บทคัดย่อ

จากการสำรวจและเก็บรวบรวมเห็ดเผาะระหว่างเดือนตุลาคม 2544 - กันยายน 2547 โดยทำการสำรวจในป่าและจากตลาดท้องถิ่นในภาคเหนือ ตะวันออกเฉียงเหนือ ตะวันตก และใต้ พบว่ามี 2 ชนิด คือ เห็ดเผาะฝ้ายและเห็ดเผาะหนัง เห็ดทั้ง 2 ชนิดมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันมาก และไม่ใช่เป็นเห็ด species เดียวกันตามที่เข้าใจกันแต่เดิม จากการศึกษาอย่างละเอียดพบว่าเห็ดเผาะฝ้ายมีลักษณะตรงกับ *Astraeus hygrometricus* (Pers.) Morg. ส่วนเห็ดเผาะหนังมีลักษณะที่แตกต่างกันออกไป ยังไม่มีใครศึกษามาก่อน และกำลังทำการตั้งชื่อใหม่เป็น *A. thailandicus*

จากการศึกษาการแยกเชื้อเห็ดเผาะโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและจากสปอร์พบว่าวิธีการที่เหมาะคือการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากดอกเห็ด เนื้อเยื่อที่เหมาะคือจาก gleba ที่ยังอ่อนอยู่ เนื้อเยื่อที่อ่อนสามารถเจริญเป็นเส้นใยชั้นที่ 2 (dikaryotic mycelium) ได้เร็วกว่าเนื้อเยื่อที่แก่ จากการทดลองเพาะเลี้ยงสปอร์บนอาหารวุ้นชนิดต่าง ๆ และบริเวณผิวรากยางนาไม่พบการงอกของสปอร์ นอกจากนั้นยังได้ทำการกระทำ (treat) สปอร์ด้วยวิธีการต่าง ๆ แล้วนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นปรากฏว่าสปอร์ไม่สามารถงอกได้

เส้นใยเห็ดเผาะที่แยกได้นำมาศึกษาการเจริญบนอาหารวุ้นต่าง ๆ พบว่าเส้นใยเห็ดเผาะเจริญได้ดีที่สุดบนอาหารวุ้น MFM ที่ระดับพีเอช 5-7 การทดลองแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยพบว่าเห็ดเผาะใช้แป้ง (soluble starch) และเดกตริน (dextrin) ได้ดี มัลโตส (maltose) เป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีรองลงมา ส่วนแหล่งไนโตรเจนที่ดีที่สุดคือ แอมโมเนียมไนเตรต แอสพาราจีน อาจินีนและแอมโมเนียมซัลเฟต เส้นใยเห็ดเผาะที่เลี้ยงไว้ในที่มืดตลอด จะเจริญเติบโตได้ดีกว่าในที่มีแสงสว่างประมาณ 12 ชั่วโมงต่อวัน

นำเส้นใยเห็ดเผาะที่แยกได้มาทดลองทำเชื้อสำหรับเพาะปลูก (spawn) โดยทดลองเลี้ยงเส้นใยเห็ดในวัสดุต่าง ๆ จำนวน 12 สูตร พบว่าวัสดุที่ประกอบด้วยข้าวโอ๊ตผสมดินร่วมอัตราส่วน 1:1 (ปริมาตร: ปริมาตร) เชื้อเห็ดเจริญได้ดีที่สุด อย่างไรก็ตามเส้นใยเห็ดไม่สามารถเจริญเต็มวัสดุที่ใช้ทำเชื้อได้

การเกิดไมโครไรซ่าของเห็ดเผาะกับพืชได้ทำการศึกษาปฏิกิริยาสัมพันธุ์ระหว่างเห็ดเผาะกับรากของต้นยางนา โดยทำการทดลองกับต้นกล้ายางนาในโรงเรือนเพาะชำ และต้นยางนาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงปลายยอดในขวดทดลองบนอาหารวุ้น MS+NAA 1 มก./ลิตร การทดลองในโรงเรือนเพาะชำใช้ต้นยางนาที่มีอายุ 3 ปี ปลูกอยู่ในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 นิ้ว การปลูกเชื้อเห็ดเผาะทำโดยขุ่มรากพร้อมดินลงในสารแขวนลอยสปอร์ของเห็ดเผาะ ปลูกต้นยางนาไว้อย่างเดิมอีก 2 ปี พบว่าบริเวณรากของยางนามี mycorrhiza ทุกรากโดยเส้นใยที่พบมีสีน้ำตาลอ่อนมี clamp connection ซึ่งคล้ายกับเส้นใยเห็ดเผาะ ปัจจุบัน

ยังไม่สามารถยืนยันได้ว่าเป็นเส้นใยของเห็ดเผาะหรือไม่ เพราะไม่พบสปอร์เห็ดเผาะงอกบริเวณรากยางนา เส้นใยที่พบไม่สามารถเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นได้ และไม่พบว่ามีการสร้างดอกเห็ดเผาะในกระถางทดลองต้นยางนาดังกล่าวได้ปลูกไว้ที่ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ เพื่อติดตามผลการทดลองต่อไป

ปฏิกิริยาสัมพันธุ์ระหว่างเห็ดเผาะและต้นยางนาได้ทำการทดลองเพาะเลี้ยงเห็ดเผาะ และต้นยางนาในสภาพปลอดเชื้ออื่น (tissue-culture method) การทดลองได้พยายามเพาะเลี้ยงปลายยอดยางนาและใบยางนาในสภาพปลอดเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ และพบว่าอาหาร MS+NAA 1 มก./ลิตร เหมาะสมที่สุดในการเพาะเลี้ยงปลายยอดยางนา โดยเมื่อทำการเพาะเลี้ยงนาน 5 เดือนในขวดทดลอง ได้ต้นกล้ายางนาที่ประกอบด้วยใบแท้ 1 ใบ และราก 2-3 ราก หลังจากนั้นจึงปลูกเชื้อเห็ดเผาะลงเลี้ยงร่วมกันกับต้นยางนา พบว่าในสภาพที่มีต้นยางนาเจริญอยู่เชื้อเห็ดเผาะเจริญได้เร็วกว่าในขวดที่ไม่มีต้นยางนาเจริญอยู่ถึงประมาณ 3 เท่า เส้นใยเห็ดเผาะเมื่อพบรากของยางนาจะเจริญแนบไปกับรากยางนาและแตกแขนง ฟูบริเวณปลายรากยางนา ซึ่งแสดงถึงปฏิกิริยาสัมพันธ์กันระหว่างรากยางนาและเส้นใยเห็ดเผาะ หลังจากเพาะเลี้ยงไว้เป็นเวลา 1 เดือน จึงได้ย้ายต้นยางนามาอนุบาลนอกขวดทดลองโดยย้ายปลูกลงในกระถางที่มีดิน+เวอมิคิวไลท์+เพอไลท์ (1:1:1 โดยปริมาตร) เป็นวัสดุปลูก แต่ปรากฏว่าต้นกล้ายางนาที่มีเส้นใยเห็ดเผาะบริเวณรากไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ภายนอกขวดทดลอง

Abstract

Surveys of the edible puffball (*Astraeus* spp.) was done during October 2001-September 2004. The fruit bodies were collected from the forests and local markets where the puffballs were sold in the north, northeast, west and south of Thailand. The morphological characteristics studies revealed that there were two species of edible *Astreaus* in Thailand. These were *A. hygrometricus* (Hed Pho Fai) and a new species one (to be named as *A. thailandicus,* Hed Pho Hnang).

Pure cultures were isolated from the different parts of the puffball fruit bodies. The results showed that the young gleba tissue develop into dikaryotic mycelium faster than other tissues. Spore germination was not observed both on the agar or on the root surface of the host plant (*Dipterocarpus alatus*). Any treatments on the spores before culturing on agar did not initiate spore germination.

Serial subculture was needed for maintaining the pure culture of *Astraeus.*

Astraeus produced maximum growth on MFM at pH 5-7. In terms of carbon source and nitrogen source, the best mycelial growth was obtained on media containing soluble starch or dextrin as carbon source. Maltose was the second. *Astraeus* sp. utilize NH_4NO_3 better than other nitrogen sources. Asparagine, arginine and $(NH_4)_2SO_4$ are also good nitrogen sources. Ordinary laboratory light condition retarded the mycelial growth of *Astraeus* sp.

Preparation of the puffball spawn was attempted on different combination of agricultural products such as compost, oat meal, rice bran, sawdust and boiled sorghum seeds. It was found that the combination of oat meal and soil (1:1, by volume) supported maximum growth of the mycelia.

The mycorrhizal association of *Astraeus* and the root of *Dipterocarpus* was determined both in the pots in nursery and in bi-culture. Three year old seedlings of *Dipterocarpus* were grown in the 5-inch pastic pots. The seedlings were inoculated with spore suspension of *Astraeus* and the roots were observed under disecting microscope. After 2 years of inoculation, all the *Dipterocarpus* roots were infected and formed mycorrhizal by the Basidiomycetes mycelia. Due to the absence of fructification and lack of spore germination, the basidiomycetes mycelia need to be confirmed whether it is the *Astraeus* mycelia or not. All the infected plants are now grown at the Department of Pest Management to observe fructification of the *Astraeus.*

The mycorrhizal association between *Astraeus* mycelia and root of *Dipterocarpus* was done by bi-culture technique. The shoot and young leaf culture were attempted on MS+NAA 1 mg/L medium. Small plantlets (1 leaf+2-3 roots) was obtianed from the shoot after 5 months of culture. The pure culture of *Astraeus* was transferred into the medium, 2 cm apart from the *Dipterocarpus* plantlets. Growth of *Astraeus* mycelia with the present of *Dipterocarpus* plantlets was better than those without *Dipterocarpus* plantlets. *Astraeus* mycelia grew along the root of *Dipterocarpus* seedling and was fluffy near the root tips, indicated the interaction between the plant and fungi, After 30 days of inoculation with *Astraeus* mycelia, the *Dipterocarpus* plantlets were transplanted into sterile soil+vermiculite+perlite (1:1:1, by volume) in plastic pots. Unfortunately, the plantlets did not survive outside the culture bottles.