkboror) เบอร์ 0.5
4. อุปกรณ์และกล้องถ่ายรูป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมอาหารวุ้น

ทำการเตรียมอาหารวุ้น 6 สูตรแตกต่างกันดังนี้

สูตรที่ 1 ใช้มันฝรั่ง 200 g/l + น้ำมะพร้าว 0 %

สูตรที่ 2 ใช้มันฝรั่ง 200 g/l + น้ำมะพร้าว 10 %

สูตรที่ 3 ใช้มันฝรั่ง 200 g/l + น้ำมะพร้าว 20 %

สูตรที่ 4 ใช้มันเทศ 200 g/l + น้ำมะพร้าว 0 %

สูตรที่ 5 ใช้มันเทศ 200 g/l + น้ำมะพร้าว 10 %

สูตรที่ 6 ใช้มันเทศ 200 g/l + น้ำมะพร้าว 20 %

โดยทำการเตรียมอาหารสูตรละ 250 ml

หมายเหตุ อาหารสูตรที่ 4-6 เป็นการใช้มันเทศแทนมันฝรั่งในปริมาณที่เท่ากัน

1.1 การเตรียมอาหารวุ้นโดยใช้มันฝรั่ง

อาหารสูตรที่ 1 นำมันฝรั่งมาทำความสะอาด ปอกเปลือกหั่นเป็นสี่เหลี่ยมลูกเต๋า ปริมาตร 50 กรัม ต้มกับน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร จนกระทั่งเดือดแล้วลดไฟลง ต้มต่อไปประมาณ 10 – 15 นาที จนมันฝรั่งสุกกรองเอากากมันฝรั่งทิ้ง โดยนำน้ำมันฝรั่งที่ได้ในระยะนี้ละลายน้ำตาล 4 กรัม ต่ออาหาร 250 มิลลิลิตร ใส่วุ้น 4 กรัม แล้วนำไปตั้งไฟต้มต่อให้เดือด ทำการยกลงจากเตาปรับปริมาตรให้ได้ 250 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น จากนั้นตวงใส่ขวดรูปชมภู่

อาหารสูตรที่ 2 วิธีการเช่นเดียวกับอาหารสูตรที่ 1 เพียงแต่หลังจากใส่วุ้นลงในอาหารและตั้งไฟจนเดือดแล้วทำการเพิ่มน้ำมะพร้าวลงไป 10 %

อาหารสูตรที่ 3 วิธีการเช่นเดียวกับอาหารสูตรที่ 1 เพียงแต่หลังจากใส่วุ้นลงในและตั้งไฟจนเดือดแล้วทำการเพิ่มน้ำมะพร้าวลงไป 20 %

1.2 การเตรียมอาหารวุ้นโดยใช้มันเทศแทนมันฝรั่ง

อาหารสูตรที่ 4 นำมันเทศมาทำความสะอาด ปอกเปลือกหั่นเป็นสี่เหลี่ยมลูกเต๋า ปริมาณ 50 กรัม ต้มกับน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร จนกระทั่งเดือดแล้วลดไฟลง ต้มต่อไปประมาณ 10 – 15 นาทีจนมันเทศสุก กรองเอากากมันเทศทิ้ง โดยนำน้ำมันเทศที่ได้ในระยะนี้ละลายน้ำตาล 4 กรัม ต่ออาหาร 250 มิลลิลิตร ใส่วุ้น 4 กรัม แล้วนำไปตั้งไฟต้มต่อให้เดือด ทำการยกลงจากเตาปรับปริมาตรให้ได้ 250 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น จากนั้นตวงใส่ขวดรูปชมภู่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารสูตรที่ 5 วิธีการเช่นเดียวกับอาหารสูตรที่ 4 เพียงแต่หลังจากใส่วุ้นลงในอาหารและตั้งไฟจนเดือดแล้วทำการเพิ่มน้ำมะพร้าวลงไป 10 %

อาหารสูตรที่ 6 วิธีการเช่นเดียวกับอาหารสูตรที่ 4 เพียงแต่หลังจากใส่วุ้นลงในอาหารและตั้งไฟจนเดือดแล้วทำการเพิ่มน้ำมะพร้าวลงไป 20 %

2. วิธีการนึ่งฆ่าเชื้อ

หลังจากทำการเตรียมอาหารแต่ละสูตรแล้วนำอาหารแต่ละสูตรใส่ขวดรูปชมภู่ แล้วนำขวดอาหารที่ได้ทำการนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °C นาน 20 นาที

3. การทำจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

หลังจากนึ่งฆ่าเชื้ออาหารเรียบร้อยแล้ว ทำการเทอาหารจากขวดรูปชมภู่โดยตวงปริมาตร 20 ml / plate จากนั้นรอให้อาหารเย็นลง ขั้นตอนนี้ทำในตู้เขี่ยเชื้อ

4. การเขี่ยเชื้อเห็ดตับเต่าในอาหารแต่ละสูตร

ตัดเชื้อโดยอุปกรณ์ตัดชิ้นส่วนเชื้อเห็ด (Corkboror) เบอร์ 0.5 โดยตัดตรงบริเวณที่สังเกตุได้ว่ามีปริมาณเชื้อเห็ดสม่ำเสมอ ซึ่งจะทำให้เชื้อที่ได้มีขนาดเท่ากัน วางเชื้อลงบนอาหารแต่ละสูตร (โดยทำในตู้เขี่ยเชื้อ) ทุกขั้นตอนใช้เทคนิคปราศจากเชื้อ (Aseptic Technique)

5. การบ่มเชื้อ

หลังจากเขี่ยเชื้อลงจานอาหารแล้ว ใช้แผ่นพลาสติกใสห่ออาหารหุ้ม plate ให้มิดหลังการปิด plate (เพื่อป้องกันการระเหยของน้ำจากอาหาร) นำไปเก็บในห้องบ่มเชื้อที่มีแสงสว่างปกติที่อุณหภูมิห้อง ทำการบันทึกผลโดยการวัดศูนย์กลางของเส้นใยเห็ดตับเต่า

6. การบันทึกผล

วัดเส้นผ่าศูนย์กลางของเชื้อเห็ดตับเต่าหลังจากการเขี่ยเชื้อลงบนอาหารในแต่ละสูตร ทุก 5วันแล้วบันทึกผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วันที่ทำการทดลอง

วันที่เริ่มทำการทดลอง 22 ธันวาคม 2542

วันที่สิ้นสุดการทดลอง 25 มกราคม 2543

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์ แปลงทดลอง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

จากตารางที่ 1 ในอาหาร PDA กลุ่มที่ใช้มันฝรั่งพบว่า การไม่ใช้น้ำมะพร้าวมีการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่า ได้ปานกลาง เมื่อมีการเพิ่มน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร มีผลให้การเจริญเติบโตของเส้นใยได้ดี แต่เมื่อเพิ่มปริมาณน้ำมะพร้าวเป็น 20 เปอร์เซ็นต์พบว่าการเจริญของเส้นใยกลับลดน้อยลงซึ่งถือว่าอยู่ในระดับต่ำ ดังภาพที่ 1 และ ภาพที่ 3

ในอาหารสูตรที่ใช้มันเทศแทนมันฝรั่งพบว่า ในอาหารสูตรที่ไม่มีน้ำมะพร้าวพบการเจริญเติบโตของเส้นใยดีเมื่อมีการเพิ่มน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร มีผลทำให้การเจริญเติบโตของเส้นใยดีมาก แต่เมื่อพบปริมาณน้ำมะพร้าวเป็น 20 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการเจริญเติบโตของเส้นใยลดลงอยู่ในระดับปานกลาง ดังภาพที่ 2 และภาพที่ 3

ตารางที่ 1 แสดงผลการเจริญเติบโตเส้นใยเห็ดตับเต่าในสูตรอาหารต่างๆ ในระยะเวลา 25 วัน

สูตรอาหาร	ปริมาณน้ำมะพร้าว(%)		
	0	10	20
มันฝรั่ง	***	****	**
มันเทศ	****	*****	***

หมายเหตุ

** แสดงถึง การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดตับเต่าที่น้อย (เส้นผ่าศูนย์กลาง 3.5-4.5 cm.)

*** แสดงถึงการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดตับเต่าปานกลาง (เส้นผ่าศูนย์กลาง 4.5-5.5 cm.)

**** แสดงถึง การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดตับเต่าดี (เส้นผ่าศูนย์กลาง 5.5-6.5 cm.)

***** แสดงถึง การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดตับเต่าดีมาก (เส้นผ่าศูนย์กลาง 6.5-7.0 cm.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองพบว่า อาหารสูตรที่ใช้มันเทศ ดีกว่าอาหาร PDA ที่ใช้มันฝรั่ง อาจเป็นเพราะว่า ในมันเทศมีน้ำตาลมากกว่าในมันฝรั่ง และในการใช้น้ำมะพร้าวมาผสมในสูตรอาหารทำให้ การเจริญเติบโตของเส้นใยดีขึ้น

การเพิ่มน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้การเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าดีขึ้น อาจเป็นเพราะว่า ในน้ำมะพร้าวนอกจากจะมีฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนินแล้ว ยังมีปริมาณน้ำตาล โดยปริมาณน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นปริมาณที่เหมาะต่อการเจริญทำให้เส้นใยเห็ดตับเต่าเจริญได้ดี แต่เมื่อเพิ่มปริมาณน้ำมะพร้าวเป็น 20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งปริมาณน้ำมะพร้าวนี้อาจมากเกินไปต่อการเจริญเติบโตของเส้นใย มีผลทำให้การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดตับเต่าลดลง

ดังนั้นในการใช้อาหารเลี้ยงเส้นใยเห็ดตับเต่า จึงควรใช้มันเทศแทนมันฝรั่ง เพราะนอกจาก ทำให้เส้นใยเจริญได้ดีกว่ามันฝรั่งแล้ว มันเทศยังมีราคาที่ถูกกว่ามันฝรั่ง และสามารถหาซื้อได้ง่าย

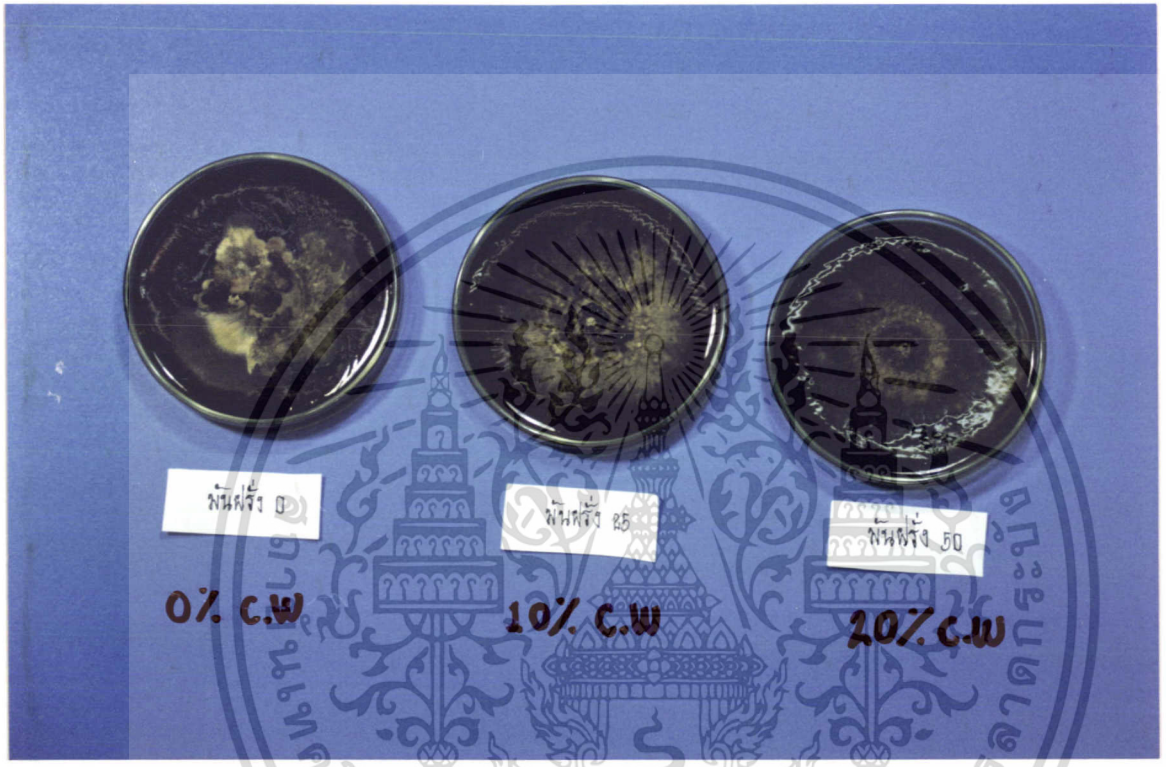
100003

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

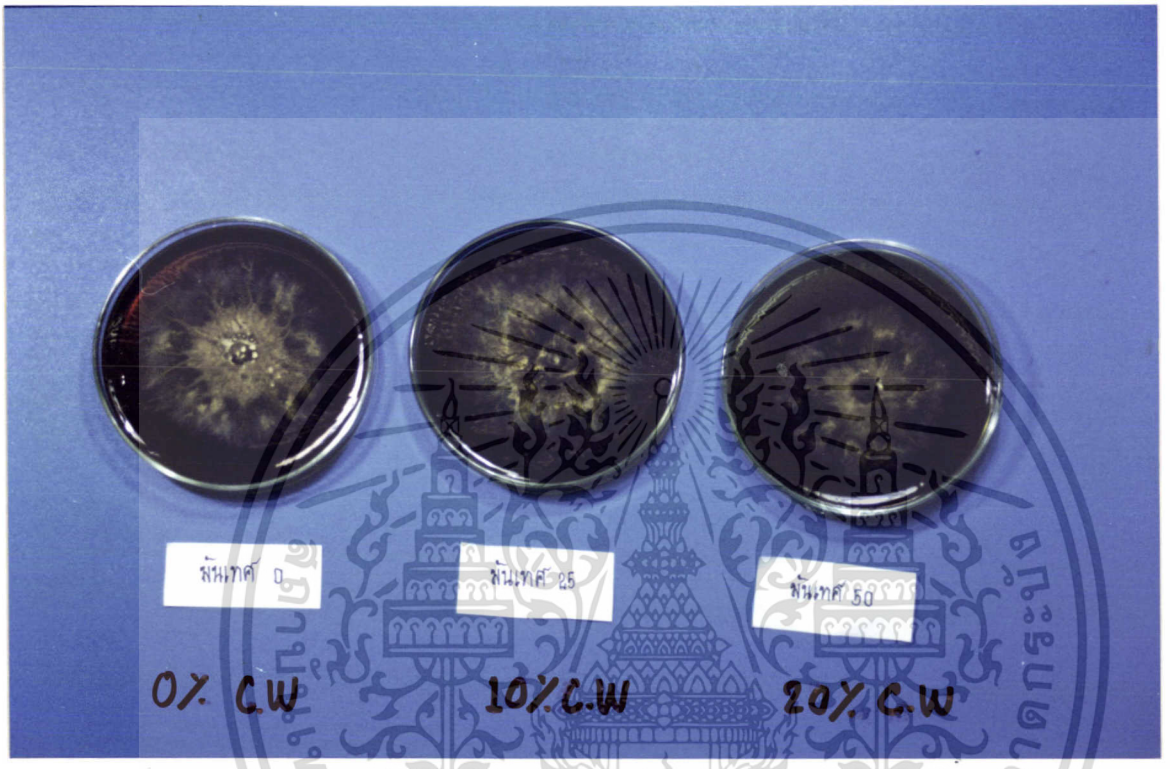
จากการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างอาหาร PDA ที่ใช้มันฝรั่งและอาหารสูตรที่ใช้มันเทศแทนมันฝรั่ง ที่มีน้ำมะพร้าวและไม่มีน้ำมะพร้าว พบว่า อาหารสูตรที่ใช้มันเทศการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่ามีแนวโน้มดีกว่าอาหารสูตรที่ใช้มันฝรั่ง ซึ่งในสภาพที่ไม่มีน้ำมะพร้าว ผลของการเจริญเติบโตของเส้นใย อยู่ในระดับปานกลาง เมื่อเพิ่มน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการเจริญเติบโตของเส้นใยดีขึ้น โดยเฉพาะอาหารสูตรที่ใช้มันเทศแทนมันฝรั่ง พบว่า การเจริญเติบโตของเส้นใยดีมาก แต่เมื่อเพิ่มน้ำมะพร้าวเป็น 20 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้ การเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 แสดงการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดตับเต่า ในอาหาร PDA ที่ใช้มันฝรั่ง

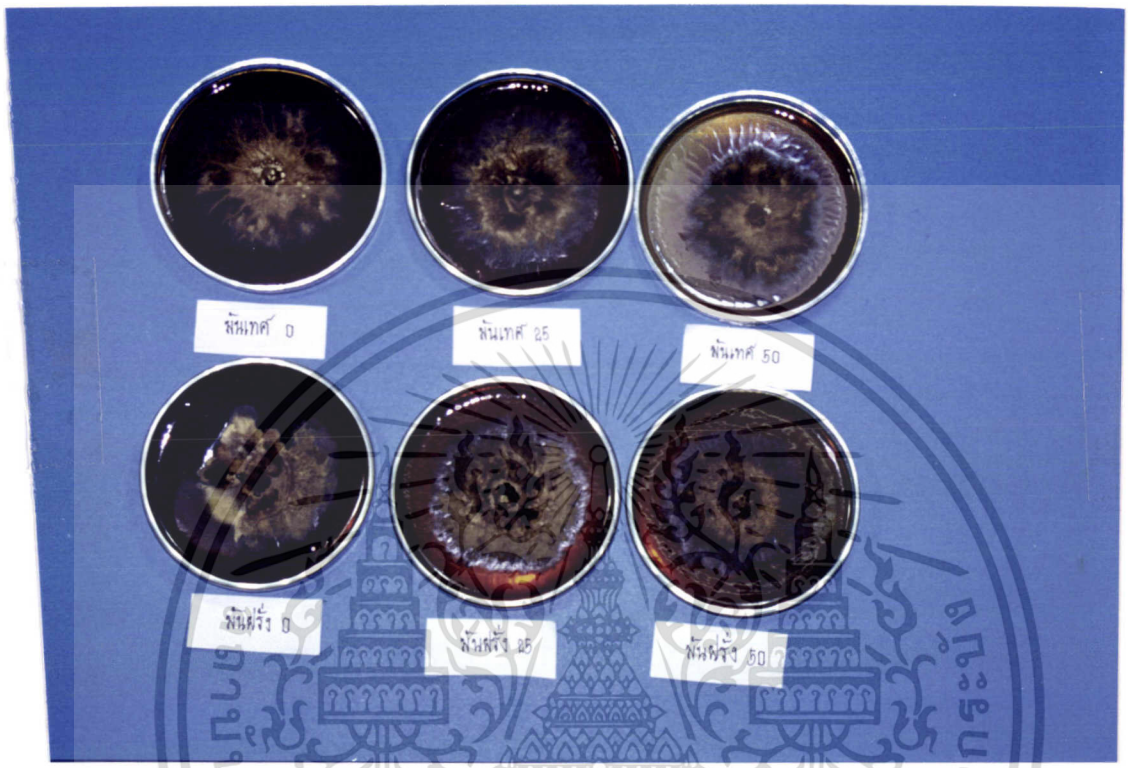
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 แสดงการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดตับเต่า ในอาหารสูตรที่ใช้มันเทศแทนมันฝรั่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

16981



ภาพที่ 3 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดตับเต่า ในอาหาร PDA สูตรที่ใช้มันฝรั่ง และอาหารสูตรที่ใช้มันเทศแทนมันฝรั่งในอาหารสูตรที่ไม่ใช้น้ำมะพร้าว และอาหารสูตรที่ใช้น้ำมะพร้าวและความเข้มข้นต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

การพัฒนาของเชื้อเห็ดตับเต่าในพืชอาศัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. พืชทดลอง คือ ต้นทองหลาง
2. เชื้อเห็ดตับเต่า
3. อุปกรณ์ในการสร้างพืชอาศัย
   - ขุยมะพร้าว
   - ถุงพลาสติก
   - เชือกฟาง
   - มีดตอนกิ่ง
4. อุปกรณ์ในการย้ายปลูกพืชอาศัย(ทองหลาง)
   - ดินผสม
   - ถุงเพาะชำขนาด 12"
   - หม้อนึ่งความดันไอ
   - เครื่องชั่ง
5. อุปกรณ์ในการเพาะเชื้อเห็ดตับเต่า
   - หัวเชื้อเห็ดตับเต่า
   - เข็มเขี่ย
   - ตู้เขี่ยเชื้อ
   - แอลกอฮอล์ 70 %
   - แอลกอฮอล์ 95 %
   - plate
   - ขวดรูปชมภู่
   - ขวดใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ
6. อุปกรณ์ในการทำอาหารเหลว
   - มันฝรั่ง
   - เครื่องชั่ง (2 ตำแหน่ง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำตาล

น้ำกลั่น

Hot plate

หม้อนึ่งความดัน

เครื่อง shaker

7. อุปกรณ์ที่ใช้ในการปลูกเชื้อ

เครื่องชั่งละเอียด (4 ตำแหน่ง)

กระดาษกรอง

plate

กรวยแก้ว

ขวดรูปชมภู่

8. อุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจสอบเชื้อ

Safranin O

กล้องจุลทรรศน์

มีดผ่าตัด

แผ่น Slide

แผ่น coverslip

น้ำกลั่น

9. กล้องถ่ายรูปและอุปกรณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการทดลอง

1. วิธีการสร้างพืชทดลองที่เป็นพืชอาศัย (ต้นทองหลาง)

ตอนกิ่งทองหลางในวันที่ 2 มิถุนายน 2542 จำนวน 34 กิ่ง ปรากฏว่าได้ กิ่ง ที่เจริญ จำนวน 24 กิ่ง

2. วิธีการเตรียมอาหารเหลว

นำมันฝรั่งมาทำความสะอาด ปอกเปลือกหั่นเป็นสี่เหลี่ยมลูกเต๋า ปริมาตร 200 กรัม ต้มกับน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร จนกระทั่งเดือดแล้วลดไฟลง ต้มต่อไปประมาณ 10 – 15 นาที จนมันฝรั่งสุกกรองเอากากมันฝรั่งทิ้ง โดยนำน้ำมันฝรั่งที่ได้ ละลายน้ำตาล 20 กรัม ต่ออาหาร 1 ลิตร ยกลงจากเตา ปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น จากนั้น วัดปริมาตรใส่ขวดรูปชมพู่ โดยใส่ปริมาตร 20 มิลลิลิตร

3. วิธีการนึ่งฆ่าเชื้อ

นำขวดอาหารที่ได้ทำการนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางอุณหภูมิ 121 °C นาน 20 นาที

4. วิธีการผลิตเชื้อเห็ดตับเต่า

ใช้เข็มเขี่ยเชื้อเห็ดตับเต่าจากขวดหัวเชื้อ ลงในอาหารเหลว จากนั้นนำไปวางบนเครื่อง Shaker

5. วิธีการย้ายปลูกพืชอาศัย

นึ่งฆ่าเชื้อดินผสมที่ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาทีอุณหภูมิ 121 °C แล้วทำการชั่งดินหนัก 3.8 กิโลกรัม ใส่ในถุงเพาะชำ ปล่อยให้ดินเย็น แล้วนำกิ่งทองหลางที่ได้มาย้ายปลูก ทำการทดลอง 4 ซ้ำ 4 สิ่งการทดลอง

6. วิธีการเตรียมเชื้อเห็ดตับเต่าเพื่อนำไปโรยฝังสู่พืชอาศัย

นำเชื้อเห็ดที่ได้มากรองแยกออกจากอาหารเหลว (เชื้อเห็ดจะมีลักษณะก้อนสีน้ำตาลแดงอยู่ใน อาหารเหลว) ทำการชั่งแบ่งน้ำหนักออกเป็น 4 ระดับ คือ 0, 8, 16 และ 32 กรัม

7. วิธีการโรยฝังเชื้อสู่รากพืชอาศัย (Inoculation)

นำเชื้อที่ทำการชั่งไว้มาปล่อยลงสู่พืชอาศัยโดยโรยฝังเชื้อรอบโคนต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. **วิธีการตรวจสอบการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดตับเต่าในพืชอาศัย**

นำปลายรากของพืชอาศัยมาล้างน้ำให้สะอาดทำการ Freehand Section ราก แล้วย้อมสีด้วย Safranin O ทำการส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

9. การบันทึกผล

ตรวจสอบการเจริญของเชื้อเห็ดตับเต่าด้วยการนำรากพืชมาทำการย้อมสี ด้วย Safranin O ตรวจสอบการเจริญของเชื้อด้วยการสังเกตการติดสีของ Safranin O ด้วยกล้องจุลทรรศน์ ถ้าพบเส้นใยติดสีแดงของ Safranin O แสดงว่ามีการเจริญของเชื้อเห็ดตับเต่า

การบันทึก

* พบเส้นใยติดสีแดงของ Safranin O เจริญอยู่รอบนอกเซลล์ผิวราก

_ ไม่พบเส้นใยติดสีแดงของ Safranin O เจริญอยู่รอบนอกเซลล์ผิวราก

วันที่ทำการทดลอง

เริ่มทำการทดลองวันที่ 2 มิถุนายน 2542

สิ้นสุดการทดลองวันที่ 2 ธันวาคม 2542

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์ แปลงทดลอง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและ สหกรณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

จากการทดลองพบว่า ไม่พบเส้นใยติดสีแดงของ Safranin O เจริญอยู่รอบนอกเซลล์ผิวรากพืชอาศัย(ทองหลาง) ในทุกระยะเวลาที่ทดลอง ซึ่งได้ตรวจสอบตั้งแต่ 2 เดือนถึง 6 เดือน ดังแสดงในตารางที่ 2, 3 และ 4 และภาพที่ 4 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดตับเต่าในรากพืชอาศัย

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองไม่พบการเจริญของเส้นใยเห็ดตับเต่าในรากพืชอาศัยคาดว่าอาจเกิดจากสาเหตุเหล่านี้คือ

1. ในการทดลองใช้ระยะทั้งสิ้น 6 เดือนอาจเป็นระยะเวลาที่น้อยเกินกว่าที่เชื้อ จะเจริญเติบโตแล้วตรวจสอบพบ ดังที่ อนงค์และอัจฉรา (2530) กล่าวว่า การที่ไม่พบเชื้อเห็ดตับเต่า เป็นเพราะระยะเวลาในการทำการทดลองไม่นานพอที่จะตรวจสอบได้ว่าเชื้อเห็ดตับเต่ามีการเจริญสู่รากพืช เพราะเมื่อปล่อยเชื้อในดินและเติบโตต่อไปตามธรรมชาติ จนกว่าจะมีกำลังเกิดดอก อาจใช้เวลา 2-3 ปี

2. วิธีการโรยฝังของเชื้อเห็ดตับเต่า ในขั้นตอนของการโรยฝังเชื้อ การโรยฝังเชื้อที่ตื้นเกินไป หรือการโรยฝังเชื้อที่ลึกเกินไป อาจมีผลต่อการเจริญของเชื้อเห็ดตับเต่า ในขั้นตอนการโรยฝังเชื้อเห็ดตับเต่าลงสู่พืชอาศัยที่นำเชื้อเห็ดมากรองเอาอาหารเหลวออก ในระหว่างที่รอโรยฝังเชื้อเห็ดตับเต่าเชื้อเห็ดอาจตายก่อนที่นำมาโรยฝัง จึงทำให้ไม่เกิดการเจริญของเชื้อ โดยเชื้อเห็ดตับเต่าที่ปลูกลงในพืชอาศัยไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ เชื้อที่นำไปเพาะโดยวิธีฝังรอบๆโคนไม้ยืนต้นอาจถูกภัยธรรมชาติทำลายเสียก่อน (อนงค์และอัจฉรา,2530) หรือ เชื้อตายก่อนที่ปลูกถ่ายลงสู่พืชอาศัย

3. ปริมาณเชื้อเห็ดที่ทำการทดลองในปริมาณต่างๆ ได้แก่ 8, 16 และ32 กรัมต่อต้น ปริมาณเชื้อเห็ดตับเต่าในการทดลองนี้อาจไม่เพียงพอที่จะทำให้เชื้อเห็ดตับเต่าสามารถเจริญได้ ดังที่ อนงค์และอัจฉรา (2530) กล่าวว่าปริมาณเชื้อเห็ดที่ปล่อยสู่พืชอาศัยอาจไม่เพียงพอประกอบกับสภาพสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ด เพราะ การเพาะเชื้อในดินในสภาพที่สิ่งแวดล้อมเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ด และมีเชื้อในปริมาณเพียงพอเชื้อเห็ดจึงสามารถเจริญได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การโรยฝังเชื้อด้วยเส้นใย อาจจะทนทานสภาพแวดล้อมได้ไม่ดีเท่าการปลูกเชื้อด้วยสปอร์ จึงทำให้การโรยฝังเชื้อด้วยเส้นใยเห็ดตับเต่าได้ผลไม่ดีเท่าที่ควร

ซึ่งการศึกษานี้อาจมีการทดลองต่อไปโดย

1. ใช้ระยะเวลาในการทดลองการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดตับเต่ายาวนานกว่านี้
2. ใช้ปริมาณเชื้อเห็ดตับเต่าในการโรยฝังบริเวณรากพืชอาศัยให้มากกว่าปริมาณที่ใช้ในการทดลองนี้ หรือใช้สปอร์แทนเส้นใยในการทดลอง
3. เชื้อเห็ดตับเต่าที่เลี้ยงในอาหารเหลว มีลักษณะเป็นก้อนเมื่อนำไปโรยฝังกับรากพืชอาศัย เป็นไปได้ที่เชื้อมีการกระจายตัวน้อย จึงควรเลี้ยงเส้นใยเห็ดในตัวกลางร่วมกับอาหารเหลวแล้วผสมกับดินปลูก เป็นการเพิ่มโอกาสให้เส้นใยเห็ดสัมผัสกับรากพืชได้มากขึ้น
4. ทำการตรวจสอบสภาพแวดล้อมต่างๆของการเจริญของเชื้อเห็ดตับเต่าว่าเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดหรือไม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 แสดงผลการติดสีของ Safranin O หลังจากการโรยฝังเชื้อเห็ดตับเต่าให้กับต้นทองหลาง เป็นเวลา 2 เดือน (9 ตุลาคม 2542)

ปริมาณเชื้อเห็ดที่ใช้ (g)	จำนวนซ้ำ			
	1	2	3	4
0	-	-	-	-
8	-	-	-	-
16	-	-	-	-
32	-	-	-	-

หมายเหตุ

* พบเส้นใยติดสีแดงของ Safranin O เจริญอยู่รอบนอกเซลล์ผิวราก

\- ไม่พบเส้นใยติดสีแดงของ Safranin O เจริญอยู่รอบนอกเซลล์ผิวราก

ตารางที่ 3 แสดงผลการติดสีของ Safranin O หลังจากการโรยฝังเชื้อเห็ดตับเต่าให้กับต้นทองหลาง เป็นระยะเวลา 4 เดือน (9 ธันวาคม 2542)

ปริมาณเชื้อเห็ดที่ใช้ (g)	จำนวนซ้ำ			
	1	2	3	4
0	-	-	-	-
8	-	-	-	-
16	-	-	-	-
32	-	-	-	-

หมายเหตุ

* พบเส้นใยติดสีแดงของ Safranin O เจริญอยู่รอบนอกเซลล์ผิวราก

\- ไม่พบเส้นใยติดสีแดงของ Safranin O เจริญอยู่รอบนอกเซลล์ผิวราก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 แสดงผลการติดสีของ Safranin O หลังจากการโรยฝังเชื้อเห็ดตับเต่าให้กับต้นทองหลาง เป็นระยะเวลา 6 เดือน (9 กุมภาพันธ์ 2543)

ปริมาณเชื้อเห็ดที่ใช้ (g)	จำนวนซ้ำ			
	1	2	3	4
0	-	-	-	-
8	-	-	-	-
16	-	-	-	-
32	-	-	-	-

หมายเหตุ

* พบเส้นใยติดสีแดงของ Safranin O เจริญอยู่รอบนอกเซลล์ผิวราก

\- ไม่พบเส้นใยติดสีแดงของ Safranin O เจริญอยู่รอบนอกเซลล์ผิวราก

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

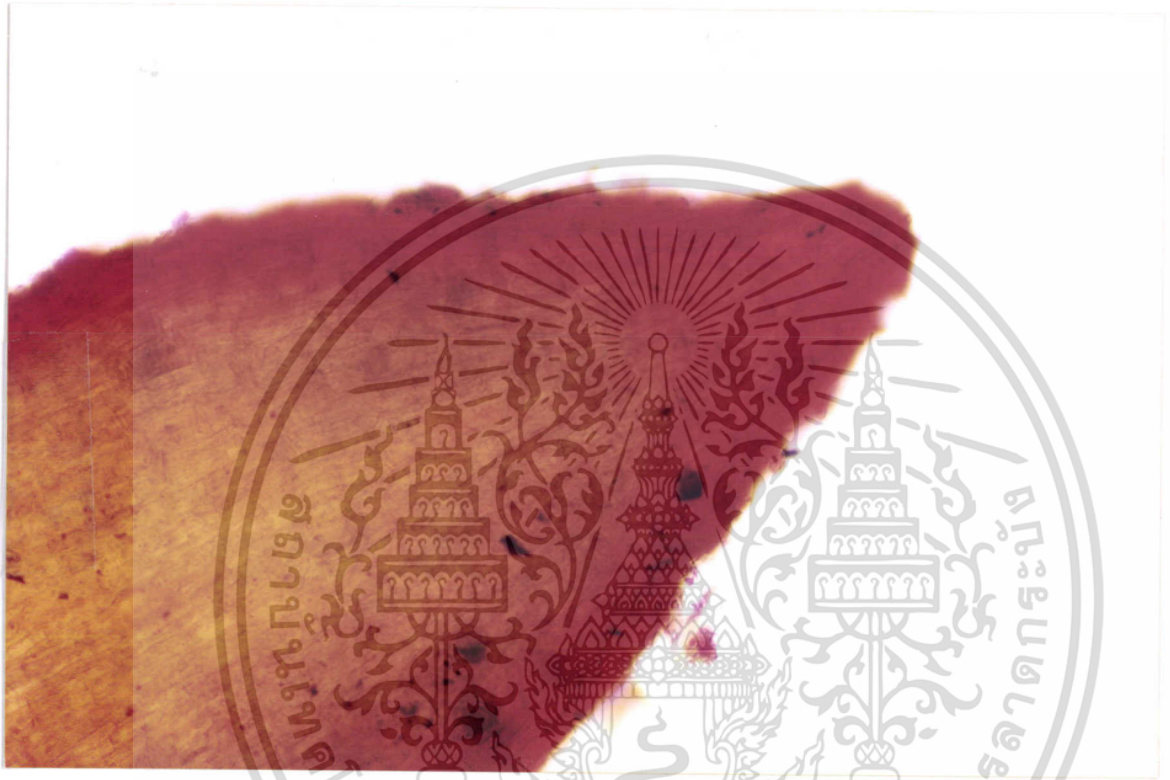
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

การเพิ่มปริมาณเส้นใยในอาหารเหลว แล้วนำไปโรยฝังในพืชอาศัย (ต้นทองหลาง) เป็นเวลา 6 เดือน พบว่า เส้นใยไม่สามารถเจริญเข้าไปในพืชอาศัยได้ โดยตรวจไม่พบเส้นใยในรากของพืชอาศัยเลย ซึ่งอาจเกิดจากปัจจัยเหล่านี้คือ

1. ระยะเวลาสั้นเกินไป
2. ปริมาณเส้นใยที่ปล่อยลงสู่พืชอาศัยน้อยเกินไป
3. สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4 แสดงการติดสีของรากพืชอาศัย (ทองหลาง) หลังจากการย้อมสี Safranin O

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

ขวัญชัย พันธ์หมุด.2537.การทำเชื้อเห็ดและการเพาะเห็ด.วิทยาลัยเกษตรกรรมนครพนม. นครพนม.268 หน้า.

บุญฤทธิ์ ภูริยากร และชุบ เข็มนาค.2521.บทบาทของเชื้อราไมคอร์ไรซาในป่าโซนร้อน. เอกสารทางวิชาการ เล่มที่ 2 ภาควิชาวนวัฒนวิทยา คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.กรุงเทพ ฯ.68 หน้า.

ประกิตต์สิน สีหนนทน์.2523.ความสำคัญของราไมคอร์ไรซา (Mycorrhizal fungi) ในการช่วยการเจริญเติบโตของต้นไม้ที่ใช้ในการปลูกป่า.วารสารวิทยาศาสตร์ ฉบับพิเศษชีววิทยา.ปีที่ 34 ฉบับที่3.หน้า 245- 251.

พงษ์ศักดิ์ สหุนาฬุ และคณะ.2523.การเสื่อมคุณภาพของดินจากการทำลายป่าสะแกราช.รายงานวนศาสตร์วิจัย เล่มที่ 68 คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ .60 หน้า.

เพิ่มศักดิ์ มกราภิรมย์ และอุทัยวรรณ แสงวณิช.2533.เห็ดกินได้ในสวนป่า : ความหวังใหม่ของชนบท.อนุสารไม้อัดบางนา. เล่ม 4 ปีที่ 19 ฉบับที่ 107 (ก.ค. - ส.ค.) .หน้า 76- 82.สามดีการพิมพ์.กรุงเทพฯ.

มาลินท์ กระบวนรัตน์.2524.เห็ด. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 133 หน้า.

วนิดา สุบรรณเสณี และนัยนา ทองเจียม.2534.เห็ดพืชอาหารในสวนป่ายูคาลิปตัส. เอกสารทางวิชาการ .ประชุมวิชาการป่าไม้ประจำปี 2534 วันที่ 27- 29 พฤศจิกายน 2534.กองวิจัยผลิตผลป่าไม้ กรมป่าไม้.หน้า152 -158.

อนงค์ จันทร์ศรีกุล.2520.เห็ดเมืองไทย.ไทยวัฒนาพาณิช. กทม.

อนงค์ จันทร์ศรีกุล และอัจฉรา พยัพพานนท์.2530.ตับเต่า เห็ดที่ควรพัฒนา. กสิกรปีที่ 60 ฉบับที่ 5 (ก.ย. - ต.ค.).สำนักพิมพ์กสิกร.กรุงเทพฯ. หน้า 441- 445.

อนิวรรต เฉลิมพงษ์.2520. โรคเน่าคอดินของกล้าไม้ป่าในเรือนเพาะชำป่าไม้ เอกสารการประชุมทางวิชาการป่าไม้ ประจำปี 2520 วันที่ 7- 15 พฤศจิกายน 2520.สาขาชีววิทยาป่าไม้ กรมป่าไม้ กระทรวงเกษตร. หน้า 1-9.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อนิวรรต เฉลิมพงษ์.2521. เห็ดดินแดงไมคอร์ไรซ่าในป่าสน เอกสารทางวิชาการ ประชุมการป่าไม้ประจำปี 2521 วันที่ 6- 14 พฤศจิกายน 2521.สาขาชีววิทยาป่าไม้ กรมป่าไม้.หน้า 48- 55.

อนิวรรต เฉลิมพงษ์ .2542.เห็ดป่าไมคอร์ไรซ่า. วารสารเห็ดไทย 2543. สมาคมวิจัยและเพาะเห็ดแห่งประเทศไทย. หน้า 25- 38.

อนิวรรต เฉลิมพงษ์ และธีรวัฒน์ บุญทวี.2525.การสำรวจเอ็คโตไมโคไรซ่าในนิเวศวิทยาป่าดิบแล้ง ปีงบประมาณ 2525.กองบำรุง กรมป่าไม้ กระทรวงเกษตร.หน้า 1- 24.

Bakshi, B.K. 1967. Mycorrhiza - its role in manmade forest. Doc. FAO World Symp. Man-Made Forests, 1967, Vol.2 , p. 1031.

Becking, J.H. 1950. Der Anban van Pinus merkusii in den Tropen. Schweitz. Z. Foostw.101,181.

Bowen, G.D. 1982. The mycorrhizal response. IFS Prov. Rep.NO. 12, Training course on Myc. Res. Tech., Serdang, Malaysia. May 1982.,p.29-38.

Griffiths, D.A. : Fungi of Hong kong. The Goverment Printer, Hong kong, 1974.

Harley, J.L. 1972. The Biology of Mycorrhiza. Leonard Hill., U.S.A. 333 pp.

Kormanik, P.P., W.C. Bryan and R.C. Schultz. 1977. The role of mycorrhizae in plant growth and development. Reprinted from Physiology of root micro organisms as ascosiations. H. Max Vines, ed. Proc. Of a symp. of the south, Sect.Am.Soc. Plant Physiol. Atlanta, GA. Feb. 1977. 10 pp.

Marks, G.C. and T.T Kozlowski. 1973. Ectomycorrhizae: Their ecology and Physiology. Academic Press. N.Y., 444 pp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Marx, D.H. 1972.Ectomycorrhizae as biological deterents to pathogenic root infections. Ann. Rev. Phytopathol. 10 : 429 - 454

Marx, D.H., and Barnett, J.P. 1974. Mycorrhizae and containerized forest tree seedling. Proc. Of the North American Containerized Forest Tree Improvement Symposium,August 1974, Denver, Cobrado, Great Plain Agriculture Council Publ, No. 86.pp.85-92.

Marx, D.H. 1976. Use of specific mycorrhizal fungi on tree roots for reforestation of disturbed lands. In Proc. Conf. Forestation of Disturbed Surface Areas. Bermingham, AL, April 14-15, 1967,p47-65.

Marx, D.H. 1977. The role of mycorrhizae in forest production. TAPPI Conf. Pap.. Annual Meeting, Fed. 14-16,1977,Atlanta,GA.p 151-161.

Marx, D.H. 1982. Productionof ectonycorrhizal fungus inoculum. IFS Prov. Rep.No. 12. Training course on Myc. Res. Tech.,Serdang, Malaysia, May 1982, p.59-78.

Marx, G.C. and T.T. Kozlowski. 1973. Ectomycorrhizae: Their ecology and physiology. Academic Press. N.Y.,444 pp.

Melin, E. 1962. Physiological aspects of mycorrhizae of forest trees, p. 247-263.In T.T. Kozlowski. Tree growth. Ronald Press, New York.

Mikola, P. 1970. Mycorrhizal Inoculation in Afforestation. Int. Rev Forest Rcs.3, pp. 123-185.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Mikola, P. 1973. Application of mycorrhizal Synbiosis in Forest Practice, Ectomycorrhizae. Academic.

Mikola, P.1982a. The role of mycorrhizal association in plant kingdom.IFS Prov. Rep. No.12, Training course on Myc. Res. Tech. Serdang,Malasia,May 1982,p.19-28:

Mikola, P 1982b.Biology of ectomycorrhiza.IFA Prov.Rep.No.12,, Training Course on Myc. Res.Tech.,,Serdang,Malaysia, May 1982,p. 49- 58.

Nuhanara, Takas. 1981. Mycorhizal as an alternative strategy in the tropical agriculture. BIOTROP Repional Workshop on Research Advances. In Agricultural Microbiogy in Southeast Asia. Nov. 24-27, 1981,14 pp.

Olatoye, S.T. 1966. A report of mycorrhizal investigations. (Investigation 317).Tech. Notc. Dept. For. Res. , Nigeria No. 33.

Roeleff, J.W. 1930. Over kunstmatige Verjonging von Pinus merkusii Jungh et de Vriese en pinus khasya Royle. Tectona 23,874.

Ruehle, J.L. and D.H. Marx.1979.Fiber, Food, Fuel and fungal Symbionts. Science 206: 419-422.

Stillwell, M.A. 1975. Biological control of forest diseases. Position Paper FOR:FAO/IUFRO/DI/75/12-0, second FAO World Technical Consultation on Diseases and Insects (In Collalooration with IUFRO) , Now Delhi, India 7-12 April, 1975, 12 pp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Van Alphen de Veer, E.J. et al. 1954. Artificial regeneration of pinus merkusil. Proc. World For. Congr., 4th 1954, Vol. III ,p. 565.

Zak, B. 1964. Role of mycorrhizae in root diseases. Ann. Rev. Phytopathol.2:377-392.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้