

ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

การศึกษาการสร้างสารต้านจุลชีพของจุลินทรีย์ในดิน

จากการสำรวจ รวบรวมตัวอย่างจุลินทรีย์ในดินจากโครงการวิจัยสำรวจจุลินทรีย์ แล้วนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพเบื้องต้นต่อเชื้อ *S.aureus* สายพันธุ์ ATCC 29213 ทำให้ได้ชนิดของเชื้อ และจำนวนสายพันธุ์ที่จะนำมาศึกษาต่อไปได้ดังตารางที่ 2 สามารถสรุปชนิดของเชื้อ และจำนวนสายพันธุ์ที่จะนำมาศึกษาต่อไปได้ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ชนิดของจุลินทรีย์ที่แสดงฤทธิ์ต้านจุลชีพสามารถแยกได้จากดินตัวอย่าง

ชนิด	จำนวนไอโซเลททดสอบที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพ
Gram positive	8,920
Cocci, diplococci, tetrad	814
Cocci in cluster	212
Cocci in chain	47
Coccobacilli, Diphteroid-like	85
Bacilli without endospore	1,989
Bacilli with endospore	2,106
Rectangular bacilli	31
Long bacilli	222
Filamentous, actinomyces-like	3,414
Gram negative	134
Cocci, diplococci, tetrad	9
Cocci in cluster	3
Coccobacilli	5
Bacilli	105
Long bacilli	3
Yeast	998
Mold	1,980

เมื่อนำน้ำเพาะเลี้ยงเชื้อเหล่านี้มาทดสอบเพื่อวิเคราะห์หาสารต้านจุลชีพที่เชื้อสร้างขึ้นมา และปล่อยออกมายังภายนอกเซลล์ พบว่าเชื้อที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพทดสอบทั้ง 4 ชนิดเป็นที่น่าสนใจ โดยส่วนใหญ่เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่สามารถสร้าง endospore ได้ อย่างไรก็ตามยังคัดเลือกเชื้อกลุ่มอื่นๆ ที่แสดงฤทธิ์ต้านจุลชีพที่ดีที่สุดมาเปรียบเทียบบังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ฤทธิ์ต้านจุลชีพของเชื้อที่คัดเลือกไว้แล้ว ด้วยวิธี agar cup diffusion

เชื้อไอโซเลท	ขนาดเฉลี่ยของขอบเขตการยับยั้ง (มิลลิเมตร) ต่อเชื้อ			
	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>A.baumanii</i>	<i>P.aeruginosa</i>
PCD 031	14	16	20	18
PCC 014	14	16	19	19
PCN 015	15	16	18	18
PDL 011	14	15	15	19
PBE 612	13	14	18	18
PBW 035	15	14	18	18
PBW 044	14	16	16	16
PBW 087	15	15	18	18
PBW 124	13	16	19	18
PBW 201	14	15	15	16
PBW 332	15	14	18	16
PBW 346	16	15	15	16
PBW 361	19	18	19	22
PBW 378	17	18	17	15
PBW 400	16	16	15	19
PBW 542	18	15	16	16
PBW 598	16	14	20	18
PBW 771	17	16	18	19
PBW 775	15	15	17	18
PBW 841	16	15	16	16
PBW 864	18	19	19	20
PBW 1002	17	15	15	18
PBW 1046	16	17	16	19
PBW 1108	15	16	15	18
PBW 1164	17	15	16	16
PBW 1197	15	18	15	17
PBW 1325	16	15	18	19
PBW 1394	14	15	17	17

ตารางที่ 2 (ต่อ)

เชื้อไอโซเลท	ขนาดเฉลี่ยของขอบเขตการยับยั้ง (มิลลิเมตร) ต่อเชื้อ			
	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>A.baumannii</i>	<i>P.aeruginosa</i>
PBW 1452	17	17	16	18
PBW 1564	15	18	15	16
PBW 1684	16	16	18	17
PBW 1698	15	15	15	18
PBW 1741	16	15	16	19
PBW 1792	15	17	16	18
PBW 1806	17	15	16	17
PBW 1884	19	20	19	16
PBW 1953	15	15	17	15
PBW 1958	14	16	15	16
PBW 1999	16	15	16	16
PBW 2003	15	15	18	18
PBW 2025	16	15	15	17
PBW 2069	15	14	16	15
PBW 2103	17	15	18	17
PRB 018	15	16	18	19
PLB 145	14	15	19	18
PFA 066	14	14	15	18
PFA 526	14	15	16	16
NBA 012	16	16	18	18
YEA 513	15	18	17	17
MOL 316	16	15	16	16
MOL 578	18	16	15	16
MOL 698	17	15	16	16
MOL 1204	15	14	15	17

เชื้อทั้ง 53 ไอโซเลทที่คัดเลือกไว้แล้วนี้จะนำมาทดสอบหาว่าสารต้านจุลชีพนั้นมีคุณสมบัติเป็นสารในกลุ่มโปรตีน หรือเปปไทด์หรือไม่ด้วยการเติมด้วยเอนไซม์ protease 0.01 มิลลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพทดสอบทั้ง 4 ชนิดพบว่า

จุลินทรีย์อยู่ 3 ไอโซเลทที่ฤทธิ์ด้านจุลชีพหายไปมากที่สุดภายหลังจากทำปฏิกิริยากับเอ็นไซม์ แสดงให้เห็นว่าสารด้านจุลชีพของจุลินทรีย์เหล่านี้เป็นสารในกลุ่มของโปรตีน หรือเปปไทด์จึงได้นำมาศึกษาต่อไป

ดังแสดงจุลินทรีย์ทั้ง 3 ไอโซเลทในตารางที่ 3

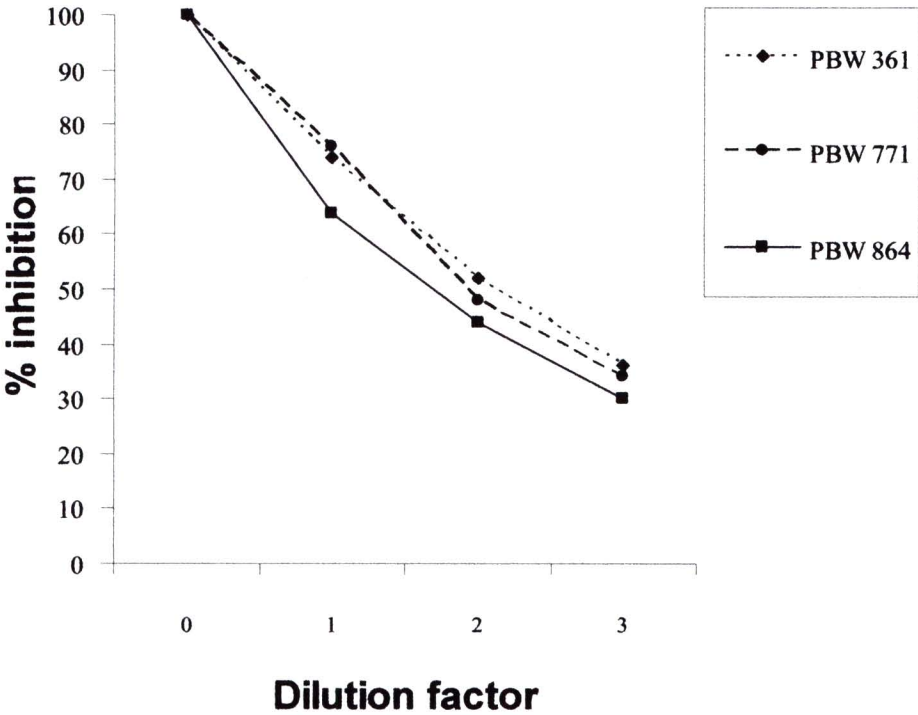
ตารางที่ 3 การลดลงของขอบเขตการยับยั้งของจุลินทรีย์ 3 ไอโซเลทที่คัดเลือกแล้วว่ามีฤทธิ์ด้านจุลชีพดีที่สุด และฤทธิ์เกิดจากสารในกลุ่มโปรตีนหรือเปปไทด์

เชื้อไอโซเลท	ขนาดเฉลี่ยภายหลังจากทำปฏิกิริยากับเอ็นไซม์ (เทียบกับก่อนทำปฏิกิริยา) ของขอบเขตการยับยั้ง (มิลลิเมตร) ต่อเชื้อ			
	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>A.baumanii</i>	<i>P.aeruginosa</i>
PBW 361	6 (19)	6 (18)	6 (19)	6 (22)
PBW 771	6 (17)	6 (16)	6 (18)	6 (19)
PBW 864	6 (18)	6 (19)	6 (19)	6 (20)

*ขนาดเฉลี่ยของชุดควบคุมผลลบ (อาหารเพาะเลี้ยงเหลวปราศจากเชื้อ) เท่ากับ 6 มิลลิเมตร

จากผลการศึกษาพบว่าเชื้อทั้ง 3 ไอโซเลทนี้เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่สามารถสร้างเอนโดสปอร์ภายในเซลล์ได้ มีลักษณะเซลล์ และการจัดเรียงตัวที่คล้ายกัน และคาดว่าจะเป็นเชื้อในجنس *Bacillus* ซึ่งจะนำไปศึกษาการจำแนกชนิดของเชื้อต่อไป

ผลการศึกษาเพิ่มเติมพบว่าเชื้อทั้ง 3 ไอโซเลทนี้มีฤทธิ์ด้านจุลชีพขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารด้านจุลชีพ (dose-dependent) ภายหลังจากที่เจือจางน้ำเพาะเลี้ยงเชื้อทุกๆ 2 เท่า ก่อนนำมาทดสอบต่อเชื้อทดสอบทั้ง 4 ชนิดดังแสดงในภาพที่ 1



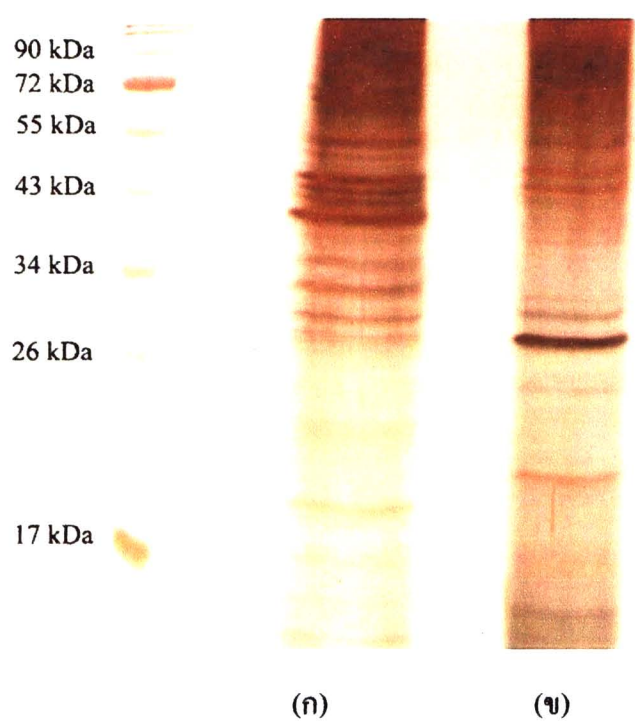
ภาพที่ 1 อิทธิพลของการเจือจางน้ำเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีต่อร้อยละของการยับยั้งเชื้อทดสอบ

เมื่อนำน้ำเพาะเลี้ยงเชื้อมาตกตะกอนด้วยแอมโมเนียม ซัลเฟต อิ่มตัวร้อยละ 40 สารสกัดโปรตีนจะตกตะกอนลงมาแล้วล้างเกลือออกด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.2 ก่อนนำสารสกัดโปรตีนที่ได้ทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพที่เหลืองอยู่ด้วยวิธี agar cup diffusion อีกครั้ง ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดโปรตีนของเชื้อไอโซเลท PBW 771 ยังคงเหลือฤทธิ์ต้านจุลชีพอยู่มากที่สุด ดังตารางที่ 4 และคัดเลือกเชื้อนี้ไปศึกษาต่อไป

ตารางที่ 4 ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดโปรตีนของเชื้อ 3 ไอโซเลทที่คัดเลือกแล้วว่ามีฤทธิ์ต้านจุลชีพดีที่สุด และฤทธิ์เกิดจากสารในกลุ่มโปรตีนหรือเปปไทด์

เชื้อไอโซเลท	ขนาดเฉลี่ยของขอบเขตการยับยั้ง (มิลลิเมตร) ต่อเชื้อ			
	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>A.baumannii</i>	<i>P.aeruginosa</i>
PBW 361	12	12	13	11
PBW 771	15	15	17	16
PBW 864	9	10	11	11

เมื่อนำสารสกัดโปรตีนมาวิเคราะห์ด้วยวิธี one dimension sodium dodecylsulphate polyacrylamide gel electrophoresis แล้วย้อมด้วย silver stain พบแถบโปรตีนที่ขนาดโมเลกุลประมาณ 28 กิโลดาลตัน ดังภาพที่ 2 จึงจะนำแถบโปรตีนนี้ไปวิเคราะห์ต่อไปในอนาคต



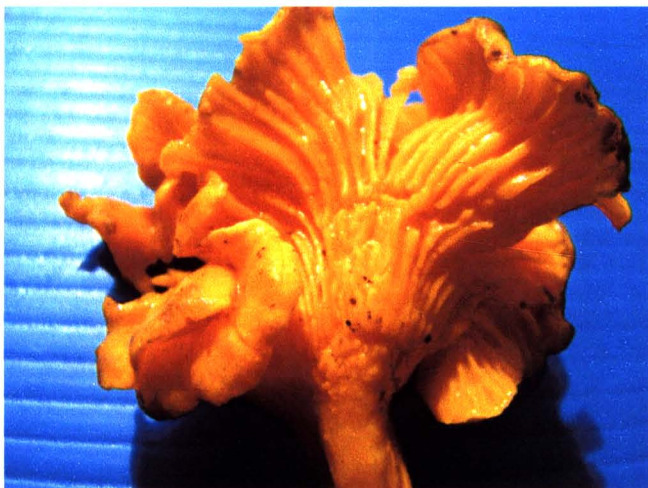
ภาพที่ 2 การวิเคราะห์สารสกัดโปรตีนของเชื้อไอโซเลท 771 ซึ่งคาดว่าเป็นสารต้านจุลชีพ ในสถานะที่ไม่มี (ก) และมี (ข) เติกระโงกขาว



การศึกษาการแยกรงควัสดุจากเห็ดกินได้

จากการนำเห็ดที่สำรวจ และเก็บตัวอย่างมาได้มาทำการศึกษาแยกรงควัสดุของเห็ดกินได้โดยจากผลการสำรวจมีเห็ดอยู่ 2 ชนิดที่เก็บได้ค่อนข้างมาก และมีสีส้ม รวมทั้งเป็นเห็ดที่กินได้ จึงนำที่จะนำมาประยุกต์ใช้เป็นรงควัตถุจากธรรมชาติได้ คือ เห็ดขมิ้น (สีเหลือง) และเห็ดผึ้ง (สีแดง) ดังภาพที่ 3 และ 4 ซึ่งได้เก็บรวบรวมจากโครงการวิจัยสำรวจเห็ดในบริเวณป่าพื้นที่ของศูนย์การศึกษาฯ และป่าบริเวณอื่นร่วมด้วย

ผลการศึกษาพบว่าสามารถรวบรวมเห็ดทั้ง 2 ชนิดได้จำนวน 61 และ 78 ตัวอย่าง จากการสำรวจในรอบปี และเมื่อนำมาสกัดในตัวทำละลายแต่ละชนิดพบว่ารงควัตถุสีเหลือง และสีแดงสามารถแยกได้ในตัวทำละลายคือแอลกอฮอล์ ดังตารางที่ 6 จากนั้นจึงนำเห็ดที่เหลืองมาสกัดในแอลกอฮอล์และทำให้แอลกอฮอล์ระเหยแห้งให้หมด ก่อนจะนำไปทำให้แห้ง (lyophilize) เพื่อนำไปวิเคราะห์รงควัตถุต่อไปในอนาคต



ภาพที่ 3 ลักษณะของดอกเห็ดขมิ้น *Craterellus* sp.



ภาพที่ 4 ลักษณะของดอกเห็ดผึ้ง *Boletus colossus* Heim

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
นศ. 12 ก.ธ. 2554
ทะเบียน..... 242336
เว็บไซต์.....

ตารางที่ 5 การศึกษาการละลายของรงควัตถุจากเห็ดขมิ้น และเห็ดผึ้ง

ตัวทำละลาย	การละลายของรงควัตถุสีเหลือง จากเห็ดขมิ้น	การละลายของรงควัตถุสีแดง จากเห็ดผึ้ง
น้ำกลั่น	วัดไม่ได้	8.4
เอทิลแอลกอฮอล์ 100%	112.3	235.6
อะซีโตน	23.5	40.2
คลอโรฟอร์ม	40.2	38.4
พริทิลีน ไกลคอล	18.6	60.1
เฮกเซน	6.9	33.9
ไดเมทิลซัลโฟไซด์	46.5	54.2

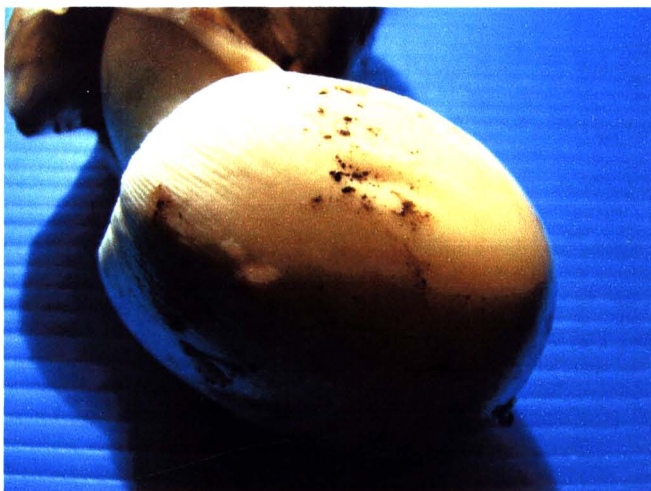
หน่วยเป็นปริมาณสีที่วัดได้ (ไมโครกรัมต่อเห็ด 50 กรัม ในตัวทำละลาย 100 มิลลิลิตร)

การศึกษาการใช้เห็ดเป็นแหล่งอาหารของแอมโมบาซิลลัส

ผลการศึกษาการใช้เห็ดเป็นแหล่งอาหารของเชื้อแอมโมบาซิลลัสซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็น โปรไบโอติกที่ดี และเป็นที่ยอมรับในปัจจุบัน เห็ดที่ใช้ในการศึกษาได้แสดงในภาพที่ 5-6

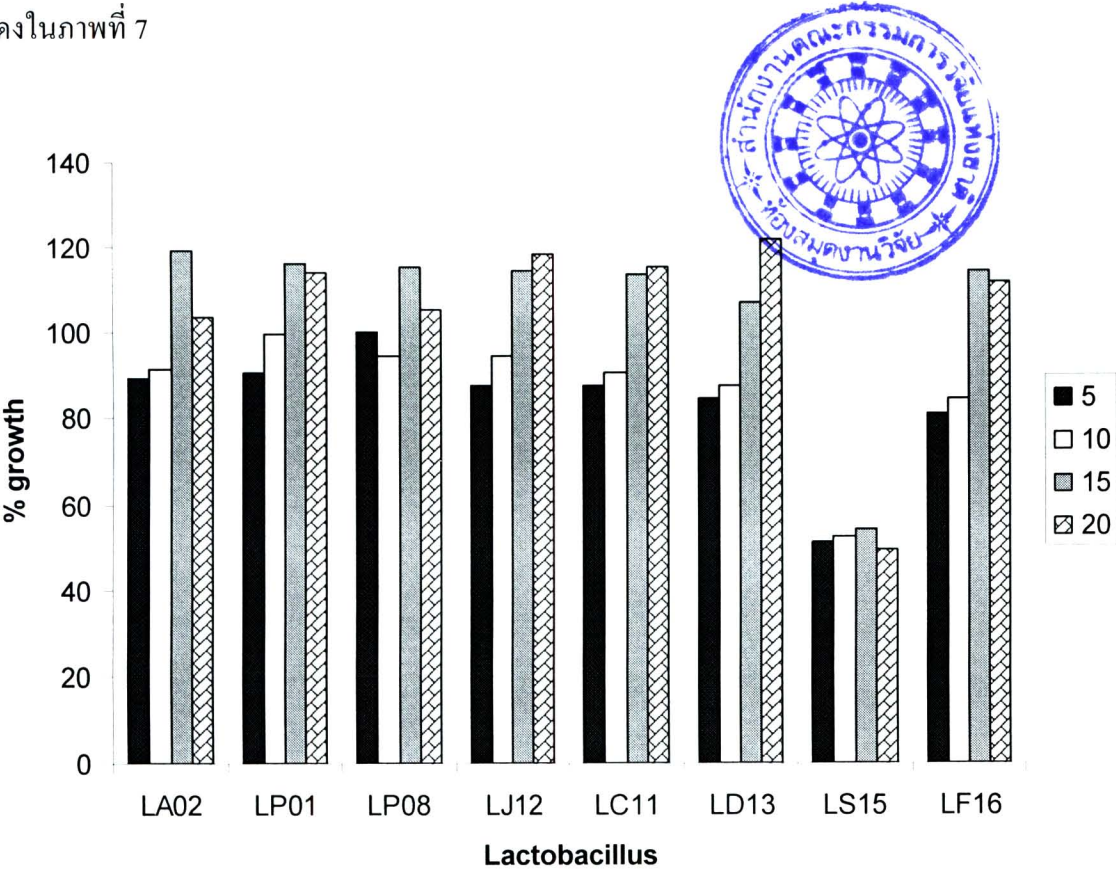


ภาพที่ 5 ลักษณะของดอกเห็ดระโงกเหลือง *Amanita vaginata*



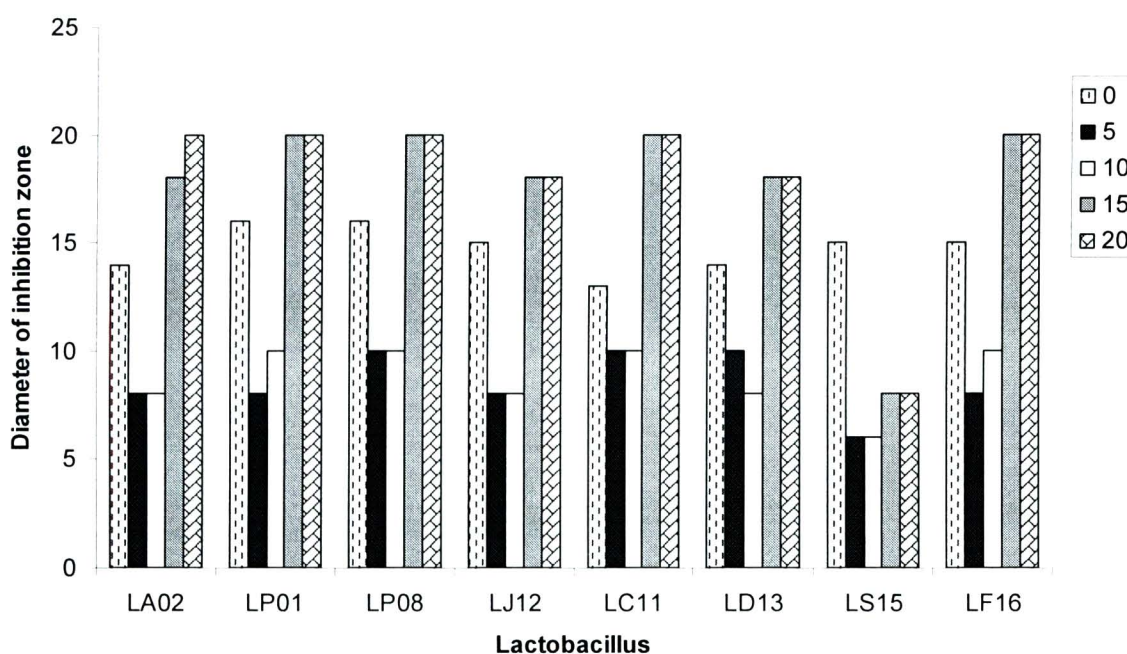
ภาพที่ 6 ลักษณะของดอกเห็ดระโงกขาว *Amanita prines* Coneret Bas

ในการศึกษาครั้งนี้ได้เพาะเลี้ยงเชื้อแลคโตบาซิลลัสทั้ง 8 ชนิด วัดการเจริญเมื่อเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีและไม่มีส่วนผสมของเห็ดระโงกขาว และทดสอบฤทธิ์ด้านจุลชีพ ผลการทดสอบการเจริญของเชื้อได้แสดงในภาพที่ 7



ภาพที่ 7 การเจริญของแลคโตบาซิลลัสแต่ละสายพันธุ์ ในหน่วยเป็นร้อยละเมื่อเทียบกับการเพาะเลี้ยงที่ไม่มีส่วนผสมของเห็ดระโงกขาว กับเมื่อเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีส่วนผสมของเห็ดในร้อยละ 5, 10, 15 และ 20 โดยนำหน้ากตัวอย่าง (LA02, *Lactobacillus acidophilus* สายพันธุ์ MDCM02; LP01, *Lactobacillus plantarum* สายพันธุ์ MDCM01; LP08, *Lactobacillus paracasei* สายพันธุ์ MDCM08; LJ12, *Lactobacillus jonsonnii* สายพันธุ์ MDCM12; LC11, *Lactobacillus crispatus* สายพันธุ์ MDCM11; LD13, *Lactobacillus delbruekii* สายพันธุ์ MDCM13; LS15, *Lactobacillus sakei* สายพันธุ์ MDCM15; LF16, *Lactobacillus fermentum* สายพันธุ์ MDCM16)

จากภาพพบว่าการใช้เห็ดเป็นแหล่งอาหารของการเพาะเลี้ยงเชื้อแลคโตบาซิลลัสนั้นส่งผลดีในแง่ของการเจริญของเชื้อแลคโตบาซิลลัสทดสอบ ยกเว้นเพียงเชื้อ *L.sakei* MDCM15 ที่ไม่สามารถใช้สารอาหารจากเห็ดได้ซึ่งคาดว่าเกิดจากความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์มาย่อยเซลล์ของเห็ดเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ได้ ขณะที่แลคโตบาซิลลัสชนิดอื่นสามารถสร้างเอ็นไซม์มาย่อยและใช้ประโยชน์จากเห็ดได้ โดยเฉพาะเมื่อเพาะเลี้ยง ณ สภาวะที่มีส่วนผสมของเห็ดระโงกขาวมากกว่าร้อยละ 15 นอกจากนี้ยังได้ทดสอบฤทธิ์ด้านจุลชีพของการเพาะเลี้ยงเชื้อแลคโตบาซิลลัสกับส่วนผสมของเห็ดระโงกขาวอีกด้วย ผลการศึกษาต่อเชื้อ *Escherichia coli* สายพันธุ์ก่อโรคทางเดินอาหาร แสดงในภาพที่ 8



ภาพที่ 8 ฤทธิ์ต้านจุลชีพ *Escherichia coli* สายพันธุ์ก่อโรคทางเดินอาหาร ของแลคโตบาซิลลัสแต่ละสายพันธุ์ ในหน่วยเป็นมิลลิเมตร เมื่อเพาะเลี้ยงที่ไม่มีส่วนผสมของเห็ดระโงกขาว และเมื่อเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีส่วนผสมของเห็ดในร้อยละ 5, 10, 15 และ 20 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (LA02, *Lactobacillus acidophilus* สายพันธุ์ MDCM02; LP01, *Lactobacillus plantarum* สายพันธุ์ MDCM01; LP08, *Lactobacillus paracasei* สายพันธุ์ MDCM08; LJ12, *Lactobacillus jonsonnii* สายพันธุ์ MDCM12; LC11, *Lactobacillus crispatus* สายพันธุ์ MDCM11; LD13, *Lactobacillus delbruekii* สายพันธุ์ MDCM13; LS15, *Lactobacillus sakei* สายพันธุ์ MDCM15; LF16, *Lactobacillus fermentum* สายพันธุ์ MDCM16)

จากภาพแสดงฤทธิ์ต้านจุลชีพพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างการเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีส่วนผสมของเห็ดระโงกขาวที่ร้อยละ 15 และ 20 ของแลคโตบาซิลลัส 7 สายพันธุ์ ยกเว้น *Lactobacillus sakei* สายพันธุ์ MDCM15 (LF16) จากผลการศึกษาจึงได้เลือกสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเป็นสภาวะที่มีส่วนผสมของเห็ดระโงกขาวร้อยละ 15 และได้ทำการเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านจุลชีพที่เกิดขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงแลคโตบาซิลลัสแต่ละชนิดในสภาวะที่มีส่วนผสมของเห็ดระโงกขาว และเห็ดระโงกเหลืองที่มีต่อแบคทีเรียก่อโรค 4 ชนิดดังแสดงผลในตารางที่ 7

ตารางที่ 6 ฤทธิ์ต้านจุลชีพที่เกิดขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงแบคทีเรียโคลิฟอร์มแต่ละชนิดในสภาวะที่มีส่วนผสมของเห็ดกระโงกขาว และเห็ดกระโงกเหลือง ณ ส่วนผสมของเห็ดคิดเป็นร้อยละ 15

แบคทีเรียโคลิฟอร์ม	เห็ดกระโงก	ขนาดเฉลี่ยของขอบเขตการยับยั้ง (มิลลิเมตร) ต่อเชื้อสายพันธุ์ก่อโรคทางเดินอาหาร			
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella enterica</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
LA02	ขาว	18	16	11	21
	เหลือง	14	14	8	14
LP01	ขาว	20	16	12	21
	เหลือง	16	12	10	12
LP08	ขาว	20	18	11	20
	เหลือง	14	12	10	14
LJ12	ขาว	18	16	12	19
	เหลือง	13	12	10	10
LC11	ขาว	20	16	12	19
	เหลือง	14	14	8	10
LD13	ขาว	18	15	12	18
	เหลือง	14	14	10	12
LF16	ขาว	20	16	12	19
	เหลือง	14	14	12	12

ตัวเลขเข้ม : มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างสภาวะที่เพาะเลี้ยงด้วยเห็ดกระโงกขาวและเหลือง

จากผลการศึกษาพบว่าเชื้อแบคทีเรียโคลิฟอร์มส่วนใหญ่จะเจริญได้ดี และแสดงฤทธิ์ต้านจุลชีพต่อเชื้อทดสอบได้ดีในกรณีที่เพาะเลี้ยงในสภาวะที่ใช้ส่วนผสมของเห็ดกระโงกขาวมากกว่าเห็ดกระโงกเหลือง ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากความแตกต่างทางโครงสร้างของเซลล์ของเห็ดทั้ง 2 ชนิด หรือความแตกต่างของปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ได้จากเห็ดทั้ง 2 ชนิดซึ่งจะนำไปเป็นหัวข้อในการศึกษาต่อไป

จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญพบได้บ่อยในการทดสอบเชื้อ *Escherichia coli* มากกว่าเชื้อทดสอบอื่นๆ และพบต่อไปอีกว่าเชื้อแบคทีเรียโคลิฟอร์ม 4 สายพันธุ์แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของฤทธิ์ต้านจุลชีพต่อเชื้อก่อโรคทดสอบ เมื่อเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงระหว่างเห็ดกระโงกขาวกับเหลือง ได้แก่เชื้อ *Lactobacillus plantarum* สายพันธุ์ MDCM01, *Lactobacillus paracasei* สายพันธุ์ MDCM08, *Lactobacillus jonnsonii* สายพันธุ์ MDCM12 และ *Lactobacillus crispatus* สายพันธุ์ MDCM11

ในการศึกษาต่อไปได้ทำการศึกษาอิทธิพลของส่วนผสมจากเห็ดระโงกขาว กับน้ำตาลกลูโคสที่มีต่อฤทธิ์ด้านจุลชีพของเชื้อแลคโตบาซิลลัสทั้ง 4 สายพันธุ์ที่แสดงฤทธิ์ที่ดี

ตารางที่ 7 อิทธิพลของส่วนผสมจากเห็ดระโงกขาว กับน้ำตาลกลูโคสที่มีต่อฤทธิ์ด้านจุลชีพที่เกิดขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงแลคโตบาซิลลัสแต่ละชนิด ณ ส่วนผสมของเห็ดต่อกลูโคสคิดเป็นอัตราส่วนของร้อยละเท่ากับ 0:15, 5:10, 10:5 และ 15:0

แลคโตบาซิลลัส	เห็ดระโงก	ขนาดเฉลี่ยของขอบเขตการยับยั้ง (มิลลิเมตร) ต่อเชื้อ <i>Escherichia coli</i> สายพันธุ์ก่อโรคทางเดินอาหารในอัตราส่วนของเห็ดและกลูโคส			
		0:15	5:10	10:5	15:0
LP01	ขาว	22	20	22	20
LP08	ขาว	22	23	23	20
LJ12	ขาว	16	18	18	18
LC11	ขาว	22	24	24	20

ตัวเลขเข้ม : มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างสภาวะที่เพาะเลี้ยง

จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่าในอัตราส่วนของเห็ดต่อกลูโคสที่ 10:5 เชื้อแลคโตบาซิลลัสทั้ง 4 สายพันธุ์แสดงฤทธิ์ด้านจุลชีพได้ดีเป็นที่น่าพอใจทั้งหมด จึงได้เลือกสภาวะนี้ในการเพาะเลี้ยงเพื่อศึกษาในอนาคตต่อไป โดยคาดได้ว่าเชื้อแลคโตบาซิลลัสจะเลือกใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อให้พลังงานก่อนแล้วจึงสร้างเอนไซม์เพื่อย่อยเห็ดและนำไปใช้ได้ต่อไป การศึกษาในอนาคตจึงสนใจที่จะศึกษาถึงเอนไซม์ที่เชื้อแลคโตบาซิลลัสสร้างมาเพื่อย่อยเห็ด และสารด้านจุลชีพที่เชื้อแลคโตบาซิลลัสสร้างต่อไป

การศึกษาสภาวะการเจริญในหลอดทดลองของสายใยเห็ดถอบ

ในการศึกษาเปรียบเทียบเห็ดถอบหนัง และเห็ดถอบฝ้ายนั้น ได้แสดงผลไว้ในตารางที่ 9

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบลักษณะของเห็ดถอบหนัง และเห็ดถอบฝ้าย

ลักษณะ	เห็ดถอบหนัง	เห็ดถอบฝ้าย
เปลือกหุ้ม	สีคล้ำกว่า เปลือกหนา เหนียว	สีอ่อน เปลือกบาง และแตกง่าย
เนื้อเห็ดด้านใน	ค่อนข้างบาง มีช่องอากาศอยู่ภายใน	เนื้อหนา ช่องอากาศน้อย
ลักษณะการเจริญ	อยู่ที่ผิวดินตื้นๆ ขึ้นกระจาย	อยู่ที่ผิวดินที่ค่อนข้างชื้น หรือร่วมขึ้นเรียงเป็นแนว
น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม)	82	116
ร้อยละของการสำรวจพบ	61	39



ภาพที่ 9 ลักษณะของเห็ดถอบหนัง *Geastrum saccatum*



ภาพที่ 10 ลักษณะดอกเห็ดของเห็ดถอบฝ้าย *Astraeus hygrometricus*



ภาพที่ 11 ลักษณะดอกเห็ดที่พบเรียงตัวเป็นแนวของเห็ดถอบฝ้าย

ได้ทำการศึกษาถึงอิทธิพลของน้ำตาชนิดต่างๆ เพื่อศึกษาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการเจริญในหลอดทดลองของสายใยเห็ดถอบ ภายหลังจากนำสายใยเห็ดถอบที่แยกได้มาเพาะเลี้ยง โดยศึกษาการงอกของสายใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ผลการศึกษาในวันที่ 3 ของการเพาะเลี้ยงแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 อิทธิพลของน้ำตาลชนิดต่างๆ เพื่อศึกษาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการเจริญในหลอดทดลองของสาขาย่อยเห็ดถอบ

น้ำตาล	การเจริญของสาขาย่อยกิ่งอกใหม่ของ	
	เห็ดถอบหนัง	เห็ดถอบฝ้าย
Glucose	-	-
Salicin	-	-
L-sorbose	-	+
Ribitol	-	-
Cellobiose	-	+
Arabinose	-	+
Mannitol	-	+
Sucrose	-	-
Succinic acid	-	+
glycerolgalactose	-	-
Trehalose	-	+
Mannose	-	+
N-acetylglucosamine	-	--

+, พบสาขาย่อยกิ่งอกใหม่; -, ไม่พบสาขาย่อยกิ่งอกใหม่

แต่เมื่อศึกษาต่อถึงวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยงกลับพบว่าสาขาย่อยทั้งหมดของเห็ดถอบฝ้าย และตายในที่สุด ทางผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะเปลี่ยนระบบการเพาะเลี้ยงเพื่อให้สาขาย่อยเห็ดถอบกิ่งอกใหม่สามารถอยู่รอดได้นานกว่าเดิม และเพื่อประยุกต์ในการพัฒนาการเพาะเลี้ยงต่อไปในอนาคต