การเพาะเลี้ยงเห็ดเอคโตไมคอร์ไรซ่าชนิดกินได้ในกล้าไม้โตเร็ว

PRODUCTION OF EDIBLE ECTOMYCORRHIZAL SEEDLINGS IN FAST GROWING SPECIES

นัยนา ทองเจียม[1] **(NAIYANA THONGJIEM)**
อินทิรา พันธาสุ[2] **(INTHIRA PANTHASU)**
ปิติ กาลธิยานันท์[2] **(PITI KALTHIYANANT)**
พจนีย์ ยิ่งคุ้ม[3] **(PHOJJANEE YINGKUM)**
น้ำตาล คุ้มตะโก[4] **(NUMTAN KUMTAGO)**

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงเห็ดขมิ้น เห็ดตับเต่า เห็ดเผาะ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ modified PDA และ Fries das medium พบว่า ในอาหาร modified PDA เส้นใยเห็ดขมิ้นเจริญเต็มอาหารในจานเลี้ยงเชื้อขนาด 9 เซนติเมตร ในระยะเวลา 15-20 วัน แต่เจริญไม่เต็มจานเลี้ยงเชื้อบนอาหาร Fries Das medium ส่วนเห็ดตับเต่าและเห็ดเผาะเจริญเต็มอาหาร modified PDA ในจานเลี้ยงเชื้อขนาด 9 เซนติเมตร ในระยะเวลา 30 วันและ 30-35 วันตามลำดับ สำหรับการใส่เชื้อเห็ดตับเต่า เห็ดเผาะในกล้าไม้กระถินเทพาและการใส่เชื้อเห็ดขมิ้นในกล้าไม้ไผ่ป่า ไผ่รวก ไผ่ซางนวล อายุ 1 เดือน โดยใช้เส้นใยและสปอร์ พบว่า เมื่อครบ 4 เดือนทั้งกระถินเทพาและไผ่มีการเจริญเติบโตดีกว่าการไม่ใส่เชื้อเห็ด แต่ไม่พบการฟอร์มไมคอร์ไรซ่าในรากกระถินเทพาและรากไผ่

คำหลัก: // เอคโตไมคอร์ไรซ่า // กล้าไม้โตเร็ว // การเพาะเลี้ยงเชื้อ // การใส่เชื้อ

[1] นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการพิเศษ สำนักวิจัยและพัฒนาการป่าไม้ กรมป่าไม้ กรุงเทพมหานคร
[2] นักวิทยาศาสตร์ปฏิบัติการ สำนักวิจัยและพัฒนาการป่าไม้ กรมป่าไม้ กรุงเทพมหานคร
[3] นักวิทยาศาสตร์ สำนักวิจัยและพัฒนาการป่าไม้ กรมป่าไม้ กรุงเทพมหานคร
[4] ผู้ช่วยนักวิจัย สำนักวิจัยและพัฒนาการป่าไม้ กรมป่าไม้ กรุงเทพมหานคร

ABSTRACT

Mycelial cultivation of ectomycorrhizal mushrooms, Cantharellus Phaeogyroporus and Astraeus, in modified PDA and Fries das medium showed the ECM species grew well in modified PDA. Cantharellus colonized media in 9 cm. petridish in 15-20 days whereas Phaeogyroporus and Astraeus colonized media in 30 days and 30-35 days respectively. After 4 months, the spore and mycelial inoculation of these ECM fungi in 1 month-old *Acacia mangium* seedlings and bamboo seedlings, *Bambusa bambos Thyrsostachys siamensis Dendrocalamus membranaceus*, resulted that the inoculation improved the seedlings growth. Formation of mycorrhizal roots were not found.

Keywords: // ectomycorrhiza // fast growing species // mycelial cultivation // inoculation

คำนำ

พื้นที่ป่าในประเทศไทยจากการวัดโดยใช้ภาพถ่ายดาวเทียม Landsat 5 ซึ่งถ่ายทุกๆ 16 วัน ด้วย resolution 30 เมตร พบว่าปัจจุบันเหลืออยู่เพียง 33.8% คิดเป็นพื้นที่ 108 ล้านไร่และตามสถิติการสำรวจในปี 2544 พบว่ามีคนอยู่ในพื้นที่ป่าไม้ ซึ่งไม่ถูกต้องตามกฎหมายประมาณ 500,000 ครอบครัว พื้นที่ประมาณ 8 ล้านไร่ รวมทั้งข้อมูลของกรมการปกครองที่สำรวจจัดทำประวัติชุมชนบนพื้นที่สูง ในปี 2542 พบว่ามี จำนวน 873,713 คน และเป็นผู้ที่ไม่มีบัตรประชาชนจำนวน 377,468 คน มีการใช้ที่ดินในเขตป่าประมาณ 3 ล้านไร่ ทำให้เกิดปัญหาบุกรุกที่ดินการทำลายป่าไม้ในเขตต้นน้ำลำธารเป็นอย่างมาก กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมจึงมีนโยบายเพิ่มพื้นที่สีเขียวด้วยการปลูกป่าและยกระดับความมั่นคงทางด้านอาหารและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากป่า เพื่อเป็นแรงจูงใจให้เห็นว่าคนกับป่าสามารถอยู่ร่วมกันได้แบบกลมกลืนโดยส่งผลกระทบต่อธรรมชาตินิ้อยที่สุด ปัจจุบันการปลูกป่านั้นอาจปลูกเป็นพื้นที่ใหญ่ใช้ไม้ชนิดเดียวหรือปลูกแบบผสมผสานใช้ไม้หลายชนิดหรือปลูกแบบวนเกษตรเพื่อจัดการป่าไม้ให้ใช้ประโยชน์ร่วมกับกิจกรรมทางการเกษตร รวมทั้งการปลูกไม้โตเร็ว เช่น ยูคาลิปตัส กระถินเทพา กระถินยักษ์ เพื่อเป็นพลังงานชีวมวลแต่ระบบการปลูกป่ามักมีปัญหาเรื่องพันธุ์ไม้ขาดคุณภาพ อ่อนแอต่อโรคและแมลงก่อให้เกิดความเสียหายต่อผู้ลงทุนปลูกป่าเป็นอย่างมาก นักวิจัยได้พยายามที่จะผลิตต้นไม้ให้มีคุณภาพดี โดยนำเอาเห็ดเอคโตไมคอร์ไรซ่ามาใส่ในกล้าไม้

เห็ดเอคโตไมคอร์ไรซ่าเป็นเห็ดช่วยในการเจริญเติบโตของต้นไม้โดยดูดซึมธาตุอาหารให้แก่ต้นไม้และช่วยให้รากไม้ทนทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อราอื่นๆในดิน จึงมีความสำคัญต่อการสร้างสวนป่าและป่าชุมชน ในออสเตรเลียและจีนมีการใช้สปอร์ของเห็ดเอคโตไมคอร์ไรซ่านิด Laccaria และ Scleroderma สเปรย์ลงแปลงปลูกกล้าไม้ยูคาลิปตัสเพื่อผลิตกล้าไม้ที่มีคุณภาพดี(Brundrett et al., 2005) เทคโนโลยีนี้ได้พัฒนาถึงขั้นผลิตเอคโตไมคอร์ไรซ่าในรูปเม็ดหรือแคปซูลเพื่อหว่านลงในกล้าไม้ (Kuek et al., 1992) ในประเทศไทยเห็ดเอคโตไมคอร์ไรซ่าหลายชนิดเป็นพืชอาหารที่ประชาชนในท้องถิ่นนิยมบริโภคเช่นเห็ดในสกุล Russulaceae Cantharellus Boletus และ Amanita ส่วนที่เหลือจากการบริโภคนำมาขายในตลาดภายในชุมชนและตลาดริมทาง รวมทั้งตลาดเมืองเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มเพื่อเป็นรายได้เสริมของชุมชน ทำให้ชุมชนเห็นประโยชน์จากทรัพยากรป่าไม้ที่มีอยู่ ประกอบกับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปในปัจจุบันทำให้เห็ดเอคโตไมคอร์ไรซ่าหลายชนิดลดจำนวนลง ดังนั้น

จึงมีความจำเป็นเร่งด่วนที่จะต้องทำการผลิตกล้าเอคโตไมคอร์ไรซ่าชนิดกินได้เพื่อนำไปลงในแปลงปลูกโดยเฉพาะกล้าไม้โตเร็วเช่น กระถินเทพาและไม้ไผ่ ไม้สกุลกระถินสามารถปลูกได้ดีในพื้นที่ดินเลวและในสภาพพื้นที่ลาดชันที่มีการชะล้างของดินรวมทั้งเหมืองเก่า ช่วยในการปรับปรุงดินโดยตรึงไนโตรเจนจากดินมาให้พืชใช้ประโยชน์ได้ดี พืชทั้ง 2 ชนิดยังนำมาใช้ในอุตสาหกรรมเยื่อกระดาษ การก่อสร้าง การทำฟืน ถ่านและเฟอร์นิเจอร์ (มินตรา, 2553) ผลพลอยได้จากการปลูกสวนป่านี้คือการผลิตเห็ดกินได้ การศึกษาการเจริญเติบโตของกล้าไม้โตเร็วและการฟอร์มไมคอร์ไรซ่าของเห็ดเอคโตไมคอร์ไรซ่าชนิดกินได้ในกล้าไม้จึงมีบทบาทสำคัญต่อการปลูกป่าของประเทศไทยในอนาคต

วิธีการศึกษา

1. เก็บตัวอย่างเห็ดคือเห็ดขมิ้น เห็ดตับเต่า และเห็ดเผาะ จากภาคเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือมาทำการเลี้ยงเชื้อบริสุทธิ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified PDA และ Fries Das medium

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเห็ด

สูตรอาหาร Modified PDA:

มันฝรั่ง	200	กรัม
Dextrose	20	กรัม
วุ้นผง	20	กรัม
Malt extract	2	กรัม
น้ำ	1,000	มิลลิลิตร

<u>วิธีทำ</u>

1. ล้างมันฝรั่งที่ปอกเปลือกแล้วให้สะอาด นำมาตัดออกเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาดเท่าลูกเต๋า
2. ต้มมันฝรั่งกับน้ำ 1,000 มิลลิลิตร จนมันฝรั่งสุก
3. นำมากรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อเอาเนื้อมันฝรั่งออก
4. เติม dextrose และ Malt extract ในน้ำต้มมันฝรั่ง คนให้เข้ากัน
5. ใส่วุ้นผงลงไป ต้มจนวุ้นละลาย
6. คนส่วนผสมให้เข้ากัน เติมน้ำในอาหารจนมีปริมาตรครบ 1,000 มล.
7. บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อลงใน flask หรือหลอดเลี้ยงเชื้อ โดยให้มีปริมาตรไม่เกิน 2 ใน 3 ของภาชนะ อุดด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยอลูมิเนียมฟอยล์
8. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121° C นาน 20 นาที
9. นำอาหารที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ แล้วมาเทลงจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ให้มีปริมาตร 20 มล.ต่อจานเลี้ยงเชื้อ โดยทำในสภาพปลอดเชื้อ

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Fries Das Medium

สูตรอาหาร Fries Das Medium:

Malt extract	5	กรัม
KH_2PO_4	0.5	กรัม
$MgSO_4$	0.5	กรัม

NH_4Cl	0.5	กรัม
Thymine HCl/(pH5.6)	100	มิลลิลิตร
Agar	20	กรัม
น้ำ	1,000	มิลลิลิตร

วิธีทำ

ผสมสารละลายส่วนประกอบต่างๆในน้ำคนด้วยแท่งแก้ว ให้ส่วนประกอบของอาหารละลาย นำส่วนผสมมาตั้งไฟ เติมวุ้นผงลงไป ต้มพร้อมกับคนด้วยแท่งแก้วจนวุ้นละลายหมด นำมาปรับปริมาตรด้วยน้ำให้ได 1 ลิตร บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อลงใน flask หรือหลอดเลี้ยงเชื้อ โดยให้มีปริมาตรไม่เกิน 2 ใน 3 ของภาชนะ อุดด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยอลูมิเนียมฟอยล์ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนดตอตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121˚C นาน 20 นาที

2. การเตรียมเชื้อบริสุทธิ์ของเห็ดขมิ้น เห็ดตับเต่าและเห็ดเผาะ ทำในสภาพปลอดเชื้อ

ทำโดยนำดอกเห็ดมาฉีกดอกออกเป็นสองส่วน แล้วนำเข็มเขี่ยฆ่าเชื้อด้วยเปลวไฟเขี่ยเนื้อเยื่อของดอกเห็ดนำไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Fries Das Medium และ Modified PDA

เห็ดขมิ้น

เห็ดตับเต่า

เห็ดเผาะ

3. การเตรียมเส้นใยบริสุทธิ์ของเห็ดขมิ้น เห็ดตับเต่าและเห็ดเผาะ

ทำการเจาะบริสุทธิ์ที่เตรียมได้จากข้อ 2 โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร เจาะริมโคโลนีของเชื้อ แล้วใช้เข็มเขี่ยชิ้นวุ้นมาวางบนกึ่งกลางอาหาร Modified PDA ที่เตรียมไว้ ทำการทดลองอัตราส่วน 20 จานอาหารเลี้ยงเชื้อต่อชนิดไม้ โดยทุกขั้นตอนทำในสภาพปลอดเชื้อ

4. การเตรียมหัวเชื้อเห็ดตับเต่าในเมล็ดข้าวฟ่าง

วิธีทำ

1. เมล็ดข้าวฟ่าง เลือกเมล็ดใหญ่ๆ ที่ถูกแมลงทำลายน้อย และเมล็ดไม่ค่อยแตก
2. การล้างเมล็ดข้าวฟ่าง นำมาล้างน้ำเอาฝุ่นละอองออก ตักเมล็ดที่ลอยน้ำซึ่งไม่สมบูรณ์หรือถูกแมลงทำลายออกไป
3. แช่เมล็ดทิ้งไว้ 1 คืน แล้วนำเมล็ดมาล้างน้ำอีกหลายๆครั้ง จนหมดกลิ่นเปรี้ยว
4. นำเมล็ดข้าวฟ่างที่ล้างสะอาดดีแล้ว มาต้มจนสุก พองและมีรอยปริบ้างแต่ไม่บานจนเกินไป
5. ตักเมล็ดข้าวฟ่างขึ้นมาจากหม้อใส่ตะแกรงหรือ ตะกร้ารองด้วยผ้าขาวบาง แล้วเกลี่ยบางๆ ผึ่งลมให้สะเด็ดน้ำแล้วบรรจุในขวดแบนประมาณครึ่งหนึ่งของขวดปิดด้วยจุกสำลีแล้วหุ้มด้วยกระดาษฟอยล์หรือกระดาษหนังสือพิมพ์
6. นำขวดเมล็ดข้าวฟ่างไปนึ่งด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121˚C นาน 20 นาที เพื่อฆ่าเชื้อ

7. เมื่อเมล็ดข้าวฟ่างเย็นตัวลงให้เขย่าขวดเพื่อให้ความชื้นของเมล็ดในขวดกระจายทั่วถึง

8. ทำการเขี่ยเส้นใยเห็ดตับเต่าในอาหารวุ้น โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร เจาะริมโคโลนี แล้วนำไปวางในขวดข้าวฟ่างขวดละ 2 ชิ้น เมื่อเส้นใยใกล้จะเต็มขวดควรทำการเขย่าเมล็ดข้าวฟ่างเพื่อไม่ให้เส้นใยจับตัวกันแน่น โดยทุกขั้นตอนทำในสภาพปลอดเชื้อ

9. เมื่อเส้นใยเจริญเต็มเมล็ดข้าวฟ่างแล้ว นำไปใช้ต่อไป

5. การเตรียมกล้าไม้

เตรียมวัสดุที่ใช้เพาะ นำดินและทรายไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121˚C นาน 20 นาที โดยทำการนึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 1 วัน

กล้าไม้กระถินเทพา

1. เมล็ดไม้กระถินเทพาควรแช่เมล็ดในน้ำเดือดก่อนนำไปเพาะ โดยการต้มน้ำให้เดือด นำเมล็ดใส่ในภาชนะที่ทนความร้อน เทน้ำเดือดใส่ภาชนะที่มีเมล็ด ให้ปริมาณน้ำเดือดท่วมเมล็ดประมาณ 5 เท่าของเมล็ด ใช้ไม้หรือทัพพีคนเมล็ดให้ทั่ว ช้อนเมล็ดที่ลอยทิ้งไปแล้วปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น เป็นเวลา 24 ชม. เมื่อครบกำหนดเทน้ำทิ้งแล้วนำเมล็ดไปเพาะ

2. วัสดุเพาะ ดิน : ทราย = 3:1

3. ผสมวัสดุเพาะให้เข้ากันและบรรจุใส่ถุงดำเพาะชำขนาด 2X6 นิ้ว ถุงละ 250 กรัม

4. นำเมล็ดไม้จากข้อ 1 มาหยอดลงหลุมกระบะเพาะ หยอดหลุมละ 3-4 เมล็ด รดน้ำให้ชุ่มแล้วนำไปไว้ในโรงเรือน

กล้าไม้ไผ่ป่า ไผ่รวกและไผ่ซางนวล

1. วิธีการเพาะเมล็ดไผ่ โดยการแกะเปลือกหุ้มเมล็ดออกก่อน

2. นำไปแช่น้ำอุ่น 2 ชั่วโมง แล้วแช่น้ำอุณหภูมิปกติอีก 1 คืน ใช้ไม้หรือทัพพีคนเมล็ดให้ทั่ว ช้อนเมล็ดที่ลอยทิ้งไป

3. นำเมล็ดมาใส่กล่อง ซึ่งมีกระดาษทิชชูรองก้นกล่อง เมื่อใส่เมล็ดแล้วก็รดน้ำ ปิดฝาและแย้มฝากล่องเล็กน้อยเพื่อมีอากาศถ่ายเท ทิ้งไว้ 2 คืน จนรากงอกแล้วนำไปเพาะ

4. วัสดุเพาะ ดิน : ทราย = 6:1

5. ผสมวัสดุเพาะให้เข้ากันและบรรจุใส่ถุงดำเพาะชำขนาด 2X6 นิ้ว ถุงละ 250 กรัม

6. หยอดเมล็ด หลุมละ 1-2 เมล็ด รดน้ำให้ชุ่มแล้วนำไปไว้ในโรงเรือน

6. การปลูกเชื้อเห็ดตับเต่าและเห็ดเผาะลงในกล้าไม้กระถินเทพา

1. เลือกกล้าไม้ที่ไม่มีการใส่เชื้อใดๆ อายุ 1 เดือน ที่มีความสมบูรณ์ วัดการเจริญเติบโตของกล้าไม้ทุกเดือน จนครบ 4 เดือน เป็นกล้าไม้เปรียบเทียบ

2. เลือกกล้าไม้ อายุ 1 เดือน ที่มีความสมบูรณ์ นำมาวัดการเจริญเติบโตของกล้าไม้ก่อนใส่เชื้อ ให้แต่ละวิธีการมี 20 ซ้ำ

3. การเตรียมเส้นใยบริสุทธิ์ของเห็ดตับเต่าและเห็ดเผาะ โดยนำเส้นใยบริสุทธิ์ที่เตรียมได้จากข้อ 3 มาปั่นในเครื่องปั่นผลไม้ ผสมกับน้ำที่ทำการนึ่งฆ่าเชื้อ อัตราส่วนน้ำ 500 มิลลิลิตร : 20 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ กรองเอาแต่น้ำด้วยผ้าขาวบาง นำเส้นใยบริสุทธิ์ผสมน้ำมาหยอดลงบริเวณโคนของกล้าไม้ โดยใช้ปริมาตร 25 มิลลิลิตรต่อต้น

4. การเตรียมหัวเชื้อเห็ดตับเต่าในเมล็ดข้าวฟ่าง โดยนำหัวเชื้อเห็ดตับเต่าในเมล็ดข้าวฟ่างที่เตรียมได้จากข้อ 4 (ประมาณ 10-15 เมล็ด/ช้อนสแตนเลสตักสารเคมี) จำนวน 2 ครั้งต่อต้น โดยโรยรอบๆตุ้มรากแล้วกลบด้วยวัสดุปลูก

5. หลังใส่เชื้อนำกล้าไม้ไปไว้ในโรงเรือน รดน้ำวันละ 2 ครั้ง เช้า-เย็น และกำจัดวัชพืชโดยการถอนด้วยมือ

6. บันทึกการเจริญเติบโตโดยวัดความสูงจากระดับคอรากถึงปลายยอดของกล้าไม้ หลังใส่เชื้อทุกเดือน จนครบ 4 เดือน

7. การปลูกเชื้อเห็ดขมิ้นในกล้าไม้ไผ่ป่า ไผ่รวก และไผ่ซางนวล

1. เลือกกล้าไม้ที่ไม่มีการใส่เชื้อใดๆ อายุ 1 เดือน ที่มีความสมบูรณ์ วัดการเจริญเติบโตของกล้าไม้ทุกเดือน จนครบ 4 เดือน เป็นกล้าไม้เปรียบเทียบ

2. เลือกกล้าไม้ อายุ 1 เดือน ที่มีความสมบูรณ์ นำมาวัดการเจริญเติบโตของกล้าไม้ก่อนใส่เชื้อ ให้แต่ละวิธีการมี 20 ซ้ำ

3. การใส่สารแขวนลอยสปอร์เห็ดขมิ้น โดยนำดอกแก่ที่บาน มาปั่นในเครื่องปั่นผลไม้ผสมกับน้ำที่ทำการนึ่งฆ่าเชื้อ อัตราส่วนน้ำ 500 มิลลิลิตร ต่อเห็ดขมิ้น 100 กรัม นำน้ำผสมสปอร์มารดกล้าไม้ ปริมาณ 25 มิลลิลิตรต่อต้น

4. หลังใส่เชื้อนำกล้าไม้ไปไว้ในโรงเรือน รดน้ำวันละ 2 ครั้ง เช้า-เย็น และกำจัดวัชพืชโดยการถอนด้วยมือ

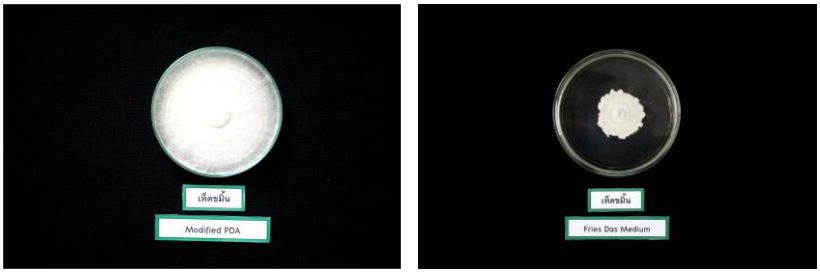
5. บันทึกการเจริญเติบโตโดยวัดความสูงจากระดับคอรากถึงปลายยอดของกล้าไม้ หลังใส่เชื้อทุกเดือน จนครบ 4 เดือน

8. การตรวจการฟอร์มไมคอร์ไรซ่าของรากกล้าไม้

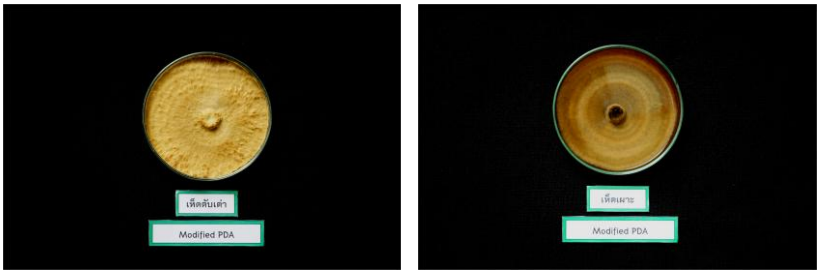
เมื่อกล้าไม้หลังใส่เชื้อ อายุครบ 4 เดือน ทำการสุ่มกล้าไม้มาย้อมราก ตัด Section เพื่อดู ECM ใช้จำนวน 3 ต้นในแต่ละวิธีการ

ผลการศึกษาและวิจารณ์ผล

การเตรียมเชื้อบริสุทธิ์ของเห็ดขมิ้น เห็ดตับเต่าและเห็ดเผาะ ทำในสภาพปลอดเชื้อ



ในอาหาร Modified PDA เส้นใยเห็ดขมิ้นเจริญเต็มอาหารในจานเลี้ยงเชื้อขนาด 9 เซนติเมตร ในระยะเวลา 15-20 วันและเจริญไม่เต็มจานเลี้ยงเชื้อขนาด 9 เซนติเมตร บนอาหาร Fries Das Medium



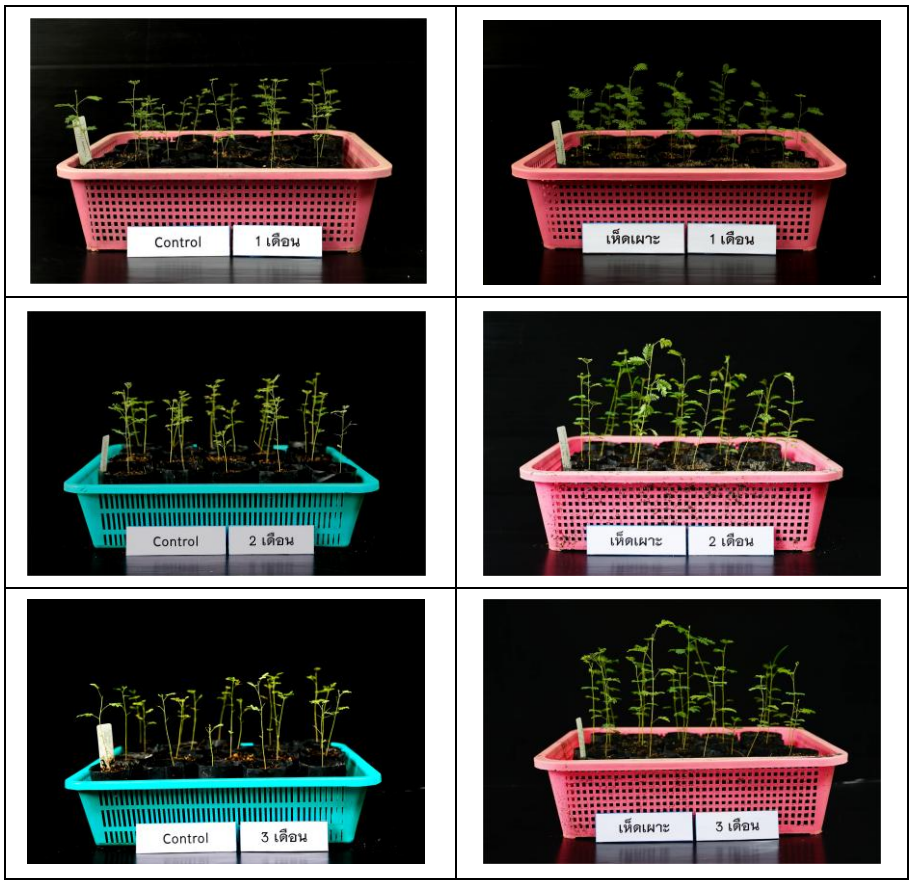
ในอาหาร Modified PDA เส้นใยเห็ดตับเต่าและเห็ดเผาะ เจริญเต็มอาหารในจานเลี้ยงเชื้อขนาด 9 เซนติเมตร ในระยะเวลา 30 วันและ 30-35 วัน ตามลำดับ

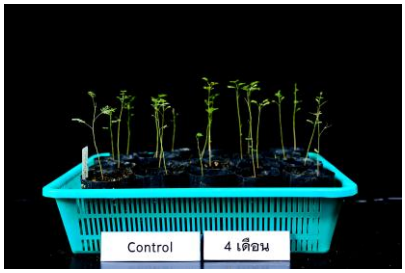
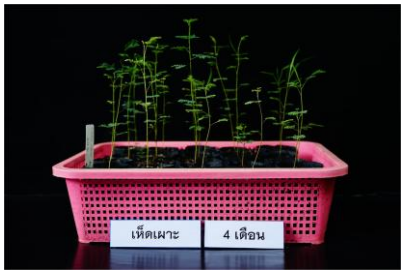
การเจริญเติบโตของกล้าไม้กระถินเทพาเมื่อใส่เชื้อเห็ดตับเต่า

ไม่ใส่เชื้อ (Control)	เส้นใยเห็ดตับเต่าบนอาหารเลี้ยงเชื้อ	หัวเชื้อเห็ดตับเต่าในเมล็ดข้าวฟ่าง

ในกระถินเทพาวิธีการใส่หัวเชื้อเห็ดตับเต่าในเมล็ดข้าวฟ่างดีที่สุด เพราะมีการเจริญเติบโตที่สูงกว่าการใส่เส้นใยเห็ดตับเต่าบนอาหารเลี้ยงเชื้อและการไม่ใส่เชื้อในเดือนที่ 2-4 โดยมีความสูงเฉลี่ย 16.61 เซนติเมตร เมื่อครบ 4 เดือน

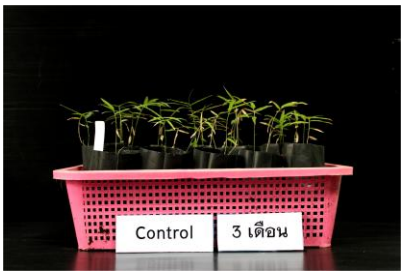
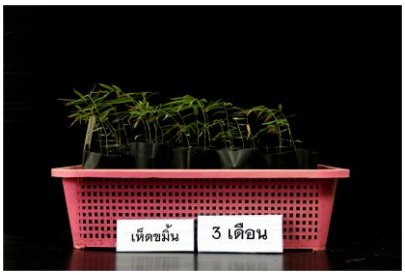
การเจริญเติบโตของกล้าไม้กระถินเทพาเมื่อใส่เชื้อเห็ดเผาะ



	
ไม่ใส่เชื้อ (Control)	เส้นใยเห็ดเผาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

การใส่เส้นใยเห็ดเผาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อในกล้าไม้กระถินเทพามีการเจริญเติบโตทางความสูงมากกว่าการไม่ใส่เชื้อในเดือนที่ 2 – 4 โดยมีความสูงเฉลี่ยในเดือนที่ 4 = 14.67 เซนติเมตร

การเจริญเติบโตของกล้าไม้ไผ่ป่า เมื่อใส่เชื้อเห็ดขมิ้น

	
ไม่ใส่เชื้อ (Control)	สารแขวนลอยสปอร์เห็ดขมิ้น

การเจริญเติบโตของกล้าไม้ไผ่รวก เมื่อใส่เชื้อเห็ดขมิ้น

ไม่ใส่เชื้อ (Control)	สารแขวนลอยสปอร์เห็ดขมิ้น

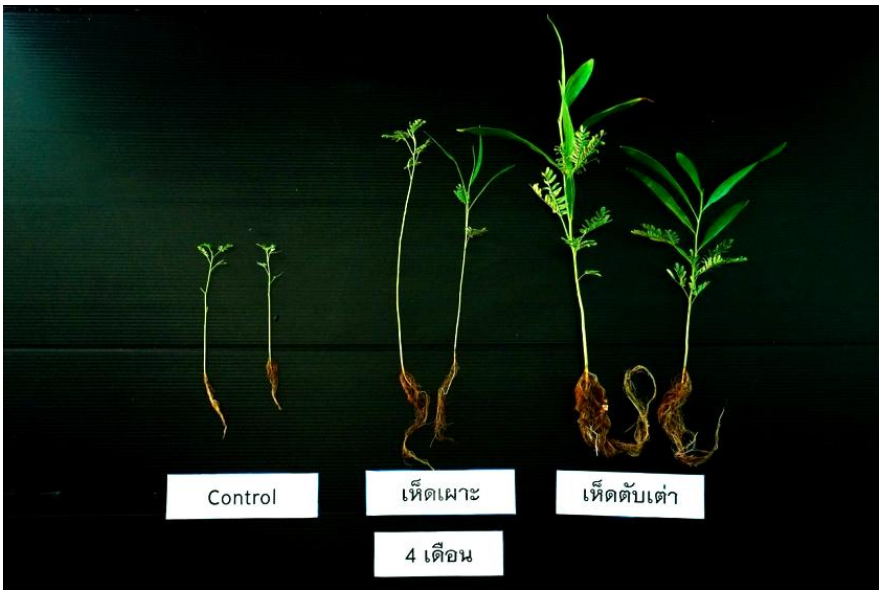
การเจริญเติบโตของกล้าไม้ไผ่ซางนวล เมื่อใส่เชื้อเห็ดขมิ้น

ไม่ใส่เชื้อ (Control)	สารแขวนลอยสปอร์เห็ดขมิ้น

การใส่สารแขวนลอยสปอร์เห็ดขมิ้นลงในกล้าไม้ไผ่ พบว่าไม้ไผ่มีการเจริญเติบโตทางความสูงเฉลี่ยมากกว่าการไม่ใส่เชื้อโดยเฉพาะเมื่อครบ 3-4 เดือน โดยไผ่ป่า ไผ่รวกและไผ่ซางนวลมีความสูงเฉลี่ยในเดือนที่ 4 = 9.96, 18.52, 17.35 เซนติเมตรตามลำดับ

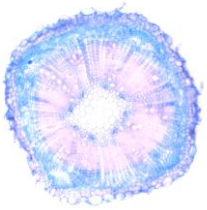
การตรวจการฟอร์มไมคอร์ไรซ่าของรากกล้าไม้

ลักษณะรากของกระถินเทพาหลังใส่เชื้อครบ 4 เดือน

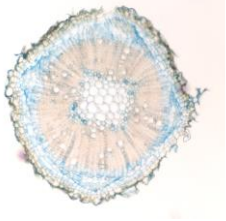


ลักษณะรากของกล้าไผ่หลังใส่เชื้อครบ 4 เดือน

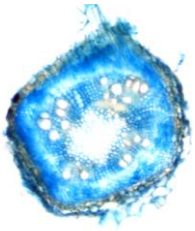
ลักษณะ Cross-section รากกระถินเทพาเมื่อใส่เชื้อเห็ดตับเต่าและเห็ดเผาะ



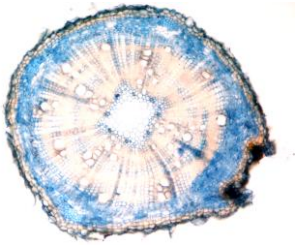
ไม่ใส่เชื้อ
(Control)



เส้นใยเห็ดตับเต่า
บนอาหารเลี้ยงเชื้อ



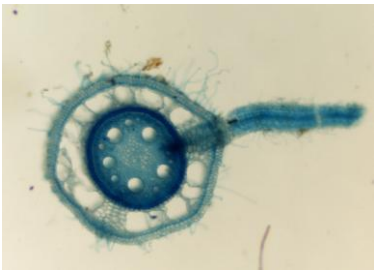
หัวเชื้อเห็ดตับเต่า
ในเมล็ดข้าวฟ่าง



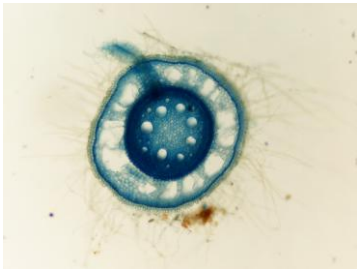
เส้นใยเห็ดเผาะ
บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

ลักษณะรากของไผ่ป่า ไผ่รวก และไผ่ซางนวล หลังใส่เชื้อครบ 4 เดือน

ไผ่ป่า



ไผ่รวก



ไผ่ซางนวล

พบว่า ทั้งกล้ากระถินเทพาและกล้าไม้ไผ่ทั้ง Control และวิธีการใส่เชื้อไม่พบการฟอร์มไมคอร์ไรซ่าในราก

การตรวจการฟอร์มไมคอร์ไรซ่าของเห็ดตับเต่า เห็ดเผาะในรากกล้าไม้กระถินเทพาและเห็ดขมิ้นในรากกล้าไม้ไผ่ เมื่อครบ 4 เดือน ไม่พบการฟอร์มไมคอร์ไรซ่าทั้งวิธีการใส่เชื้อและไม่ใส่เชื้อ อาจจะเกิดจากการสุ่มตัวอย่างมาตรวจน้อยเกินไป สภาพโรงเพาะชำมีโรคและแมลงรวมทั้งหนูรบกวน ประกอบกับสภาพอากาศที่ร้อนมาก ส่งผลให้กล้าไม้บางส่วนตาย แคระแกรน ทำให้ไม่สามารถวัดความกว้างลำต้นระดับคอรากและนำผลมาวิเคราะห์ได้ ซึ่งตามงานทดลองของจันจิราและคณะ(2552) พบว่าในการปลูกเชื้อเห็ดเผาะกับกล้าไม้ยูคาลิปตัส เมื่อครบ 6 เดือนวัดความสูงของลำต้น น้ำหนักแห้งส่วนลำต้นและรากเปรียบเทียบกับการไม่ใส่เชื้อไม่มีความแตกต่างกันแต่กล้าไม้ที่ได้รับการปลูกเชื้อมีรากไมคอร์ไรซ่า

สรุปผล

การเพาะเลี้ยงเชื้อบริสุทธิ์ของเห็ดขมิ้น เห็ดตับเต่าและเห็ดเผาะในอาหาร Modified PDA และอาหาร Fries Das medium พบว่าเห็ดทุกชนิดเจริญดีในอาหาร Modified PDA ซึ่งรารุณี(2547) รายงานถึงเห็ดตับเต่าเจริญได้ในอาหาร Gamborg MMN และ MS ส่วนเห็ดเผาะเจริญได้ในอาหาร Fries ส่วนจันจิราและคณะ(2552) กล่าวถึงเห็ดเผาะเจริญได้ช้า มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ใช้เวลาประมาณ 30-45 วันในอาหาร PDA นอกจากนั้น สายสมร(2005) พบว่าเห็ดตับเต่าขยายเส้นใยดีในเมล็ดข้าวฟ่างขณะที่เห็ดเผาะขยายเส้นใยดีใน peat-vermiculite

การใส่เส้นใยเห็ดตับเต่าและเห็ดเผาะทำให้กล้าไม้กระถินเทพามีการเจริญเติบโตทางความสูงโดยเฉลี่ยดีกว่าการไม่ใส่เชื้อ เห็ดตับเต่านั้นวิธีการใส่หัวเชื้อในเมล็ดข้าวฟ่างดีกว่าการใช้เส้นใยบริสุทธิ์ สอดคล้องกับงานของนันทินีและคณะ(2553) ในการเพาะเลี้ยงเห็ดตับเต่าโดยเลี้ยงเส้นใยในเมล็ดข้าวฟ่างแล้วนำไปโรยรอบชายพุ่มต้นมะกอกน้ำ สำหรับเห็ดเผาะนั้น อชิรญาณ์ปวริศกร(2549) พบว่าอัตราส่วนของเมล็ดข้าวเจ้าผสมดินร่วน 45% เหมาะสมในการทำหัวเชื้อเห็ดเผาะซึ่งเพาะเลี้ยงในที่มืดอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

การใส่สารแขวนลอยสปอร์เห็ดขมิ้น เมื่อครบ 4 เดือน ทำให้กล้าไม้ไผ่มีการเจริญเติบโตทางความสูงเฉลี่ยดีกว่าการไม่ใส่เชื้อ ตามรายงานการใส่หัวเชื้อด้วยสารแขวนลอยสปอร์เห็ดเผาะกับกล้าไม้ยางนาของธนิดาและคณะ (2558) พบว่ามีร้อยละของรากเอคโตไมคอร์ไรซ่ามากกว่าการใส่หัวเชื้อด้วยดินเชื้อและผลการศึกษาของ Sharma et.al (2011)และ Sharma et.al (2008) ทำการเลี้ยงเห็ดขมิ้นในอาหาร MMN และขยายเส้นใยในกากใบชาผสมทราย เมื่อใส่เชื้อเห็ดขมิ้นลงในกล้าไม้ไผ่ พบว่ากล้าไผ่อายุ 4 เดือน มีการเจริญเติบโตทางความสูงดีกว่าการไม่ใส่เชื้อ Brundrett et.al (2005) กล่าวว่า ปรกติแล้วเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการใส่สารแขวนลอยสปอร์เห็ดเอคโตไมคอร์ไรซ่ากับแปลงปลูกมีมากกว่าการใช้เส้นใย เห็ดที่มีสปอร์มากอาจมีประสิทธิภาพด้อยกว่าเห็ดสปอร์น้อยและเห็ดบางชนิดเมื่อนำไปปั่นจะลดประสิทธิภาพลง

การปฏิบัติและการจัดการในเรือนเพาะชำที่แตกต่างกันเช่น การใช้วัสดุปลูก ช่วงระยะเวลาและสภาพอากาศ มีผลต่อการประสบความสำเร็จในการใส่เชื้อ

เอกสารอ้างอิง

จันจิรา อายะวงศ์ วินันท์ดา หิมะมาน กิตติมา ด้วงแค บารมี สกลรักษ์ และกฤษณา พงษ์พานิช. 2522. การศึกษานิเวศวิทยา การกระจายพันธุ์และการทดสอบคุณลักษณะไมคอร์ไรซาของเห็ดเผาะ. กลุ่มงานกีฏวิทยาและจุลชีววิทยาป่าไม้. สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช. กรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่าและพันธุ์พืช. กรุงเทพมหานคร. 18น.

ธนิดา อาสว่าง อุไรวรรณ วิจารณกุล รุ้งเพชร แข็งแรง ณัฏฐิกา สุวรรณาศรัย และเชิดชัย โพธิ์ศรี. 2558. เอคโตไมคอร์ไรซาของเห็ดเผาะสิรินธรในกล้าไม้ยางนา. *ใน* การประชุมวิชาการและนำเสนอผลงานวิชาการเครือข่ายงานวิจัยนิเวศวิทยาป่าไม้แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 4 คณะเกษตรศาสตร์ฯ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก. หน้า 88-93.

นันทินี ศรีจุมปา ไวอินต๊ะแก้วและบัณฑิต จันทร์งาม. 2552. การเพาะเห็ดตับเต่า, น.47-57ในเห็ดไทย 2552. สมาคมนักวิจัยและเพาะเห็ดแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ.

มินตรา พรมมิน. 2553. กระถินเทพา. (ออนไลน์). แหล่งข้อมูล :http://www.bedo.or.th/lcdb/biodiversity/view.aspx?id=9058. (18 มกราคม 2554).

รารุณี แสงหมี่. 2547. ความหลากหลายทางชีวภาพพืชอาศัยและการเจริญของเชื้อราเอคโตมายคอไรซาในภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 295น.

สายสมร ลำยอง. 2005. การศึกษาพืชอาศัยและการเกิดดอกเห็ดของเชื้อราเอคโตไมคอร์ไรซาที่กินได้ในประเทศไทย. (ออนไลน์). :http://elibrary.trf.or.th/project_content.asp?PJID=BGJ 4580023. (18 มกราคม 2554).

อชิรญาณ์ปวริศกร วัฒนโกศล. 2549. อัตราส่วนและความชื้นของวัสดุทำหัวเชื้ออุณหภูมิบ่มเชื้อที่เหมาะสม. วารสารวิชาการ ม.อบ. 8(3):49-61.

Brundrett,M. ,N. Malajczuk, G. Mingqin, X. Daping, S. Snelling and B. Dell. 2005. Nursery inoculation of Eucalyptus seedlings in Western Australia and Southern China using spores and mycelial inoculum of diverse ectomycorrhizal fungi from different climatic regions. Forest Ecology and Management 209: 193-205.

Kuek, C., I. C. Tommerup and N. Malajczuk. 1992. Hydrogel bead inocula for the Production of ectomycorrhizal eucalypts for plantations. Mycol. Res. 96:273-277.

Sharma R., R.C. Rajak and A. K. Pandey. 2008. Growth response of Dendrocalamus Seedlings by inoculation with ectomycorrhizal fungi. Middle-east Journal of Scientific Research3(4): 200-206.

Sharma, R., R. C. Rajak and A. K. Pandey. 2011. Mass multiplication of ectomycorrhizal Cantharellus inoculums for large scale tailoring nursery inoculations of bamboo seedlings. Asian Journal of Scientific Research 4: 84-89.