บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

เมื่อศึกษาลักษณะของตัวอย่างเห็ดโคนที่รวบรวมจากแหล่งต่างๆและจัดจำแนกชนิดของเห็ดโคน โดยเปรียบเทียบกับคำอธิบายรายละเอียดลักษณะต่างๆของดอกเห็ด ได้แก่ หมวกเห็ด ครีบ ก้าน และ สปอร์ จากเอกสารของ เกษม สร้อยทอง (2537) อนงค์ จันทรศรีกุล (2538) ราชบัณฑิตยสถาน (2539)และ Pegler and Vanhaecke (1994) สามารถจำแนกชนิดของเห็ดโคนได้ 7 ชนิด จากจำนวนตัวอย่าง 10 ตัวอย่าง (ภาพที่ 31 - 40) ได้แก่

ตัวอย่างที่ 1 จากจังหวัดนครปฐม จัดอยู่ในเห็ดโคนชนิด *Termitomyces microcarpus*
ตัวอย่างที่ 2 จากจังหวัดนนทบุรี จัดอยู่ในเห็ดโคนชนิด *Termitomyces microcarpus*
ตัวอย่างที่ 3 จากจังหวัดนครสวรรค์ จัดอยู่ในเห็ดโคนชนิด *Termitomyces striatus*
ตัวอย่างที่ 4 จากจังหวัดสุพรรณบุรี จัดอยู่ในเห็ดโคนชนิด *Termitomyces globulus*
ตัวอย่างที่ 5 จากจังหวัดกาญจนบุรี จัดอยู่ในเห็ดโคนชนิด *Termitomyces robustus*
ตัวอย่างที่ 6 จากจังหวัดยโสธร จัดอยู่ในเห็ดโคนชนิด *Termitomyces tyleranus*
ตัวอย่างที่ 7 จากจังหวัดอุบลราชธานี จัดอยู่ในเห็ดโคนชนิด *Termitomyces tyleranus*
ตัวอย่างที่ 8 จากจังหวัดราชบุรี จัดอยู่ในเห็ดโคนชนิด *Termitomyces schimperi*
ตัวอย่างที่ 9 จากจังหวัดอุทัยธานี จัดอยู่ในเห็ดโคนชนิด *Termitomyces globulus*
ตัวอย่างที่ 10 จากกรุงเทพมหานครฯ จัดอยู่ในเห็ดโคนชนิด *Termitomyces clypeatus*

และพบว่าการแพร่กระจายของเห็ดโคนที่มีชนิดเดียวกัน สามารถพบได้ในบริเวณจังหวัดที่อยู่ใกล้เคียงหรือติดต่อกัน เช่น เห็ดโคน *Termitomyces microcarpus* สามารถพบได้ที่จังหวัดนครปฐม และ จังหวัดนนทบุรี เห็ดโคน *Termitomyces globulus* สามารถพบได้ที่จังหวัดสุพรรณบุรี และ จังหวัดอุทัยธานี เห็ดโคน *Termitomyces tyleranus* สามารถพบได้ที่จังหวัดยโสธร และ จังหวัดอุบลราชธานี แสดงว่าการกระจายของเห็ดโคนอาจจำเพาะเจาะจงอยู่ในสภาพแวดล้อมและสถานที่ใกล้เคียงกัน

จากนั้นทำการแยกสายใยของราจากเนื้อเยื่อของเห็ดทั้ง 10 ชนิด เพื่อให้ได้สายใยราที่บริสุทธิ์ มีเพียง 7 ตัวอย่างที่สามารถแยกสายใยได้ คือตัวอย่างที่ 1 - 7 ส่วนตัวอย่างที่ 8 -10 นั้นไม่สามารถแยกสายใยให้บริสุทธิ์ได้ ดังนั้นจึงใช้สายใยของราจากตัวอย่างที่ 1 - 7 ไปศึกษาสรีรวิทยาต่อไป

การเจริญของเส้นใยราเห็ดโคน *Termitomyces microcarpus* จากจังหวัดนครปฐม *Termitomyces microcarpus* จากจังหวัดนนทบุรี *Termitomyces striatus* จากจังหวัดนครสวรรค์ *Termitomyces globulus* จากจังหวัดสุพรรณบุรี *Termitomyces robustus* จากจังหวัดกาญจนบุรี *Termitomyces tyleranus* จากจังหวัดยโสธร และ*Termitomyces tyleranus* จากจังหวัดอุบลราชธานี บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ ได้แก่ Potato Dextrose Agar (PDA) Malt Extract Agar (MEA) Czapek Dox Agar (CDA) อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร 1 (ใบตองบด) อาหารสูตร 2 (ฟางข้าวบด) อาหารสูตร 3 (ใบอ้อยบด) และอาหารสูตร 4(ใบมะพร้าวบด) พบว่า เส้นใยเห็ดโคนทุกสายพันธุ์มีการเจริญบนอาหารเลี้ยงสูตร 1 (ใบตองบด) ได้ดีที่สุด โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเส้นใยเห็ด และชีวมวล(น้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเส้นใยเห็ด)สูงกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) Malt Extract Agar (MEA) Czapek Dox Agar (CDA) อาหารสูตร 2 (ฟางข้าวบด) อาหารสูตร 3 (ใบอ้อยบด) และ อาหารสูตร 4 (ใบมะพร้าวบด) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเลี้ยงเส้นใยเห็ดโคนเป็นระยะเวลา 28 วัน (ตารางที่ 2 - 8) ที่เป็นเช่นนี้เป็นเพราะว่า อาหารเลี้ยงสูตร 1 (ใบตองบด) ประกอบด้วยใบตองบด ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนจากธรรมชาติ 57.6 % และใบตองบดอาจมีสารอาหารบางชนิดที่ช่วยในการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนได้ดี ส่วนอาหารสูตร 2 (ฟางข้าวบด) อาหารสูตร 3 (ใบอ้อยบด) และอาหารสูตร 4 (ใบมะพร้าวบด) มีการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนไม่ดีเท่าอาหารสูตร 1 (ใบตองบด) อาจเนื่องมาจากความแตกต่างของสารอาหารในพืชแต่ละชนิดที่ต่างกัน อาหารทั้ง 4 สูตรนี้เป็นอาหารสูตรดัดแปลง (modified media) มาจากอาหาร Czapek Dox Agar (CDA) ซึ่งเป็นอาหารสังเคราะห์ (synthetic media) ที่รู้องค์ประกอบแน่นอน โดยมีการเปลี่ยนแปลงแหล่งคาร์บอน คือจากน้ำตาล sucrose เป็นส่วนประกอบจากพืชบดละเอียดชนิดต่างๆจากธรรมชาติแทน ได้แก่ ใบตองบด ฟางข้าวบด ใบอ้อยบด และ ใบมะพร้าวบด ซึ่งพบว่าการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนทั้ง 7 สายพันธุ์ในอาหารทั้ง 4 สูตร มีการเจริญที่ดีกว่าอาหาร CDA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2 - 8) อาจเนื่องมาจากสารอาหารบางชนิดในพืชช่วยในการเจริญของเส้นใยเห็ด นอกจากน้ำตาล sucrose ซึ่งเป็นองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ CDA ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดโคน Itavaara (1989) รายงานว่าสารอาหารจากพืชในธรรมชาติ อาจมีคุณค่าทางอาหารสูงแต่ไม่ทราบถึงสัดส่วนและรายละเอียดขององค์ประกอบย่อยในพืชที่ชัดเจน จึงไม่อาจอธิบายถึงความสัมพันธ์ที่ช่วยในการเจริญของเส้นใยเห็ดได้ ส่วนอาหาร MEAและ PDA พบว่าการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนทั้ง 7 สายพันธุ์ เมื่อหาชีวมวลด้วยการหาน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเส้นใยพบว่าการเจริญจะต่ำกว่าอาหารสูตร 1 (ใบตองบด)

อาหารสูตร 2 (ฟางข้าวบด) อาหารสูตร 3 (ใบอ้อยบด) และอาหารสูตร 4 (ใบมะพร้าวบด) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2 - 8) อาจเนื่องมาจากในอาหารทั้ง 4 สูตรนี้มีความสมบูรณ์ประกอบด้วยธาตุอาหารที่สำคัญและจำเป็นต่อเส้นใยของราเห็ดโคนจึงทำให้เส้นใยราเห็ดโคนมีปริมาณมากและอัดตัวกันแน่นทำให้มีน้ำหนักเพิ่มขึ้น มีการเจริญที่สูงกว่า และพบว่าการเจริญของเส้นใยราเห็ดโคนบนอาหาร PDA และ MEA มีการสร้าง สเฟียร์รูล (spherule) หรือ ไพรโมเดียร์ (primodial) อาจเนื่องมาจากในอาหาร MEA และ PDA มีแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมและอยู่ในรูปที่เส้นใยเห็ดสามารถนำไปใช้ได้ดี อาหารเลี้ยงเชื้อ MEA ประกอบด้วยแหล่งคาร์บอนหลายชนิดที่ได้จาก มอลท์สกัด และมีแหล่งไนโตรเจนที่สำคัญคือ peptone ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบว่าประกอบด้วยแหล่งคาร์บอนหลายชนิด ได้แก่ เดรกโตส เดรกติน และ แป้ง รวมทั้งน้ำตาลชนิดอื่นๆที่มีอยู่ในมันฝรั่งส่วนแหล่งไนไตรเจนได้รับจากมันฝรั่งจัดเป็น Mix Nitrogen Source เช่น กรดอะมิโนและอาจมี growth factor ต่างๆจากมันฝรั่งด้วย (รัฐพล ศรประเสริฐ , 2536) ซึ่งอาจเหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยราเห็ดโคน และมีผลต่อการสร้างสเฟียร์รูลของเส้นใยราเห็ดโคนได้ดี Lilly (1965) รายงานว่า อาหารเลี้ยงเชื้อเป็นปัจจัยประการหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการเจริญและคุณภาพของเส้นใยเห็ด

อุณหภูมิ 30 °ซ เป็นอุณหภูมิที่เหมาะต่อการเจริญของเส้นใยราเห็ดโคน *Termitomyces microcarpus* จากจังหวัดนครปฐม *Termitomyces microcarpus* จากจังหวัดนนทบุรี *Termitomyces striatus* จากจังหวัดนครสวรรค์ *Termitomyces globulus* จากจังหวัดสุพรรณบุรี *Termitomyces robustus* จากจังหวัดกาญจนบุรี *Termitomyces tyleranus* จากจังหวัดยโสธร และ*Termitomyces tyleranus* จากจังหวัดอุบลราชธานี (ตารางที่ 9 - 15) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Thomas (1985) ที่พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนอยู่ระหว่าง 29 - 30 °ซ ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่พบได้ในสภาพภายในรังปลวกทั่วไป จากผลการทดลองพบว่าเส้นใยเห็ดโคนทั้ง 7 สายพันธุ์ ไม่มีการเจริญของเส้นใยเห็ดที่อุณหภูมิ 40 °ซ อาจเป็นเพราะว่า ที่อุณหภูมิ 40 °ซ ทำให้อาหารที่ใช้เลี้ยงเส้นใยเห็ดสูญเสียธาตุอาหารหรือวิตามินบางชนิดและความชื้นซึ่งจำเป็นต่อการเจริญเติบโตตลอดจนการทำงานของเอนไซม์สูญเสียไป จึงมีผลทำให้เส้นใยเห็ดตายได้ การเลี้ยงเส้นใยเห็ดโคนในอุณหภูมิที่เหมาะทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของเอ็นไซม์ดีขึ้น หรือมีผลต่อการสร้าง

กรดอะมิโนและวิตามินบางชนิดที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยราเห็ดโคน(Thomas,1987)

pH 6 - 7 เป็นpHที่เหมาะต่อการเจริญของเส้นใยราเห็ดโคน *Termitomyces microcarpus* จากจังหวัดนครปฐม *Termitomyces microcarpus* จากจังหวัดนนทบุรี *Termitomyces striatus* จากจังหวัดนครสวรรค์ *Termitomyces globulus*จากจังหวัดสุพรรณบุรี *Termitomyces robustus* จากจังหวัดกาญจนบุรี *Termitomyces tyleranus* จากจังหวัดยโสธร และ*Termitomyces tyleranus* จากจังหวัดอุบลราชธานี บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Czapek Dox Agar (CDA) (ตารางที่ 16 - 22) โดยพบว่าเส้นใยราเห็ดโคน *Termitomyces microcarpus* จากจังหวัดนครปฐม *Termitomyces microcarpus* จากจังหวัดนนทบุรี *Termitomyces globulus* จากจังหวัดสุพรรณบุรี *Termitomyces robustus* จากจังหวัดกาญจนบุรี และ*Termitomyces tyleranus* จากจังหวัดอุบลราชธานี มีการเจริญได้ดีที่ pH 6 ส่วนเส้นใยราเห็ดโคน *Termitomyces striatus* จากจังหวัดนครสวรรค์ และ*Termitomyces tyleranus* จากจังหวัดยโสธร มีการเจริญได้ดีที่ pH 7 Heim (1977) และ Thomas (1987) รายงานว่าเส้นใยราเห็ดโคนสามารถเจริญได้ดีที่ในช่วง pH ระหว่าง 5.5 - 7.5 และพบว่า pH ที่เหมาะสมจะขึ้นกับชนิดของเชื้อและชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย (Lilly และ Barnett , 1951) รัฐพล ศรประเสริฐ (2536) รายงานว่า การที่เส้นใยเห็ดแต่ละชนิดเจริญได้ดีที่ระดับ pH เหมาะสม อาจเนื่องมาจาก pH ที่เหมาะสม

ก. ทำให้เส้นใยเห็ดใช้ธาตุอาหารต่างๆที่มีอยู่ในอาหารได้ดี

ข. ทำให้เส้นใยเห็ดดูดซึมวิตามินที่จำเป็นและกรดอะมิโนบางชนิดได้ดี

ค. ช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพการทำงานของเอ็นไซม์ในเส้นใยเห็ด

ง. มีผลต่อการสร้างวิตามินและกรดอะมิโนบางชนิดทำให้เส้นใยเห็ดเจริญได้ดี

glucose เป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะต่อการเจริญของเส้นใยราเห็ดโคน *Termitomyces microcarpus* จากจังหวัดนครปฐม *Termitomyces microcarpus* จากจังหวัดนนทบุรี *Termitomyces striatus* จากจังหวัดนครสวรรค์ *Termitomyces globulus*จากจังหวัดสุพรรณบุรี *Termitomyces robustus* จากจังหวัดกาญจนบุรี *Termitomyces tyleranus* จากจังหวัดยโสธร และ*Termitomyces tyleranus* จากจังหวัดอุบลราชธานี การใช้ glucose การเจริญจะดีกว่าใช้ sucrose cellobiose หรือ cellulose อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 23 - 29)

ทั้งนี้เนื่องจาก glucose เป็นแหล่งคาร์บอนในสภาพที่เป็น monosaccharide จึงเหมาะแก่การดูดซึมนำไปใช้ในการเจริญของเส้นใยเห็ด (Lilly และ Barnett , 1951) ส่วน cellobiose และ cellulose จัดเป็นสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่จึงต้องมีการย่อยสลายโมเลกุลขนาดใหญ่เหล่านี้ให้มีโมเลกุลขนาดเล็กลงก่อนราเห็ดโคนจึงสามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโต Matin (1978) และ Abo - Khatwa (1978) รายงานว่าราเห็ดโคนมีความสามารถในการใช้ glucose และ cellulose ได้จึงสร้างเอนไซม์ β - Glucosidase และ cellulase เพื่อใช้ในการย่อยสลาย glucose และ cellulose

ปริมาณ glucose 30 กรัม/ลิตรเป็นปริมาณที่เหมาะต่อการเจริญของเส้นใยราเห็ดโคน *Termitomyces microcarpus* จากจังหวัดนครปฐม *Termitomyces microcarpus* จากจังหวัดนนทบุรี *Termitomyces striatus* จากจังหวัดนครสวรรค์ *Termitomyces globulus* จากจังหวัดสุพรรณบุรี *Termitomyces robustus* จากจังหวัดกาญจนบุรี *Termitomyces tyleranus* จากจังหวัดยโสธร และ*Termitomyces tyleranus* จากจังหวัดอุบลราชธานี จากการทดลองโดยแปรผันปริมาณ glucose ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ 0 , 7.5 , 15 , 30 , 45 และ 60 กรัม / ลิตร พบว่าเส้นใยราเห็ดโคนทุกสายพันธุ์ มีอัตราการเจริญเพิ่มขึ้น เมื่อปริมาณ glucose เพิ่มขึ้น แต่ที่ระดับความเข้มข้นของ glucose ที่ 30 45 และ 60 กรัม / ลิตร อัตราการเจริญไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

peptone เป็นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะต่อการเจริญของเส้นใยราเห็ดโคน*Termitomyces microcarpus* จากจังหวัดนครปฐม *Termitomyces microcarpus* จากจังหวัดนนทบุรี *Termitomyces striatus* จากจังหวัดนครสวรรค์ *Termitomyces globulus* จากจังหวัดสุพรรณบุรี *Termitomyces robustus* จากจังหวัดกาญจนบุรี *Termitomyces tyleranus* จากจังหวัดยโสธร และ*Termitomyces tyleranus* จากจังหวัดอุบลราชธานี จากการทดลองพบว่าเส้นใยราเห็ดโคนทุกสายพันธุ์ใช้สารอินทรีย์ไนโตรเจน ได้แก่ peptone , casamino acid , casein hydrolysate ได้ดีกว่าสารอนินทรีย์ไนโตรเจน ได้แก่ KNO_3 , NH_4Cl และ urea แต่ในกลุ่มของสารอินทรีย์ไนโตรเจนการใช้ peptone จะดีกว่า casamino amino และ casein hydrolysate ทั้งนี้เนื่องจาก peptone ทำหน้าที่เป็นแหล่งไนโตรเจนและเป็นแหล่งวิตามินที่มีความสำคัญต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ให้ดีขึ้น(Cochrane,1958) นอกจากนี้พบว่า peptone ยังทำหน้าที่เป็นแหล่งคาร์บอน และแหล่งพลังงานด้วย ดังนั้นจึงช่วย

ส่งเสริมการเจริญได้สูงสุด (Zoberi , 1979) นอกจากนี้ยังเป็นการแสดงว่าเส้นใยราเห็ดโคนมีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ โปรติเอส

ปริมาณ peptone 6.0 กรัม/ลิตรเป็นปริมาณที่เหมาะต่อการเจริญของเส้นใยราเห็ดโคน *Termitomyces microcarpus* จากจังหวัดนครปฐม *Termitomyces microcarpus* จากจังหวัดนนทบุรี *Termitomyces striatus* จากจังหวัดนครสวรรค์ *Termitomyces globulus* จากจังหวัดสุพรรณบุรี *Termitomyces robustus* จากจังหวัดกาญจนบุรี *Termitomyces tyleranus* จากจังหวัดยโสธร และ*Termitomyces tyleranus* จากจังหวัดอุบลราชธานี จากการทดลองโดยแปรผันปริมาณ peptone ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ 0 , 0.75 , 1.5 , 3.0 , 4.5 และ 6.0 กรัม / ลิตร พบว่าเส้นใยราเห็ดโคนทุกสายพันธุ์ มีอัตราการเจริญเพิ่มขึ้น เมื่อปริมาณ peptone เพิ่มขึ้น และที่ระดับความเข้มข้นของ peptone ที่ 6.0 กรัม / ลิตร พบว่ามีการเจริญสูงกว่า peptone ที่ระดับความเข้มข้นอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เมื่อเปรียบเทียบลักษณะโครงสร้างของราที่มีปลวกและไม่มีปลวกอาศัยอยู่ร่วมด้วย โดยนำชิ้นส่วนของราในธรรมชาติที่มีตัวปลวกอาศัยอยู่จากรังปลวกที่ อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ซึ่งพบว่ามีเห็ดโคน *Termitomyces microcarpus* เกิดขึ้นจากรังปลวกนี้เสมอ และเส้นใยของราที่แยกจากเห็ดโคน *Termitomyces microcarpus* จากจังหวัดนครปฐม โดยเลี้ยงบนอาหาร Malt Extract Agar (MEA) เป็นระยะเวลา 28 วัน เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา เชื้อเห็ดโคนบนอาหาร MEA (ภาพที่ 76 A , B) สามารถพบสเฟียร์รูล (spherules) หรือ ไพรโมเดียร์ (primodials) และพบว่า สเฟียร์รูล ประกอบไปด้วยเซลล์กลมที่เกิดจากการโป่งพองที่ปลายเส้นใยจำนวนมากรวมตัวกันแน่นและมีสายใยพาดคลุมอยู่เป็นจำนวนมาก ส่วนเส้นใยราเห็ดโคนจากสวนราในธรรมชาติ (ภาพที่ 76 C , D) สามารถพบสเฟียร์รูลเช่นเดียวกัน ลักษณะของสเฟียร์รูลประกอบไปด้วยกลุ่มเซลล์กลมจำนวนมากรวมตัวกันแน่น แต่ไม่พบสายใยพาดคลุม ที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะว่า เส้นใยราเห็ดโคนบนอาหาร MEA สามารถเจริญได้ดีกว่าเส้นใยราเห็ดโคนจากสวนราในธรรมชาติ เนื่องจากได้รับสารอาหารที่เหมาะสมในปริมาณที่เพียงพอจึงมีการเจริญเป็นอย่างดี Okech (1988) พบว่าเส้นใยราเห็ดโคนที่ได้รับสารอาหารที่เหมาะสมการเจริญของเส้นใยจะดี และอาจเกิดจากพฤติกรรมการกินเส้นใยราเห็ดโคนของปลวกด้วย โดยปลวกจะกินสายใยก่อนจากนั้นจึงกินเซลล์กลม จึงทำให้สเฟียร์รูลของราเห็ดโคนบนอาหาร MEA พบสายใยปกคลุมเซลล์กลมเป็นจำนวนมาก (Sihanonth , 1988) จากการตรวจสอบเส้นใยราเห็ดโคนที่เจริญบนอาหารเลี้ยง MEA และจากสวนราในธรรมชาติไม่พบ clamp connection ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Singer (1975) Batra and Batra (1977) ได้ศึกษาพบว่าตุ่มเล็กๆสีขาวก้อนกลมที่พบในสวนราธรรมชาติเกิดจากการรวมตัวของเส้นใยและเซลล์กลมจำนวนมากของเห็ดโคนซึ่งประสานตัวอย่างแน่นเรียกว่าสเฟียร์รูล ซึ่งปลวกจะกินเป็นอาหารและสเฟียร์รูลนี้จะมีการพัฒนาเป็นดอกเห็ดโคนต่อไปและเมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด (SEM) ซึ่งเป็นวิธีการเตรียมตัวอย่างเพื่อการตรวจสอบที่มีการแปรสภาพตัวอย่างน้อยที่สุด พบว่าเส้นใยราเห็ดโคนบนอาหาร MEA (ภาพที่ 77 A , B) สร้างสเฟียร์รูล เห็นปรากฏอย่างชัดเจน โดยสเฟียร์รูลประกอบไปด้วยกลุ่มเซลล์กลมที่เกิดจากการโป่งพองที่ปลายของเส้นใยรวมตัวกันแน่นและมีสายใยพาดคลุม ส่วนเส้นใยราเห็ดโคนจากสวนราธรรมชาติ (ภาพที่ 77 C , D) ก็สามารถตรวจพบสเฟียร์รูลได้เช่นเดียวกัน และสเฟียร์รูลประกอบไปด้วยกลุ่มของเซลล์กลมผิวเรียบ ขนาดสม่ำเสมอรวมตัวกันแน่น แต่ที่แตกต่างกันคือไม่พบว่ามีสายใยพาดคลุมอยู่ ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากในสวนราธรรมชาติ

มีปลวกอาศัยอยู่และปลวกอาจมีบทบาทต่อรูปร่างและลักษณะของราเห็ดโคนโดยปลวกอาจสร้างสารบางชนิดออกมาและสารนี้มีผลต่อราเห็ดโคน และอาจเกิดจากพฤติกรรมการกินสายใยราเห็ดโคนของปลวกด้วยโดยปลวกจะกินสายใยก่อนจากนั้นจึงกินเซลล์กลม จึงทำให้สเฟียร์รูลของราเห็ดโคนบนอาหาร MEA พบสายใยปกคลุมเซลล์กลมเป็นจำนวนมาก (Sihanonth , 1988)

การพัฒนาสเฟียร์รูลของเส้นใยราเห็ดโคน *Termitomyces microcarpus* จากจังหวัดนครปฐม *Termitomyces microcarpus* จากจังหวัดนนทบุรี *Termitomyces striatus* จากจังหวัดนครสวรรค์ *Termitomyces globulus* จากจังหวัดสุพรรณบุรี *Termitomyces robustus* จากจังหวัดกาญจนบุรี *Termitomyces tyleranus* จากจังหวัดยโสธร และ*Termitomyces tyleranus* จากจังหวัดอุบลราชธานี บนอาหาร Malt Extract Agar (MEA) ที่ระยะเวลาต่างๆ ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด (SEM) (ภาพที่ 78 - 84) พบว่าเส้นใยราเห็ดโคนทุกสายพันธุ์มีการพัฒนาที่ใกล้เคียงกัน ที่เวลา 7 วันเส้ยในราเห็ดโคนมีลักษณะเป็นท่อนสั้นๆจำนวนมาก เมื่อเวลา14 วัน ท่อนสั้นๆเหล่านี้มีการยืดตัวออกเป็นสายยาวขึ้น เมื่อเวลา 21 วันพบว่ามีการสร้างสเฟียร์รูลเป็นกลุ่มเซลล์รูปร่างกลมเป็นจำนวนมาก และเซลล์กลมเหล่านี้มีหลายขนาดรวมตัวกับสายใยอย่างหนาแน่น ซึ่งเมื่อนำเซลล์รูปร่างกลมเหล่านี้ไปย้อมเซลล์ด้วยสารเคมี Sudan Black พบว่าติดสีดำแสดงว่าเซลล์เหล่านี้มีไขมันเป็นส่วนประกอบอยู่มาก และอาจเป็นเซลล์ทำหน้าที่สะสมพลังงานของเห็ดโคน (storage cell) และเมื่อเวลา 28 วัน เซลล์กลมจะมีการเปลี่ยนแปลงโดยผิวเซลล์เริ่มเหี่ยวลงและสายใยที่ประสานตัวเริ่มเปื่อยจึงสรุปได้ว่าเส้นใยราเห็ดโคนเมื่อเลี้ยงบนอาหาร MEA มีวงจรอายุในการสร้างสเฟียร์รูล ประมาณ 28 วัน เมื่อครบ 28 วันเส้นใยราเห็ดโคนจะมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะเซลล์ และเส้นใยราบนอาหาร MEA จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล การเจริญจะลดลงด้วย จึงต้องมีการย้ายเส้นใยราเห็ดโคนไปปลูกเลี้ยงบนอาหาร MEA ใหม่ เส้นใยราเห็ดโคนจึงจะเริ่มเจริญได้ดีอีกครั้ง นอกจากนี้พบว่าเส้นใยราเห็ดโคนมีลักษณะของเส้นใยที่บอบบาง ฉีกขาดง่าย รวมทั้งเส้นใยมีการเปลี่ยนแปลงได้ง่ายเมื่ออยู่ในสารเคมีต่างๆ ดังนั้นการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด (SEM) จึงต้องระมัดระวังเป็นอย่างมากเนื่องจากต้องผ่านขั้นตอนในสารเคมีที่มีความเข้มข้นต่างๆหลายขั้นตอนเส้นใยราเห็ดโคนจึงเสียสภาพได้ง่าย

สวนราในธรรมชาติเมื่อปราศจากตัวปลวกหรือว่าตัวปลวกตาย สวนรามักจะถูกปกคลุมด้วยราอีกกลุ่มหนึ่งคือราจำพวก*Xylaria* ซึ่งมีการพัฒนาที่รวดเร็ว โดยพบว่าในเวลา 2 วันแรกรา *Xylaria* ขึ้นปกคลุมสวนราอย่างรวดเร็ว ลักษณะสายใยละเอียดบาง สีขาว (ภาพที่ 88) โดยการเปลี่ยนแปลงของรา *Xylaria* นี้ พบว่า เมื่อเวลา 3 วัน(ภาพที่ 89) สายใย *Xylaria* จะเริ่มเพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็ว สายใย สีขาวฟู เมื่อเวลา 4 วัน(ภาพที่ 90) สายใย *Xylaria* จะเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเทาดำที่บริเวณส่วนโคนและสายใยเริ่มแฟบลง ซึ่งจะคงสภาพนี้ ต่อมาเมื่อครบ 10 วัน (ภาพที่ 91) สายใย *Xylaria* ทุกส่วนจะเปลี่ยนเป็นสีดำหมด สายใยมีขนาดเล็ก เหนียว Sand (1969) รายงานว่า *Xylaria* ที่พบในรังปลวกชนิดที่มีความสัมพันธ์กับเห็ดโคนจัดอยู่ในชนิด *Xylaria nigripes* และคาดว่าน่าจะมีความสำคัญต่อการเกิดเห็ดโคน *Xylaria* อาจจะช่วยในการย่อยสลายเศษวัสดุ เช่น ใบไม้ เพื่อให้เป็นโมเลกุลขนาดเล็กและสวนราสามารถนำผลิตภัณฑ์มาใช้ให้เป็นประโยชน์ได้ Thomas (1987) พบว่าปลวกในวรรณะทหาร (soldier) เป็นผู้ควบคุมปริมาณ*Xylaria* ในรังปลวก ด้วยวิธีการนำ *Xylaria* ไปทิ้งนอกรังปลวก (weeding) นอกจากนี้พบว่าการเจริญของ *Xylaria* ขึ้นกับปริมาณของ CO_2 เป็นสำคัญ (Han and Bordereau , 1992) เป็นที่น่าสังเกตว่าการเจริญของรา *Xylaria* จะมีการเจริญที่รวดเร็วและจะพบได้ในสภาวะที่ไม่มีปลวกอยู่ร่วมด้วยเท่านั้นซึ่งแสดงว่าปลวกมีบทบาทในการควบคุมปริมาณของ *Xylaria* และราชนิดต่างๆในรังปลวกเป็นอย่างดี Thomas (1987) พบว่าการควบคุมราชนิดต่างๆในรังปลวกมีปัจจัยที่สำคัญดังนี้

1. พฤติกรรมของปลวกในวรรณะต่างๆภายในรังปลวก
2. สารเคมีบางชนิดที่ปลวกสร้างขึ้นรวมทั้งน้ำลายของปลวกด้วย
3. ข้อจำกัดจากสภาวะภายในรังปลวก ได้แก่ ปริมาณ CO_2 และ อุณหภูมิ
4. สารปฏิชีวนะ (antibiotic) บางชนิดที่สร้างจากเห็ดโคน
5. องค์ประกอบทางเคมีภายในรังปลวก รวมทั้ง ความเป็นกรด -ด่าง และ ปริมาณความชื้น

เมื่อศึกษานิเวศวิทยาของสวนราในธรรมชาติของปลวกชนิดที่มีความสัมพันธ์กับเห็ดโคน โดยทำการศึกษาสวนราที่เกิดขึ้นที่ อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ซึ่งพบว่ามีเห็ดโคน*Termitomyces microcarpus* เกิดขึ้นที่สวนราจากรังปลวกแห่งนี้เสมอ และเมื่อตรวจสอบชนิดของปลวกโดยใช้ลักษณะทางอนุกรมวิธานต่างๆของปลวกในวรรณะทหารจากเอกสารของ Ahmad (1985) Marimoto (1973) Thapa (1981) ฉิศ กีรีติบุตร และ ยุพา หาญบุญทรง (2525) และ อิสระ อินตะนัย (2530) พบว่าเป็นรังปลวกชนิด *Odontotermes proformosanus* (ภาพที่ 92) การศึกษาสภาพแวดล้อม จุลชีววิทยาของ

สวนราและดินรอบสวนราโดยแบ่งเป็นช่วงเวลา 3 ช่วง คือ ช่วงเวลาก่อนการเกิดเห็ดโคน ช่วงเวลาเกิดเห็ดโคน และช่วงเวลา หลังการเกิดเห็ดโคน พบว่าทั้ง 3 ช่วงเวลา ไม่มีผลความแตกต่างทางนิเวศวิทยา โดยพบว่าอุณหภูมิภายในรังปลวกค่อนข้างคงที่สม่ำเสมอ คือประมาณ 29 °ซ (ตารางที่ 51) Martin (1961) รายงานว่าอุณหภูมิภายในรังปลวกโดยเฉลี่ยประมาณ 29 - 30 °ซ เนื่องจากรังปลวกมีผนังที่หนาและเป็นฉนวนที่ป้องกันความร้อนได้ดี ทำให้อุณหภูมิภายในรังปลวกจึงสม่ำเสมอคงที่ไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก และพบว่าสวนรามีความชื้นสูงโดยเฉลี่ยประมาณ 57 % (ตารางที่ 51) Cartwright and Findlay (1958) รายงานว่าความชื้นของสวนราอยู่ในช่วง 35 - 59 % ส่วนความเป็นกรด - ด่าง (pH) พบว่าบริเวณสวนราค่อนข้างมีสภาพเป็นกรดโดยมี pH เฉลี่ย 4.3 (ตารางที่ 51) Martin and Martin (1978) รายงานว่า pH ที่สวนราค่อนข้างต่ำ ประมาณ 4.1 - 4.6 เนื่องจากสภาพ pH ที่เป็นกรดจะช่วยควบคุมปริมาณแบคทีเรียบางชนิดได้ และพบว่า pH ที่เหมาะต่อการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส (cellulase)ที่สกัดได้จากเห็ดโคนอยู่ในช่วง 3.9 - 4.3 เมื่อศึกษาปริมาณคาร์บอนและปริมาณไนโตรเจนของสวนราพบว่าสวนราประกอบด้วยคาร์บอนประมาณ 35 % และไนโตรเจนประมาณ 1.7 % (ตารางที่ 52) Zoberi (1979) ศึกษาพบว่าสวนราประกอบไปด้วยคาร์บอนและไนโตรเจน 37 % และ 1.6 % ตามลำดับ การที่สวนรามีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบมากเนื่องจากสวนรามี cellulose และ lignin ซึ่งได้จากเศษไม้ต่างๆที่ปลวกนำใช้เป็นโครงสร้างภายในสวนราเป็นจำนวนมาก ซึ่ง cellulose จะเป็นแหล่งพลังงานและแหล่งของน้ำ (metabolic water)ที่สำคัญแก่ปลวกและผิวนอกของสวนราประกอบไปด้วยเส้นใยราจำนวนมากประสานตัวแน่นปกคลุมอยู่ทั่วไป เมื่อมองดูลักษณะภายนอกของสวนราจึงเห็นว่าเกิดจากเส้นใยรารวมตัวเป็นก้อนขนาดใหญ่ (Sand , 1968) ส่วนเชื้อจุลินทรีย์ในสวนราสามารถตรวจพบได้ทั้ง แบคทีเรีย รา และแอคทิโนมัยซีส (ตารางที่ 53) ปริมาณของ แบคทีเรีย รา และแอคทิโนมัยซีส ของดินรอบสวนราและสวนราในช่วงเวลาก่อนเกิดเห็ดโคน ระหว่างเกิดเห็ดโคน และหลังเกิดเห็ดโคนไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเนื่องปลวกมีบทบาทในการควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ให้คงที่ โดยปกติสภาพแวดล้อมภายในสวนรา น่าจะมีปริมาณของแบคทีเรีย รา และแอคทิโนมัยซีส สูงกว่าดินรอบสวนราเนื่องจากภายในสวนรามีธาตุอาหารที่สมบูรณ์ แต่พบว่าปริมาณของจุลินทรีย์ดังกล่าวในสวนราและดินรอบสวนราใกล้เคียงกัน แสดงว่าปลวกมีบทบาทในการควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ในสวนราให้คงที่ ซึ่งวิธีการควบคุม Thomas (1987) รายงานว่าอาจเกิดจากสารเคมีและฟีโรโมน (pheromone)บางชนิดที่ปลวกสร้างขึ้นมา รวมทั้งพฤติกรรมของปลวกที่จะขนย้ายจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการออกไปทิ้งนอกรังปลวก (weeding)