ผลของ 1-Naphthaleneacetic acid และ 3-Benzyladenine ต่อการเจริญเติบโตของเห็ดห้า (*Phaeogyroporus portentosus* BERK. ET BROONE)

EFFECT OF 1-Naphthaleneacetic acid and 3-Benzyladenine ON THE GROWTH OF *Phaeogyroporus portentosus* (BERK. ET BROONE)

รัฐกานท์ จางคพิเชียร

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2553

©ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ผลของ 1-Naphthaleneacetic acid และ 3-Benzyladenine ต่อการเจริญเติบโตของเห็ดห้า (*Phaeogyroporus portentosus* BERK. ET BROONE)

EFFECT OF 1-Naphthaleneacetic acid and 3-Benzyladenine ON THE GROWTH OF *Phaeogyroporus portentosus* (BERK. ET BROONE)

รัฐกานท์ จางคพิเชียร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
2553
©ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ผลของ 1-Naphthaleneacetic acid และ 3-Benzyladenine ต่อการเจริญเติบโตของเห็ดห้า (*Phaeogyroporus portentosus* BERK. ET BROONE)

EFFECT OF 1-Naphthaleneacetic acid and 3-Benzyladenine ON THE GROWTH OF *Phaeogyroporus portentosus* (BERK. ET BROONE)

รัฐกานท์ จางคพิเชียร

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
2553

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธาน
(ดร. ปราณี อินประโคน)

.....กรรมการ
(ดร. ศรันยา ศรีสุวรรณ)

.....กรรมการ
(ดร. วัชรพงศ์ ศรีแสง)

.....กรรมการ
(ดร. สาโรจน์ นิตย์แสวง)

©ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยความช่วยเหลือ คำแนะนำอย่างดียิ่ง จากอาจารย์ ดร. ศรันยา ศรีสุวรรณ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้คำปรึกษา แนะนำ ตลอดจนตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ทุกขั้นตอน ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ได้อบรมสั่งสอนและถ่ายทอดความรู้ต่าง ๆ ให้แก่ผู้เขียนและขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือติดต่อประสานงาน และอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยด้วยดีตลอดมา

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. ปราณี อินประโคน อาจารย์ ดร. สาโรจน์ นิตย์แสวง และอาจารย์ ดร. วัชรพงศ์ ศรีแสง ที่ให้ความเมตตาสละเวลามาเป็นคณะกรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ และแนะนำแก้ไขข้อผิดพลาดของวิทยานิพนธ์เล่มนี้

ท้ายนี้คุณค่าและประโยชน์ใด ๆ อันเกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบแด่บิดามารดา ครอบครัว และผู้มีพระคุณทุกท่าน ที่ให้การสนับสนุนทางการศึกษาและให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยอย่างดีตลอดมา

รัฐกานท์ จางคพิเชียร

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ผลของ 1-Naphthaleneacetic acid และ 3-Benzyladenine ต่อการเจริญเติบโตของเห็ดห้า (*Phaeogyroporus portentosus* Berk. et Broone)

ชื่อผู้เขียน รัฐกานท์ จางคพิเชียร

หลักสูตร วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร. ศรันยา ศรีสุวรรณ

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ 1-Naphthaleneacetic acid ซึ่งเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มออกซินและ 3-Benzyladenine ซึ่งอยู่ในกลุ่มไซโตไคนินต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยและการสังเคราะห์ Primodial Fruiting body ของเห็ดห้า (Phaeogyroporus portentosus Berk. et Broone) โดยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสูตร Murashige and Skoog Vacin and Went และ Potato dextrose agar ที่มี 1-Naphthaleneacetic acid และ 3-Benzyladenine ในความเข้มข้นที่แตกต่างกันเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นเปรียบเทียบการเจริญเติบ โตของเส้นใยและการสังเคราะห์ Primodial Fruiting body ของเนื้อเยื่อเห็ดห้าโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง Colony ชั่งน้ำหนักสด และนับจำนวนการเกิด Primordial Fruiting body พบว่าเนื้อเยื่อเห็ดห้าเจริญเติบโตดีที่สุดในอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog ที่มี 1-Naphthalene acetic acid เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง Colony 4.98 เซนติเมตร และน้ำหนักสด 2.34 กรัม เนื้อเยื่อเห็ดห้าสามารถสังเคราะห์ Primordial Fruiting body ได้มากที่สุดในอาหารสูตร Murashige and Skoog ที่มี 3-Benzyladenine เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื้อเยื่อเห็ดห้าเจริญเติบโตได้น้อยในอาหารสังเคราะห์ในสูตร Potato dextrose agar และ Vacin and Went จากงานวิจัยแสดงให้เห็นว่าการใช้ความเข้มข้นของ 1-Naphthaleneacetic acid และ 3-Benzyladenine ที่เหมาะสมจะช่วยเร่งการเจริญเติบโตของเส้นใยและการสังเคราะห์ Primordial Fruiting body ได้ ซึ่งสามารถนำผลการทดลองที่ได้มาพัฒนาการเพาะเลี้ยงเห็ดห้าในการเกษตรได้ในเชิงการค้า

คำสำคัญ : เห็ดห้า / ฮอร์โมนพืช / ออกซิน / ไซโตไคนิน / อาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog

Thesis Title	Effect of 1-Naphthaleneacetic acid and 3-Benzyladenine on the growth of *Phaeogyroporus portentosus* (Berk. et Broone).
Auther	Rattakarn Jangcapichian
Degree	Master of Science (Biotechnology)
Supervisory committee	Dr. Saranya Srisuwan

ABSTRACT

This work studied the effect of 1-naphthaleneacetic acid and 3-Benzyladenine on mycelial development and fruiting body induction of *Phaeogyroporus portentosus*. Strains of *P. portentosus* were cultured on Murashige and Skoog, Vacin and Went, Potato dextrose agar media with various concentrations of 1-naphthaleneacetic acid and 3-Benzyladenine at room temperature. Evaluation of growth and development of *P. portentosus* were assessed by using colony diameter, fresh weight and number of primordial fruiting bodies after 4 weeks of cultivation. Mycelium showed the best growth in Murashige and Skoog medium supplemented with 1 mg/l 1-naphthaleneacetic acid with The average diameter of the colony was 4.98 cm. and fresh weigh was 2.34 g. The highest numbers of primordial fruiting bodies were obtained in Murashige and Skoog medium supplemented with 0.5 mg/l 3-Benzyladenine. Therefore, the appropriate concentration of 1-naphthaleneacetic acid and 3-Benzyladenine can stimulate growth of mycelium and primordial fruiting body production of *P. portentosus in vitro* cultivation.

Keywords: *Phaeogyroporus portentosus* / plant hormone / auxin / cytokinin / MS medium

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ **(3)**

บทคัดย่อภาษาไทย **(4)**

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ **(5)**

สารบัญภาพ **(8)**

บทที่

1 บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 2

1.3 ตัวแปรที่ศึกษา 2

1.4 ขอบเขตของการวิจัย 3

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 4

1.6 นิยามศัพท์เฉพาะ 5

2 ทบทวนวรรณกรรม **6**

2.1 ไมคอร์ไรซา 6

2.2 เห็ดห้า 9

2.3 ฮอร์โมนพืช 12

2.4 ผลของฮอร์โมนพืชต่อเอคโตไมคอร์ซา 20

3 ระเบียบวิธีวิจัย **21**

3.1 ขั้นตอนและวิธีการเก็บรวมรวมข้อมูล 21

3.2 แผนผังสรุปการทดลอง 23

3.3 การวิเคราะห์ข้อมูลและประมวลผล 27

3.4 สถิติที่ใช้ในการวิจัย 27

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่	
4 ผลและอภิปรายผลของการศึกษา	**28**
4.1 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS VW และ PDA	28
4.2 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี NAA หรือ BA ที่มีความเข้มข้นต่างกัน	32
4.3 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี NAA ร่วมกับ BA	42
4.4 การเกิดดอกเห็ดระยะเริ่มต้นบนเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS	45
4.5 วิเคราะห์ผลการทดลอง	49
5 สรุปผล และข้อเสนอแนะ	**52**
5.1 สรุปผลการวิจัย	52
5.2 ข้อเสนอแนะ	53
รายการอ้างอิง	**54**
ภาคผนวก	**57**
ภาคผนวก ก ผลวิเคราะห์สถิติ	58
ภาคผนวก ข ตารางสูตรอาหาร VW PDA และ MS	82
ประวัติผู้เขียน	**84**

สารบัญภาพ

ภาพ **หน้า**

2.1 ลักษณะเส้นใยของโตไมคอร์ไรซ่าโดยที่เส้นใยจะเจริญเติบโตและห่อหุ้มอยู่รอบราก 8

2.2 ลักษณะภายนอกของเห็ดห้าจากรูปเป็นเห็ดห้าที่วางจำหน่ายตามท้องตลาด 10

2.3 แกงเห็ดห้าเป็นอาหารทีนิยมรับประทานในภาคเหนือ 10

2.4 วงจรชีวิตของเห็ดห้า 11

2.5 โครงสร้างของ NAA 16

2.6 โครงสร้างของ BA 19

3.1 แผนผังการทดลอง 1 24

3.2 แผนผังการทดลอง 2 25

3.3 แผนผังการทดลอง 3 26

4.1 การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดในอาหารสังเคราะห์สูตร PDA VW และ MS 30

4.2 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์ MS VW และ PDA โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางเมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์ 31

4.3 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS VW และ PDA โดยการชั่งน้ำหนักสดเมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์ 31

4.4 การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีความเข้มข้นของ BA ต่างกัน 33

4.5 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีฮอร์โมน BA ในความเข้มข้นของฮอร์โมนที่แตกต่างกันโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางเมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์ 36

4.6 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีฮอร์โมน BA ในความเข้มข้นของฮอร์โมนที่แตกต่างกันโดยการชั่งน้ำหนักสดเมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์ 36

4.7 การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีความเข้มข้นของ NAA ต่างกัน 38

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ **หน้า**

4.8 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีฮอร์โมน NAA ในความเข้มข้นของฮอร์โมนที่แตกต่างกันโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางเมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์ 40

4.9 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีฮอร์โมน NAA ในความเข้มข้นของฮอร์โมนที่แตกต่างกันโดยการชั่งน้ำหนักสดเมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์ 40

4.10 การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีความเข้มข้นของ NAA ร่วมกับ BA 43

4.11 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ในความเข้มข้นของฮอร์โมน NAA และ BA ในอัตราส่วนที่แตกต่างกันโดยวัดเส้นศูนย์กลางเมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์ 44

4.12 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ในความเข้มข้นของฮอร์โมน NAA และ BA ในอัตราส่วนที่แตกต่างกันโดยการชั่งน้ำหนักสดเมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์ 44

4.13 การเกิดดอกเห็ดระยะเริ่มต้นบนเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS 46

4.14 การเกิดดอกเห็ดระยะเริ่มต้นบนเนื้อเยื่อเห็ดห้า 47

4.15 เนื้อเยื่อเห็ดห้าจากเห็ดห้าสดและเห็ดห้าที่เกิดขึ้นบนเนื้อเยื่อโดยส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ 48

4.16 เนื้อเยื่อเห็ดห้าที่เจริญเติบโตในถุงเพาะเลี้ยง 48

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

เห็ดห้า (เห็ดผึ้ง: ภาคอีสาน, เห็ดตับเต่า: ภาคกลาง) จัดอยู่ในกลุ่ม Order Boletales Family Boletinellacae Genus Phaeogyroporus มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ Phaeogyroporus *portentosus* (Berk.et Broone) เห็ดห้าเป็นราที่อยู่ในกลุ่มไมคอร์ไรซ่า ซึ่งต้องเจริญเติบโตอยู่ร่วมกับรากของไม้ยืนต้นแบบพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน ต้นไม้ที่พบว่ามีเห็ดห้าขึ้นได้แก่ ต้นลำไย ต้นทองหลาง ต้นแค ต้นลิ้นจี่ และต้นส้มโอ

จากการที่เห็ดชนิดนี้ต้องดำรงชีพแบบพึ่งพาต้นไม้ใหญ่จึงทำให้ไม่สามารถเพาะเลี้ยงในเชิงการค้าได้ ในการพยายามเพาะเห็ดห้าในอดีตที่ผ่านมามีดังต่อไปนี้ ดีพร้อม ไชยวงศ์เกียรติ(2550) ได้ทำการเพาะเห็ดห้าโดยการนำดินที่เคยมีเห็ดห้าขึ้นโรยใต้ต้นลำไยหรือนำดอกเห็ดมาบดในน้ำแล้วนำมารดใต้ต้นลำไยปกคลุมด้วยดิน ใบไม้ เศษพืช และรดน้ำทุกวัน เห็ดห้าเจริญเติบโตโดยใช้ระยะเวลาประมาณ 3 เดือน จากที่กล่าวมาสามารถสรุปได้ว่าเห็ดห้าสามารถเพาะปลูกได้แต่ต้องปลูกบริเวณใต้ต้นไม้ยืนต้นโดยทำให้เส้นใยของเห็ดห้าเจริญเติบโตร่วมกับรากโดยอาศัยธาตุอาหารในการเจริญเติบโตออกมาเป็นดอกเห็ดที่สมบูรณ์ (Fruiting bodies) นอกเหนือจากนี้ยังมีงานวิจัยที่เกี่ยวของกับรากลุ่มไมคอไรซาดังต่อไปนี้ มาเกอิ และโอฮาร่า (Magae & Ohara, 2006) ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ของการเจริญเติบโตของรากลุ่มไมคอร์ไรซ่า ที่ชื่อ *Pleurotus ostreatus* กับสารกลุ่ม triterpenoid saponins โดยนำเนื้อเยื่อของ *P. ostreatus* มาเพาะเลี้ยงในเพลตอาหารสูตร minimal media (MA) ที่มีสารกลุ่ม Betulinic saponin โดยทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป9 วันเนื้อเยื่อของ *P. ostreatus* สามารถสังเคราะห์ดอกเห็ดระยะเริ่มต้น(Primordial Fruiting bodies) ได้ ลำยอง, แสนมี และลำยอง (Lumyong, S., Sanmee & lumyong, P., 2007) ได้ทำการทดลองเพาะเลี้ยงเห็ดห้าโดยเก็บตัวอย่างเห็ดห้าจาก อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงรายโดยแยกเนื้อเยื่อเลี้ยงในอาหารสูตร Murashige and Skoog ในอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส pH 4 พบว่าเนื้อเยื่อเห็ดห้าสามารถเจริญเติบโตได้จากนั้นนำเนื้อเยื่อเห็ดห้ามาเพาะเลี้ยงในอาหาร

สูตร MS ที่ผสมกับเมล็ดข้าวไรย์ เมล็ดข้าวบาร์เลย์ เมล็ดข้าวฟ่าง และไม้ยางพาราบด พบว่าเนื้อเยื่อเห็ดห้าสามารถสังเคราะห์ดอกเห็ดระยะเริ่มต้นได้

จากงานวิจัยที่กล่าวมานั้นพบว่าสารที่สังเคราะห์ในพืช ค่า pH และเมล็ดพืชบดบางชนิดมีส่วนช่วยในการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อและการสังเคราะห์ดอกเห็ดระยะเริ่มต้นของรากลุ่มไมคอร์ไรซ่า แต่อย่างไรก็ตามงานวิจัยด้านการเพาะเลี้ยงเห็ดชนิดนี้เมื่อเปรียบเทียบกับเห็ดที่รับประทานได้ชนิดอื่น ๆ มีน้อยมากและการชักนำการเกิดดอกเห็ดที่สมบูรณ์ (Fruiting body) ยังไม่ประสบความสำเร็จ จนสามารถนำมาใช้ในเชิงการค้าได้ และประการสำคัญยังมีปัจจัยอื่นๆ อีกหลายอย่างที่น่าจะมีส่วนเกี่ยวข้องในการสร้างดอกเห็ด โดยเฉพาะฮอร์โมนพืชนั้นยังไม่เคยมีการศึกษาว่ามีส่วนเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าหรือไม่ ดังนั้นในงานวิจัยเรื่องนี้จึงศึกษาเกี่ยวกับผลของฮอร์โมนพืชกลุ่มออกซินและไซโตไคนินที่มีต่อการเจริญเติบโตของเห็ดห้า (*P. portentosus*) โดยใช้ 1-Naphthaleneacetic acid (NAA) และ 3-Benzyladenine (BA) เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาวิธีการเพาะเห็ดห้าในเชิงการค้าต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของเส้นใยเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS Vacin and Went (VW) และ Potato dextrose agar (PDA)

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของ NAA และ BA ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้า

1.2.3 เพื่อศึกษาผลของ NAA และ BA ที่มีผลต่อการชักนำทำให้เกิดดอกเห็ดระยะเริ่มต้นของเนื้อเยื่อเห็ดห้า

1.3 ตัวแปรที่ศึกษา

ตัวแปรต้น : ฮอร์โมนพืช อาหารเลี้ยงเชื้อ

ตัวแปรตาม : การเจริญเติบโตของเห็ดห้าและการเกิดดอกเห็ดที่สมบูรณ์

ตัวแปรควบคุม : ปริมาณอาหาร ปริมาตรภาชนะ และแสงสว่าง

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

1.4.1 ขอบเขตด้านเนื้อหา

เห็ดห้า (*P. portentosus*) เป็นตัวอย่างเห็ดห้าที่เก็บจาก 3 แหล่ง คือ (1) ต. นางแล อ.เมือง จ.เชียงราย (2) ต.บ้านดู่ อ.เมือง จ.เชียงราย และ (3) ต.เวียง อ.เทิง จ.เชียงราย และนำเนื้อเยื่อเห็ดห้ามาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS VW และ PDA ตามขั้นตอนดังต่อไปนี้

1.4.1.1 ขั้นทดสอบการเจริญเติบโตในอาหารสูตร MS , VW และ PDA

1. VW

   VW BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

   VW NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

2. MS

   MS BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

   MS NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

3. PDA

   PDA MS BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

   PDA MS NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

1.4.1.2 ขั้นทดสอบการเจริญเติบโตในอาหารสูตร MS ที่มี 1-Naphthaleneacetic acid (NAA) และ 3-Benzyladenine (BA)

1. MS

   MS NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

   MS NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

   MS NAA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

   MS NAA 15 มิลลิกรัมต่อลิตร

   MS NAA 20 มิลลิกรัมต่อลิตร

\ MS NAA 40 มิลลิกรัมต่อลิตร

2. MS

MS BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

MS BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

MS BA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

MS BA 15 มิลลิกรัมต่อลิตร

MS BA 20 มิลลิกรัมต่อลิตร

MS BA 40 มิลลิกรัมต่อลิตร

1.4.1.3 ขั้นทดสอบการเจริญเติบโตในอาหารสูตร MS ที่มี 1-Naphthaleneacetic acid (NAA) ร่วมกับ 3-Benzyladenine (BA)

1. MS

MS BA 0.5 + NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

MS BA 1 + NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

MS BA 0.5 + NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

MS BA 1 + NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

1.4.2 สถานที่ที่ศึกษา

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง อ.เมือง จ.เชียงราย

1.4.3 ระยะเวลาที่ศึกษา

1 ปีการศึกษา (เดือนพฤศจิกายน 2551 - เดือนตุลาคม 2552)

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

เพื่อนำผลการวิจัยที่ได้มาพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงเห็ดห้าตามวิถีทางภูมิปัญญาท้องถิ่น ซึ่งกระทำการเพาะเลี้ยงเห็ดห้าโดยนำรากไม้มะกอกหรือดินที่เคยมีเห็ดห้าเจริญเติบโตขึ้นมาตากให้แห้งและโรยใต้ต้นมะกอก ปล่อยทิ้งไว้ให้เห็ดห้าเจริญเติบโตขึ้นมาเองและสามารถพัฒนาเป็นองค์ความรู้ใหม่สำหรับวิธีการเพาะเลี้ยงเห็ดห้าเพื่อนำใช้ในการเพาะเห็ดห้าในเชิงอุตสาหกรรมและเพาะเลี้ยงในเชิงเกษตรกรรมเพื่อเสริมรายได้ในครัวเรือนให้เกษตรกรในแต่ละท้องถิ่น

1.6 นิยามศัพท์เฉพาะ

MS อาหารสังเคราะห์สำหรับการเพาะเลี้ยงไม้ยืนต้น ชนิด Murashige and Skoog

PDA อาหารสังเคราะห์สำหรับการเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย ชนิด Potato dextrose agar

VW อาหารสังเคราะห์สำหรับการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ ชนิด Vacin and Went

NAA สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มออกซิน ชนิด 1-Naphthaleneacetic acid

BA สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มไซโตนิน ชนิด 3-Benzyladenine

Primodial Fruiting Body ดอกเห็ดที่เจริญเติบโตในขั้นต้นยังไม่เป็นเห็ดที่สมบูรณ์

Fruiting Body ดอกเห็ดที่สมบูรณ์

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

2.1 ไมคอร์ไรซา

ภายในรากพืชส่วนใหญ่ ทั้งพืชที่ขึ้นเองตามธรรมชาติและพืชที่เติบโตจากการเพาะปลูก มักจะมีเชื้อไมคอร์ไรซาเจริญร่วมอยู่ด้วย คำว่า mycorrhiza เป็นคำมาจากภาษากรีกว่า Mykesหมายถึง fungus ซึ่งได้แก่พวกเห็ดรา ผสมกับคำว่า rhiza แปลว่า รากของพืช ดังนั้นคำว่าไมคอร์ไรซา หมายถึง การอยู่ร่วมกันระหว่างรากับรากพืช มักเป็นการอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพากัน(mutualistic symbiosis) เส้นใยของเชื้อราเจริญอยู่ในชั้นคอร์เทกซ์ (cortex) ของรากพืชและมีเส้นใยที่เจริญยื่นออกมานอกราก (external hyphae) ซึ่งจะช่วยเพิ่มการดูดซับน้ำและแร่ธาตุให้แก่พืชทำให้พืชมีการเจริญเติบโตได้มากขึ้น ในขณะเดียวกันเชื้อราก็ได้รับได้สารอาหารจากการสังเคราะห์แสงและเจริญเติบโตของพืชด้วย นอกจากนี้เชื้อราช่วยให้พืชมีความต้านทานโรคได้มากขึ้นไมคอร์ไรซามี 7 ชนิด แบ่งตามความแตกต่างของกลุ่มเชื้อรา พืชให้อาศัย (host plant) และความแตกต่างทางโครงสร้างของไมคอร์ไรซา ได้แก่ (1) อาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (arbuscularmycorrhiza) (2) เอคโตไมคอร์ไรซา (ectomycorrhiza) (3) ออร์คิดไมคอร์ไรซา (orchidmycorrhiza) (4) เอคเท็นโดไมคอร์ไรซา (ectendomycorrhiza) (5) อีริคอยด์ไมคอร์ไรซา (ericoidmycorrhiza) (6) อาร์บูทอยไมคอร์ไรซา (arbutoidmycorrhiza) (7) โมโนโทรพอยด์ไมคอร์ไรซา (monotropoidmycorrhiza) ในงานวิจัยเรื่องนี้จะสนใจเฉพาะเชื้อราที่อยู่ในกลุ่มของเอคโตไมคอร์ไรซา

2.1.1 เอคโตไมคอร์ไรซา

เอคโตไมคอร์ไรซา เป็นความสัมพันธ์แบบพึ่งพากันระหว่างราชั้นสูงที่อาศัยอยู่ร่วมกับรากของพืชดอกและพืชเมล็ดเปลือย รากที่มีเชื้อราเอคโตไมคอร์ไรซาอาศัยร่วมอยู่ด้วยมีลักษณะที่ประกอบด้วยชั้นของเส้นใยที่หุ้มอยู่รอบราก เส้นใยที่แทรกอยู่ระหว่างเซลล์ของพืชในชั้นคอร์เทกซ์และเส้นใยส่วนที่ยื่นออกนอกรากที่แผ่กระจายลงในดิน ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการดูดธาตุอาหารให้แก่พืชและการหมุนเวียนธาตุอาหารในระบบนิเวศ ลักษณะรากของพืชที่มีเอคโตไมคอร์ไรซาจะเป็นรากแขนง (lateral root) มีลักษณะสั้นและแตกแขนงมากเรียกรากลักษณะนี้ว่า heterorhizy ตัวอย่างรากที่นำมาตรวจสอบ สามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่าถึงลักษณะรากที่มีเอคโตไมคอร์ไรซาและสามารถเห็นได้ชัดเจนมากขึ้นภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสามมิติ พืชอาศัยของเอคโตไมคอร์ไรซาส่วนใหญ่เป็นไม้ยืนต้น (trees) หรือไม้พุ่ม (shrubs) พืชที่มีเอคโตไมคอร์ไรซาส่วนใหญ่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์อาศัยอยู่ด้วย ตัวอย่างพืชที่มีเอคโตไมคอร์ไรซาร่วมอยู่ด้วย ได้แก่ สน ยูคาลิปตัส ก่อ หว้า โมก มะค่า เสี้ยว ยาง ตะเคียน พลวง พะยอม เต็ง รัง เป็นต้น เอคโตไมคอร์ไรซาบางชนิดมีความเฉพาะเจาะจงกับชนิดของพืชที่อาศัยสูง ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับอิทธิพลของสารชนิดต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเอคโตไมคอร์ไรซา ดังนี้

แอกเกากัน, เดล และมาแลกซัก (Aggangan, Dell & Malajczuk, 1997) ได้ศึกษาอิทธิพลของโลหะหนักต่อการเจริญเติบโตของราเอคโตไมคอร์ไรซา พบว่าโลหะหนักชนิด nikel และ chromium มีผลต่อการเจริญเติบโตของราเอคโตไมคอร์ไรซา ชื่อ *Pisolithus*

มาเกอิ และโอฮาร่า (Magae & Ohara, 2006) ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ของการเจริญเติบโตของรากลุ่มไมคอร์ไรซ่าที่ชื่อ *Pleurotus ostreatus* กับสารกลุ่ม triterpenoid saponins โดยนำเนื้อเยื่อของ *P. ostreatus* มาเพาะเลี้ยงในเพลตอาหารสูตร minimal media (MA) ที่มีสารกลุ่ม Betulinic saponin โดยทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 9 วัน เนื้อเยื่อของ *P. ostreatus* สามารถสังเคราะห์ดอกเห็ดระยะเริ่มต้น (Primordial Fruiting bodies) ได้

ยามานากะ (Yamanaka, 2001) พบว่าสารยูเรียช่วยทำให้การเจริญเติบโตของ mycelium และการ สังเคราะห์ Fruiting body ของรา *Tephrocybe tesquorum* ซึ่งอยู่ในกลุ่ม Ectomycorrhiza Ammonia fungus ดีขึ้น

ยามานากะ (Yamanaka, 2003) พบว่าค่า pH มีผลต่อการเจริญเติบโตของราในกลุ่ม Ectomycorrhiza Ammonia

จาก http://bugs.bio.usyd.edu.au/learning/resources/Mycology/Plant_Interactions/Mycorrhizas/mycorrhizas.shtml 21 กรกฎาคม 2553

ภาพที่ 2.1 ลักษณะเส้นใยของโตไมคอร์ไรซ่าโดยที่เส้นใยจะเจริญเติบโตและห่อหุ้มอยู่รอบราก

2.1.2 การเข้าสู่รากของเชื้อราเอคโตไมคอร์ไรซา

เอคโตไมคอร์ไรซาอาจเกิดได้จากเส้นใยของเชื้อราที่ยื่นออกมาจาก mantle sheat ของรากที่มีเอคโตไมคอร์ไรซาเจริญแผ่ออกไปในดินและไปสัมผัสกับรากส่วนอื่นที่ยังไม่มีเอคโตไมคอร์ไรซาหรืออาจจะเกิดจากเส้นใยของเชื้อราเอคโตไมคอร์ไรซาจากแหล่งอื่น รวมทั้งเส้นใยของเชื้อรานี้ที่งอกจากสปอร์ที่อยู่ใกล้ชิดกับรากของพืชอาศัยสารอินทรีย์ที่รากของพืชขับออกมา (root exudate) สู่บริเวณรอบราก (rhizosphere) สารที่ขับออกมานี้บางชนิดสามารถกระตุ้นการงอกของสปอร์ของเชื้อราหรือเป็นอาหารของเชื้อราดึงดูดให้เส้นใยเจริญเข้าหาผิวราก เส้นใยของเชื้อราเอคโตไมคอร์ไรซาที่สัมผัสกับผิวรากของพืชอาศัยและยึดติดกับเซลล์ของเนื้อเยื่อชั้นผิว (epidermal cell) ของรากแขนงเป็นระยะเวลาประมาณ 1-2 วัน และเริ่มมีการสร้างเส้นใยหุ้มราก (mentle hyphae) และเส้นใยของเชื้อราแทรกเข้าไปในระหว่างเซลล์ของเนื้อเยื่อชั้นผิวของพืชดอกหลายชนิด หรือแทรกเข้าไปในระหว่างเซลล์คอร์เทกซ์ของรากพืชในพวกเมล็ดเปลือย และมีการแตกแขนงของเส้นใยและพันกันไปมาเรียกว่า Hartig net ซึ่งจะพบประมาณวันที่ 4 หลังจากที่เชื้อราสัมผัสกับรากพืช Hartig net มีความสำคัญในการแลกเปลี่ยนสารอาหารระหว่างเชื้อราและพืชอาศัย หลังจากนั้นรากจะมี

ลักษณะสั้นและแตกแขนงมาก รากที่มีเชื้อราเอคโตไมคอร์ไรซาจะมีขนาด สี และรูปแบบของการแตกแขนงที่มีลักษณะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของพืชและชนิดของเชื้อราที่อาศัยอยู่ร่วมกัน

2.1.3 การจัดหมวดหมู่ของเชื้อราเอคโตไมคอร์ไรซา

ราชั้นสูง (higher fungi) ที่อยู่ในไฟลัม Basidiomycota และ Ascomycota ส่วนใหญ่เป็นพวกที่ดำรงชีวิตโดยได้อาหารจากซากของสิ่งมีชีวิต (saprothrophic fungi) บางชนิดเป็นปรสิต (parasite) ของสิ่งมีชีวิตอื่น และบางชนิดเป็นเอคโตไมคอร์ไรซากับไม้ยืนต้นและไม้พุ่มบางชนิด เชื้อราที่เป็นเอคโตไมคอร์ไรซามีน้อยมากที่พบในพวกราชั้นต่ำ (lower fungi) ซึ่งอยู่ในไฟลัม Zygomycetes อันดับ Endogonales วงศ์ Endogonaceae และมีเพียง 2 สกุล ได้แก่ Endogone และ Sclero

2.2 เห็ดห้า

2.2.1 ข้อมูลทั่วไป

ชื่อสามัญ : Bolete

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Phaeogyroporus portentosus* (Berk. & Broome)

ชื่ออื่น : ภาคกลางเรียกว่า เห็ดตับเต่า ภาคอีสานเรียกว่า เห็ดน้ำผึ้ง

ถิ่นกำเนิด : ในแถบประเทศที่มีอากาศชื้น พบมากในกลุ่มประเทศในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และกลุ่มประเทศในแถบโอเชียเนีย

ลักษณะทางพฤกษศาตร์ : หมวกเห็ดเป็นรูปกระทะคว่ำ เส้นผ่าศูนย์กลาง 12-30 เซนติเมตร ดอกอ่อนมีขนละเอียดคล้ายกำมะหยี่สีน้ำตาล เมื่อบานเต็มที่ กลางหมวกเว้าเล็กน้อย ผิวสีน้ำตาลเข้มอมเหลืองอ่อน ปริแตกเป็นแห่งๆ ด้านล่างของหมวกมีรูกลมเล็กๆ เหลือง ปากรูเชื่อมติดเป็นเนื้อเดียวกัน เมื่อบานเต็มที่เนื้อจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอมเขียวหม่น และเขียวหม่นอมน้ำตาล ก้านอวบใหญ่สีน้ำตาลอมเหลือง โคนก้านโป่งเป็นกระเปาะ ส่วนนูนและเว้าเป็นร่องลึก เมื่อตัดหรือหั่นถูกอากาศ เนื้อเห็ดตับเต่าจะสีน้ำเงินอมเขียว ลักษณะของเห็ดห้าที่วางจำหน่ายตามท้องตลาดแสดงในภาพที่ 2

ภาพที่ 2.2 ลักษณะภายนอกของเห็ดห้าจากรูปเป็นเห็ดห้าที่วางจำหน่ายตามท้องตลาด

ฤดูกาล : ต้นฤดูฝนและปลายฤดูฝน

แหล่งที่พบในประเทศไทย : พบได้ในป่าทั่วไปตามภาคเหนือและภาคใต้

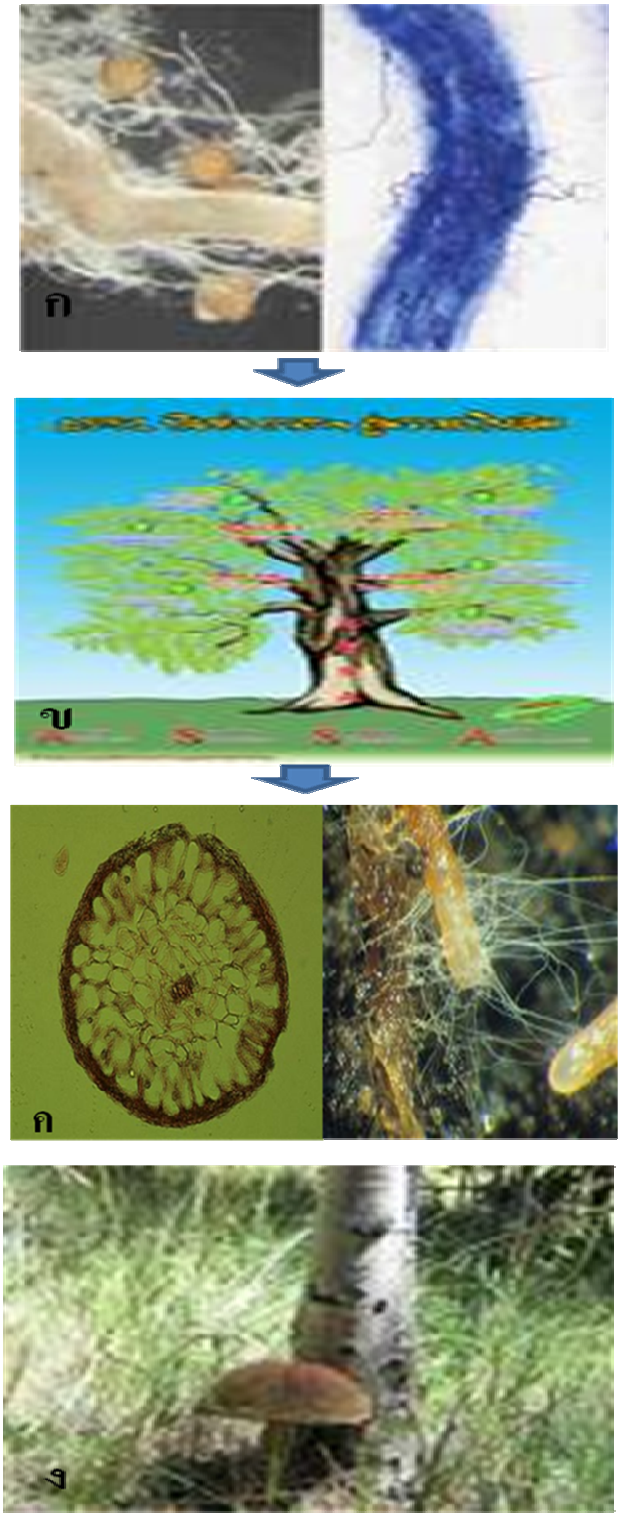
แหล่งที่อยู่อาศัยและเจริญเติบโตของเห็ดห้า : มักเจริญเติบโตใต้ต้นไม้ยืนต้น ได้แก่ ขนุน ลำไย ยูคาลิปตัส มะขาม หว้า มะกอกน้ำ มะม่วง เป็นต้น

การรับประทาน : เห็ดห้าสามารถนำมาประกอบอาหารได้หลายประเภท ได้แก่ ยำ แกง ผัด เป็นต้น แกงเห็ดห้าเป็นที่นิยมรับประทานมากในภาคเหนือ (ภาพที่ 3)

ภาพที่ 2.3 แกงเห็ดห้าเป็นอาหารทีนิยมรับประทานในภาคเหนือ

สรรพคุณทางยา : ช่วยในการบำรุงกำลัง บำรุงตับ บำรุงปอด อีกทั้งยังช่วยบำบัดอาการปวดหลัง ปวดเอ็นข้อ ปวดกระดูก และช่วยบำรุงโลหิตและยังมีกรดอะมิโนที่สำคัญ 8 ชนิด ซึ่งมีประโยชน์ต่อร่างกาย

2.2.2 วงจรชีวิต



ภาพที่ 2.4 วงจรชีวิตของเห็ดห้า

วงจรชีวิตของเห็ดห้าเริ่มจากสปอร์ของเห็ดห้า (ก) กระจายมายังรากของพืชที่อยู่อาศัยของเห็ดห้า (ข) จากนั้นก็จะเจริญเติบโตเป็นใยเส้นแผ่ขยายรอบๆ ราก (ค) เมื่อเส้นใยได้รับธาตุอาหารที่เพียงพอ อุณหภูมิและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมก็จะเจริญเติบโตเป็นดอกเห็ดที่สมบูรณ์ (ง)

2.2.3 การเพาะเลี้ยงเห็ดห้า

2.2.3.1 การเพาะเลี้ยงเห็ดห้าโดยวิธีการตามภูมิปัญญาท้องถิ่น

ดีพร้อม ไชยวงศ์เกียรติ (2550) ได้ทำการเพาะเห็ดห้าโดยการนำดินที่เคยมีเห็ดห้าขึ้นโรยใต้ต้นลำไย หรือนำดอกเห็ดมาบดในน้ำแล้วนำมารดใต้ต้นลำไยปกคลุมด้วยดิน ใบไม้ เศษพืช และรดน้ำทุกวันนอกจากต้นลำไยแล้วยังพบเห็ดห้างอกขึ้นตามใต้ต้นทองหลาง ต้นแค ต้นลิ้นจี่ ต้นส้มโอ

มงคล อุตกลิ้ง (สัมภาษณ์ 1 ตุลาคม 2552) ได้แนะนำวิธีการเพาะเห็ดห้าโดยนำรากต้นมะกอกบดและโรยใต้ต้นมะกอกต้นอื่น ๆ ปล่อยทิ้งไว้ปล่อยให้เห็ดห้างอกขึ้นมาเอง

2.2.3.2 การเพาะเลี้ยงเห็ดห้าในห้องปฏิบัติการ

ลำยอง และคณะ (Lumyong et al., 2007) ได้ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเห็ดห้าโดยเก็บตัวอย่างเห็ดห้าจาก อ.เวียงป่าเป้า จ. เชียงราย ในอาหารสูตร MS ที่มีองค์ประกอบแตกต่างกันในอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส pH 4 พบว่าเนื้อเยื่อเห็ดห้าสามารถเจริญเติบโตได้ จากนั้นนำเนื้อเยื่อเห็ดห้ามาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ผสมกับเมล็ดข้าวไรย์ เมล็ดข้าวบาร์เลย์ เมล็ดข้าวฟ่าง และไม้ยางพาราบด พบว่าเนื้อเยื่อเห็ดห้าสามารถสร้างดอกเห็ดระยะเริ่มต้นได้

2.3 ฮอร์โมนพืช

ฮอร์โมนพืชเป็นสารเคมีภายในพืชซึ่งเกี่ยวข้องกับการเจริญของพืช ไม่เพียงแต่การเจริญของพืชทั้งต้นเท่านั้น หากแต่ยังเกี่ยวข้องกับการเจริญของพืชแต่ละส่วนด้วย ในปัจจุบันฮอร์โมนพืชมีทั้งชนิดที่กระตุ้นการเจริญเติบโตและระงับการเจริญเติบโต ฮอร์โมนพืชที่พบในปัจจุบัน คือ ออกซิน (Auxin) จิบเบอเรลลิน (Gibberellins) ไซโตไคนิน(Cytokinins) กรดแอบซิสิค (Abscisic Acid) และ เอทธิลีน (Ethylene) ซึ่งมีสภาพเป็นก๊าซ

ฮอร์โมนพืชสามารถเคลื่อนย้ายภายในต้นพืชได้และมีผลต่อการเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงทางคุณภาพและการพัฒนาของเนื้อเยื่อและอวัยวะของพืชซึ่งได้รับฮอร์โมนนั้นๆ โดยพืชจะสังเคราะห์ที่ส่วนหนึ่งแล้วเคลื่อนย้ายไปยังอีกส่วนหนึ่ง และมีผลต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาที่ค่อนข้างเฉพาะเจาะจง ฮอร์โมนพืชแบ่งตามผลการออกฤทธิ์ต่อพืชได้เป็น 5 กลุ่มใหญ่ๆ

คือ กลุ่มออกซิน กลุ่มไซโตไคนิน กลุ่มจิบเบอเรลลิน กลุ่มเอทธิลีน และกรดแอบซิสิคงานวิจัยเรื่องนี้จะสนใจเฉพาะฮอร์โมนพืชที่อยู่ในกลุ่มออกซินและไซโตไคนิน

2.3.1 ออกซิน

ชาล์ล ดาร์วิน (Charles Darwin) ได้ศึกษาเรื่อง Phototropism ซึ่งพืชจะโค้งงอเข้าหาแสง Darwin ทดลองกับต้นกล้าของ *Phalaris canariensis* และพบว่าโคลีออพไทล์ของพืชชนิดนี้จะตอบสนองต่อการได้รับแสงเพียงด้านเดียวทำให้เกิดการโค้งเข้าหาแสง Darwin สรุปแสงมีอิทธิพลบางอย่างต่อต้นกล้าของ *P. canariensis* จะส่งผ่านจากส่วนยอดมายังส่วนล่างของโคลีออพไทล์ ทำให้เกิดการโค้งงอเข้าหาแสง

เวนท์ (Went, 1926) ได้ทำการทดลองและสามารถแยกสารชนิดนี้ออกจากโคลีออพไทล์โดยการตัดส่วนยอดของโคลีออพไทล์ของข้าวโอ๊ต วางลงบนวุ้นจะทำให้สารเคมีที่กระตุ้นการเจริญเติบโตไหลลงสู่วุ้น เมื่อนำวุ้นไปวางลงที่ด้านหนึ่งของโคลีออพไทล์ที่ไม่มียอดด้านใดด้านหนึ่งจะทำให้โคลีออพไทล์ดังกล่าวโค้งเข้าหาแสงได้ จึงสรุปว่าสารเคมีได้ซึมลงสู่วุ้นแล้วซึมจากวุ้นลงสู่ส่วนของโคลีออพไทล์ วิธีการดังกล่าวเป็นวิธีการแรกที่แยกสารเคมีชนิดนี้ สารเคมีดังกล่าวได้รับการตั้งชื่อว่า ออกซิน ซึ่งในปัจจุบันพบในพืชชั้นสูงทั่วๆ ไป และมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืช สังเคราะห์ได้จากส่วนเนื้อเยื่อเจริญของลำต้น ปลายราก ใบอ่อน ดอกและผล และพบมากที่บริเวณเนื้อเยื่อเจริญ โคลีออพไทด์และคัพภะ รวมทั้งใบที่กำลังเจริญด้วย

ออกซินเป็นฮอร์โมนที่แพร่กระจายทั่วไปในพืช มีเข้มข้นสูงที่เนื้อเยื่อเจริญ ตำแหน่งที่มีการสังเคราะห์ออกซิน ได้แก่เนื้อเยื่อเจริญบริเวณปลายยอดและปลายราก ใบอ่อน ช่อดอกที่กำลังเจริญ เมล็ดที่กำลังงอก เอ็มบริโอและผลที่กำลังเจริญ การสังเคราะห์ออกซินเกิดในเนื้อเยื่อที่มีอายุมากโดยเนื้อเยื่อที่มีอายุมาจะสังเคราะห์ออกซินได้ในปริมาณน้อยหรือไม่มีเลย สารตั้งต้นของการสังเคราะห์ออกซินในพืช คือกรดอะมิโนทริปโตแฟน (Trytophan) ออกซินที่พืชสร้างขึ้นมีสองแบบ คือแบบอิสระสามารถเคลื่อนที่ได้ดี กับอีกแบบหนึ่งเป็นแบบที่จับเป็นสารประกอบร่วมกับสารอื่นๆ สามารถเคลื่อนที่ได้น้อยหรือไม่ออกฤทธิ์

สมมติฐานกลไกในการทำงานของออกซินในระยะที่ผ่านมาจะมีสองอย่าง คือ แนวคิดที่เกี่ยวข้องกับผนังเซลล์เป็นส่วนที่รับผลกระทบของออกซินและขยายตัว หรืออีกแนวคิดหนึ่งมุ่งไปที่ผลของออกซินต่อเมตาบอลิสม์ของกรดนิวคลีอิค ในปัจจุบันมีการนำสมมุติฐานสองแนวคิดมาวิเคราะห์ร่วมกันเพื่อศึกษากลไกในการทำงานของออกซิน และยังศึกษาผลของออกซินต่อเยื่อหุ้มเซลล์ด้วย การขยายตัวของเซลล์จะสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงปริมาณและกิจกรรมของเอนไซม์ โดยที่ออกซินจะมีบทบาทต่อกระบวนการเมตาบอลิสม์ของกรดนิวคลีอิค โดยการศึกษาจากการ เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เป็นไส้ของต้นยาสูบ (Tobacco Pith) ซึ่งจะเจริญไปเป็นกลุ่มเนื้อเยื่อ (Callus) นั้นพบว่ามี

ปริมาณของ RNA เพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้เพราะออกซินจะกระตุ้นให้มีการสังเคราะห์ RNA มากขึ้น แล้วส่งผลไปถึงการเจริญของกลุ่มเนื้อเยื่อ ถ้าหากใช้สารระงับการสังเคราะห์โปรตีนหรือ RNA ความสามารถในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของออกซินจะหายไป

ออกซินมีผลต่อระดับเอนไซม์ โดยผ่านทางการสังเคราะห์ RNA นอกจากนั้นออกซินยังมีผลกระทบต่อกิจกรรมของเอนไซม์โดยตรง เช่น การกระตุ้นให้เอนไซม์เกิดกิจกรรมหรือเปลี่ยนรูปมาอยู่ในรูปที่มีกิจกรรมได้ นักวิทยาศาสตร์ได้มุ่งความสนใจไปสู่เอนไซม์ที่ สัมพันธ์กับกระบวนการขยายตัวของเซลล์ เซลล์พืชจะมีผนังเซลล์อยู่ข้างนอกสุด ดังนั้นการเจริญของเซลล์จะเกิดขึ้นเมื่อคุณสมบัติของผนังเซลล์เปลี่ยนไปในทางที่ก่อให้เกิดการขยายตัวของโปรโตพลาสต์การตอบสนองในระดับเซลล์ออกซินทำให้เกิดการขยายตัวของเซลล์ (Cell enlargement) เช่น ทำให้เกิดการขยายตัวของใบ ทำให้ผลเจริญเติบโต เช่น กรณีของสตรอเบอรี่ ถ้าหากกำจัดแหล่งของออกซินซึ่งคือส่วนของเมล็ดที่อยู่ภายนอกของผล (ผลแห้งแบบ Achene) จะทำให้เนื้อเยื่อของผลบริเวณที่ไม่มีเมล็ดรอบนอกไม่เจริญเติบโต ออกซิน ทำให้เกิดการแบ่งเซลล์ได้ในบางกรณี เช่น กระตุ้นการแบ่งเซลล์ของแคมเบียมและกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางคุณภาพ กระตุ้นให้เกิดท่อน้ำและท่ออาหาร กระตุ้นให้เกิดรากจากการปักชำพืช ใช้ในการเร่งรากของกิ่งชำ แล้วยังกระตุ้นให้เกิดแคลลัสในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แต่การตอบสนองในระดับเซลล์ที่เกิดเสมอคือ การขยายตัวของเซลล์

2.3.1.1 บทบาทของออกซินต่อการเจริญและพัฒนาการของพืช

1. การชักนำการยืดขยายเซลล์ลำต้น และเนื้อเยื่อหุ้มยอดแรกเกิด ถ้าออกซินสูงเกินไปจะยับยั้งการเติบโตเพราะออกซินที่สูงเกินจะกระตุ้นให้พืชสร้างเอทิลีนออกมา และ ไปกดการยืดขยายตัวของเซลล์

2. การเพิ่มความยืดหยุ่นของผนังเซลล์ โดยเฉพาะในต้นอ่อนและเนื้อเยื่อหุ้มยอดแรกเกิดการเพิ่มความยืดหยุ่นของผนังเซลล์จะช่วยให้เซลล์ยืดขยายตัวได้

3. กระตุ้นการแบ่งเซลล์และการยืดขยายตัวของเซลล์ เกิดจากการเพิ่มความยืดหยุ่นที่ผนังเซลล์เพิ่มความดันออสโมติกและลดความกดดันที่ผนังเซลล์ ทำให้เซลล์ขยายขนาดได้ง่ายและอาจจะส่งเสริมการสังเคราะห์โปรตีนที่จำเป็นต่อการเติบโต

4. เร่งการเติบโตของพืชทั้งในส่วนที่เป็นต้นและราก โดยปกติแล้ว ส่วนต่าง ๆ ของพืชตอบสนองต่อปริมาณออกซินไม่เท่ากัน ลำต้นต้องการออกซินสูงกว่าในราก ถ้าสูงเกินไปจะยับยั้งการเติบโต

5. ส่งเสริมการเจริญของไซเลม ซึ่งจากการศึกษาในแคลลัส เมื่อเติมออกซินลงไปออกซินจะช่วยให้การเชื่อมต่อของเนื้อเยื่อลำเลียงในแคลลัส ทำให้แคลลัสเกิดเป็นตา การเพิ่มน้ำตาลและออกซินลงในอาหารเลี้ยง ทำให้แคลลัสเจริญเป็นลำต้นและกลายเป็นพืชต้นใหม่

6. การเพิ่มกิจกรรมของกรดนิวคลีอิก โดยออกซิน เช่น Indole-3-acetic acid มีส่วนช่วยกระตุ้นให้มีการสังเคราะห์ RNA โดยออกซินอาจจะมีบทบาทช่วยในการเข้าถึงยีน เช่น ช่วยให้ฮิสโตนหลุดออกจาก DNA ทำให้ RNA polymerase II สร้างเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการยืดขยายของผนังเซลล์

7. การข่มของตายอดต่อตาข้าง (Apical dominance) โดยทั่วไปในพืช เมื่อมีตายอดอยู่จะข่มการเจริญของตาข้างทำให้ตาข้างเติบโตช้า ถ้าตัดปลายยอดออก ตาข้างจะเติบโตได้ทันที การข่มของตายอดอาจมาจากส่วนยอดบดบังแสงไว้ทำให้ตาข้างได้รับแสงไม่เต็มที่

8. การยับยั้งการร่วงของใบ การร่วงของใบเกิดจากการเกิดชั้นก่อการร่วงที่ผนังเซลล์ของเซลล์ในแนวดังกล่าวจะเกิดการแยกออกจากกิ่งหรือต้น ในเนื้อเยื่ออ่อนที่มีออกซินสูง การเกิดชั้นก่อการร่วงจะไม่เกิดขึ้น ถ้าตัดแผ่นใบทิ้งเหลือแต่ก้านใบ แล้ว นำออกซินมาทาที่ก้านใบ ก้านใบที่ได้รับออกซินจะร่วงช้ากว่า ถ้าให้ออกซินแก่ใบตั้งแต่ระยะแรกก่อนโตเต็มที่จะทำให้ใบร่วงช้ากว่าใบพืชที่ไม่ได้รับออกซิน

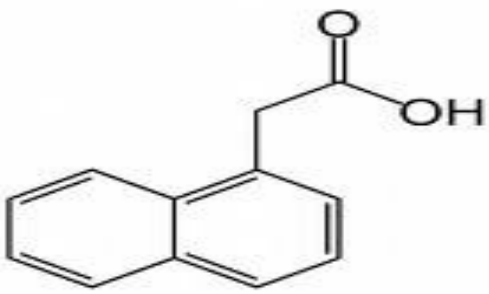
9. การยืดขยายความยาวของราก รากจะไวต่อความเข้มข้นของออกซินมาก IAA ปริมาณต่ำจะกระตุ้นการขยายตัวของรากได้ดี โดยที่ไม่มีผลต่อลำต้น ส่วนความเข้มข้นที่กระตุ้นการเจริญของลำต้นจะสูงเกินไปสำหรับราก จนกลายเป็นการยับยั้ง

10. การเกิดรากแขนง ออกซินมีผลต่อการกระตุ้นให้เกิดรากแขนง การตัดใบหรือตาอ่อนที่สร้างออกซินออกไปทำให้การแตกรากแขนงน้อยลง แสดงว่าการเกิดรากแขนงถูกควบคุมโดยออกซินที่สร้างจากลำต้น นอกจากนั้น ออกซินยังส่งเสริมการเกิดรากแขนงในกิ่งปักชำ โดยรากแขนงเกิดได้ดีจากโฟลเอมส่วนใกล้ๆข้อ

11. การสร้างดอกและผล การให้ออกซินแก่พืชที่มีดอกเพศผู้และเพศเมียแยกกันตั้งแต่ระยะแรกของการเจริญจะทำให้เกิดดอกเพศเมียมากขึ้นละอองเรณูเป็นส่วนที่มีออกซินสูง สารสกัดจากละอองเรณูจะกระตุ้นการติดผลโดยไม่ต้องมีการถ่ายละอองเกสรที่เรียกว่าการเกิดผลลม (Parthenocarpy) ซึ่งเป็นผลที่ไม่มีเมล็ด และมีประโยชน์ทางการค้า

12. ความเข้มข้นที่สูงเกินไปของออกซินจะยับยั้งการเจริญเติบโตและเป็นพิษต่อพืชโดยทำให้อวัยวะของพืชมีการเติบโตที่ไม่สัมพันธ์กัน เช่นแบ่งเซลล์เพิ่มขึ้นแต่เซลล์ไม่ขยายขนาดอวัยวะบิดเบี้ยวเสียรูปทรง การเจริญของพืชลดลง และหยุดไปในที่สุด

2.3.1.2 1-Naphthalene acetic acid (NAA)



ภาพที่ 2.5 โครงสร้างของ NAA

1-Naphthalene acetic acid เป็นสารสังเคราะห์ NAA ที่ใช้ในการเกษตรมีลักษณะเป็นผลึกสีขาว ละลายได้ดีในแอลกอฮอล์จัดเป็นสารที่เป็นพิษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมระดับปานกลาง ได้มีการนำ NAA มาใช้ในการเกษตรดังนี้

1. การเปลี่ยนเพศของดอกเงาะ NAA สามารถเปลี่ยนเพศของดอกเงาะพันธุ์สีชมพูจาก ดอกกะเทยให้เป็นดอกตัวผู้ได้

2. การขยายพันธุ์มะม่วง NAA ผสมกับลาโนลินทาเหนือรอยทาบของกิ่งมะม่วงแรด บนต้นตอมะม่วงแก้ว ช่วยให้รอยทาบประสานกันได้ดี และช่วยเร่งการออกราก

3. การเพิ่มขนาดผลของสับปะรด NAA ทำให้สับปะรดมีขนาดใหญ่และน้ำหนักมากข้อเสียคือทำให้ผลแก่ช้า และสับปะรดสุกจากข้างในก่อนที่เปลือกจะเป็นสีเหลือง ขนาดของก้านและแกนจะใหญ่

4. การชะลอการสุกของสับปะรด การจุ่มผลสับปะรดที่แก่จัดแต่ยังไม่เปลี่ยนสีลงใน NAA โดยไม่ต้องจุ่มส่วนที่เป็นจุก จะทำให้ผลคงความเขียวได้นาน และลดการเน่าได้ 50%

5. ป้องกันการหลุดร่วงของผลลางสาดและลองกอง พ่น NAA ไปที่ช่อผลลางสาดขณะที่ผลเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลือง เนื่องจากผลลางสาดตามปกติจะหลุดร่วงได้ง่าย

6. ป้องกันการร่วงของมะนาวฝรั่งได้ดีในช่วงที่อากาศเย็นจัด

7. ด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช NAA เป็นออกซินที่มีบทบาทสำคัญในการชักนำให้เกิดแคลลัสและการทำงานร่วมกับไซโตไคนินให้เกิดโซมาติกเอ็มบริโอ

2.3.2 ไซโตไคนิน

ไซโตไคนินค้นพบจากการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ Haberland (1920) ได้แสดงให้เห็นว่ามีสารชนิดหนึ่งเกิดอยู่ในเนื้อเยื่อพืชและกระตุ้นให้เนื้อเยื่อพาเรนไคมาในหัวมันฝรั่งกลับกลายเป็นเนื้อเยื่อเจริญได้ ซึ่งแสดงว่าสารชนิดนี้สามารถกระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์ ต่อมามีการพบว่าน้ำมะพร้าวและเนื้อเยื่อของหัวแครอทมีคุณสมบัติในการกระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์เช่นกัน

สารไซโตไคนินแบ่งเป็นหลายกลุ่ม เช่น สารกลุ่มไคเนติน 3-Benzyladenine (BA) และ tetrahydropyranylbenzyladenine (PBA) เป็นสารสังเคราะห์ที่ไม่พบในต้นพืช แต่ออกฤทธิ์คล้ายคลึงกับสารที่พบในอวัยวะของพืช เช่น ในน้ำมะพร้าว ในผลอ่อนของข้าวโพด

เลเธม (Letham, 1964) ได้แยกไซโตไคนินชนิดหนึ่งจากเมล็ดข้าวโพดหวาน และพบว่า เป็นสาร (6-(4-Hydroxy-3-methyl but-2-enyl) aminopurine) ซึ่ง Letham ได้ตั้งชื่อว่า ซีเอติน (Zeatin) นับตั้งแต่มีการแยกไซโตไคนินชนิดแรกคือซีเอตินแล้ว ก็มีการค้นพบไซโตไคนิน อีกหลายชนิดซึ่งทุกชนิดเป็นอนุพันธ์ของอะดีนีน คือ เป็น 6-substituted amino purines ซีเอตินเป็นไซโตไคนินธรรมชาติที่ดีที่สุด

ไซโตไคนินพบมากในผลอ่อนและเมล็ด ในใบอ่อนและปลายรากซึ่งไซโตไคนินอาจจะสังเคราะห์ที่บริเวณดังกล่าวหรืออาจจะเคลื่อนย้ายมาจากส่วนอื่นๆ ในรากนั้นมีหลักฐานที่ชี้ให้เห็นว่าไซโตไคนินสังเคราะห์ที่บริเวณนี้ได้เพราะเมื่อมีการตัดรากหรือลำต้นพบว่าของเหลวที่ไหลออกมาจากท่อน้ำจะปรากฏไซโตไคนินจากส่วนล่างขึ้นมาถึง 4 วัน ซึ่งอาจจะ เป็นไปได้ว่าไซโตไคนินสังเคราะห์ที่รากแล้วส่งไปยังส่วนอื่น ๆ โดยทางท่อน้ำ

หลักฐานที่แสดงว่าสังเคราะห์ที่ส่วนอื่นยังไม่พบ และการเคลื่อนย้ายของไซโตไคนินจากส่วนอ่อน เช่น ใบ เมล็ด ผล ยังเกิดไม่ดีและไม่มาก

2.3.2.1 การเคลื่อนที่ของไซโตไคนิน

ระบบรากเป็นส่วนสำคัญในการส่งไซโตไคนินไปยังใบ และป้องกันการเสื่อมสลายของ ใบก่อนระยะอันสมควร ไซโตไคนินมีการเคลื่อนที่ขึ้นสู่ยอด ยิ่งไปกว่านั้นยังพบไซโตไคนินในท่อน้ำซึ่งมาจากระบบรากด้วยในทางตรงกันข้ามไซโตไคนินซึ่งพบที่ผลซึ่งกำลังเจริญเติบโตไม่เคลื่อนที่ไปส่วนอื่นเลย ในทำนองเดียวกันจากการศึกษากับการให้ไซโตไคนินจากภายนอก เช่นให้ไคเนตินพบว่าจะไม่เคลื่อนย้ายเป็นเวลานาน สารอื่น ๆ จะเคลื่อนย้ายออกจากจุดนี้ก็ตาม มีหลักฐานจำนวนมากชี้ให้เห็นว่าไซโตไคนินอาจจะเคลื่อนย้ายในรูปที่รวมกับสารอื่น ๆ เช่น น้ำตาล (Ribosides หรือ glucosides) ซึ่งไซโตไคนินในรูปที่รวมกับน้ำตาลนั้นพบเสมอในท่อน้ำท่ออาหาร ในการให้ไซโตไคนินกับตาข้างเพื่อกำจัด Apical dominance นั้น พบว่าไซโตไคนินจะไม่เคลื่อนที่เลยเป็นระยะ

เวลานานมาก ในการทดลองกับ BA พบว่า BA สามารถเคลื่อนที่ผ่านก้านใบและมีลักษณะแบบ Polar เหมือนกับออกซิน ในทุกการศึกษาพบว่าไซโตไคนินในใบจะไม่เคลื่อนที่รวมทั้งในผลอ่อนด้วย ส่วนผลของรากในการควบคุมการเจริญเติบโตของส่วนเหนือดินอาจจะอธิบายได้ถึงไซโตไคนินที่เคลื่อนที่ในท่อน้ำ ซึ่งพบเสมอในการทดลองว่าไซโตไคนินสามารถเคลื่อนที่จากส่วนรากไปสู่ยอด แต่การเคลื่อนที่แบบมีขั้วยังไม่เป็นที่ยืนยันการเคลื่อนที่ของไซโตไคนินในพืชยังมีความขัดแย้งกันอยู่บ้าง

2.3.2.2 ผลของไซโตไคนิน

1. กระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์และการเปลี่ยนแปลงทางคุณภาพเนื้อเยื่อโดยต้องใช้ร่วมกับออกซิน ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้นหากให้ฮอร์โมนไซโตไคนินมากกว่าออกซินจะทำให้เนื้อเยื่อนั้นเจริญเป็น ตา ใบ และลำต้น แต่ถ้าสัดส่วนของออกซินมากกว่าไซโตไคนินจะทำให้เนื้อเยื่อนั้นสร้างรากขึ้นมา การ differentiate ของตาในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจาก Callus จากส่วนของลำต้นนั้นออกซินจะระงับ และไซโตไคนินนั้นจะกระตุ้นการเกิดราก และต้องมีความสมดุลระหว่างปริมาณของไซโตไคนินและออกซินชิ้นเนื้อเยื่อจึงจะสร้างตาได้

2. ชะลอกระบวนการเสื่อมสลาย เช่น กรณีของใบที่เจริญเต็มที่แล้วถูกตัดออกจากต้น คลอโรฟิลล์ RNA และโปรตีนจะเริ่มสลายตัวเร็วกว่าใบที่ติดอยู่กับต้น แม้จะมีการให้อาหารกับใบเหล่านี้ก็ตาม ถ้าหากเก็บใบเหล่านี้ไว้ในที่มืดการเสื่อมสลายยิ่งเกิดเร็วขึ้น อย่างไรก็ตามหากใบเหล่านี้เกิดรากขึ้นที่โคนใบหรือก้านใบ จะทำให้การเสื่อมสลายเกิดช้าลง เพราะไซโตไคนินผ่านขึ้นมาจากรากทางท่อน้ำ อย่างไรก็ตามการให้ไซโตไคนิน กับใบพืชเหล่านี้จะชะลอการเสื่อมสลายได้เหมือนกับราก เช่นกัน นอกจากนั้นไซโตไคนินยังทำให้มีการเคลื่อนย้ายอาหารจากส่วนอื่นมายังส่วนที่ได้รับไซโตไคนินได้ เช่น กรณีของใบอ่อนซึ่งมีไซโตไคนินมากกว่าใบแก่จะสามารถดึงอาหารจากใบแก่ได้ ในกรณีเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคราสนิม ซึ่งทำให้เกิดการตายของเนื้อเยื่อแล้วบริเวณเนื้อเยื่อที่ตายจะเกิดสีเขียวล้อมรอบขึ้นมาซึ่งบริเวณสีเขียวนี้มีแป้งสะสมมากแม้กระทั่งส่วนอื่นๆ ของใบตายไปแล้วส่วนสีเขียวอาจจะยังคงอยู่ ลักษณะนี้เรียกว่า Green Island ซึ่งบริเวณนี้จะมีไซโตไคนินสูง คาดว่าเชื้อราสร้างขึ้นมาเพื่อดึงอาหารมาจากส่วนอื่น

3. ทำให้ตาข้างแตกออกมาหรือกำจัดลักษณะ Apical Dominance ได้การเพิ่มไซโตไคนินให้กับตาข้างจะทำให้แตกออกมาเป็นใบได้ ทั้งนี้เพราะตาข้างจะดึงอาหารมาจาก ส่วนอื่นทำให้ตาข้างเจริญได้ เชื้อจุลินทรีย์บางชนิดสามารถสร้างไซโตไคนินกระตุ้นให้พืชเกิดการแตกตาจำนวนมากมีลักษณะผิดปกติ เช่น โรค Fascination นอกจากนั้นยังเร่ง การแตกหน่อของพืช เช่น บอน และโกสน

4. ทำให้ใบเลี้ยงคลี่ขยายตัวกรณีเมล็ดของพืชใบเลี้ยงคู่งอกในความมืด ใบเลี้ยงจะเหลืองและเล็ก เมื่อได้รับแสงจึงจะขยายตัวขึ้นมา ซึ่งเป็นการควบคุมของไฟโตโครมแต่ถ้าหากให้ไซโตโคนินโดยการตัดใบเลี้ยงมาแช่ในไซโตไคนิน ใบเลี้ยงจะคลี่ขยายได้ เช่นกัน ลักษณะดังกล่าวพบกับ แรดิช ผักสลัด และแตงกวา ออกซินและจิบเบอเรลลิน จะไม่ให้ผลดังกล่าว

5. ทำให้เกิดการสร้างคลอโรพลาสต์มากขึ้น ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงทางคุณภาพอย่างหนึ่ง เช่น เมื่อ Callus ได้รับแสงและไซโตไคนิน Callus จะกลายเป็นสีเขียวเพราะพลาสติดเปลี่ยนเป็นคลอโรพลาสต์ได้

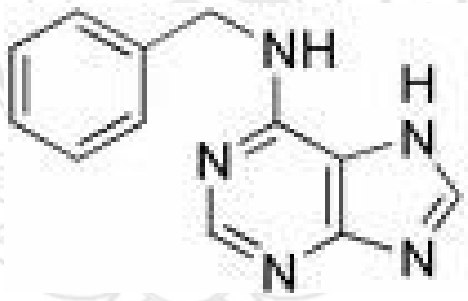
6. ทำให้พืชทั้งต้นเจริญเติบโต

7. กระตุ้นการงอกของเมล็ดพืชบางชนิด

2.3.2.2 กลไกการทำงานของไซโตไคนิน

ไซโตไคนินมีบทบาทสำคัญคือควบคุมการแบ่งเซลล์ ไซโตไคนินที่เกิดในสภาพธรรมชาติ นั้นเป็นอนุพันธ์ของอะดีนีนทั้งสิ้น ดังนั้นงานวิจัยเกี่ยวกับกลไกการทำงานจึงมีแนวโน้มในความสัมพันธ์กับกรดนิวคลีอิค กลไกการทำงานของไซโตไคนินยังไม่เด่นชัดเหมือนกับออกซิน ไซโตไคนินมีผลให้เกิดการสังเคราะห์ RNA และโปรตีนมากขึ้นในเซลล์พืช โดยพบว่าหลังจากให้ไซโตไคนินกับเซลล์พืชแล้วจะเพิ่มปริมาณของ mRNA t-RNA และ r-RNA

2.3.2.3 3-Benzyladenine (BA)



ภาพที่ 2.6 โครงสร้างของ BA

3-Benzyladenine เป็นไซโตไคนินสังเคราะห์มีกิจกรรมของไซโตไคนินสูงที่สุด ไม่พบในธรรมชาติ มีคุณสมบัติเช่นเดียวกันกับสารกลุ่มไซโตไคนินที่พบในธรรมชาติ ความรู้เกี่ยวกับ BA ยังมีน้อย และ BA เป็นที่นิยมใช้มากในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

2.4 ผลของฮอร์โมนพืชต่อเอคโตไมคอร์ซา

บาร์กเกอร์ และ ทากู (Barker & Tagu, 2006) ได้ศึกษาบทบาทของออกซินและไซโตไคนินต่อราเอคโตไมคอร์ไรซาในการอยู่ร่วมกันกับรากของพืช พบว่าออกซินมีบทบาทต่อราเอคโตไมคอร์ไรซา โดยราเอคโตไมคอร์ไรซาจะอยู่ร่วมกับรากพืชและรากของพืชจะรับออกซินจากเอคโตไมคอร์ไรซา และออกซินยังช่วยในการสังเคราะห์ mycelium ของเอคโตไมคอร์ไรซาที่อาศัยร่วมกับรากของพืช

เฮอร์แมน, โอมุลเลอร์ และบัสคอร์ต (Herrmann, Oelmuller & Buscot, 2003) ได้ศึกษาผลของ Indole-3-acetic acid (IAA) ต่อการอยู่ร่วมกันระหว่างต้น oak (*Quercus robur* L.) และ ราเอคโตไมคอร์ไรซา ชื่อ *Piloderma croccum* พบว่า IAA ช่วยให้การสังเคราะห์แสงของต้น oak ดีขึ้นโดยจะกระตุ้นให้เซลล์ต้น oak สร้างคลอโรฟิวส์ เป็นจำนวนมาก

เรบูเตอร์ และเบียนชิ (Reboutier & Bianchi, 2002) ได้ศึกษาผลของ Hypaphorine ที่สร้างโดยราเอคโตไมคอร์ไรซา ชื่อ *Pisolithus tinctorius* พบว่า Hypaphorine จะช่วยในการสร้างและควบคุมการเจริญเติบโตรากขนของพืช *Arabidopsis Thaliana* และ Hypaphorine ยังยับยั้งการทำงานของ Idole-3-acetic acid และ 1-Naphthalenic-acetic acid ที่อยู่ในรากขนอีกด้วย

ลอเรนท์, เปปิน และเกย์ (Laurans, Pepin, & Gay, 2000) ได้ศึกษาผลของ overproduction ของ fungal auxin ต่อโครงสร้างของต้นสน *Pinus pinaster* โดยนำ fungal auxin ที่เจริญเติบโตบนเปลือกรากสน *Hebeloma cylindrosporum* เพาะเลี้ยงร่วมกับ *P. pinaster* พบว่าราชนิดนี้ถ้าอยู่ร่วมกับรากสนจะทำให้เส้นผ่านศูนย์กลางของรากสนโตกว่ารากสนที่ไม่มีราชนิดนี้อยู่

ในช่วงฤดูฝนไม้ยืนต้นได้มีการเจริญเติบโตโดยมีการแผ่ขยายของรากและแตกตาด้านข้างอย่างรวดเร็ว พร้อมกับเห็ดห้าได้เจริญเติบโตเป็นดอกเห็ดที่สมบูรณ์ในช่วงฤดูฝน สาเหตุที่ไม้ยืนต้นมีการแผ่ขยายของรากเนื่องจากมีฮอร์โมนพืชกลุ่มออกซิน และสาเหตุที่ไม้ยืนต้นมีการแตกตาด้านข้าง เนื่องจากมีฮอร์โมนพืชกลุ่มไซโตไคนิน ดังนั้นจึงสันนิษฐานว่านอกจากฮอร์โมนพืชกลุ่มออกซินและไซโตนินมีผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตของไม้ยืนต้นแล้ว ฮอร์โมนพืชกลุ่มออกซินและไซโตนินยังมีผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ดห้าอีกด้วย ในการทดลองครั้งนี้จึงใช้ BA ซึ่งเป็นฮอร์โมนกลุ่มไซโตไคนิน และ NAA ซึ่งเป็นฮอร์โมนกลุ่มออกซิน เนื่องจาก BA และ NAA เป็นที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อศึกษาผลของ BA และ NAA ต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้า

บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

3.1 ขั้นตอนและวิธีการเก็บรวมรวมข้อมูล

3.1.1 อุปกรณ์ที่ใช้

3.1.1.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างเห็ด

1. ถุงพลาสติก
2. ยางรัด
3. มีดเล็ก

3.1.1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในเตรียมอาหารและเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเห็ด

1. บีกเกอร์ (Beaker)
2. ขวดรูปชมพู่ (Flask)
3. ปิเปต (Pipette)
4. กระบอกตวง (Cylinder)
5. ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Bottle)
6. กรวยแก้ว (funnel)
7. พาราฟิล์ม (Parafilm)
8. เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter)
9. เครื่องชั่ง (Balance)
10. หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave)
11. ตู้เย็น (Refrigerator)
12. ตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ (Laminar air flow cabinet)
13. ตะเกียงแอลกอฮอร์ (Alcohol lamp)

14. ข้าวเปลือก

3.1.1.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บข้อมูล

1. กล้องถ่ายรูป กล้องจุลทรรศน์
2. ตารางบันทึกผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ด
3. ไม้บรรทัดขนาดเล็ก
4. เครื่องชั่งที่มีทศนิยม 4 ตำแหน่ง

3.1.1.4 สารที่ใช้ในการทดลอง

1. อาหารสังเคราะห์สูตร MS
2. อาหารสังเคราะห์สูตร VW
3. อาหารสังเคราะห์สูตร PDA
4. NAA
5. BA
6. กากน้ำตาล

3.1.2 วิธีเก็บตัวอย่างเห็ดห้า

เก็บตัวอย่างเห็ดห้าในป่าหรือสวน ต้องเก็บเห็ดที่เจริญเติบโตเต็มที่แล้วโดยวิธีการดึงเห็ดออกมาจากดินทั้งโคนเก็บมาอย่างน้อย 3 ตัวอย่าง ควรเก็บในช่วงต้นฤดูฝนในตอนเช้าเนื่องจากเป็นช่วงที่เห็ดห้าเจริญเติบโตได้ดี ระมัดระวังไม่ให้เห็ดห้าช้ำหรือเหี่ยวเฉาโดยเก็บรักษาตัวอย่างในถุงพลาสติก จากนั้นนำมาแช่ในตู้เย็นเพื่อรักษาความสด แต่ไม่ควรเก็บรักษาเกิน 10 วัน

3.1.3 วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเห็ด

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเห็ดห้านั้นจะต้องกระทำการเพาะเลี้ยงโดยวิธีการปลอดเชื้อเพื่อมิให้เนื้อเยื่อเห็ดห้าที่ทำการเพาะเลี้ยงติดเชื้อ (คำนูน กาญจนภูมิ, 2542) โดยวิธีการดังต่อไปนี้

3.1.3.1 เตรียมอุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงตามที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น ซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อเป็นที่เรียบร้อยแล้วนำเข้าไปในตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ จากนั้นเปิดแสง UV ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมงเพื่อฆ่าเชื้อที่ติดมาในช่วงระหว่างการขนย้าย

3.1.3.2 นำเนื้อเยื่อเห็ดห้าที่เก็บรักษาไว้และอาหารที่จะใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเห็ดห้า (โดยใช้อาหารสังเคราะห์สูตร MS VW และ PDA ซึ่งอาหารสังเคราะห์ทุกชนิดเราสามารถเติมฮอร์โมนพืช NAA และ BA ในความเข้มข้นตามที่กำหนดได้) เข้าไปในตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ

3.1.3.3 ใช้มีดผ่าเห็ดห้าเพื่อนำเนื้อเยื่อเห็ดห้าที่อยู่ชั้นในสุดมาเพาะเลี้ยงเนื่องจากเป็นชั้นที่เชื้อจุลินทรีย์เข้าไปไม่ถึง ทำการแยกเนื้อเยื่อขนาดเท่าปลายมีดใส่ลงในขวดแก้วที่มีอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากนั้นปิดฝาให้สนิทแล้วพันฝาขวดด้วยพาราฟิล์ม

3.1.3.4 นำไปเก็บไว้ที่ห้องปลอดเชื้อโดยให้รับแสงตามธรรมชาติและที่อุณหภูมิห้องเป็น เวลา 4 สัปดาห์

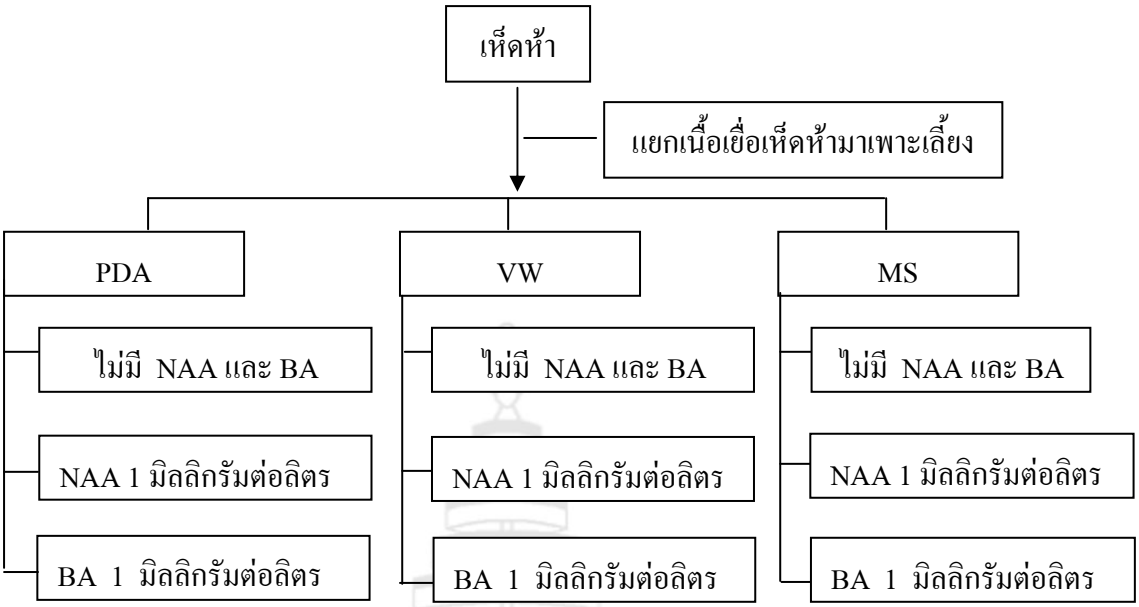
3.2 แผนผังสรุปการทดลอง

3.2.1 ผลของอาหารสังเคราะห์และฮอร์โมนพืชต่อการเจริญเติบโตของเห็ดห้า

นำเนื้อเยื่อมาเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร MS VW และ PDA โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์แต่ละชนิดจะแยกออกเป็น 3 รูปแบบ คือ

1. เพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร MS
2. เพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร
3. เพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

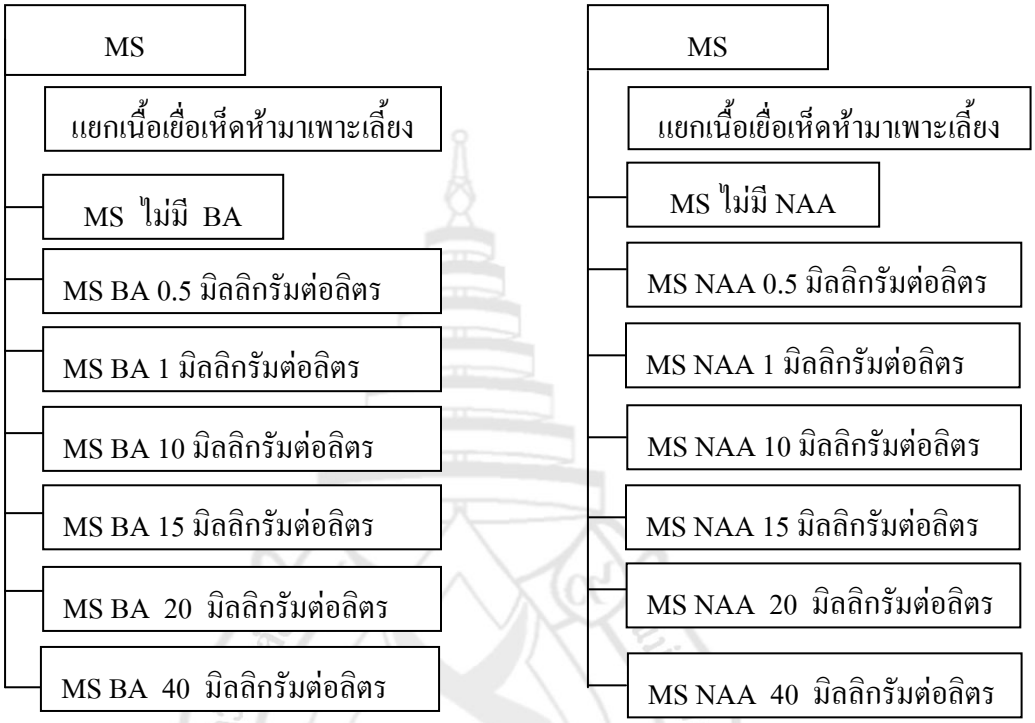
ทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้งในแต่ละการทดลอง ส่วนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร VW และ PDA ทำการทดลองเหมือนกันกับการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร MS



ภาพที่ 3.1 แผนผังการทดลอง 1

3.2.2 ผลของปริมาณ NAA และ BA ต่อการเจริญเติบโตของเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS

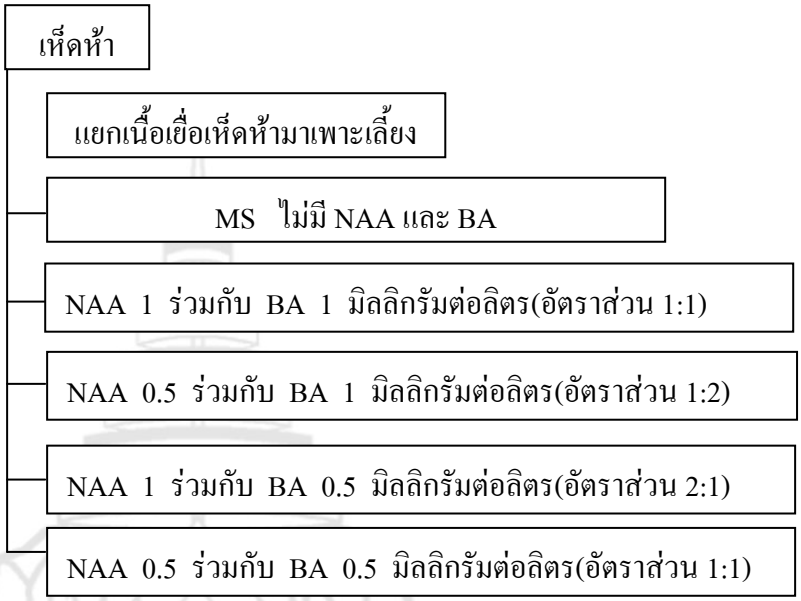
ทำการทดลองเช่นเดียวกับ 1.3.1 แต่เปลี่ยนแปลงปริมาณ NAA และ BA ตั้งแต่ 0 ถึง 40 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 3.2 แผนผังการทดลอง 2

3.2.3 ผลของ NAA ร่วมกับ BA ต่อการเจริญเติบโตของเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS

ทำการทดลองเช่นเดียวกับ 1.3.1 แต่ใช้ NAA ร่วมกับ BA ในอาหารสังเคราะห์สูตร MSในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน



ภาพที่ 3.3 แผนผังการทดลอง 3

3.2.4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเห็ดห้าในถุงเพาะเลี้ยง

ผสมอาหารสังเคราะห์สูตร MS และกากน้ำตาล ในอัตราส่วน 70:30 เป็นปริมาตร 100 มิลลิกรัมต่อลิตรนำข้าวเปลือกมาแช่ในน้ำ 10 นาที แล้วนำไปใส่ถุงพลาสติกจากนั้นเทอาหารสังเคราะห์ที่เตรียมไว้ลงในถุงพลาสติกที่เตรียมไว้ ตัดเนื้อเยื่อเห็ดห้าใส่ในถุงพลาสติกที่เตรียมไว้รัดปากถุงให้แน่นทิ้งไว้ในห้องสังเกตการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้า ทุกขั้นตอนกระทำในตู้ปลอดเชื้อ

3.3 การวิเคราะห์ข้อมูลและประมวลผล

3.3.1 วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ mycelium

3.3.2 นับจำนวน Primordial Fruiting body

3.3.3 ชั่งน้ำหนักสดโดยนำเนื้อเยื่อเห็ดห้าที่เพาะเลี้ยงไว้ออกมาจากขวด จากนั้นตัดอาหารสังเคราะห์ ซึ่งแข็งเป็นวุ้นออกให้หมด และนำเนื้อเยื่อมาชั่งที่เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 2 ตำแหน่งขึ้นไป

3.3.4 ใช้เวลา 4 สัปดาห์ในการทดลอง

3.4 สถิติที่ใช้ในการวิจัย

สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลและเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดได้แก่ ANOVA โดยใช้โปรแกรม excel

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง

4.1 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS VW และ PDA

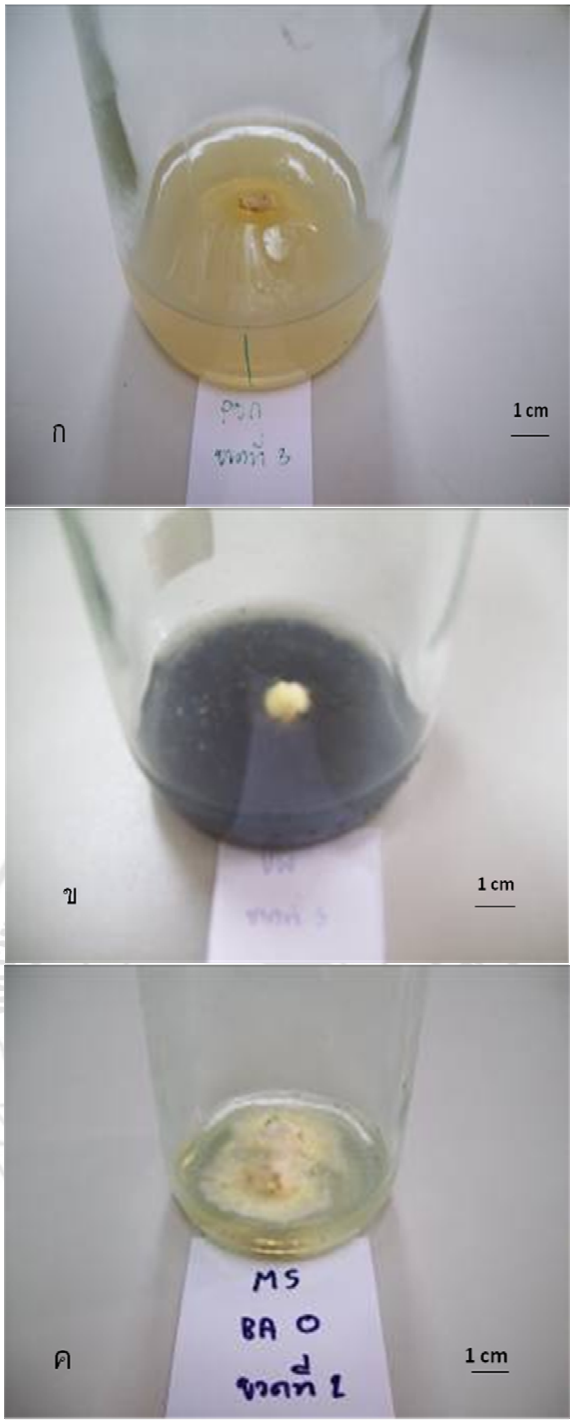
หลังจากที่นำเนื้อเยื่อเห็ดห้ามาเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร PDA VW และ MS โดยใช้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ ได้รับแสงและอุณหภูมิตามธรรมชาติ เมื่อเปรียบเทียบลักษณะการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าที่เพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ พบว่าเนื้อเยื้อเห็ดห้าเจริญเติบโตได้ดีในอาหารสูตร MS เนื้อเยื่อเห็ดมีลักษณะเป็นกลุ่มเส้นใยสีเหลืองแผ่ขยายออกด้านข้าง (ภาพที่ 4.1ค) เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร VW มีลักษณะเป็นกลุ่มเส้นใยสีเหลืองเกาะกลุ่มตรงกลางไม่แผ่ขยายออกด้านข้าง (ภาพที่ 4.1ข) ส่วนเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร PDA ไม่มีการเจริญเติบโต (ภาพที่ 4.1ก)

เมื่อนำผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์ทั้งสามสูตร ทั้งโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางและการชั่งน้ำหนักสดวิเคราะห์ทางสถิติแบบ ANOVA พบว่าการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์ทั้ง 3 สูตรแตกต่างกันทางสถิติ (P-value < 0.05) (ภาคผนวก ก ตารางที่ ก1 และ ตารางที่ ก2)

จากภาพที่ 4.2 พบว่าเนื้อเยื่อเห็ดห้าสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เจริญเติบโตได้ดีที่สุดโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 3.92 เซนติเมตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.43 อันดับสอง คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 3.86 เซนติเมตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.47 อันดับสาม คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS เจริญเติบโตโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 3.74 เซนติเมตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.55 อันดับสี่ คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร VW เจริญเติบโตโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 0.98 เซนติเมตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.14 อันดับห้า คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร VW ที่มี BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เจริญเติบโตโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 0.92 เซนติเมตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

0.13 อันดับหก คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร VW ที่มี NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เจริญเติบโตโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 0.9 เซนติเมตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.14 และเนื้อเยื่อเห็ดห้าไม่สามารถเจริญเติบโตในอาหารสังเคราะห์สูตร PDA

จากภาพที่ 4.3 เมื่อนำเนื้อเยื่อเห็ดห้ามาชั่งน้ำหนักสดพบว่าเนื้อเยื่อเห็ดห้าสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารสังเคราะห์สูตร MS เจริญเติบโตได้ดีที่สุดโดยชั่งน้ำหนักสดได้ 1.59 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.40 อันดับสอง คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่งน้ำหนักสดได้ 1.23 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.30 อันดับสาม คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่งน้ำหนักสดได้ 1.22 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.38 อันดับสี่ คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร VW โดยชั่งน้ำหนักสดได้ 0.2 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.14 อันดับห้า คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร VW ที่มี BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่งน้ำหนักสดได้ 0.19 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.01 อันดับหก คือ อันดับห้า คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร VW ที่มี BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตรโดยชั่งน้ำหนักสดได้ 0.18 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.02 และเนื้อเยื่อเห็ดห้าไม่สามารถเจริญเติบโตในอาหารสังเคราะห์สูตร PDA แต่จากการวิเคราะห์สถิติของความแตกต่างในอาหารสูตรเดียวกัน โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางและการชั่งน้ำหนักสด ที่ความเข้มข้นของฮอร์โมน NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

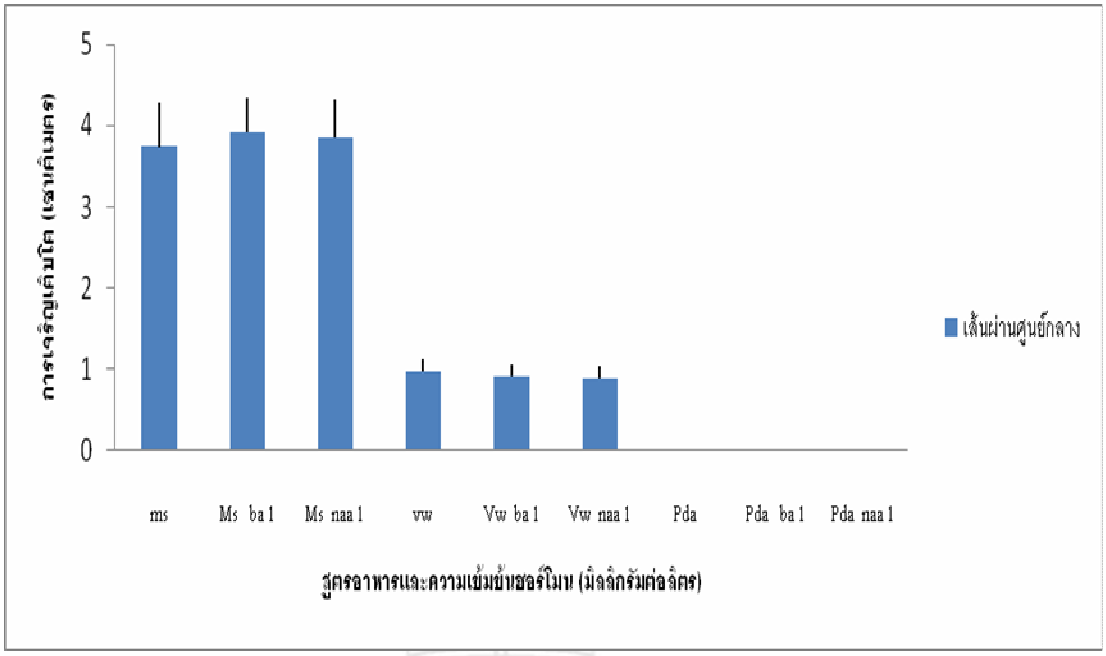


ภาพที่ 4.1 การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดในอาหารสังเคราะห์สูตร PDA VW และ MS

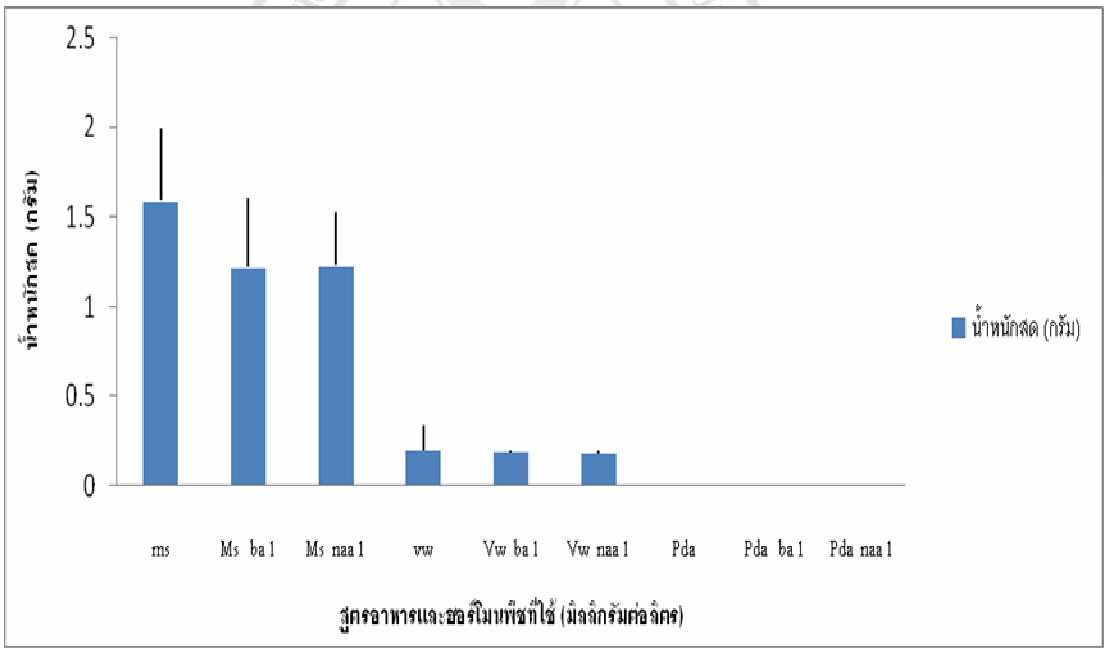
(ก) เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร PDA

(ข) เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร VW

(ค) เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS



ภาพที่ 4.2 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์ MS VW และ PDA โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางเมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์

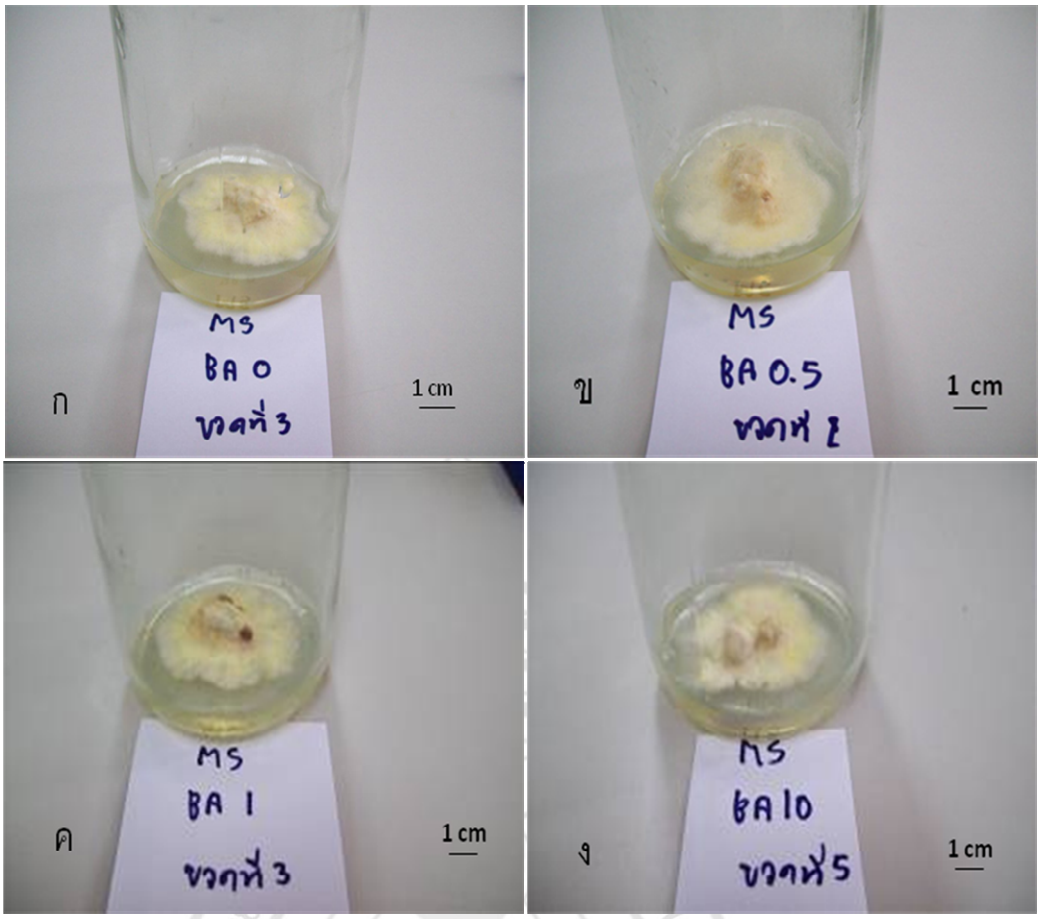


ภาพที่ 4.3 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS VW และ PDA โดยการชั่งน้ำหนักสดเมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์

4.2 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี NAA หรือ BA ที่มีความเข้มข้นต่างกัน

เมื่อนำผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA ทุกความเข้มข้น วิเคราะห์ทางสถิติแบบ ANOVA พบว่าการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าแตกต่างกันแบบมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value = 0.0004) (ภาคผนวก ก ตารางที่ 3) และนำผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าโดยชั่งน้ำหนักสดในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA ทุกความเข้มข้น วิเคราะห์ทางสถิติแบบ ANOVA พบว่าการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าแตกต่างกันแบบมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value = 0.0017) (ภาคผนวก ก ตารางที่ 4)

เมื่อนำผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางในอาหารสูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นของ BA ที่เนื้อเยื่อเห็ดห้าเจริญเติบโตดีกว่ากลุ่มควบคุมวิเคราะห์ทางสถิติแบบ ANOVA พบว่าการเจริญเติบโตโดยการวัดจากเส้นผ่านศูนย์กลางของเนื้อเยื่อเห็ดห้าระหว่าง MS, MS ที่มี BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่มีความแตกต่างกันเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (P-value = 0.9109) และนำผลการเจริญเติบโตเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นกลุ่มความเข้มข้นของ BA ที่เนื้อเยื่อเห็ดห้าเจริญเติบโตน้อยกว่ากลุ่มควบคุม (MS) วิเคราะห์ทางสถิติแบบ ANOVA พบว่าการเจริญเติบโตโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของเนื้อเยื่อเห็ดห้าระหว่าง MS ที่มี BA เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความแตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (P-value=0.009)



ภาพที่ 4.4 การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีความเข้มข้นของ BA ต่างกัน

(ก) เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ไม่มี BA

(ข) เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ค) เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ง) เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

ภาพที่ 4.4 การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีความเข้มข้นของ BA ต่างกัน(ต่อ)

(จ) เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อลิตร

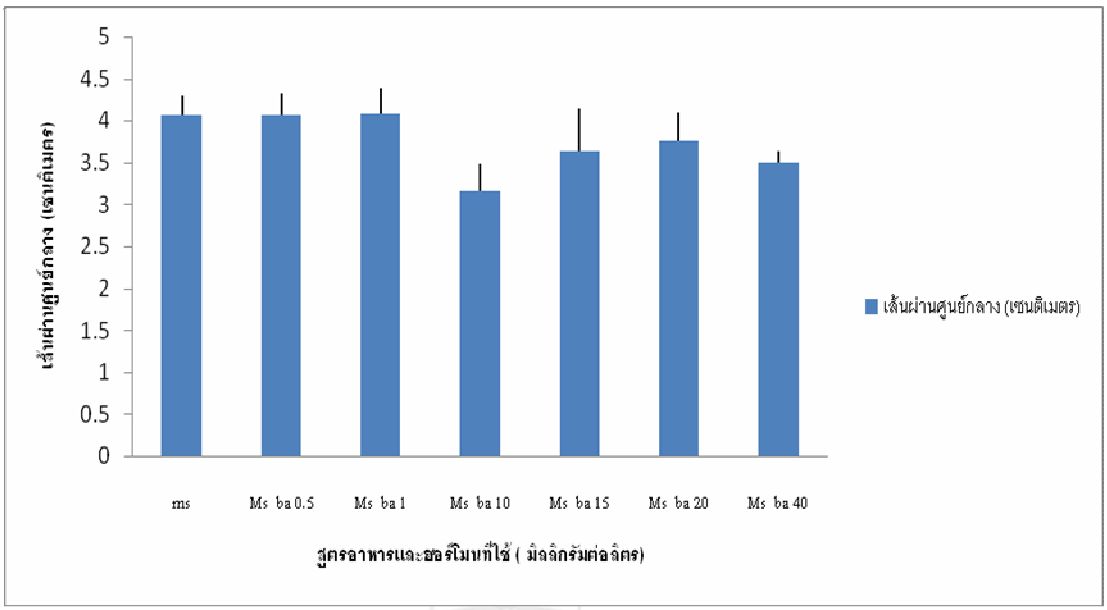
(ฉ) เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ช) เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตร

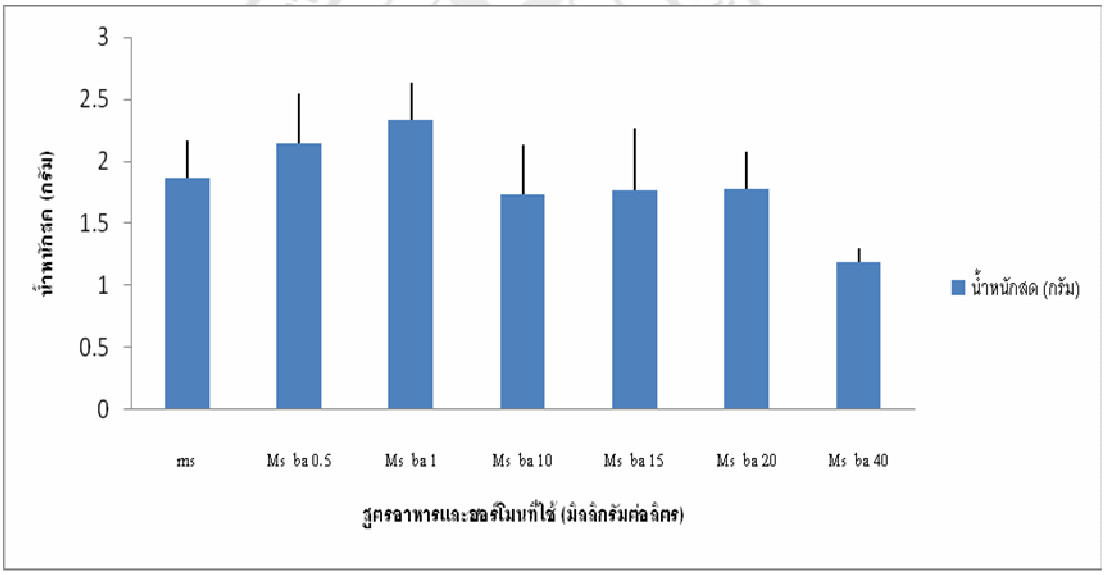
เมื่อนำผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าโดยชั่งน้ำหนักสดในอาหารสูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นกลุ่มความเข้มข้นของ BA ที่เนื้อเยื่อเห็ดห้าที่เจริญเติบโตดีกว่ากลุ่มควบคุมวิเคราะห์ทางสถิติแบบ ANOVA พบว่าการเจริญเติบโตโดยการชั่งน้ำหนักสดของเนื้อเยื่อเห็ดห้าระหว่าง MS , MS ที่มี BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่มีความแตกต่างกันเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม(P-value = 0.0612) และนำผลการเจริญเติบโตเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นของ BA ที่เนื้อเยื่อเห็ดห้าเจริญเติบโตน้อยกว่ากลุ่มควบคุม (MS) วิเคราะห์ทางสถิติแบบ ANOVA พบว่าการเจริญเติบโตโดยชั่งน้ำหนักสดของเนื้อเยื่อเห็ดห้าระหว่าง MS ที่มี BA เข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความแตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (P-value = 0.0019)

จากภาพที่ 4.5 พบว่าเนื้อเยื่อเห็ดห้าสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารสูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 4.08 เซนติเมตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.31 อันดับสอง คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS และ MS ที่มี BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 4.06 เซนติเมตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.23 และ 0.26 ตามลำดับ อันดับสาม คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 3.76 เซนติเมตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.33 อันดับสี่ คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 3.64 เซนติเมตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.51 อันดับห้า คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 3.50 เซนติเมตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.14 อันดับหก คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 3.16 เซนติเมตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.32

จากภาพที่ 4.6 เมื่อนำเนื้อเยื่อเห็ดห้ามาชั่งน้ำหนักสดพบว่าเมื่อเนื้อเยื่อเห็ดห้าสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA ในเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่งน้ำหนักสดได้ 2.338 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.36 อันดับสอง คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่งน้ำหนักสดได้ 2.142 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.41 อันดับสาม คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS โดยชั่งน้ำหนักสดได้ 1.868 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.31 อันดับสี่ คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่งน้ำหนักสดได้ 1.774 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.35 อันดับห้า คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่งน้ำหนักสดได้ 1.772 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.50



ภาพที่ 4.5 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีฮอร์โมน BA ในความเข้มข้นของฮอร์โมนที่แตกต่างกันโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางเมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์



ภาพที่ 4.6 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีฮอร์โมน BA ในความเข้มข้นของฮอร์โมนที่แตกต่างกันโดยการชั่งน้ำหนักสดเมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์

อันดับหก คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่งน้ำหนักสดได้ 1.736 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.40 อันดับเจ็ด คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่งน้ำหนักสดได้ 1.186 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.11 พบว่าเนื้อเยื่อเห็ดห้าเจริญเติบโตน้อยลงเมื่อ BA เข้มข้นมากขึ้น (P-value = 0.004)

เมื่อนำผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี NAA ทุกความเข้มข้น วิเคราะห์ทางสถิติแบบ ANOVA พบว่าการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าไม่แตกต่างกันแบบมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value = 0.0683) (ภาคผนวก ก ตารางที่ ก5) และนำผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าโดยการชั่งน้ำหนักสดในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี NAA ทุกความเข้มข้น วิเคราะห์ทางสถิติแบบ ANOVA พบว่าการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้ามีความแตกต่างกันแบบมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value = 0.0015) (ภาคผนวก ก ตารางที่ ก6)

เมื่อนำผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางในอาหารสูตร MS ที่มี NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นของ NAA ที่เนื้อเยื่อเห็ดห้าเจริญเติบโตดีกว่ากลุ่มควบคุม วิเคราะห์ทางสถิติแบบ ANOVA พบว่าการเจริญเติบโตโดยวัดจากเส้นผ่านศูนย์กลางของเนื้อเยื่อเห็ดห้าระหว่างกลุ่มควบคุมและ MS ที่มี NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P-value = 0.0218) และเมื่อนำผลการเจริญเติบโตกลุ่มเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสูตร MS ที่มี NAA เข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นกลุ่มความเข้มข้นของ NAA ที่เนื้อเยื่อเห็ดห้าเจริญเติบโตน้อยกว่ากลุ่มควบคุมวิเคราะห์ทางสถิติแบบ ANOVA พบว่าการเจริญเติบโตโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของเนื้อเยื่อเห็ดห้า MS ที่มี NAA เข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่แตกต่างกันเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (P-value = 0.0849)

เมื่อนำผลการเจริญเติบโตเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสูตร MS ที่มี NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นของ NAA ที่เนื้อเยื่อเห็ดห้าเจริญเติบโตดีกว่ากลุ่มควบคุมวิเคราะห์ทางสถิติแบบ ANOVA พบว่าการเจริญเติบโตโดยชั่งจากน้ำหนักสดของเนื้อเยื่อเห็ดห้าระหว่างกลุ่มควบคุมและ MS ที่มี NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่มีความแตกต่างกัน (P-value = 0.2028) แต่เมื่อเปรียบเทียบเทียบกับเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสูตร MS ที่มี NAA เข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นของ NAA ที่เนื้อเยื่อเห็ดห้าเจริญเติบโตน้อยกว่ากลุ่มควบคุม วิเคราะห์ทางสถิติแบบ ANOVA พบว่าการเจริญเติบโตโดยวัดจากน้ำหนักสดของเนื้อเยื่อเห็ดห้า MS ที่มี NAA เข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความแตกต่างกัน (P-value = 0.0066)

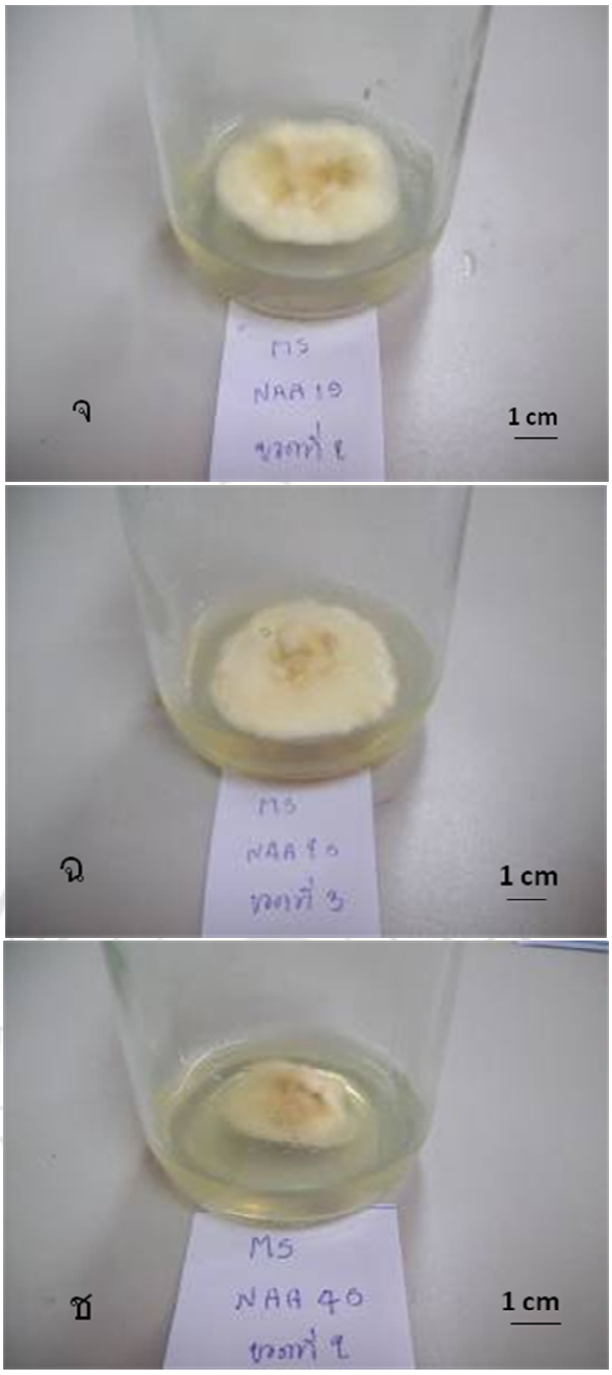
ภาพที่ 4.7 การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีความเข้มข้นของ NAA ต่างกัน

(ก) เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ไม่มี NAA

(ข) เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ค) เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ง) เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี NAA เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

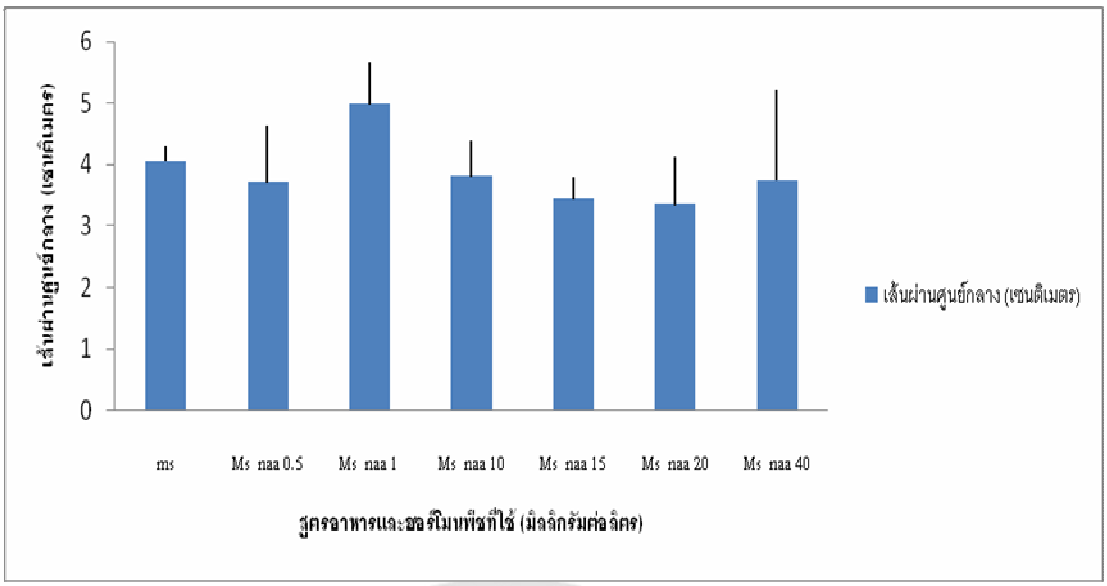


ภาพที่ 4.7 การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีความเข้มข้นของ NAA ต่างกัน(ต่อ)

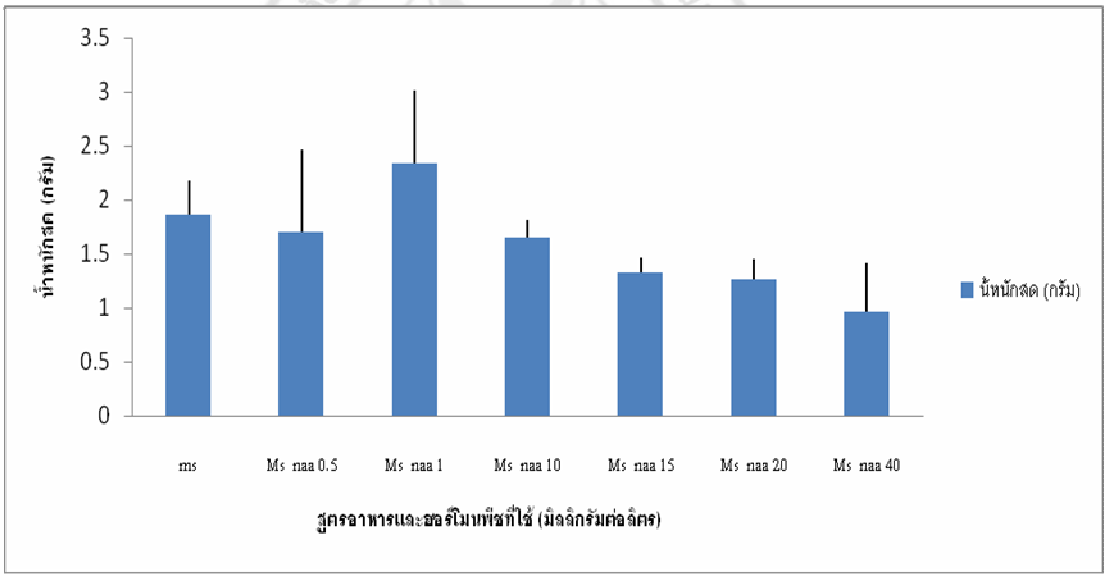
(จ) เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี NAA เข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ฉ) เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี NAA เข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่ลิตร

(ช) เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี NAA เข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 4.8 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีฮอร์โมน NAA ในความเข้มข้นของฮอร์โมนที่แตกต่างกันโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางเมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์



ภาพที่ 4.9 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีฮอร์โมน NAA ในความเข้มข้นของฮอร์โมนที่แตกต่างกันโดยการชั่งน้ำหนักสดเมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์

จากภาพที่ 4.8 พบว่า เนื้อเยื่อเห็ดห้าสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารสูตร MS ที่มี NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 4.98 เซนติเมตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.68 อันดับสอง คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 4.06 เซนติเมตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.23 อันดับสาม คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 3.80 เซนติเมตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.64 อันดับสี่ คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 3.74 เซนติเมตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 1.46 อันดับห้า คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 0.5มิลลิกรัมต่อลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 3.70 เซนติเมตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.92 อันดับหก คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง ได้ 3.44 เซนติเมตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.35 อันดับเจ็ด คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 3.34 เซนติเมตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.78 พบว่าเนื้อเยื่อเห็ดห้าเจริญเติบโตน้อยลงเมื่อ NAA เข้มข้นมากขึ้น

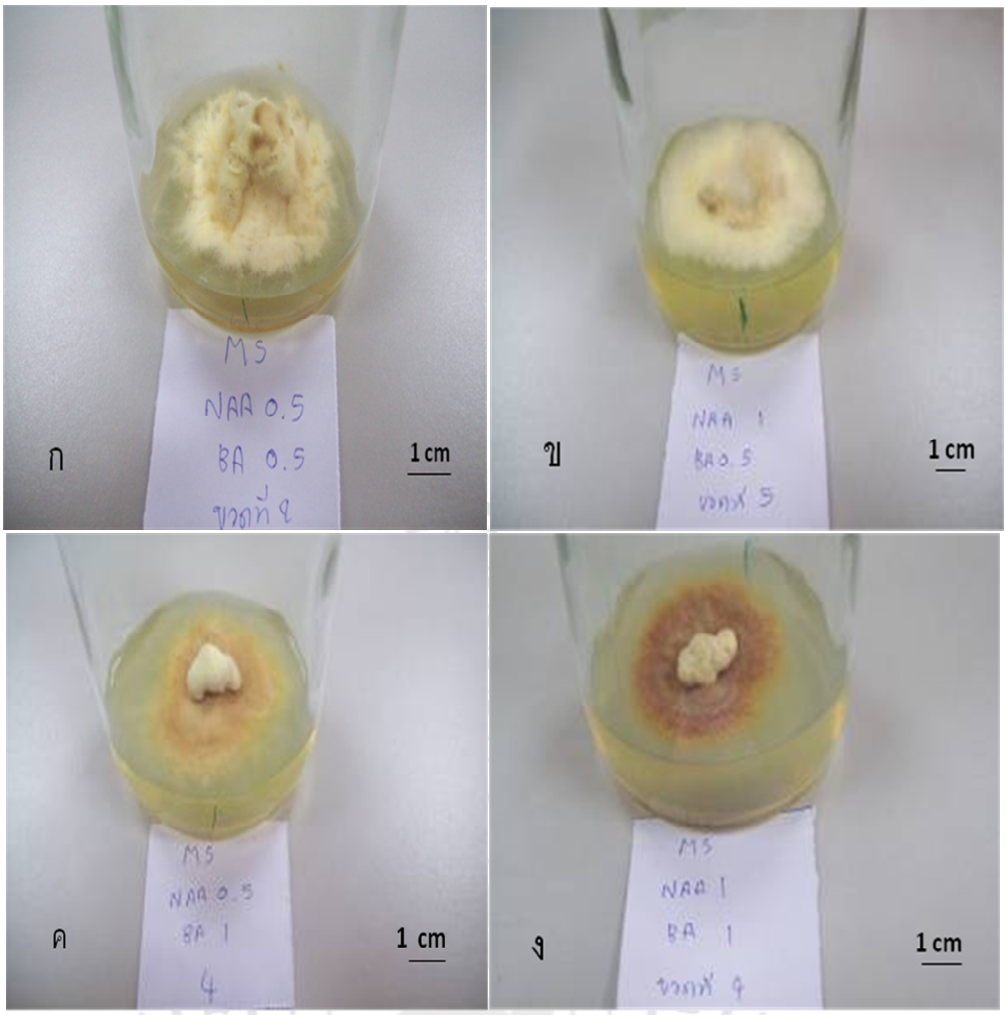
จากภาพที่ 4.9 เมื่อนำเนื้อเยื่อเห็ดห้าเนื้อเยื่อเห็ดห้าสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่งน้ำหนักสดได้ 2.336 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.68 อันดับสอง คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS โดยชั่งน้ำหนักสดได้ 1.868 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.31 อันดับสาม คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่งน้ำหนักสดได้ 1.706 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.41 อันดับสี่ คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี NAA เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่งน้ำหนักสดได้ 1.65 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.17 อันดับห้า คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี NAA เข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่งน้ำหนักสดได้ 1.326 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.14 อันดับหก คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี NAA เข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่งน้ำหนักสดได้ 1.268 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.19 อันดับเจ็ด คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี NAA เข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่งน้ำหนักสดได้ 0.966 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.45 พบว่า เนื้อเยื่อเห็ดห้าเจริญเติบโตน้อยลงเมื่อ NAA เข้มข้นมากขึ้น

4.3 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี NAA ร่วมกับ BA

เมื่อนำผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีฮอร์โมน BA และ NAA ในความเข้มข้นที่ต่างกันทุกความเข้มข้น วิเคราะห์ทางสถิติแบบ ANOVA พบว่าการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้ามีความแตกต่างกันแบบมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value = 0.003) (ภาคผนวก ก ตารางที่ ก7) และนำผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าโดยการชั่งน้ำหนักสดในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีฮอร์โมน BA และ NAA ในความเข้มข้นที่ต่างกันทุกความเข้มข้น วิเคราะห์ทางสถิติแบบ ANOVA พบว่าการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าไม่แตกต่างกันแบบมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value = 0.190) (ภาคผนวก ก ตารางที่ ก8)

จากภาพที่ 4.11 พบว่าเนื้อเยื่อเห็ดห้าสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA และ NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 4.63 เซนติเมตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 2.55 อันดับสอง คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA และ NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 3.8 เซนติเมตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.44 อันดับสาม คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA และ NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 3.64 เซนติเมตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.44 อันดับสี่ คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA และ NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 3.46 เซนติเมตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.23

จากภาพที่ 4.12 เมื่อนำเนื้อเยื่อเห็ดห้าชั่งน้ำหนักสดพว่าเนื้อเยื่อเห็ดห้าสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA และ NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรและ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่งน้ำหนักได้ 3.73 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 2.22 อันดับสอง คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA และ NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่งน้ำหนักได้ 3.13 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 1.20 อันดับสาม คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA และ NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่งน้ำหนักได้ 2.24 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.31 อันดับสี่ คือ เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA และ NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่งน้ำหนักได้ 2.2 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.44



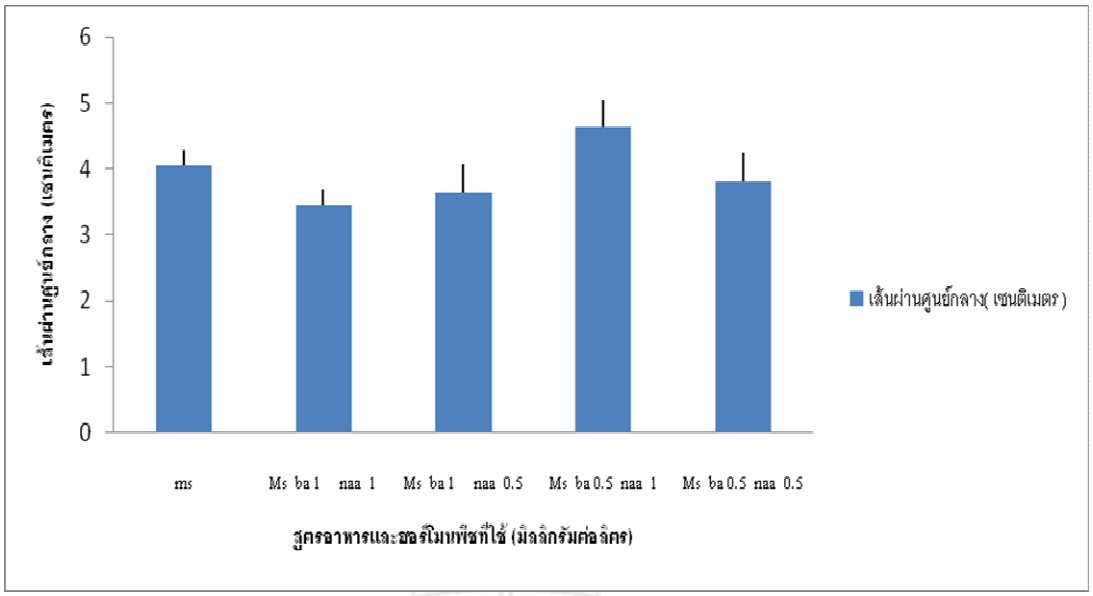
ภาพที่ 4.10 การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีความเข้มข้นของ NAA ร่วมกับ BA

(ก) เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์ สูตร MS ที่มี NAA ร่วมกับ BA เข้มข้น 0.5 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

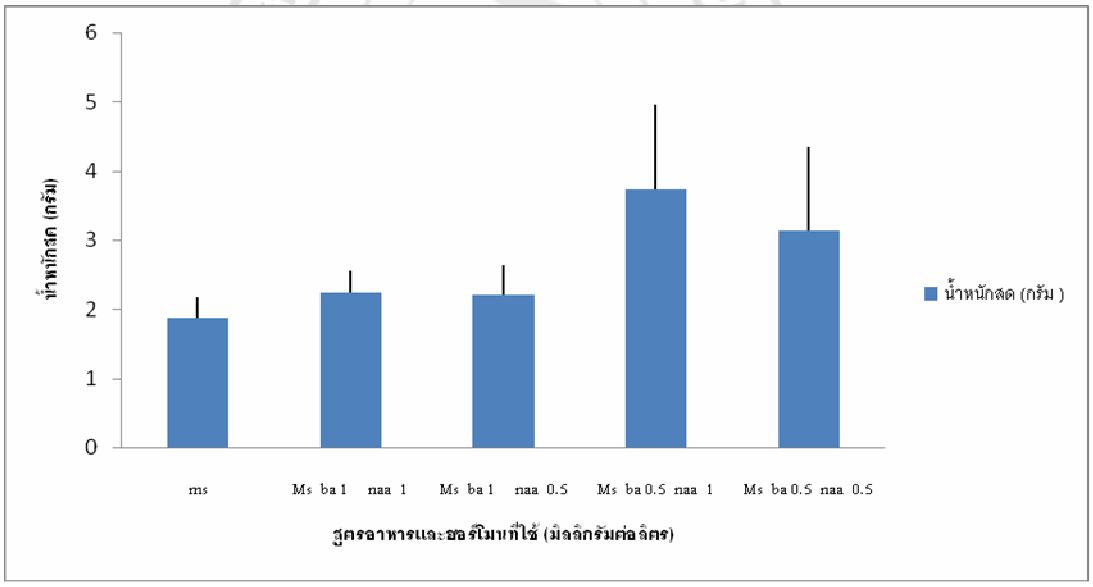
(ข) เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์ สูตร MS ที่มี NAA ร่วมกับ BA เข้มข้น 1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ค) เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์ สูตร MS ที่มี NAA ร่วมกับ BA เข้มข้น 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ง) เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์ สูตร MS ที่มี NAA ร่วมกับ BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 4.11 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ในความเข้มข้นของฮอร์โมน NAA และ BA ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางเมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์



ภาพที่ 4.12 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ในความเข้มข้นของฮอร์โมน NAA และ BA ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน โดยการชั่งน้ำหนักสดเมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์

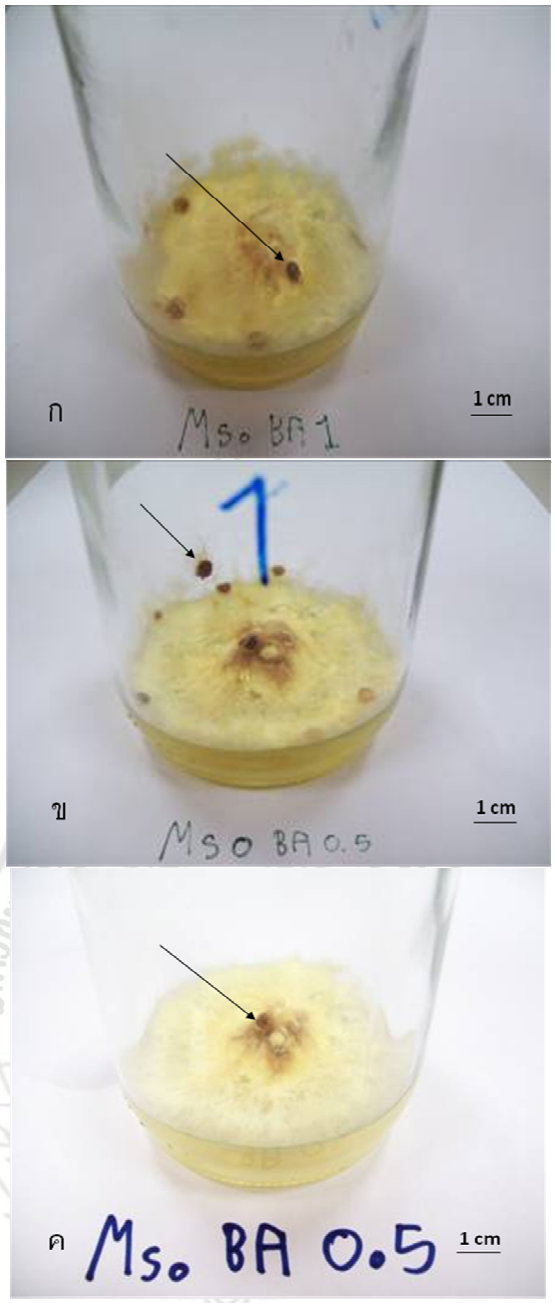
4.4 การเกิดดอกเห็ดระยะเริ่มต้นบนเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS

เนื้อเยื่อเห็ดห้าสามารถเจริญเติบโตในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ได้ นอกจากนี้เนื้อเยื่อเห็ดห้าสามารถสังเคราะห์ดอกเห็ดระยะเริ่มต้น โดยรูปร่างของดอกเห็ดระยะเริ่มต้นมีสีน้ำตาลเข้ม ลักษณะคล้ายกับเห็ดห้าขนาดเล็ก

จากภาพที่ 4.13 เนื้อเยื่อเห็ดห้าสังเคราะห์ดอกเห็ดระยะเริ่มต้นได้มากที่สุดในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเกิดการสังเคราะห์ดอกเห็ดระยะเริ่มต้นเฉลี่ยเท่ากับ 6 ดอก อันดับสอง อาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ไม่มี BA หรือ NAA โดยเกิดการสังเคราะห์ดอกเห็ดระยะเริ่มต้นเฉลี่ยเท่ากับ 5 ดอก อันดับสาม อาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 1 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเกิดการสังเคราะห์ดอกเห็ดระยะเริ่มต้นเฉลี่ยเท่ากับ 1.6 ดอก อันดับสี่ อาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเกิดการสังเคราะห์ดอกเห็ดระยะเริ่มต้นเฉลี่ยเท่ากับ 2 ดอก อันดับห้า อาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเกิดการสังเคราะห์ดอกเห็ดระยะเริ่มต้นเฉลี่ยเท่ากับ 0.8 ดอก อันดับหก อาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเกิดการสังเคราะห์ดอกเห็ดระยะเริ่มต้นเฉลี่ยเท่ากับ 0.8 ดอก การสังเคราะห์ดอกเห็ดระยะเริ่มต้นของเนื้อเยื่อเห็ดห้าจะลดน้อยลงเมื่อมี BA เข้มข้นมากขึ้น

เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี NAA สังเคราะห์ดอกเห็ดระยะเริ่มต้นได้น้อย ถ้าหากมี NAA เข้มข้นตั้งแต่ 10 มิลลิกรัมต่อลิตรขึ้นไป เนื้อเยื่อเห็ดห้าไม่สามารถสังเคราะห์ดอกเห็ดระยะเริ่มต้นได้ จากผลการวิจัยที่ได้มาจึงสรุปได้ว่า NAA ยับยั้งการสังเคราะห์ดอกเห็ดระยะเริ่มต้นของเนื้อเยื่อเห็ดห้า

เนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี NAA ร่วมกับ BA ไม่สังเคราะห์ดอกเห็ดระยะเริ่มต้นเนื่องจาก NAA ยับยั้งการสังเคราะห์ดอกเห็ดระยะเริ่มต้นเมื่อเปรียบเทียบภาพเนื้อเยื่อเห็ดห้าจากเห็ดห้าสดและภาพเนื้อเยื่อเห็ดห้าที่เกิดขึ้นบนเนื้อเยื่อในอาหารสูตร MS โดยส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ (ภาพที่ 12) ภาพ ก เป็นภาพเนื้อเยื่อจากเห็ดห้าสดที่กำลังขยาย 40X ภาพ ข เป็นภาพเนื้อเยื่อจากเห็ดห้าสดที่กำลังขยาย 20X ภาพ ค เป็นภาพเนื้อเยื่อจากเห็ดห้าที่เกิดบนอาหารสังเคราะห์ ที่กำลังขยาย 40X ภาพ ง เป็นภาพเนื้อเยื่อจากเห็ดห้าที่เกิดบนอาหารสังเคราะห์ ที่กำลังขยาย 20X พบว่าลักษณะภายในของเห็ดห้ามีความคล้ายคลึงกัน เห็ดห้าทั้งสองชนิดมีเส้นใยแบบไม่มีผนังกัน (Non septate Hypha) มีลักษณะเป็นท่อทะลุถึงกันโดยตลอด (ตามลูกศรชี้) Hypha เห็ดห้าจะจับกลุ่มกันอย่างหนาแน่นบริเวณชั้นในและจับกลุ่มกันอย่างเบาบางบริเวณชั้นนอก ไม่พบการสร้างสปอร์บริเวณปลาย Hypha ของเห็ดห้าทั้งสองชนิด



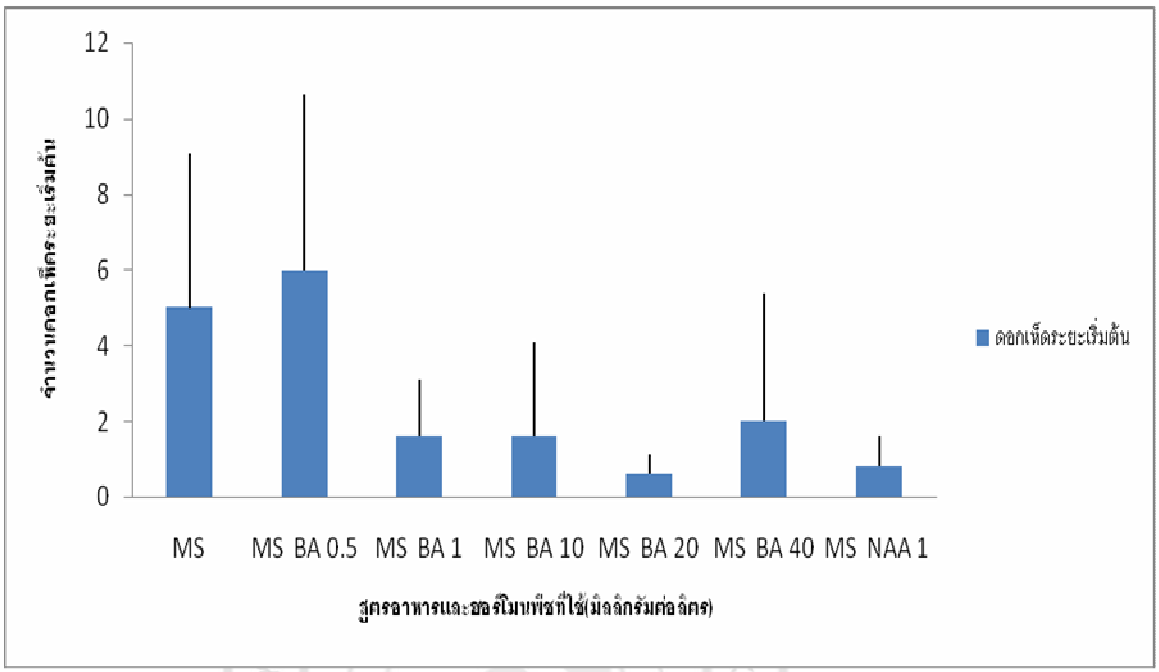
ภาพที่ 4.13 การเกิดดอกเห็ดระยะเริ่มต้นบนเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS

(ก) การเกิดดอกเห็ดระยะเริ่มต้นเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตามลูกศรชี้)

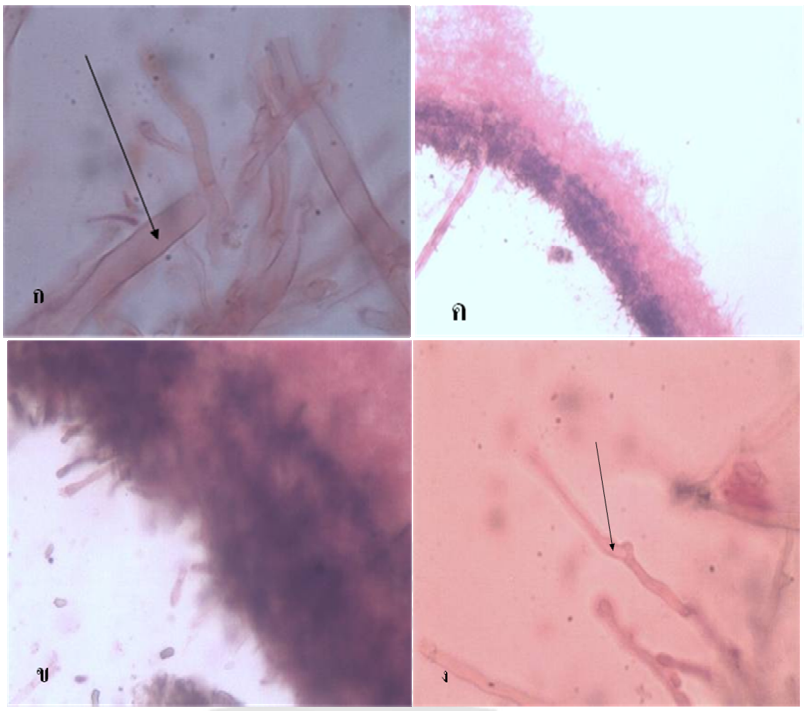
(ข) การเกิดดอกเห็ดระยะเริ่มต้นเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตามลูกศรชี้)

(ค) การเกิดดอกเห็ดระยะเริ่มต้นเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตามลูกศรชี้)

จากภาพที่ 4.16 จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเห็ดห้าในถุงเพาะเลี้ยงซึ่งใช้ข้าวเปลือกเป็นหลักและมีอาหารสังเคราะห์และกากน้ำตาลเป็นส่วนผสม ใช้เวลาในการเพาะเลี้ยง 3 สัปดาห์ พบว่าเนื้อเยื่อเห็ดห้าสามารถเจริญเติบโต และเจริญเติบโตเร็วกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยแกลบและเปลือกไม้อื่น ๆ พร้อมกับสังเคราะห์ดอกเห็ดระยะเริ่มต้น แต่ไม่สามารถพัฒนาเป็นดอกเห็ดที่สมบูรณ์



ภาพที่ 4.14 การเกิดดอกเห็ดระยะเริ่มต้นบนเนื้อเยื่อเห็ดห้า



ภาพที่ 4.15 เนื้อเยื่อเห็ดห้าจากเห็ดห้าสดและเห็ดห้าที่เกิดขึ้นบนเนื้อเยื่อโดยส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์

(ก) ภาพเนื้อเยื่อจากเห็ดห้าสดที่กำลังขยาย 40X

(ข) ภาพเนื้อเยื่อจากเห็ดห้าสดที่กำลังขยาย 20X

(ค) ภาพเนื้อเยื่อจากเห็ดห้าที่เกิดบนอาหารสังเคราะห์ ที่กำลังขยาย 40X

(ง) ภาพเนื้อเยื่อจากเห็ดห้าที่เกิดบนอาหารสังเคราะห์ ที่กำลังขยาย 20X

ภาพที่ 4.16 เนื้อเยื่อเห็ดห้าที่เจริญเติบโตในถุงเพาะเลี้ยง

4.5 วิเคราะห์ผลการทดลอง

หลังจากที่นำเนื้อเยื่อเห็ดห้ามาเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร PDA VW และ MS โดยใช้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ ได้รับแสงและอุณหภูมิตามธรรมชาติ วิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตได้ดังต่อไปนี้

4.5.1 วิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS VW และ PDA

เนื้อเยื่อเห็ดห้าเจริญเติบโตได้ดีในอาหารสังเคราะห์สูตร MS เนื่องจากอาหารสังเคราะห์สูตร MS มีธาตุอาหารที่จำเป็นและมีปริมาณที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้า เนื้อเยื่อเห็ดห้าเจริญเติบโตในอาหารสังเคราะห์สูตร VW ได้เพียงเล็กน้อย เนื่องจากอาหารสังเคราะห์สูตร VW มีธาตุอาหารหลักที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าเพียงไม่กี่ชนิด และมีปริมาณเพียงเล็กน้อย เนื้อเยื่อเห็ดห้าไม่สามารถเจริญเติบโตในอาหารสังเคราะห์สูตร PDA เนื่องจากอาหารสังเคราะห์สูตร PDA ไม่มีธาตุอาหารหลักที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้า

อาหารสังเคราะห์สูตร MS ใช้สารเคมีในการเตรียมอาหารทั้งหมด 21 ชนิด ซึ่งแต่ละชนิดเป็นธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของไม้ยืนต้น อาหารสังเคราะห์สูตร VW ใช้สำหรับเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ มีสารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารทั้งหมดเพียงแค่ 9 ชนิด สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตร VW เกือบทั้งหมดใช้ในการเตรียมอาหารสังเคราะห์สูตร MS เช่นกัน แต่อาหารสูตร VW ใช้สารเคมีในการเตรียมอาหารในปริมาณที่น้อยกว่า เช่น KNO_3 อาหารสังเคราะห์สูตร MS ใช้ 1,900 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ในอาหารสูตร VW ใช้เพียง 525 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารสังเคราะห์สูตร PDA ใช้สำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อราชั้นต่ำ แบคทีเรีย เตรียมมาจากมันฝรั่งบด น้ำตาลเด็กโตส และผงวุ้นเพื่อช่วยในการแข็งตัวของอาหารซึ่งมีธาตุอาหารเพียงไม่กี่ชนิด ดังนั้นเนื้อเยื่อเห็ดห้าจึงเจริญเติบโตได้ไม่ดีในอาหารสูตร VW และไม่สามารถเจริญเติบโตในอาหารสังเคราะห์สูตร PDA ได้

4.5.2 วิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี NAA หรือ BA ที่มีความเข้มข้นต่างกัน

เห็ดห้าเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA และ NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่เมื่อวิเคราะห์และเปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตทางสถิติ พบว่าการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA และ NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม ผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าจากการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางมีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตจากการชั่งน้ำหนักสด โดยหากผลการเจริญเติบโตที่ได้จากการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางมีค่าเพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มควบคุม ผลการเจริญเติบโตที่ได้จากการชั่งน้ำหนักสดจะมีค่าเพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มควบคุมในความเข้มข้นเดียวกัน แต่ถ้าหากผลการเจริญเติบโตที่ได้จากการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางมีค่าลดลงน้อยกว่ากลุ่มควบคุม ผลการเจริญเติบโตที่ได้จากการชั่งน้ำหนักสดจะมีค่าลดลงน้อยกว่ากลุ่มควบคุมในความเข้มข้นเดียวกัน

คุณสมบัติของ BA เป็นตัวกระตุ้นช่วยในการแบ่งเซลล์ของพืชและการแตกแขนงของปลายยอดแต่ถ้าฮอร์โมนชนิดนี้มีในปริมาณมากก็จะยั้บยั้งการแบ่งเซลล์ในพืชได้จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าฮอร์โมนพืช BA ซึ่งอยู่ในกลุ่มไซโตไคนินมีผลช่วยในการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้า แต่ถ้ามีปริมาณมากก็จะยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้า ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับพืช การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มความเข้มข้นของ BA ที่ทำให้เนื้อเยื่อเห็ดห้าเจริญเติบโตดีที่สุดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เนื่องจากความเข้มข้นของ BA ยังไม่ใช่จุดที่เหมาะสมที่จะสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้า

คุณสมบัติของฮอร์โมน NAA เป็นออกซินช่วยในการเร่งการแตกรากของพืช และเพิ่มความยืดตัวของผนังเซลล์ทำให้การขยายตัวของเซลล์ทั้งด้านกว้างและด้านยาวจึงเกิดขึ้นได้ง่ายแต่ถ้าใช้ในปริมาณมากจะยับยั้งการเจริญเติบโตทันที จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าฮอร์โมนพืช NAA ซึ่งอยู่ในกลุ่มออกซินมีผลช่วยในการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าแต่ถ้ามีปริมาณมากก็จะยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้า ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับพืช การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มความเข้มข้นของ NAA ที่ทำให้เนื้อเยื่อเห็ดห้าเจริญเติบโตดีที่สุดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เนื่องจากความเข้มข้นของ NAA ไม่เหมาะสมที่จะสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้า

4.5.3 วิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี NAA ร่วมกับ BA

เห็ดห้าเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA และ NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่เมื่อวิเคราะห์และเปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตทางสถิติ พบว่าการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA และ NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม ทั้งนี้อาจเนื่องมากจาก อุณหภูมิ แสง และ ค่า pH ไม่เหมาะสมต่อการทำงานของ BA และ NAA ทำให้ไม่สามารถทำงานได้อย่างเต็มที่และกระตุ้นเจริญเติบโตเนื้อเยื่อเห็ดห้าได้น้อย แต่ถ้าใช้ BA และ NAA ในความเข้มข้นสูงจะชะลอการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าและทำให้สังเคราะห์ดอกเห็ดระยะเริ่มต้นลดลง

ในพืชที่เพาะเลี้ยงในหลอดแก้วอัตราส่วนของไซโตไคนินต่อออกซินจะมีผลต่อการพัฒนาของแคลลัส (กลุ่มของเซลล์พืชที่เจริญเติบโตแต่ไม่เป็นต้นที่สมบูรณ์) โดยแคลลัสที่ได้รับอัตราส่วนของไซโตไคนินต่อออกซินต่ำ (ออกซินมากกว่าไซโตไคนิน) จะเกิดรากแคลลัสที่ได้รับอัตราส่วนของไซโตไคนินต่อออกซินสูง (ไซโตไคนินมากกว่าออกซิน) จะเกิดตายอด ซึ่งจะสัมพันธ์ต่อผลของ อัตราส่วนของออกซินและไซโตไคนินต่อเนื้อเยื่อเห็ดห้าโดยที่เนื้อเยื่อเห็ดห้าสามารถเจริญเติบโตแผ่ขยายเส้นใยได้ดีที่สุดในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีฮอร์โมน BA + NAA ความเข้มข้น 0.5 + 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งอัตราส่วนของ BA จะน้อยกว่า NAA คิดเป็น 1:2

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ NAA ซึ่งเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินและ BA ซึ่งอยู่ในกลุ่มไซโตไคนินต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยและการสังเคราะห์ดอกเห็ดที่สมบูรณ์ของเห็ดห้า (*P. portentosus*) โดยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสูตร MS VW และ PDA ที่มี NAA และ BA ในความเข้มข้นที่แตกต่างกันเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเส้นใยและการสังเคราะห์ดอกเห็ดที่สมบูรณ์โดยสรุปผลการทดลองที่ได้ดังต่อไปนี้

5.1.1 เนื้อเยื่อเห็ดห้าเจริญเติบโตได้ดีในอาหารสังเคราะห์สูตร MS เนื้อเยื่อเห็ดห้าเจริญเติบโตได้เล็กน้อยในอาหารสังเคราะห์สูตร VW และ เนื้อเยื่อเห็ดห้าไม่เจริญเติบโตในอาหารสังเคราะห์สูตร PDA

5.1.2 เนื้อเยื่อเห็ดห้าเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งวัดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 4.90 เซนติเมตรและชั่งน้ำหนักได้ 2.336 กรัม

5.1.3 เนื้อเยื้อเห็ดห้า สังเคราะห์ดอกเห็ดระยะเริ่มต้นได้มากที่สุดในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร การสังเคราะห์ดอกเห็ดระยะเริ่มต้นของเนื้อเยื่อเห็ดห้าจะลดน้อยลงเมื่อมี BA เข้มข้นมากขึ้น

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรนำผลการวิจัยที่ได้มาต่อยอดเพื่อพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงเห็ดห้าตามวิถีทางภูมิปัญญาท้องถิ่นและสามารถนำมาใช้ในการเพาะเห็ดห้าในเชิงอุตสาหกรรม เพื่อเสริมรายได้ในครัวเรือนให้เกษตรกร

5.2.2 งานวิจัยในครั้งต่อไปควรศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตประเภทอื่น ๆ ต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้า

รายการอ้างอิง

รายการอ้างอิง

คำนูณ กาญจนภูมิ. (2542). **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.** กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ดีพร้อม ไชยวงศ์เกียรติ. (2550, 2 กันยายน). การเพาะเลี้ยงเห็ดห้า. **เดลินิวส์**, หน้า 7.

มงคล อุตกลิ้ง. (2552, 1 ตุลาคม). เสมียนธุรการและกำลังพล, หน่วยฝึกนักศึกษาวิชาทหารจังหวัดทหารบกเชียงราย. **สัมภาษณ์**

Aggangan ,N. S., Dell B. and Malajczuk, N. (1997). Effects of chromium and nickel on growth of the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus* and formation of ectomycorrhizas on *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake. **Geoderma, 84**(1-3), 15-27**.**

Barker, S. J. and Tagu, D. (2000). The Role of Auxin and Cytokinins in Mycorrhizal Symbioses. **J Plant growth Regul, 19**(2), 144 – 154.

Herrmann, S. Oelmuller, R. and Buscot, F. (2003). Manipulation of the onset of ectomycorrhiza formation by Idole – 3 – Acetic Acid, activated charcoal or relative humidity in the association between oak microcuttings and *Piloderma croceum*. Influence on plant development and photosynthesis. **Plant Physiol, 161**, 509 – 517.

Laurans, F. , Pepin, R. and Gay, G. (2000). Fungal auxin overproduction affects the anatomy of *Hebeloma cylindrosporum – Pinus pinaster* ectomycorrhizas. **Tree Physiology, 21,** 533–540**.**

Lumyong, S. , Sanmee, R. and Lumyong, P. (2007). Is large scale cultivation of boletes possible. **Opera mycological, 1,** 34 – 37

Magae, Y. and Ohara, S. (2006). Structure - Activity Relationships of Triterpenoid Saponins on Fruiting Body Induction in *Pleurotus ostreatus*. **Biosci. Biotechnol, Biochem, 70**(8), 1979-1982.

Reboutier, D. and Bianchi, M. (2002). The Indolic Compound Hypaphorin Produced by Ectomycorrhiza Fungus Interferes with Auxin Action and Evokes Early Responses in Nonhost *Arabidopsis thaliana*. **Molecular Plant-Microbe Interactions. 15**(9), 932 – 938**.**

Yamanaka, T. (2001). Fruit – body production and mycelial growth of *Tephrocybe tesquorum* in urea - treated forest soil. **Mycologia. 95**(4), 584 – 589**.**

Yamanaka, T. (2003). The effect of pH on the growth saprotrophic and ectomycorrhizal ammonia fungi *in vitro*. **Mycoscience, 42,**

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ผลวิเคราะห์สถิติ แบบ ANOVA

ตารางที่ ก1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS , VW และ PDA โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง

สูตรอาหาร/ชุดที่	1	2	3	4	5	เฉลี่ย	SD
ms	3.5	4.6	4	3.3	3.3	3.74	0.559464
Ms ba 1	3.8	4.5	3.3	4	4	3.92	0.432435
Ms naa 1	3.3	4.5	4	4	3.5	3.86	0.472229
vw	1	1.2	0.8	0.9	1	0.98	0.148324
Vw ba 1	1	1	0.9	1	0.7	0.92	0.130384
Vw naa 1	0.8	1	1.1	0.8	0.8	0.9	0.141421
Pda	0	0	0	0	0	0	0
Pda ba 1	0	0	0	0	0	0	0
Pda naa 1	0	0	0	0	0	0	0

ตารางที่ ก1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS , VW และ PDA โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง(ต่อ)

Anova: Single Factor

SUMMARY

Groups	*Count*	*Sum*	*Average*	*Variance*
ms	5	18.7	3.74	0.313
Ms ba 1	5	19.6	3.92	0.187
Ms naa 1	5	19.3	3.86	0.223
vw	5	4.9	0.98	0.022
Vw ba 1	5	4.6	0.92	0.017
Vw naa 1	5	4.5	0.90	0.02

ANOVA

Source of Variation	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-value*	*F crit*
Between Groups	63.46667	5	12.69333	97.3913	3.91E15	2.620654
Within Groups	3.128	24	0.130333			
Total	66.59467	29				

ตารางที่ ก1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS , VW และ PDA โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง(ต่อ)

Post Hoc Test

(I) food	(J)food	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound
1.00	2.00	-.18000	.22833	1.000	1.000	.5640
	3.00	-.12000	.22833	1.000	1.000	.6240
	4.00	2.76000(*)	.22833	.000	.000	3.5040
	5.00	2.82000(*)	.22833	.000	.000	3.5640
	6.00	2.84000(*)	.22833	.000	.000	3.5840
2.00	1.00	.18000	.22833	1.000	1.000	.9240
	3.00	.06000	.22833	1.000	1.000	.8040
	4.00	2.94000(*)	.22833	.000	.000	3.6840
	5.00	3.00000(*)	.22833	.000	.000	3.7440
	6.00	3.02000(*)	.22833	.000	.000	3.7640
3.00	1.00	.12000	.22833	1.000	1.000	.8640
	2.00	-.06000	.22833	1.000	1.000	.6840
	4.00	2.88000(*)	.22833	.000	.000	3.6240
	5.00	2.94000(*)	.22833	.000	2.1960	3.6840
	6.00	2.96000(*)	.22833	.000	2.2160	3.7040

ตารางที่ ก1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS , VW และ PDA โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง(ต่อ)

Post Hoc Test

(I) food	(J)food	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound
4.00	1.00	-2.76000(*)	.22833	.000	-3.5040	-2.0160
	2.00	-2.94000(*)	.22833	.000	-3.6840	-2.1960
	3.00	-2.88000(*)	.22833	.000	-3.6240	-2.1360
	5.00	.06000	.22833	1.000	-.6840	.8040
	6.00	.08000	.22833	1.000	-.6640	.8240
5.00	1.00	-2.82000(*)	.22833	.000	-3.5640	-2.0760
	2.00	-3.00000(*)	.22833	.000	-3.7440	-2.2560
	3.00	-2.94000(*)	.22833	.000	-3.6840	-2.1960
	4.00	-.06000	.22833	1.000	-.8040	.6840
	6.00	.02000	.22833	1.000	-.7240	.7640
6.00	1.00	-2.84000(*)	.22833	.000	-3.5840	-2.0960
	2.00	-3.02000(*)	.22833	.000	-3.7640	-2.2760
	3.00	-2.96000(*)	.22833	.000	-3.7040	-2.2160
	4.00	-.08000	.22833	1.000	-.8240	.6640
	5.00	-.02000	.22833	1.000	-.7640	.7240

* The mean difference is significant at the .05 level.

ตารางที่ ก2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS , VW และ PDA โดยชั่งน้ำหนักสด

สูตรอาหาร/ชุดที่	1	2	3	4	5	เฉลี่ย	SD
ms	2.19	1.75	1.16	1.59	1.3	1.59	0.4
Ms ba 1	1.76	1.41	0.87	0.95	1.57	1.31	0.38
Ms naa 1	1.19	1.13	1.12	1.77	0.98	1.23	0.3
vw	0.33	0.39	0.1	0.14	0.08	0.2	0.14
Vw ba 1	0.21	0.2	0.21	0.18	0.17	0.19	0.01
Vw naa 1	0.15	0.22	0.17	0.17	0.19	0.18	0.02
Pda	0	0	0	0	0	0	0
Pda ba 1	0	0	0	0	0	0	0
Pda naa 1	0	0	0	0	0	0	0

Anova: Single Factor

SUMMARY

Groups	*Count*	*Sum*	*Average*	*Variance*
ms	5	7.99	1.598	0.16357
Ms ba 1	5	6.56	1.312	0.15082
Ms naa 1	5	6.19	1.238	0.09437
vw	5	1.04	0.208	0.02017
Vw ba 1	5	0.97	0.194	0.00033
Vw naa 1	5	0.9	0.18	0.0007

Source of Variation	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-value*	*F crit*
Between Groups	10.96038	5	2.192075	30.58994	1.15E09	2.620654
Within Groups	1.71984	24	0.07166			
Total	12.68022	29				

ตารางที่ ก2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS , VW และ PDA โดยชั่งน้ำหนักสด(ต่อ)

Post Hoc Test

(I) food	(J)food	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound
1.00	2.00	.28600	.16930	1.000	-.2657	.8377
	3.00	.36000	.16930	.659	-.1917	.9117
	4.00	1.39000(*)	.16930	.000	.8383	1.9417
	5.00	1.40400(*)	.16930	.000	.8523	1.9557
	6.00	1.41800(*)	.16930	.000	.8663	1.9697
2.00	1.00	-.28600	.16930	1.000	-.8377	.2657
	3.00	.07400	.16930	1.000	-.4777	.6257
	4.00	1.10400(*)	.16930	.000	.5523	1.6557
	5.00	1.11800(*)	.16930	.000	.5663	1.6697
	6.00	1.13200(*)	.16930	.000	.5803	1.6837
3.00	1.00	-.36000	.16930	.659	-.9117	.1917
	2.00	-.07400	.16930	1.000	-.6257	.4777
	4.00	1.03000(*)	.16930	.000	.4783	1.5817
	5.00	1.04400(*)	.16930	.000	.4923	1.5957
	6.00	1.05800(*)	.16930	.000	.5063	1.6097
4.00	1.00	-1.39000(*)	.16930	.000	-1.9417	-.8383
	2.00	-1.10400(*)	.16930	.000	-1.6557	-.5523
	3.00	-1.03000(*)	.16930	.000	-1.5817	-.4783
	5.00	.01400	.16930	1.000	-.5377	.5657
	6.00	.02800	.16930	1.000	-.5237	.5797

ตารางที่ ก2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS , VW และ PDA โดยชั่งน้ำหนักสด(ต่อ)

Post Hoc Test

(I) food	(J)food	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound
5.00	1.00	-1.40400(*)	.16930	.000	-1.9557	-.8523
	2.00	-1.11800(*)	.16930	.000	-1.6697	-.5663
	3.00	-1.04400(*)	.16930	.000	-1.5957	-.4923
	4.00	-.01400	.16930	1.000	-.5657	.5377
	6.00	.01400	.16930	1.000	-.5377	.5657
6.00	1.00	-1.41800(*)	.16930	.000	-1.9697	-.8663
	2.00	-1.13200(*)	.16930	.000	-1.6837	-.5803
	3.00	-1.05800(*)	.16930	.000	-1.6097	-.5063
	4.00	-.02800	.16930	1.000	-.5797	.5237
	5.00	-.01400	.16930	1.000	-.5657	.5377

* The mean difference is significant at the .05 level.

ตารางที่ ก3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี 3-Benzyladenine โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง

สูตรอาหาร/ชุดที่	1	2	3	4	5	เฉลี่ย	SD
ms	3.8	3.9	4.3	4.3	4	4.06	0.23
Ms ba 0.5	3.8	4	4	4	4.5	4.06	0.26
Ms ba 1	4.3	4	4.5	3.8	3.8	4.08	0.31
Ms ba 10	3	3.5	3	3.5	2.8	3.16	0.32
Ms ba 15	4.1	3.6	2.8	3.7	4	3.64	0.51
Ms ba 20	3.5	3.4	4.2	4	3.7	3.76	0.33
Ms ba 40	3.5	3.7	3.3	3.5	3.5	3.5	0.14

Anova : Single Factor

SUMMARY

Groups	*Count*	*Sum*	*Average*	*Variance*
ms	5	20.3	4.06	0.053
Ms ba 0.5	5	20.3	4.06	0.068
Ms ba 1	5	20.4	4.08	0.097
Ms ba 10	5	15.8	3.16	0.103
Ms ba 15	5	18.2	3.64	0.263
Ms ba 20	5	18.8	3.76	0.113
Ms ba 40	5	17.5	3.5	0.02

ANOVA

Source of Variation	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-value*	*F crit*
Between Groups	3.619429	6	0.603238	5.889354	0.000452	2.445259
Within Groups	2.868	28	0.102429			
Total	6.487429	34				

ตารางที่ ก3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี 3-Benzyladenine โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง(ต่อ)

Post Hoc Test

(I) food	(J)food	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Upper Bound
1.00	2.00	.00000	.20241	1.000	-.6761	.6761
	3.00	-.02000	.20241	1.000	-.6961	.6561
	4.00	.90000(*)	.20241	.003	.2239	1.5761
	5.00	.42000	.20241	.993	-.2561	1.0961
	6.00	.30000	.20241	1.000	-.3761	.9761
	7.00	.56000	.20241	.208	-.1161	1.2361
2.00	1.00	.00000	.20241	1.000	-.6761	.6761
	3.00	-.02000	.20241	1.000	-.6961	.6561
	4.00	.90000(*)	.20241	.003	.2239	1.5761
	5.00	.42000	.20241	.993	-.2561	1.0961
	6.00	.30000	.20241	1.000	-.3761	.9761
	7.00	.56000	.20241	.208	-.1161	1.2361
3.00	1.00	.02000	.20241	1.000	-.6561	.6961
	2.00	.02000	.20241	1.000	-.6561	.6961
	4.00	.92000(*)	.20241	.002	.2439	1.5961
	5.00	.44000	.20241	.805	-.2361	1.1161
	6.00	.32000	.20241	1.000	-.3561	.9961
	7.00	.58000	.20241	.164	-.0961	1.2561
4.00	1.00	-.90000(*)	.20241	.003	-1.5761	-.2239
	2.00	-.90000(*)	.20241	.003	-1.5761	-.2239
	3.00	-.92000(*)	.20241	.002	-1.5961	-.2439
	5.00	-.48000	.20241	.522	-1.1561	.1961
	6.00	-.60000	.20241	.129	-1.2761	.0761
	7.00	-.34000	.20241	1.000	-1.0161	.3361

ตารางที่ ก3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี 3-Benzyladenine โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง(ต่อ)

Post Hoc Test

(I) food	(J)food	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Upper Bound
5.00	1.00	-.42000	.20241	.993	-1.0961	.2561
	2.00	-.42000	.20241	.993	-1.0961	.2561
	3.00	-.44000	.20241	.805	-1.1161	.2361
	4.00	.48000	.20241	.522	-.1961	1.1561
	6.00	-.12000	.20241	1.000	-.7961	.5561
	7.00	.14000	.20241	1.000	-.5361	.8161
6.00	1.00	-.30000	.20241	1.000	-.9761	.3761
	2.00	-.30000	.20241	1.000	-.9761	.3761
	3.00	-.32000	.20241	1.000	-.9961	.3561
	4.00	.60000	.20241	.129	-.0761	1.2761
	5.00	.12000	.20241	1.000	-.5561	.7961
	7.00	.26000	.20241	1.000	-.4161	.9361
7.00	1.00	-.56000	.20241	.208	-1.2361	.1161
	2.00	-.56000	.20241	.208	-1.2361	.1161
	3.00	-.58000	.20241	.164	-1.2561	.0961
	4.00	.34000	.20241	1.000	-.3361	1.0161
	5.00	-.14000	.20241	1.000	-.8161	.5361
	6.00	-.26000	.20241	1.000	-.9361	.4161

* The mean difference is significant at the .05 level.

ตารางที่ ก4 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี 3-Benzyladenine โดยชั่งน้ำหนักสด

สูตรอาหาร/ชุดที่	1	2	3	4	5	เฉลี่ย	SD
ms	1.65	2.11	2.3	1.68	1.6	1.868	0.31
Ms ba 0.5	1.8	2.31	2.49	1.61	2.5	2.142	0.41
Ms ba 1	1.9	2.29	2.9	2.4	2.2	2.338	0.36
Ms ba 10	1.6	1.9	2.29	1.69	1.2	1.736	0.4
Ms ba 15	1.06	1.91	1.47	2.19	2.23	1.772	0.5
Ms ba 20	2.27	1.7	1.37	1.99	1.54	1.774	0.35
Ms ba 40	1.07	1.07	1.2	1.27	1.32	1.186	0.11

Anova : Single Factor

SUMMARY

Groups	*Count*	*Sum*	*Average*	*Variance*
ms	5	9.34	1.868	0.09997
Ms ba 0.5	5	10.71	2.142	0.16937
Ms ba 1	5	11.69	2.338	0.13322
Ms ba 10	5	8.68	1.736	0.16043
Ms ba 15	5	8.86	1.772	0.25042
Ms ba 20	5	8.87	1.774	0.12903
Ms ba 40	5	5.93	1.186	0.01303

ANOVA

Source of Variation	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-value*	*F crit*
Between Groups	3.934594	6	0.655766	4.804295	0.001746	2.445259
Within Groups	3.82188	28	0.136496			
Total	7.756474	34				

ตารางที่ ก4 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี 3-Benzyladenine โดยชั่งน้ำหนักสด(ต่อ)

Post Hoc Test

(I) food	(J)food	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Upper Bound
1.00	2.00	-.27400	.23366	1.000	-1.0545	.5065
	3.00	-.47000	.23366	1.000	-1.2505	.3105
	4.00	.13200	.23366	1.000	-.6485	.9125
	5.00	.09600	.23366	1.000	-.6845	.8765
	6.00	.09400	.23366	1.000	-.6865	.8745
	7.00	.68200	.23366	.144	-.0985	1.4625
2.00	1.00	.27400	.23366	1.000	-.5065	1.0545
	3.00	-.19600	.23366	1.000	-.9765	.5845
	4.00	.40600	.23366	1.000	-.3745	1.1865
	5.00	.37000	.23366	1.000	-.4105	1.1505
	6.00	.36800	.23366	1.000	-.4125	1.1485
	7.00	.95600(*)	.23366	.007	.1755	1.7365
3.00	1.00	.47000	.23366	1.000	-.3105	1.2505
	2.00	.19600	.23366	1.000	-.5845	.9765
	4.00	.60200	.23366	.327	-.1785	1.3825
	5.00	.56600	.23366	.465	-.2145	1.3465
	6.00	.56400	.23366	.474	-.2165	1.3445
	7.00	1.15200(*)	.23366	.001	.3715	1.9325
4.00	1.00	-.13200	.23366	1.000	-.9125	.6485
	2.00	-.40600	.23366	1.000	-1.1865	.3745
	3.00	-.60200	.23366	.327	-1.3825	.1785
	5.00	-.03600	.23366	1.000	-.8165	.7445
	6.00	-.03800	.23366	1.000	-8.185	.7425
	7.00	.55000	.23366	.542	-.2305	1.3305

ตารางที่ ก4 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี 3-Benzyladenine โดยชั่งน้ำหนักสด(ต่อ)

Post Hoc Test

(I) food	(J)food	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Upper Bound
5.00	1.00	-.09600	.23366	1.000	-.8765	.6845
	2.00	-.37000	.23366	1.000	-1.1505	.4105
	3.00	-.56600	.23366	.465	-1.3465	.2145
	4.00	.03600	.23366	1.000	-.7445	.8165
	6.00	-.00200	.23366	1.000	-.7825	.7785
	7.00	.58600	.23366	.383	-.1945	1.3665
6.00	1.00	-.09400	.23366	1.000	-.8745	.6865
	2.00	-.36800	.23366	1.000	-1.1485	.4125
	3.00	-.56400	.23366	.474	-1.3445	.2165
	4.00	.03800	.23366	1.000	-.7425	.8185
	5.00	.00200	.23366	1.000	-.7785	.7825
	7.00	.58800	.23366	.375	-.1925	1.3685
7.00	1.00	-.68200	.23366	.144	-1.4625	.0985
	2.00	-.95600(*)	.23366	.007	-1.7365	-.1755
	3.00	-1.15200(*)	.23366	.001	-1.9325	-.3715
	4.00	-.55000	.23366	.542	-1.3305	.2305
	5.00	-.58600	.23366	.383	-1.3665	.1945
	6.00	-.58800	.23366	.375	-1.3685	.1925

* The mean difference is significant at the .05 level.

ตารางที่ ก5 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี 1-Naphthaleneacetic acid โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง

สูตรอาหาร/ชุดที่	1	2	3	4	5	เฉลี่ย	SD
ms	3.8	3.9	4.3	4.3	4	4.06	0.23
Ms naa 0.5	2.8	4.2	4.5	4.4	2.6	3.7	0.92
Ms naa 1	6	4.4	5.2	4.3	5	4.98	0.68
Ms naa 10	4.7	3.4	4.1	3.2	3.6	3.8	0.6
Ms naa 15	3.8	3.2	3	3.4	3.8	3.44	0.35
Ms naa 20	2.4	3	3	4	4.3	3.34	0.78
Ms naa 40	3.2	2.2	4.3	6	3	3.74	1.46

Anova : Single Factor

SUMMARY

Groups	*Count*	*Sum*	*Average*	*Variance*
ms	5	20.3	4.06	0.053
Ms naa 0.5	5	18.5	3.7	0.85
Ms naa 1	5	24.9	4.98	0.472
Ms naa 10	5	19	3.8	0.365
Ms naa 15	5	17.2	3.44	0.128
Ms naa 20	5	16.7	3.34	0.618
Ms naa 40	5	18.7	3.74	2.158

ANOVA

Source of Variation	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-value*	*F crit*
Between Groups	8.922857	6	1.487143	2.241602	0.068388	2.445259
Within Groups	18.576	28	0.663429			
Total	27.49886	34				

ตารางที่ ก5 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี 1-Naphthaleneacetic acid โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง(ต่อ)

Post Hoc Test

(I) food	(J)food	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Upper Bound
1.00	2.00	.36000	.51514	1.000	-1.3608	2.0808
	3.00	-.92000	.51514	1.000	-2.6408	.8008
	4.00	.26000	.51514	1.000	-1.4608	1.9808
	5.00	.62000	.51514	1.000	-1.1008	2.3408
	6.00	.72000	.51514	1.000	-1.0008	2.4408
	7.00	.32000	.51514	1.000	-1.4008	2.0408
2.00	1.00	-.36000	.51514	1.000	-2.0808	1.3608
	3.00	-1.28000	.51514	.403	-3.0008	.4408
	4.00	-.10000	.51514	1.000	-1.8208	1.6208
	5.00	.26000	.51514	1.000	-1.4608	1.9808
	6.00	.36000	.51514	1.000	-1.3608	2.0808
	7.00	-.04000	.51514	1.000	-1.7608	1.6808
3.00	1.00	.92000	.51514	1.000	-.8008	2.6408
	2.00	1.28000	.51514	.403	-.4408	3.0008
	4.00	1.18000	.51514	.624	-.5408	2.9008
	5.00	1.54000	.51514	.121	-.1808	3.2608
	6.00	1.64000	.51514	.075	-.0808	3.3608
	7.00	1.24000	.51514	.481	-.4808	2.9608
4.00	1.00	-.26000	.51514	1.000	-1.9808	1.4608
	2.00	.10000	.51514	1.000	-1.6208	1.8208
	3.00	-1.18000	.51514	.624	-2.9008	.5408
	5.00	.36000	.51514	1.000	-1.3608	2.0808
	6.00	.36000	.51514	1.000	-1.3608	2.0808
	7.00	.06000	.51514	1.000	-1.6608	1.7808

ตารางที่ ก5 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี 1-Naphthaleneacetic acid โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง(ต่อ)

Post Hoc Test

(I) food	(J)food	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Upper Bound
5.00	1.00	-.62000	.51514	1.000	-2.3408	1.1008
	2.00	-.26000	.51514	1.000	-1.9808	1.4608
	3.00	-1.54000	.51514	.121	-3.2608	.1808
	4.00	-.36000	.51514	1.000	-2.0808	1.3608
	6.00	.10000	.51514	1.000	-1.6208	1.8208
	7.00	-.30000	.51514	1.000	-2.0208	1.4208
6.00	1.00	-.72000	.51514	1.000	-2.4408	1.0008
	2.00	-.36000	.51514	1.000	-2.0808	1.3608
	3.00	-1.64000	.51514	.075	-3.3608	.0808
	4.00	-.46000	.51514	1.000	-2.1808	1.2608
	5.00	-.10000	.51514	1.000	-1.8208	1.6208
	7.00	-.40000	.51514	1.000	-2.1208	1.3208
7.00	1.00	-.32000	.51514	1.000	-2.0408	1.4008
	2.00	.04000	.51514	1.000	-1.6808	1.7608
	3.00	-1.24000	.51514	.481	-2.9608	.4808
	4.00	-.06000	.51514	1.000	-1.7808	1.6608
	5.00	.30000	.51514	1.000	-1.4208	2.0208
	6.00	.40000	.51514	1.000	-1.3208	2.1208

* The mean difference is significant at the .05 level.

ตารางที่ ก6 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี 1-Naphthaleneacetic acid โดยชั่งน้ำหนักสด

สูตรอาหาร/ชุดที่	1	2	3	4	5	เฉลี่ย	SD
ms	1.65	2.11	2.3	1.68	1.6	1.868	0.31
Ms naa 0.5	2.03	2.8	0.89	1.7	1.11	1.706	0.76
Ms naa 1	2.49	2.35	3.31	1.41	2.12	2.336	0.68
Ms naa 10	1.93	1.65	1.59	1.63	1.45	1.65	0.17
Ms naa 15	1.45	1.18	1.16	1.43	1.41	1.326	0.14
Ms naa 20	1.39	1.1	1.07	1.25	1.53	1.268	0.19
Ms naa 40	0.7	1.08	1.7	0.82	0.53	0.966	0.45

Anova: Single Factor

SUMMARY

Groups	*Count*	*Sum*	*Average*	*Variance*
ms	5	9.34	1.868	0.09997
Ms naa 0.5	5	8.53	1.706	0.58073
Ms naa 1	5	11.68	2.336	0.46918
Ms naa 10	5	8.25	1.65	0.0306
Ms naa 15	5	6.63	1.326	0.02053
Ms naa 20	5	6.34	1.268	0.03782
Ms naa 40	5	4.83	0.966	0.20848

ANOVA

Source of Variation	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-value*	*F crit*
Between Groups	6.067989	6	1.011331	4.891364	0.00156	2.445259
Within Groups	5.78924	28	0.206759			
Total	11.85723	34				

ตารางที่ ก6 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี 1-Naphthaleneacetic acid โดยชั่งน้ำหนักสด(ต่อ)

Post Hoc Test

(I) food	(J)food	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Upper Bound
1.00	2.00	.16200	.28758	1.000	-.7986	1.1226
	3.00	-.46800	.28758	1.000	-1.4286	.4926
	4.00	.21800	.28758	1.000	-.7426	1.1786
	5.00	.54200	.28758	1.000	-.4186	1.5026
	6.00	.60000	.28758	.970	-.3606	1.5606
	7.00	.90200	.28758	.084	-.0586	1.8626
2.00	1.00	-.16200	.28758	1.000	-1.1226	.7986
	3.00	-.63000	.28758	.776	-1.5906	.3306
	4.00	.05600	.28758	1.000	-.9046	1.0166
	5.00	.38000	.28758	1.000	-.5806	1.3406
	6.00	.43800	.28758	1.000	-.5226	1.3986
	7.00	.74000	.28758	.329	-.2206	1.7006
3.00	1.00	.46800	.28758	1.000	-.4926	1.4286
	2.00	.63000	.28758	.776	-.3306	1.5906
	4.00	.68600	.28758	.505	-.2746	1.6466
	5.00	1.01000(*)	.28758	.032	.0494	1.9706
	6.00	1.06800(*)	.28758	.019	.1074	2.0286
	7.00	1.37000(*)	.28758	.001	.4094	2.3306
4.00	1.00	-.21800	.28758	1.000	-1.1786	.7426
	2.00	-.05600	.28758	1.000	-1.0166	.9046
	3.00	-.68600	.28758	.505	-1.6466	.2746
	5.00	.32400	.28758	1.000	-.6366	1.2846
	6.00	.38200	.28758	1.000	-.5786	1.3426
	7.00	.68400	.28758	.513	-.2766	1.6446

ตารางที่ ก6 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี 1-Naphthaleneacetic acid โดยชั่งน้ำหนักสด(ต่อ)

Post Hoc Test

(I) food	(J)food	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Upper Bound
5.00	1.00	-.54200	.28758	1.000	-1.5026	.4186
	2.00	-.38000	.28758	1.000	-1.3406	.5806
	3.00	-1.01000(*)	.28758	.032	-1.9706	-.0494
	4.00	-.32400	.28758	1.000	-1.2846	.6366
	6.00	.05800	.28758	1.000	-.9026	1.0186
	7.00	.36000	.28758	1.000	-.6006	1.3206
6.00	1.00	-.60000	.28758	.970	-1.5606	.3606
	2.00	-.43800	.28758	1.000	-1.3986	.5226
	3.00	-1.06800(*)	.28758	.019	-2.0286	-.1074
	4.00	-.38200	.28758	1.000	-1.3426	.5786
	5.00	-.05800	.28758	1.000	-1.0186	.9026
	7.00	.30200	.28758	1.000	-.6586	1.2626
7.00	1.00	-.90200	.28758	.084	-1.8626	.0586
	2.00	-.74000	.28758	.329	-1.7006	.2206
	3.00	-1.37000(*)	.28758	.001	-2.3306	-.4094
	4.00	-.68400	.28758	.513	-1.6446	.2766
	5.00	-.36000	.28758	1.000	-1.3206	.6006
	6.00	-.30200	.28758	1.000	-1.2626	.6586

* The mean difference is significant at the .05 level.

ตารางที่ ก7 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี 1-Naphthaleneacetic acid และ 3-Benzyladenine โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง

สูตรอาหาร/ชุดที่	1	2	3	4	5	เฉลี่ย	SD
ms	3.8	3.9	4.3	4.3	4	4.06	0.23
Ms ba 1 naa 1	3.3	3.2	3.5	3.8	3.5	3.46	0.23
Ms ba 1 naa 0.5	4.3	3.1	3.5	3.8	3.5	3.64	0.44
Ms ba 0.5 naa 1	5.1	4.5	4.3	0	0	4.63	0.41
Ms ba 0.5 naa 0.5	4	4.5	3.5	3.5	3.5	3.8	0.44

Anova: Single Factor

SUMMARY

Groups	*Count*	*Sum*	*Average*	*Variance*
ms	5	20.3	4.06	0.053
Ms ba 1 naa 1	5	17.3	3.46	0.053
Ms ba 1 naa 0.5	5	18.2	3.64	0.198
Ms ba 0.5 naa 1	5	13.9	2.78	6.527
Ms ba 0.5 naa 0.5	5	19	3.8	0.2

ANOVA

Source of Variation	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-value*	*F crit*
Between Groups	30540	4	0.7630	5.816	0.003	2.866081
Within Groups	2.3630	18	0.1310			
Total	5.4170	22				

ตารางที่ ก7 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี 1-Naphthaleneacetic acid และ 3-Benzyladenine โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง (ต่อ)

Post Hoc Test

(I) food	(J)food	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Upper Bound
1.00	2.00	.60000	.22914	.174	-.1325	1.3325
	3.00	.42000	.22914	.834	-.3125	1.1525
	4.00	-.57333	.26458	.439	-1.4191	.2724
	5.00	.26000	.22914	1.000	-.4725	.9925
2.00	1.00	-.60000	.22914	.174	-1.3325	.1325
	3.00	-.18000	.22914	1.000	-.9125	.5525
	4.00	-1.17333(*)	.26458	.003	-2.0191	-.3276
	5.00	-.34000	.22914	1.000	-1.0725	.3925
3.00	1.00	-.42000	.22914	.834	-1.1525	.3125
	2.00	.18000	.22914	1.000	-.5525	.9125
	4.00	-.99333(*)	.26458	.015	-1.8391	-.1476
	5.00	-.16000	.22914	1.000	-.8925	.5725
4.00	1.00	.57333	.26458	.439	-.2724	1.4191
	2.00	1.17333(*)	.26458	.003	.3276	2.0191
	3.00	.99333(*)	.26458	.015	.1476	1.8391
	5.00	.83333	.26458	.055	-.0124	1.6791
5.00	1.00	-.26000	.22914	1.000	-.9925	.4725
	2.00	.34000	.22914	1.000	-.3925	1.0725
	3.00	.16000	.22914	1.000	-.5725	.8925
	4.00	-.83333	.26458	.055	-1.6791	.0124

* The mean difference is significant at the .05 level.

ตารางที่ ก8 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี 1-Naphthaleneacetic acid และ 3-Benzyladenine โดยชั่งน้ำหนักสด

สูตรอาหาร/ชุดที่	1	2	3	4	5	เฉลี่ย	sd
ms	1.65	2.11	2.3	1.68	1.6	1.868	0.31
Ms ba 1 naa 1	2.51	1.84	2.09	2.6	2.2	2.24	0.31
Ms ba 1 naa 0.5	2.98	1.93	1.9	2.04	2.18	2.2	0.44
Ms ba 0.5 naa 1	4.37	4.53	2.31	0	0	3.73	1.23
Ms ba 0.5 naa 0.5	5.01	2.48	3.69	2.53	1.95	3.13	1.22

Anova: Single Factor

SUMMARY

Groups	*Count*	*Sum*	*Average*	*Variance*
ms	5	9.34	1.868	0.09997
Ms ba 1 naa 1	5	11.24	2.248	0.09657
Ms ba 1 naa 0.5	5	11.03	2.206	0.19928
Ms ba 0.5 naa 1	5	11.21	2.242	4.95527
Ms ba 0.5 naa 0.5	5	15.66	3.132	1.50572

ANOVA

Source of Variation	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-value*	*F crit*
Between Groups	9.2900	4	2.3230	3.9170	0.190	2.866081
Within Groups	10.6720	18	0.5930			
Total	19.9620	22				

ตารางที่ ก8 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี 1-Naphthaleneacetic acid และ 3-Benzyladenine โดยชั่งน้ำหนักสด (ต่อ)

Post Hoc Test

(I) food	(J)food	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Upper Bound
1.00	2.00	-.38000	.48699	1.000	-1.9367	1.1767
	3.00	-.33800	.48699	1.000	-1.8947	1.2187
	4.00	-1.86867(*)	.56232	.038	-3.6662	-.0712
	5.00	-1.26400	.48699	.183	-2.8207	.2927
2.00	1.00	.38000	.48699	1.000	-1.1767	1.9367
	3.00	.04200	.48699	1.000	-1.5147	1.5987
	4.00	-1.48867	.56232	.164	-3.2862	.3088
	5.00	-.88400	.48699	.862	-2.4407	.6727
3.00	1.00	.33800	.48699	1.000	-1.2187	1.8947
	2.00	-.04200	.48699	1.000	-1.5987	1.5147
	4.00	-1.53067	.56232	.140	-3.3282	.2668
	5.00	-.92600	.48699	.734	-2.4827	.6307
4.00	1.00	1.86867(*)	.56232	.038	.0712	3.6662
	2.00	1.48867	.56232	.164	-.3088	3.2862
	3.00	1.53067	.56232	.140	-.2668	3.3282
	5.00	.60467	.56232	1.000	-1.1928	2.4022
5.00	1.00	1.26400	.48699	.183	-.2927	2.8207
	2.00	.88400	.48699	.862	-.6727	2.4407
	3.00	.92600	.48699	.734	-.6307	2.4827
	4.00	-.60467	.56232	1.000	-2.4022	1.1928

* The mean difference is significant at the .05 level.

ตารางที่ ก9 การเกิดดอกเห็ดระยะเริ่มต้นบนเนื้อเยื่อเห็ดห้าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS

ความเข้มข้นฮอร์โมน	จำนวนดอกเห็ดระยะเริ่มต้น (เฉลี่ย)	SD
MS No Hormone	5	4.062019
MS BA 0.5 mg/l	6	4.636809
MS BA 1 mg/l	1.6	1.516575
MS BA 10 mg/l	1.6	2.50998
MS BA 20 mg/l	0.6	0.547723
MS BA 40 mg/l	2	3.391165
MS NAA 1 mg/l	0.8	0.83666

ภาคผนวก ข

ตารางสูตรอาหาร VW PDA และ MS

ตารางที่ ข1 อาหารสูตร Vacin & Went Modified Orchid Basal Salt Mixture

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ปริมาณที่ใช้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
ammonium sulfate	$(NH_4)_2SO_4$	500
calcium phosphate, Tribasic	$Ca_3(PO_4)_2$	200
$Na_2EDTA•2H_2O$	$Na_2EDTA•2H_2O$	37.26
Ferrous Sulfate•$7H_2O$	$FeSO_4.7H_2O$	27.8
magnesium sulfate	$MgSO_4.7H_2O$	250
manganese sulfate	$MnSO_4.H_2O$	5.6
potassium nitrate	KNO_3	525
Potassium Phosphate, Monobasic	KH_2PO_4	250
sucrose	$C_{12}H_{22}O_{11}$	20000

ตารางที่ ข2 สูตรอาหาร PDA

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ปริมาณที่ใช้ (กรัม)
Potato	-	200 g
Dextrose	$C_6H_{12}O_6$	20 g
Agar	-	15 g
distilled water	H_2O	1000 ml

ตารางที่ ข3 สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารสูตร Murashige และ Skoog (1962)

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ปริมาณที่ใช้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
ammonium nitrate	NH_4NO_3	1,650
potassium nitrate	KNO_3	1,900
calcium chloride	$CaCl_2.2H_2O$	440
magnesium sulfate	$MgSO_4.7H_2O$	370
potassium dihydrogen - phosphate	KH_2PO_4	170
boric acid	H_3BO_3	6.2
manganese sulfate	$MnSO_4.H_2O$	16.9
zinc sulfate	$ZnSO_4.7H_2O$	8.6
potassium iodide	KI	0.83
sodium molypdate	$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25
copper sulfate	$CuSO_4.5H_2O$	0.025
cobalt chloride	$CoCl_2.6H_2O$	0.025
EDTA Disodium Salt	$Na_2EDTA.2H_2O$	37.26
Ferrous sulfate	$FeSO_4.7H_2O$	27.80
myo-Inositol	$C_6H_{12}O_6$	100
glycine	$C_2H_5NO_2$	2
nicotinic acid (vitamin B_3)	$C_6H_5NO_2$	0.5
pyridoxine-HCl (vitamin B_6)	$C_8H_{11}NO_3$	0.5
thiamine-HCl (vitamin B_1)	$C_{12}H_{18}Cl_2N_4OS$	0.1
ผงถ่าน (Activated Charcoal)		
sucrose	$C_{12}H_{22}O_{11}$	30,000
pH 5.5		

ประวัติผู้เขียน

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นาย รัฐกานท์ จางคพิเชียร

วัน เดือน ปีเกิด 21 สิงหาคม 2528

สถานที่อยู่ปัจจุบัน 3/2 หมู่ที่ 1 ต. เวียง อ.เทิง จ.เชียงราย 57160

ประวัติการศึกษา

2551 ปริญญาตรีครุศาสตรบัณฑิต
วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย

ประวัติการทำงาน

2553 – ปัจจุบัน รับราชการทหารสายงานสัสดี ตำแหน่งเสมียนฝ่ายสรรพกำลัง
จังหวัดทหารบกพะเยา

ผลงานวิจัย

2550 ความคิดเห็นต่อแนวทางการแก้ไขปัญหาการมีเพศสัมพันธ์ก่อนแต่งงาน ของนักศึกษาชั้นปีที่ 4 คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย โดย ได้รับทุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย

2550 การสำรวจหาปริมาณฟอร์มัลดีไฮด์ที่ปนเปื้อนในผักสวนครัวที่วางจำหน่าย ตามท้องตลาด โดยได้รับทุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย