

การประเมินสายพันธุ์เห็ดเมืองหนาว *Coprinus comatus* (O.F.Müll.) Gray

ที่เหมาะสมกับการเพาะในประเทศไทย

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

นางสาววราพร ไชยมา นายอนุสรณ์ วัฒนกุล นางปิยะดา ป้องกันภัย

บทคัดย่อ

เห็ด *Coprinus comatus* (O.F.Müll.) Gray หรือเห็ดถั่วฝรั่ง มีศักยภาพที่จะพัฒนาเป็นเห็ดเศรษฐกิจชนิดใหม่ได้ การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดอาหาร อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด และเทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่วฝรั่งโดยทำการรวบรวมเชื้อพันธุ์เห็ดถั่วฝรั่ง จากสหรัฐอเมริกา ๑ สายพันธุ์ (*Comatus๑*) สาธารณรัฐประชาชนจีน ๔ สายพันธุ์ (*Comatus๒*, *Comatus๓*, *Comatus๔* และ *Comatus๕*) คัดเลือกเชื้อเห็ดที่เจริญเติบโตสูงสุด ๓ อันดับ (*Comatus๑*, *Comatus๓*, และ *Comatus๕*) จากศึกษาการเจริญของเส้นใยบนอาหารวัน ๖ ชนิด พบว่าเชื้อเห็ดทั้ง ๓ สายพันธุ์ เจริญได้ดีที่สุดบนอาหาร PGPA และที่อุณหภูมิ ๒๕°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การศึกษาเทคโนโลยีเพาะเห็ดถั่วฝรั่ง ศึกษาการผลิตเชื้อขยาย ในอาหาร ๕ สูตร พบว่า เชื้อเห็ดเจริญได้ดีที่สุดบนอาหารสูตรที่ประกอบด้วยข้าวฟ่างต้ม : $CaCO_3$: น้ำตาล ใช้เวลาเฉลี่ย ๑๕.๒๕ วัน ศึกษาการเกิดดอกเห็ดด้วยการเพาะในระบบตะกร้าพลาสติก ใช้วัสดุหมักที่ผ่านการพลาสเจอซีไรซ์ ๗ ชนิดคือ ฟางข้าว : รำข้าว : ยูเรีย : แอมโมเนียมซัลเฟต : ปูนขาว : ยิปซัม และทริปเปิ้ลซูเปอร์ฟอสเฟต พบว่าเชื้อเห็ดทั้ง ๓ สายพันธุ์ เจริญได้ดีไม่แตกต่างทางสถิติ จากนั้นกระตุ้นให้เกิดดอกโดยการคลุมผิวหน้า ด้วยดินผสม บ่มเลี้ยงในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ ๑๘-๒๐°C เห็ด *Comatus๓* และ *Comatus๕* ออกดอกรุ่นแรก ใช้เวลา ๑๓.๖๐ และ ๑๔.๒๐ วัน ตามลำดับ และ *Comatus๓* ให้ผลผลิตสูงสุด ๒,๕๕๗.๑๐ กรัมต่อตะกร้า สามารถเก็บผลผลิตได้ถึง ๓ รุ่น การขยายผลทดสอบเทคโนโลยีที่ได้ในสภาพโรงเรือนเกษตรกรรมแบบเพาะชั้นที่อำเภอเวียงป่าเป้า จังหวัดเชียงราย ในฤดูหนาว (๑๖ – ๓๐°C) โดยใช้วัสดุหมักประกอบด้วย ฟางข้าว : รำข้าว : มูลวัว : ปุ๋ยสูตร ๐-๔๖-๐ : ปูนขาว : ปุ๋ยยูเรีย และดีเกลือ พบว่าสายพันธุ์ *Comatus๓* และ *Comatus๕* ให้ผลผลิตได้ครั้งที่ ๑ ไม่แตกต่างทางสถิติ โดยให้ผลผลิตเฉลี่ย ๓.๐๔ และ ๓.๐๕ กก/ตร.ม. ตามลำดับ จากนั้นทำการประเมินลักษณะของดอกเห็ดแต่ละสายพันธุ์ พบว่า *comatus ๓* 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, ๑๙๙๓) นิยมบริโภคกันมากในทวีปยุโรป อเมริกาเหนือ และประเทศจีน เป็นเห็ดในสกุล *Coprinus* ที่มีขนาดใหญ่ที่สุด รสชาติอร่อย และมีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดย ๑๐๐ กรัม มีโปรตีน ๒๕.๔ กรัม คาร์โบไฮเดรต ๔.๕๗ กรัม ไขมัน ๐.๓๔ กรัม เส้นใย ๒.๐๒ กรัม เถ้า ๑.๖๓ กรัม เกลือแร่และวิตามิน (ฟอสฟอรัส แคลเซียม แมกนีเซียม ซิลิเนียม โปแตสเซียม เหล็ก สังกะสี Niacin และวิตามินบีต่าง ๆ เป็นต้น) อีกทั้งยังมี amino acid มากกว่า ๑๔ ชนิด (Glutamic, Serine, Alanine acid เป็นต้น) ทั้งมีสรรพคุณทางยา สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็ง ป้องกันภาวะหลอดเลือดโรคหัวใจ ลดระดับน้ำตาลในเลือด และความดันโลหิต (Gu and Leonard, ๒๐๐๖) ที่สำคัญคือมี β -glucan ที่เป็นสาร antioxidant จากคุณสมบัติดังกล่าว และกระแสนิยมอาหารสุขภาพ ปัจจุบันจึงมีการเพาะปลูกเห็ดถั่วฝักร้อยอย่างแพร่หลายในต่างประเทศ (Dijkstra, ๑๙๗๖, Mueller *et al.*, ๑๙๘๕, Stamets, ๑๙๙๓, Volk, ๒๐๐๔) เห็ดชนิดนี้ มีรสชาติดี เมื่อนำมาปรุงอาหารจะมีรสชาติคล้ายเนื้อไก่ และมีความกรุบกรอบ เห็ดถั่วฝักร้อยที่เพาะปลูกเป็นการค้าในกรุงเทพฯ ประเทศไทย พบว่าเส้นใยเห็ดสามารถเจริญได้ในที่อุณหภูมิค่อนข้างสูง และได้รับความนิยมจากผู้บริโภคอย่างรวดเร็ว ส่วนในประเทศไทยยังไม่มีการศึกษาหาเทคโนโลยีการเพาะเห็ดถั่วฝักร้อยเพื่อการค้าได้ จึงเห็นสมควรที่จะศึกษารายละเอียด และปัจจัยต่างๆ ที่มีอิทธิพลต่อการเจริญของเห็ดชนิดนี้ และนำมาเพาะทดสอบเพื่อศึกษาลักษณะต่าง ๆ และผลผลิตในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมเพื่อเป็นพื้นฐานสำหรับแนะนำแก่เกษตรกรในการเพาะเห็ดเมืองหนาวเป็นการค้า และเป็นการเพิ่มชนิดเห็ดใหม่ให้แก่ตลาด และผู้บริโภคต่อไป

วิธีดำเนินการ

รวบรวมสายพันธุ์เห็ด *Coprinus comatus* ได้ทั้งสิ้น ๕ สายพันธุ์ และให้ code ประจำสายพันธุ์เป็น Comatus๑ เป็นสายพันธุ์มาจากสหรัฐอเมริกา ส่วน Comatus๒, Comatus๓, Comatus๔, และ Comatus๕ เป็นสายพันธุ์การค้าของสาธารณรัฐประชาชนจีนที่รวบรวมไว้ในศูนย์รวบรวมเชื้อพันธุ์เห็ดแห่งประเทศไทย กรมวิชาการเกษตร ซึ่งเก็บรักษาไว้ในหลอดทดลองที่อุณหภูมิ ๑๕ °C โดยเมื่อจะทำการทดลองจึงย้ายเส้นใยจากหลอดทดลองลงเลี้ยงในอาหารวุ้น PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ เมื่อเชื้อเห็ดเจริญเต็มผิวหน้าอาหาร จึงตัดส่วนของเส้นใยพร้อมทั้งอาหารวุ้นบริเวณขอบโคโลนี ออกเป็นชิ้นขนาดประมาณ ๑ ลูกบาศก์เซนติเมตร แต่ละชั้นที่ได้นี้คือ เชื้อที่ใช้สำหรับปลูกเชื้อ (inoculate) ลงบนอาหารวุ้นต่างๆที่จะทำการทดลองต่อไป

๑.ศึกษาการเจริญของเส้นใย

วางแผนการทดลองแบบสุ่มบรูณ์ (CRD, completely randomized design) มี ๕ กรรมวิธี ๔ ซ้ำ ได้แก่ Comatus๑, Comatus๒, Comatus๓, Comatus๔ และ Comatus๕ โดยทำการศึกษาการเจริญของเส้นใยเห็ดบนอาหารวุ้น PDA ในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง ๙๐ มม. บ่มเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา ๗ วัน ทำ

การวัดความกว้างของโคโลนี และประเมินความหนาแน่นของเส้นใยโดยสายตา จึงทำการคัดเลือกเชื้อเห็ดที่เจริญเติบโตสูงสุด ๓ อันดับ มาทำการศึกษาต่อไป

๒. ศึกษาการเจริญของเส้นใยบนอาหารวุ้น ๖ ชนิด

๒.๑ การเจริญของเส้นใยเห็ดถั่วฝรั่ง Comatus๑ บนอาหารวุ้น ๖ ชนิด

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี ๖ กรรมวิธี ๔ ซ้ำ อาหารที่ใช้ทดสอบมีดังนี้ ๑) CMA ๒) GPA ๓) MEA ๔) PDA ๕) PDPYA ๖) PGPA โดยเลี้ยงเส้นใยเห็ดถั่วฝรั่ง Comatus๑ บนอาหารวุ้น ๖ ชนิด บ่มเลี้ยงที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา ๗ วัน เปรียบเทียบการเจริญของเส้นใยเห็ดในแนวระดับ (linear growth rate) โดยวัดความกว้างของโคโลนี และประเมินความหนาแน่นของเส้นใยโดยสายตา

๒.๒ การเจริญของเส้นใยเห็ดถั่วฝรั่ง Comatus๓ บนอาหารวุ้น ๖ ชนิด

กรรมวิธีเช่นเดียวกันในการทดลอง ๒.๑

๒.๓ การเจริญของเส้นใยเห็ดถั่วฝรั่ง Comatus๕ บนอาหารวุ้น ๖ ชนิด

กรรมวิธีเช่นเดียวกันในการทดลอง ๒.๑

๓. ศึกษาการเจริญของเส้นใยในอุณหภูมิต่างๆ

๓.๑ การเจริญของเส้นใยเห็ดถั่วฝรั่ง Comatus๑ ในอุณหภูมิต่างๆ

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี ๖ กรรมวิธี ๔ ซ้ำ โดยเลี้ยงเส้นใยเห็ดถั่วฝรั่ง Comatus๑ ในอาหาร PGPA จากนั้นนำไปบ่มเลี้ยงในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ ๑๕°C, ๒๐°C, ๒๕°C, ๓๐°C, ๓๕°C และ ๔๐°C เปรียบเทียบการเจริญของเส้นใยเห็ดในแนวระดับ โดยวัดความกว้างของโคโลนี และประเมินความหนาแน่นของเส้นใยโดยสายตา เมื่อเชื้อมีอายุ ๗ วัน

๓.๒ การเจริญของเส้นใยเห็ดถั่วฝรั่ง Comatus๓ ในอุณหภูมิต่างๆ

กรรมวิธีเช่นเดียวกันในการทดลอง ๓.๑

๓.๓ การเจริญของเส้นใยเห็ดถั่วฝรั่ง Comatus๕ ในอุณหภูมิต่างๆ

กรรมวิธีเช่นเดียวกันในการทดลอง ๓.๑

๔. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการผลิตเชื้อขยาย (spawn)

๔.๑ สูตรอาหารที่เหมาะสมในการผลิตเชื้อขยาย Comatus๑

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี ๕ กรรมวิธี (สูตร) แต่ละสูตรมี ๔ ซ้ำ ๆ ละ ๓ ขวด ๆ ละ ๑๕๐ กรัม ได้แก่

สูตร ๑ ข้าวฟ่าง ๑๐๐% (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)

สูตร ๒ ข้าวฟ่าง ๙๖% + น้ำตาล ๔%

สูตร ๓ ข้าวฟ่าง ๙๒%, + น้ำตาล ๔% + CaCO_๓ ๔%

สูตร ๔ ข้าวสาลี ๑๐๐%

สูตร ๕ ข้าวสาลี ๙๖% + น้ำตาล ๔%

โดยทำการแช่ข้าวฟ่าง (สูตร ๑, ๒, ๓) และข้าวสาลี (สูตร ๔, ๕) ที่ผ่านการล้างน้ำให้สะอาด ทิ้งไว้ ๑ คืน นำข้าวฟ่างและข้าวสาลีที่ผ่านการแช่น้ำแล้ว มาต้มในน้ำเดือด ประมาณ ๑๕ นาที ทิ้งให้สะเด็ดน้ำ ผึ่งลมให้เย็น ผสมด้วยสูตรต่างๆ บรรจุใส่ขวด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ ๑๕ ปอนด์ ต่อ ตารางนิ้ว อุณหภูมิ ๑๒๑°C เป็นเวลา ๓๐ นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นจึงเชื้อเชื้อเห็ดที่เลี้ยงไว้ในอาหารวุ้น PDA จากนั้นนำไปบ่มเลี้ยงในอุณหภูมิห้อง บันทึกผลระยะเวลาที่เชื้อเห็ดเจริญเต็มวัสดุ

๔.๒ สูตรอาหารที่เหมาะสมในการผลิตเชื้อขยาย Comatus๓

กรรมวิธีเช่นเดียวกันในการทดลอง ๔.๑

๔.๓ สูตรอาหารที่เหมาะสมในการผลิตเชื้อขยาย Comatus๕

กรรมวิธีเช่นเดียวกันในการทดลอง ๔.๑

๕.ศึกษาการเกิดดอกของเห็ดถั่วฝร้งในตะกร้าพลาสติก

ทดลองเพาะเห็ดถั่วฝร้งทั้ง ๓ สายพันธุ์ (กรรมวิธี) ด้วยการเพาะระบบตะกร้าพลาสติกโดยใช้วัสดุหมักที่ประกอบด้วย ฟางข้าว+รำข้าว+ยูเรีย+แอมโมเนียมซัลเฟต+ปูนขาว+ยิปซั่ม+ทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต อัตราส่วน ๑๐๐ : ๕ : ๑ : ๒ : ๑ : ๒ : ๑โดยน้ำหนัก ซึ่งผ่านการหมักนาน ๒๑ วัน และทำการฆ่าเชื้อด้วยวิธีพาสเจอร์ไรซ์ จากนั้นหว่านเชื้อเห็ด และนำไปบ่มเลี้ยง ในโรงเรือนไม่ควบคุมอุณหภูมิ เมื่อเชื้อเห็ดเจริญเต็มวัสดุเพาะ จึงทำการคลุมดิน (casing) ด้วยดินร่วนผสมปูนขาว ๑% รोजนกระทั่งเส้นใยเห็ดเจริญคลุมผิวดิน จึงนำไปกระตุ้นให้เกิดดอก โดยกระตุ้นให้เกิดดอก ด้วย ๒ วิธีคือ

๑. กระตุ้นเกิดดอกในโรงเรือนเปิดดอกไม่ควบคุมอุณหภูมิ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในบล็อก (randomized completely block design; RCB) มี ๓ กรรมวิธี (สายพันธุ์) มี ๔ ซ้ำ ๆ ละ ๓ ตะกร้า

๒. กระตุ้นเกิดดอกในตู้ควบคุมอุณหภูมิ วางแผนการทดลองแบบ CRD มี ๓ กรรมวิธี (สายพันธุ์) ๕ ซ้ำ

บันทึกระยะเวลาที่เชื้อเห็ดเดินเต็มปุ๋ยหมัก และผลผลิตของแต่ละสายพันธุ์

๖. การประเมินลักษณะของดอกเห็ดถั่วฝร้งในแต่ละสายพันธุ์

บันทึกลักษณะต่าง ๆ เช่น หมวกเห็ด ครีบ ก้านดอก สี ขนาด ลักษณะผิวของก้านดอก ความกว้างหนา การติดกับหมวกเห็ด เนื้อเยื่อภายในก้านดอก และนับจำนวนดอก เป็นต้น
ระยะเวลาทำการทดลอง เริ่มต้น ๒๕๕๔ – สิ้นสุด ๒๕๕๕

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มวิจัยและพัฒนาเห็ด สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

๑.ศึกษาการเจริญของเส้นใย

ผลการศึกษาการเจริญของเส้นใยบนอาหารวุ้น PDA ในแต่ละสายพันธุ์ รวมทั้งสิ้น ๕ สายพันธุ์ คือ Comatus ๑, Comatus ๒, Comatus ๓, Comatus ๔ และ Comatus ๕ ซึ่งผลการเปรียบเทียบการเจริญของเส้นใยเห็ด *C.comatus* พบว่าหลังปลูกเชื้อ ๗ วัน เชื้อเห็ดที่เจริญได้ดีที่สุด คือ Comatus ๕ โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย ๘๖.๒๕ มม. (ตารางที่ ๑) รองลงมาคือ Comatus ๑, Comatus๓, Comatus๔ และ Comatus๒ ตามลำดับ โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย ๘๕.๒๕, ๘๒.๒๕, ๗๕.๒๕ และ ๗๐.๗๕ มม. ตามลำดับ จึงทำการคัดเลือกเชื้อเห็ดที่เจริญเติบโตสูงสุด ๓ อันดับ (Comatus๕, Comatus๑ และ Comatus๓) มาทำการศึกษาต่อไป

ตารางที่ ๑ การเจริญของเส้นใยเห็ดถั่วฝักรับบนอาหารวุ้น บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (๒๘-๓๐ °C) เป็นเวลา ๗ วัน

Strains incubation ^๑	Colony diameter in mm. ^๑	Density of mycelium after ๗ days
Comatus ๑	๘๕.๒๕	+++
Comatus ๒	๗๕.๒๕	++
Comatus ๓	๘๒.๒๕	+++
Comatus ๔	๗๐.๗๕	++
Comatus ๕	๘๖.๒๕	+++

๑) อักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น ๙๕% ด้วยวิธี DMRT

๒) +++ เส้นใยเจริญหนาแน่นดี ++ เส้นใยเจริญหนาแน่นปานกลาง + เส้นใยเจริญหนาแน่นน้อย

๒. ศึกษาการเจริญของเส้นใยบนอาหารวัน ๖ ชนิด

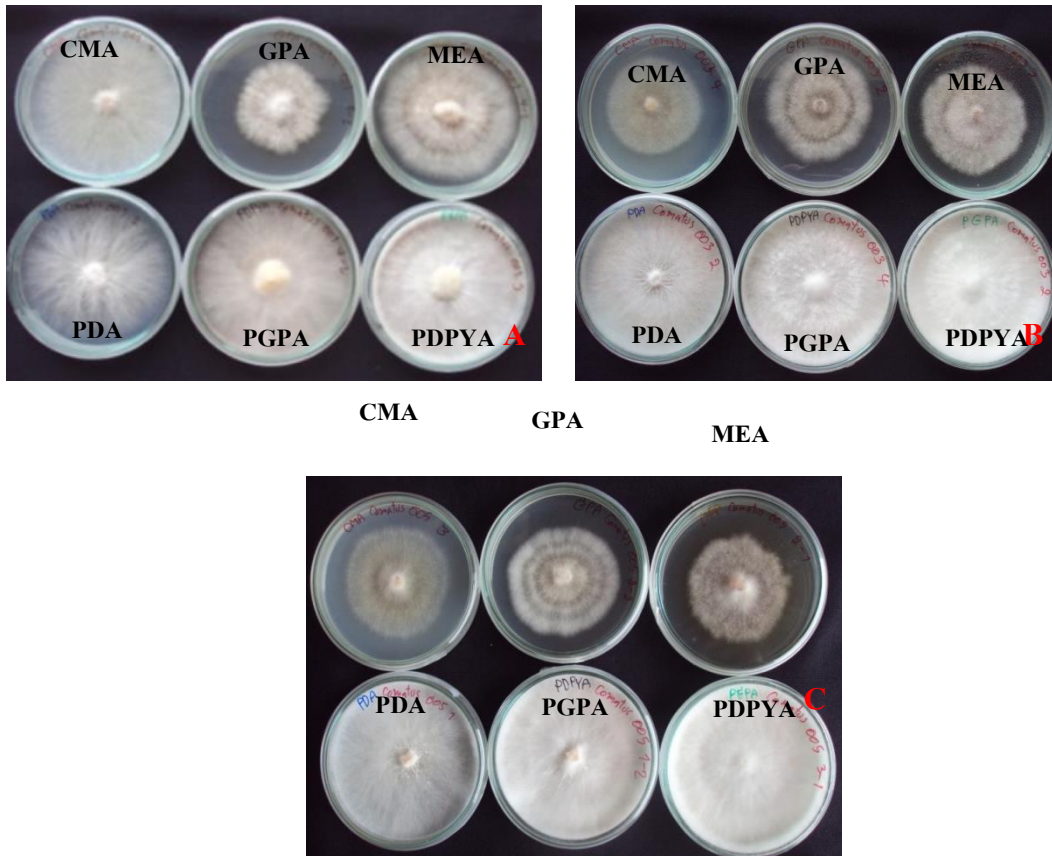
ผลการศึกษาการเจริญของเส้นใยเห็ดถั่วฝรั่งทั้ง ๓ สายพันธุ์ คือ Comatus ๑ Comatus ๓ และ Comatus ๕ บนอาหารวัน ๖ ชนิด หลังปลูกเชื้อ ๗ วัน พบว่า เชื้อเห็ดเจริญได้ดีที่สุดบนอาหารวัน PGPA รองลงมาคือ PDPYA PDA CMA MEA และ GPA ตามลำดับ ในทุกสายพันธุ์ (ตารางที่ ๒ และ รูปที่ ๑) ซึ่งเท่ากับอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดถั่วฝรั่งกับเห็ดเศรษฐกิจชนิดอื่นๆ เช่น เห็ดนางรม เห็ดนางฟ้า เห็ดกระด้าง เห็ดขอนขาว เป็นต้น นอกจากนี้ยังเจริญได้เร็วกว่าเห็ดกระดุม หูหนู เป้าฮื้อ และตีนแรด (วสันต์, ๒๕๕๐)

ตารางที่ ๒ การเจริญของเส้นใยเห็ดถั่วฝรั่งบนอาหารวัน ๖ ชนิด บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (๒๘-๓๐ °C) เป็นเวลา ๗ วัน

Media	Comatus ๑		Comatus ๓		Comatus ๕	
	Colony diameter in mm. ^๑	Density of mycelium ^๒	Colony diameter in mm. ^๑	Density of mycelium ^๒	Colony diameter in mm. ^๑	Density of mycelium ^๒
CMA	๖๑.๓๕d	+	๖๐.๕๐c	+	๗๐.๒๕b	+
GPA	๕๙.๕๐d	++	๖๒.๗๕c	++	๖๔.๕๐b	++
MEA	๗๘.๒๕c	++	๖๘.๒๕b	++	๖๔.๐๐b	++
PDA	๘๕.๗๕b	+++	๘๘.๐๐a	+++	๘๘.๒๕a	+++
PDPYA	๘๖.๗๕b	+++	๘๗.๕๐a	+++	๘๘.๒๕a	+++
PGPA	๙๐.๐๐a	+++	๙๐.๐๐a	+++	๙๐.๐๐a	+++
CV (%)	๒.๘		๓.๘		๕.๗๖	

๑) อักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น ๙๕% ด้วยวิธี DMRT

๒) +++ เส้นใยเจริญหนาแน่นดี ++ เส้นใยเจริญหนาแน่นปานกลาง + เส้นใยเจริญหนาแน่นน้อย



ภาพที่ ๑ การเจริญของเส้นใยเห็ดถั่วฝรั่ง A: Comatus๑, B : Comatus๒, C : Comatus๓ บนอาหารวุ้น ๖ ชนิด หลังปลูกเชื้อ ๗ วัน

๓. ศึกษาการเจริญของเส้นใยในอุณหภูมิต่างๆ

จากการทดลองเลี้ยงเชื้อเห็ดถั่วฝรั่งบนอาหาร PGPA ที่อุณหภูมิต่างกัน ๖ ระดับ พบว่า เชื้อเห็ดเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ ๒๕°C ในทุกสายพันธุ์ (ตารางที่ ๓) รองลงมาคือ ๒๐°C, ๓๐°C และ ๑๕°C ตามลำดับ ส่วนที่อุณหภูมิ ๓๕°C เส้นใยเห็ดเจริญได้ไม่ดี มีความหนาแน่นของเส้นใยน้อย และที่ ๔๐°C เส้นใยเห็ดทุกสายพันธุ์ ไม่สามารถเจริญได้ โดยปกติแล้วอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใย การงอกของสปอร์ และการพัฒนาเป็นดอกเห็ดจะต้องการช่วงอุณหภูมิที่แตกต่างกัน โดยอุณหภูมิระหว่าง ๒๐-๓๕°C เหมาะต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด (Griffin, ๑๙๙๔) อุณหภูมิระหว่าง ๒๕-๓๒°C เหมาะต่อการงอกของสปอร์ (Cochrane, ๑๙๕๘) ส่วนอุณหภูมิระหว่าง ๑๘-๒๘°C เหมาะต่อการรวมตัวของเส้นใยเพื่อสร้างเป็นดอกเห็ด (Stamets, ๑๙๙๓) และอุณหภูมิระหว่าง ๖-๘°C เป็นช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาเชื้อ (Stamets and Chiton, ๑๙๘๓) เป็นต้น

ตารางที่ ๓ การเจริญของเส้นใยเห็ดถั่วฝักรั้วที่อุณหภูมิต่างๆ ในแต่ละสายพันธุ์

Temperature (°C)	Comatus ๑		Comatus ๓		Comatus ๕	
	Colony diameter in mm. ^๑	Density of mycelium ^๒	Colony diameter in mm. ^๑	Density of mycelium ^๒	Colony diameter in mm. ^๑	Density of mycelium ^๒
๑๕	๗๐.๗๕C	+++	๗๔.๒๕C	+++	๗๓.๕๐C	+++
๒๐	๘๓.๐๐b	+++	๘๓.๗๕a	+++	๘๒.๗๕b	+++
๒๕	๘๘.๒๕a	+++	๘๗.๕๐a	+++	๘๗.๕๐a	+++
๓๐	๘๒.๐๐b	+++	๗๘.๒๕b	+++	๘๖.๕๐a	+++
๓๕	๒๔.๒๕d	++	๒๓.๒๕d	++	๒๖.๕๐d	++
๔๐	๐.๐๐e	-	๐.๐๐e	-	๐.๐๐e	-
CV (%)	๒.๖๔		๔.๔๓		๓.๑๙	

๑) อักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น ๙๕% ด้วยวิธี DMRT

๒) +++ เส้นใยเจริญหนาแน่นดี ++ เส้นใยเจริญหนาแน่นปานกลาง + เส้นใยเจริญหนาแน่นน้อย

๔.ศึกษาการผลิตเชื้อขยาย (spawn) ในสูตรอาหารต่างๆ ของแต่ละสายพันธุ์

จากการศึกษาผลิตเชื้อขยาย ในสูตรอาหารต่างกัน ๕ สูตร พบว่าเชื้อเห็ดทุกสายพันธุ์ สามารถเจริญได้ดีที่สุดในอาหารสูตรที่ ๓ หลังปลูกเชื้อลงในอาหาร ใช้ระยะเวลาเฉลี่ย ๑๕.๒๘ วัน รองลงมาคือสูตรที่ ๕ และสูตรที่ ๒ เชื้อเห็ดเจริญได้ดีและไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติโดยเชื้อเห็ดเจริญเต็มอาหารในระยะเวลา ๒๑.๐๘ และ ๒๑.๓๓ วัน ตามลำดับ ส่วนในอาหารสูตรที่ ๔ และสูตรที่ ๑ เชื้อเห็ดเจริญได้ช้ากว่าสูตรอื่นๆ โดยเชื้อเห็ดเจริญเต็มอาหารในระยะเวลา ๒๔.๓๓ และ ๒๔.๖๔ วัน ตามลำดับ (ตารางที่ ๔)

ตารางที่ ๔ การเจริญของเส้นใยเห็ดถั่วฝรั่งในเชื้อขยายสูตรต่างๆ บ่มเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (๒๘-๓๐ °C)

Spawn Formulation	Comatus ๑	Comatus ๓	Comatus ๕	No. of days in all strains
	Days for completion of spawn running ^๑	Days for completion of spawn running ^๑	Days for completion of spawn running ^๑	
๑.boiled sorghum ๑๐๐%	๒๔.๗๕d	๒๔.๕๘c	๒๔.๕๘c	๒๔.๖๔
๒. boiled sorghum ๙๖% : sugar ๔ %	๒๑.๒๕b	๒๑.๓๓b	๒๑.๔๒b	๒๑.๓๓
๓. boiled sorghum ๙๒% : CaCO _๓ ๔% : sugar ๔ %	๑๕.๒๕a	๑๕.๔๒a	๑๕.๑๗a	๑๕.๒๘
๔.boiled wheat ๑๐๐%	๒๔.๒๕c	๒๔.๓๓c	๒๔.๔๒c	๒๔.๓๓
๕.boiled wheat ๙๖% : sugar ๔ %	๒๑.๐๐b	๒๑.๐๘b	๒๑.๑๗b	๒๑.๐๘
CV(%)	๒.๗๖	๒.๓๗	๒.๓๗	

๑) อักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น ๙๕% ด้วยวิธี DMRT

๕. ศึกษาการเกิดดอกของเห็ดถั่วฝรั่งในตะกร้าพลาสติก

จากการศึกษาการเกิดดอกของเห็ดถั่วฝรั่งทั้ง ๓ สายพันธุ์ ด้วยการเพาะระบบตะกร้าพลาสติก พบว่า Comatus ๓ เจริญได้ดีที่สุด โดยเจริญเต็มวัสดุเพาะภายในระยะเวลาเฉลี่ย ๑๔.๕๘ วัน ส่วน Comatus ๕ และ Comatus ๑ ใช้ระยะเวลาเฉลี่ย ๑๕.๓๓ และ ๑๕.๗๕ วัน ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติ เมื่อกระตุ้นให้เกิดดอกด้วยการคลุมผิวหน้า ด้วยดินผสม ในโรงเรือนเปิดดอกไม่ควบคุมอุณหภูมิ พบว่าในช่วงเดือนมีนาคม - พฤษภาคม ๒๕๕๔ (๒๘-๓๖°C) ไม่พบการออกดอก เมื่อทดลองซ้ำในช่วงเดือน ธันวาคม - มกราคม ๒๕๕๕ (๒๖-๓๒°C) โดยการกระตุ้นการเกิดดอกวิธีที่ ๑ พบมีการสร้างตุ่มดอก (primodia formation) เท่านั้น ซึ่งตุ่มดอกในเวลาต่อมาจะฝ่อ เป็นสีน้ำตาล แห้ง และสลายไปไม่สามารถเจริญเป็นดอกเห็ดที่สมบูรณ์ได้ สาเหตุอาจเกิดจากสภาวะอากาศที่ไม่เหมาะสม เช่น อุณหภูมิสูงเกินไป เป็นต้น จึงได้กระตุ้นการเกิดดอกในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ ๑๘-๒๐°C รดน้ำให้มีความชื้นสัมพัทธ์ ๖๕ - ๘๐ % เห็ด Comatus ๓ และ Comatus ๕ สามารถเก็บผลผลิตรุ่นแรกใช้เวลา ๑๓.๖๐ และ ๑๔.๒๐ วัน ตามลำดับซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติ ส่วน Comatus ๑ เก็บผลผลิตได้ภายใน

๑๙.๘๐ วัน การทดลองนี้สอดคล้องกับ Stamets and Chiton (๑๙๘๓) ซึ่งพบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเกิดดอกของเห็ดชนิดนี้ควรอยู่ระหว่าง ๑๘-๒๔°C

การให้ผลผลิตพบว่า สายพันธุ์ Comatus ๓ ให้ผลผลิตสูงสุด คือ ๒,๕๕๗.๑๐ กรัมต่อตะกร้า รองลงมาคือ Comatus ๑ และ Comatus ๕ ให้ผลผลิต ๑,๗๕๕.๓๔ และ ๑,๓๐๔.๖๙ กรัมต่อตะกร้า ตามลำดับ (ตารางที่ ๕) กลุ่มดอกเห็ดที่ได้มีลักษณะดอกที่สมบูรณ์ น้ำหนักดี (รูปที่ ๒) โดยมีน้ำหนักเฉลี่ย ๒๕.๐๓ - ๔๗.๘๘ กรัมต่อดอก สามารถเก็บผลผลิตได้ถึง ๓ รุ่น แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเกิดดอกของเห็ดถั่วฝรั่งควรต่ำกว่า ๒๐°C (Giffin,๑๙๙๔)

ตารางที่ ๕ ผลผลิตเฉลี่ยเห็ดถั่วฝรั่งในแต่ละสายพันธุ์ ที่ทำการเปิดดอกในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ ๑๘-๒๐°C

Strains	No. of days for full colonized of the mycelial	No. of days form watering to ๑ st cropping	No. of basidiocarp/ basket	Weight of basidiocarps (g)	Yield (g/ basket)
Comatus๑ ๑,๗๕๕.๓๔b	๑๕.๗๕b	๑๙.๘๐b	๔๙.๖๐a	๓๙.๗๑b	
Comatus๓ ๒,๕๕๗.๑๐a	๑๔.๕๘a	๑๓.๖๐a	๕๖.๒๐a	๓๔.๒๑a	
Comatus๕ ๑,๓๐๔.๘๙c	๑๕.๓๓b	๑๔.๒๐a	๔๐.๒๐b	๓๒.๔๖b	
CV (%)	๔.๒๕	๓.๙๙	๑๑.๘๒	๑๒.๗๖	

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น ๙๙% ด้วยวิธี LSD



A



B



ภาพที่ ๒ การเกิดดอกเห็ดถั่วฝรั่งบนวัสดุเพาะในตะกร้าพลาสติกทำการเปิดดอกในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ $18-20^{\circ}\text{C}$
 A,B: Comatus๑ อายุ ๑๒ และ ๑๓วัน C,D: Comatus๓ อายุ ๙ และ ๑๐วัน E,F: Comatus๕ อายุ ๕ และ ๑๔ วัน

๖.การประเมินลักษณะของดอกเห็ดในแต่ละสายพันธุ์

ลักษณะของดอกเห็ดถั่วฝรั่ง ประกอบด้วย ๒ ส่วน คือ หมวกเห็ด และก้านดอก ส่วนบนมีวงแหวน ๑ ชั้น ไม่มีเปลือกหุ้มโคน (รูปที่ ๓ A และ B)

ก) ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

Comatus ๑ หมวกดอก มีสีขาว ถึงขาวครีม มีขนาดความกว้าง ๒.๓-๕.๐ ซม. สูง ๓- ๕ ซม.ด้านบนของผิวหมวกเห็ดมีขนเล็กๆ เป็นเกล็ดสีน้ำตาลอ่อน คลุมผิวบน เมื่อแก่หมวกเห็ดจะสลายกลายเป็นหมึกสีดำ **ครีบดอก** ไม่ยึดติดกับก้าน ครีบบีสีขาวเมื่อยังอ่อน ต่อมาสีเข้มขึ้นจนกลายเป็นสีดำเมื่อแก่ ครีบดอกมีลักษณะบาง และเรียงกันแบบชิดมาก **ก้านดอก** มีลักษณะเรียวยาวเป็นทรงประบอก เชื่อมกับหมวกดอกตรงกลางหมวก มีสีขาวนวล เนื้อแน่นเมื่อยังอ่อน แต่เมื่อแก่ภายในก้านจะกลวง มีรากยาวยึดติดกับวัสดุเพาะ

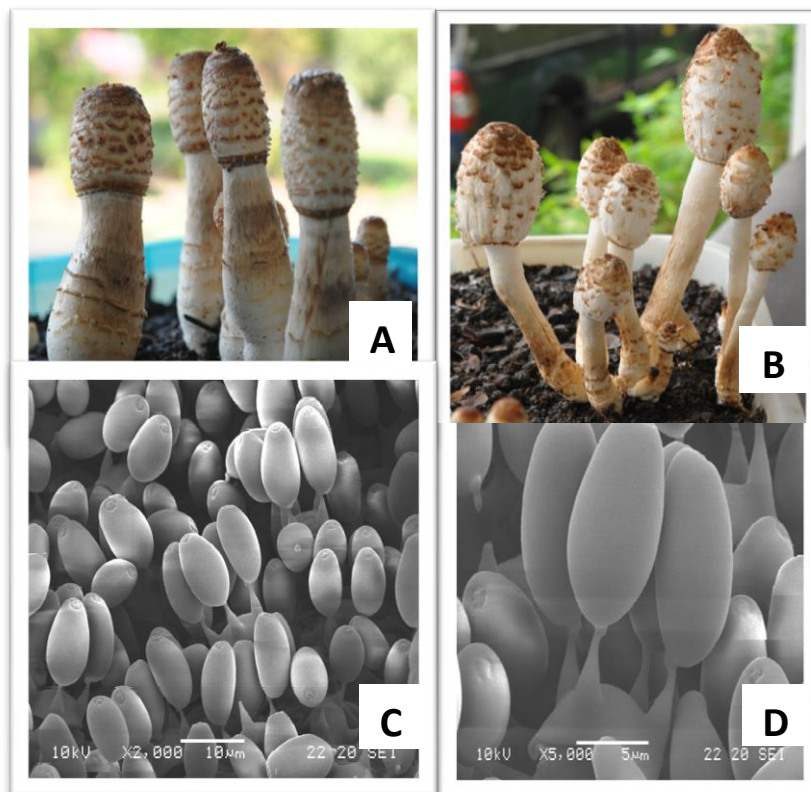
Comatus ๓ หมวกดอก มีสีขาวย ถึงขาวครีม มีขนาดความกว้าง ๒.๕-๔.๕ ซม. สูง ๓ - ๔.๕ ซม. ด้านบนของผิวหมวกเห็ดมีขนเล็กๆ เป็นเกล็ดสีน้ำตาลอ่อนถึงเทา คลุมผิวบน เมื่อแก่หมวกเห็ดจะสลายกลายเป็นหมึกสีดำ **ครีบบดอก** ไม่ยึดติดกับก้าน ครีบบมีสีขาวยเมื่อยังอ่อน ต่อมาสีเข้มขึ้นจนกลายเป็นสีดำเมื่อแก่ ครีบบดอกมีลักษณะบางและเรียงกันแบบชิดมาก **ก้านดอก** มีลักษณะเรียวยาวเป็นทรงประบอก เชื่อมกับหมวกดอกตรงกลางหมวก มีสีขาวนวล เนื้อ

Comatus ๕ หมวกดอก มีสีขาวย ถึงขาวครีม มีขนาดความกว้าง ๒.๕-๔.๒ ซม. สูง ๓- ๕.๕ ซม. ด้านบนของผิวหมวกเห็ดมีขนเล็กๆ เป็นเกล็ดสีน้ำตาลอ่อนถึงเทา คลุมผิวบน เมื่อแก่หมวกเห็ดจะสลายกลายเป็นหมึกสีดำ **ครีบบดอก** ไม่ยึดติดกับก้าน ครีบบมีสีขาวยเมื่อยังอ่อน ต่อมาสีเข้มขึ้นจนกลายเป็นสีดำเมื่อแก่ ครีบบดอกมีลักษณะบางและเรียงกันแบบชิดมาก **ก้านดอก** มีลักษณะเรียวยาวเป็นทรงประบอก เชื่อมกับหมวกดอกตรงกลางหมวก มีสีขาวนวล เนื้อแน่นเมื่อยังอ่อน แต่เมื่อแก่ภายในก้านจะกลวง ส่วนโคนโป่งบวมมีลักษณะเป็นกระเปาะ

ข) ลักษณะทางจุลทรรศน์วิทยา

Basidiospore มีขนาด ๑๐.๘๐ - ๑๓.๕ x ๘.๗ - ๑๐.๐ ไมครอน รูปร่างคล้ายรูปไข่ ผนังหนา ผิวเรียบ มี germ pore ตรงกลาง ๑ รู มีสีน้ำตาล ถึงน้ำตาลดำ (รูปที่ ๓C)

Basidia มีขนาด ๑๕.๕-๓๐.๐x๑๐.๐-๑๒.๕ ไมครอน ลักษณะคล้ายกระบอง มี ๔ sterigma ไม่มี basal clamp (รูปที่ ๓D)



ภาพที่ ๓ ลักษณะดอกเห็ดถั่วฝั่้งและจุลทรรศน์วิทยา

ก) ดอกเห็ด อายุ ๙ วัน ข) ดอกเห็ด อายุ ๑๔ วัน ค) เบสดีสปอร์ (๒๐๐๐x) ง) เบสดีเซีย (๕๐๐๐x)

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ผลจากการศึกษาชนิดอาหาร อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดถั่วฝรั่งทั้ง ๓ สายพันธุ์ พบว่า เชื้อเห็ดเจริญได้ดีที่สุดบนอาหาร PGPA รองลงมาคือ PDPYA PDA CMA MEA และ GPA ตามลำดับ และที่อุณหภูมิ ๒๕°C พบว่าเส้นใยเห็ดทุกสายพันธุ์ เจริญได้ดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รองลงมาคือ ๒๐°C และ ๓๐°C ตามลำดับ

ได้ศึกษาหาเทคโนโลยีเพาะเห็ดถั่วฝรั่ง เริ่มจากศึกษาการผลิตเชื้อขยายในอาหาร ๕ สูตร พบว่า เชื้อเห็ดเจริญได้ดีที่สุดบนอาหารสูตรที่ประกอบด้วยข้าวฟ่างต้ม : CaCO_3 : น้ำตาล อัตราส่วน ๙๒ : ๔ : ๔ โดยน้ำหนัก ศึกษาเกิดดอกเห็ดด้วยการเพาะในระบบตะกร้าพลาสติก ใช้วัสดุหมักที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ ๗ ชนิดคือ ฟางข้าว : รำข้าว : ยูเรีย : แอมโมเนียมซัลเฟต : ปูนขาว : ยิปซั่ม และทริปเปิ้ลซูเปอร์ฟอสเฟต พบว่าเชื้อเห็ดทั้ง ๓ สายพันธุ์ เจริญได้ดีไม่แตกต่างทางสถิติ จากนั้นกระตุ้นให้เกิดดอกโดยการคลุมผิวหน้า ด้วยดินผสม ระหว่างเดือนมีนาคม – พฤศจิกายน ๒๕๕๔ (๒๘-๓๖°C) ไม่พบการสร้างตุ่มดอกเห็ดทั้ง ๓ สายพันธุ์ เมื่อทดลองซ้ำในเดือน ธันวาคม – มกราคม ๒๕๕๕ (๒๖-๓๒°C) ด้วยวิธีการกระตุ้นให้เกิดดอกในโรงเรือนไม่ควบคุมอุณหภูมิพบว่าเห็ดมีการสร้างตุ่มดอก เท่านั้น ส่วนการกระตุ้นในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 18-๒๐°C พบว่าเห็ด Comatus๓ และ Comatus๕ ออกดอกได้ และ Comatus๓ ให้ผลผลิตสูงสุด ๒,๕๕๗.๑๐ กรัมต่อตะกร้า การทดลองจะได้ดำเนินการสู่เชิงพาณิชย์ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

วสันต์ เพชรรัตน์. ๒๕๔๐. การเพาะเห็ดป่า IX : เห็ดถั่ว (*Coprinus fimentarius.Fr.*) วารสารสงขลา

นครินทร์ วทท. ๑๙ (๑) : ๑๓ - ๒๒.

Cochrane. V. H. ๑๙๕๘. Physiology of Fungi. Toppan company; Ltd., Tokyo. Japan.

Dijkstra, F. I. J. ๑๙๗๖. Submerged cultures of mushroom mycelium as sources of protein and flavor compounds. [Online]. Available from : [http://](http://www.Fransdijkstra.nl/diss/dis_sum.htm)

www.Fransdijkstra.nl/diss/dis_sum.htm.

Giffin, D. H. ๑๙๙๔. Fungal physiology. ๒nd ed. New York, Wiley-Liss.

Gu. Y. H. and J. Leonard. ๒๐๐๖. *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.* ๑๕(๒):๔๑๗-๒๓.

Mueller, J. C.; J. R. Gawley, and W. A. Hayes, ๑๙๘๕. Cultivation of the shaggy mane mushroom (*Coprinus comatus*) on cellulosic residues from pulp mills. *Mushroom Newsletter for the Tropics.* ๖ (๑):๑๕-๒๐.

Stamets, P. ๑๙๙๓. *Growing Gourmet and Medicinal Mushroom.* Ten Speed Press. Berkeley. ๕๕๒ p.

Stamets, P. and J. S. Chilton. ๑๙๘๓. *The mushroom Cultivator: A Practical Guide to Growing Mushroom at home.* Agarikon Press, Washington. ๔๑๕ p.

Volk, T. ๒๐๐๔. Tom Volk's Fungus of the Month for May ๒๐๐๔: *Coprinus comatus*, shaggy mane.

[Online]. Available from : <http://www.TomVolkFungi.net>

Zhu, J. B. ๑๙๙๘. The cultivation techniques of *Coprinus comatus* on Shangai Nan-Hui County. *Edible Fungi.* ๓:๓๒.