

บทที่ 4

วิจารณ์ผลการทดลอง

เห็ดเหาะจัดเป็นเห็ด mycorrhiza ออกดอกเพียงปีละ 1 ครั้ง ประมาณช่วงเดือนพฤษภาคม-กรกฎาคม เห็ดที่ออกแต่ละปีมักถูกเก็บรวบรวมมาบริโภคทั้งหมดเนื่องจากเป็นเห็ดที่มีราคาแพง เห็ดเหาะจึงจัดเป็นเห็ดชนิดที่มีแนวโน้มสูญพันธุ์ได้ สมควรที่ควรศึกษาและมีการอนุรักษ์ จากการสอบถามข้อมูลจากชาวบ้านพบว่าเห็ดสกุล *Astraeus* จะขึ้นอยู่บริเวณใต้ต้นไม้ในวงศ์ Dipterocarpaceae เช่น ต้นยางนา พะยอม เต็ง และรัง เป็นต้น และจากการสังเกตลักษณะนิเวศวิทยาในป่าเต็งรัง (*Dry-dipterocarpus forest*) บริเวณอำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี และอำเภอหนองหญ้าปล้อง จังหวัดเพชรบุรี พบว่าเห็ดเหาะฝ้ายมักสร้างดอกเห็ดบริเวณที่เคยมีธารน้ำฝนไหลผ่านและเป็นที่โล่งมีแดดส่องถึง ส่วนเห็ดเหาะหนังจะออกดอกในที่ร่มใต้ต้นไม้

เห็ดสกุล *Astraeus* จึงควรเป็นเห็ดที่พบในระบบนิเวศ เฉพาะเป็น mycorrhiza กับพืช พบเฉพาะในป่าที่มีพืชอาศัย (host) ของเห็ดเหาะเท่านั้น ซึ่งขัดแย้งกับรายงานของ Arora (1986) ที่กล่าวว่าเห็ด *Astraeus* พบในสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ที่หลากหลายมากเช่น บนดินทรายชายทะเล ที่รกร้างว่างเปล่า ข้างถนน ทุ่งราบ จนถึงภูเขาสูง

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเห็ดเหาะฝ้ายและเห็ดเหาะหนัง เห็ดทั้ง 2 มีลักษณะแตกต่างกันอย่างชัดเจนทั้งรูปร่างภายนอก (macroscopic features) และการจัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อ exoperidium โดยเห็ดเหาะฝ้ายมีลักษณะตรงกับเห็ด *A. hygrometricus* ส่วนเห็ดเหาะหนังมีลักษณะแตกต่างออกไปจาก *A. hygrometricus* และ *A. pteridis* จึงได้ดำเนินการตั้งชื่อใหม่เป็น *A. thailandicus* เห็ดทั้ง 2 ชนิด ชาวบ้านมักเก็บรวบรวมและนำมาขายรวมกัน โดยทั่วไปเห็ดเหาะหนังจะมีรสชาติดีและขายได้ราคามากกว่าเห็ดเหาะฝ้าย

การแยกเชื้อเห็ดเหาะจากดอกเห็ดสามารถทำได้โดยใช้ดอกเห็ดที่ยังอ่อนอยู่ บริเวณที่ทำได้ง่ายคือตัดเนื้อเยื่อจากบริเวณส่วนกลางของดอกเห็ดซึ่งเป็นบริเวณเนื้อเยื่อ gleba ที่ประกอบด้วยเส้นใยกำลังเจริญเติบโตสร้างเบสิเดียมและสปอร์ เนื้อเยื่อในส่วนนี้จะสร้างโคโลนีได้ภายใน 3-5 วัน เนื้อเยื่อบริเวณ exoperidium และเส้นใยบริเวณถุงสปอร์ก็สามารถสร้างโคโลนีได้แต่มักเกิดปัญหาเรื่องการปนเปื้อน เนื้อเยื่อ gleba ที่มีอายุมากขึ้นเริ่มสร้างสปอร์และเริ่มมีสีน้ำตาล การเจริญของเนื้อเยื่อเป็นโคโลนีจะใช้เวลาานกว่า การแยกเชื้อจากสปอร์อย่างเดียวไม่สามารถทำได้เนื่องจากสปอร์ของเห็ดเหาะไม่งอกบนอาหารวุ้นที่ใช้ทดลองทุกชนิด ทั้งที่อุณหภูมิ 30° และ 35° ซ. สาเหตุที่สปอร์ของเห็ดเหาะไม่งอกนั้นน่าจะเกิดจากปัจจัยภายในของสปอร์เอง เนื่องจากในการทดลองในครั้งนี้ได้พยายามจัดปัจจัยภายนอกที่เหมาะสมเช่น อาหาร MFM เป็นอาหารที่มีรายงานว่าเหมาะสมต่อการเจริญของเห็ด mycorrhiza เนื่องจากมีธาตุอาหารและวิตามินต่าง ๆ หลายชนิด การทดสอบการงอกของสปอร์ได้ทำการเพาะเลี้ยงสปอร์ของเห็ดเหาะกับเชื้อยีสต์

บทบาทของยีสต์ต่อการงอกของสปอร์เห็ดมีรายงานที่น่าสนใจเช่น Bulmer และ Bekene (1961) รายงานว่า ในอาหาร malt extract agar ที่มีเชื้อยีสต์ (yeast "X" unidentified) เจริญร่วมอยู่ด้วยสามารถกระตุ้นให้สปอร์เห็ดกลุ่ม puffball งอกได้เช่น เห็ด *Lycoperdon echinatum* Pers., *L. nigrescens* Pers., *L. pratense* Pers., *L. pyriforme* Pers., *L. umbrinum* Pers., *Scleroderma aurantium* Pers. และ *Boletus* spp. โดยสปอร์ของเห็ดเหล่านี้งอกได้น้อยกว่า 0.1% ในช่วงเวลา 3-30 วัน แล้วแต่ชนิดของเห็ด ส่วนในสภาพที่ไม่มีเชื้อยีสต์สปอร์ของเห็ดไม่งอกเลย นอกจากนั้นเขายังศึกษาการงอกของสปอร์เห็ด *calvatia gigantia* (Pers.) Liold. ใน malt extract ที่มีเชื้อยีสต์ *Rhodotorula mucilaginosa* (Jorg.) Harrison สปอร์ของเห็ดจะงอกภายใน 28 วัน ส่วนในอาหารต่าง ๆ ที่ไม่มีเชื้อยีสต์จะไม่พบการงอกของสปอร์แต่อย่างใด แม้จะนำสปอร์ไปแช่ใน ethanol 95%, pancreatin extract, กรดกำมะถัน 1:1 และน้ำกลั่น หรือนำไป treat ด้วยอุณหภูมิในระยะเวลาต่าง ๆ กัน วสันต์ (2522) ศึกษาการงอกของสปอร์เห็ดดินแดง (*Tricholoma crassum* (Berk.) Sacc.) พบว่าสามารถงอกได้ถึง 24.3% บนอาหารวุ้น PDA ที่มีเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* เจริญร่วมอยู่ด้วยที่อุณหภูมิ 35 °C ส่วนในอาหารวุ้นที่ไม่มีเชื้อยีสต์ สปอร์ของเห็ดไม่สามารถงอกได้ การทดสอบการงอกของสปอร์ในครั้งนี้ใช้สปอร์จากดอกเห็ดที่ส่วนของ exoperidium ยังไม่แตกออกจึงเป็นไปได้ที่สปอร์ยังไม่แก่เต็มที่ถึงแม้ว่าส่วน basidium ที่สร้างสปอร์จะสลายตัวไปแล้ว

เชื้อเห็ดเผาะที่แยกได้เสื่อมสภาพและตายง่ายควรทำการต่อเชื้อ (subculture) เป็นระยะ ๆ ห่างกันประมาณ 20 วัน หากทิ้งไว้นานจนโคโลนีแก่หรือวุ้นเริ่มแห้งเชื้อเห็ดจะตาย การเก็บรักษาเชื้อภายใต้ paraffin oil ไม่สามารถทำได้เพราะเชื้อเห็ดตาย

การทำเชื้อเห็ดในวัสดุเพาะ 12 สูตรยังไม่ประสบความสำเร็จเนื่องจากเส้นใยเห็ดเผาะส่วนใหญ่ไม่สามารถเจริญจากชั้นวุ้นลงในวัสดุเพาะ ในสูตรอาหารที่เจริญได้ดีที่สุดคือสูตรอาหารที่ประกอบด้วยข้าวโอ๊ตและดินอัตราส่วน 1:1 เชื้อเห็ดเจริญได้เพียง $\frac{1}{3}$ ของฟลาสที่ใช้ทดลองแล้วจึงหยุดเจริญไม่สามารถเจริญต่อไปได้ น้ำคั้นจากใบขานาขยับยังการเจริญของเส้นใยเห็ดเผาะทั้งบนอาหารวุ้นและในวัสดุทำเชื้อ โดยในอาหารวุ้น PDA ที่มีการใส่น้ำคั้นจากใบขานาเส้นใยเห็ดไม่สามารถเจริญได้ และในวัสดุที่ข้าวโอ๊ต+ดิน (1:1) และทำให้ขึ้นด้วยน้ำคั้นจากใบขานาพบว่าเห็ดเจริญจากชั้นวุ้นลงในอาหารเพียงเล็กน้อยเท่านั้นก็หยุดการเจริญ

การทดลองการปลูกเชื้อเห็ดเผาะลงบนต้นกล้วยนาอายุ 3 ปี ด้วยสปอร์แขวนลอยพบว่าเมื่อต้นกล้วยมีอายุ 5 ปี (หลังปลูกเชื้อ 2 ปี) พบว่าทุกรากของต้นขานาถูกเส้นใยเห็ดเข้าเป็น mycorrhiza ทุกต้น เส้นใยดังกล่าวมีสีน้ำตาล มี clamp connection ลักษณะเหมือนเส้นใยเห็ดเผาะแต่ยังไม่สามารถยืนยันได้ว่าเป็นเส้นใยเห็ดเผาะ เพราะไม่พบการงอกของสปอร์เห็ดเผาะ ไม่สามารถเพาะเลี้ยงเส้นใยที่แยกจากรากได้ ไม่พบเห็ดเผาะขึ้นในกระถางทดลอง อีกทั้งในการทดลองได้ทำการปลูกเชื้อเห็ดโดยใช้เส้นใยจากอาหารวุ้นปลูกเชื้อลงบนรากขานาปรากฏว่าเส้นใยเห็ดไม่สามารถเจริญบนรากได้ในสภาพที่มีเชื้ออื่น ๆ อยู่แล้ว (แบคทีเรีย)

การปลูกเชื้อเห็ดเหาะลงบนต้นยางนาในสภาพปลอดเชื้ออื่น โดยทำการเพาะเลี้ยงยอดยางนาให้เกิดรากในขวดทดลองและทำการปลูกเชื้อเห็ดเหาะลงไป พบว่าเส้นใยเห็ดเหาะเจริญได้ดี เจริญเข้าหารากของยางนาและเจริญฟูบริเวณปลายรากยางนาแสดงถึงปฏิกิริยาสัมพันธ์การเป็น mycorrhiza ระหว่างรากยางนาและเส้นใยเห็ดเหาะ อย่างไรก็ตามต้นกล้ายางนาดังกล่าวเมื่อย้ายออกมาอนุบาลภายนอกขวดทดลองได้ตายลงทั้งหมด เนื่องจากต้นกล้าดังกล่าวยังมีขนาดเล็ก ใบเพียง 1 ใบและราก 2-3 ราก การทดลองครั้งต่อไปจึงควรพัฒนาสูตรอาหารวุ้นให้สามารถเพาะเลี้ยงกล้ายางนาให้แข็งแรง ซึ่งอาจต้องใช้ระยะเวลาเลี้ยงต้นยางนาในขวดทดลองให้มีขนาดโตขึ้น โดยเลี้ยงไว้ประมาณ 2-3 ปีก่อนการปลูกเชื้อเห็ดเหาะลงไป

วิธีการปลูกเชื้อเห็ดลงในต้นพืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้ออื่น น่าจะเป็นวิธีการที่เหมาะสมในการศึกษาปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างเชื้อรา mycorrhiza กับพืชอาศัยได้ดี หากสามารถพัฒนาสูตรอาหารสามารถเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้ได้ต้นอ่อนที่แข็งแรง และต้องใช้ระยะเวลาวิจัยนานกว่านี้เนื่องจากต้นยางนาเจริญช้ามาก