วารสารผลิตกรรมการเกษตร
JOURNAL OF AGRICULTURAL PRODUCTION

ผลของการเตรียมหัวเชื้อและวัสดุเพาะที่มีต่อผลผลิตของเห็ดนางรมฮังการี

Effect of Spawn Preparation and Pretreatments of Substrate on Yield of Hungarian Oyster Mushroom

ธัญญา ทะพิงค์แก[1*] นริศรา วิชิต[1] และ วรรณพร ทะพิงค์แก[2]
Tanya Tapingkae[1*] Narissara Wichit[1] and Wanaporn Tapingkae[2]

[1] คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50180
[1] Faculty of Agricultural Technology, Chiang Mai Rajabhat University, Chiang Mai 50180
[2] คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200
[2] Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200
* Corresponding author: tanya_tap@cmru.ac.th

(Received: 22 April 2022; Revised: 15 November 2022; Accepted; 27 December 2022)

Abstract

The research attempted to develop a simple technique for growing bagged mushrooms. The traditional methodology was compared to the modified methods for making Hungarian oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus*) mother spawn. The results showed that culture from the modified method cultured fresh mushroom tissue on sorghum disinfected with hydrogen peroxide (H_2O_2) mycelial took a longer period to complete invasion than the traditional method. However, after 14 days of cultivation, mycelial density was found to be higher. This method was chosen as the mother spawn in the next experiment. The experiment was conducted using rice straw as the main substrate and provided different substrate preparation method, i.e. steaming, boiling, soaking in different water, H_2O_2 solution, and gypsum solution. The results showed that boiling rice straw results in the time to flowering (26 days) and the mushrooms yield (385 g.) was statistically significantly lower than other methods. This was consistent with the results of the analysis of the nutrient value of rice straw. Soaking rice straw in plain water had the highest statistically significant percentage of contamination.

Keywords: Mushroom cultivation, simple technique, hydrogen peroxide, gypsum

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาเทคนิคการเพาะเห็ดถุงอย่างง่าย โดยทำการเปรียบเทียบวิธีการเตรียมเชื้อเห็ดแบบดั้งเดิม และดัดแปลง จากผลการทดลองพบว่า เชื้อเห็ดจากวิธีดัดแปลงที่เพาะเนื้อเยื่อจากดอกเห็ดสดบนข้าวฟ่างที่ฆ่าเชื้อด้วยไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, H_2O_2) ใช้เวลาที่เส้นใยเดินเต็มเมล็ดข้าวฟ่างมากกว่าวิธีการแบบดั้งเดิม แต่มีความหนาแน่นของเส้นใยมากกว่า จึงใช้เป็นเชื้อเห็ดในการทดลองต่อไป การทดลองเปรียบเทียบวิธีการเตรียมวัสดุเพาะ (ฟางข้าว) ด้วยการนึ่ง การต้ม การแช่น้ำ การแช่สารละลาย H_2O_2 และการแช่สารละลายยิปซัม ผลการศึกษาพบว่าการต้มฟางข้าวใช้ระยะเวลาออกดอกนาน (26 วัน) และผลผลิตของเห็ดต่ำกว่าวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

(385 กรัม) ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนะของฟางข้าวที่ผ่านการต้มมีคุณค่าทางโภชนะต่ำกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ การแช่ฟางข้าวในน้ำเปล่ามีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
คำสำคัญ: การเพาะเห็ด เทคนิคอย่างง่าย ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ ยิปซัม

คำนำ

การเพาะเห็ดให้ประสบความสำเร็จมีปัจจัยหลายประการที่เกี่ยวข้อง เช่น หัวเชื้อเห็ด วัสดุเพาะ และสภาพแวดล้อมมีความสำคัญอย่างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการเพาะเห็ดถุง เกษตรกรไม่นิยมทำหัวเชื้อเห็ดเอง แต่ซื้อจากแหล่งต่าง ๆ เนื่องจากไม่มีอุปกรณ์ในการทำหัวเชื้อ และนิยมใช้วัสดุเพาะเป็นขี้เลื่อยไม้ยางพาราผสมกับอาหารเสริม ทำการฆ่าเชื้อด้วยการนึ่ง ทำให้เสียเวลา และเสียค่าใช้จ่ายสูง เนื่องจากขี้เลื่อยมีราคาแพงและหาซื้อได้ยาก จึงมีการใช้วัสดุที่มีในท้องถิ่นมาใช้แทน เช่น ฟางข้าว ตอซังข้าว ลำต้นและเปลือกข้าวโพด เป็นต้น การเพาะเห็ดนางรมจากฟางข้าวนั้นต้องมีการเตรียมฟางให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด และลดการปนเปื้อนจากเชื้อแปลกปลอม การใช้ความร้อนโดยการต้มหรือนึ่งวัสดุเพาะเป็นวิธีที่นิยมใช้ในเชิงพาณิชย์ แต่ไม่สะดวกต่อการปฏิบัติและมีราคาแพง อุปกรณ์ที่ใช้ทำความร้อนมีราคาสูง อีกทั้งยังก่อให้เกิดมลพิษทางอากาศ และอาจเกิดอุบัติเหตุได้หากประมาท การเตรียมวัสดุเพาะด้วยความร้อนจะฆ่าทั้งสิ่งมีชีวิตที่เป็นประโยชน์และที่เป็นอันตราย (Ficior *et al*., 2006) การเตรียมวัสดุเพาะแบบอื่นจึงเป็นทางเลือกที่ควรพิจารณา เช่น การใช้สารเคมี การใช้รังสี และการใช้สารเสริมการเจริญเติบโต เป็นต้น

การเตรียมวัสดุเพาะด้วยสารเคมีสามารถทำได้ง่าย เหมาะกับฟางจำนวนมาก มีราคาไม่แพง เนื่องจากไม่ต้องใช้เครื่องจักร ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, H_2O_2) สามารถใช้ในการเตรียมวัสดุเพาะเห็ด จากการศึกษาของ Saritha and Pandey (2010) แสดงการทดสอบการฆ่าเชื้อฟางข้าวที่ใช้เพาะเห็ดนางรมสีขาว (*Pleurotus ostreatus*) ด้วยไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ที่ความเข้มข้น 1.5-8.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่าการแช่ฟางด้วย H_2O_2 ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ มีการปนเปื้อนเกิดขึ้น 100 เปอร์เซ็นต์ และการปนเปื้อนลดลงเหลือ 26.66 เปอร์เซ็นต์ เมื่อแช่ฟางที่ความเข้มข้น 8.0 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้ผลผลิตเห็ดได้ปริมาณเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ H_2O_2 ขณะที่ ธัญญา (2561) แสดงการเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้ข้าวที่เตรียมด้วยการทำให้สุกด้วย H_2O_2 ที่ความเข้มข้น 0.15-0.45 เปอร์เซ็นต์ พบว่า เห็ดสามารถเจริญเติบโตได้ดี พรวิภา และคณะ (2556) ทำการเลี้ยงเชื้อเห็ดนางรมฮังการีในวัสดุธรรมชาติ พบว่า เชื้อเห็ดเจริญครอบคลุมผักตบชวา และต้นกล้วยที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วย H_2O_2 0.5 เปอร์เซ็นต์ ใช้เวลา 7 วัน ส่วนการใช้ฟางข้าว และขี้เลื่อยไม้ยางพาราใช้เวลา 14 วัน โดยไม่พบการปนเปื้อนจากเชื้อราชนิดอื่น ๆ หญ้าขนและแกลบที่พบการปนเปื้อนมากมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเท่ากับ 90-100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการเตรียมฟางโดยการใส่สารเสริมการเจริญเติบโตช่วยเร่งให้เส้นใยเห็ดเดินได้เร็ว ยิปซัม (gypsum, $CaSO_4 \cdot 2H_2O$) เป็นสารเสริมการเจริญเติบโตจำพวกแร่ธาตุที่ถูกใช้ประโยชน์ด้านการเพาะเห็ด ในยิปซัมมีแคลเซียมและกำมะถันซึ่งเป็นธาตุอาหารเสริมที่สำคัญ ยิปซัมช่วยลดการสูญเสียไนโตรเจนและปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง การเพาะเห็ดในต่างประเทศจะใส่ยิปซัม 1.0-1.5 กิโลกรัมต่อปุ๋ยหมัก 100 กิโลกรัม (Gerrits, 1977) ส่วนในประเทศไทยในการเพาะเห็ดถุงนิยมใส่ยิปซัม 2.0-2.5 กิโลกรัมต่อวัสดุเพาะเห็ด 100 กิโลกรัม ยิปซัมเป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด ช่วยให้ดอกเห็ดมีน้ำหนักและคุณภาพดี (Tesfaw *et al*., 2015)

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเทคนิคการเพาะเห็ดถุงอย่างง่าย ทั้งการทำเชื้อเห็ดและการเตรียมวัสดุเพาะให้พร้อมก่อนทำการเพาะเห็ด การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของฟางข้าวที่ผ่านการเตรียมด้วยวิธีการต่าง ๆ และผลของวัสดุเพาะต่อผลผลิตของเห็ดนางรมฮังการี

อุปกรณ์และวิธีการ

ขั้นตอนการใส่เมล็ดข้าวฟ่างที่ฆ่าเชื้อแล้วลงในจานแก้ว ตลอดจนการใส่เชื้อบริสุทธิ์หรือชิ้นเนื้อเยื่อจากภายในก้านดอกเห็ดสดลงบนเมล็ดข้าวฟ่าง ทำทุกขั้นตอนโดยใช้เทคนิคปลอดเชื้อ (aseptic technique) ภายในห้องที่สะอาด ปิดสนิท ไม่มีลมพัดผ่าน และมีการฉีดพ่นรอบห้องด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่ใช้ตู้เขี่ยเชื้อ

การศึกษานี้ได้ดำเนินการทดสอบวิธีการเตรียมหัวเชื้อต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมฮังการีและวิธีการเตรียมวัสดุเพาะต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของเห็ดนางรมฮังการี

การทดลองที่ 1 การเตรียมหัวเชื้อต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมฮังการี

เตรียมเชื้อเห็ดบริสุทธิ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อพีดีเอดัดแปลง (มันฝรั่ง 200 กรัมต่อลิตร น้ำตาลทรายแดง 20 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น 15 กรัมต่อลิตร) ทำโดยการเขี่ยเนื้อเยื่อจากภายในก้านดอกเห็ดนางรมฮังการีที่สมบูรณ์แข็งแรง ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เก็บบ่มเชื้อที่มืดที่อุณหภูมิห้อง 20 วัน ใช้ที่เจาะ (cork borer) เส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร ตัดปลายเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีเพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อเห็ดบริสุทธิ์ โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) เปรียบเทียบวิธีการในการเตรียมเชื้อเห็ดแบบดั้งเดิมเปรียบเทียบกับวิธีดัดแปลงรวม 4 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 4 จาน คือ กรรมวิธีแบบดั้งเดิม เชื้อบริสุทธิ์เพาะบนเมล็ดข้าวฟ่างที่ฆ่าเชื้อด้วยการนึ่ง กรรมวิธีที่ 2 เชื้อบริสุทธิ์เพาะบนเมล็ดข้าวฟ่างที่ฆ่าเชื้อด้วย H_2O_2 กรรมวิธีที่ 3 เชื้อเห็ดสดเพาะบนเมล็ดข้าวฟ่างที่ฆ่าเชื้อด้วยการนึ่ง กรรมวิธีที่ 4 เชื้อเห็ดสดเพาะบนเมล็ดข้าวฟ่างที่ฆ่าเชื้อด้วย H_2O_2

อาหารเพาะเลี้ยงที่ฆ่าเชื้อด้วยการนึ่ง เตรียมโดยนำเมล็ดข้าวฟ่างปริมาตร 1 กิโลกรัม แช่น้ำ 1 คืน (ประมาณ 12 ชั่วโมง) จากนั้นล้างด้วยน้ำสะอาด 2-3 ครั้ง คัดเลือกเมล็ดที่ไม่มีคุณภาพทิ้ง (เมล็ดที่ลอยน้ำ) แล้วนำไปต้มจนเมล็ดปริเล็กน้อย แล้วนำเมล็ดมาผึ่งให้สะเด็ดน้ำ กรอกใส่ขวดแก้ว นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วเทลงในจานแก้ว เมื่อเมล็ดข้าวฟ่างเย็นแล้วจึงใส่เชื้อเห็ด ขณะที่การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงที่ฆ่าเชื้อด้วย H_2O_2 เตรียมโดยนำเมล็ดข้าวฟ่าง 1 กิโลกรัม มาแช่น้ำ 1 คืน จากนั้นล้างด้วยน้ำสะอาด 2-3 ครั้ง คัดเมล็ดที่ลอยน้ำทิ้ง แล้วใส่ในหม้อหุงข้าวไฟฟ้า เติมสารละลาย H_2O_2 0.15 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับน้ำส้มสายชู 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 15 มิลลิลิตรต่อลิตร และวิตามินบี 1 ปริมาตร 200 มิลลิกรัม/ลิตร) หุงเมล็ดข้าวฟ่างโดยใช้เวลาประมาณ 20 นาที เมื่อเมล็ดข้าวฟ่างสุกแล้วตักใส่จานแก้ว รอให้เย็นแล้วจึงใส่เชื้อเห็ด (ธัญญา, 2553) บ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิห้อง บันทึกระยะเวลาที่เส้นใยเจริญเต็มผิวหน้าวัสดุเพาะ (วัน) ความหนาแน่นของเส้นใย และการปนเปื้อน (%)

การทดลองที่ 2 ผลของวิธีการเตรียมวัสดุเพาะต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของเห็ดนางรมฮังการี

ทำการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนะของฟางข้าวที่ผ่านกรรมวิธีการเตรียมด้วยการนึ่ง การต้ม การแช่น้ำ การแช่สารละลาย H_2O_2 และการแช่สารละลายยิปซัม ทำโดยนำฟางข้าวที่ใช้ในงานทดลองมาตัดเป็นชิ้นเล็กยาวประมาณ 5 เซนติเมตร ล้างน้ำสะอาด 1 รอบ ก่อนใช้งาน ดังนี้ (1) การนึ่ง ทำการแช่ฟางข้าวในน้ำสะอาด 1 คืน แล้วนำไปนึ่งที่ 80-100 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง นับจากเห็นไอน้ำ (2) การต้ม แช่ฟางข้าวในน้ำสะอาด 1 คืน แล้วต้มด้วยน้ำต้มเดือด 15 นาที (3) การแช่น้ำ แช่ฟางข้าวในน้ำ 1 คืน (4) การแช่สารละลาย H_2O_2 ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ 1 คืน (5) การแช่สารละลายยิปซัม แช่ฟางข้าวในน้ำผสมยิปซัมในอัตราน้ำ 100 ลิตร ต่อยิปซัม 2.5 กิโลกรัม 1 คืน โดยทำการส่งตัวอย่างวิเคราะห์ที่บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด และห้องปฏิบัติการโภชนศาสตร์สัตว์ ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยเปรียบเทียบวิธีการเตรียมวัสดุเพาะเห็ด 5 วิธี 4 ซ้ำ ซ้ำละ 4 ก้อน ได้แก่ การนึ่ง การต้ม การแช่น้ำ การแช่สารละลาย H_2O_2 และการแช่สารละลายยิปซัม หลังจากผ่านการเตรียมแล้ว นำฟางข้าวมาผึ่งประมาณ 3-4 ชั่วโมง ให้พอหมาด แล้วนำไปอัดใส่ถุงพลาสติกใสขนาด 16×26 นิ้ว ใส่ฟางสลับกับเชื้อเห็ด 3 ชั้น แล้วปิดฟางทับด้านบน มัดปากถุงให้แน่น เจาะรูระบายอากาศ แล้วนำไปบ่มในที่มืด รักษาความชื้นภายในโรงเรือนให้สม่ำเสมอ เมื่อเชื้อเห็ดเจริญเต็มถุงทำการกรีดถุงเป็นรูปบานประตู ขนาด 1 นิ้ว รอบก้อนเห็ดประมาณ 4 จุด เพื่อให้ดอกเห็ดแทงออกมา เริ่มให้น้ำเมื่อเห็นปุ่มดอก ฉีดพ่นน้ำเป็นฝอย 2 ครั้ง เช้า-เย็น ทำการเก็บผลผลิต 2 รอบ บันทึกระยะเวลาที่เส้นใยเดินเต็มถุง (วัน) ระยะเวลาที่เกิดตุ่มดอก (วัน) น้ำหนักดอกเห็ดสด (กรัมต่อถุง) ประสิทธิภาพการผลิต (biological efficiency, % B.E.) และเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน (%)

$$\%B.E. = \frac{\text{น้ำหนักสดดอกเห็ด (กรัม)}}{\text{น้ำหนักแห้งก้อนเชื้อ (กรัม)}} \times 100$$

การทดลองที่ 1 และ 2 ทำวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) SPSS Statistics 17.0 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan multiple range test (DMRT)

ผลการวิจัยและวิจารณ์

การทดลองที่ 1 ผลของวิธีการเตรียมหัวเชื้อต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมฮังการี

การเตรียมเชื้อเห็ดแบบดั้งเดิม (เชื้อบริสุทธิ์เพาะบนเมล็ดข้าวฟ่างที่ฆ่าเชื้อด้วยการนึ่ง) และกรรมวิธีใช้เชื้อสดเพาะบนเมล็ดข้าวฟ่างที่ฆ่าเชื้อด้วยการนึ่ง (กรรมวิธีที่ 3) ใช้ระยะเวลาที่เส้นใยเดินเต็มผิวหน้าวัสดุเพาะสั้นที่สุดอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ คือ 10 วัน รองลงมาได้แก่กรรมวิธีที่ 2 คือ 11 วัน ส่วนกรรมวิธีที่ 4 เส้นใยเห็ดใช้ระยะเวลานานที่สุดอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ คือ 13 วัน แต่เมื่อดูความหนาแน่นของเส้นใยเมื่อเลี้ยงเชื้อเห็ด 14 วัน พบว่าวิธีการดั้งเดิม และดัดแปลงแบบที่ 2 มีลักษณะเส้นใยหนาแน่นน้อย ในขณะที่วิธีดัดแปลงแบบที่ 1 และแบบที่ 3 เส้นใยเจริญหนาแน่นมาก ตรวจไม่พบการปนเปื้อนจากเชื้อแปลกปลอมในงานทดลองนี้ (Table 1)

Table 1 Growth of *Pleurotus ostreatus* mycelial cultured and percent contamination in different methods of mother spawn preparation

Method	Mycelial complete invasion (days)	Mycelial density for 14 days	Contamination (%)
Traditional method	10.00 c	+	0.00
Method 2	11.00 b	+++	0.00
Method 3	10.00 c	+	0.00
Method 4	13.00 a	+++	0.00
F-test	**		ns
CV (%)	3.71		0.00

Remarks: +++ Very good mycelial growth, ++ good mycelial growth, + poor mycelial growth
ns = non significant difference, ** = significant different at probability level 0.01

+ ++ +++

Figure 1 Density of mycelial grown on medium

ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์เมื่อผสมกับน้ำส้มสายชู (acetic acid, CH_3COOH) จะได้เป็นกรดเพอร์ออกซีแอซีติก (peroxyacetic acid, CH_3COOOH) หรือกรดเพอร์อะซิติก (peracetic acid) มีคุณสมบัติเป็นสารออกซิไดซ์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ มีการใช้อย่างแพร่หลายเพื่อลดการปนเปื้อนในอุตสาหกรรมอาหารต่าง ๆ เช่น การผลิตนม เนื้อ ผัก ผลไม้ และเครื่องดื่ม โดยสามารถทำลายสปอร์ของเชลล์ยีสต์ และแบคทีเรียได้ โดยไม่ทำให้กลิ่นและรสชาติของเครื่องดื่มเปลี่ยนไป (Alasri *et al*., 1993) เนื่องจากเป็นสารฆ่าเชื้อจึงทำให้เชื้อเห็ดต้องใช้เวลาในการปรับตัวเข้ากับอาหารเพาะเลี้ยง จึงใช้ระยะเวลานานกว่าการใช้อาหารที่นึ่งอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อปรับตัวได้แล้วจึงเจริญได้ดีเห็นได้จากการที่เชื้อเห็ดที่เพาะด้วยอาหารที่ฆ่าเชื้อด้วย H_2O_2 มีความหนาแน่นของเส้นใยมากกว่าที่เพาะด้วยอาหารที่ฆ่าเชื้อด้วยการนึ่ง และอาจเป็นเพราะวิตามินบี 1 หรือไทอามีน (thiamine-HCl) ในอาหารที่ฆ่าเชื้อด้วย H_2O_2 ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด สอดคล้องกับ Adenipekun and Gbolagade (2006) ที่พบว่า วิตามินบี 1 เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางรมสีขาว (*Pleurotus florida*) มากที่สุด รองลงมาคือ วิตามินบี 6 (pyridoxine) ส่วนวิตามินบี 12 (cobalamine) ส่งผลให้การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดต่ำที่สุด Manjunathan and Kaviyarasan (2010) ที่ทำการทดลองเพาะกับเห็ด *Lentinus tuberregium* (Fr.) ในอาหารเหลว พบว่า วิตามินบี 1 ให้ผลดีต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดมากที่สุด รองลงมาได้แก่ วิตามินบี 7 และวิตามินอี (tocopherol)

เส้นใยเห็ดสามารถเจริญได้บนอาหารที่ฆ่าเชื้อด้วย H_2O_2 และไม่เกิดการปนเปื้อนจากเชื้อแปลกปลอม สอดคล้องกับงานทดลองของ Wayne (2001) ที่รายงานว่าระดับความเข้มข้นของ H_2O_2 ที่เหมาะสมสามารถหยุดการงอกของสปอร์ของเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย แต่เส้นใยเห็ดสามารถเจริญได้ จากการทดลองเมื่อเทียบระยะเวลาที่ใช้ในการผลิตเชื้อเห็ดโดยรวมจะเห็นได้ว่า การเพาะเชื้อเห็ดสดบนเมล็ดข้าวฟ่างที่ฆ่าเชื้อด้วย H_2O_2 เป็นวิธีการที่ใช้เวลาน้อยกว่าวิธีอื่น เนื่องจากเมื่อรวมระยะเวลาในขั้นตอนการผลิตเชื้อบริสุทธิ์ซึ่งต้องเตรียมอาหารเพาะเชื้อบริสุทธิ์ พีดีเอ เขี่ยเชื้อ และต้องบ่มเชื้อให้เส้นใยเห็ดเจริญเต็มอาหารก่อนนำมาใช้งานได้ ใช้เวลาประมาณ 15-20 วัน ดังนั้นจึงเลือกวิธีการเพาะเชื้อเห็ดสดบนเมล็ดข้าวฟ่างที่ฆ่าเชื้อด้วย H_2O_2 เป็นวิธีการเตรียมเชื้อเห็ดสำหรับใช้ในงานทดลองที่ 3

การทดลองที่ 2 ผลของวิธีการเตรียมวัสดุเพาะต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของเห็ดนางรมฮังการี

การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนะของฟางข้าวก่อนนำไปเพาะเห็ดแสดงใน Table 2 การต้มส่งผลให้ฟางข้าวมีปริมาณเถ้า พลังงาน คาร์โบไฮเดรต เยื่อใย ไขมัน เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ต่ำกว่าฟางข้าวที่ผ่านวิธีการเตรียมฟางข้าวแบบอื่น ๆ ซึ่งคาดว่าเกิดจากการสูญเสียสารอาหารระหว่างการต้ม น้ำที่ใช้ต้มฟางมีน้ำตาลออกดำซึ่งอาจมีสารอาหารที่ละลายในนั้นจำนวนมาก Mejía and Albertó (2013) ได้ทำการวิเคราะห์น้ำทิ้งจากการต้มวัสดุเพาะ พบว่าในน้ำทิ้งมีน้ำตาลกลูโคส โปรตีน และธาตุอาหารหลายตัว นอกจากนี้ Houdeau *et al*. (1991) รายงานว่า การสูญเสียสารอาหารจากการต้มขึ้นอยู่กับชนิดของวัสดุเพาะ วัสดุมีอายุการเก็บรักษาไว้นานจะมีสูญเสียสารอาหารตอนต้มมากกว่าวัสดุใหม่

Table 2 Nutrition content of rice straw after pretreatments with different methods

	Test item	Steaming	Boiling	soaking in water	soaking in H_2O_2	soaking in gypsum
1	Ash (g/100g)	3.76	3.02	4.76	4.53	7.73
2	Calories (kcal/100g)	98.03	74.80	117.81	123.18	85.61
3	Carbohydrate (g/100g)	21.30	16.17	25.54	27.37	19.45
4	Crude fiber (g/100g)	8.33	6.69	9.54	10.73	7.00
5	Fat (g/100g)	0.47	0.32	0.65	0.62	0.33
6	Moisture (g/100g)	72.32	78.68	66.60	65.45	71.28
7	Protein (g/100g)	2.15	1.81	2.45	2.03	1.21
8	Total nitrogen (g/100g)	0.34	0.29	0.39	0.32	0.19
9	C/N	40:1	40:1	41:1	53:1	59:1
10	Total organic carbon (%)	13.79	11.67	16.04	16.91	11.14
11	Cellulose (%)	16.59	12.40	17.70	13.13	14.33
12	Hemicellulose (%)	10.08	8.32	13.15	10.04	12.11
13	Lignin (%)	2.50	1.92	3.08	2.93	3.92

Remarks: 1-10 were reported by Central Laboratory (Thailand) Co. Ltd.
11-13 were reported by Faculty of Agriculture, Chiang Mai University

เมื่อนำฟางข้าวที่ผ่านการเตรียมด้วยวิธีต่างกันมาเพาะเชื้อเห็ดนางรมฮังการี พบว่า ฟางข้าวที่ผ่านการนึ่ง การต้ม การแช่น้ำ การแช่ H_2O_2 และการแช่ยิปซัม ใช้ระยะเวลาที่เส้นใยเห็ดเจริญเต็มถุงไม่แตกต่างกันทางสถิติ คือ 9 วัน ในขณะที่ระยะเวลาที่เกิดตุ่มดอกนับจากวันที่ใส่เชื้อเห็ดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ การนึ่ง การแช่น้ำ การแช่ H_2O_2 และการแช่ยิปซัม ใช้ระยะเวลาในการเกิดตุ่มดอก 12.25 วัน 13.50 วัน 12.25 วัน และ 11.25 วัน ตามลำดับ ซึ่งใช้ระยะเวลาที่เกิดตุ่มดอกเห็ดสั้นกว่าการเพาะเห็ดด้วยฟางข้าวที่ผ่านการต้มที่ใช้เวลา 17.00 วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงใน Table 3

การเพาะเห็ดด้วยฟางข้าวที่ผ่านการต้มให้น้ำหนักดอกเห็ดสด 385.00 กรัมต่อถุง ซึ่งน้อยกว่าการเพาะด้วยฟางข้าวที่เตรียมด้วยวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเชื้อเห็ดเมื่อเพาะด้วยฟางข้าวที่ผ่านการนึ่ง การแช่น้ำ การแช่ H_2O_2 และการแช่ยิปซัม ให้ผลผลิตน้ำหนักดอกเห็ดสด 571.25 กรัมต่อถุง 551.25 กรัมต่อถุง 588.75 กรัมต่อถุง และ 581.25 กรัมต่อถุง ตามลำดับ ประสิทธิภาพการผลิตเห็ดนั้นให้ผลแนวเดียวกันกับน้ำหนักดอกเห็ดสด (Table 3)

การเพาะเห็ดด้วยฟางที่ผ่านการนึ่งไม่ตรวจพบการปนเปื้อนจากเชื้อแปลกปลอม เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าไม่แตกต่างจากการเพาะด้วยฟางข้าวที่ผ่านการเตรียมด้วยการต้ม (12.50 เปอร์เซ็นต์) การแช่ H_2O_2 (6.25 เปอร์เซ็นต์) และการแช่ยิปซัม (6.25 เปอร์เซ็นต์) ในขณะที่การเพาะเห็ดด้วยฟางที่แช่น้ำเปล่าข้ามคืนมีการปนเปื้อนสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ 31.25 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีการงอกของเมล็ดข้าวที่ติดมากับฟางข้าวในกลุ่มทดลองที่ไม่ได้ทำการเตรียมด้วยการใช้ความร้อน (การนึ่งและการต้ม) แต่อย่างไรก็ตาม เส้นใยเห็ดสามารถเดินเส้นใยครอบคลุมวัสดุเพาะและวัชพืชได้หมด ทำให้เห็ดสามารถเจริญเติบโตได้อย่างปกติ

Table 3 Effect of different substrate pre-treatments on spawn running time, pinheads formation, the average number of fruiting bodies, biological efficiency and contamination of *Pleurotus ostreatus*

Pretreatments Method	Day for completion of spawn running	Days for pinhead formation	Fresh yield (g.)	B.E. (%)	Contamination (%)
Steaming	9	12.25 b	571.25 a	57.13 a	0.00 b
Boiling	9	17.00 a	385.00 b	38.50 b	12.50 b
soaking in water	9	13.50 b	551.25 a	55.13 a	31.25 a
soaking in H_2O_2	9	12.25 b	588.75 a	58.88 a	6.25 b
soaking in gypsum	9	11.25 b	581.25 a	58.13 a	6.25 b
F-test	ns	*	*	*	*
CV (%)	0.00	15.98	16.14	16.14	103.44

Remarks: ns = non significant difference, * = significant different at probability level 0.05

การเตรียมฟางข้าวก่อนนำมาเพาะเห็ดมีผลต่อการออกดอก ผลผลิต และการปนเปื้อนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีผลต่อระยะเวลาที่เส้นใยเจริญเต็มถุงเพาะ ซึ่งอาจเป็นเพราะเชื้อเห็ดมีความแข็งแรงใช้อาหารจากเมล็ดข้าวฟ่างเลี้ยงอย่างตัวเองอย่างพอเพียงที่จะทำให้เส้นใยเจริญได้อย่างรวดเร็วในระยะ 9 วันแรกหลังจากใส่เชื้อเห็ด แต่หลังจากนั้นเมื่ออาหารในเมล็ดข้าวฟ่างหมดจึงต้องใช้อาหารจากฟางข้าวในการเจริญเติบโตต่อเพื่อพัฒนาให้เกิดตุ่มดอก ฟางข้าวที่ผ่านการเตรียมที่ต่างกันมีคุณค่าทางโภชนะต่างกัน (Table 2) จึงส่งผลต่อระยะเวลาที่เกิดตุ่มดอกของเห็ด น้ำหนักดอกเห็ดสด และประสิทธิภาพการผลิตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สอดคล้องกับ Mejía and Albertó (2013) ที่รายงานว่า การเพาะเห็ดนางรมด้วยฟางข้าวสาลีที่เตรียมด้วยการต้มส่งผลให้ผลผลิตลดลง 20 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับการเพาะด้วยฟางข้าวสาลีที่ผ่านการนึ่ง การแช่ carbendazim และฟางที่แช่น้ำธรรมดา

ปัญหาเกี่ยวกับการปนเปื้อนสามารถหลีกเลี่ยงได้โดยทำการเตรียมวัสดุเพาะฟางข้าวด้วยวิธีการนึ่ง การต้ม การแช่ H_2O_2 หรือการแช่ยิปซัม การแช่น้ำข้ามคืนก่อนนำฟางมาใช้เพาะเห็ดมีความเสี่ยงสูงที่จะเกิดการปนเปื้อนจากเชื้อแปลกปลอมได้สูง การปนเปื้อนส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อรา ซึ่งเป็นศัตรูเห็ดที่พบเจอบ่อยในการเพาะเห็ดถุง (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2558) การเตรียมฟางโดยใช้ความร้อนสามารถฆ่าแมลงศัตรูเห็ด ลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์และวัชพืชให้น้อยลง แต่สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในด้านเชื้อเพลิง และด้านแรงงาน ก่อให้เกิดมลพิษหมอกควัน อีกทั้งยังอาจเกิดอุบัติเหตุจากความร้อน ส่วนการฆ่าเชื้อด้วยสารเคมี คือ การแช่ H_2O_2 ช่วยลดการปนเปื้อนจากเชื้อแปลกปลอมในการเพาะเห็ดได้และทำได้สะดวก แต่ต้องระวังในคนที่ผิวบอบบางอาจเกิดอาการแพ้ได้ อีกทั้ง H_2O_2 ที่นำมาใช้มีความเข้มข้นสูง (50 เปอร์เซ็นต์) ที่จะนำมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ที่เหมาะสมสำหรับแช่ฟาง มีขายตามร้านขายอุปกรณ์วิทยาศาสตร์และสารเคมี (ถัง 30 กิโลกรัม ราคา 850 บาท) ในพื้นที่ห่างไกลอาจหาซื้อได้ลำบาก ส่วนยิปซัมนั้นให้ธาตุอาหารรอง คือ แคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถัน (Tesfaw *et al*., 2015) ทำให้เส้นใยเห็ดเจริญเติบโตได้เร็วแข็งแรง สามารถควบคุมพื้นที่ผิววัสดุเพาะได้เร็วกว่าเชื้ออื่น อีกทั้งหาซื้อได้สะดวกตามร้านวัสดุก่อสร้างหรือร้านจำหน่ายวัสดุการเกษตร ปลอดภัยในการปฏิบัติงาน และลดปัญหาสิ่งแวดล้อมจากกระบวนการผลิตเห็ด เหมาะสำหรับใช้ในการเรียนการสอนสำหรับครูเกษตร

สรุปผลการวิจัย

การผลิตเชื้อเห็ดนางรมฮังการีด้วยการเพาะเชื้อเห็ดสดบนเมล็ดข้าวฟ่างที่ฆ่าเชื้อด้วย H_2O_2 เป็นวิธีการที่ทำได้ง่ายและรวดเร็วกว่าวิธีการแบบดั้งเดิมเมื่อพิจารณาระยะเวลา

ที่ไม่ต้องรวมขั้นตอนการเตรียมเชื้อบริสุทธิ์ ส่วนฟางข้าวที่จะใช้เป็นวัสดุเพาะเห็ดนั้นต้องผ่านการเตรียมให้พร้อมก่อนนำมาใช้งาน การต้มฟางข้าวส่งผลให้ใช้เวลานานในการออกดอก และผลผลิตของเห็ดต่ำกว่าวิธีอื่น ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนะของฟางข้าวที่หลายรายการมีปริมาณน้อยกว่าวิธีการเตรียมฟางแบบอื่น ๆ การเตรียมฟางด้วยวิธีการนึ่ง การแช่ H_2O_2 และการแช่ยิปซัม ส่งผลดีต่อการเกิดดอกเห็ด น้ำหนักดอกเห็ดสด ประสิทธิภาพการผลิต และมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนจากเชื้อแปลกปลอมต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับการต้มซึ่งใช้ระยะเวลาการเกิดดอกเห็ดนานกว่า มีน้ำหนักดอกเห็ดสดและประสิทธิภาพการผลิตต่ำกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ และไม่ควรแช่ฟางข้าวในน้ำธรรมดา เพราะส่งผลให้เกิดการปนเปื้อนสูง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณกองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ที่สนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัย คณะเทคโนโลยีการเกษตรและศูนย์ความเป็นเลิศด้านกัญชาและเกษตรอินทรีย์นานาชาติที่อำนวยความสะดวกในด้านอุปกรณ์และสถานที่ ขอขอบคุณ นางสาววณิชยา สายเขื่อนสี นักศึกษาช่วยงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2558. การเพาะเห็ดเบื้องต้น. ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.

ธัญญา ทะพิงค์แก. 2553. การผลิตเชื้อเห็ดนางรมแบบง่าย. รายงานประชุมวิชาการเกษตร ครั้งที่ 11, มหาวิทยาลัยขอนแก่น 25-26 มกราคม. มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น. น. 361-364.

ธัญญา ทะพิงค์แก. 2561. การเพาะเห็ดถั่งเช่าเป็นอาชีพ. มิตรเกษตรการตลาดและโฆษณา, กรุงเทพฯ.

พรวิภา โสภณพัฒนะโภคา สมชาย สุขะกูล และประภาพร ตั้งกิจโชติ. 2556. ประสิทธิภาพของเชื้อปฏิปักษ์เห็ดนางรมฮังการี (*Pleurotus ostreatus*) ที่เลี้ยงในสภาพกึ่งปลอดเชื้อต่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*) ของมะเขือเทศ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 2(2): 64-72.

Adenipekun, C.O. and J.S. Gbolagade. 2006. Nutritional requirements of *Pleurotus florida* (Mont.) Singer, a Nigerian mushroom. Pakistan Journal of Nutrition 5(6): 597-600.

Alasri, A., M. Valverde, C. Roques, G. Michale, C. Cabassud and P. Aptel. 1993. Sporocidal properties of peracetic acid and hydrogen peroxide, alone and in combination with chlorine and formaldehyde for ultrafiltration membrane disinfection. Canadian Journal of Microbiology 39: 52-60.

Ficior, D., D. Indrea, A.S. Apahidean, M. Apahidean, R. Pop, Z. Moldovan, D. Maniutiu, R. Ganea and I. Paven. 2006. Importance of substrate disinfection on oyster mushroom (*Pleurotus* sp.) culture. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj Napoca 34: 48-53.

Gerrits, J.P.G. 1977. The significance of gypsum applied to mushroom compost, in particular in relation to the ammonia content. Neth. Thai Journal of Agricultural Science 25: 288-302.

Houdeau, G., J.M. Olivier, S. Libmond and H. Bawadikji. 1991. Improvement of *Pleurotus* cultivation. Mushrooms Science 13: 549-554.

Manjunathan, J. and V. Kaviyarasan. 2010. Studies on the growth requirements of *Lentinus tuberregium* (Fr.), an edible mushroom. Middle-East. Journal of Scientific Research in Science 5(2): 81-85.

Mejía, S.J. and E. Albertó. 2013. Heat treatment of wheat straw by immersion in hot water decreases mushroom yield in *Pleurotus ostreatus*. Revista Iberoamericana de Micología 30(2): 125-129.

Saritha, B. and M. Pandey. 2010. Evaluation of alternate substrate pasteurization techniques for culinary-medicinal white oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus* var. florida (Agaricomycetideae) cultivation. International Journal of Medicinal Mushrooms 12(3): 309-316.

Tesfaw, A., A. Tadess and G. Kiros. 2015. Optimum of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) cultivation using locally available substrates and material in Debre Berhan, Ethiopia. Journal of Applied Biology and Biotechnology 3(1): 15-20.

Wayne, R.R. 2001. Growing mushrooms the easy way home mushroom cultivation with hydrogen peroxide volume I. Available: http://jontrot.free.fr/champignons/culture-eau-oxygenee-Vols1-2new.pdf (May 20, 2010).