

รายงานผลงานเรื่องเติมการทดลองที่สิ้นสุด

ชื่อโครงการวิจัย : วิจัยและพัฒนาเห็ด

โครงการวิจัย : โครงการวิจัยและพัฒนาเห็ดเศรษฐกิจสายพันธุ์ใหม่

กิจกรรม : เห็ด *Coprinus* spp.

ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : การประเมินสายพันธุ์เห็ดเมืองหนาว *Coprinus comatus*

(O.F.Müll.) Gray ที่เหมาะสมกับการเพาะในประเทศไทย

ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Suitable Assessment of *Coprinus comatus* (O. F. Müll.) Gray for Cultivation in Thailand

คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง : นางสาวราพร ไชยมา สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

ผู้ร่วมงาน : นายอนุสรณ์ วัฒนกุล สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

: นางปิยะดา ป้องกันภัย สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

บทคัดย่อ

เห็ด *Coprinus comatus* (O.F.Müll) Gray หรือเห็ดถั่วฝรั่ง มีศักยภาพที่จะพัฒนาเป็นเห็ดเศรษฐกิจชนิดใหม่ได้ การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดอาหาร อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด และเทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่วฝรั่งโดยทำการรวบรวมเชื้อพันธุ์เห็ดถั่วฝรั่ง จากสหรัฐอเมริกา 1 สายพันธุ์ (Comatus1) สาธารณรัฐประชาชนจีน 4 สายพันธุ์ (Comatus2, Comatus3, Comatus4 และ Comatus5) คัดเลือกเชื้อเห็ดที่เจริญเติบโตสูงสุด 3 อันดับ (Comatus1 Comatus3, และ Comatus5) จากศึกษาการเจริญของเส้นใยบนอาหารวัน 6 ชนิด พบว่าเชื้อเห็ดทั้ง 3 สายพันธุ์ เจริญได้ดีที่สุดบนอาหาร PGPA และที่อุณหภูมิ 25°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การศึกษาเทคโนโลยีเพาะเห็ดถั่วฝรั่ง ศึกษาการผลิตเชื้อขยาย ในอาหาร 5 สูตร พบว่า เชื้อเห็ดเจริญได้ดีที่สุดบนอาหารสูตรที่ประกอบด้วยข้าวฟ่างต้ม : CaCO₃ : น้ำตาล ใช้เวลาเฉลี่ย 15.25 วัน

ศึกษาการเกิดดอกเห็ดด้วยการเพาะในระบบตะกร้าพลาสติก ใช้วัสดุหมักที่ผ่านการพลาสเจอซีไรซ์ 7 ชนิดคือ ฟางข้าว : รำข้าว : ยูเรีย : แอมโมเนียมซัลเฟต : ปูนขาว : ยิปซัม และทริปเปิ้ลซูเปอร์ฟอสเฟต พบว่าเชื้อเห็ดทั้ง 3 สายพันธุ์ เจริญได้ดีไม่แตกต่างกันทางสถิติ จากนั้นกระตุ้นให้เกิดดอกโดยการคลุมผิวหน้า ด้วยดินผสม บ่มเลี้ยงในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 18-20°C เห็ด Comatus3 และ Comatus5 ออกดอกรุ่นแรก ใช้เวลา 13.60 และ 14.20 วัน ตามลำดับ และ Comatus3 ให้ผลผลิตสูงสุด 2,557.10 กรัมต่อตะกร้า สามารถเก็บผลผลิตได้ถึง 3 รุ่น การขยายผลทดสอบเทคโนโลยีที่ได้ในสภาพโรงเรือนเกษตรกรรมแบบเพาะชั้นที่อำเภอเวียงป่าเป้า จังหวัดเชียงราย ในฤดูหนาว (16 – 30°C) โดยใช้วัสดุหมักประกอบด้วย ฟางข้าว : รำข้าว : มูลวัว : ปุ๋ยสูตร 0-46-0 : ปูนขาว : ปุ๋ยยูเรีย และดีเกลือ พบว่าสายพันธุ์ Comatus3 และ Comatus5 ให้ผลผลิตได้ครั้งที่ 1 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยให้ผลผลิตเฉลี่ย 3.04 และ 3.05 กก/ตร.ม. ตามลำดับ จากนั้นทำการประเมินลักษณะของดอกเห็ดแต่ละสายพันธุ์ พบว่า comatus 3 มีขนาดดอกใหญ่ที่สุด

คำหลัก : *Coprinus comatus*, การเจริญของเส้นใย, การเพาะเห็ด, ดอกเห็ด, ผลผลิต

คำนำ

เห็ด *Coprinus comatus* (O.F.Mull) Gray มีชื่อสามัญว่า shaggy mane หรือ lawyer's wig ในประเทศจีนเรียกว่า Maotou - Guisan (Stamets, 1993) นิยมบริโภคกันมากในทวีปยุโรป อเมริกาเหนือ และประเทศจีน เป็นเห็ดในสกุล *Coprinus* ที่มีขนาดใหญ่ที่สุด รสชาติอร่อย และมีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดย 100 กรัม มีโปรตีน 25.4 กรัม คาร์โบไฮเดรต 4.57 กรัม ไขมัน 0.34 กรัม เส้นใย 2.02 กรัม เถ้า 1.63 กรัม เกลือแร่ และวิตามิน (ฟอสฟอรัส แคลเซียม แมกนีเซียม ซิลิเนียม โปแตสเซียม เหล็ก สังกะสี Niacin และวิตามิน บีต่าง ๆ เป็นต้น) อีกทั้งยังมี amino acid มากกว่า 14 ชนิด (Glutamic, Serine, Alanine acid เป็นต้น) ทั้งมีสรรพคุณทางยา สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็ง ป้องกันภาวะหลอดเลือดโรคหัวใจ ลดระดับน้ำตาลในเลือด และความดันโลหิต (Gu and Leonard, 2006) ที่สำคัญคือมี β -glucan ที่เป็นสาร antioxidant จากคุณสมบัติดังกล่าวและกระแสนิยมอาหารสุขภาพ ปัจจุบันจึงมีการเพาะปลูกเห็ดถั่วฝักร้อยอย่างแพร่หลายในต่างประเทศ (Dijkstra, 1976, Mueller *et al.*, 1985, Stamets, 1993, Volk, 2004) เห็ดชนิดนี้ มีรสชาติดี เมื่อนำมาปรุงอาหารจะมีรสชาติคล้ายเนื้อไก่ และมีความกรุบกรอบ เห็ดถั่วฝักร้อยที่เพาะปลูกเป็นการค้าในกรุงปักกิ่ง ประเทศจีน พบว่าเส้นใยเห็ดสามารถเจริญได้ในที่อุณหภูมิค่อนข้างสูง และได้รับความนิยมจากผู้บริโภคอย่างรวดเร็ว ส่วนในประเทศไทยยังไม่มี การศึกษาหาเทคโนโลยีการเพาะเห็ดถั่วฝักร้อยเพื่อการค้าได้ จึงเห็นสมควรที่จะศึกษารายละเอียด และปัจจัยต่างๆ ที่มีอิทธิพลต่อการเจริญของเห็ดชนิดนี้ และนำมาเพาะทดสอบเพื่อศึกษาลักษณะต่าง ๆ และผลผลิตใน

สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมเพื่อเป็นพันธุ์สำหรับแนะนำแก่เกษตรกรในการเพาะเห็ดเมืองหนาวเป็นการค้า และเป็น การเพิ่มชนิดเห็ดใหม่ให้แก่ตลาด และผู้บริโภคต่อไป

วิธีดำเนินการ

รวบรวมสายพันธุ์เห็ด *Coprinus comatus* ได้ทั้งสิ้น 5 สายพันธุ์ และให้ code ประจำสายพันธุ์เป็น Comatus1 เป็นสายพันธุ์มาจากสหรัฐอเมริกา ส่วน Comatus2, Comatus3, Comatus4, และ Comatus5 เป็น สายพันธุ์การค้าของสาธารณรัฐประชาชนจีนที่รวบรวมไว้ภายในศูนย์รวบรวมเชื้อพันธุ์เห็ดแห่งประเทศไทย กรม วิชาการเกษตร ซึ่งเก็บรักษาไว้ในหลอดทดลองที่อุณหภูมิ 15 °C โดยเมื่อจะทำการทดลองจึงย้ายเส้นใยจากหลอด ทดลองลงเลี้ยงในอาหารวุ้น PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ เมื่อเชื้อเห็ดเจริญเต็มผิวหน้าอาหาร จึงตัดส่วนของเส้นใยพร้อม ทั้งอาหารวุ้นบริเวณขอบโคโลนี ออกเป็นชิ้นขนาดประมาณ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร แต่ละชิ้นที่ได้นี้คือ เชื้อที่ใช้ สำหรับปลูกเชื้อ (inoculate) ลงบนอาหารวุ้นต่างๆที่จะทำการทดลองต่อไป

1. ศึกษาการเจริญของเส้นใย

วางแผนการทดลองแบบสุ่มบรูณ์ (CRD, completely randomized design) มี 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ได้แก่ Comatus1, Comatus2, Comatus3, Comatus4 และ Comatus5 โดยทำการศึกษาการเจริญของเส้นใยเห็ด บนอาหารวุ้น PDA ในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มม. บ่มเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน ทำ การวัดความกว้างของโคโลนี และประเมินความหนาแน่นของเส้นใยโดยสายตา จึงทำการคัดเลือกเชื้อเห็ดที่ เจริญเติบโตสูงสุด 3 อันดับ มาทำการศึกษาต่อไป

2. ศึกษาการเจริญของเส้นใยบนอาหารวุ้น 6 ชนิด

2.1 การเจริญของเส้นใยเห็ดถั่วฝรั่ง Comatus1 บนอาหารวุ้น 6 ชนิด

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ อาหารที่ใช้ทดสอบมีดังนี้ 1) CMA 2) GPA 3) MEA 4) PDA 5) PDPYA 6) PGPA โดยเลี้ยงเส้นใยเห็ดถั่วฝรั่ง Comatus1 บนอาหารวุ้น 6 ชนิด บ่มเลี้ยงที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน เปรียบเทียบการเจริญของเส้นใยเห็ดในแนวระดับ (linear growth rate) โดยวัดความกว้างของโคโลนี และประเมินความ หนาแน่นของเส้นใยโดยสายตา

2.2 การเจริญของเส้นใยเห็ดถั่วฝรั่ง Comatus3 บนอาหารวุ้น 6 ชนิด

กรรมวิธีเช่นเดียวกันในการทดลอง 2.1

2.3 การเจริญของเส้นใยเห็ดถั่วฝรั่ง Comatus5 บนอาหารวุ้น 6 ชนิด

กรรมวิธีเช่นเดียวกันในการทดลอง 2.1

3. ศึกษาการเจริญของเส้นใยในอุณหภูมิต่างๆ

3.1 การเจริญของเส้นใยเห็ดถั่วฝรั่ง Comatus1 ในอุณหภูมิต่างๆ

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ โดยเลี้ยงเส้นใยเห็ดถั่วฝรั่ง Comatus1 ในอาหาร PGPA จากนั้นนำไปบ่มเลี้ยงในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 35°C และ 40°C เปรียบเทียบการเจริญของเส้นใยเห็ดในแนวระดับ โดยวัดความกว้างของโคโลนี และประเมินความหนาแน่นของเส้นใยโดยสายตา เมื่อเชื้อมีอายุ 7 วัน

3.2 การเจริญของเส้นใยเห็ดถั่วฝรั่ง Comatus3 ในอุณหภูมิต่างๆ

กรรมวิธีเช่นเดียวกันในการทดลอง 3.1

3.3 การเจริญของเส้นใยเห็ดถั่วฝรั่ง Comatus5 ในอุณหภูมิต่างๆ

กรรมวิธีเช่นเดียวกันในการทดลอง 3.1

4. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการผลิตเชื้อขยาย (spawn)

4.1 สูตรอาหารที่เหมาะสมในการผลิตเชื้อขยาย Comatus1

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 5 กรรมวิธี (สูตร) แต่ละสูตรมี 4 ซ้ำ ๆ ละ 3 ขวด ๆ ละ 150 กรัม ได้แก่

สูตร 1 ข้าวฟ่าง 100% (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)

สูตร 2 ข้าวฟ่าง 96% + น้ำตาล 4%

สูตร 3 ข้าวฟ่าง 92%, + น้ำตาล 4% + CaCO₃ 4%

สูตร 4 ข้าวสาลี 100%

สูตร 5 ข้าวสาลี 96% + น้ำตาล 4%

โดยทำการแช่ข้าวฟ่าง (สูตร 1, 2, 3) และข้าวสาลี (สูตร 4, 5) ที่ผ่านการล้างน้ำให้สะอาด ทิ้งไว้ 1 คืน นำข้าวฟ่างและข้าวสาลีที่ผ่านการแช่น้ำแล้ว มาต้มในน้ำเดือด ประมาณ 15 นาที ทิ้งให้สะเด็ดน้ำ ผึ่งลมให้เย็น ผสมด้วยสูตรต่างๆ บรรจุใส่ขวด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ ต่อ ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 30

นาที่ ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นจึงเขี่ยเชื้อเห็ดที่เลี้ยงไว้ในอาหารวุ้น PDA จากนั้นนำไปบ่มเลี้ยงในอุณหภูมิห้อง บันทึกผล
ระยะเวลาที่เชื้อเห็ดเจริญเต็มวัสดุ

4.2 สูตรอาหารที่เหมาะสมในการผลิตเชื้อขยาย Comatus3

กรรมวิธีเช่นเดียวกันในการทดลอง 4.1

4.3 สูตรอาหารที่เหมาะสมในการผลิตเชื้อขยาย Comatus5

กรรมวิธีเช่นเดียวกันในการทดลอง 4.1

5.ศึกษาการเกิดดอกของเห็ดถั่วฝรั่งในตะกร้าพลาสติก

ทดลองเพาะเห็ดถั่วฝรั่งทั้ง 3 สายพันธุ์ (กรรมวิธี) ด้วยการเพาะระบบตะกร้าพลาสติกโดยใช้วัสดุหมักที่
ประกอบด้วย ฟางข้าว+รำข้าว+ยูเรีย+แอมโมเนียมซัลเฟต+ปูนขาว+ยิปซัม+ทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต อัตราส่วน
100 : 5 : 1 : 2 : 1 : 2 : 1 โดยน้ำหนัก ซึ่งผ่านการหมักนาน 21 วัน และทำการฆ่าเชื้อด้วยวิธีพาสเจอร์ไรซ์จากนั้น
หว่านเชื้อเห็ด และนำไปบ่มเลี้ยง ในโรงเรือนไม่ควบคุมอุณหภูมิ เมื่อเชื้อเห็ดเจริญเต็มวัสดุเพาะ จึงทำการคลุมดิน
(casing) ด้วยดินร่วนผสมปูนขาว 1% รองจนกระทั่งเส้นใยเห็ดเจริญคลุมผิวดิน จึงนำไปกระตุ้นให้เกิดดอก โดย
กระตุ้นให้เกิดดอก ด้วย 2 วิธีคือ

1. กระตุ้นเกิดดอกในโรงเรือนเปิดดอกไม่ควบคุมอุณหภูมิ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในบล็อก
(randomized completely block design; RCB) มี 3 กรรมวิธี (สายพันธุ์) มี 4 ซ้ำ ๆ ละ 3 ตะกร้า

2. กระตุ้นเกิดดอกในตู้ควบคุมอุณหภูมิ วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 3 กรรมวิธี (สายพันธุ์) 5 ซ้ำ

บันทึกระยะเวลาที่เชื้อเห็ดเดินเต็มปุ๋ยหมัก และผลผลิตของแต่ละสายพันธุ์

6. การประเมินลักษณะของดอกเห็ดถั่วฝรั่งในแต่ละสายพันธุ์

บันทึกลักษณะต่าง ๆ เช่น หมวกเห็ด ครีบ ก้านดอก สี ขนาด ลักษณะผิวของก้านดอก ความกว้างหนา การติด
กับหมวกเห็ด เนื้อเยื่อภายในก้านดอก และนับจำนวนดอก เป็นต้น

ระยะเวลาทำการทดลอง เริ่มต้น 2554 – สิ้นสุด 2555

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มวิจัยและพัฒนาเห็ด สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1.ศึกษาการเจริญของเส้นใย

ผลการศึกษาการเจริญของเส้นใยบนอาหารวุ้น PDA ในแต่ละสายพันธุ์ รวมทั้งสิ้น 5 สายพันธุ์ คือ Comatus 1, Comatus 2, Comatus 3, Comatus 4 และ Comatus 5 ซึ่งผลการเปรียบเทียบการเจริญของเส้นใยเห็ด *C.comatus* พบว่าหลังปลูกเชื้อ 7 วัน เชื้อเห็ดที่เจริญได้ดีที่สุด คือ Comatus 5 โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 86.25 มม. (ตารางที่ 1) รองลงมาคือ Comatus 1, Comatus3, Comatus4 และ Comatus2 ตามลำดับ โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 85.25, 82.25, 75.25 และ 70.75 มม. ตามลำดับ จึงทำการคัดเลือกเชื้อเห็ดที่เจริญเติบโตสูงสุด 3 อันดับ (Comatus5, Comatus1 และ Comatus3) มาทำการศึกษาต่อไป

ตารางที่ 1 การเจริญของเส้นใยเห็ดถั่วฝรั่งบนอาหารวุ้น บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (28-30°C) เป็นเวลา 7 วัน

Strains	Colony diameter in mm. ¹	Density of mycelium after 7 days incubation ²
Comatus 1	85.25	+++
Comatus 2	75.25	++
Comatus 3	82.25	+++
Comatus 4	70.75	++
Comatus 5	86.25	+++

1) อักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี DMRT

2) +++ เส้นใยเจริญหนาแน่นดี ++ เส้นใยเจริญหนาแน่นปานกลาง + เส้นใยเจริญหนาแน่นน้อย

2. ศึกษาการเจริญของเส้นใยบนอาหารร่วน 6 ชนิด

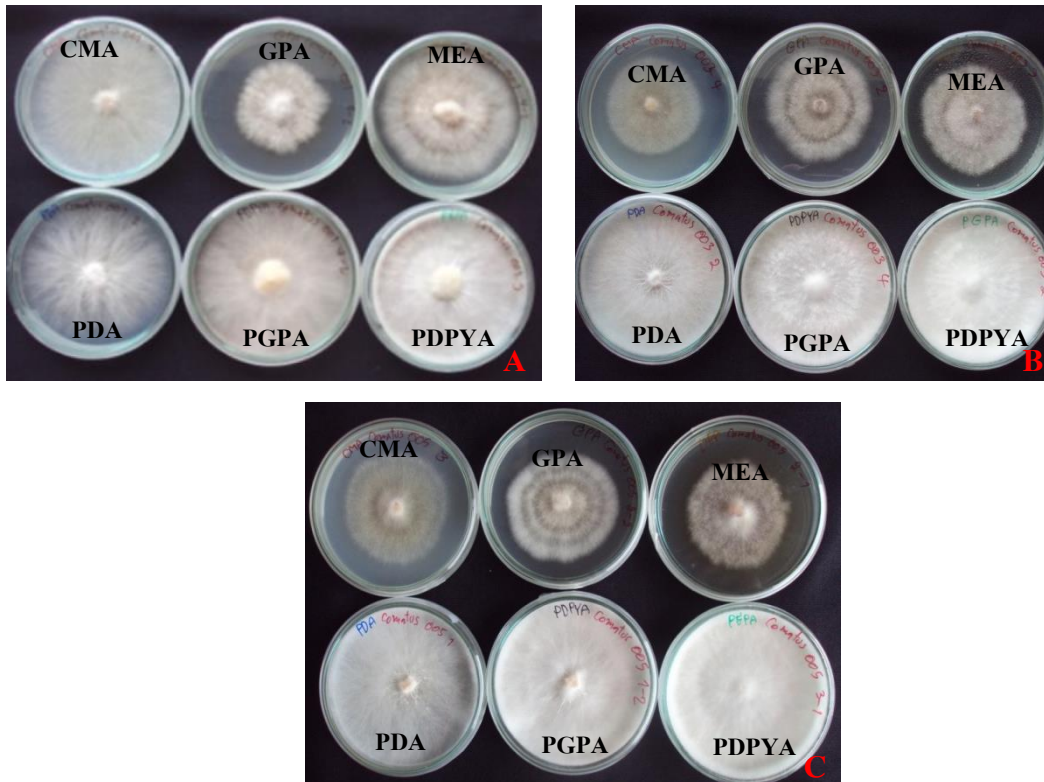
ผลการศึกษาการเจริญของเส้นใยเห็ดถั่วฝรั่งทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ Comatus 1 Comatus 3 และ Comatus 5 บนอาหารร่วน 6 ชนิด หลังปลูกเชื้อ 7 วัน พบว่า เชื้อเห็ดเจริญได้ดีที่สุดบนอาหารร่วน PGPA รองลงมาคือ PDPYA PDA CMA MEA และ GPA ตามลำดับ ในทุกสายพันธุ์ (ตารางที่ 2 และ รูปที่ 1) ซึ่งเท่ากับอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดถั่วฝรั่งกับเห็ดเศรษฐกิจชนิดอื่นๆ เช่น เห็ดนางรม เห็ดนางฟ้า เห็ดกระด้าง เห็ดขอนขาว เป็นต้น นอกจากนั้นยังเจริญได้เร็วกว่าเห็ดกระดุมหูหนู เป้าฮื้อ และตีนแรด (วสันต์, 2540)

ตารางที่ 2 การเจริญของเส้นใยเห็ดถั่วฝรั่งบนอาหารร่วน 6 ชนิด บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (28-30 °C) เป็นเวลา 7 วัน

Media	Comatus 1		Comatus 3		Comatus 5	
	Colony diameter in mm. ¹	Density of mycelium ²	Colony diameter in mm. ¹	Density of mycelium ²	Colony diameter in mm. ¹	Density of mycelium ²
CMA	61.75d	+	60.50c	+	70.25b	+
GPA	59.50d	++	62.75c	++	64.50b	++
MEA	78.25c	++	68.25b	++	64.00b	++
PDA	85.75b	+++	88.00a	+++	88.25a	+++
PDPYA	86.75b	+++	87.50a	+++	88.25a	+++
PGPA	90.00a	+++	90.00a	+++	90.00a	+++
CV (%)	2.8		3.8		5.76	

1) อักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี DMRT

2) +++ เส้นใยเจริญหนาแน่นดี ++ เส้นใยเจริญหนาแน่นปานกลาง + เส้นใยเจริญหนาแน่นน้อย



ภาพที่ 1 การเจริญของเส้นใยเห็ดถั่วฝรั่ง A: Comatus1, B : Comatus2, C : Comatus3 บนอาหารวุ้น 6 ชนิด หลังปลูกเชื้อ 7 วัน

3. ศึกษาการเจริญของเส้นใยในอุณหภูมิต่างๆ

จากการทดลองเลี้ยงเชื้อเห็ดถั่วฝรั่งบนอาหาร PGPA ที่อุณหภูมิต่างกัน 6 ระดับ พบว่า เชื้อเห็ดเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 25°C ในทุกสายพันธุ์ (ตารางที่ 3) รองลงมาคือ 20°C, 30°C และ 15°C ตามลำดับ ส่วนที่อุณหภูมิ 35°C เส้นใยเห็ดเจริญได้ไม่ดี มีความหนาแน่นของเส้นใยน้อย และที่ 40°C เส้นใยเห็ดทุกสายพันธุ์ ไม่สามารถเจริญได้ โดยปกติแล้วอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใย การงอกของสปอร์ และการพัฒนาเป็นดอกเห็ดจะต้องการช่วงอุณหภูมิที่แตกต่างกัน โดยอุณหภูมิมระหว่าง 20-35°C เหมาะต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด (Griffin, 1994) อุณหภูมิมระหว่าง 25-32°C เหมาะต่อการงอกของสปอร์ (Cochrane, 1958) ส่วนอุณหภูมิมระหว่าง 18-28°C เหมาะต่อการรวมตัวของเส้นใยเพื่อสร้างเป็นดอกเห็ด (Stamets, 1993) และอุณหภูมิมระหว่าง 6-8°C เป็นช่วงอุณหภูมิมที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาเชื้อ (Stamets and Chiton, 1983) เป็นต้น

ตารางที่ 3 การเจริญของเส้นใยเห็ดถั่วฝักรั้วที่อุณหภูมิต่างๆ ในแต่ละสายพันธุ์

Temperature (°C)	Comatus 1		Comatus 3		Comatus 5	
	Colony diameter in mm. ¹	Density of mycelium ²	Colony diameter in mm. ¹	Density of mycelium ²	Colony diameter in mm. ¹	Density of mycelium ²
15	70.75c	+++	74.25c	+++	73.50c	+++
20	83.00b	+++	83.75a	+++	82.75b	+++
25	88.25a	+++	87.50a	+++	87.50a	+++
30	82.00b	+++	78.25b	+++	86.50a	+++
35	24.25d	++	23.25d	++	26.50d	++
40	0.00e	-	0.00e	-	0.00e	-
CV (%)	2.64		4.43		3.19	

1) อักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี DMRT

2) +++ เส้นใยเจริญหนาแน่นดี ++ เส้นใยเจริญหนาแน่นปานกลาง + เส้นใยเจริญหนาแน่นน้อย

4.ศึกษาการผลิตเชื้อขยาย (spawn) ในสูตรอาหารต่างๆ ของแต่ละสายพันธุ์

จากการศึกษาผลิตเชื้อขยาย ในสูตรอาหารต่างกัน 5 สูตร พบว่าเชื้อเห็ดทุกสายพันธุ์ สามารถเจริญได้ดีที่สุดในอาหารสูตรที่ 3 หลังปลูกเชื้อลงไปในการอาหาร ใช้ระยะเวลาเฉลี่ย 15.28 วัน รองลงมาคือสูตรที่ 5 และสูตรที่ 2 เชื้อเห็ดเจริญได้ดีและไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติโดยเชื้อเห็ดเจริญเต็มอาหารในระยะเวลา 21.08 และ 21.33 วัน ตามลำดับ ส่วนในอาหารสูตรที่ 4 และสูตรที่ 1 เชื้อเห็ดเจริญได้ช้ากว่าสูตรอื่นๆ โดยเชื้อเห็ดเจริญเต็มอาหารในระยะเวลา 24.33 และ 24.64 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 การเจริญของเส้นใยเห็ดถั่วฝรั่งในเชื้อขยายสูตรต่างๆ บ่มเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (28-30°C)

Spawn Formulation	Comatus 1	Comatus 3	Comatus 5	No. of days in all strains
	Days for completion of spawn running ¹	Days for completion of spawn running ¹	Days for completion of spawn running ¹	
1.boiled sorghum 100%	24.75d	24.58c	24.58c	24.64
2. boiled sorghum 96% : sugar 4 %	21.25b	21.33b	21.42b	21.33
3. boiled sorghum 92% : CaCO ₃ 4% : sugar 4 %	15.25a	15.42a	15.17a	15.28
4.boiled wheat 100%	24.25c	24.33c	24.42c	24.33
5.boiled wheat 96% : sugar 4 %	21.00b	21.08b	21.17b	21.08
CV(%)	2.76	2.37	2.37	

1) อักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี DMRT

5. ศึกษาการเกิดดอกของเห็ดถั่วฝรั่งในตะกร้าพลาสติก

จากการศึกษาการเกิดดอกของเห็ดถั่วฝรั่งทั้ง 3 สายพันธุ์ ด้วยการเพาะระบบตะกร้าพลาสติก พบว่า Comatus 3 เจริญได้ดีที่สุด โดยเจริญเต็มวัสดุเพาะภายในระยะเวลาเฉลี่ย 14.58 วัน ส่วน Comatus 5 และ Comatus 1 ใช้ระยะเวลาเฉลี่ย 15.33 และ 15.75 วัน ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติ เมื่อกระตุ้นให้เกิดดอกด้วยการคลุมผิวหน้า ด้วยดินผสม ในโรงเรือนเปิดดอกไม่ควบคุมอุณหภูมิ พบว่าในช่วงเดือนมีนาคม – พฤศจิกายน 2554 (28-36°C) ไม่พบการออกดอก เมื่อทดลองซ้ำในช่วงเดือน ธันวาคม – มกราคม 2555 (26-32°C) โดยการกระตุ้นการเกิดดอกวิธีที่ 1 พบมีการสร้างตุ่มดอก (primordia formation) เท่านั้น ซึ่งตุ่มดอกในเวลาต่อมาจะฝ่อเป็นสีน้ำตาลแห้ง และสลายไปไม่สามารถเจริญเป็นดอกเห็ดที่สมบูรณ์ได้ สาเหตุอาจเกิดจากสภาวะอากาศที่ไม่เหมาะสม เช่น อุณหภูมิสูงเกินไป เป็นต้น จึงได้กระตุ้นการเกิดดอกในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 18-20°C รดน้ำให้มี

ความชื้นสัมพัทธ์ 65 – 80 % เห็ด Comatus 3 และ Comatus 5 สามารถเก็บผลผลิตรุ่นแรก ใช้เวลา 13.60 และ 14.20 วัน ตามลำดับซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติ ส่วน Comatus 1 เก็บผลผลิตได้ภายใน 19.80 วัน การทดลองนี้สอดคล้องกับ Stamets and Chiton (1983) ซึ่งพบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเกิดดอกของเห็ดชนิดนี้ควรอยู่ระหว่าง 18-24°C

การให้ผลผลิตพบว่า สายพันธุ์ Comatus 3 ให้ผลผลิตสูงสุด คือ 2,557.10 กรัมต่อตะกร้า รองลงมาคือ Comatus 1 และ Comatus 5 ให้ผลผลิต 1,755.34 และ 1,304.69 กรัมต่อตะกร้า ตามลำดับ (ตารางที่ 5) กลุ่มดอกเห็ดที่ได้มีลักษณะดอกที่สมบูรณ์ น้ำหนักดี (รูปที่ 2) โดยมีน้ำหนักเฉลี่ย 25.03 - 47.88 กรัมต่อดอก สามารถเก็บผลผลิตได้ถึง 3 รุ่น แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเกิดดอกของเห็ดถั่วฝรั่งควรต่ำกว่า 20°C (Giffin,1994)

ตารางที่ 5 ผลผลิตเฉลี่ยเห็ดถั่วฝรั่งในแต่ละสายพันธุ์ ที่ทำการเปิดดอกในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 18-20°C

Strains	No. of days for full colonized of the mycelial	No. of days form watering to 1 st cropping	No. of basidiocarp/ basket	Weight of basidiocarps (g)	Yield (g/ basket)
Comatus1	15.75b	19.80b	49.60a	39.71b	1,755.34b
Comatus3	14.58a	13.60a	56.20a	34.21a	2,557.10a
Comatus5	15.33b	14.20a	40.20b	32.46b	1,304.89c
CV (%)	4.25	3.99	11.82	12.76	

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ด้วยวิธี LSD



ภาพที่ 2 การเกิดดอกเห็ดถั่วฝรั่งบนวัสดุเพาะในตะกร้าพลาสติกทำการเปิดดอกในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 18-20°C
 A,B: Comatus1 อายุ 12 และ 13วัน C,D: Comatus3 อายุ 9 และ 10วัน E,F: Comatus5 อายุ 5 และ 14
 วัน

6. การประเมินลักษณะของดอกเห็ดในแต่ละสายพันธุ์

ลักษณะของดอกเห็ดถั่วฝั้ว ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ หมวกเห็ด และก้านดอก ส่วนบนมีวงแหวน 1 ชั้น ไม่มีเปลือกหุ้มโคน (รูปที่ 3 A และ B)

ก) ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

Comatus 1 หมวกดอก มีสีขาวย ถึงขาวครีม มีขนาดความกว้าง 2.3-5.0 ซม. สูง 3- 5 ซม. ด้านบนของผิวหมวกเห็ดมีขนเล็กๆ เป็นเกล็ดสีน้ำตาลอ่อน คลุมผิวบน เมื่อแก่หมวกเห็ดจะสลายกลายเป็นหมึกสีดำ **ครีบดอก** ไม่ยึดติดกับก้าน ครีบบีสีขาวยเมื่อยังอ่อน ต่อมาสีเข้มขึ้นจนกลายเป็นสีดำเมื่อแก่ ครีบดอกมีลักษณะบาง และเรียงกันแบบชิดมาก **ก้านดอก** มีลักษณะเรียวยาวเป็นทรงประบอก เชื่อมกับหมวกดอกตรงกลางหมวก มีสีขาวยาวล เนื้อแน่นเมื่อยังอ่อน แต่เมื่อแก่ภายในก้านจะกลวง มีรากยาวยึดติดกับวัสดุเพาะ

Comatus 3 หมวกดอก มีสีขาวย ถึงขาวครีม มีขนาดความกว้าง 2.5-4.5 ซม. สูง 3 - 4.5 ซม. ด้านบนของผิวหมวกเห็ดมีขนเล็กๆ เป็นเกล็ดสีน้ำตาลอ่อนถึงเทา คลุมผิวบน เมื่อแก่หมวกเห็ดจะสลายกลายเป็นหมึกสีดำ **ครีบดอก** ไม่ยึดติดกับก้าน ครีบบีสีขาวยเมื่อยังอ่อน ต่อมาสีเข้มขึ้นจนกลายเป็นสีดำเมื่อแก่ ครีบดอกมีลักษณะบาง และเรียงกันแบบชิดมาก **ก้านดอก** มีลักษณะเรียวยาวเป็นทรงประบอก เชื่อมกับหมวกดอกตรงกลางหมวก มีสีขาวยาวล เนื้อ

Comatus 5 หมวกดอก มีสีขาวย ถึงขาวครีม มีขนาดความกว้าง 2.5-4.2 ซม. สูง 3- 5.5 ซม. ด้านบนของผิวหมวกเห็ดมีขนเล็กๆ เป็นเกล็ดสีน้ำตาลอ่อนถึงเทา คลุมผิวบน เมื่อแก่หมวกเห็ดจะสลายกลายเป็นหมึกสีดำ **ครีบดอก** ไม่ยึดติดกับก้าน ครีบบีสีขาวยเมื่อยังอ่อน ต่อมาสีเข้มขึ้นจนกลายเป็นสีดำเมื่อแก่ ครีบดอกมีลักษณะบาง และเรียงกันแบบชิดมาก **ก้านดอก** มีลักษณะเรียวยาวเป็นทรงประบอก เชื่อมกับหมวกดอกตรงกลางหมวก มีสีขาวยาวล เนื้อแน่นเมื่อยังอ่อน แต่เมื่อแก่ภายในก้านจะกลวง ส่วนโคนโป่งบวมมีลักษณะเป็นกระเปาะ

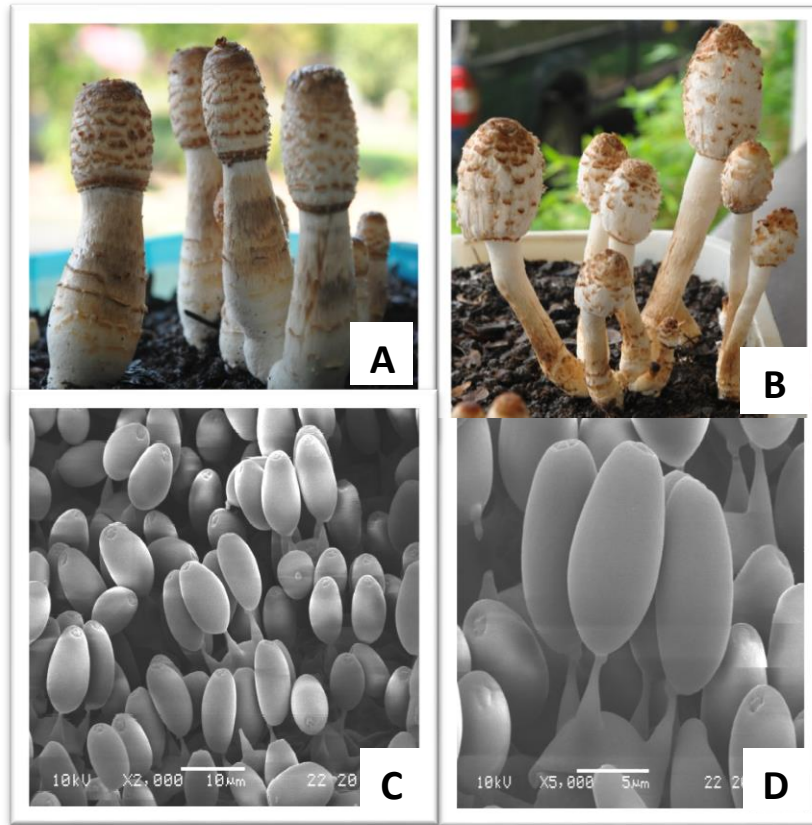
ข) ลักษณะทางจุลสัณฐานวิทยา

Basidiospore มีขนาด 10.80 – 13.5 × 8.7 – 10.0 ไมครอน รูปร่างคล้ายรูปไข่ ผนังหนา ผิวเรียบ มี

germ pore ตรงกลาง 1 รู มีสีน้ำตาล ถึงน้ำตาลดำ (รูปที่ 3C)

Basidia มีขนาด 15.5-30.0×10.0-12.5 ไมครอน ลักษณะคล้ายกระบอง มี 4 sterigma ไม่มี

basal clamp (รูปที่ 3D)



ภาพที่ 3 ลักษณะดอกเห็ดถั่วฝักรังและจุลสัณฐานวิทยา

ก) ดอกเห็ด อายุ 9 วัน ข) ดอกเห็ด อายุ 14 วัน ค) เบสิดิสปอร์ (2000x) ง) เบสิดี (5000x)

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ผลจากการศึกษาชนิดอาหาร อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดถั่วฝักรังทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่า เชื้อเห็ดเจริญได้ดีที่สุดบนอาหาร PGPA รองลงมาคือ PDPYA PDA CMA MEA และ GPA ตามลำดับ และที่อุณหภูมิ 25°C พบว่าเส้นใยเห็ดทุกสายพันธุ์ เจริญได้ดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ รองลงมาคือ 20°C และ 30°C ตามลำดับ

ได้ศึกษาหาเทคโนโลยีเพาะเห็ดถั่วฝักรัง เริ่มจากศึกษาการผลิตเชื้อขยายในอาหาร 5 สูตร พบว่า เชื้อเห็ดเจริญได้ดีที่สุดบนอาหารสูตรที่ประกอบด้วยข้าวฟ่างต้ม : CaCO_3 : น้ำตาล อัตราส่วน 92 : 4 : 4 โดยน้ำหนัก ศึกษาเกิดดอกเห็ดด้วยการเพาะในระบบตะกร้าพลาสติก ใช้วัสดุหมักที่ผ่านการพลาสเจอซีไรซ์ 7 ชนิดคือ ฟางข้าว : ไร่ข้าว : ยูเรีย : แอมโมเนียมซัลเฟต : ปูนขาว : ยิปซั่ม และทริปเปิ้ลซูเปอร์ฟอสเฟต พบว่าเชื้อเห็ดทั้ง 3 สายพันธุ์ เจริญได้ดีไม่แตกต่างทางสถิติ จากนั้นกระตุ้นให้เกิดดอกโดยการคลุมผิวหน้า ด้วยดินผสม ระหว่างเดือนมีนาคม –

พฤศจิกายน 2554 (28-36°C) ไม่พบการสร้างตุ่มดอกเห็ดทั้ง 3 สายพันธุ์ เมื่อทดลองซ้ำในเดือน ธันวาคม – มกราคม 2555 (26-32°C) ด้วยวิธีการกระตุ้นให้เกิดดอกในโรงเรือนไม่ควบคุมอุณหภูมิพบว่าเห็ดมีการสร้างตุ่มดอก เท่านั้น ส่วนการกระตุ้นในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 18-20°C พบว่าเห็ด Comatus3 และ Comatus5 ออกดอกได้ และ Comatus3 ให้ผลผลิตสูงสุด 2,557.10 กรัมต่อตะกร้า การทดลองจะได้ดำเนินการสู่เชิงพาณิชย์ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- วสันต์ เพชรรัตน์. 2540. การเพาะเห็ดป่า IX : เห็ดถั่ว (*Coprinus fimentarius.Fr.*) วารสารสงขลา
นครินทร์ วทท. 19 (1) : 13 - 22.
- Cochrane. V. H. 1958. Physiology of Fungi. Toppan company; Ltd., Tokyo. Japan.
- Dijkstra, F. I. J. 1976. Submerged cultures of mushroom mycelium as sources of protein and
flavor compounds. [Online]. Available from : [http://
www.Fransdijkstra.nl/diss/dis_sum.htm](http://www.Fransdijkstra.nl/diss/dis_sum.htm).
- Giffin, D. H. 1994. Fungal physiology. 2nd ed. New York, Wiley-Liss.
- Gu. Y. H. and J. Leonard. 2006. *In vitro* effects on proliferation, apoptosis and colony inhibition
in ER-dependent and ER-independent human breast cancer cells by selected
mushroom species. Oncol Rep. 15(2):417-23.
- Mueller, J. C.; J. R. Gawley, and W. A. Hayes, 1985. Cultivation of the shaggy mane mushroom
(*Coprinus comatus*) on cellulosic residues from pulp mills. Mushroom Newsletter for
the Tropics. 6 (1):15-20.
- Stamets, P. 1993. Growing Gourmet and Medicinal Mushroom. Ten Speed Press. Berkeley. 552 p.
- Stamets, P. and J. S. Chilton. 1983. The mushroom Cultivator: A Practical Guide to Growing
Mushroom at home. Agarikon Press, Washington. 415 p.
- Volk, T. 2004. Tom Volk's Fungus of the Month for May 2004: *Coprinus comatus*, shaggy mane.
[Online]. Available from : <http://www.TomVolkFungi.net>
- Zhu, J. B. 1998. The cultivation techniques of *Coprinus comatus* on Shangai Nan-Hui County.
Edible Fungi. 3:32.