

บทที่ 4

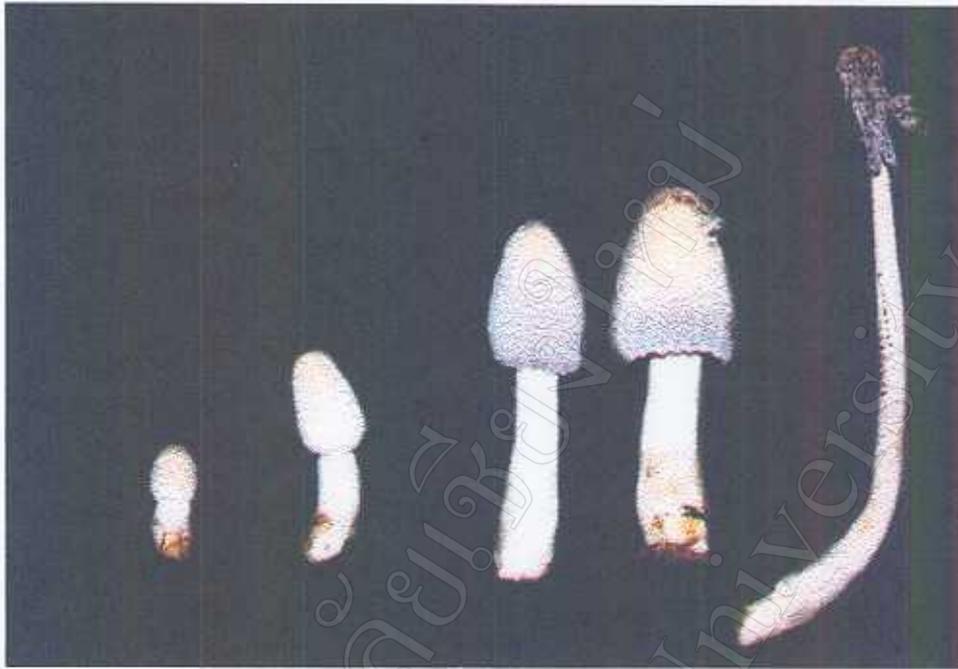
ผลการวิจัย

ผลการตรวจสอบสัณฐานของเห็ดโคนน้อย

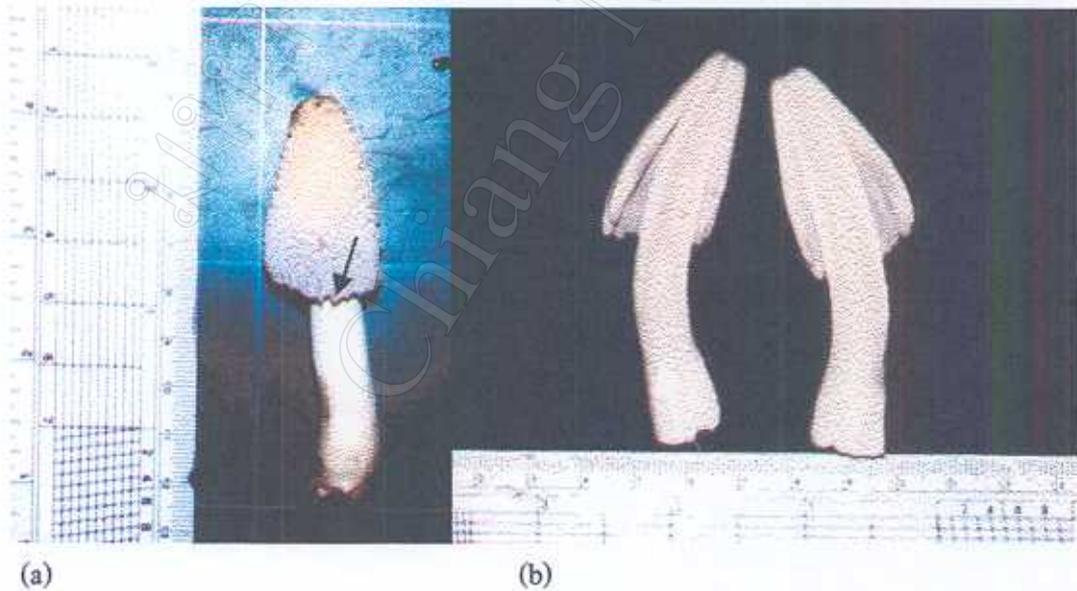
ลักษณะของดอกเห็ดโคนน้อยที่ได้จากการทดลองเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ พบว่า หมวกเห็ดเมื่อยังไม่บานเป็นรูปไข่ขาวรีเกือบเป็นรูปทรงระบอก ผิวของหมวกเห็ดมีสีน้ำตาลอ่อน และมีขนสีขาวปนน้ำตาลอ่อนปกคลุมเป็นเกล็ดเล็ก ๆ ซึ่งขนหรือเกล็ดดังกล่าวนี้หลุดง่าย (ภาพ 6) คงเหลือบางส่วนเฉพาะกลางหมวก มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 3 - 10 เซนติเมตร มีรอยหยักเป็นรัศมีตามขอบหมวก เมื่อดอกเห็ดบานเต็มที่หมวกดอกจะบางมาก ก้านดอกยาวประมาณ 5 - 20 เซนติเมตร โคนก้านดอกใหญ่กว่าปลายก้านเล็กน้อย ก้านดอกมีสีขาว ผิวก้านปกคลุมด้วยขนสีขาวเล็ก ๆ ซึ่งหลุดง่าย ก้านดอกกลวงและเปราะหักง่าย (ภาพ 7) และมักแตกออกตามความยาวของก้าน ครีบไม้ยึดติดกับก้าน (ภาพ 8) ครีบของเห็ดโคนน้อยมีจำนวนประมาณ 150 - 200 ครีบมีสีขาว



ภาพ 6 หมวกเห็ดโคนน้อยอายุประมาณ 14 วัน มีขนสีขาวปกคลุม ซึ่งหลุดง่าย (ลูกศรีษี)



ภาพ 7 ลักษณะการเจริญของดอกเห็ดโคนน้อยในแต่ละรุ่น (ตั้งแต่อายุ 1 - 6 วัน)



ภาพ 8 ดอกเห็ดโคนน้อย (อายุ 6 วัน)

(a) บริเวณขอบหมวกมีรอยหยักตามแนวรัศมี (ถูกสรชี้)

(b) ส่วนต่าง ๆ ภายในดอกเห็ดโคนน้อย

จากการติดตามการสลายตัวของเห็ดโคนน้อย พบว่า ในระยะแรกครีบบวมจะมีสีขาว ต่อมาเมื่อดอกเห็ดสมบูรณ์เต็มที่และกำลังเริ่มจะบาน ส่วนของครีบบวมจะเปลี่ยนเป็นสีเทาดำ โดยจะเริ่มที่ส่วนปลายของครีบบริเวณใกล้ขอบหมวกก่อนและค่อย ๆ ลามขึ้น ครีบบวมจะมีการย่อยตัวเองเป็นหยดของเหลวสีดำ คล้ายน้ำหมึกหยดจากขอบหมวก (ภาพ 9) ดังนั้นเมื่อหมวกเห็ดกางออกจึงไม่มีส่วนของครีบบวมเหลือให้เห็น การย่อยสลายจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วภายในเวลาประมาณ 4 - 5 ชั่วโมง (ภาพ 10) ขณะที่มีการสลายตัวของหมวกเห็ดโคนน้อยจะม้วนขึ้น (ภาพ 11) ก้านจะชิดขาวบางดอกก้านอาจยาวได้ถึง 20 เซนติเมตร และจะเกิดหยดหมึกขึ้นพร้อม ๆ กัน สปอร์ของเห็ดโคนน้อยมีรูปไข่ ผิวเรียบ สีน้ำตาล ผ่องหนา ขนาด 12-15 x 7 - 9 ไมโครเมตร (ภาพ 12) เส้นใยชั้นที่ 2 ของเห็ดโคนน้อยมี clamp connection (ภาพ 13)

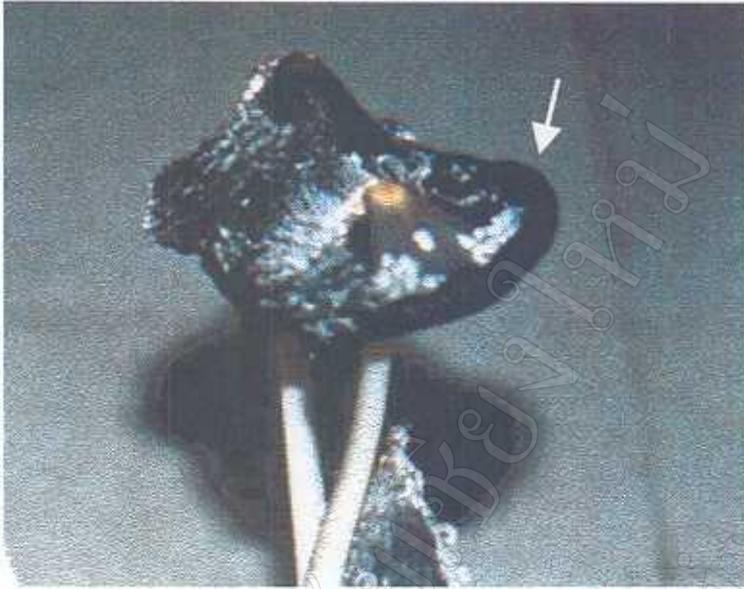


ภาพ 9 ดอกเห็ดโคนน้อย (อายุประมาณ 6 วัน) ดอกเห็ดที่เริ่มสลายตัว หมวกจะเปลี่ยนเป็นสีเทาดำ (ถูกพรซี)

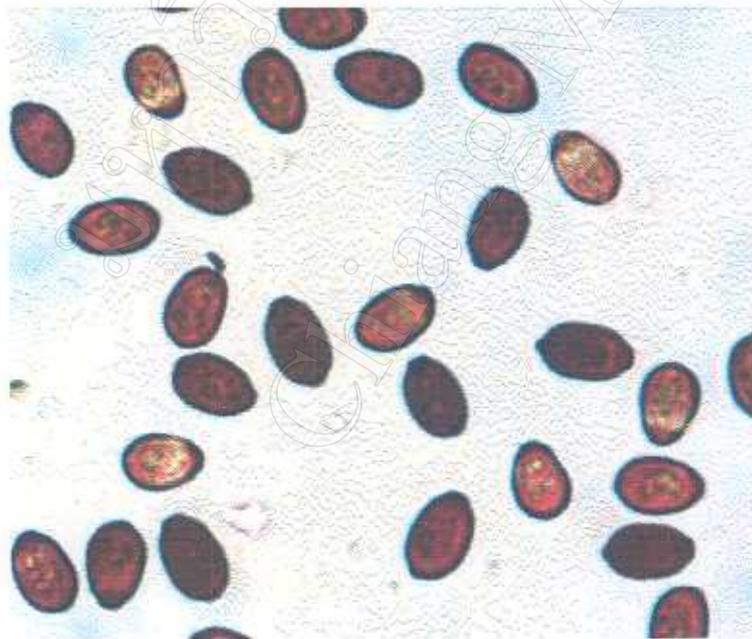


ภาพ 10 ลักษณะการพัฒนาของดอกเห็ดที่เพาะบนฟางข้าวหมักผสมอาหารเสริม KAT 701 ภายหลังจากเก็บ

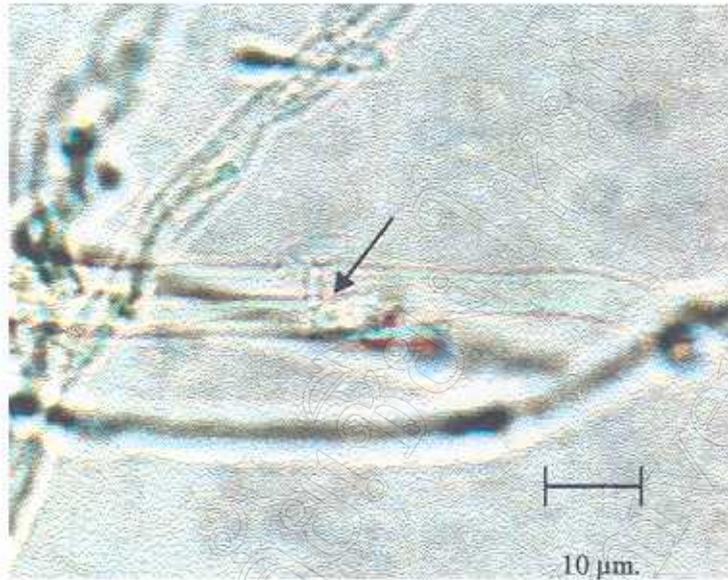
- (a) ดอกเห็ดโคนน้อยเมื่อเก็บออกมาจากกระบะเพาะ
- (b) ดอกเห็ดโคนน้อยเริ่มมีการสลายตัว ก้านเริ่มขาว ที่อุณหภูมิห้อง (27 ± 2 องศาเซลเซียส) 5 ชั่วโมง หลังเก็บออกมาจากกระบะเพาะ
- (c) ดอกเห็ดโคนน้อยบริเวณหมวกเกิดการสลายตัว หลังจากเก็บไว้ที่ 27 ± 2 องศาเซลเซียส 7 ชั่วโมง



ภาพ 11 การสลายตัวของเห็ดโคนน้อย (อายุ 6 วัน) ขอบหมวกจะมีวนขึ้น (ถูกพรจี)



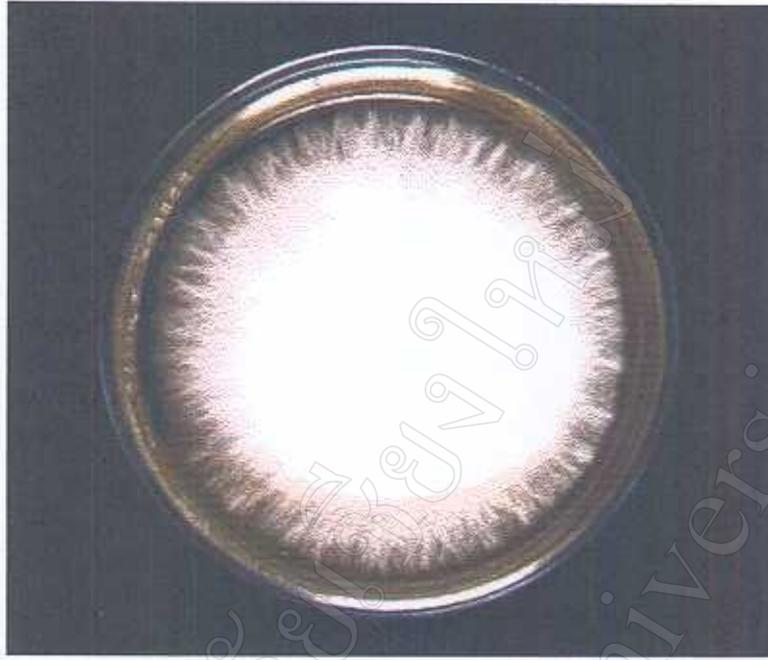
ภาพ 12 สปอร์ของเห็ดโคนน้อย ขนาด 12-15 x 7-9 ไมโครเมตร



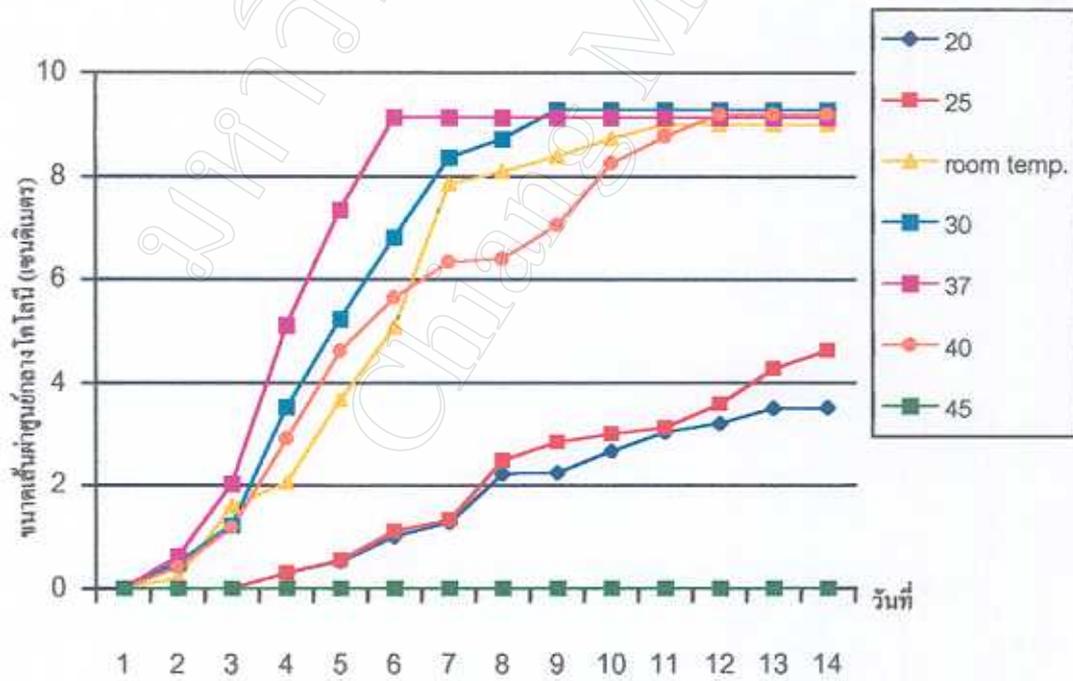
ภาพ 13 เส้นใยหัดโคนน้อย มี clamp connection (ถูกครีซี)

การทดสอบอิทธิพลของอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโตและการสลายตัวของหัดโคนน้อย

จากการนำดอกหัดโคนน้อยมาแยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์บนอาหารรุ้น potato dextrose agar (PDA) จากนั้นนำมาทดสอบผลของอุณหภูมิ โดยนำเชื้อบริสุทธิ์ของหัดโคนน้อยที่แยกได้จากเนื้อเชื้อหัดโคนน้อยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มที่อุณหภูมิ ต่าง ๆ กัน คือ 20, 25, 30, 37, 40, 45 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง ติดตามการเจริญจนเป็นโครงสร้างสืบพันธุ์ พบว่าเชื้อหัดโคนน้อยที่เพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ให้ผลการเจริญดีที่สุด (ภาพ 14 และ 15) เชื้อหัดโคนน้อยมีลักษณะเส้นใยฟู หนาแน่น สีขาว และเจริญเต็มผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อได้อย่างรวดเร็วภายใน 6 วัน รองลงมาคือที่ 30 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (27 ± 2 องศาเซลเซียส) และที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยเชื้อหัดโคนน้อยจะมีลักษณะโคโลนีใกล้เคียงกับเชื้อหัดโคนน้อยที่บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส แต่ระยะเวลาการเจริญของโคโลนีจะช้ากว่า ที่อุณหภูมิ 25 และ 20 องศาเซลเซียส เส้นใยของหัดโคนน้อยมี ลักษณะไม่หนาแน่น เส้นใยไม่ฟู สีขาว มีการเจริญช้ามาก มีอัตราการเจริญเพียงประมาณ 0.3 เซนติเมตรต่อวัน และที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เชื้อหัดโคนน้อยไม่สามารถเจริญได้

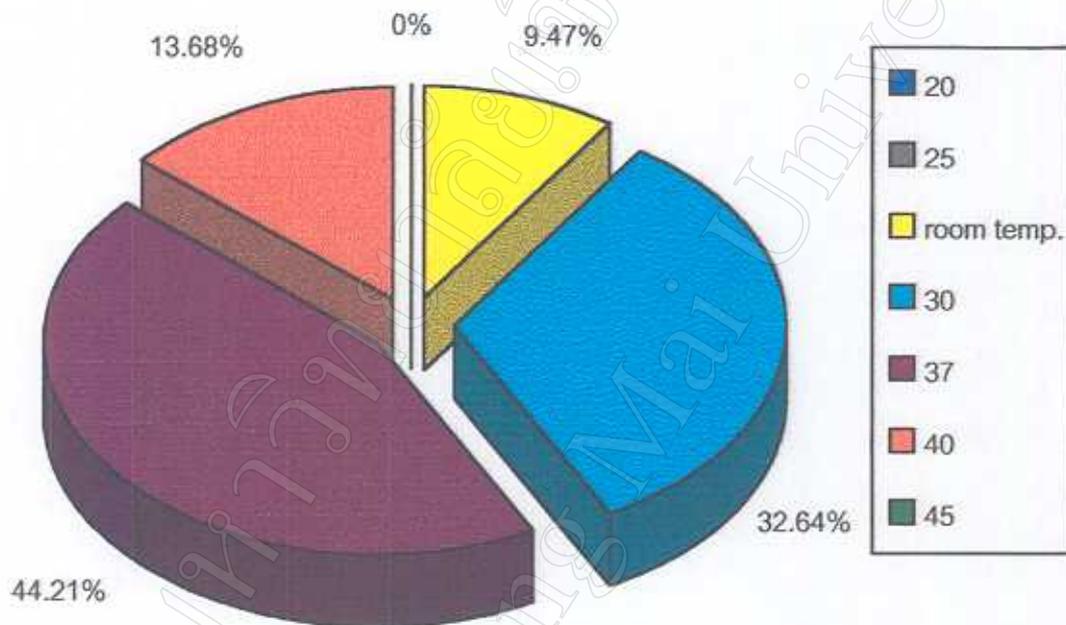


ภาพ 14 โคลนีที่เกิดโคนน้อย อายุ 5 วัน บนจานอาหาร potato dextrose agar ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

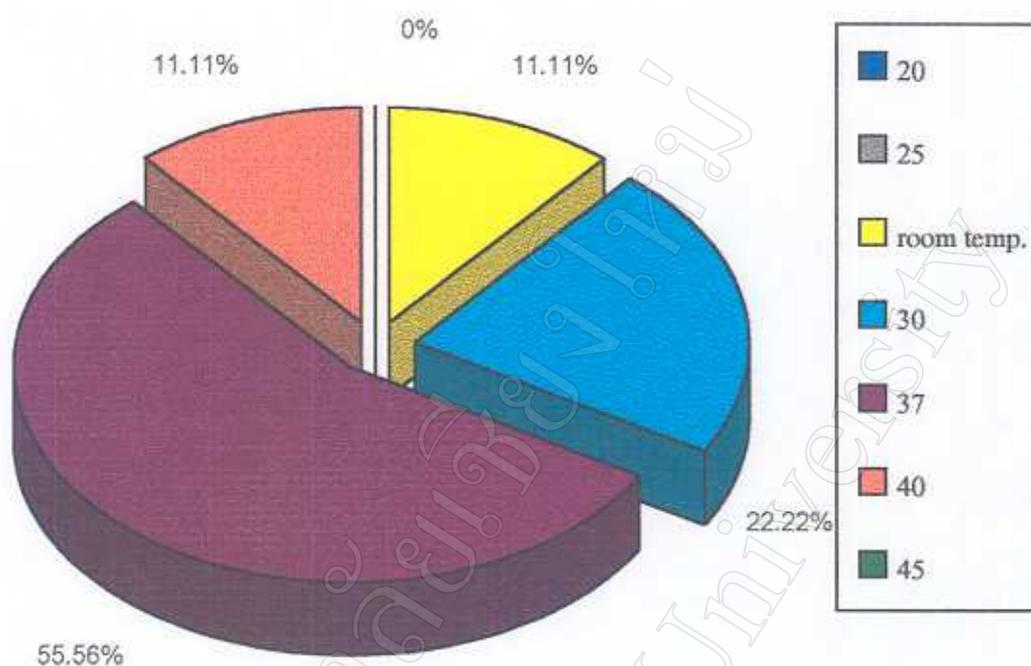


ภาพ 15 การเจริญของโคลนีที่เกิดโคนน้อยบนจานอาหาร potato dextrose agar เมื่อทำการเลี้ยงที่อุณหภูมิต่าง ๆ

จากการติดตามการเจริญของเชื้อเห็ดโคนน้อย พบว่า ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เกิดค่อมเห็ดมากที่สุดคิดเป็น 44.21 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ที่ 30 และ 40 องศาเซลเซียส คิดเป็น 32.64 และ 13.68 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพ 16) จากจำนวนค่อมเห็ดทั้งหมดที่ได้จากการบ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ 95 ค่อมเห็ด และพบว่าที่ 37 องศาเซลเซียส เกิดดอกเห็ดมากที่สุด คิดเป็น 55.56 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ที่ 30 และ 40 องศาเซลเซียส คิดเป็น 22.22 และ 11.11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพ 17) จากจำนวนดอกเห็ดทั้งหมด 9 ดอก สำหรับ ที่ 20, 25 และ 45 องศาเซลเซียส การเกิดค่อมเห็ดและการเกิดดอกเห็ดมีการเจริญที่น้อยมาก คิดเป็น 0 เปอร์เซ็นต์

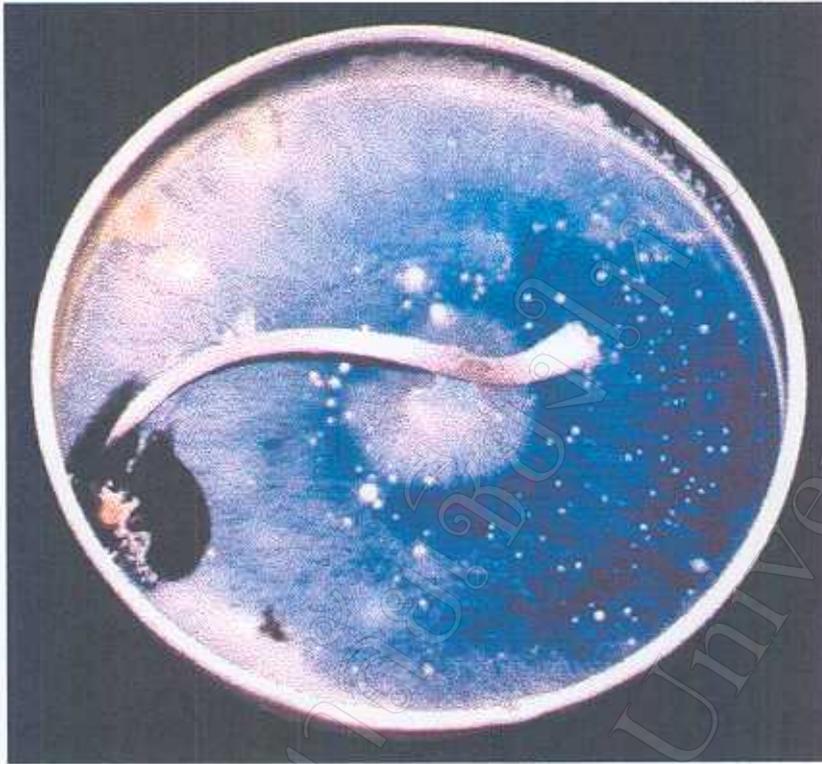


ภาพ 16 จำนวนค่อมเห็ด โคนน้อยบนจานอาหาร potato dextrose agar ที่อุณหภูมิต่าง ๆ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เฉลี่ยจากการทดลอง 5 ซ้ำ ต่อ Treatment



ภาพ 17 จำนวนดอกเห็ดโคนน้อยบนจานอาหาร potato dextrose agar ที่อุณหภูมิต่าง ๆ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เฉลี่ยจากการทดลอง 5 ซ้ำ ต่อ Treatment

ดอกเห็ดโคนน้อยที่เพาะบนจานอาหาร PDA สร้างดอกเห็ดเพียง 1 - 2 ดอก เมื่อดอกเห็ดโตเต็มที่แล้วจะสลายตัวอย่างรวดเร็ว (ภาพ 18) เมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาในการสลายตัวของดอกเห็ดโคนน้อยที่เจริญที่อุณหภูมิ 37, 30, 40 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง (27 ± 2 องศาเซลเซียส) พบว่าที่อุณหภูมิ 37 และ 40 องศาเซลเซียส ดอกเห็ดโคนน้อยจะมีการสลายตัวเร็วเท่ากัน คือ 16 ชั่วโมงโดยเฉลี่ย ซึ่งเป็นเวลาที่เร็วที่สุดเมื่อเทียบกับที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง ที่มีระยะเวลาในการสลายตัว 18 และ 21 ชั่วโมงโดยเฉลี่ย (ตาราง 3)



ภาพ 18 ดอกเห็ดโคนน้อยบนจานอาหาร potato dextrose agar ในระยะสลายตัว

ตาราง 3 ปริมาณและระยะเวลาในการให้ผลผลิตของเห็ดโคนน้อยที่เพาะบนจานอาหาร potato dextrose agar ที่อุณหภูมิต่าง ๆ

อุณหภูมิ (°C)	จำนวนดอกเห็ด	ความคงทนของดอกเห็ดเฉลี่ย (วัน)	ระยะเวลาการสลายตัวของดอกเห็ดเฉลี่ย (ชั่วโมง)
20	0	0	0
25	0	0	0
ห้อง (27 ±2)	1	1	21
30	2	1	18
37	5	1	16
40	1	1	16
45	0	0	0
รวม	9	0	0

¹เฉลี่ยความคงทนของดอกเห็ดจากจำนวนดอกเห็ดในแต่ละ Treatment

การเพาะเห็ดโคนน้อยที่ 37 องศาเซลเซียส มีแนวโน้มว่าจะได้ดอกเห็ดมากที่สุด แต่ดอกเห็ดจะไม่คงทนเท่ากับการเพาะในสภาพอุณหภูมิห้องที่มีการแปรผัน (27 ± 2 องศาเซลเซียส)

การเพาะที่อุณหภูมิต่ำลง คือ 30 องศาเซลเซียส อาจได้ดอกเห็ดน้อยลง แต่มีแนวโน้มว่าดอกเห็ดจะคงทนมากกว่าดอกเห็ดจากการเพาะที่ 37 องศาเซลเซียส ดังนั้นในการทดสอบการเจริญของเชื้อเห็ดโคนน้อยในขั้นต่อไป จึงเลือกบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส

ผลการทดสอบการเจริญของเชื้อเห็ดโคนน้อยบนวัสดุขยายเชื้อ

เมื่อนำเส้นใยเห็ดโคนน้อยไปเลี้ยงบนวัสดุขยายเชื้อ เพื่อทำการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเส้นใยที่เจริญบนวัสดุขยายเชื้อ 3 ชนิด คือ เมล็ดข้าวฟ่าง เมล็ดข้าวเปลือก และเมล็ดข้าวฟ่างผสมเมล็ดข้าวเปลือก และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พบว่า เส้นใยเห็ดโคนน้อยสามารถเจริญบนวัสดุขยายเชื้อที่เป็นเมล็ดข้าวฟ่างได้ดีที่สุด รองลงมาคือ เมล็ดข้าวฟ่างผสมเมล็ดข้าวเปลือก และเมล็ดข้าวเปลือก ตามลำดับ โดยที่เมล็ดข้าวฟ่างผสมเมล็ดข้าวเปลือก และเมล็ดข้าวเปลือกมีการเจริญเติบโตใกล้เคียงกัน (ตาราง 4)

ตาราง 4 การเจริญของเชื้อเห็ดโคนน้อยบนวัสดุขยายเชื้อชนิดต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

ระยะเวลา (วัน) วัสดุขยายเชื้อ	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเฉลี่ย ¹ (เซนติเมตร)						
	1	2	3	4	5	6	7
ข้าวฟ่าง	1.12	1.64	2.76	3.51	4.90	5.21	6.00
ข้าวเปลือก	0.76	1.02	2.07	3.05	3.58	4.83	5.78
ข้าวฟ่าง + ข้าวเปลือก	0.85	1.43	2.49	3.27	4.43	5.17	5.80

¹เฉลี่ยจากการทดลอง 4 ซ้ำ (flask) ต่อ Treatment

ผลการทดสอบผลของแสงต่อการสร้างและการสลายตัวของเห็ดโคนน้อย

จากการทดสอบอิทธิพลของแสงต่อการสร้างและการสลายตัวของดอกเห็ดในการทดสอบขั้นที่ 1 โดยนำกระบะที่เพาะเส้นใยเห็ดโคนน้อยไปไว้ใน สภาวะที่มีมืดตลอดเวลา สภาวะที่มีแสงตลอดเวลา และสภาวะที่มีแสงสลับกับที่มีมืดอย่างละ 12 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าเมื่อเพาะเชื้อเห็ดโคนน้อยในที่มีมืดเส้นใยของเชื้อเห็ดจะมีการเจริญเร็วกว่าอีกสองสภาวะ แต่จะไม่มี การสร้างดอกเห็ดเลย สำหรับเชื้อเห็ดโคนน้อยที่เพาะในที่ที่มีแสงสลับกับที่มีมืดจะสร้างดอกเห็ดได้เร็วกว่าเชื้อเห็ดโคนน้อยที่เพาะในที่ที่มีแสงตลอดเวลา แต่จะสลายตัวเร็วกว่าด้วย

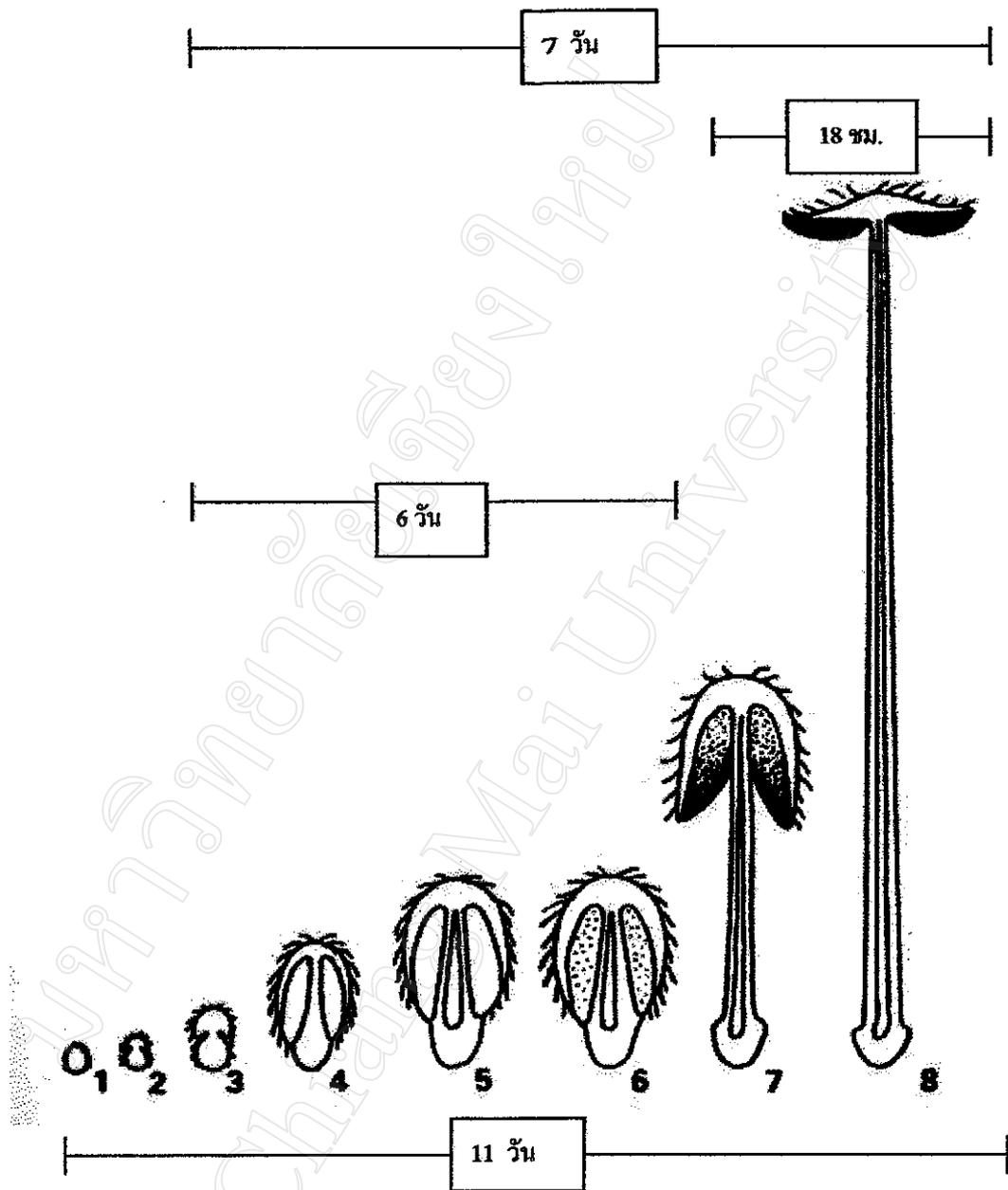
การทดสอบในขั้นที่ 2 เป็นการทดสอบคุณภาพของแสงสีต่าง ๆ โดยเฉพาะเชื้อเห็ดโคนน้อยบนฟางข้าวหมักผสมอาหารเสริม KAT 701 ในขวดรูปชมพู่ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงสีขาว แสงสีน้ำเงิน แสงสีแดง และในที่มืด พบว่า ในที่มืดเห็ดโคนน้อยจะมีการเจริญของเส้นใยได้เร็วที่สุด แต่ไม่มีการสร้างดอกเห็ด (ภาพ 19) สำหรับแสงสีที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด คือ แสงสีน้ำเงินมีความสามารถในการกระตุ้นให้เกิดตุ่มเห็ดได้ภายใน 4 วันหลังการเพาะเชื้อ รองลงมาคือ แสงสีแดง และแสงสีขาว ได้ภายใน 5 และ 7 วัน ตามลำดับ การเพาะเห็ดโคนน้อยภายใต้แสงสีน้ำเงินมีช่วงเวลากการเก็บผลผลิตโดยเฉลี่ยนานที่สุด คือ 14 วัน รองลงมา ได้แก่ แสงสีแดง 11 วัน และสีขาว 6 วัน ระยะเวลาการสลายตัวของดอกเห็ดโคนน้อยที่เพาะนับจากระยะที่ดอกเห็ดสมบูรณ์เต็มที่ภายใต้แสงสีขาว แสงสีน้ำเงิน และแสงสีแดง พบว่า มีระยะเวลาใกล้เคียงกัน คือ 16 - 18 ชั่วโมง ตามลำดับ (ภาพ 20 - 22)



(a)

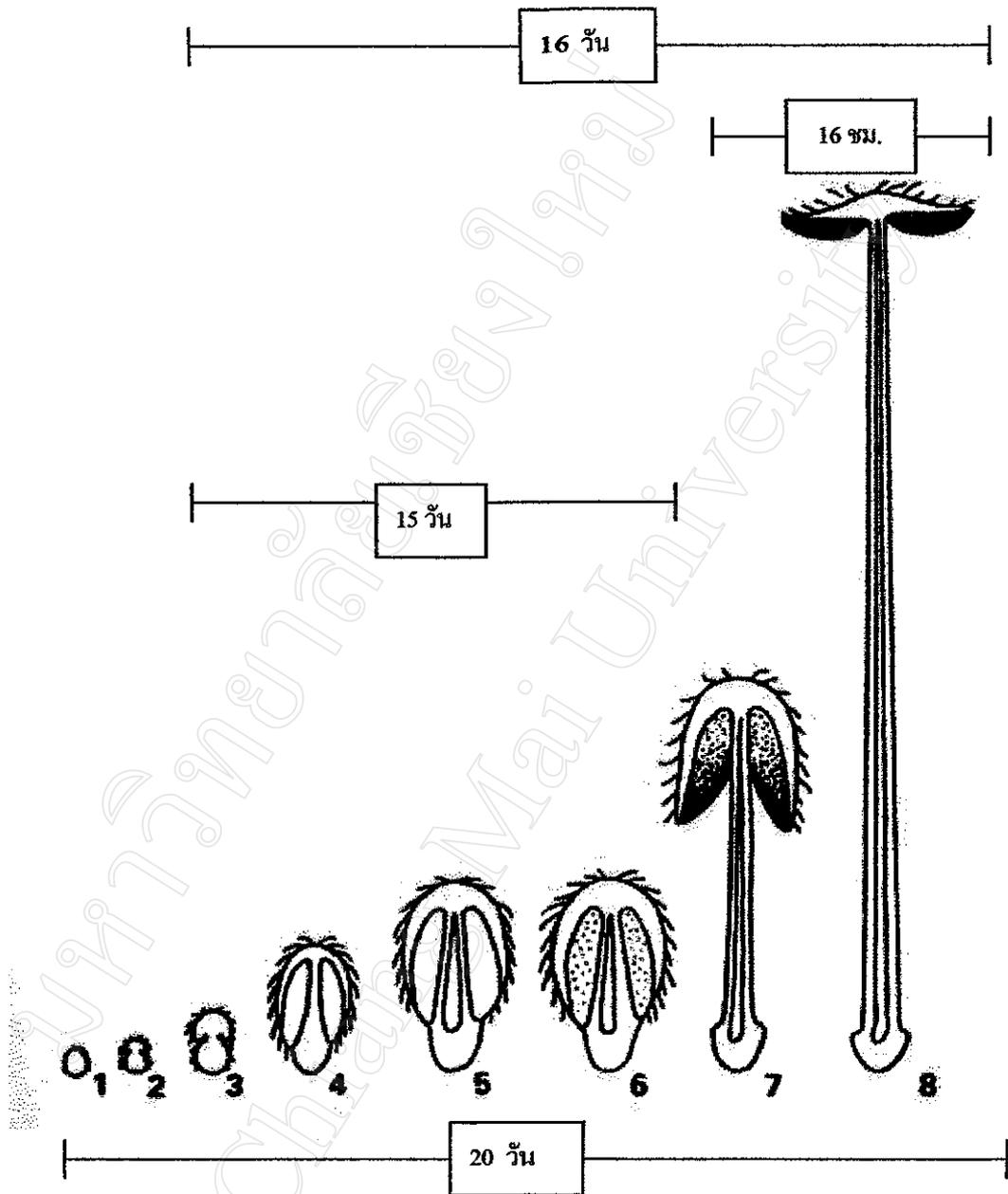
(b)

ภาพ 19 เชื้อเห็ดโคนน้อยบนฟางข้าวหมักผสมอาหารเสริม KAT 701 ในขวดรูปชมพู่ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ไม่สร้างดอกเห็ดเมื่อเจริญในที่มืด (a) เปรียบเทียบกับเชื้อเห็ดเมื่อเจริญในที่ที่มีแสงจะสร้างดอกเห็ดได้ (b)



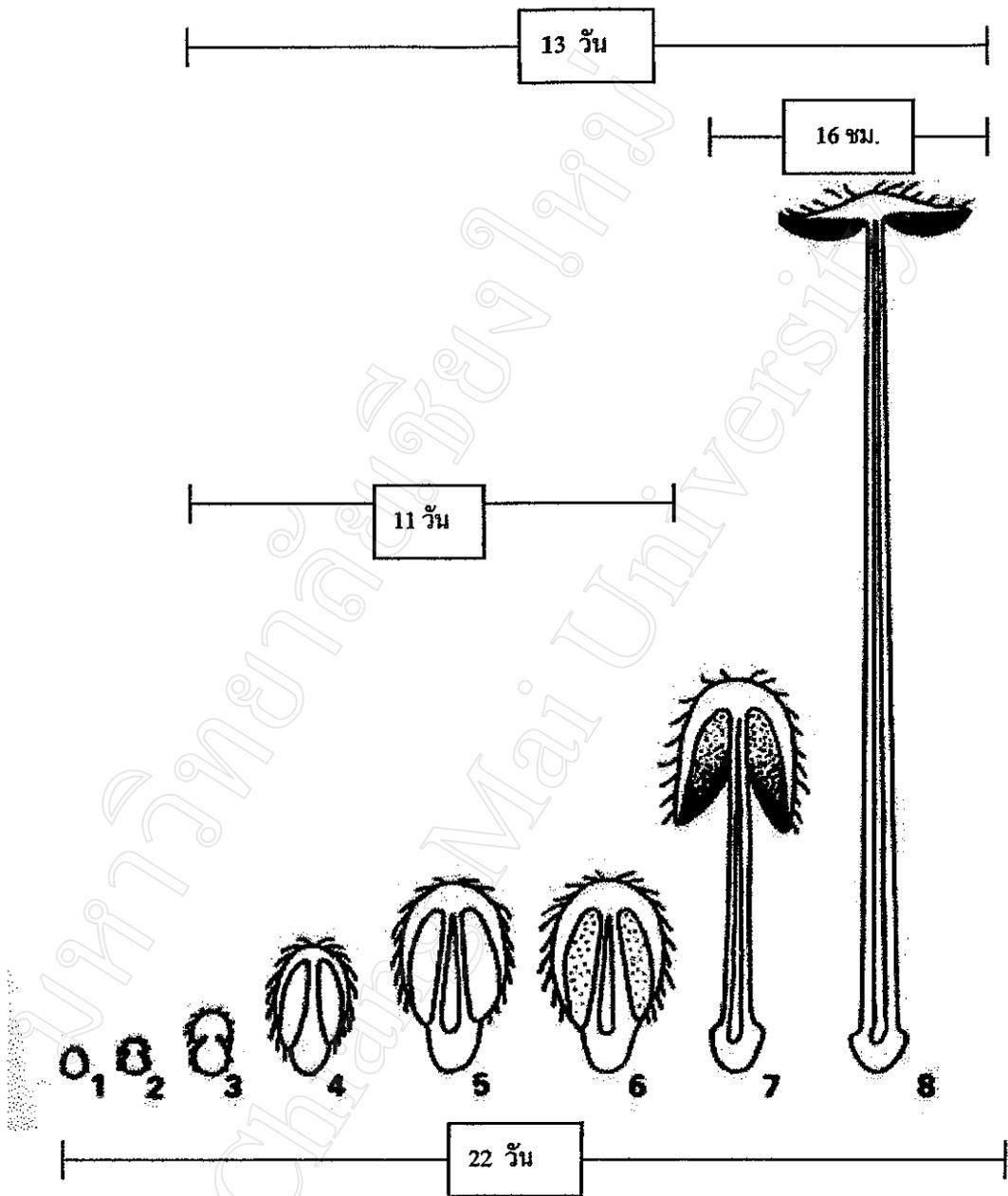
ภาพ 20 ระยะเวลาการเจริญของดอกเห็ดโคนน้อยโดยเฉลี่ย ภายใต้แสงสีขาว บนฟางข้าวหมักผสมอาหารเสริม KAT 701 ในกระบะพลาสติก ที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

- ระยะ 1 ตุ่มเห็ดเกิดภายหลังการเพาะเชื้อ 7 วัน
 ระยะ 1-2 ยังไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้
 ระยะ 3-6 สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้
 ระยะ 7-8 ดอกเห็ดเริ่มสลายตัว ไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้



ภาพ 21 ระยะเวลาการเจริญของดอกเห็ดโคนน้อยโคยเฉลี่ย ภายใต้แสงสีน้ำเงิน บนฟางข้าวหมักผสมอาหารเสริม KAT 701 ในกระบะพลาสติก ที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

- ระยะ 1 คุ่มเห็ดเกิดภายหลังจากเพาะเชื้อ 7 วัน
- ระยะ 1-2 ยังไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้
- ระยะ 3-6 สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้
- ระยะ 7-8 ดอกเห็ดเริ่มสลายตัว ไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้



ภาพ 22 ระยะเวลาการเจริญของดอกเห็ดโคนน้อยโดยเฉลี่ย ภายใต้แสงสีแดง บนฟางข้าวหมักผสมอาหารเสริม KAT 701 ในกระบะพลาสติก ที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

- ระยะ 1 คุ่มเห็ดเกิดภายหลังการเพาะเชื้อ 7 วัน
 ระยะ 1-2 ยังไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้
 ระยะ 3-6 สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้
 ระยะ 7-8 ดอกเห็ดเริ่มสลายตัว ไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้