

การเจริญของเส้นใยเห็ดเหาะจากวนอุทยานภูเขาไฟกระโดง  
บนอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการ  
MYCELIAL CULTIVATION OF *ASTRAEUS* SP.  
FROM KHAO KRA-DONG VOLCANO FOREST PARK  
ON AGAR MEDIUM IN LABORATORY

เทพอัสสร แสนสุข\* และสุธีรา สุนทรารักษ์

Tepupsorn Saensuk\*, and Suteera Suntararak

Faculty of Science, Buriram Rajabhat University

\*corresponding author e-mail: microbiology\_noina@hotmail.co.th

**บทคัดย่อ**

ปัจจุบันนี้พบว่าจำนวนป่าไม้ได้ลดลง และมีการบุกรุกทำลายป่ามากขึ้นจึงก่อให้เกิดผลเสียต่อระบบนิเวศของสิ่งมีชีวิตที่เจริญในป่าเหล่านี้ และเห็ดเหาะเป็นสิ่งมีชีวิตที่ได้รับผลกระทบโดยตรงจากปัญหานี้ด้วย จากการสำรวจความหลากหลายของเห็ดป่าในเขตอนุทยานภูเขาไฟกระโดงตั้งแต่ปี พ.ศ. 2557-2559 พบว่าปริมาณของเห็ดป่าโดยเฉพาะเห็ดเหาะมีปริมาณลดลงเรื่อย ๆ และมีราคาแพงขึ้นทุกปี จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดเหาะจากวนอุทยานภูเขาไฟกระโดงเพื่อหาแนวทางในการที่จะเพิ่มผลผลิตหัวเชื้อเห็ดเหาะคืนสู่ธรรมชาติ ซึ่งงานวิจัยนี้พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดเหาะในห้องปฏิบัติการ จำนวน 3 ไอโซเลต คือ *Astraeus* KKV01, *Astraeus* KKV04 และ *Astraeus* KKV05 นั้นคืออาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextose Agar (PDA) รองลงมาคืออาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextose Agar modified+2% volcano's soil (PDA+2%S) และสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยคือเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 25-30°C ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ pH 4-7 โดยมีค่าเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย  $85.67 \pm 2.08$ ,  $83.33 \pm 2.08$  และ  $80.00 \pm 1.00$  มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งการศึกษาในครั้งนี้เป็นจุดเริ่มต้นในการพัฒนาและขยายหัวเชื้อเห็ดเหาะให้กลับคืนสู่ธรรมชาติได้มากขึ้นและยั่งยืน เพื่อคืนความอุดมสมบูรณ์ให้กับผืนป่าวนอุทยานภูเขาไฟกระโดงและช่วยเหลือชาวบ้านในการดำรงชีวิตด้วยการพึ่งตนเองอย่างยั่งยืนต่อไป

**คำสำคัญ:** เห็ดเหาะ พืชเหอ เส้นใย ดินภูเขาไฟ

**Abstract**

At the present time, the number of forests has been decreasing due to the forest destruction. This has an effect on ecosystem of organisms living in the forests. *Astraeus* sp. are also directly affected by this problem. According to the survey of diversity of wild mushrooms in Khao Kra-Dong Volcano Forest Park during 2014-2016, it was found that the amount of wild mushrooms, especially *Astraeus* sp., has been decreasing, and the prices are rising every year. It is, therefore, essential to study the

factors affecting mycelial cultivation of *Astraeus* sp. to find the way to increase the leaven yield of *Astraeus* sp. back to nature. The results found that the factor affecting mycelial cultivation of *Astraeus* sp. with three isolates: *Astraeus* KKV01, *Astraeus* KKV04 and *Astraeus* KKV05 in the laboratory grew well in Potato Dextose Agar (PDA) and Potato Dextose Agar modified+2% volcano's soil (PDA+2%S) respectively. The best conditions for mycelial cultivation of *Astraeus* sp. were at on PDA 25-30°C, pH 4-7 and with the mean colonial diameters of  $85.67 \pm 2.08$ ,  $83.33 \pm 2.08$  and  $80.00 \pm 1.00$  mm, respectively. This study is the beginning of sustainable development and the increase of the leaven yield of *Astraeus* sp. to restore abundance to Khao Kra-Dong Volcano Forest Park and to support sustainable self-sufficiency of the villagers.

**Keywords:** *Astraeus* sp., PDA, mycelium, volcano's soil

## บทนำ

จากโครงการวิจัยเรื่องการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของเห็ดพื้นบ้านที่รับประทานได้ บริเวณพื้นที่วนอุทยาน ภูเขาไฟกระโดง ตำบลเสม็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ ของผู้วิจัยในปี พ.ศ. 2558 ที่ผ่านมานั้น พบว่าในพื้นที่เขตรวนอุทยานภูเขาไฟกระโดงมีเนื้อที่ประมาณ 1,450 ไร่ ซึ่งนอกจากมีสภาพเป็นวนอุทยานแล้ว พื้นที่ดังกล่าวได้ถูกประกาศให้เป็นเขตห้ามล่าสัตว์ป่าเขากระโดงและพื้นที่ป่าถาวรของชาติ โดยปัจจุบันสภาพพื้นที่ส่วนใหญ่เป็นที่ราบสูงและเนินเขา สภาพป่าเป็นป่าแดงหรือป่าเต็งรัง มีเนินเขาขนาดเล็ก 2 ลูกติดกัน สูงจากพื้นที่โดยรอบประมาณ 60 เมตร เนินเขาด้านทิศใต้ เรียกว่า “เขาใหญ่” ส่วนเนินเขาด้านทิศเหนือ เรียกว่า “เขากระโดง” และเนื่องจากในบริเวณนั้นตั้งอยู่ใกล้แหล่งน้ำจึงค่อนข้างเป็นป่าที่อุดมสมบูรณ์ ชาวบ้านจึงได้ใช้ประโยชน์จากผืนป่านี้ไม่ว่าจะเป็นของป่าหรือยาสมุนไพร โดยเฉพาะเห็ดที่พบกระจายไปทั่วพื้นที่ ซึ่งชาวบ้านในพื้นที่โดยรอบได้ใช้ประโยชน์ ทั้งในด้านอาหารและการประกอบอาชีพเสริมรายได้เป็นอย่างดีเป็นกอบเป็นกำ โดยส่วนใหญ่แล้วพบว่าชาวบ้านมีการเข้าเก็บเห็ดพื้นบ้านเพื่อนำไปเป็นอาหารและจำหน่ายในช่วงฤดูฝน เห็ดพื้นบ้านจึงมีความเกี่ยวข้องกับวิถีชีวิตและความเป็นอยู่ของชาวบ้านอย่างยิ่ง อีกทั้งเห็ดเป็นเชื้อราที่มีประโยชน์ทั้งในทางตรงและทางอ้อมต่อมนุษย์ (Saensuk, 2017)

เห็ดเผาะ หรือ เห็ดถอบ (*Astraeus hygrometricus*) เป็นเห็ดราชนิดหนึ่งในวงศ์ Diplocystaceae ดอกเห็ดอ่อนมีรูปร่างกลม ผิวเรียบสีขาวหรือมีรอยเปื้อนดิน ผิวด้านนอกของเห็ดเผาะจะเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาลอ่อนจนไปเป็นสีน้ำตาลแก่ มีเนื้อเหนียวและแข็งขึ้น เห็ดเผาะมีเปลือก 2 ชั้น เปลือกชั้นนอกประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 2-3 ชั้นติดกัน หนาประมาณ 1-3 มิลลิเมตร เห็ดเผาะเป็นไมคอร์ไรซาที่เติบโตร่วมกับต้นไม้หลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในดินร่วนปนทราย เห็ดเผาะเป็นเห็ดเศรษฐกิจพื้นเมืองของไทยที่มีผู้นิยมบริโภคกันมากเนื่องจากมีเนื้อสัมผัสที่ดี โดยเฉพาะในเขตรวนอุทยานภูเขาไฟกระโดง อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์นั้นมีราคาที่สูง อีกทั้งยังมีรสชาติที่ดีกว่าเห็ดเผาะในบริเวณอื่น เนื่องจากเห็ดเผาะที่ขึ้นบริเวณนี้เป็นเห็ดเผาะที่เจริญในเขตพื้นที่ดินภูเขาไฟที่มีความอุดมสมบูรณ์ของพืชชนิดต่าง ๆ รวมทั้งไม้วงศ์ ไม้ยาง เช่น ยางนา เต็ง รัง และ เหียง เป็นต้น ที่มักจะเป็นบริเวณที่พบเห็ดเผาะเจริญอยู่ค่อนข้างมากเส้นใยส่วนใหญ่ของเห็ดเผาะเจริญบริเวณรอบปลายรากพืช ช่วยย่อยสลาย

อินทรีย์วัตถุให้อยู่ในสภาพที่รากพืชดูดซึมน้ำไปใช้ง่ายทำให้พืชมีอัตราการเจริญสูงขึ้น ทนแล้งและต้านทานโรคมากขึ้น ส่วนเห็ดได้รับวิตามิน กรดอะมิโนและฮอร์โมนจากรากพืช (Srikitikulchai et al., 2017)

หากแต่ปัจจุบันนี้พบว่าจำนวนป่าไม้ได้ลดลงและมีการบุกรุกทำลายป่ามากขึ้น จึงก่อให้เกิดผลเสียต่อระบบนิเวศของสิ่งมีชีวิตที่เจริญในป่าเหล่านี้ และเห็ดเหาะก็เป็นสิ่งมีชีวิตที่ได้รับผลกระทบโดยตรงจากปัญหาเหล่านี้ด้วย จากการสำรวจความหลากหลายของเห็ดป่าในเขตนอุทยานภูเขไฟกระโดงตั้งแต่ปี พ.ศ. 2557-2559 พบว่าปริมาณของเห็ดป่าโดยเฉพาะเห็ดเหาะมีปริมาณลดลงเรื่อย ๆ และมีราคาแพงขึ้นทุกปี (Saensuk, 2017) เนื่องจากอาหารเป็นปัจจัยที่สำคัญของมนุษย์ ซึ่งถือเป็นความมั่นคงอย่างหนึ่งที่แต่ละท้องถิ่นแต่ละพื้นที่จำเป็นต้องมีความมั่นคง ในแง่ทางโภชนาการนั้นถือว่าเห็ดเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยมีปริมาณโปรตีน เกลือแร่ และเส้นใยสูง แต่มีไขมันอยู่ในระดับต่ำ นอกจากนี้เห็ดป่าที่บริโภคได้ยังเป็นแหล่งอาหารและสร้างรายได้ของประชาชนในท้องถิ่นได้เป็นอย่างดี ผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการศึกษาการเจริญของเส้นใยเห็ดเหาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อและอาหารเลี้ยงเชื้อประยุกต์ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งจะทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดเหาะในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อเป็นการพัฒนาการกระตุ้นการสร้างเส้นใยในห้องปฏิบัติการเพื่อนำไปเพาะเลี้ยงและส่งกลับคืนสู่ธรรมชาติและเป็นแหล่งสร้างอาหารและสร้างรายได้ของคนในชุมชน เพื่อให้คนในชุมชนนั้นสามารถพึ่งตนเองและอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติสืบไป

## วิธีดำเนินการวิจัย

### 1. การศึกษาข้อมูลเบื้องต้น

ผู้วิจัยทำการศึกษาริบทของชุมชนโดยรอบเขตพื้นที่วนอุทยานภูเขไฟกระโดง ตำบลเสม็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ โดยศึกษาข้อมูลหัตถิยภูมิและการสัมภาษณ์ประชาชนในชุมชน เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการกำหนดจุดสำรวจความหลากหลายของชนิดเห็ดป่า ศึกษาเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับความหลากหลายทางชีวภาพของเห็ด และอนุกรมวิธานของเห็ดจากคู่มือการจำแนกเห็ด

### 2. การทดสอบการเจริญของเส้นใยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

การแยกเส้นใยเห็ดเหาะที่เก็บตัวอย่างจากเขตนอุทยานภูเขไฟกระโดง ตำบลเสม็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ เริ่มจากทำความสะอาดโดยปิดเศษดินที่ติดมากับดอกเห็ดออก จากนั้นตัดขึ้นเนื้อเยื่อด้านในของหมวกเห็ดออกเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาดประมาณ 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วใช้เข็มเขี่ยเชื้อย้ายขึ้นเนื้อเยื่อวางบนอาหารวุ้นแข็ง Potato Dextrose Agar (PDA) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ  $30\pm 2^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 14 วัน จนได้เส้นใย และเก็บรักษาเส้นใยบริสุทธิ์ในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อเพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

จากนั้นจะละลายเส้นใยเห็ดเหาะที่บ่มที่อุณหภูมิ  $30\pm 2^{\circ}\text{C}$  เป็นระยะเวลา 14 วัน ด้วยปลายหลอดหยดสาร (pasture pipette) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.50 เซนติเมตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ววางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด ที่ทำการศึกษา ได้แก่ Potato Dextrose Agar (PDA), Malt Extract Agar (MEA), Potato Dextrose Agar modified+2% volcano's soil (PDA+2%S) และ Cassava Dextrose Agar (CDA) อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการใช้มันสำปะหลังแทนมันฝรั่ง แต่ละชุดการทดลองทำ 3 ซ้ำ จากนั้นศึกษาการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดเหาะด้วยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (colony diameter) ทุก 3 และ 7 วัน แล้วทำการเปรียบเทียบอัตราการสร้างเส้นใยเห็ดเหาะในอาหารแต่ละชนิดเพื่อนำมาใช้ในการทดลองต่อไป

### 3. การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างเส้นใยของเห็ดเผาะ

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดพร้อมควบคุมปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ ค่า pH (pH 4, 7, 9, 12) อุณหภูมิในการบ่ม (25, 30, 37°C) และแสงสว่าง 500 ลักซ์ จากนั้นนำชิ้นส่วนเห็ดแต่ละส่วนวางลงตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วบ่มเชื้อเพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีด้วยเวอร์เนียร์ทุก 3 และ 7 วัน แล้วทำการเปรียบเทียบอัตราการสร้างเส้นใยเห็ดที่บ้านแต่ละชนิดจากแต่ละส่วนของเห็ด

### 4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

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

## ผลการวิจัย

วนอุทยานภูเขาไฟกระโดง มีสภาพพื้นที่ส่วนใหญ่เป็นที่ราบสูงและเนินเขา สภาพป่าเป็นป่าแดง หรือป่าเต็งรัง มีเนินเขาขนาดเล็ก 2 ลูกติดกัน สูงจากพื้นที่โดยรอบประมาณ 60 เมตร เนินทางทิศใต้เรียกว่า เขาใหญ่ ส่วนเนินทางทิศเหนือเรียกว่า เขาระโดง ซึ่งเนินเขาทั้งสองนี้เกิดจากการทับถมของเศษหินภูเขาไฟที่พ่นปะทุออกมาทางทิศตะวันออกและตะวันตก มีลักษณะเกือบเป็นที่ราบไม่เห็นร่องรอยชัดเจน รอบ ๆ เนินเขาเป็นเนินธรรลวาว ดังภาพที่ 1A (Figure 1A) ซึ่งเป็นพืดหิน จากการสำรวจความหนาของชั้นลาวาจากการระเบิดของเหมืองหิน พบว่ามีความหนามากกว่า 20 เมตร และแผ่กระจายไปทางทิศตะวันออกเฉียงเหนือของยอดเขามากกว่าทางทิศทางอื่น จากการสำรวจแหล่งที่พบเห็ดป่าที่นำมาเพาะเส้นใยในห้องปฏิบัติการนั้น พบว่าเห็ดส่วนใหญ่จะพบในพื้นที่ป่าเต็งรัง หรือป่าผสมผลัดใบผสมเต็งรัง

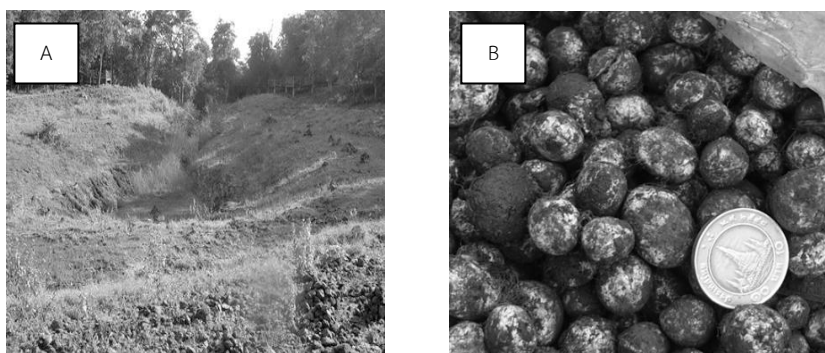
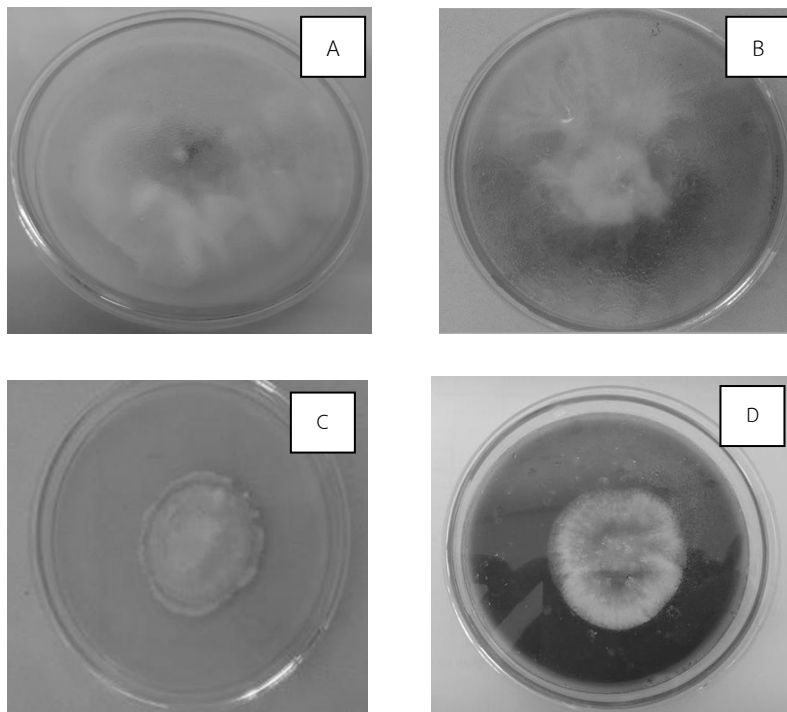


Figure 1 A) sampling sites at Khao Kra-dong Volcano Forest Park  
B) specimens of *Astraeus* sp.

จากการแยกเส้นใยจากเห็ดเผาะ (*Astraeus* sp.) มีลักษณะที่ดังภาพที่ 1B (Figure 1B) สามารถได้ในบริเวณเขตนวนอุทยานภูเขาไฟกระโดง โดยการใช้อาหาร PDA และบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ  $30 \pm 2^\circ\text{C}$  เป็นระยะเวลา 7-20 วัน จากผลการทดลองพบว่าสามารถแยกเส้นใยบริสุทธิ์ของเห็ดเผาะ ได้จำนวน 3 ไอโซเลต ดังนี้ *Astraeus* KKV01, *Astraeus* KKV04 และ *Astraeus* KKV05 โดยพบว่าลักษณะของโคโลนีมีการสร้างเส้นใยสีเหลืองถึงสีเหลืองอมส้ม หรือสีขาวถึงสีเหลืองอ่อน และเส้นใยมีการเจริญได้ช้า จากผล

การศึกษาการเจริญของเส้นใยเห็ดเผาะ *Astraeus* KKV01, *Astraeus* KKV04 และ *Astraeus* KKV05 บนอาหารแข็งเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการสภาวะปลอดเชื้อ โดยวัดจากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี หลังจากที่มีการบ่มเป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญของเห็ดเผาะทั้ง 3 ไอโซเลต ได้แก่ อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยการเจริญของเห็ดเผาะที่ดีที่สุดคือไอโซเลต *Astraeus* KKV01, *Astraeus* KKV04 และ *Astraeus* KKV05 ตามลำดับ โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย  $85.67 \pm 2.08$ ,  $83.33 \pm 2.08$  และ  $80.00 \pm 1.00$  มิลลิเมตร ตามลำดับ รองลงมาได้แก่อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA+2% volcano soil ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย  $74.33 \pm 1.53$ ,  $73.00 \pm 2.65$  และ  $67.33 \pm 1.53$  มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังตารางที่ 1 (Table 1) โดยในดินภูเขาไฟนั้นพบว่ามีความโปร่งพรุน และยังมีซิลิกา ซิลิกอน ที่ละลายน้ำได้มีประโยชน์อย่างยิ่งกับพืช รวมทั้งเห็ดด้วย ดินภูเขาสามารถเพิ่มผลผลิตเห็ดได้โดยผสมในขี้เลื่อยหรือวัสดุเพาะแทนการใส่ขี้ปขี้มและปุ๋ยขี้วัว นำไปเพาะเห็ดตามปกติทำให้ผลผลิตเห็ดเพิ่มขึ้นทั้งปริมาณและคุณภาพ อีกทั้งเห็ดเผาะตัวอย่างที่นำมาทำการวิจัยในครั้งนี้เป็นเห็ดเผาะที่เก็บตัวอย่างจากพื้นที่วนอุทยานภูเขาไฟกระโดงที่เป็นบริเวณของดินภูเขาไฟ เส้นใยเห็ดเผาะที่เพาะเลี้ยงลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่าง ๆ มีลักษณะโคโลนีและความหนาแน่นของเส้นใยที่แตกต่างกัน ดังแสดงในภาพที่ 2 (Figure 2) โดยการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ จะมีลักษณะโคโลนีสีขาวถึงสีครีม และในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีการเจริญของเส้นใยหนาแน่นที่สุด



**Figure 2** Colony diameter of *Astraeus* KKV01 on different culture media at 30°C after 7 days of inoculation. A) PDA B) PDA+2%S C) CDA and D) MEA

**Table 1** Effect of different culture media on mycelial growth of *Astraeus* sp. three isolates of at  $30\pm 2$  °C after 14 days of inoculation.

Mushroom isolates	Mycelial growth (Colony diameter (mm))			
	PDA	CDA	PDA+2%S	MEA
<i>Astraeus</i> KKV01	85.67±2.08 <sup>a</sup>	63.33±1.53 <sup>c</sup>	74.33±1.53 <sup>b</sup>	75.67±3.51 <sup>b</sup>
<i>Astraeus</i> KKV04	83.33±2.08 <sup>a</sup>	62.33±1.54 <sup>c</sup>	73.00±2.65 <sup>b</sup>	72.33±3.51 <sup>b</sup>
<i>Astraeus</i> KKV05	80.00±1.00 <sup>a</sup>	62.00±2.65 <sup>c</sup>	67.33±1.53 <sup>b</sup>	71.00±1.00 <sup>b</sup>

**Remark** Within a column, followed by the same letter are not significantly different at  $p = 0.05$  by ANOVA's test.

จากนั้นได้ทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดเผาะทั้ง 3 ไอโซเลต โดยทำการศึกษาระดับอุณหภูมิมีผลต่อการเจริญของเส้นใยโดยใช้อุณหภูมิในการบ่มเส้นใยเป็น 25, 30 และ 37°C เป็นระยะเวลาในการบ่ม 14 วัน จากนั้นทำการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยพบว่า เส้นใยของเห็ดเผาะทั้ง 3 ไอโซเลตเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 30°C รองลงมาคือ 25°C โดย *Astraeus* KKV01 มีการเจริญที่ดีที่สุด รองลงมาคือ *Astraeus* KKV04 และ *Astraeus* KKV05 ตามลำดับ เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยที่อุณหภูมิ 30°C คือ  $85.67\pm 2.08$ ,  $83.33\pm 2.52$  และ  $80.00\pm 1.00$  mm. จึงได้มีการนำอุณหภูมิ 30°C มาใช้ในการบ่มเส้นใยเห็ดเผาะต่อไป ดังตารางที่ 2 (Table 2)

ปัจจัยที่สำคัญต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อราจากเห็ดเผาะ คือค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดเผาะที่เก็บตัวอย่างจากวนอุทยานภูเขาดงพญาเย็นคือ pH 7 รองลงมาคือค่า pH 4, 9 และ 12 ตามลำดับ โดย *Astraeus* KKV01 มีการเจริญของเส้นใยดีที่สุดคือ มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเท่ากับ  $85.67\pm 1.16$ ,  $66.00\pm 3.00$ ,  $45.67\pm 1.53$  และ  $36.67\pm 1.16$  มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีสภาพ pH ใกล้เคียงกับสภาพ pH ของดินในธรรมชาติที่มีความเป็นกรดอ่อนถึงเป็นกลาง ดังตารางที่ 3 (Table 3)

**Table 2** Mycelial growth of three isolates of *Astraeus* sp. at different temperatures after 14 days of inoculation.

Mushroom isolates	Mycelial growth (Colony diameter (mm))		
	25°C	30°C	37°C
<i>Astraeus</i> KKV01	66.00±3.00 <sup>b</sup>	85.67±2.08 <sup>a</sup>	48.00±1.00 <sup>c</sup>
<i>Astraeus</i> KKV04	60.33±0.58 <sup>b</sup>	83.33±2.52 <sup>a</sup>	33.67±2.08 <sup>c</sup>
<i>Astraeus</i> KKV05	67.00±2.00 <sup>b</sup>	80.00±1.00 <sup>a</sup>	35.00±2.65 <sup>c</sup>

**Remark** Within a column, followed by the same letter are not significantly different at  $p = 0.05$  by ANOVA's test.

**Table 3** Mycelial growth of three isolates of *Astraeus* sp. at different pH value on medium at 30°C after 7 days of inoculation

Mushroom isolates	Mycelial growth (Colony diameter (mm))			
	pH 4	pH 7	pH 9	pH 12
<i>Astraeus</i> KKV01	52.33±0.58 <sup>b</sup>	85.67±1.16 <sup>a</sup>	45.67±1.53 <sup>c</sup>	36.67±1.16 <sup>d</sup>
<i>Astraeus</i> KKV04	53.67±1.53 <sup>b</sup>	83.33±2.51 <sup>a</sup>	42.33±1.16 <sup>a</sup>	33.67±0.58 <sup>d</sup>
<i>Astraeus</i> KKV05	55.00±1.00 <sup>b</sup>	80.00±1.00 <sup>a</sup>	45.67±1.56 <sup>a</sup>	37.67±1.53 <sup>d</sup>

**Remark** Within a column, followed by the same letter are not significantly different at  $p = 0.05$  by ANOVA's test.

### อภิปรายผล

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างเห็ดเหาะในเขตวนอุทยานภูเขาไฟกระโดงในช่วงเดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2559 ถึง พฤษภาคม พ.ศ. 2560 พบว่ามีแนวโน้มนลดลงกว่าปีที่ผ่านมาเนื่องจาก ปัจจุบันป่าไม้ถูกบุกรุกเป็นพื้นที่ทำกินมากขึ้น มีตัวอย่างเห็ดเหาะจำนวน 8 ไอโซเลต และมีจำนวน 3 ไอโซเลต ที่สามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการคือ *Astraeus* KKV01, *Astraeus* KKV04 และ *Astraeus* KKV05 จากการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดเหาะในสภาพปลอดเชื้อในระดับห้องปฏิบัติการนั้นพบว่าสามารถแยกเส้นใยเห็ดเหาะ (*Astraeus* sp.) จากธรรมชาติ ให้ได้เส้นใยบริสุทธิ์บนอาหารแข็งได้ โดยอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดเหาะคือ อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA+2% volcano soil ที่มีการเติมดินภูเขาไฟ ซึ่งช่วย กระตุ้นการเจริญของเส้นใยเห็ดเหาะได้รองลงมา ซึ่งมีความแตกต่างของเส้นใยที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ สูตรต่าง ๆ นั้นไม่ทำให้สีอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการ เจริญของเส้นใยเห็ดเหาะที่มีการวางขายในตลาดแมร์ม อ.แมร์ม จ.เชียงใหม่ โดยพบว่าเส้นใยเห็ดเหาะ เจริญได้ดีในอาหารวุ้นแข็ง สูตร Modified Melin Norkans Agar (MMN) และ Malt Extract Agar (MEA) มีการเจริญของเส้นใยได้ดีที่สุด รองลงมาได้แก่ อาหารสูตร Hagem, Gamborg และ PDA (Hanmoungjai, 2014)

การเจริญของเส้นใยของเห็ดเหาะในการทดลองนี้มีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใย เห็ดเหาะ คือ 25 และ 30°C สอดคล้องกับการศึกษาของ Hanmoungjai (2014) ที่พบว่าอุณหภูมิที่ เหมาะสมในการเจริญของเส้นใยอยู่ในช่วง 25-30°C อีกทั้งเห็ดเหาะนี้ถูกจัดอยู่ในกลุ่มราไมคอร์ไรซานั้น อุณหภูมิเป็นสภาพแวดล้อมที่มีความสำคัญยิ่งในการเจริญ และการปรับตัวให้อยู่รอดของราไมคอร์ไรซา ราเอคโตไมคอร์ไรซาแต่ละชนิดแต่ละสายพันธุ์เจริญในช่วงอุณหภูมิแตกต่างกันออกไป (Hacskeylo et al., 1965) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของราเอคโตไมคอร์ไรซาส่วนใหญ่อยู่ระหว่าง 18-27°C เนื่องจากมีอุณหภูมิและความชื้นที่เหมาะสมต่อการเจริญในระยะการเจริญของเส้นใย โดยสามารถพบ เห็ดเหาะได้ตั้งแต่ช่วงปลายฤดูร้อนถึงต้นฤดูฝน ในช่วงเดือนเมษายนจนถึงเดือนมิถุนายนของแต่ละปีได้ โดยอุณหภูมิผิวดินเฉลี่ย 27°C อุณหภูมิใต้ดินเฉลี่ย 25°C (Hacskeylo et al., 1965; Sanmee et al., 2010) ซึ่งจากการศึกษาของ Sanmee et al. (2010) ที่พบว่าที่อุณหภูมิ 37°C เส้นใยเห็ดเหาะสามารถ เจริญได้ดีเช่นเดียวกับการเจริญที่อุณหภูมิ 30°C

อีกทั้งปัจจัยในด้านความเป็นกรด-ด่างก็มีผลต่อการเจริญของเส้นใย โดยส่วนใหญ่เชื้อราเจริญได้ดีที่ระดับ pH 5-6 (Sanmee et al. 2010; Yamanaka, 2003) ในสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ที่ราเอคโตไมคอร์ไรซาเจริญอยู่ได้นั้น จะมีความเป็นกรด-ด่างแตกต่างกันไปอย่างมาก ความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในการเจริญของราเอคโตไมคอร์ไรซาส่วนใหญ่ อยู่ระหว่าง 4.5 - 5.5 (Hung & Trappe, 1983) ราเอคโตไมคอร์ไรซาแต่ละชนิด หรือต่างสายพันธุ์ จะมีความสามารถเจริญในสภาวะที่มีความเป็นกรด-ด่างแตกต่างกันด้วย Hanmoungjai (2014) พบว่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดเหาะ *A. hygrometricus* Morgan โดยวัดจากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยนั้น พบว่ามีการเจริญของเส้นใยบนอาหาร PDA, MMN ในทุก pH 5, 6, 7 และ 8 และอาหาร MEA ที่ pH 5 และ 6 และบนอาหาร Hagem และ Gamborg ที่ pH 6 ให้การเจริญของเส้นใยดีที่สุด ซึ่งให้ค่าทางสถิติไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) (Hung & Trappe, 1983) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ ส่วนระดับ pH พบว่าอาหารซึ่งส่วนใหญ่มีการเจริญของเส้นใยดีที่สุดที่ pH 4 และ pH 7 และสอดคล้องกับการศึกษาของ Garraway & Evans ที่พบว่าเชื้อรา *Dendryphiella salina* เจริญได้ดีที่ pH 4-6 ส่วนเชื้อรา *Cladosporium herbarium* เจริญได้ดีที่ pH 5-6 (Garraway & Evans, 1984) การศึกษาในครั้งนี้เป็นจุดเริ่มต้นในการพัฒนาและขยายหัวเชื้อเห็ดเหาะให้กลับคืนสู่ธรรมชาติได้มากขึ้นและยั่งยืน เพื่อคืนความอุดมสมบูรณ์ให้กับผืนป่าวนอุทยานภูเขาไฟกระโดงและช่วยเหลือชาวบ้านในการดำรงชีวิตด้วยการพึ่งตนเองอย่างยั่งยืนต่อไป

#### สรุปผลการวิจัย

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดเหาะในห้องปฏิบัติการ จำนวน 3 ไอโซเลต คือ *Astraeus* KKV01, *Astraeus* KKV04 และ *Astraeus* KKV05 นั้นคืออาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextose Agar (PDA) รองลงมาคืออาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextose Agar modified+2% volcano's soil (PDA+2%S) และสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยคือที่อุณหภูมิ 25-30°C ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ pH 4-7 โดยมีค่าเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย  $85.67 \pm 2.08$ ,  $83.33 \pm 2.08$  และ  $80.00 \pm 1.00$  มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งการศึกษาในครั้งนี้เป็นจุดเริ่มต้นในการพัฒนาและขยายหัวเชื้อเห็ดเหาะให้กลับคืนสู่ธรรมชาติได้มากขึ้นและยั่งยืน เพื่อคืนความอุดมสมบูรณ์ให้กับผืนป่าวนอุทยานภูเขาไฟกระโดงและช่วยเหลือชาวบ้านในการดำรงชีวิตด้วยการพึ่งตนเองอย่างยั่งยืนต่อไป

#### กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ปี 2560 สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ที่ได้สนับสนุนทุนในการศึกษาครั้งนี้ อีกทั้งขอขอบคุณสาขาวิชาชีววิทยา สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ ศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ และมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ที่สนับสนุนอุปกรณ์และเครื่องมือในการทำวิจัยในครั้งนี้

#### เอกสารอ้างอิง

Garraway M, Evans R. *Fungal Nutrition and Physiology*. Ohio: A Wiley-Interscience Publication, 1984.  
Hacskeylo E, Palmer G, Vozzo JA. Effect of temperature on growth and respiration of ectotrophic mycorrhizal fungi, *Mycologia*. 1965; 57: 748-756.



- Hanmoungjai W. Factors Affecting on the growth of mycelium Hed-Pho (*astreaus hygrometricus morgan*) on agar medium and cereal grain medium, *Naresuan University Journal: Science and Technology*. 2014; 22(3): 93-101.
- Harley JL, Smith SE. *Mycorrhizal Symbiosis*. London: Academic Press; 1983, 483.
- Hung LL, Trappe JM. Growth variation between and within species of ectomycorrhizal fungi in response to pH in vitro, *Mycologia*. 1983; 75(2): 234-241.
- Ride JP, Drysdale RB. A rapid method for the chemical estimation of filamentous fungi in plant tissue, *Journal of Plant Physiology*. 1972; 2: 7-15.
- Saensuk T. Local wisdom and biodiversity on mushrooms folk at the Khao Kra-dong Volcano Forest Park on Samed Sub District, Muang District, Buriram Province, *KKU Science Journal*. 2017; 45(2): 343-353.
- Sanmee R, Lumyong P, Dell B. et al. In vitro cultivation and fruit body formation of the black bolete, *phlebopus portentosus*, A popular edible ecto-mycorrhizal fungus in Thailand. *Mycoscience*, 2010; 51: 15-22.
- Srikitikulchai P, Wongkanoun S, Sommai S. *Nutritional influences on mycelium growth of Astraeus in laboratory*. Proceedings of the 4<sup>th</sup> Science and Emerging Technology for Biodiversity Management; 2017, 184-185.
- Yamanaka, T. The effect of pH on the growth of saprotrophic and ectomycorrhizal ammonia fungi in vitro, *Mycologia*. 2003; 95: 584-589.