อิทธิพลของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการเจริญของสายใยและการเกิดปุ่มดอกของ เห็ดฟาง *Volvariella volvacea* เห็ดโคน *Termitomyces sp.* และ เห็ดลูกผสมที่เกิดจากการรวมโปรโตพลาสต์

นาย สราวุธ สมถวิล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ. ศ. 2538

ISBN 974 - 632 - 275 - 3

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

T1H699944

The Influence of Carbon dioxide on Growth and Fruiting Primodial Initiation of *Volvariella volvacea* , *Termitomyces sp.*, and their Fusants

Mr. Sarawut Somthawin

A Thesis Submitted in Partial Fulfilment of the Requirements
for the Degree of Master of Science
Program of Biotechnology
Graduate School
Chulalongkorn University

1995
ISBN 974 - 632 - 275 - 3

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์	อิทธิพลของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการเจริญของสายใยและการเกิดปุ่มดอกของเห็ดฟาง (*Volvariella volvacea*) เห็ดโคน (*Termitomyces sp.*) และเห็ดลูกผสมที่เกิดจากการรวมโปรโตพลาสต์
โดย	นาย สราวุธ สมถวิล
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. สุมาลี พิชญางกูร

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร. สันติ ถุงสุวรรณ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุมาลี พิชญางกูร)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. อรุณี จันทรสนิท)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. หรรษา ปุณณะพยัคฆ์)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

สุราวุธ สมสวัสดิ์ : อิทธิพลของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ต่อการเจริญของสายใย และการเกิดปุ่มดอกของเห็ดฟาง *Volvariella volvacea* เห็ดโคน *Termitomyces sp.* และเห็ดลูกผสมที่เกิดจากการรวมโปรโตพลาสต์ (THE INFLUENCE OF CARBON DIOXIDE ON GROWTH AND FRUITING PRIMODIAL INITIATION OF *Volvariella volvacea*, *Termitomyces sp.* AND THEIR FUSANTS) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร.สุมาลี พิชญางกูร, 77 หน้า. ISBN 974-632-275-3

การเจริญของสายใยเห็ดฟาง *(Volvariella volvacea;* V) เห็ดโคน *(Termitomyces sp.)* เห็ดโคนที่ได้จากการรีเจนเนอเรท T1, T3, T3A, T3B และเห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(4y)}$, $VT1_{(4yt)}$, $VT1_{(7)}$, $VT1_{(7t)}$ ที่เลี้ยงบนอาหารวุ้น PDA ในตู้ทดลองขนาด 25x50x25 ซ.ม. ในระบบที่ง เปิด-ปิดเป็นเวลา 6-8 วัน และระบบปิดเป็นเวลา 5-6 วันตามลำดับ เก็บแก๊สที่เกิดขึ้นในตู้ทดลองแต่ละวันไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ (Gas chromatograph) พบว่า CO_2 ที่เกิดขึ้นนี้ไม่มีผลยับยั้งต่อการเจริญของสายใยในแต่ละสายพันธุ์ในทั้ง 2 ระบบ และจะเห็นชัดในระบบปิด CO_2 จะส่งเสริมการเจริญของสายใยของเห็ดทุกสายพันธุ์

ในการหมักไส้นุ่นเวลา 4 วัน เพื่อใช้เป็นอาหารในการเลี้ยงเห็ด พบว่าอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่เหมาะสมประมาณ 16:1 ความชื้นประมาณ 70% เมื่อนำมาปลูกเห็ดฟาง เห็ดโคนสายพันธุ์ T1, T3, T3A, และเห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(4y)}$, $VT1_{(4yt)}$, $VT1_{(7)}$, $VT1_{(7t)}$ ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 32°ซ. เป็นเวลา 5 วัน จนสายใยเจริญเต็มถุงอาหาร แล้วนำเข้าเลี้ยงในตู้ทดลองที่แปรความเข้มข้นของ CO_2 เป็นช่วง 0.06-0.13, 0.2-0.5, 0.5-0.7, 0.7-0.8, 1.1-1.9 และตัวควบคุม 2-7% พบว่าเห็ดฟางมีการสร้างปุ่มดอกได้ดีทุกช่วงความเข้มข้นของ CO_2 ยกเว้นตัวควบคุมที่ไม่พบการสร้างปุ่มดอก และพบว่าที่เข้มข้นCO_2 0.7-0.8% เห็ดฟางมีการสร้างปุ่มดอกได้ดีที่สุด พบ 22 ปุ่มดอก และมี 12 ปุ่มดอกที่พัฒนาเป็นดอกเห็ดที่สมบูรณ์ ส่วนเห็ดโคนสายพันธุ์ T1 พบว่ามีการสร้างปุ่มดอกได้ดีที่สุดในช่วง CO_2 0.06-0.13% พบ 11 ปุ่มดอก แต่ไม่มีการพัฒนาของปุ่มดอก เห็ดโคนสายพันธุ์ T3A พบว่ามีการสร้างปุ่มดอกได้ดีทุกช่วง CO_2 แต่สร้างปุ่มดอกได้ดีที่สุดที่ CO_2 0.5-0.7% พบการพัฒนาของปุ่มดอกไปเป็นดอกเห็ด 50 ปุ่มดอก แต่มีส่วนครีบดอกกลับด้านกับดอกเห็ดปกติ

เห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(4y)}$ และ $VT1_{(4yt)}$, มีการสร้างปุ่มดอกได้มากที่สุดช่วงความเข้มข้น CO_2 0.5-0.7% แต่ไม่พบการพัฒนาของปุ่มดอก เห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(7)}$ มีการสร้างปุ่มดอกมากที่สุดที่ CO_2 เข้มข้น 0.2-0.5% แต่ไม่พบการพัฒนาของปุ่มดอก เห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(7t)}$ มีการสร้างปุ่มดอกมากที่สุดที่ CO_2 0.7-0.8% และมีการพัฒนาของปุ่มดอกไปเป็นดอกเห็ดเพียง 1 เอก

ภาควิชา - ลายมือชื่อนิสิต สุราวุธ สมสวัสดิ์

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางชีวภาพ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ปีการศึกษา 2537 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เป็นแบบที่นักศึกษาต้องส่งมอบ

C426474 :MAJOR BIOTECHNOLOGY
KEY WORD : *Volvariella volvacea*, *Termitomyces sp.*, FUSANTS, CO_2, FRUITING PRIMODIA

SARAWUT SOMTHAWIN : THE INFLUENCE OF CARBON DIOXIDE ON GROWTH AND FRUITING PRIMODIAL INITIATION OF *Volvariella volvacea*, *Termitomyces sp.* AND THEIR FUSANTS. THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. SUMALEE PICHYANGKURA, Ph.D. 77 pp. ISBN 974-632-275-3

The mycelial growth of *Volvariella volracea* (V), *Termitomyces sp.* (T1, T3), *Termitomyces sp.* regenerated strain (T3A, T3B) and fusant strain $VT1_{(4y)}$, $VT1_{(4yt)}$, $VT1_{(7)}$, $VT1_{(7t)}$ grew on PDA agar plate and kept them in the cultivated chamber of size 25x50x25 cm. The experiment for mycelial growth was planned in to systems; a semi open-closed system for 6-8 days, and closed system for 5-6 days. Gas CO_2 from chamber were daily sampled by syringe and transferred to anaerobic Bellco tubes, then analysed by Gas Chromatograph (GC). No effect of increasing CO_2 on inhibition mycelial growth of mushroom in both systems; however, the high CO_2 content up to 3.5% in close system promoted the mycelial growth of every strains.

Substrate for mushroom cultivation was kapork waste 4 day fermented compost. The suitable compost for cultivation was C/N ratio at 16:1, moisture content 70%. Cultivation of *V. volvacea*, *Termitomyces sp.* strain T1, T3, T3A and fusant strain $VT1_{(4y)}$, $VT1_{(4yt)}$, $VT1_{(7)}$, $VT1_{(7t)}$ in the incubator chamber controlled temperature 32 C for 5 days until the growth of mycelium filled up plastic bag containing compost then transferring all cultivation in the chambers with varying CO_2 concentration in the range of 0.06-0.13, 0.2-0.5, 0.5-0.7, 0.7-0.8, 1.1-1.9% and CO_2 of 2-7% in the control were performed. It was found that *V. volvacea* produced fruiting primodia in every concentration of CO_2 but could not found in the control. In the chamber of CO_2 concentration of 0.7-0.8% *V. volvacea* produced highest number of 336 fruiting primidia and 12 of them developed to the mature stage. *Termitomyces sp.* strain T1 produced highest fruiting primodia at CO_2 concentration 0.06-0.13% but not any of them developed. T3 were not found to form highest fruiting primodia in every CO_2 concentration. Furthermore, T3A produced the highest of fruiting primodia at CO_2 concentration 0.5-0.7% and developed to mature mushrooms but their up side down gills were observed.

In the fusants strain $VT1_{(4y)}$, and $VT1_{(4yt)}$ produced highest of fruiting primodia at CO_2 concentration 0.5-0.7% but could not develope. Strain $VT1_{(7)}$, produced highest number of fruiting primodia at the CO_2 concentration 0.2-0.5% and could not found any development. Strain $VT1_{(7t)}$ produced highest number of fruiting primidia in the CO_2 concentration 0.7-0.8% and only one fruiting primodia developed to the mature stage.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา – ลายมือชื่อนิสิต สราวุธ สมทวิน

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางชีวภาพ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ปีการศึกษา 2537 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ลงได้ โดยได้รับความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร. สุมาลี พิชญางกูร ที่ได้ให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็น และช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์ ที่ได้ให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็น และความช่วยเหลือด้านอุปกรณ์บางส่วนในการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. อรุณี จันทรสนิท และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. หรรษา ปุณะพยัคฆ์ ที่กรุณาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ ทุกท่านที่ได้ให้กำลังใจ คำแนะนำ และข้อคิดเห็นในงานวิจัยนี้ ตลอดจนเจ้าหน้าที่ในภาควิชาจุลชีววิทยาทุกท่าน ที่ได้ให้ความสะดวกต่างๆ

ขอขอบพระคุณ บัณฑิตวิทยาลัยที่ให้ทุนอุดหนุนการวิจัย ในปี 2536 ตลอดจนเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ให้ความสะดวกต่างๆ

ขอขอบคุณ เพื่อน พี่ น้อง ที่ได้ให้กำลังใจ พี่ยุวดี ตาลาวนิช พี่ อัญชนา ศุรติชจร ที่มีส่วนช่วยเหลือในงานวิจัยนี้

ท้ายสุดนี้ ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ พี่น้อง ที่ได้ให้กำลังใจ ช่วยเหลือสนับสนุนในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสมอมา

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญตาราง ..... ญ

สารบัญภาพ ..... ณ

สัญลักษณ์และคำย่อ ..... ต

บทที่

1. บทนำ 1
2. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย 14
3. ผลการทดลองและวิจารณ์ 29
4. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 49

รายการอ้างอิง 59

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก 65

ภาคผนวก ข 66

ภาคผนวก ค 68

ภาคผนวก ง 69

ภาคผนวก จ 75

ประวัติผู้เขียน 77

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1. แสดงค่าความชื้น ปริมาณของคาร์บอน ไนโตรเจน และอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนในอาหารหมักไส้นุ่น.....32
2. แสดงการเจริญของสายใยเห็ดฟาง, เห็ดโคน สายพันธุ์ T1, T3, T3A, T3B และเห็ดลูกผสมระหว่างเห็ดฟางกับเห็ดโคน สายพันธุ์ $VT1_{(4y)}$, $VT1_{(4yt)}$, $VT1_{(7)}$ และ $VT1_{(7t)}$ ปริมาณ CO_2 ที่เกิดขึ้น อุณหภูมิ และความชื้นของภาวะการเลี้ยงในตู้ทดลองระบบกึ่งเปิด - ปิด เป็นเวลา 6 - 8 วัน.....34
3. แสดงการเจริญของสายใยเห็ดฟาง, เห็ดโคน สายพันธุ์ T1, T3, T3A, T3B และเห็ดลูกผสมระหว่างเห็ดฟางกับเห็ดโคน สายพันธุ์ $VT1_{(4y)}$, $VT1_{(4yt)}$, $VT1_{(7)}$ และ $VT1_{(7t)}$ ปริมาณ CO_2 ที่เกิดขึ้น อุณหภูมิ และความชื้นของภาวะการเลี้ยงในตู้ทดลองระบบปิด เป็นเวลา 5 - 6 วัน..... 40
4. แสดงการแปรความเข้มข้นของ CO_2 ในสภาวะการเลี้ยง นับจำนวนปุ่มดอกของเห็ดฟาง, เห็ดโคน สายพันธุ์ T1, T3, T3A และเห็ดลูกผสมระหว่างเห็ดฟางกับเห็ดโคน สายพันธุ์ $VT1_{(4y)}$, $VT1_{(4yt)}$, $VT1_{(7)}$ และ $VT1_{(7t)}$ 50
5. แสดงจำนวนของปุ่มดอกที่มีการพัฒนาเป็นดอก.....52

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

1. แสดงการเจริญและพัฒนาของดอกเห็ดฟาง 3
2. แสดงวงจรชีวิตของเห็ดฟาง..... 4
3. แสดงขั้นตอนการประกอบตู้ทดลองและอุปกรณ์..... 16
4. แสดงตู้ทดลองและอุปกรณ์..... 17
5. การหมักใส้นุ่นในกระบะไม้..... 19
6. แสดงหลอดที่จะใช้เตรียมเก็บแก๊สซึ่งปิดหลอดด้วยจุกยาง rubber stoper และฝาอลูมิเนียม..... 22
7. แสดงกระบอกฉีดยาและหัวล็อคความดัน (head lock pressure)..... 22
8. แสดงขั้นตอนการทดลองในระบบกึ่งเปิด - ปิด..... 25
9. แสดงขั้นตอนการทดลองในระบบกึ่ง ปิด..... 26
10. แสดงกล้าเชื้อ (spawning) ของสายใยเห็ดฟาง เห็ดโคน และเห็ดลูกผสม ที่เลี้ยงในเมล็ดข้าวฟ่าง..... 30
11. แสดงอาหารหมักที่บรรจุในถุงพลาสติก และผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว..... 30
12. กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างคาร์บอน ไนโตรเจน และอัตราส่วนของ คาร์บอนต่อไนโตรเจน ในอาหารหมักใส้นุ่น เป็นเวลา 14 วัน..... 31
13. กราฟแสดงการเจริญของโคโลนีทั้งหมดของเห็ดฟาง เห็ดโคนสายพันธุ์ T1, T3, T3A และ T3B ปริมาณ CO_2 ที่เกิดขึ้นในภาวะการเลี้ยงในตู้ทดลองระบบกึ่ง เปิด-ปิด เป็นเวลา 6 - 8 วัน..... 37
14. กราฟแสดงการเจริญของโคโลนีทั้งหมดของเห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(4y)}$, $VT1_{(4y)'}$ $VT1_{(7)}$ และ $VT1_{(7)'}$ ปริมาณ CO_2 ที่เกิดขึ้นในภาวะการเลี้ยงใน ตู้ทดลองระบบกึ่งเปิด - ปิดเป็นเวลา 6 - 8 วัน.....38
15. กราฟแสดงการเจริญของโคโลนีทั้งหมดของเห็ดฟาง เห็ดโคนสายพันธุ์ T1, T3, T3A และ T3B ปริมาณ CO_2 ที่เกิดขึ้นในภาวะการเลี้ยงในตู้ทดลองระบบปิด เป็นเวลา 5 - 6 วัน.....44

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

16. กราฟแสดงการเจริญของโคโลนีทั้งหมดของเห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(4y)}$, $VT1_{(4yt)}$, $VT1_{(7)}$ และ $VT1_{(7t)}$ ปริมาณ CO_2 ที่เกิดขึ้นในภาวะการเลี้ยง6งในตู้ทดลอง ระบบปิดเป็นเวลา 6 วัน 45
17. กราฟแสดงจำนวนปุ่มดอกที่สร้างขึ้นในช่วงของ CO_2 0.06 - 0.13, 0.2 - 0.5, 0.5 - 0.7, 0.7 - 0.8 และ 1.1 - 1.9 % ของเห็ดฟาง เห็ดโคนสายพันธุ์ T1, T3, และ T3A 48
18. กราฟแสดงจำนวนปุ่มดอกที่สร้างขึ้นในช่วงของ CO_2 0.06 - 0.13, 0.2 - 0.5, 0.5 - 0.7, 0.7 - 0.8 และ 1.1 - 1.9 % ของเห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(4y)}$, $VT1_{(4yt)}$ $VT1_{(7)}$ และ $VT1_{(7t)}$ 49
19. แสดงก้อนเชื้อที่เลี้ยงในตู้ทดลอง และปริมาณ CO_2 ที่เหมาะสมต่อการสร้างปุ่มดอก และการพัฒนาของดอกเห็ดฟาง 53
20. แสดงก้อนเชื้อที่เลี้ยงในตู้ทดลอง และปริมาณ CO_2 ที่เหมาะสมต่อการสร้างปุ่มดอก และการพัฒนาของดอกเห็ดโคนสายพันธุ์ T3A 53
21. แสดงก้อนเชื้อที่เลี้ยงในตู้ทดลอง และปริมาณ CO_2 ที่เหมาะสมต่อการสร้างปุ่มดอก และการพัฒนาของดอกเห็ดลูกผสม สายพันธุ์ $VT1_{(7t)}$ 54
22. แสดงดอกเห็ดโคน สายพันธุ์ T3A ที่พัฒนาผิดปกติ 55
23. แสดงดอกเห็ดโคน สายพันธุ์ T3A ที่พัฒนาผิดปกติ ลักษณะของดอกจะคล้ายปะการัง 56

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สัญลักษณ์และคำย่อ

มล.	=	มิลลิลิตร
ซ.ม.	=	เซนติเมตร
ตร.ซม.	=	ตารางเซนติเมตร
ม.ม.	=	มิลลิเมตร
$^{\circ}$ ซ	=	องศาเซลเซียส
%	=	เปอร์เซนต์
CO_2	=	แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ดอกเห็ดเป็นส่วนสืบพันธุ์ของราที่สร้างสปอร์แบบใช้เพศ (sexual spore) โดยสร้างสปอร์ที่เรียกว่า เบซิดิโอสปอร์ (basidiospore) ในส่วนของครีบดอก (gills) ภายใต้หมวกดอก (pileus หรือ cap) สายใยของเห็ดส่วนใหญ่มี 2 นิวเคลียส (binucleate) และเป็นสายใยแบบมีผนังกั้นระหว่างเซลล์ (septate hypha) บางชนิดมีข้อต่อระหว่างเซลล์ (clamp connection) ดำรงชีวิตแบบ saprophyte และ facultative parasite (Alexopoulos และ Mims, 1979)

เห็ดมีหลายชนิดที่ขึ้นเองตามธรรมชาติ ยังไม่สามารถที่จะนำมาเพาะเลี้ยงได้ซึ่งยังต้องอาศัยธรรมชาติ และบางชนิดสามารถนำไปเพาะเลี้ยงเพื่อบริโภค เช่น เห็ดแชมปิญอง (*Agaricus bisporus*) เห็ดฟาง (*Volvariella volvacea*) เห็ดนางฟ้า (*Pleurotus sajor-caju*) เห็ดนางรม (*P. ostratus*) เห็ดหอม (*Lentinula edodes*) เห็ดหูหนู (*Auricularia sp.*) เห็ดเข็มทอง (*Flammulina velutipes*) เห็ดตีนแรด (*Tricholoma crassum*)

เห็ดฟาง (straw mushroom) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Volvariella volvacea* (Bull-ex Fr) Sing (Singer, 1975) เห็ดชนิดนี้เป็นที่รู้จักและนิยมรับประทานในแถบเอเชีย ในประเทศไทยจะมีชื่อเรียกตามอาหารที่ใช้ปลูก เช่น เห็ดบัว มักขึ้นที่กองเปลือกเมล็ดบัวที่ย่อยสลายแล้ว แต่ภายหลัง ดร. ท่าน ชลวิจารณ์ ได้ริเริ่มและส่งเสริมให้มีการเพาะเห็ดเป็นเชิงการค้า โดยใช้ฟางเป็นวัตถุดิบในการเพาะ จึงได้เรียกว่า เห็ดฟาง (straw mushroom) เห็ดฟางมีชื่อเรียกที่แตกต่างกันออกไป ขึ้นอยู่กับภาษาเช่น ภาษาจีน เรียกว่า chaogu ญี่ปุ่น เรียกว่า fugurotakae ภาษาตากาล็อก เรียกว่า kaputi (อานนท์ , 2530)

เห็ดฟางเป็นเห็ดที่เจริญเติบโตได้ดีบนวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรที่มีองค์ประกอบเป็นเซลลูโลส (cellulose) เป็นเห็ดที่เพาะขึ้นง่ายใช้ระยะเวลาสั้น ควบคุมผลผลิตได้และปลูกเป็นการค้า เห็ดฟางได้ถูกจำแนกและมีอนุกรมวิธาน (taxonomy) จัดอยู่ใน Sub-division Basidiomycotina Class Basidiomycetes Order Agaricales ใน Family Volvariaceae (Alexopoulos และ Mims, 1979 ; Singer, 1975)

ดอกเห็ดฟางจะประกอบด้วยเปลือกหุ้ม (volva) ก้านดอก (stipe) และหมวกดอก (pileus) ส่วนของหมวกดอกมีสีขาว-เทา จนถึงสีดำ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และแสงที่เป็นสภาพแวดล้อม พบว่าแสงเป็นตัวชักนำให้เกิดสีดำบนหมวกดอก (Chang, 1978) เส้นผ่าศูนย์กลางของหมวกดอกเมื่อบานเต็มที่ ประมาณ 4 - 12 ซ.ม. การพัฒนาของดอกเห็ด (basidiocarp) และระยะของการพัฒนาแบ่งได้เป็น 6 ขั้นตอน ดังนี้ (Chang และ Yau, 1971) คือ

ระยะที่ 1 หัวเข็ม (pinhead stage) เป็นระยะแรกของการเริ่มสร้างปุ่มดอก (fruiting primodium) เป็นระยะที่เส้นใยรวมตัวกันเป็นจุดเล็กๆ สีขาว มีขนาด 2 - 3 ม.ม. ซึ่งเกิดจากการรวมตัวของกลุ่มเซลล์

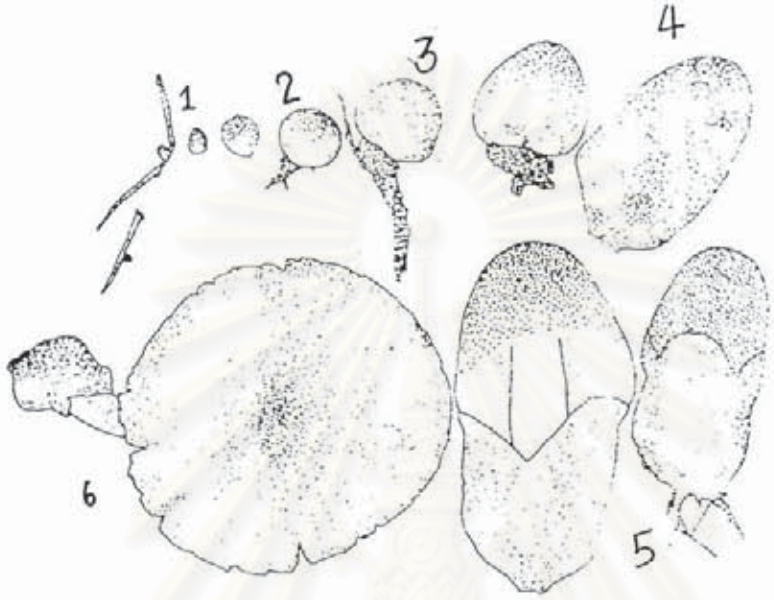
ระยะที่ 2 กระดุมเล็ก (tiny button stage) เป็นระยะที่ต่อเนื่องมาจากระยะหัวเข็ม ประมาณ 15 - 30 ชั่วโมง เป็นปุ่มดอกเห็ดที่เจริญจากระยะแรกอย่างรวดเร็ว มีรูปร่างกลม ชูขึ้นเหนือวัสดุเพาะ มีขนาดประมาณ 5 - 7 ม.ม.

ระยะที่ 3 กระดุม (button stage) ปุ่มดอกมีการขยายตัวออกรอบด้าน และมีลักษณะกลมหรือเป็นรูปไข่ มีฐานโตกว่าส่วนปลาย มีขนาด 1 - 10 ม.ม. ระยะนี้ต่อเนื่องมาจากระยะที่ 2 ช่วงเวลา 12 - 20 ชั่วโมง เมื่อผ่าดูภายในพบว่า มีการพัฒนาเป็นหมวกดอก ครีบดอก และก้านดอก อยู่ภายในอย่างชัดเจนแต่ยังมีขนาดเล็กอยู่

ระยะที่ 4 รูปไข่ (egg stage) เริ่มพัฒนาเป็นดอกเห็ด มีการเจริญเติบโตทางความยาวและความกว้างของก้านดอก ปลอกหุ้มดอกจะยืดไปตามความยาวของก้านดอก ปลอกหุ้มมีลักษณะเรียวคล้ายรูปไข่ มีขนาดประมาณ 2 - 3 ซ.ม. ในระยะนี้การเจริญของดอกจะเร็วหรือช้าขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ หากอุณหภูมิสูงกว่า 32°ซ จะใช้เวลา 8 - 12 ชั่วโมง แต่ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 32°ซ การเจริญของส่วนนี้จะช้าลง ในระยะนี้โดยทั่วไปแล้วจะเก็บดอกเห็ดเพื่อบริโภคและจำหน่าย (Chang และ Yau, 1971)

ระยะที่ 5 ปริดอก (elongation stage) ระยะที่เกิดการยืดตัวของดอกซึ่งต่อเนื่องมาจากระยะที่ 4 เพียง 3 - 6 ชั่วโมงเท่านั้น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ การเจริญของหมวกดอกและก้านดอกเป็นไปอย่างรวดเร็ว ทำให้ปลอกหุ้มที่อยู่ส่วนบนปริแตกออก ระยะนี้มีขนาดไม่แน่นอนขึ้นกับความสมบูรณ์ของดอกเห็ด

ระยะที่ 6 ดอกเห็ดบานหรือระยะแก่เต็มที่ (mature stage) ส่วนบนของก้านดอกและหมวกดอกมีการเจริญเต็มที่ ในส่วนของครีบดอกเริ่มมีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มขึ้น แสดงว่ามีการสร้างสปอร์และจะปล่อยสปอร์ร่วงลงมา ระยะนี้ห่างจากระยะปริดอก 2 - 4 ชั่วโมง

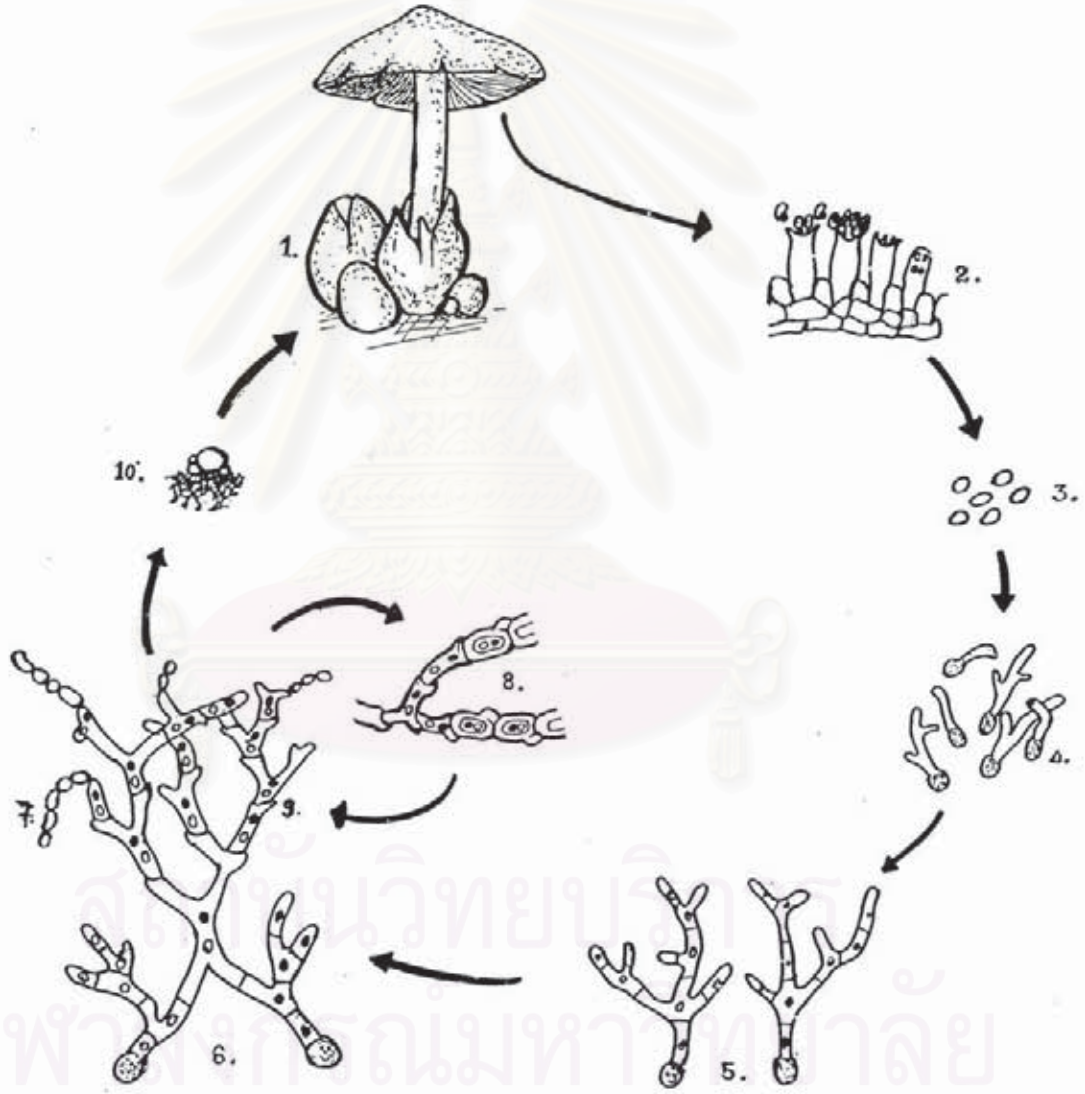


ภาพที่ 1 แสดงการเจริญและพัฒนาของดอกเห็ดฟาง (Chang, 1989)

ดอกเห็ดฟางเมื่อเจริญเต็มที่จะมีโครงสร้างที่ประกอบด้วย หมวกดอก ก้านดอก และปลอกหุ้ม หมวกดอกเมื่อกางออกมีรูปร่างกลม ขอบหมวกเรียบ เนื้อของหมวกดอกจะหนา ด้านบนเป็นสีเทาอ่อน ด้านล่างเป็นสีขาว ใต้หมวกดอกมีครีบบางๆ เมื่ออ่อนจะมีสีขาว และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเมื่อแก่ เนื่องจากสีของสปอร์ ก้านดอกจะมีสีขาว ผิวเรียบ เนื้อแน่น มีความยาวประมาณ 3 - 8 ซ.ม. ความกว้าง 0.5 - 1.5 ซ.ม. ไม่มี annulus ที่ก้านดอก เบซิดิโอสปอร์ของเห็ดฟาง มีรูปร่างกลมรี ความกว้าง ประมาณ 5 - 6 ไมโครเมตร ยาว ประมาณ 7 - 9 ไมโครเมตร สปอร์มีสีน้ำตาลแดง

เห็ดฟางเป็นเห็ดที่มีวงจรชีวิตแบบ Homothallism (Raper, 1978 และ Elliott, 1982) เมื่อดอกเห็ดบานเต็มที่จะสร้างเบซิดิโอสปอร์และปล่อยสปอร์ออกมา ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม สายใยจะงอกออกมาจากสปอร์ซึ่งเป็นสายใยที่มีหนึ่งนิวเคลียส (homokaryotic mycelium) เจริญเป็นสายใยขั้นแรก เมื่อเกิดการรวมตัวกันของสายใยขั้นแรกที่มีความสามารถเข้ากันได้ (compatible) เกิดการรวมตัวกัน (plasmogamy) และเจริญเป็นเส้นใยขั้นที่สองที่มีหลายนิวเคลียส เจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและพัฒนาไปเป็นปุ่มดอก (fruiting primodia) และเข้าสู่ระยะหัวเข็มหมุด

ระยะกระดุมเล็ก, ระยะกระดุม, ระยะรูปไข่, ระยะยืดตัว และระยะดอกบาน ตามลำดับ นอกจากสายใยขั้นที่สองบางส่วนที่มีอายุมาก และสภาพแวดล้อมไม่เหมาะต่อการสร้างปุ่มดอก จะมีการสร้างเซลล์ให้พอง มีผนังหนา กลม สีน้ำตาลเข้ม สามารถอยู่ข้ามฤดูกาลได้ เรียกว่า คลามิโดสปอร์ เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมก็จะงอกเป็นสายใยเจริญต่อไปได้ ดังภาพ 1 และ 2



ภาพที่ 2 แสดงวงจรชีวิตของเห็ดฟาง (อานนท์, 2530)

เห็ดโคน (Termite mushroom) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Termitomyces sp.* เป็นรา สร้างดอกเห็ดใน Sub-division Basidiomycotina Class Basidiomycetes, Order Agaricales, Family Tricholomataceae (Alexopoulos และ Mims, 1979; Roy และ Samajpati, 1982) เห็ดโคนเจริญและออกดอกตามธรรมชาติ ยังไม่มีรายงานว่าสามารถเพาะให้เกิดดอกเห็ดได้ในห้องปฏิบัติการ Sand (1969) ; Heim (1977) ; Bel และ Pataragetvit (1982) พบว่าเห็ดโคนมีความสัมพันธ์แบบใกล้ชิด (obligate symbiosis) กับปลวก ใน sub-family Macrotermitidae ซึ่งมีลักษณะเป็น pseudorhiza ติดกับจอมปลวก โดยปลวกจะกินอินทรีย์วัตถุพวกใบไม้ และไม้ผุที่มีสปอร์เห็ดราอยู่เป็นอาหาร พร้อมกับสะสมอาหารไว้ในรังปลวก เพื่อเลี้ยงตัวอ่อน สปอร์ของเห็ดจะงอกเจริญเป็นสายใยภายในรังปลวก เรียกว่า fungus comb และสายใยมารวมตัวกันมีลักษณะเป็น dikaryotic spherical conidia กระจายอยู่ทั่วไป และมีการพัฒนาเป็นตุ่มเล็กๆ สีขาว เส้นผ่าศูนย์กลาง ประมาณ 2 – 3 ม.ม. (Dixon, 1983) เมื่อสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ และความชื้นเหมาะสม ตุ่มสีขาวจะพัฒนาเป็นดอกเห็ด โดยเฉพาะในวันที่อากาศร้อนอบอ้าว แล้วเกิดฝนตกหนักพื้นดินมีความชื้นสูง จะพบดอกเห็ดโคนเจริญพ้นดินใกล้กับบริเวณจอมปลวก และมักพบในที่เดิม แหล่งที่พบเห็ดโคนอยู่ในแถบเขตร้อนของทวีปเอเชีย แอฟริกา และมหาสมุทรแปซิฟิกตอนใต้ ซึ่งดอกเห็ดโคนจะออกชุกในเฉพาะฤดูกาลที่ฝนตกหนัก ช่วงระหว่างต้นเดือนสิงหาคมถึงเดือนพฤศจิกายน

Singer (1975) ได้แบ่งเห็ดโคนเป็น 2 กลุ่มตามแหล่งที่พบ คือ African species และ Asiatic species ในกลุ่ม African species ได้แก่ *T. citriophyllus* (Heim), *T. globulus* (Heim) & Gossens, *T. eurhizus* (Heim), *T. cartilagineus* (Berg). Heim, *T. fuliginosus* (Heim), *T. robotus* (Beeli) sing, *T. congolensis* (Beeli) sing, *T. clypeatus* (Heim)

กลุ่ม Asiatic species ได้แก่ *T. eurhizus* (Heim), *T. cartilagineus* (Berg). Heim, *T. lestestui* (PAT) Heim., *T. striatus* (Heim) สำหรับในประเทศไทย มีรายงานการสำรวจเห็ดโคนโดย Bel และ Pataragetvit, 1982 พบเห็ดโคนชนิด *T. clypeatus* (Heim), *T. fuliginosus* (Heim), *T. globulus* (Heim) & Gossens, *T. maniformis* (Heim) และ *Termitomyces spp.*

เห็ดโคนมีลักษณะที่แปลกและเด่นชัดกว่าเห็ดชนิดอื่น ก้านดอกเห็ดมีลักษณะคล้ายรากหยั่งลึกลงดิน เรียกว่า pseudorhizoid และมีความสัมพันธ์กับปลวก ดอกเห็ดมีลักษณะคล้ายร่ม ประกอบด้วย หมวกดอก ก้านดอก ครีบดอก หมวกดอกมีขนาดเล็กจนถึงใหญ่ (2 – 30 ซ.ม.) สีของหมวกดอกเป็นสีน้ำตาลหรือน้ำตาลปนดำ ผิวด้านบนของหมวกดอกอาจเรียบหรือมีรอยย่นเล็กน้อย มักมียอดแหลม (perforatorium) บนหมวกดอก และเมื่อดอกเห็ดบานเต็มที่ผิวด้านบน

หมวกดอกจะมีรอยเส้นแตก (striae) ก้านดอกของเห็ดโคนจะเกาะตรงกลางหมวก มีสีขาว ยาวประมาณ 5 – 20 ซ.ม. กว้างประมาณ 0.5 – 3 ซ.ม. ครีบดอกจะเป็นเนื้อเยื่อบางๆ สีขาว เป็นแหล่งที่มี เบซิเดี่ยม (basidium) สร้างเบซิดิโอสปอร์ เส้นใยพาราไฟซีส (paraphysis) และซิสติเดีย (cystidia) แทรกอยู่ เบซิดิโอสปอร์ของเห็ดโคนมีรูปร่างรี (ovoid to ellipsoid-cylindric) หรือ apiculate เป็นสีครีมอมชมพูจนถึงน้ำตาล (Heim, 1977)

Bel และ Patarageteit (1982) ได้ศึกษาการเจริญของเห็ดโคนในรังปลวก พบว่ามี 3 ระยะ คือ

ระยะที่ 1 กลุ่มของสายใยเห็ดโคนจะเป็นตุ่มเล็กๆ สีขาว ขนาด 0.5 - 1.5 ม.ม. กระจายทั่วไปในรังปลวก ปะปนอยู่กับสายใยที่มีสีเขียวของรา *Xylaria sp.* โดยปลวกจะกินสายใยของเห็ดโคนเป็นอาหารและช่วยแพร่กระจายการเจริญของสายใยเห็ดโคน

ระยะที่ 2 สายใยเห็ดโคนเจริญคลุมรังปลวก ประกอบกับฝนตกหนัก ประชากรของปลวกในรังจะลดลง อุณหภูมิและความชื้นในรังปลวกสูง ตุ่มดอกจะพัฒนาเป็นดอกเห็ด แทงพ้นผิวดินขึ้นมาและมีรากหยั่งถึงรังปลวก เมื่อหมวกดอกบานเต็มที่จะปล่อยสปอร์ร่วงลงพื้นดิน

ระยะที่ 3 ไม่ปรากฏตุ่มดอกสีขาวของเห็ดโคนในรังปลวก จะพบเฉพาะสายใยและดอกเห็ดของรา *Xylaria sp* เจริญอยู่ในรังปลวก เมื่อปลวกไปคาบอาหาร สปอร์ของเห็ดโคนก็จะติดเข้ามาด้วยและงอกเป็นสายใย เจริญอยู่ภายในรังปลวก วนเวียนตามลำดับ

เห็ดโคนยังไม่สามารถเพาะให้เกิดดอกเห็ดได้ แต่ได้มีผู้ศึกษาสรีรวิทยาของสายใยเห็ดโคนต่อความต้องการสารอาหารและสภาวะแวดล้อมในการเจริญของสายใย Chandra และ Purkayastha (1977) รายงานว่า สายใยของ *Termitomyces eurhizus* (Heim) สามารถใช้แหล่งคาร์บอน คือ ซอร์บิทอล (sorbital) , น้ำตาลฟรุคโตส (D-fructose) , น้ำตาลกาแลกโตส (galactose) แป้ง (strach) และน้ำตาลกลูโคส (D-glutose) ได้ดีที่สุด ตามลำดับ และใช้ไนโตรเจนในรูปอินทรีย์สารของเปปโตน (peptone) ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ ผงสกัดยีสต์ (yeast extract) และ เคซีนไฮโดรไลเซท (casein hydrolysate) และยังใช้แคลเซียมไนเตรท และแอมโมเนียม ที่อยู่ในรูปของอนินทรีย์สารได้ดีด้วย วิตามินและเกลือแร่จะช่วยส่งเสริมการเจริญของสายใย พบว่าถ้าเติม วิตามิน บี1 หรือไทอะมีน และธาตุ P, K, Ca และ Mg ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ จะทำให้สายใยเจริญเติบโตได้รวดเร็ว ที่อุณหภูมิ 25 - 30°ซ และความเป็นกรด-ด่าง ของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ pH 6 - 9 เหมาะต่อการเจริญของสายใยของ *T. cartilagineus* และที่ pH 4 - 6.5 เหมาะต่อการเจริญของสายใยของ *T. eurhizus* (Chandra และ Purkayastha, 1977 ; Heim, 1977 ; Quimio, 1977 และ Okech และ

Kotengo, 1988) Quimio (1977) ยังได้รายงานเพิ่มเติมว่า เมื่อเลี้ยงเชื้อเห็ดโคนในที่มืด สายใยจะเจริญเติบโตได้ดีกว่าในที่สว่าง

เห็ดลูกผสมได้มาจากการปรับปรุงพันธุ์เห็ด โดยผสมพันธุ์ข้ามสกุล (Intergeneric Fusion) ระหว่างเห็ดโคน (*Termitomyces sp.*) และเห็ดฟาง (*Volvariella volvacea*) ด้วยการหลอมรวมเซลล์โปรโตพลาสต์ด้วยสารโพลีเอทธิลีนไกลคอล (PEG - 8000) ได้เป็นลูกผสมที่เกิดบนอาหารรีเจนเนอเรทที่ให้โคโลนีใหม่เกิดขึ้น แล้วคัดเลือกลูกผสมโดยอาศัย ขนาดของเส้นใย จำนวนนิวเคลียสที่ติดสีย้อม โดยวิธี Gimsa staining และวัดปริมาณดีเอ็นเอทั้งหมดของลูกผสมโดยวิธีของ Burton (1956) ลูกผสมที่คัดได้มีปริมาณดีเอ็นเอทั้งหมดต่อน้ำหนักเซลล์สูงเป็น 2, 3 และ 4 เท่าของปริมาณดีเอ็นเอสายพันธุ์พ่อและแม่ (Pichyangkura และ Kanoknukroh,1992)

อาหารและสภาพการปลูกของเห็ด

อาหาร การปลูก และสภาพแวดล้อมของเห็ดฟาง มีความจำเพาะที่แตกต่างจากเห็ดชนิดอื่น โดยมีข้อมูลที่ได้ทำการศึกษาไว้ดังนี้

1. สารอาหารที่ต้องการ (Nutritional requirement)

ราเป็นสิ่งมีชีวิตที่ไม่สามารถสังเคราะห์อาหารขึ้นมาใช้เองได้ (heterotroph) จึงต้องอาศัยอาหารจากแหล่งภายนอก เช่น วัสดุธรรมชาติ เศษพืชที่ย่อยสลายแล้ว สารอาหารที่สำคัญมีดังนี้

1.1 คาร์บอน (carbon)

โดยปกติเห็ดฟางมักใช้แหล่งคาร์บอนโมเลกุลใหญ่ได้ดีเช่น เซลลูโลส แป้ง เนื่องจากมีเอนไซม์เซลลูเลส เพคติเนส อะมิเลส และ กลูโคอะมิเลส ฯลฯ แต่ในทางปฏิบัติแล้วนิยมใช้วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว ไส้นุ่น ขี้ฝ้าย ผักตบชวา Chang (1974) และ Hu และคณะ (1976) รายงานว่าเมื่อเพาะเห็ดฟางในขี้ฝ้าย (cotton waste) จะให้ผลผลิตได้สูงที่สุดเมื่อเทียบกับฟางข้าวของข้าวเจ้า ข้าวเหนียว และข้าวสาลี นอกจากนี้แหล่งคาร์บอนที่อยู่ในรูปของน้ำตาลกลูโคส เห็ดฟางจะนำไปใช้ได้ดี (Chandra และ Purkayastha, 1977) และคาร์โบไฮเดรต เช่น แป้ง เซลโลไบโอส ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนเสริมในการเพาะเห็ดฟางได้ดี (Voltz, 1972 ; Chang Ho และ Yee, 1977)

1.2 ไนโตรเจน (nitrogen)

ไนโตรเจนที่มีอยู่ในเห็ดฟาง ประมาณ 6.9 % ของน้ำหนักแห้ง (Kurtzman, 1982) ไนโตรเจนมีความสำคัญในการสังเคราะห์โปรตีน และเบสที่เป็นองค์ประกอบในกรดนิวคลีอิก คือ

เบสเพียวรีน (purine) และ เบสไพริมีดีน (pyrimidine) ในส่วนของผนังเซลล์จะประกอบด้วยไคติน (chitin) และพอลิแซคคาไรด์ (polysaccharide) ซึ่งมีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบ ในโปรตีนมีไนโตรเจน 16 % ดังนั้นในการเจริญของสายใยเห็ดจำเป็นต้องใช้ไนโตรเจนในองค์ประกอบของอาหารที่สำคัญด้วย ไนโตรเจนที่เห็ดจะนำไปใช้ได้ดีจะอยู่ในรูปของอินทรีย์สาร (organic nitrogen) เช่น กรดอะมิโน ยูเรีย และอนินทรีย์สาร (inorganic nitrogen) เช่น เกลือแอมโมเนียม เกลือไนเตรท และจากรายงานของ Chandra และ Purkayastha (1977) ได้รายงานว่าไนโตรเจนที่อยู่ในรูปอินทรีย์สารที่เห็ดฟางนำไปใช้ได้ดีที่สุด คือ เปปโตน รองลงมาคือ กลูตามิกแอซิด และแอสปาราจีน Voltz (1972) พบว่าไนโตรเจนที่อยู่ในรูปอนินทรีย์สารของเกลือยูเรีย ไนเตรท และแอมโมเนียม ซึ่งเห็ดบางชนิดไม่สามารถใช้ได้แต่เห็ดฟางสามารถนำมาใช้ในการเจริญของสายใยให้ผลไม่แตกต่างกัน ไนโตรเจนที่เป็นอินทรีย์สารบางส่วน ได้มาจากจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่สร้างขึ้นมาขณะที่มีการเจริญเติบโตร่วมกัน (mixed cultural) จุลินทรีย์ชนิดนั้นๆ สามารถใช้ไนโตรเจนในรูปของเกลืออนินทรีย์ไปสร้างเป็นเซลล์ เปลี่ยนรูปไนโตรเจนไปเป็นอินทรีย์สาร เช่น กรดอะมิโนต่างๆ โปรตีน หรือในรูปอื่นๆ ที่เห็ดสามารถใช้ได้

1.3 วิตามินและฮอร์โมนพืช (vitamin and plant hormone)

วิตามินเป็นสารอินทรีย์โมเลกุลเล็ก ซึ่งราต้องการปริมาณน้อยและไม่ใช้เป็นสารที่ให้พลังงาน (Chang และ Miles, 1989) แต่เป็นส่วนประกอบของโปรโตพลาสซึม (protoplasm) โดยวิตามินจะไปทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ (co-enzyme) ในพวกราโดยทั่วไปต้องการวิตามินบี 1 (thiamine) จำนวนมากไปทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ของเอนไซม์คาร์บอกซิเลส (carboxylase) ในการควบคุมเมตาบอลิสซึ่มของคาร์โบไฮเดรตโดยเปลี่ยนกรดไพรูวิกไปเป็นอะเซตทอลดีไฮด์ และ CO_2 วิตามินที่ต้องการรองลงมาคือ ไบโอติน หรือวิตามิน บี 7 (biotin) Chandra และ Purkayastha (1977) ได้รายงานว่าไทอะมีน 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้สายใยของเห็ดฟางเจริญดีที่สุดเมื่อเทียบกับไบโอติน, ไรโบฟลาวิน, แอสคอร์บิคแอซิด (ascorbic acid) และไพริด็อกซิน (pyridoxin) ซึ่งส่งเสริมการเจริญเติบโตตามลำดับ Impens (1970) รายงานเสริมว่าเห็ดฟางมีความต้องการไทอะมีนในการเจริญของสายใย และในส่วนของฮอร์โมนพืชนั้นมีด้วยกันหลายชนิด เช่น GA_3 (Gibberellic acid), kinetin, 2,4-D, IAA (Indoleacetic acid) และ IBA (Indobutyric acid) มีผลต่อการเจริญของเห็ดฟางน้อยมาก

1.4 เกลือแร่ (Minerals)

เกลือแร่จัดเป็นสิ่งสำคัญต่อเห็ดฟางอีกชนิดหนึ่ง สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม ตามความสำคัญและความต้องการคือ กลุ่มที่ต้องการมาก (macroelements) และกลุ่มที่ต้องการ

น้อย (microelements) หรือเรียกทั้ง 2 กลุ่มว่า ธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรอง กลุ่มธาตุอาหารที่ต้องการมากได้แก่ ฟอสฟอรัส (P) โปตัสเซี่ยม (K) กำมะถัน (S) แคลเซี่ยม (Ca) และแมกนีเซี่ยม (Mg) กลุ่มธาตุอาหารที่ต้องการน้อย ได้แก่ โมลิดีนัม (Mo) โบรอน (B) ทองแดง (Cu) แมงกานีส (Mn) และสังกะสี (Zn) รวมถึงอื่นๆ เช่น เหล็ก (Fe) ซึ่งเห็ดต้องการน้อยกว่ากลุ่มที่ต้องการมาก แต่ต้องการมากกว่ากลุ่มที่ต้องการน้อย โดยปกติแล้ววัสดุที่ใช้เพาะเห็ดฟางมักจะมีแร่ธาตุเหล่านี้เพียงพอต่อความต้องการอยู่แล้ว (Kurtzman และ Chang - Ho,1982)

2. สภาพแวดล้อมที่ต้องการ (Environmental requirement)

2.1 ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

เห็ดฟางเจริญได้ดีที่ pH 7 (Chang-Ho และ Yee, 1977) ความเป็นกรด-ด่าง มีผลต่อการละลายหรือการนำไปใช้ได้ของสารอาหารที่เห็ดนำมาใช้ กล่าวคือ ถ้าเป็นกรด หรือด่างมากเกินไป ทำให้มีแร่ธาตุบางชนิดใช้ได้ดีเมื่ออยู่ในสภาวะกรด และบางชนิดละลายได้ดีในสภาพที่เป็นด่าง ดังนั้นความเป็นกรด-ด่างในสภาวะที่เป็นกลางดีที่สุดต่อการละลายของแร่ธาตุทั้งสองกลุ่ม เนื่องจากไม่มีกลุ่มใดละลายออกมามากเกินไปจนทำให้เกิดเป็นพิษต่อเห็ด สำหรับความเป็นกรด-ด่างที่ pH 6.5 เหมาะสมต่อการย่อยสลายของเซลลูโลส และแร่ธาตุในอาหาร ไนโตรเจนที่อยู่ในรูปของแอมโมเนียมคลอไรด์ กลูตามีน และแอสปาราจีน (Chang-Ho, 1980) และที่ pH 7.5 เหมาะต่อการงอกของสปอร์เห็ดฟาง (Chang และ Chu, 1969) Chandra และ Purkayastha (1977) รายงานว่า เห็ดฟางนั้นสามารถเจริญในอาหารที่มีความเป็นกรด - ด่างในช่วงที่กว้าง ประมาณ 5 - 8

2.2 อุณหภูมิ (Temperature)

อุณหภูมิจัดเป็นสิ่งสำคัญต่อการเจริญของเห็ดฟางไม่น้อยกว่าปัจจัยอื่นๆ โดยปกติอุณหภูมิระหว่าง 24--38°ซ การเจริญของเห็ดฟางจนครบวงจรจะเป็นไปตามปกติแต่อุณหภูมิต่ำกว่า 15°ซ หรือสูงกว่า 42°ซ จะทำให้การเจริญของสายใยเห็ดฟางชะงัก (Chang,1978) จากการศึกษาถึงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเห็ดฟางพบว่า อุณหภูมิ 38- 40 °ซ เหมาะสมต่อการงอกของสปอร์ (Chang และ Chu, 1969) อุณหภูมิ 34 - 38°ซ เหมาะสมต่อการเจริญของสายใยเห็ดฟาง (Chang-Ho และ Yee, 1977 และ Chang, 1977a 1979) และอุณหภูมิระหว่าง 28 - 32°ซ เหมาะสมที่สุดต่อการสร้างปุ่มดอก และการเจริญพัฒนาของดอกเห็ดฟาง (Chang, 1977a และ อานนท์, 2530)

2.3 ความชื้น (Humidity)

ความชื้นเป็นสิ่งจำเป็นทุกระยะการเจริญเติบโตตั้งแต่การงอกของสปอร์ การเจริญของสายใย ตลอดจนการเกิดดอกเห็ด และการพัฒนาของดอกเห็ดฟาง ความชื้นแบ่งได้ 2 กลุ่ม คือ ความชื้นในวัสดุเพาะ และความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ ความชื้นในวัสดุที่ใช้เพาะเห็ดฟางนั้นควรอยู่ในช่วง 70 - 80 % (Chang, 1979) และความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศควรอยู่ในช่วง 65 - 85 % (Chang, 1974 และ Alicbusan, 1979) Ho (1972) รายงานว่าความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศของการเพาะเห็ดฟางไม่ควรเกิน 90 %

2.4 แสง (Light)

เห็ดเกือบทุกชนิดที่เพาะเลี้ยงได้มีความต้องการแสงเพื่อไปกระตุ้นเส้นใยขั้นที่ 2 สร้างปุ่มดอกยกเว้นเห็ดแชมปิญอง แต่แสงไม่จำเป็นต่อการเจริญของสายใย (Kurtzman และ Chang-Ho, 1982) ความเข้มของแสงที่เหมาะสมต่อการกระตุ้นการสร้างปุ่มดอกของเห็ดฟาง คือ 50 - 80 lux หรือประมาณ 3 - 7 แรงเทียน (ขนาดที่พอมองเห็นตัวหนังสือได้) อย่างไรก็ตาม แสงไม่มีความจำเป็นต่อการเจริญของดอกเห็ดฟาง ในทางตรงกันข้ามจะทำให้ดอกเห็ดสีคล้ำ ไม่เป็นที่นิยมของผู้บริโภค

2.5 การระบายอากาศและปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์

2.5.1 การระบายอากาศ (Ventilation)

การระบายอากาศเป็นสิ่งสำคัญในการเพาะเห็ด เนื่องจากอากาศ (หมายถึงออกซิเจน) เป็นสิ่งที่จำเป็นอย่างยิ่งในการสร้างปุ่มดอกของเห็ด เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นทำให้ในโรงเพาะเห็ดมีการสะสมของ CO_2 ที่เกิดจากการเจริญของสายใย ซึ่ง CO_2 ที่เกิดขึ้นมีผลส่งเสริมการเจริญของสายใย (Taback และ Cooke,1968) เมื่อเห็ดมีการสร้างปุ่มดอก การระบายอากาศจะช่วยลดอุณหภูมิในโรงเพาะให้ต่ำลง และปริมาณของCO_2 จะลดลงเช่นกัน และอากาศที่บริสุทธิ์ที่เหมาะสมต่อการเจริญของปุ่มดอกจะเข้าไปแทนที่ ในการระบายอากาศจะต้องคำนึงถึงความชื้นสัมพันธ์ในอากาศ ซึ่งถ้าระบายอากาศมากเกินไปจะทำให้ความชื้นลดลง มีผลต่อการเจริญของปุ่มดอก ทำให้ปุ่มดอก และดอกเห็ดแห้งตาย (Lambert, 1965 และ Rasmussen, 1959) การปลูกเห็ดฟางในโรงเรือน (Ho, 1972) ถ้าปลูกเห็ดฟางในโรงเรือน ขนาด 4 x 6 x 2.5 เมตร ควรใช้พัดลมดูดอากาศ ขนาด 1 แรงม้า ช่วยในการระบายอากาศภายในโรงเรือน

2.5.2 ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2)

แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์มีความสำคัญต่อการกระตุ้นการเจริญของสายใย การสร้างปุ่มดอก การพัฒนาของดอกเห็ด และผลผลิตของดอกเห็ดในระยะการเจริญของสายใย

พบว่า CO_2 เป็นแก๊สที่ช่วยกระตุ้นการเจริญของสายใย (Taback และ Cooke,1968) ตรงกันข้ามในระยะการสร้างปุ่มดอกและการเจริญของดอก หากแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์มากเกินไป จะไปยับยั้งการสร้างปุ่มดอก และทำให้การพัฒนาของดอกเห็ดผิดปกติไป (Kurtzman,1979c) ซึ่งได้มีผู้ทำการวิจัยเกี่ยวกับผลของ CO_2 ดังนี้

Long และ Jacobs (1969) รายงานว่า CO_2 ในช่วง 300 - 6000 PPM ซึ่งเท่ากับ 0.03-0.6 % จะกระตุ้นการเจริญของสายใยเห็ด *Agaricus bisporus* และพบว่าสายใยจะเจริญได้ข้าลงเมื่อสภาพอากาศมี CO_2 ต่ำกว่า 300 ppm หรือสูงกว่า 6000 ppm San Antonio และ Thomas (1972) พบว่าระดับของ CO_2 ที่เหมาะสมต่อการเจริญของสายใยเห็ด *A. bisporus* อยู่ในช่วงระหว่าง 0.1 - 0.5 % และในปี 1973 Tschierpe ได้ทำการทดลองพบว่า CO_2 มีความเข้มข้นเกิน 2 % จะทำให้สายใยเห็ด *A. bisporus* เจริญช้าลง Zadrazil (1978) ได้ทำการทดลองผลของ CO_2 ต่อการเจริญของสายใยเห็ด *Plurotus oystreatus* พบว่าสายใยเจริญได้ดีที่ความเข้มข้นของ CO_2 15 - 20 % และเมื่อ CO_2 เพิ่มขึ้นถึง 30 % การเจริญของเส้นใยจะลดลงอย่างรวดเร็ว Zadrazil และ Schieman (1978) รายงานว่าเห็ดสกุล Pleurotus แต่ละชนิดต้องการความเข้มข้นของ CO_2 ต่อการเจริญของสายใยที่ไม่เท่ากัน *P. oystreatus* และ *P. florida* ต้องการ CO_2 เข้มข้นที่ 28 % จะกระตุ้นการเจริญของสายใยได้ดี แต่ใน *P. eryngii* ต้องการ CO_2 เข้มข้นที่ 22 %เพื่อส่งเสริมการเจริญของสายใย

Long และ Jacobs (1970) รายงานว่าในดินคลุม (Casing Soil) ที่โปรยลงแปลงปลูก ที่ผ่านการฆ่าเชื้อในการปลูกเห็ด *A. bisporus* ความเข้มข้นของ CO_2 0.037 % เหมาะสมต่อการเจริญของสายใย และเมื่อ CO_2 เข้มข้นถึง 0.67 % จะทำให้การเจริญของสายใยชะงัก สำหรับ Casing Soil ที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ เมื่อความเข้มข้น CO_2 อยู่ในช่วง 0.001 - 0.1 % จะมีผลให้สายใยเจริญช้า และเมื่อ CO_2 เข้มข้นในช่วง 0.1- 0.67 % จะกระตุ้นให้สายใยเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น และ CO_2 ที่ 0.034 - 0.1 % เหมาะสมต่อการสร้าง fruiting body ของเห็ด *A. bisporus*

ผลของ CO_2 ต่อการสร้างปุ่มดอก (fruiting primodia) ได้มีรายงานว่าความเข้มข้น CO_2 ที่ 0.03 - 0.1 % เป็นช่วงเหมาะสมและกระตุ้นการสร้างปุ่มดอกของเห็ด *A. bisporus* ดังรายงานวิจัยของ Tschierpe และ Sinden (1964); Long และ Jacobs (1969) และ Nichols (1985) Flegg และ Wood (1985) ได้รายงานว่าความเข้มข้นของ CO_2 ถ้าเกิน 0.2 % จะยับยั้งการสร้างปุ่มดอกของ *A. bisporus* นอกจากนี้ยังมีรายงานผลของ CO_2 ต่อรา *Schizophyllum commune* ปริมาณ CO_2 ที่ 5 % จะกระตุ้นการเจริญของสายใย และการสร้างปุ่ม

ดอก (Niederpreum, 1963) Ingold และ Nawaz (1967) รายงานว่า CO_2 เกิน 5 % ยับยั้งการสร้างปุ่มดอกของ *Sphaerobolus*

การพัฒนาดอกเห็ดได้มีผู้ศึกษารายงานไว้ดังนี้ Lambert (1933) พบว่าปริมาณของ CO_2 6 - 18 % จะมีผลต่อการพัฒนาการเจริญของดอกเห็ด *A. bisporus* Tschierpe (1961) ได้รายงานว่าในเห็ด *A. bisporus* เมื่อ CO_2 เกิน 1.5 % จะทำให้ก้านดอกเห็ดยาวเกินปกติ และ CO_2 เข้มข้นมากกว่า 11 % เป็นสาเหตุให้ปุ่มดอกเห็ด *A. bisporus* แห้งตายลง เปอร์เซนต์ของ CO_2 ที่เหมาะสมต่อการพัฒนาของดอกเห็ดอย่างปกติจะน้อยกว่า 0.2 %และจากการทดลองของ Nichols (1985) พบว่าถ้าปริมาณ CO_2 ไม่เกิน 10 % ก้านดอกและหมวกดอกของ *A. bisporus* จะเจริญอย่างปกติ แต่เมื่อ CO_2 เกิน 10 % ขึ้นไป จะทำให้ก้านดอกและหมวกดอกเจริญได้ช้า Zadrazil (1978) ได้รายงานว่าการปลูกเห็ด *P. oystreatus* ถ้ามี CO_2 เกิน 0.06 % จะทำให้ก้านดอกยาว และหมวกดอกเจริญผิดปกติ Tonomura (1978) รายงานว่าในเห็ด *Flammulia velutipes* ต้องการ CO_2 ที่เหมาะสมในการสร้างปุ่มดอก และพัฒนาไปเป็นดอกเห็ดในช่วง 0.06 - 4.9 % และเมื่อ CO_2 เพิ่มสูงขึ้นจากช่วงนี้แล้ว จะทำให้หมวกดอกมีขนาดเล็กลง อีกทั้งการสร้างหมวกดอกช้ากว่าปกติ

Noble และ Love (1991) พบว่า CO_2 เข้มข้น 0.5 - 1.5 % มีผลทำให้ผลผลิตลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับ CO_2 เข้มข้น 0.08 % Rasmussen (1962) รายงานว่า CO_2 ที่สะสมใน compost 18 - 20 % ทำให้ผลผลิตของ *A. bisporus* ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับ CO_2 ที่ต่ำกว่าคือ 3 - 4 %

Plunkett (1982) รายงานว่าในเห็ดหูหนู (*Auricularia auricula*) เมื่อดอกเห็ดได้รับ CO_2 มากเกิน 5 % จะทำให้ดอกเห็ดไม่บาน และจะมีลักษณะคล้ายปะการัง Zadrazil และ Kurtaman (1902) รายงานว่า CO_2 เข้มข้น 1 - 2 % จะทำให้การเจริญของดอกเห็ด *Pleurotus* ผิดปกติคือมีลักษณะ แตกเป็นกิ่งก้านคล้ายประการัง ก้านดอกสั้น และหนา

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ความสำคัญ และที่มาของงานวิจัย

การศึกษาและวิจัยที่เกี่ยวข้องกับ CO_2 ที่มีผลต่อการเจริญและการออกดอกของเห็ดส่วนใหญ่ได้ทำกันในต่างประเทศ โดยเฉพาะเห็ด *A. bisporus* ซึ่งเป็นเห็ดในเขตหนาว เจริญได้ดีในอุณหภูมิค่อนข้างต่ำ สำหรับในเขตร้อนนั้น ดังเช่นประเทศไทย เห็ดที่เพาะเลี้ยงส่วนใหญ่ได้แก่ เห็ดฟาง เห็ดนางฟ้า และเห็ดนางรม แต่ยังไม่มีงานทดลองและวิจัยที่เกี่ยวกับปริมาณ CO_2 ที่เกิดในกระบวนการปลูกซึ่งในบางครั้ง เมื่อเกิดปัญหาเกี่ยวกับการปลูกเห็ด การสร้างปุ่มดอก การพัฒนาดอก และการบานของดอกเห็ดที่ผิดปกติที่ไม่สมารถจะอธิบายได้ว่ามีผลมาจากปัจจัยใด ซึ่ง CO_2 เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อเรื่องดังกล่าว คือ CO_2 ที่เห็ดสร้างขึ้นและการสะสมของปริมาณแก๊สนี้ กอรปกับยังไม่มีผู้วิจัย หรืองานวิจัยที่ตีพิมพ์ที่เกี่ยวกับ CO_2 ในกระบวนการปลูกเห็ดที่เกี่ยวข้องกับการปลูกเห็ดในประเทศไทย โดยเฉพาะเห็ดฟาง และเห็ดโคน จึงเป็นมูลเหตุจูงใจที่จะศึกษาเกี่ยวกับ CO_2 ต่อการเจริญของสายใย และการสร้างปุ่มดอกของเห็ดฟาง เห็ดโคน ซึ่งสามารถแยกได้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ในห้องปฏิบัติการของ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และเห็ดลูกผสมที่เกิดจากการหลอมรวมโปรโตพลาสต์ ผลของงานวิจัยนี้อาจใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการที่จะนำไปใช้เป็นประโยชน์ ในการปลูกเห็ดต่อไป

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาอิทธิพลของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการเจริญของสายใย และการเกิดปุ่มดอกของเห็ดฟาง (*Volvariella volvacea*) เห็ดโคน (*Termitomyces sp*) และเห็ดลูกผสมที่เกิดจากการรวมโปรโตพลาสต์

ประโยชน์

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัยนี้ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานทางวิชาการในการปลูกเห็ด สามารถนำผลการวิจัยนี้ไปประยุกต์ใช้และแก้ปัญหาในการเพาะเห็ดที่เกิดจาก CO_2 ในผลิตเห็ดระดับครัวเรือน และในระดับอุตสาหกรรม

บทที่ 2

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์

1. แผ่นพลาสติกใส หนา 6 ม.ม. รุ่นโมเดิร์นกลาส ของบริษัท Misubishi Corp. Japan.
2. เทอร์โมมิเตอร์ 100° ซ. ของบริษัท วิทยาศรม จำกัด
3. เครื่องวัดความชื้นในอากาศ (Hygrometer) ของบริษัท Brannan Co, Ltd. England.
4. พัดลมดูดอากาศ เส้นผ่าศูนย์กลางใบพัด 1 นิ้ว ของบริษัท Misushita corp. Japan.
5. ตู้เขี่ยเชื้อแบบ Laminar flow รุ่น BV124 ของบริษัท ISSCO Co, Ltd. USA.
6. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน (autoclave) ของบริษัท Kokusan Co, Ltd. Korea
7. ตู้อบฆ่าเชื้อ (Hot Air Oven) ของบริษัท Memmert Co, Ltd. Germany
8. เครื่องวิเคราะห์แก๊ส (Gas Chromatograph) รุ่น 5890 Serise II พร้อมชุดประมวลผลด้วยเครื่องคอมพิวเตอร์ ของบริษัท Hewlett Packard Corp. USA
9. จุกยาง(Rubber stopper) และฝาอลูมิเนียมปิดหลอดเก็บ ขนาดแก๊สเส้นผ่าศูนย์กลาง 20 มม. ของบริษัท ไบโมเมด กรุ๊ป จำกัด
10. ถังบรรจุแก๊สในโตรเจน และ แก๊สคาบอนไดออกไซด์ ของบริษัท TIG Co, Ltd. Thailand.
11. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) ของบริษัท Memmert Co, Ltd. Germany
12. เครื่องวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน (Kjeldalh) ของบริษัท Gerhardt Co, Ltd. England.
13. ตู้ทดลอง

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารเคมี

1. Potato Dextrose Agar (PDA) ของบริษัท Difco Chemical Corp. USA
2. เฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4$)
3. โปแตสเซี่ยมเปอร์แมงกาเนต ($KMnO_4$)
4. โปแตสเซี่ยมซัลเฟต (K_2SO_4
5. คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$
6. บอริค แอซิด (Boric acid)
7. โปแตสเซี่ยมไดโครเมท ($K_2Cr_2O_7$)
9. โซดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)
10. เมทธิล เรด (Methyl red)
11. เมทธิลีน บลู (Methylene blue)
12. ออโธฟีเนนโธรลีน (O-Phenanthroline)
13. ไดคลอโรมีเธน (CH_2Cl_2)

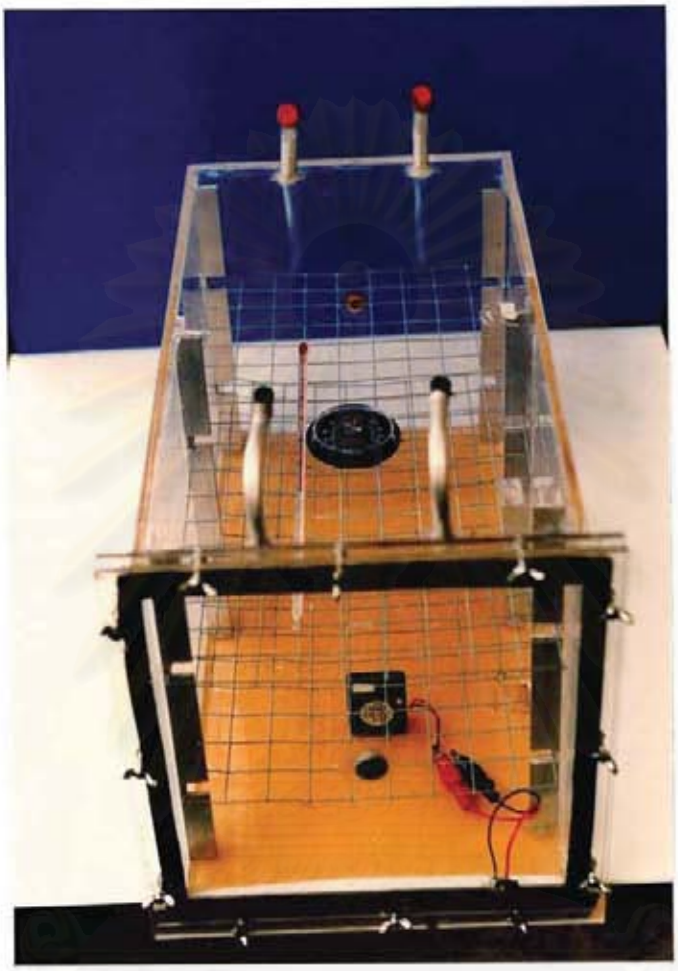
สารเคมีดังกล่าวมานี้ เป็นของบริษัท Merck Corp. Germany

วิธีการทดลอง

1. การสร้างตู้ทดลอง

ประกอบตู้ทดลอง ซึ่งทำด้วยแผ่นพลาสติกใสหนา 6 มม. ขนาด 25 X 50 X 25 ซ.ม. (กว้าง X ยาว X สูง) มีปริมาตร 31,250 ลบ. ซม. ภายในประกอบด้วยชั้นของตะแกรงลวด 2 ชั้น ผนังด้านบนเจาะรู 4 ช่อง ขนาดกว้าง 1 ซ.ม. ติดยางประเก็นกันรั่วที่ขอบด้านหน้าของตู้ ฝาปิดตู้ใช้แผ่นพลาสติกใสหนา 6 ม. ม. ขนาด 85 X 85 ซ.ม. เจาะรูที่ขอบทั้ง 4 ด้านๆละ 3 ช่อง เพื่อใช้เป็นที่ร้อยสกรูเมื่อปิดฝาตู้ และเจาะรูขนาดกว้าง 1.5 ซ.ม. ติดด้วยจุกยางให้แน่น เพื่อเป็นช่องสำหรับเก็บตัวอย่างแก๊ส ติดอุปกรณ์เต้ารับ (receptor) ที่ฝาตู้ให้อยู่ด้านนอกตู้ สำหรับต่อให้กระแสไฟฟ้าเข้าตู้ใช้กับพัดลมดูดอากาศที่ติดตั้งด้านล่างของตู้ ติดตั้งเครื่องวัดความชื้น (Hygrometer), เทอร์โมมิเตอร์ วางบนตะแกรงลวดบริเวณกลางตู้ (ภาพที่ 3 และ 4)

ภาพที่ 3 แสดงขั้นตอนการประกอบตู้ทดลองและอุปกรณ์



ภาพที่ 4 แสดงตู้ทดลองและอุปกรณ์

2. <u>เชื้อที่ใช้ทดลอง</u>

เชื้อที่ใช้ทดลองมีดังนี้ เห็ดฟาง *Volvariella volvacea* (V), ได้รับความอนุเคราะห์จากกรมวิชาการเกษตร เห็ดโคน *Termitomyces sp.* (T) ได้จากการแยกเชื้อจากดอกในห้องทดลองภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 4 สายพันธุ์คือ T1 เก็บดอกเห็ดมาจาก จ. กาญจนบุรี), T3 เก็บดอกเห็ดมาจาก เขตบางขุนเทียน กรุงเทพฯ สายพันธุ์ที่ได้จากการหลอมโปรโตพลาสต์ของเห็ดโคนสายพันธุ์ T3 ที่ได้จากโคโลนีการคืนกลับให้เป็นเซลล์ (regenerating colonies) อาหารแข็ง สายพันธุ์ T3A, T3B และเห็ดลูกผสมระหว่างเห็ดฟางกับเห็ดโคนสายพันธุ์ $VT1_{(4y)}$, $VT1_{(4y)}$, $VT1_{(7)}$, $VT1_{(7)}$ ซึ่งได้จากงานวิจัยของสุมาลี และวีรวัฒน์ (2534)

3. การเตรียมเชื้อเริ่มต้น (Inoculum)

นำสายใยเห็ดที่เลี้ยงในหลอดอาหารเอียง (slant agar) ถ่ายเชื้อลงเลี้ยงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (Potato Dextrose Agar) ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ (aseptic technique) เลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้อง จนกระทั่งสายใยเจริญเต็มผิวหน้าอาหาร PDA ซึ่งใช้เวลา 5 วัน แล้วเจาะโคโลนีด้วยเหล็กเจาะเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 ซ.ม. เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นที่ปลูกในจานเลี้ยงเชื้อ (PDA) และทำกล้าเชื้อ

4. การเตรียมกล้าเชื้อ (spawning)

อาหารที่ใช้คือเมล็ดข้าวฟ่างปริมาณ 450 กรัม แช่ในน้ำสะอาด คัดเมล็ดที่ลอยน้ำทิ้ง แช่ทิ้งไว้ 1 คืน นึ่งให้สุกที่อุณหภูมิประมาณ 100°ซ ใช้เวลา 1.5 ชั่วโมง ผึ่งในภาชนะที่สะอาดให้แห้งพอหมาด จากนั้นบรรจุเมล็ดข้าวฟ่างที่นึ่งแล้ว 50 กรัม ลงในขวดแก้ว (erlenmeyer flask) ขนาด 250 มล. อุดปากขวดด้วยจุกสำลี และปิดทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที นำออกมาทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำเชื้อเห็ดเริ่มต้น (จากข้อ 3) เจาะชิ้นวุ้นที่มีสายใยเจริญอยู่ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 ซ.ม. ย้ายชิ้นวุ้นจำนวน 5 ชิ้น ลงในขวดเมล็ดข้าวฟ่างด้วยวิธีปลอดเชื้อ เลี้ยงเชื้อเห็ดไว้ที่ 32°ซ จนกระทั่งสายใยเห็ดเจริญบนเมล็ดข้าวฟ่างจนทั่ว ซึ่งจะใช้เวลา 5 -- 7 วัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่ชนิดสายพันธุ์

5. การเตรียมอาหารวุ้นสำหรับปลูกในตู้ทดลอง

เตรียมอาหารวุ้น (PDA) ในหลอดทดลองมีปริมาตร 25 มล. นึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 15 นาที แล้วเทลงในจานเลี้ยงเชื้อที่มีแผ่นอลูมิเนียมสเกล (scale) ติดอยู่ภายใน ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 180°ซ นาน 2 ชั่วโมง ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ ตั้งทิ้งไว้ให้หยดน้ำภายในจานเลี้ยงเชื้อแห้งจึงนำไปใช้ได้

6. การเตรียมอาหารหมัก (Compost)

ใช้วัสดุทางการเกษตรคือ ไส้นุ่น 10 ก.ก. แช่ในน้ำสะอาดเป็นเวลานาน 12 ซ.ม. บีบน้ำออกให้เหลือความชื้นประมาณ 70 % นำไส้นุ่นลงหมักในกระบะไม้ขนาด 50 X 50 X 28 ซ.ม. ทำการกลับกองอาหารหมักทุก 2 วัน ขณะกลับกองจะเก็บตัวอย่างเพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณคาร์บอน และไนโตรเจน ทำการหมักเป็นเวลา 14 วัน แล้วใช้ปริมาณคาร์บอน และไนโตรเจนที่เหมาะสม ไปใช้เพาะเห็ดได้ (ภาพที่ 5)

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 5 การหมักใส้นุ่นในกระบะไม้

7. การวิเคราะห์ปริมาณคาร์บอนต่อไนโตรเจนในอาหารหมัก (C:N Ratio)

นำตัวอย่างอาหารหมักที่เก็บจากข้อ 5 มาหาความชื้น (moisture content) โดยชั่งตัวอย่าง 10 กรัม อบให้แห้งที่ 80°ซ. เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (ได้ตรวจสอบแล้วว่าความชื้นจะไม่มีการเปลี่ยนแปลงต่อไป) ชั่งและบันทึกน้ำหนักแห้ง คำนวนหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นในสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{\text{น.น. สด - น.น. แห้ง}}{\text{น.น. สด}} \times 100$$

เมื่อหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นแล้วบดตัวอย่างที่อบแห้งแล้วให้ละเอียดเพื่อนำไปใช้ใน ข้อ 7.1 และ 7.2

7.1 วิเคราะห์ปริมาณคาร์บอน (organic carbon) โดยใช้วิธีการของ Walkley - Black (Walkley, 1934)

ชั่งตัวอย่างที่บดแล้ว 0.06 กรัม ใส่ขวดแก้ว (erlenmeyer flask) ขนาด 250 มล. เติม 10 มล. ของ 1 นอร์มอล โปแตสเซี่ยมไดโครเมท ($K_2Cr_2O_7$) เขย่าเบาๆ และแรงขึ้นตามลำดับจนครบเวลา 1 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นบนตะแกรงลวด 30 นาที เติมน้ำ 200 มล. เขย่าให้เข้ากัน กรองเอาเฉพาะน้ำใส เติมอินดิเคเตอร์ของสารละลาย (O - Phenanthroline ferrous complex) 3 - 4 หยด นำไปไตเตรทกับสารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟต 0.5 นอร์มอล จนกระทั่งถึงจุดยุติ (end point) สารละลายจะเปลี่ยนจากสีเขียวอ่อน สีเขียวเข้ม สีฟ้า และสีแดงเลือดนก (maroon colour) ตามลำดับ วัดปริมาตรของสารละลายเฟอรัสซัลเฟตที่ใช้กับตัวอย่าง และที่ใช้กับ blank (ทำโดยวิธีเดียวกันแต่ไม่ใส่ตัวอย่าง) คำนวนหาเปอร์เซ็นต์ของคาร์บอนตามสูตร

$$\% \text{ organic C} = \frac{(S-B) \times N \times 0.39}{W}$$

B = ปริมาตร (มล.) ของสารละลายมาตรฐานเฟอรรัสซัลเฟตที่ใช้กับ blank

S = ปริมาตร (มล.) ของสารละลายมาตรฐานเฟอรรัสซัลเฟตที่ใช้กับ ตัวอย่าง

N = ความเข้มข้นของสารละลายเฟอรัสซลเฟตมีหน่วยเป็นนอร์มอล

W = น้ำหนักของตัวอย่าง

7.2 วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Total nitrogen)

โดยใช้วิธีเคลดาห์ล (Kjeldahl method) (Bremmer, 1970) ชั่งตัวอย่างที่บดแล้ว 0.5 กรัม ใส่ลงในขวดแก้วคอยาว (Kjeldahl flask) ขนาด 750 มล. เติมคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$) 0.5 กรัม และเติมโปแตสเซี่ยมซัลเฟต (K_2SO_4) 10 กรัม แล้วเติม 25 มล. ของกรดซัลฟูริคเข้มข้น เพื่อย่อยสลาย และเพิ่มความร้อนบนเตาย่อยที่ปรับความร้อนได้ โดยเริ่มจากความร้อนต่ำๆ ก่อน และสูงขึ้นตามลำดับ ย่อยจนได้สารละลายใส ทิ้งให้เย็น แล้วเติมน้ำ 200 มล. แล้วใส่เม็ดแก้ว (เพื่อกันการเกิด bumping ขณะกลั่น) จากนั้นค่อยๆเติมสารละลาย 40 % โซเดียมไฮดรอกไซด์

70 มล. เขย่าให้เข้ากัน นำขวดแก้วต่อกับชุดกลั่นเก็บแก๊สแอมโมเนีย แล้วกลั่นสารละลาย เก็บแก๊สแอมโมเนียที่เกิดขึ้น โดยผ่านลงในสารละลายบอริค แอซิด (Boric acid) 4 % ที่มี 3 - 4 หยด อินดิเคเตอร์ของสารละลายโบรโมครีซอลกรีน (Bromocresal green) และ เมทธิลเรด (Methyl red) ละลายใน 95 % เอธานอล (ภาคผนวก ข) เก็บสารละลายที่กลั่นได้ให้ได้ปริมาตร 200 มล. นำสารละลายที่เก็บได้นี้ไปไตเตรทกับสารละลายกรดไฮโรคลอริคมาตรฐานความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล จนกระทั่งถึงจุดยุติ สารละลายจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วง วัดปริมาตรสารละลายกรดไฮโดรคลอริคที่ใช้กับตัวอย่าง และที่ใช้กับ blank (ที่ทำโดยวิธีเดียวกันแต่ไม่มีตัวอย่าง) คำนวนหาเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนทั้งหมดด้วยสูตร

$$\text{Total N (\%)} = \frac{(S - B) \times N \times 0.014 \times 100}{W}$$

B = ปริมาตร (มล.) ของสารละลายมาตรฐานกรดไฮโรคลอริคที่ใช้กับ blank

S = ปริมาตร (มล.) ของสารละลายมาตรฐานกรดไฮโรคลอริคที่ใช้กับตัวอย่าง

N = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดไฮโรคลอริคมีหน่วยเป็นนอร์มอล

W = น้ำหนักของตัวอย่าง

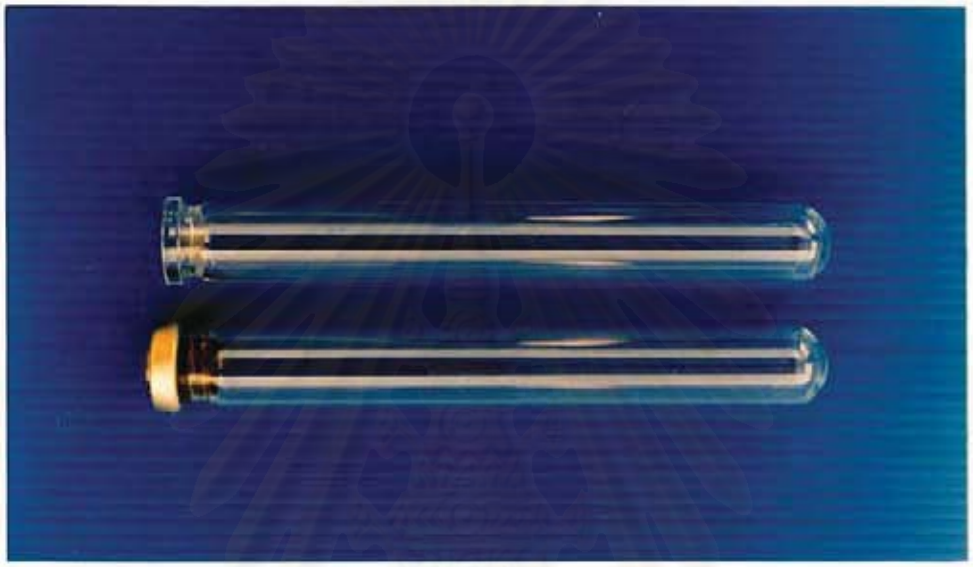
8. <u>การวิเคราะห์ปริมาณแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์</u>

8.1. การเตรียมหลอดเก็บแก๊ส

หลอดที่ใช้เก็บแก๊สเป็นหลอดแก้วชนิดหนาแน่นปริมาตร 28 มล. พ่นไล่อากาศภายในหลอดออก ด้วยแก๊สไนโตรเจน โดยสอดสายยางที่ต่อจากถังแก๊สไนโตรเจนเข้าไปในหลอดแก้ว เปิดวาล์วให้แก๊สไนโตรเจนไหลเข้าสู่หลอด เป็นเวลา 2 นาที ปิดหลอดด้วยจุกยาง (rubber stopper) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 20 ม.ม. ในขณะที่ยังพ่นด้วยแก๊สไนโตรเจน สวมปิดทับจุกยางด้วยฝาอลูมิเนียม แล้วใช้คีมบีบให้ติดแน่นกับหลอดแก้ว (ภาพที่ 6)

เนื่องจากมีแก๊สไนโตรเจนที่มีปริมาตรเกินปริมาตรความจุของหลอดแก้ว ทำให้ภายในมีความดันมากกว่าปกติ ดังนั้นจึงต้องเอาปริมาตรแก๊สที่เกินนั้นออกโดยใช้กระบอกฉีดยาที่ทำด้วยแก้วที่มีหัวล็อคความดัน (head- lock pressure) ที่สวมกับเข็ม (ภาพที่ 7)

ใช้เข็มแทงทะลุผ่านจุกยางเข้าไปในหลอด กดปุ่มหัวล็อคไปที่ตำแหน่งเปิด (สีเขียว) ปล่อยให้แก๊สที่อยู่ภายในหลอดแก้วดันก้านดัน (puncture) ของกระบอกฉีดยาเคลื่อนที่ออกจนกระทั่งเมื่อก้านดันหยุดเคลื่อนที่ กดปุ่มที่หัวล็อคไปที่ตำแหน่งปิด (สีแดง)และดึงเข็มออกอย่างรวดเร็ว ซึ่งจะทำให้ภายในหลอดแก้วจะมีแก๊สไนโตรเจนที่พอดีกับความจุของหลอดแก้ว



ภาพที่ 6 แสดงหลอดที่จะใช้เตรียมเก็บแก๊สซึ่งปิดหลอดด้วยจุกยาง rubber stoper และ ฝาอลูมิเนียม

ภาพที่ 7 แสดงกระบอกฉีดยาและหัวล็อคความดัน (head lock pressure)

8.2 การเก็บแก๊สจากตู้ทดลอง

ใช้กระบอกฉีดยาดูดเอาแก๊สไนโตรเจน 5 มล. จากหลอดแก้วที่เตรียมจากข้อ 8.1 ซึ่งจะเท่ากับปริมาตรแก๊สตัวอย่างที่จะใส่เข้าไปในหลอด คือ 5 มล. สำหรับในตู้ทดลองจะเปิดพัดลม 10 นาที ให้อากาศผสมกันก่อนจะเก็บแก๊สตัวอย่าง เก็บแก๊สโดยใช้กระบอกฉีดยาเก็บแก๊สในตู้ทดลองมา 5 มล. กดปุ่มหัวล็อคที่ตำแหน่งปิด ฉีดแก๊สตัวอย่างเก็บในหลอดแก้วที่เตรียมดังกล่าวข้างต้น นำไปวิเคราะห์ เปอร์เซ็นต์ CO_2 ต่อไป

8.3. การวิเคราะห์ปริมาณแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์

วิเคราะห์แก๊สตัวอย่างด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ (Gas Chromatograph) สภาวะของเครื่องที่ใช้ในการวิเคราะห์ ใช้คอลัมน์ Porapack Q ความยาว 1.5 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 5 ม.ม. ใช้เครื่องตรวจจับแบบ TCD (Thermal Conductivity Detector) อุณหภูมิของ Injection port 120°ซ และของ Oven 80°ซ. แก๊สพา (Carrier gas) ใช้แก๊สฮีเลียม อัตราการไหล 1.5 ลิตรต่อนาที ใช้ปริมาตรของแก๊สตัวอย่างในการวิเคราะห์ 0.5 มล. นำผลที่ได้มาคำนวนเปอร์เซ็นต์แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีในแก๊สตัวอย่างในสูตร

$$\% CO_2 = A \times S$$

A = พื้นที่จากการคำนวนใต้กราฟของคาร์บอนไดออกไซด์จากแก๊สตัวอย่าง

S = ค่าความชัน (slop) ของกราฟมาตรฐานของคาร์บอนไดออกไซด์

9. <u>ศึกษาผลของ CO_2 ต่อการเจริญของสายใย</u>

9.1 การปลูกในระบบกึ่งเปิด-ปิด

การปลูกในระบบนี้จะมีการเปิดตู้ทดลองเพื่อให้อากาศทุก 24 ชั่วโมง หลังจากให้อากาศ 15 นาที จะปิดตู้ทดลองและเลี้ยงเชื้อต่ออีก 24 ชั่วโมง

นำเชื้อเริ่มต้นของเห็ดฟาง, เห็ดโคน สายพันธุ์ T1, T3, T3A, T3B และ เห็ดลูกผสมระหว่างเห็ดฟางกับเห็ดโคน สายพันธุ์ $VT1_{(4y)}$, $VT1_{(4yt)}$, $VT1_{(7)}$, $VT1_{(7t)}$ ที่เตรียมจากข้อ 2 ที่เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว เจาะชิ้นวุ้นด้วยเหล็กเจาะเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 ซ.ม. ย้ายชิ้นวุ้นลงบนอาหาร ที่จุดกึ่งกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (ที่เตรียมในข้อ 4) จำนวน 40 จานเลี้ยงเชื้อ ต่อ 1 สายพันธุ์ แล้วทำการบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 32°ซ. เป็นเวลา 3 วัน วัดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีก่อนนำเข้าตู้ทดลอง

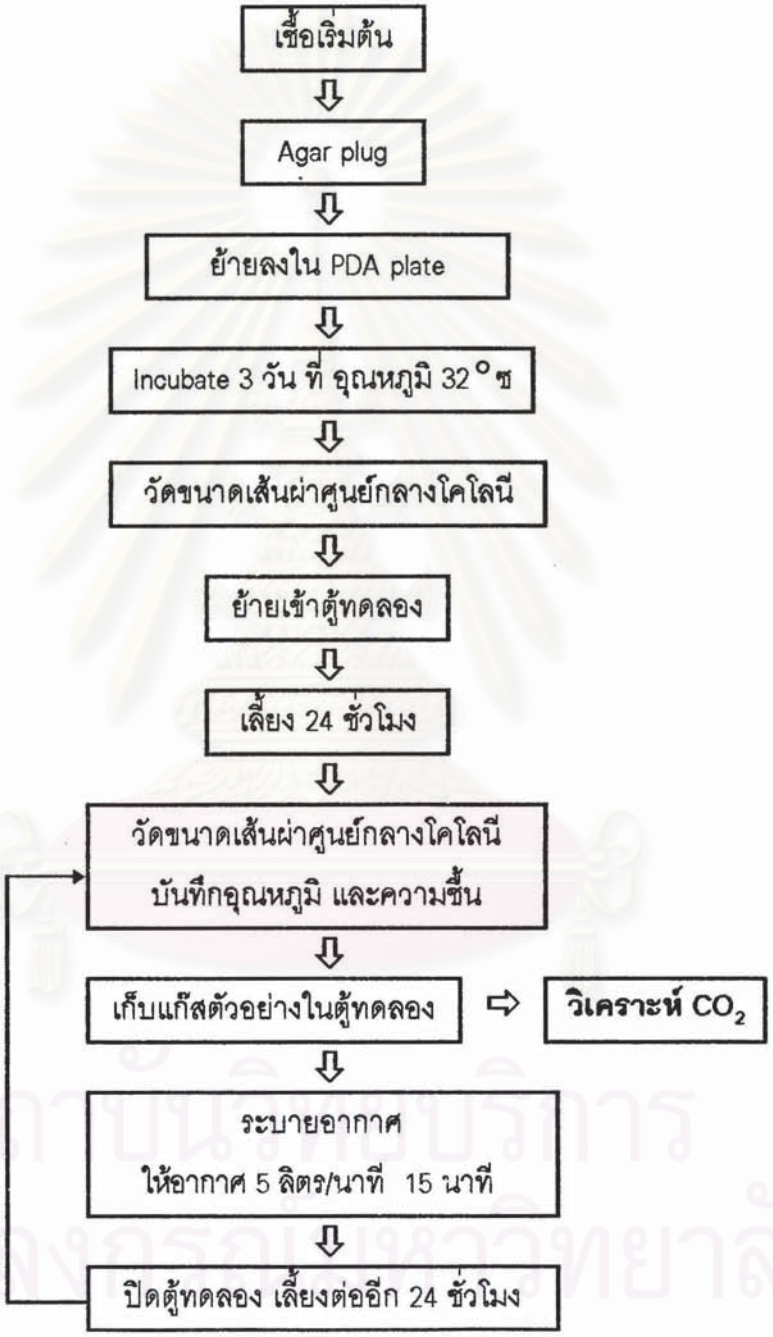
นำจานเลี้ยงเชื้อข้างต้น 20 จานเลี้ยงเชื้อต่อสายพันธุ์ บรรจุลงในตู้ทดลองแต่ละตู้ที่ผ่านการรมฆ่าเชื้อด้วย ด่างทับทิม ($KMnO_4$) ผสมกับฟอร์มาลิน 40 % (ภาคผนวก ข หมายเลข 8) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อบรรจุแล้วเปิดฝาจานเลี้ยงเชื้อออก จากนั้นปิดฝาตู้ทดลองให้สนิท เลี้ยงเชื้อไว้ 24 ชั่วโมงเก็บแก๊สที่อยู่ในตู้ทดลองไปวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ CO_2 และวัดการเจริญของโคโลนี โดยวัดจากสเกลที่วางไว้ในจานเลี้ยงเชื้อจากภายนอกตู้ทดลอง บันทึกอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ในตู้ทดลอง เมื่อเก็บแก๊สและบันทึกข้อมูลเสร็จแล้ว เปิดช่องระบายอากาศของตู้ทดลอง และปล่อยอากาศเข้าไปในตู้ทดลอง โดยใช้เครื่องให้อากาศ ด้วยอัตราการไหลของอากาศ 5 ลิตรต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที จึงปิดตู้ทดลอง เลี้ยงเชื้อต่อไปอีก 24 ชั่วโมง จึงเก็บแก๊สในตู้ทดลองไปวิเคราะห์ตามวิธีในข้อ 8.3 และบันทึกข้อมูลดังกล่าวข้างต้น ทำการเช่นนี้เป็นเวลา 6 วัน โดยทำการทดลอง 2 ซ้ำ ๆ ละ 20 จานเลี้ยงเชื้อต่อ 1 ตู้ทดลอง ต่อ 1 สายพันธุ์

9.2 การปลูกในระบบปิด

ในระบบนี้จะไม่มีการเปิดตู้ทดลองหลังจากมีการเลี้ยงเชื้อในตู้ทดลอง

นำเชื้อเริ่มต้นของเห็ดฟาง, เห็ดโคน สายพันธุ์ T1, T3, T3A, T3B และเห็ดลูกผสมระหว่างเห็ดฟางกับเห็ดโคน สายพันธุ์ $VT1_{(4y)}$, $VT1_{(4y)'}$, $VT1_{(7)}$, $VT1_{(7)'}$ ที่เตรียมจากข้อ 3 เจาะชิ้นวุ้นเป็นชิ้นกลม เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 ซ.ม. ที่เตรียมจากข้อ ที่เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว เจาะชิ้นวุ้นด้วยเหล็กเจาะ เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 ซ.ม. ย้ายชิ้นวุ้นลงบนอาหาร ที่จุดกึ่งกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (ที่เตรียมในข้อ 4) จำนวน 40 จาน ต่อ 1 สายพันธุ์ แล้วทำการบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 32°ซ. เป็นเวลา 3 วัน วัดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีก่อนนำเข้าตู้ทดลอง จากนั้นนำจานเลี้ยงเชื้อข้างต้น 20 จานเลี้ยงเชื้อต่อสายพันธุ์ บรรจุลงในตู้ทดลองแต่ละตู้ ที่ผ่านการรมฆ่าเชื้อด้วย ด่างทับทิม ผสมกับฟอร์มาลิน 40 % (ภาคผนวก ข หมายเลข 8) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อบรรจุแล้วเปิดฝาจานเลี้ยงเชื้อออก จากนั้นปิดฝาตู้ทดลองให้สนิท เก็บแก๊สในตู้ทดลองไปวิเคราะห์ % คาร์บอนไดออกไซด์ ที่เกิดขึ้นในชั่วโมงแรก เลี้ยงเชื้อไว้ 24 ชั่วโมง เก็บแก๊สในตู้ทดลอง ไปวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ CO_2 ตามวิธีการข้อ 8.3 และวัดการเจริญของสายใย โดยวัดจากสเกลที่วางไว้ในจานเลี้ยงเชื้อจากภายนอกตู้ทดลอง บันทึกอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ ในตู้ทดลอง ปฏิบัติเช่นนี้ทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 6 วัน ทำการทดลอง 2 ซ้ำ ๆละ 20 จานเลี้ยงเชื้อต่อ 1 ตู้ทดลอง ต่อ 1 สายพันธุ์

ภาพที่ 8 แสดงขั้นตอนการทดลองในระบบกึ่งเปิด - ปิด



ภาพที่ 9 แสดงขั้นตอนการทดลองในระบบปิด

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

10. ผลของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการเกิดปุ่มดอกของเห็ด

นำอาหารหมักที่เตรียมในข้อ 5 น้ำหนัก 200 กรัม บรรจุในถุงพลาสติก ขนาด 5 × 7 ซ.ม. นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 5 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็น ย้ายกล้าเชื้อเห็ดฟาง, เห็ดโคน สายพันธุ์ T1, T3, T3A, และเห็ดลูกผสมระหว่างเห็ดฟางกับเห็ดโคน สายพันธุ์ $VT1_{(4y)}$, $VT1_{(4yt)}$, $VT1_{(7)}$, $VT1_{(7t)}$ ที่เตรียมในข้อ 3 น้ำหนัก 5 กรัม ลงบนอาหารหมักด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ ผนึกปากถุงด้วยลวดเย็บกระดาษ เลี้ยงเชื้อเห็ดไว้ที่อุณหภูมิ 32°ซ. ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ จนกระทั่งสายใยเจริญเต็มถุงอาหารหมัก (ประมาณ 5 วัน)

นำถุงอาหารหมักที่บ่มไว้และมีสายใยเห็ดเจริญเต็มแล้วบรรจุเข้าเลี้ยงในตู้ทดลองตู้ละ 8 สายพันธุ์ ๆ ละ 1 ถุงโดยกรีดถุงพลาสติกออก แล้ววางก้อนเชื้อเห็ดบนตะแกรงในตู้ทดลอง จากนั้นปิดตู้ทดลองให้สนิท คลุมตู้ทดลองด้วยพลาสติกสีดำ เลี้ยงเชื้อ 24 ชั่วโมง แล้วเก็บแก๊สที่อยู่ในตู้ทดลองไปวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ CO_2 จากนั้นเปิดช่องระบายอากาศ และปล่อยอากาศเข้าไปในตู้ทดลอง โดยใช้เครื่องให้อากาศ ในอัตราการไหลของอากาศ 5ลิตรต่อนาทีเป็นเวลา15นาที (ซึ่งได้ทดลองแล้วว่าในสภาวะนี้จะมีเปอร์เซ็นต์ CO_2 เท่ากับอากาศปกติ) จากนั้นปรับอัตราการให้อากาศ (ใช้ Air flow meter เป็นตัวปรับ) ให้สัมพันธ์กับ เปอร์เซ็นต์CO_2 ที่ต้องการ (ดังตัวเลขในตารางข้างล่าง ซึ่งได้จากการทดสอบก่อนทำการทดลองจริง) และเก็บแก๊สจากตู้ทดลองทุก 24 ชั่วโมง ไปวิเคราะห์ CO_2 เพื่อตรวจสอบว่า CO_2 อยู่ในช่วงที่กำหนดหรือไม่ ถ้าหากไม่อยู่ในช่วงที่กำหนด จะต้องมีการปรับอัตราการไหลของอากาศให้เหมาะสม บันทึกอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ จำนวนปุ่มดอกที่เกิดขึ้น ทุก 24 ชั่วโมงเป็นเวลา 10 วัน โดยทำการทดลอง 2 ซ้ำต่อช่วงความเข้มข้น CO_2

ตารางแสดงการปรับอัตราการให้อากาศต่อช่วงของคาร์บอนไดออกไซด์ในตู้ทดลอง

อัตราการให้อากาศ (ลิตร/นาที)	% คาร์บอนไดออกไซด์
ปิดไม่ให้อากาศ (control)	2 - 7
0.5	1.1 - 1.9
1.5	0.7 - 0.8
2.5	0.5 - 0.6
3.5	0.2 - 0.5
4.5	0.06 - 0.13

วางแผนการทดลองทางสถิติวิธี CRD (Completely Randomized Design) โดยทำการทดลองในแต่ละช่วงของ เปอร์เซ็นต์ของ CO_2 ช่วงละ 2 ซ้ำ นำผลที่ได้มาวิเคราะห์ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของช่วงเปอร์เซ็นต์ของ CO_2 ด้วยวิธี Dancan's Multiple Range Test วิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ โดยใช้โปรแกรมทางคอมพิวเตอร์ SAS (_Statisical Analysis System) (สุชาดา และ จลีพร, 2534)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. <u>การสร้างตู้ทดลอง</u>

จากการประกอบตู้ทดลองขนาด 25 X 50 X 25 ซ.ม. มีปริมาตร 31,250 ลบ. ซม. ทดสอบประสิทธิภาพของตู้ โดยทดสอบการรั่วของตู้ทดลอง โดยการปิดตู้ทดลองให้สนิท แล้วนำไปแช่น้ำ พบว่าน้ำไม่สามารถซึมเข้าไปในตู้ทดลองได้ จากนั้นทดสอบการรั่วซึมของอากาศในตู้ทดลองโดยการบรรจุแก๊ส CO_2 เข้าไปในตู้ทดลอง ปิดตู้ทดลองให้สนิท แล้วเก็บแก๊สในตู้ทดลองไปวิเคราะห์ พบว่า CO_2 มีความเข้มข้น 99.5 % จากนั้นอีก 24 ชั่วโมง เก็บแก๊สในตู้ทดลองไปวิเคราะห์ พบว่า CO_2 ยังมีความเข้มข้น 99.5 % เท่าเดิม

สำหรับประสิทธิภาพการทำงานของอุปกรณ์ในตู้ทดลองได้แก่ พัดลม เมื่อต่อกระแสไฟฟ้าเข้าไปพัดลมมีการทำงานเป็นปกติ และกวนอากาศภายในตู้ทดลองให้ผสมกันได้ดี สำหรับอุปกรณ์ไฮโกรมิเตอร์มีประสิทธิภาพแสดงค่าของความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศในตู้ทดลองได้ และเทอร์โมมิเตอร์แสดงค่าอุณหภูมิในตู้ทดลองได้อย่างปกติ

2. <u>การเตรียมกล้าเชื้อ</u>

เลี้ยงเชื้อบริสุทธิ์ของแต่ละสายพันธุ์ของเห็ดฟาง (*Volvariella volvacea* ; V) เห็ดโคน (*Termitomyces sp.*) สายพันธุ์ T1, T3, T3A ,T3B และเห็ดลูกผสมจากการรวมเซลล์สายพันธุ์ VT1 $_{(4y)}$, VT1$_{(4y')}$, VT1$_{(7)}$, VT1$_{(7')}$ ในอาหารเมล็ดข้าวฟ่าง (Jalavtcharana, 1950 และ Chang, 1989) ที่นึ่งสุกแล้วปริมาณ 50 กรัมในขวดทดลองขนาด 250 มล. บ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ที่ 32°ซ เป็นเวลา 5--7 วัน สายใยจะเจริญได้เร็วบนเมล็ดข้าวฟ่างจนทั่ว ซึ่งพร้อมที่จะนำไปเป็นกล้าเชื้อในการปลูกในอาหารหมัก (ภาพที่ 10)

3. <u>การเตรียมอาหารหมัก</u>

จากการทดลองหมักวัสดุการเกษตรคือ ใส้นุ่น ลงในกระบะไม้ ทำการกลับกองอาหารหมักทุกๆ 2 วัน แล้วเก็บตัวอย่างไปวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์ความชื้น ปริมาณคาร์บอนและไนโตรเจน โดยทำการหมักเป็นเวลา 14 วัน ลักษณะของอาหารที่หมัก สีและเนื้อของอาหารหมักดังแสดงในภาพที่ 11

ภาพที่ 10 แสดงกล้าเชื้อ (spawning) ของสายใยเห็ดฟาง เห็ดโคน และเห็ดลูกผสม ที่เลี้ยงในเมล็ดข้าวฟ่าง

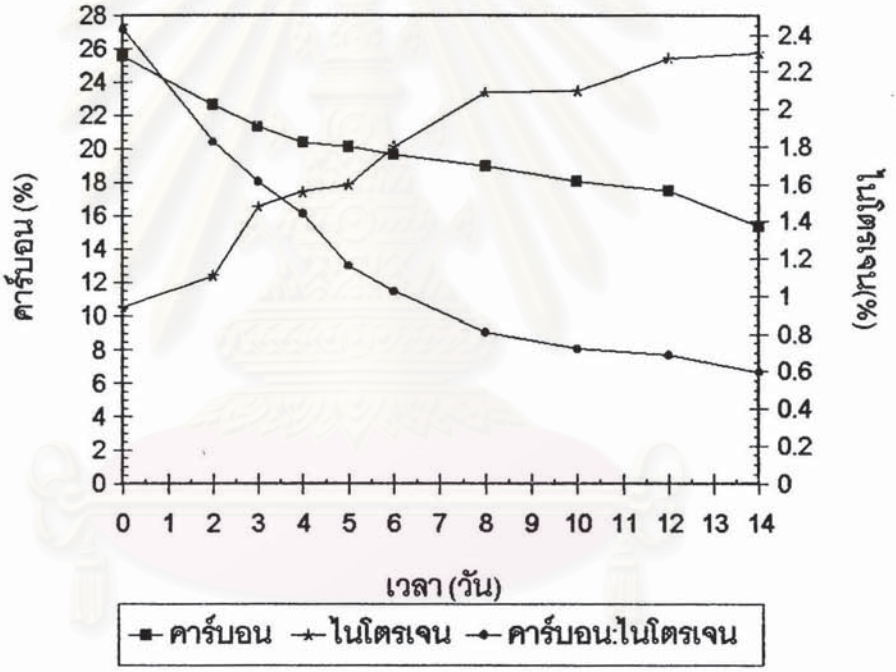
หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 11 แสดงอาหารหมักที่บรรจุในถุงพลาสติก และผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว

4. ผลการวิเคราะห์ค่าความชื้น ปริมาณคาร์บอนและไนโตรเจน ในอาหารหมักไส้นุ่น

อาหารหมักไส้นุ่นที่เก็บตัวอย่างมาทุกๆ 2 วัน จะนำมาหาความชื้นโดยการอบแห้ง วิเคราะห์ปริมาณคาร์บอน โดยวิธีการของ Walkley-Black (Walkley, 1934) และปริมาณไนโตรเจน โดยใช้วิธีเคลดาห์ล (Kjeldahl method) ของ Bremmer, (1970) แล้วคำนวณหาอัตราส่วนระหว่าง คาร์บอน และไนโตรเจน ได้ผลภาพที่ 12 และตารางที่ 1

ภาพที่ 12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างคาร์บอน ไนโตรเจน และอัตราส่วนของคาร์บอนต่อ ไนโตรเจน ในอาหารหมักไส้นุ่น เป็นเวลา 14 วัน



จากภาพที่ 12 ผลการหมักไส้นุ่นเป็นเวลา 14 วัน มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์บอน ไนโตรเจน และอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจน ซึ่งในวันแรกของการหมักจะมีปริมาณ คาร์บอน 25.58 % และไนโตรเจน 0.94 % เมื่อทำการหมักต่อไป จนถึงวันที่ 14 พบว่าปริมาณ คาร์บอนจะลดลงเหลือ 15.36 % ส่วนปริมาณไนโตรเจนจะเพิ่มขึ้นเป็น 2.29 % จะเป็นผลให้ อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจนในวันแรกเป็น 27.21 : 1 แล้วลดลงมาในวันที่ 14 จะเท่ากับ 6.70 : 1

ผลของการหมักไส้นุ่น เป็นเวลา 14 วัน ไส้นุ่นจะมีความชื้น อยู่ในช่วง 68.2 - 76 % ความชื้นจะค่อยๆ ลดลงเมื่อเวลาในการหมักนานขึ้น (ผลในตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แสดงค่าความชื้น ปริมาณของคาร์บอน ไนโตรเจน และอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจน ในอาหารหมักไส้นุ่น

วันที่	คาร์บอน (%)	ไนโตรเจน (%)	คาร์บอนต่อไนโตรเจน	ความชื้น (%)
0	25.58	0.94	27.21	76
2	22.69	1.11	20.44	74
3	21.34	1.18	18.08	70
4	20.38	1.26	16.17	70
5	20.84	1.60	13.02	71
6	19.69	1.80	11.49	70
8	18.97	2.09	9.07	70
10	18.11	2.24	8.08	71
12	17.48	2.27	7.70	70
14	15.36	2.29	6.70	68.2

จากตารางที่ 1 พบว่า ปริมาณของคาร์บอน ในวันที่ 1 เป็น 25.58 % เมื่อทำการหมักในวันต่อมาพบว่าปริมาณของคาร์บอนลดลงเหลือ 22.69, 21.34, 20.38, 20.84, 19.39, 18.97, 18.11, 17.48 และ 15.36 % ตามลำดับ สำหรับปริมาณของไนโตรเจนเป็นในวันที่ 1 เป็น 0.94 % และจะเพิ่มขึ้นเป็น 1.11, 1.18, 1.26, 1.60, 1.80, 2.09, 2.24, 2.27 และ 2.29 % ตามลำดับ ซึ่งเป็นผลให้อัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจน ในช่วงการหมัก 14 วัน ที่เก็บผลมาวิเคราะห์ทุกๆ 2 วันเป็น 27.21, 20.44, 18.08, 16.17, 12.02, 11.49, 9.07, 8.08, 7.70 และ 6.70 ตามลำดับ

ผลการหมักไส้นุ่นในการทดลองนี้จะตรงกับวันที่ 4 ของการหมัก ซึ่งให้อัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจน เท่ากับ 16.17:1 ความชื้นในวัสดุเพาะประมาณ 70 % ดังนั้นจึงใช้ไส้นุ่นที่มีอายุการหมัก 4 วัน เป็นอาหารที่ใช้ในการเพาะเห็ด

Chang (1989) และอัจฉรา (2530) ได้รายงานว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมของคาร์บอนต่อไนโตรเจนในการเจริญของเห็ดฟางคือ 16.25:1 และความชื้นในวัสดุเพาะเห็ดฟางที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 70 - 75 %

ในการหมักไส้นุ่น พบว่าปริมาณของคาร์บอนลดลงนั้น เนื่องมาจากในการหมัก มีจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เช่น รา แบคทีเรีย แอคทิโนมัยซีส เจริญเติบโตในกองหมัก และใช้คาร์บอน

ซึ่งอยู่รูปโมเลกุลใหญ่เช่น เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ที่อยู่ในไส้นุ่นเป็นอาหารในการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนเซลล์มากมาย และสร้างสารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ เช่น กรดอะมิโน โปรตีน และเอนไซม์ ขึ้นในตัวของจุลินทรีย์เหล่านั้น ดังนั้น เมื่อใช้เวลาหมักนานขึ้น ปริมาณคาร์บอนจะลดลง ไนโตรเจนจึงเพิ่มขึ้น จึงมีผลทำให้อัตราส่วนของคาร์บอน ต่อไนโตรเจนลดต่ำลง (Nair, 1982)

5. <u>การวิเคราะห์ปริมาณแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์</u>

วิเคราะห์แก๊ส CO_2 มาตรฐานและแก๊สตัวอย่างด้วย เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ (Gas (Chromatograph, GC) โดยใช้ปริมาตรของแก๊สตัวอย่างในการวิเคราะห์ 0.5 มล. ผลของการวิเคราะห์จากเครื่อง GC ได้แสดงเป็นโครมาโตแกรมของแก๊ส CO_2 และแก๊สไนโตรเจน (ตัวอย่างของผลการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ค) ซึ่งในสภาวะของเครื่อง GC ที่ใช้ทดลองนี้ (ใช้คอลัมน์ Porapack Q ความยาว 1.5 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 5 ม.ม. ใช้เครื่องตรวจจับแบบ TCD (Thermal Conductivity Detector) อุณหภูมิของ Injection port 120°ซ และของ Oven 80°ซ. แก๊สพา (Carrier gas) ใช้แก๊สฮีเลียม อัตราการไหล 1.5 ลิตรต่อนาที) จะได้ค่าการเคลื่อนที่ของแก๊สต่อเวลา (retention time) ของแก๊สไนโตรเจนและแก๊ส CO_2 ประมาณ 0.35 และ 0.85 นาที ตามลำดับ และแสดงผลของพื้นที่ใต้โครมาโตแกรมของ CO_2 นำผลที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์ CO_2 ที่มีในแก๊สตัวอย่าง

การสร้างกราฟมาตรฐานของ CO_2 ที่ทราบความเข้มข้น โดยเตรียมความเข้มข้นของ CO_2 เป็น 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 % แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC จากนั้นสร้างกราฟระหว่างเปอร์เซ็นต์ CO_2 และพื้นที่ใต้โครมาโตแกรม จะได้กราฟที่มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง (ภาคผนวก ค) ซึ่งคำนวณหาความชันของกราฟได้เป็นค่าคงที่ไว้สำหรับคำนวณเปอร์เซ็นต์ CO_2

6. <u>ผลของ CO_2 ต่อการเจริญของสายใย</u>

จากการศึกษาผลของ CO_2 ต่อการเจริญของสายใยของเชื้อสายพันธุ์เห็ดฟาง, เห็ดโคน สายพันธุ์ T1, T3, T3A, T3B และเห็ดลูกผสมระหว่างเห็ดฟางกับเห็ดโคน สายพันธุ์ $VT1_{(4y)}$, $VT1_{(4y)'}$, $VT1_{(7)}$, $VT1_{(7)'}$ ที่เจริญบนบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และเลี้ยงในตู้ทดลอง 2 สภาวะ คือ ระบบกึ่งเปิด-ปิด และระบบปิด แล้ววิเคราะห์ปริมาณ CO_2 ที่เกิดขึ้นภายในตู้ในแต่ละวัน ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ เปรียบเทียบกับการเจริญของโคโลนี ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 2 และภาพที่ 13 และ 14

ตารางที่ 2 แสดงการเจริญของสายใยเห็ดฟาง, เห็ดโคน สายพันธุ์ T1, 3, T3A, T3B และ เห็ด

ตารางที่ 2 แสดงการเจริญของสายใยเห็ดฟาง, เห็ดโคน สายพันธุ์ T1, 3, T3A, T3B และ เห็ดลูกผสมระหว่าง เห็ดฟางกับเห็ดโคน สายพันธุ์ $VT1_{(4y)}$, $VT1_{(4y't)}$, $VT1_{(7)}$, $VT1_{(7't)}$ ปริมาณ CO_2 ที่เกิดขึ้น อุณหภูมิ และความชื้น ของภาวะการเลี้ยงในตู้ทดลองระบบเปิด - ปิด เป็นเวลา 6 - 8 วัน

เชื้อ	เวลา (วัน)	การเจริญ (ซ.ม.)	พื้นที่การจริญ ($ซ.ม.^3$)	พื้นที่การเจริญทั้งหมด ($ซ.ม.^3$)	% co_2	ความชื้น (%)	อุณหภูมิ (%)
V	1	2.275	4.0649	81.2987	0.03	100	34
	2	4.57	16.4030	328.0600	0.1	100	29
	3	6.68	35.0464	700.9286	0.4	99	32
	4	8.315	54.3019	1086.0389	0.55	100	32
	5	8.9	63.6174	1211.227	1.27	95	33
	6	9	63.6174	1272.348	1.51	100	29
T1	1	2.15	3.6303	72.6079	0.03	80	29
	2	3.85	11.6415	232.8318	0.135	80	30
	3	6	28.2744	565.488	0.295	80	31
	4	7.6	45.3647	907.2940	0.53	80	31
	5	8.45	56.0795	1121.5904	0.75	85	30
	6	9	63.6174	1272.348	0.895	86	30
T3	1	2.125	3.5465	70.9314	0.03	90	30
	2	3.15	7.79313	155.8626	0.3	85	31
	3	4.365	14.9644	299.2880	0.35	90	31
	4	5.35	22.4801	449.6022	0.38	90	32
	5	6.05	28.7476	574.9520	0.43	95	31
	6	7.1	39.5920	791.8402	0.49	100	29
	7	8.1	51.5300	1030.6018	0.54	100	30
	8	9	63.6174	1272.348	0.9	100	31
T3A	1	3.95	12.2542	245.0840	0.03	75	30
	2	4.7	17.3494	346.9892	0.36	80	32
	3	5.4	22.9022	458.0452	0.47	75	33
	4	6.25	30.6796	613.5937	0.51	80	31
	5	7.35	42.4292	848.5854	0.63	75	31
	6	7.9	49.0168	980.3362	0.71	80	29

ตารางที่ 2 (ต่อ)

เชื้อ	เวลา (วัน)	การเจริญ (ซ.ม.)	พื้นที่การจริญ ($ซ.ม.^3$)	พื้นที่การเจริญทั้งหมด ($ซ.ม.^3$)	% co_2	ความชื้น (%)	อุณหภูมิ (%)
	7	8.5	56.7451	1134.903	0.85	80	28
	8	9	63.6174	1272.348	0.94	90	29
T3B	1	3.45	9.3482	186.9644	0.03	90	30
	2	4.255	14.2196	284.3937	0.305	85	31
	3	4.85	18.4745	369.4914	0.42	90	31
	4	5.81	26.5120	530.2408	0..5	90	32
	5	6.7	35.2566	705.1321	0..55	95	31
	6	7.6	45.3647	907.2940	0.78	100	29
	7	8.1	51.5300	1030.6018	0.84	100	30
	8	9	63.6174	1272.348	0.97	100	31
$VT1_{(4Y)}$	1	3.2	8.0424	160.8499	0.03	81	29
	2	4.3	14.5220	290.4409	0.36	80	29
	3	5.15	20.8307	416.6154	0.54	80	30
	4	6.1	29.2247	584.4946	0.78	80	30
	5	8	50.2656	1005.312	1.15	88	31
	6	9	63.6174	1272.348	1.65	90	31
$VT1_{(4Y)}$	1	3.35	8.8141	176.2830	0.03	90	29
	2	4.5	15.9043	318.087	0.42	90	29
	3	5.6	24.6301	492.6028	0.65	95	30
	4	6.55	33.6956	673.9124	0.81	98	30
	5	7.65	45.9635	919.2714	1.27	98	31
	6	9	63.6174	1272.348	1.6	100	31
$VT1_{(7)}$	1	2.575	5.2076	104.1538	0.03	84	34
	2	4.46	15.6228	312.4572	0.01	88	31
	3	5.68	25.3388	506.7779	0.14	85	32
	4	7.34	42.3138	846.2779	0.25	90	31
	5	8.92	62.4914	1249.8291	0.34	78	34
	6	9	63.6174	1272.348	0.37	98	28

ตารางที่ 2 (ต่อ)

เชื้อ	เวลา (วัน)	การเจริญ (ซ.ม.)	พื้นที่การจริญ ($ซ.ม.^3$)	พื้นที่การเจริญทั้งหมด ($ซ.ม.^3$)	% co_2	ความชื้น (%)	อุณหภูมิ (%)
$VT1_{(ต่)}$	1	2.365	4.3929	87.8583	0.03	100	34
	2	3.745	11.0152	220.3050	0.18	92	31
	3	6.78	36.1035	722.0716	0.27	95	32
	4	7.555	44.8290	896.5816	0.55	95	32
	5	8.5	63.6174	1134.900	1.12	85	33
	6	9	63.6174	1272.348	1.17	100	27

6.1 ผลของการศึกษา CO_2 ต่อการเจริญของสายใยในระบบกึ่งเปิด-ปิด

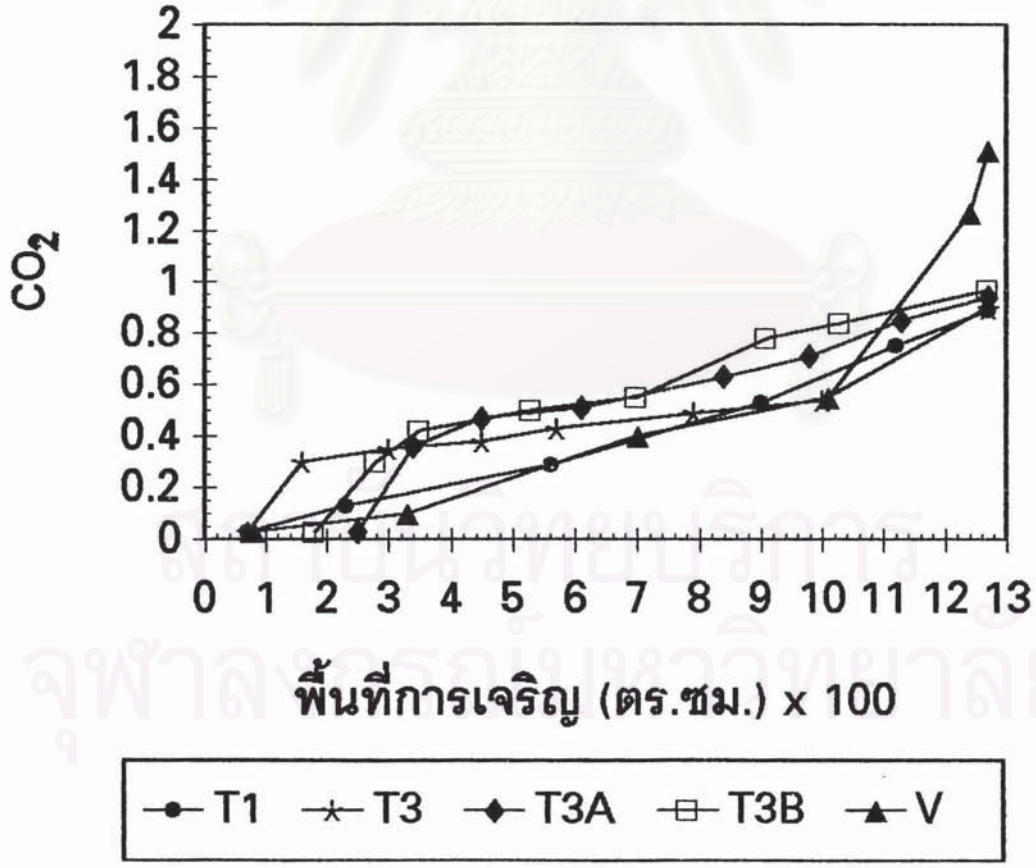
การเจริญของโคโลนีของเห็ดฟาง และเห็ดโคนสายพันธุ์ T1, T3, T3A, T3B และปริมาณ CO_2 ที่เกิดขึ้นในตู้ทดลองกึ่งเปิด-ปิด ซึ่งมีการระบายอากาศทุกวันหลังเก็บแก๊สตัวอย่าง ได้แสดงผลความสัมพันธ์กันระหว่าง CO_2 กับพื้นที่การเจริญของสายใย ในรูปของกราฟดังภาพที่ 9 พบว่าเมื่อสายใยมีการเจริญเพิ่มขึ้น จะมีปริมาณ CO_2 ที่เกิดขึ้นในแต่ละวันมากขึ้นตามไปด้วย การเจริญของโคโลนีสูงสุดจะเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 9 ซ.ม. ซึ่งคิดเป็นพื้นที่ทั้งหมดของโคโลนีจาก 20 จานอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 1272 ตร.ซม. ซึ่งในแต่ละสายพันธุ์ต่างก็ให้ปริมาณ CO_2 ได้สูงสุด ในสายพันธุ์ V, T1, T3, T3A, และ T3B มีปริมาณ CO_2 ที่เกิดขึ้นในตู้ทดลองได้สูงเป็น 1.51, 0.89, 0.9, 0.94 และ 0.97 % ตามลำดับ CO_2 ที่เพิ่มสูงขึ้นนี้ไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของสายใยเห็ด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Long และ Jacobs (1970) ได้ทดลองพบว่า CO_2 0.03 - 0.6 % กระตุ้นการเจริญของสายใยเห็ด *A. bisporus* ในตู้ทดลองระบบกึ่งเปิด - ปิดมีค่าของอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ที่วัดได้ในตู้ทดลองของทั้ง 5 เชื้อ จะอยู่ระหว่าง 29 - 34 $^{\circ}$ซ และ 75-100 % (ตารางที่ 2)

การเจริญของสายใยเห็ดฟาง (V) ในวันที่ 1-6 ของการเลี้ยงเชื้อในตู้ทดลองระบบกึ่งเปิด-ปิด มีพื้นที่การเจริญของสายใยทั้งหมดประมาณ 81, 328, 700, 1086, 1211 และ 1272 ตร.ซม. ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณของ CO_2 ที่เกิดขึ้น ตั้งแต่วันที่ 1 - 6 คือ 0.03, 0.1, 0.44, 0.55, 1.27 และ 1.51 % จากเส้นกราฟในภาพที่ 13 แสดงให้เห็นว่า CO_2 มีการเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว 2 ช่วง คือ วันที่ 2-3 CO_2 มีการเพิ่มจาก 0.1 ไปยัง 0.44 %และ วันที่ 4 - 5 CO_2 มีการเพิ่มจาก

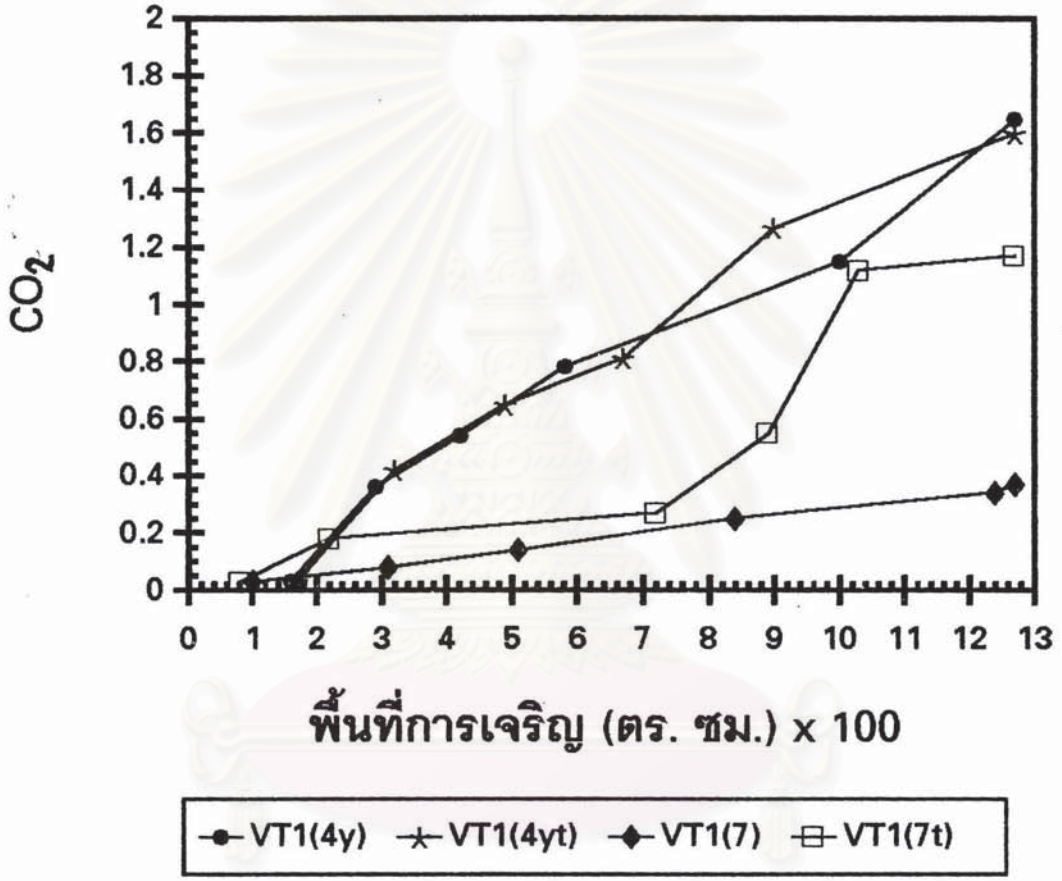
0.55 ถึง 1.27 % ซึ่ง CO_2 ไม่มีผลยับยั้งการเจริญของสายใย ซึ่ง Long และ Jacobs (1970) ได้ทดลองพบว่า CO_2 0.03 - 0.6 % กระตุ้นการเจริญของสายใยเห็ด *A. bisporus* อุณหภูมิของการทดลองอยู่ในช่วง 29 - 32 °ซ ความชื้น 95-100 % (ตารางที่ 2)

สายใยเห็ดโคนสายพันธุ์ T1 มีการเจริญของเชื้อในตู้ทดลองระบบกึ่งเปิด - ปิด เป็นเวลา 6 วัน จะมีการเจริญเพิ่มขึ้นของพื้นที่โคโลนีทั้งหมดในแต่ละวันคือ 72, 232, 565, 907, 1121 และ 1272 ตร.ซม. และปริมาณ CO_2 จะเพิ่มขึ้นตามการเจริญของสายใยเป็น 0.03, 0.135, 20.295, 0.53, 0.75 และ 0.895 ตามลำดับ (ดังภาพที่ 13)

ภาพที่ 13 กราฟแสดงการเจริญของโคโลนีทั้งหมดของเห็ดฟาง เห็ดโคนสายพันธุ์ T1, T3, T3A และ T3B ปริมาณ CO_2 ที่เกิดขึ้นในภาวะการเลี้ยงในตู้ทดลองระบบกึ่งเปิด-ปิด เป็นเวลา 6 - 8 วัน



ภาพที่ 14 กราฟแสดงการเจริญของโคโลนีทั้งหมดของเห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(4y)}$, $VT1_{(4yt)}$, $VT1_{(7)}$ และ $VT1_{(7t)}$ ปริมาณ CO_2 ที่เกิดขึ้นในภาวะการเลี้ยงในตู้ทดลองระบบกึ่งเปิด - ปิดเป็นเวลา 6 - 8 วัน



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ส่วนเห็ดโคนสายพันธุ์ T3, T3A และ T3B มีการเจริญของสายใยช้ากว่าสายพันธุ์อื่น ใช้เวลา 8 วัน จึงเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ การเจริญของสายใยของเห็ดโคนสายพันธุ์ T3 ดังเส้นกราฟในภาพที่ 13 มีพื้นที่การเจริญของสายใยทั้งหมดเป็น 70, 155, 299, 449, 574, 791 ,1030 และ 1272 ตร.ซม. และปริมาณ CO_2 ที่เกิดขึ้น ในวันที่ 1-9 คือ 0.03, 0.3, 0.35, 0.38, 0.43, 0.49, 0.54 และ 0.9 ตามลำดับ จะเห็นว่าปริมาณ CO_2 ที่เกิดขึ้นในตู้ทดลองเลี้ยงเชื้อ T3 จะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ ในวันที่ 1 - 7 และมาเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในวันที่ 7 - 8 จากปริมาณ 0.54 เป็น 0.9 % อาจเนื่องมาจากสายใยได้เจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อ จากกราฟในภาพที่ 13 การเจริญของโคโลนีทั้งหมดของสายพันธุ์ T3A จากวันที่ 1 ถึง 8 ของการปลูกในตู้ทดลอง เพิ่มขึ้นเป็น 245, 346, 458, 613, 848, 980, 1134 และ 1272 ตร.ซม. และปริมาณ CO_2 จะเพิ่มขึ้นตามการเจริญของสายใยเป็น 0.03, 0.36, 0.47, 0.51, 0.63, 0.71, 0.85 และ 0.94 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ซึ่ง CO_2 ในวันที่ 8 สูงที่สุด การเจริญของสายใยเห็ดโคนสายพันธุ์ T3B จากวันที่ 1-8 ของการบ่ลูกในตู้ทดลอง มีพื้นที่การเจริญทั้งหมดเพิ่มขึ้นเป็น 186, 284, 369, 530, 705, 907, 1030 และ 1272 ตร.ซม. ตามลำดับ และเปอร์เซนต์ CO_2 จะเพิ่มขึ้นตามการเจริญของสายใยเป็น 0.03, 0.30, 0.42, 0.50, 0.55, 0.78, 0.84 และ 0.97 % (ภาพที่ 13) และอุณหภูมิในช่วงการปลูกอยู่ระหว่าง 30-32^{o}ซ ความชื้น 85-100 % ดังรายงานของ Long และ Jacobs (1970) ได้ทดลองพบว่า CO_2 0.03 - 0.6 % กระตุ้นการเจริญของสายใยเห็ด *A. bisporus*

ในกลุ่มของเห็ดลูกผสม $VT1_{(4y)}$, $VT1_{(4yt)}$, $VT1_{(7)}$ และ $VT1_{(7t)}$ มี % CO_2 สูงสุดในแต่ละสายพันธุ์เป็น 1.65, 1.6, 0.37, และ 1.17 ตามลำดับ จะพบว่า CO_2 ที่เพิ่มสูงขึ้นจะไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของสายใยเห็ดทั้ง 4 สายพันธุ์ ดังภาพที่ 14

การเจริญของสายใยเห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(4y)}$ ในตู้ทดลองเป็นเวลา 6 วัน ในการเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ มีการเจริญของสายใยเพิ่มขึ้นในแต่ละวันคือ 160, 290, 416, 584, 1005 และ 1272 ตร.ซม. ตามลำดับ และปริมาณ CO_2 ที่เกิดขึ้นในแต่ละวันคือ 0.03, 0.36, 0.54, 0.78, 1.15 และ 1.65 ตามลำดับ ในสายพันธุ์ $VT1_{(4yt)}$ การเจริญของสายใยในตู้ทดลองเป็นเวลา 6 วัน มีดังนี้ 176, 318, 492, 673, 919 และ 1272 ตร.ซ.ม. ตามลำดับ มีปริมาณของ CO_2 ที่เกิดขึ้นตามการเจริญของสายใยคือ 0.03, 0.42, 0.65, 0.81, 1.27, และ 1.6 % ตามลำดับ ซึ่งการเจริญจะมีลักษณะใกล้เคียงกับ $VT1_{(4y)}$ จากผลในภาพที่ 14

เห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(7)}$ พบว่าการเจริญของสายใยในวันที่ 1 - 6 เป็น 104, 312, 506, 846, 1249 และ 1272 ตร.ซ.ม. ตามลำดับ ปริมาณ CO_2 ที่เกิดขึ้นตามการเจริญของสายใยคือ 0.03, 0.08, 0.14, 0.25, 0.34 และ 0.37 ซึ่งพบว่า CO_2 มีการเพิ่มในปริมาณที่น้อย เนื่องจากใน

สายพันธุ์นี้สายใยมีลักษณะบาง กว่าพันธุ์อื่นๆ เมื่อสังเกตุจากการเพิ่มของ CO_2 และการเจริญพบว่า เมื่อ CO_2 เพิ่มขึ้น การเจริญของสายใยจะช้าลง และการเจริญของสายใย เห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(7t)}$ ใน 6 วันเป็น 87, 220, 722, 896,1134 และ 1272 ตร.ซ.ม. ตามลำดับ และปริมาณ CO_2 ที่เพิ่มขึ้นในแต่ละวันคือ 0.03, 0.18, 0.27, 0.55, 1.12, และ 1.17 % ตามลำดับ ซึ่งพบว่าในช่วง CO_2 เพิ่มจาก 0.55 ไปถึง 1.12 % จะส่งเสริมการเจริญของสายใยเห็ด (ภาพที่ 14) ในกลุ่มเห็ดลูกผสมนี้มีผู้รายงานสอดคล้องเกี่ยวกับ CO_2 ที่มีผลต่อการเจริญของสายใยเห็ด Long และ Jacobs (1970) ได้ทดลองพบว่า CO_2 0.03 - 0.6 % กระตุ้นการเจริญของสายใยเห็ด *A. bisporus* และ San Antonio และ Thomas (1972) รายงานว่า CO_2 0.1 - 0.5 % เหมาะสมต่อการเจริญของสายใยเห็ด *A. bisporus*

ตารางที่ 3 แสดงการเจริญของสายใยเห็ดฟาง, เห็ดโคน สายพันธุ์ T1, 3, T3A, T3B และ เห็ดลูกผสมระหว่าง เห็ดฟางกับเห็ดโคน สายพันธุ์ $VT1_{(4y)}$, $VT1_{(4yt)}$, $VT1_{(7)}$, $VT1_{(7t)}$ ปริมาณ CO_2 ที่เกิดขึ้น อุณหภูมิ และความชื้น ของภาวะการเลี้ยงในตู้ทดลองระบบ ปิด เป็นเวลา 5 - 6 วัน

เชื้อ	เวลา (วัน)	การเจริญ (ซ.ม.)	พื้นที่การเจริญ ($ซ.ม.^3$)	พื้นที่การเจริญทั้งหมด ($ซ.ม.^3$)	% co_2	ความชื้น (%)	อุณหภูมิ (%)
V	1	2.52	4.9876	99.7520	0.03	81	31
	2	3.99	12.5036	250.0729	0.31	89	30
	3	6.05	28.7476	574.9520	0.87	90	31
	4	8.59	57.9531	1159.0634	1.31	90	31
	5	9	63.6174	1272.348	1.7	90	31
T1	1	5.11	20.5084	410.1688	0.03	82	32
	2	7.22	40.9416	818.309	0.65	88	31
	3	8.97	63.1939	1263.8745	2.09	88	30
	4	9	63.6174	1272.348	2.32	88	30
	5	9	63.6174	1272.348	2.50	88	30

ตารางที่ 3 (ต่อ)

เชื้อ	เวลา (วัน)	การเจริญ (ซ.ม.)	พื้นที่การเจริญ (ซ.ม.^{3})	พื้นที่การเจริญทั้งหมด (ซ.ม.^{3})	% co_2	ความชื้น (%)	อุณหภูมิ (%)
T3	1	3.67	10.5784	211.5694	0.03	70	31
	2	5.04	19.9504	399.0083	0.037	80	32
	3	6.74	35.6788	713.5767	0.084	82	32
	4	8.45	56.0795	1121.5904	0.20	90	30
	5	9	63.6174	1272.348	0.34	90	30
	6	9	63.6174	1272.348	0.7	90	30
T3A	1	3.25	8.2957	165.915	0.03	90	31
	2	4.33	14.7253	294.5077	0.15	85	32
	3	5.5	23.7583	475.167	0.35	94	32
	4	6.91	37.5013	750.0271	0.66	100	30
	5	8.32	54.3672	1087.3454	0.89	100	30
	6	9	63.6174	1272.348	1.17	100	30
T3B	1	3.08	7.4506	149.0124	0.03	90	31
	2	4.21	13.9205	278.0142	0.11	95	32
	3	5.12	2.5887	411.7758	0.47	98	32
	4	7.4	32.1699	643.3997	0.91	100	30
	5	8.3	44.6512	893.0249	1.39	100	30
	6	9	63.6174	1272.348	1.79	100	30
$VT1_{(4y)}$	1	3.67	10.5784	211.5694	0.03	80	32
	2	5.61	24.7181	494.3637	0.17	87	31
	3	8.72	59.7205	1194.4111	0.81	90	30
	4	9	63.6174	1272.348	3.14	82	30
	5	9	63.6174	1272.348	3.53	85	30
$VT1_{(4yt)}$	1	2.99	7.0215	140.4310	0.03	82	32
	2	5.53	24.0182	480.3647	0.19	87	31
	3	7.82	48.0290	960.5818	0.60	93	30
	4	9	63.6174	1272.348	2.07	84	30
	5	9	63.6174	1272.348	2.41	85	30

ตารางที่ 3 (ต่อ)

เชื้อ	เวลา (วัน)	การเจริญ (ซ.ม.)	พื้นที่การเจริญ ($ซ.ม.^3$)	พื้นที่การเจริญทั้งหมด ($ซ.ม.^3$)	% co_2	ความชื้น (%)	อุณหภูมิ (%)
$VT1_{(T)}$	1	2.47	4.7916	95.8329	0.03	88	31
	2	3.97	12.37861	247.5722	0.034	90	30
	3	5.81	26.5120	530.2408	0.09	89	31
	4	7.84	48.2750	965.5016	0.62	92	31
	5	9	63.6174	1272.348	1.44	94	31
$VT_{(T)}$	1	2.5	4.9087	98.175	0.03	85	31
	2	4.26	14.2531	285.0625	0.06	87	30
	3	6.49	33.0811	661.6225	0.26	86	31
	4	8.47	56.3453	1126.9060	0.36	87	31
	5	9	63.6174	1272.348	1.24	87	31

5.2 ผลของการศึกษา CO_2 ต่อการเจริญของสายใยในระบบปิด

การเจริญของโคโลนีของเห็ดฟาง เห็ดโคนสายพันธุ์ T1, T3, T3A และ T3B ปริมาณ CO_2 ที่เกิดขึ้นในตู้ทดลองในระบบปิด ซึ่งไม่มีการระบายอากาศในช่วงการทดลอง ได้แสดงผล ความสัมพันธ์ในรูปของกราฟดังภาพที่ 15

จากภาพที่ 15 พบว่าเมื่อสายใยมีการเจริญเพิ่มขึ้นจะมีปริมาณของ CO_2 เพิ่มขึ้นในแต่ละวันตามไปด้วย การเจริญสูงสุดมากขึ้น ซึ่งในแต่ละสายพันธุ์จะให้ CO_2 สูงสุดคือ 1.7, 2.5, 0.75, 1.17, และ 1.79 % ตามลำดับ เมื่อดูจากเส้นกราฟจะเห็นว่า เมื่อ CO_2 เพิ่มสูงขึ้น จะไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญ แต่จะส่งเสริมให้สายใยเจริญเพิ่มขึ้น

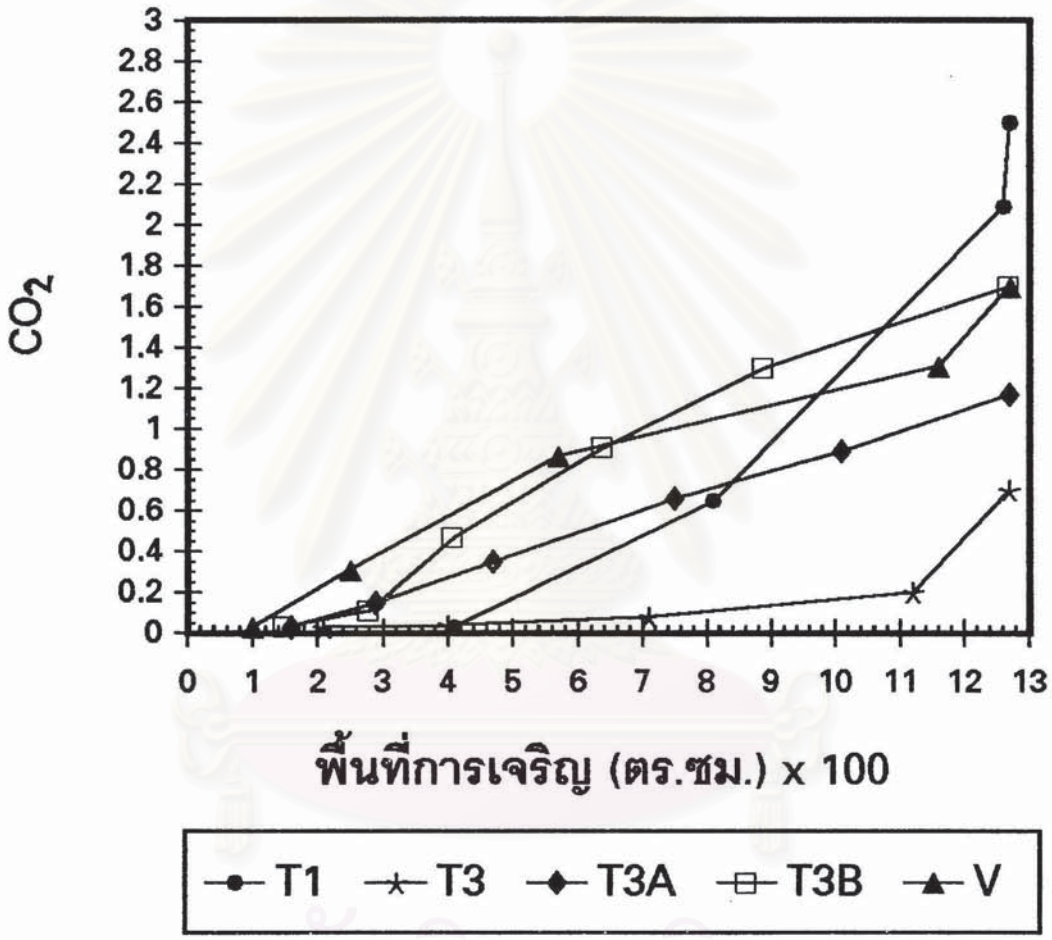
เห็ดฟางการเจริญของโคโลนีทั้งหมดในแต่ละวันเป็น 99, 250, 574, 1159 และ 1272 ตร.ซ.ม. ในการเลี้ยง 5 วัน ตามลำดับ มีปริมาณของ CO_2 ที่เกิดขึ้นเป็น 0.03, 0.31, 0.87, 1.13 และ 1.17 ตามลำดับ (จากภาพที่ 15) จะพบว่าเมื่อ CO_2 เพิ่มขึ้นสายใยก็จะเจริญเพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ความเข้มข้น CO_2 ดังกล่าวข้างต้นไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของสายใย และเมื่อเปรียบเทียบกับระบบกึ่งเปิด-ปิด พบว่าในระบบปิดการเจริญของสายใยเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่เร็วกว่าโดยใช้เวลา 5 วัน ซึ่ง Tscheirpe (1961) รายงานว่า CO_2 ไม่เกิน 2 % ไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของสายใย เห็ด *A. bisporus*

เห็ดโคนสายพันธุ์ T1 เมื่อเลี้ยงสายใยเป็นเวลา 5 วัน การเจริญของโคโลนีเป็น 410, 818, 1263, 1272 และ 1272 ตร.ซ.ม. ตามลำดับ ปริมาณของ CO_2 ที่เกิดขึ้นในแต่ละวัน เป็นดังนี้ คือ 0.03, 0.65, 2.09, 2.32 และ 2.5 % จากภาพที่ 15 จะพบว่าในช่วงการเจริญของสายใยทั้งหมดจาก 818 ตร.ซ.ม. จนถึง 1272 ตร.ซ.ม. จะมีการเจริญที่เร็ว และ CO_2 มีปริมาณสูง คือ 0.65- 2.5 % ในวันที่ 5 ซึ่งจะเห็นว่า CO_2 ในช่วงนี้ มีผลต่อการส่งเสริมการเจริญของสายใย ซึ่งสอดคล้องกับ Long และ Jacobs ปี 1969 ซึ่งได้ทำการทดลองเกี่ยวกับผลของ CO_2 ต่อการเจริญของสายใยเห็ด *A. bisporus* พบว่า CO_2 0.03 - 0.6 % มีผลส่งเสริมการเจริญของสายใย

ในเห็ดโคนสายพันธุ์ T3 เมื่อเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อที่เวลา 6 วัน ของการทดลอง มีพื้นที่โคโลนีทั้งหมดในแต่ละวัน ดังนี้ คือ 211, 399, 713, 1121, 1272 และ 1272 ตร.ซ.ม. มีปริมาณของ CO_2 ที่เกิดขึ้นเป็น 0.03, 0.05, 0.08, 0.2, 0.34 และ 0.75 % ตามลำดับ จากภาพที่.15 จะพบว่าการเจริญในช่วงแรกจะเร็ว แต่สร้าง CO_2 ในปริมาณที่น้อย เนื่องจากสายใยมีลักษณะบาง และปริมาณ CO_2 จะเพิ่มสูงขึ้นในช่วงการเจริญของสายใยทั้งหมดเป็น 1121-1272 ตร.ซ.ม. ซึ่งจะเห็นว่า CO_2 ที่สะสมในแต่ละวันในตู้ทดลอง มีผลทำให้การเจริญของสายใยเพิ่มขึ้น ซึ่งใช้เวลาในการเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 วัน ซึ่งจะเร็วกว่าในระบบกึ่งเปิด--ปิด CO_2 ในช่วง 0.05--0.75 มีผลส่งเสริมการเจริญของสายใยเห็ดโคนสายพันธุ์ T3 (ภาพที่ 15) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ San Antonio และ Thomas ในปี 1972 พบว่า CO_2 0.1 - 0.5 % ส่งเสริมการเจริญของสายใยเห็ด *A. bisporus*

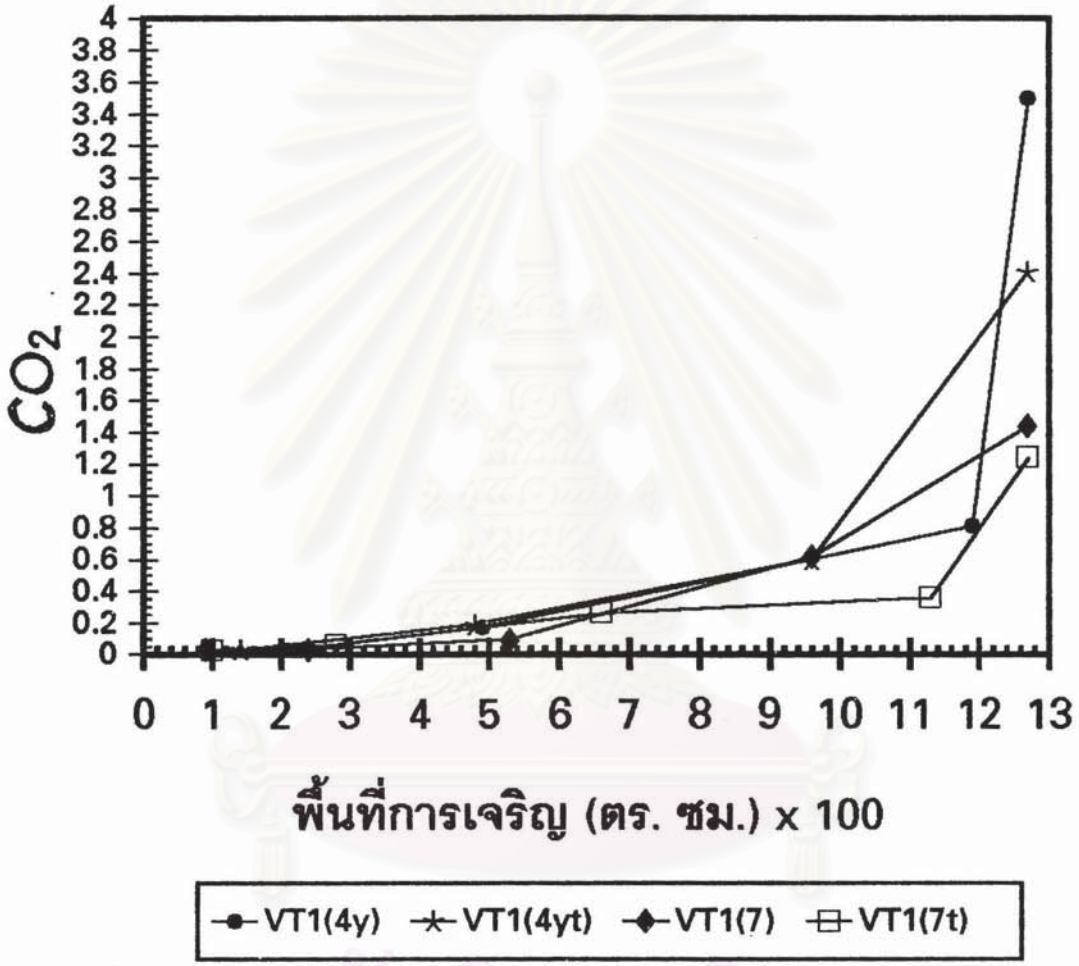
เห็ดโคนสายพันธุ์ T3A มีการเจริญของสายใยทั้งหมดเป็น 165, 294, 475, 750, 1087 และ 1272 ตร.ซ.ม. ของวันที่ 1 - 6 ตามลำดับและปริมาณของ CO_2 0.03, 0.15, 0.35, 0.66, 0.89, และ 1.17 ตามลำดับ จากภาพที่. 15 จะพบว่าในช่วงระยะของการเจริญของสายใย จะพบว่าในช่วงแรกมีการเจริญค่อนข้างเพิ่มขึ้นเป็นลำดับ และปริมาณ CO_2 จะเพิ่มขึ้น ซึ่งพบว่าการเจริญของสายใยจะเพิ่มขึ้นจนเต็มจานเลี้ยงเชื้อ เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์อื่นๆ สายพันธุ์นี้จะเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อช้าที่สุด แต่เมื่อเปรียบเทียบกับระบบกึ่งเปิด--ปิด จะพบว่า เชื้อ T3A จะเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อช้ากว่าในระบบปิด ซึ่งใช้เวลา 8 วัน จะเห็นว่า % CO_2 ที่สะสมในตู้ทดลองช่วง 0.15--1.17 % มีผลกระตุ้นการเจริญของสายใยเห็ดโคนสายพันธุ์ T3A ซึ่ง Tschierpe (1964) รายงานว่า CO_2 0.03 - 0.1 % มีผลกระตุ้นการเจริญของสายในและ การสร้างปุ่มดอกใน เห็ด *A. bisporus*

ภาพที่ 15 กราฟแสดงการเจริญของโคโลนีทั้งหมดของเห็ดฟาง เห็ดโคนสายพันธุ์ T1, T3, T3A และ T3B ปริมาณ CO_2 ที่เกิดขึ้นในภาวะการเลี้ยงในตู้ทดลองระบบปิด เป็นเวลา 5 - 6 วัน



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 16 กราฟแสดงการเจริญของโคโลนีทั้งหมดของเห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(4y)}$, $VT1_{(4yt)}$, $VT1_{(7)}$ และ $VT1_{(7t)}$ ปริมาณ CO_2 ที่เกิดขึ้นในภาวะการเลี้ยงในตู้ทดลองระบบปิด เป็นเวลา 6 วัน



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เห็ดโคนสายพันธุ์ T3B การเจริญของสายใยทั้งหมด 149, 278, 411, 643, 893, และ1272 ตร.ซ.ม. ตามลำดับ และปริมาณของ CO_2 ที่สะสมในแต่ละวันเป็นดังนี้ 0.03, 0.11, 0.47, 0.91, 1.39 และ 1.79 ตามลำดับ จากภาพที่ 14 พบว่า การเจริญของสายใย เจริญเร็วในช่วง 411 - 634 ตร.ซ.ม. และ CO_2 เพิ่มสูงขึ้นจาก 0.91--1.79 % ใช้เวลา 6 วัน จนเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อ ซึ่ง CO_2 ที่เพิ่มขึ้นมา จะไม่ยับยั้งการเจริญของสายใย แต่จะมีการส่งเสริมการเจริญของสายใย เมื่อเปรียบเทียบกับระบบกึ่งเปิด--ปิด จะใช้เวลา 8 วัน ในการเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อ มีผู้รายงานเกี่ยวกับ CO_2 ต่อการเจริญของสายใยคือ San Antonio และ Thomas ในปี 1972 พบว่า CO_2 0.1 - 0.5 % ส่งเสริมการเจริญของสายใยเห็ด *A. bisporus*

ในเห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(4y)}$, $VT1_{(4vt)}$, $VT1_{(7)}$ และ $VT1_{(7t)}$ จะมีปริมาณของ CO_2 สูงสุดในแต่ละสายพันธุ์ คือ 3.58, 2.41, 1.44 และ 1.24 % ตามลำดับ

เห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(4y)}$ มีการเจริญของโคโลนีทั้งหมดเป็นดังนี้ 211, 494, 1194, 1272 และ 1272 ตร.ซม.ปริมาณของ CO_2 ที่สะสมทั้ง 5 วัน เป็นดังนี้ 0.03, 0.17, 0.81, 3.14 และ 3.58 % ตามลำดับ จากภาพที่ 16 จะเห็นว่าในช่วงแรก CO_2 จะเพิ่มขึ้นไม่มากนัก เมื่อมีการเจริญสูงจาก 494 - 1194 ซ.ม. ปริมาณ CO_2 จะเพิ่มขึ้น และจะส่งเสริมการเจริญของสายใยให้เต็มจานเลี้ยงเชื้อ ในเวลา 4 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับระบบกึ่งเปิด--ปิด ซึ่งใช้เวลา 6 วัน ในการเจริญของสายใยจนเต็มจานเลี้ยงเชื้อ

เห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(4vt)}$ จะมีการเจริญของสายใยทั้งหมด 140, 480, 960, 1272 และ 1272 ตามลำดับ จะมีปริมาณของ CO_2 เกิดขึ้น คือ 0.03, 0.19, 0.6, 2.07, และ 2.41 % ตามลำดับ จากภาพที่ 16 จะพบว่าการเจริญของสายใยในช่วงแรกค่อนข้างเร็ว และ เปอร์เซ็นต์ CO_2 จะเพิ่มสูงขึ้นเล็กน้อย และเมื่อสายใยเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อ ปริมาณ CO_2 จะเพิ่มขึ้น 2.07 % และ 2.41 % ในวันที่ 4 และ 5 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเมื่อ CO_2 สะสมในช่วงแรก การเจริญของสายใยก็จะเร็วขึ้น จะส่งผลให้มีการส่งเสริมการเจริญของสายใยให้เต็มจานเลี้ยงเชื้อ ในเวลา 4 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับระบบกึ่งเปิด--ปิด ซึ่งใช้เวลา 6 วัน ดังนั้นช่วงความเข้มข้นของ CO_2 0.19--2.41 % จะส่งเสริมการเจริญของสายใย ดังรายงานของ Neierpreum (1963) พบว่า CO_2 5 % กระตุ้นการเจริญของสายใย *Schizophyllum commune*

เห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(7)}$ การเจริญของโคโลนีใน 5 วัน ของการทดลองเป็นดังนี้ 95, 247, 530, 965, และ 1272 ตร.ซม.ตามลำดับ และมีปริมาณ CO_2 0.03, 0.04, 0.09, 0.62 และ 1.44 % ตามลำดับ จากภาพที่ 16 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญของโคโลนี และปริมาณ CO_2 ที่เกิดขึ้น ในการเจริญของสายใย พบว่า เมื่อสายใยเจริญเพิ่มขึ้น ปริมาณ CO_2 จะมีการสะสม

เพิ่มขึ้นตามไปด้วย โดยที่ในช่วงแรก การเพิ่มของ CO_2 จะช้า และจะเพิ่มสูงขึ้น ในช่วงการเจริญเป็น 7.48 % จนกระทั่งการเจริญของสายใยเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ CO_2 สะสมสูงสุดคือ 1.44 % ซึ่งไม่มีผลต่อการเจริญของสายใย และพบว่าการเจริญของสายใยในระบบกึ่งเปิด--ปิด จะช้ากว่าในระบบปิด

เห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(7t)}$ การเจริญการเจริญของสายใยทั้งหมด ใน 5 วัน เป็นดังนี้ 98, 285, 661, 1126, 1272 ตร.ซม.. ตามลำดับ ปริมาณของ CO_2 ที่เกิดขึ้นในแต่ละวันเป็น 0.03, 0.06, 0.26, 0.36 และ 1.24 % ตามลำดับ จากภาพที่ 16 พบว่า การเจริญของสายใยจะเพิ่มขึ้นในแต่ละช่วงเป็นสองเท่า และปริมาณ CO_2 ที่เกิดขึ้นจะน้อย และเพิ่มสูงขึ้นในช่วงการเจริญ 611 - 1272 ตร.ซ.ม. ซึ่ง CO_2 ที่เกิดขึ้นจะไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของสายใย แต่จะส่งเสริมการเจริญของสายใยให้เต็มจานเลี้ยงเชื้อให้เร็วขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับระบบกึ่งเปิด--ปิด ซึ่งใช้เวลา 6 วัน ดังรายงานของ Tschierpe, (1961) พบว่า CO_2 ไม่เกิน 2 % มีผลส่งเสริมการเจริญของสายใย

จากการศึกษาผลของ CO_2 ต่อการเจริญของสายใยของเชื้อเห็ดฟาง เห็ดโคนสายพันธุ์ T1, T3, T3A และ T3B และเห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(4y)}$, $VT1_{(4yt)}$, $VT1_{(7)}$ และ $VT1_{(7t)}$ ที่เจริญบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ในตู้ทดลองระบบปิด ดังภาพที่ 15-16 ในสายพันธุ์ T1 พบว่า เมื่อมีการเจริญของสายใยเพิ่มขึ้น จะมี CO_2 สะสม ซึ่งเป็นผลทำให้สายใยเจริญเร็วขึ้น จึงใช้เวลาในการเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อเพียง 4 วัน เห็ดโคนสายพันธุ์ T3 CO_2 เพิ่มสูงขึ้นจะกระตุ้นให้สายใยเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อในวันที่ 5 ซึ่งมีปริมาณ CO_2 0.34 % ซึ่ง San antonio และ Thomas (1972) รายงานว่า CO_2 0.1-0.5 % จะกระตุ้นการเจริญของสายใย A. bisporus ส่วนเห็ดโคนสายพันธุ์ T3A และ T3B การสะสมของ CO_2 ก็กระตุ้นการเจริญของสายใยได้ดี ใช้เวลา 6 วัน สำหรับเห็ดฟาง CO_2 เพิ่มขึ้นถึง 1.31 % ไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของสายใย ในเห็ดลูกผสม $VT1_{(4y)}$ และ $VT1_{(4yt)}$ พบว่า ผลของ CO_2 ที่สะสมในตู้ทดลองทำให้มีการเจริญเร็วขึ้น เมื่อ CO_2 เพิ่มขึ้นถึง 3.14 และ 2.07 % ตามลำดับ ทำให้ใช้ระยะเวลาในการเจริญเต็มจานน้อยลง เพียง 4 วัน สำหรับเห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(7)}$ และ $VT1_{(7t}$ มี CO_2 สะสมในตู้ ถึง 1.4 และ 1.24 % และพบว่าสายใยเจริญได้รวดเร็วใช้เวลาเพียง 5 วัน เต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

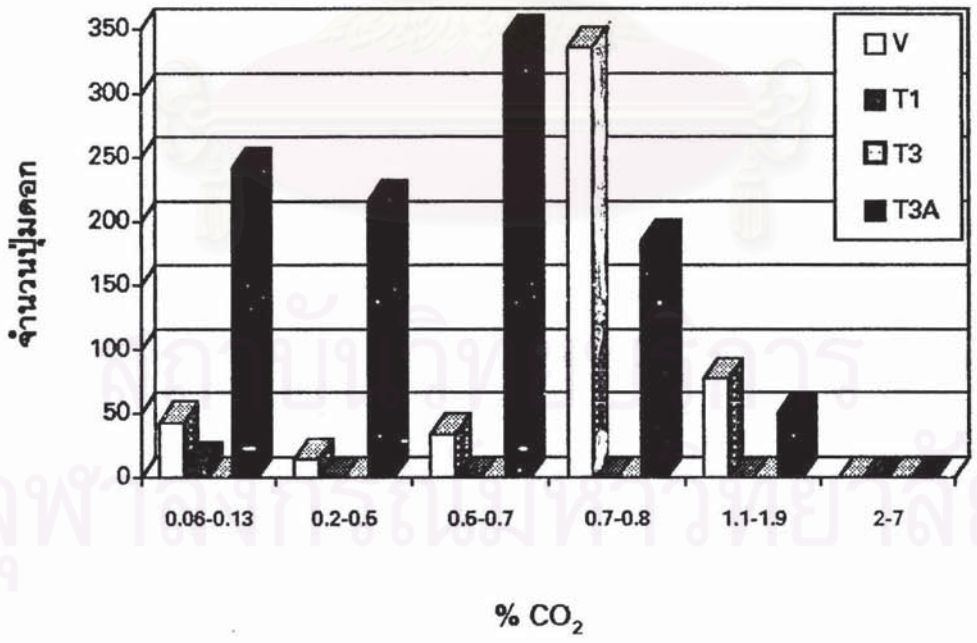
6. <u>ผลของ CO_2 ต่อการเกิดปุ่มดอกเห็ด</u>

จากการทดลองปลูกเห็ดฟาง เห็ดโคนสายพันธุ์ T1, T3, T3A และ T3B และเห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(4y)}$,$VT1_{(4yt)}$, $VT1_{(7)}$ และ $VT1_{(7t)}$ บนปุ๋ยหมักไส้นุ่น เลี้ยงไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 32°ซ เป็นเวลา 5 วัน ก่อนนำเข้าตู้ทดลอง แล้วแปรความเข้มข้นของ CO_2 เป็นช่วงระยะ 0.06 -

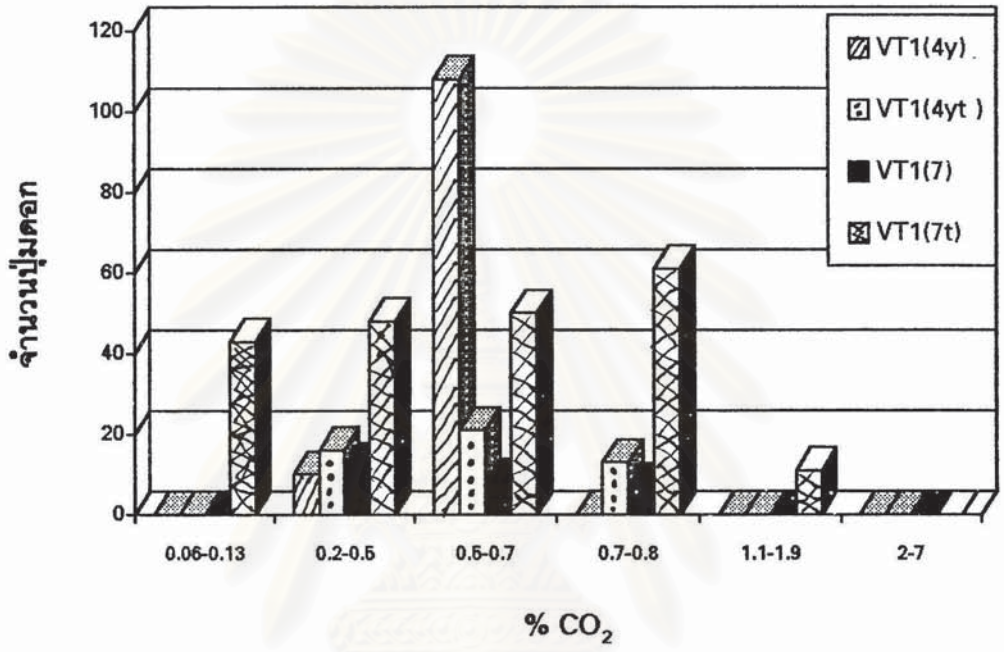
0.13, 0.2 - 0.5, 0.5 - 0.7, 0.7 - 0.8 และ 1.1 - 1.9 % ตามลำดับ และตู้ควบคุมที่ไม่ให้ CO_2 โดยปิดตู้ทดลองทุกตู้เป็นระยะเวลา 10 วัน นับจำนวนปุ่มดอกที่เกิดขึ้นในแต่ละสายพันธุ์ ได้ผลดังภาพที่ 17 และ 18 และตารางที่ 4 และจำนวนปุ่มดอกที่มีการพัฒนา ซึ่งแสดงผลในตารางที่ 5

จากภาพที่ 17 พบว่าเห็ดฟางสร้างปุ่มดอกได้ดีที่สุดในความเข้มข้นของ CO_2 0.7 - 0.8 % รองลงมาที่ CO_2 ในช่วง 1.1 - 1.9, 0.06 - 0.13, 0.5 - 0.7, 0.2 - 0.5 % ตามลำดับ เห็ดโคนสายพันธุ์ T1 สร้างปุ่มดอกได้ที่ความเข้มข้นของ CO_2 ในช่วง 0.06 - 0.13 % เห็ดโคนสายพันธุ์ T3 ไม่มีการสร้างปุ่มดอก ของทุกการทดลองที่แปรความเข้มข้น CO_2 เห็ดโคนสายพันธุ์ T3A จะสร้างปุ่มดอกมากที่สุด ในช่วง CO_2 ที่ความเข้มข้น 0.5 - 0.7 % รองลงมาคือ ช่วง 0.06 - 0.13, 0.2 - 0.5, 0.7 - 0.8 และ 1.1 - 1.9 %

ภาพที่ 17 กราฟแสดงจำนวนปุ่มดอกที่สร้างขึ้นในช่วงของ CO_2 0.06 - 0.13, 0.2 - 0.5, 0.5 - 0.7, 0.7 - 0.8 และ 1.1 - 1.9 % ของเห็ดฟาง เห็ดโคนสายพันธุ์ T1, T3, และ T3A



ภาพที่ 18 กราฟแสดงจำนวนปุ่มดอกที่สร้างขึ้นในช่วงของ CO_2 0.06 - 0.13, 0.2 - 0.5, 0.5 - 0.7, 0.7 - 0.8 และ 1.1 - 1.9 % ของเห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(4y)}$, $VT1_{(4yt)}$, $VT1_{(7)}$ และ $VT1_{(7t)}$



จากภาพที่ 18 เห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(4y)}$ จะมีปุ่มดอกได้มากที่สุดในช่วง CO_2 ที่ความเข้มข้น 0.5-0.7 % รองลงมาคือ ช่วง 0.2 - 0.5 % ที่ความเข้มข้นอื่นๆ เห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(4yt)}$ จะสร้างปุ่มดอกได้มากที่สุด ที่ความเข้มข้น 0.5 - 0.7 % รองลงมา ที่ความเข้มข้น 0.2 - 0.5 % และ 0.7-0.8 % เห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(7)}$ สร้างปุ่มดอกได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 0.5 - 0.7, รองลงมาคือ 0.2 - 0.5 และ 0.7 - 0.8 % ตามลำดับ ส่วนที่ความเข้มข้นอื่นๆ และตู้ที่ไม่ให้ CO_2 ไม่พบปุ่มดอก เห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(7t)}$ สร้างปุ่มดอกได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 0.7 - 0.8, รองลงมาที่ 0.5 - 0.7, 0.2-0.5, 0.06 - 0.13 และ 1.1 - 1.9 %

ตารางที่ 4 แสดงการแปรความเข้มข้นของ CO_2 ในสภาวะการเลี้ยง นับจำนวนปุ่มดอกของเห็ดฟาง เห็ดโคนสายพันธุ์ T1, T3, T3A และเห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(4y)'}$ $VT1_{(4yt)'}$ $VT1_{(7)}$ และ $VT1_{(7t)}$

สายพันธุ์	จำนวนปุ่มดอก					
	CO_2 0.06 - 0.13%	CO_2 0.2- 0.5%	CO_2 0.5 - 0.7%	CO_2 0.7 - 0.8%	CO_2 1.1 - 1.9%	control 2 - 7 %
V	43 b	14 b	34 b	336 a	77 b	0
T1	11	0	0	0	0	0
T3	0	0	0	0	0	0
T3A	242 b	216 b	345 a	185 b	50 c	0
$VT1_{(4y)'}$	0	10	108	0	0	0
$VT1_{(4yt)'}$	0	16	21	13	0	0
$VT1_{(7)}$	0	12	8	7	0	0
$VT1_{(7t)}$	43 a	48 a	50 a	61 a	11 b	0

control = เลี้ยงในตู้ทดลองที่ไม่ระบายอากาศซึ่ง CO_2 เกิดจากการสะสมในตู้ทดลองช่วง 2 - 7 %
ส่วนที่แรเงา หมายถึง ส่วนที่นำข้อมูลไปวิเคราะห์ทางสถิติ และ ผลที่ได้แสดงเป็นตัวอักษรกำกับ ซึ่งตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ

จากตารางที่ 4 พบว่าเห็ดฟางสามารถสร้างปุ่มดอกได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นของ CO_2 ในช่วง 0.7 - 0.8 % พบจำนวนปุ่มดอก 336 ปุ่มดอก รองลงมาที่ CO_2 ช่วง 1.1 - 1.9, 0.06 - 0.13, 0.5 - 0.7, 0.2 - 0.5 % มีจำนวนปุ่มดอก 77, 43, 34 และ 14 ตามลำดับ ส่วนคอนโทรลที่มี CO_2 สะสม 2 -7 % ไม่พบการสร้างปุ่มดอก ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบในแต่ละช่วงความเข้มข้นของ CO_2 พบว่า CO_2 ช่วง 0.7 - 0.8 % มีความแตกต่างจากช่วง CO_2 ที่ 0.06 - 0.13, 0.2 - 0.5, 0.5 - 0.7, และ 1.1 - 1.9 % อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 0.05 % และช่วง CO_2 ที่ 0.06 - 0.13, 0.2 - 0.5, 0.5 - 0.7, และ 1.1 - 1.9 % ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เห็ดโคนสายพันธุ์ T1 สร้างปุ่มดอกได้ที่ความเข้มข้นของ CO_2 ในช่วง 0.06 - 0.13 % โดยนับจำนวนปุ่มดอกได้ 11 ปุ่ม ส่วน CO_2 ที่ความเข้มข้นอื่นๆ ไม่พบการสร้างปุ่มดอก สำหรับในเห็ดโคนสายพันธุ์ T3 ไม่มีการสร้างปุ่มดอก ของทุกการทดลองที่แปรความเข้มข้น CO_2 เห็ดโคนสายพันธุ์ T3A จะมีปุ่มดอกมากที่สุด 345 ปุ่ม ในช่วง CO_2 ที่ความเข้มข้น 0.5 - 0.7 % รองลงมา

คือ ช่วง 0.06 - 0.13, 0.2 - 0.5, 0.7 - 0.8 และ 1.1 - 1.9 % พบปุ่มดอกของ T3A มีจำนวน 242, 216, 185, และ 50 ปุ่มดอก ตามลำดับ ส่วนคอนโทรลไม่พบการสร้างปุ่มดอก ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบในแต่ละช่วงความเข้มข้นของ CO_2ที่มีการสร้างปุ่มดอก พบว่า CO_2 ช่วง 0.5 - 0.7 % มีความแตกต่างจากช่วง CO_2 0.06 - 0.13, 0.2 - 0.5, 0.7 - 0.8 และ 1.1 - 1.9 % อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 0.05 % และช่วง CO_2 รองลงมาคือ CO_2 1.1 - 1.9 % มีความแตกต่างจากช่วงของ CO_2 0.06 - 0.13, 0.2 - 0.5, 0.7 - 0.8 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 0.05 % และช่วง CO_2 0.06 - 0.13, 0.2 - 0.5, 0.7 - 0.8 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(4y)}$ จะมีปุ่มดอกได้มากที่สุด 108 ปุ่ม ที่ในช่วง CO_2 ที่ความเข้มข้น 0.5 - 0.7 % รองลงมาคือ ช่วง 0.2 - 0.5 % พบ 10 ปุ่ม ที่ความเข้มข้นอื่นๆ และคอนโทรลไม่พบการสร้างปุ่มดอก เห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(4y1)}$ จะสร้างปุ่มดอกได้มากที่สุด 42 ปุ่ม ที่ความเข้มข้น 0.5 - 0.7 % รองลงมา คือ 32 และ 13 ปุ่มดอก ที่ความเข้มข้น 0.2 - 0.5 % และ 0.7 - 0.8 % ตามลำดับ ส่วนที่ความเข้มข้นอื่นๆ และคอนโทรล ไม่พบการสร้างปุ่มดอก

เห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(7)}$ สร้างปุ่มดอกจำนวน 16, 12 และ 7 ปุ่มดอก ที่ความเข้มข้น 0.5 - 0.7, 0.2 - 0.5 และ 0.7 - 0.8 % ตามลำดับ ส่วนที่ความเข้มข้นอื่นๆ และคอนโทรล ไม่พบการสร้างปุ่มดอก เห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(7t)}$ สร้างปุ่มดอกจำนวน 61, 50, 48, 43 และ 11 ปุ่มดอก ที่ความเข้มข้น 0.7 - 0.8, 0.5 - 0.7, 0.2 - 0.5, 0.06 - 0.13 และ 1.1 - 1.9 % และคอนโทรล ไม่พบการสร้างปุ่มดอก เมื่อเปรียบเทียบจำนวนปุ่มดอกในแต่ละช่วงความเข้มข้นของ CO_2 พบว่า CO_2 ช่วง 0.06 - 0.13, 0.2 - 0.5, 0.5 - 0.7 0.7 - 0.8, % ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ช่วงของ CO_2 ที่ 1.1 - 1.9 % มีความแตกต่างจากช่วง CO_2 ที่ความเข้มข้น 0.06 - 0.13, 0.2 - 0.5, 0.5 - 0.7 และ 0.7 - 0.8, % อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 0.05 %

เห็ดที่สามารถสร้างปุ่มดอกได้ทุกช่วงความเข้มข้นของ CO_2 ที่ใช้ในการทดลอง คือ เห็ดฟาง เห็ดโคนสายพันธุ์ T3A และเห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(7)}$

ผลของ CO_2 ต่อการสร้างปุ่มดอกในสายพันธุ์เห็ดที่ใช้ในการทดลองนี้ พบว่าช่วง CO_2 ที่มีความเข้มข้น 0.7 - 0.8 % เหมาะต่อการสร้างปุ่มดอกของเห็ดฟางและเห็ดโคน และช่วง CO_2 ที่เข้มข้น 0.5 - 0.7 % จะกระตุ้นการสร้างปุ่มดอกของเห็ดลูกผสม ในตู้คอนโทรลที่ไม่มีการระบายอากาศจะมี CO_2 สะสมสูงถึง 2 - 7 % ซึ่งจะยับยั้งการสร้างปุ่มดอกของเห็ดที่ใช้ทดลองทุกสายพันธุ์ ในการทดลองผลของ CO_2 ต่อการสร้างปุ่มดอกในเห็ดฟาง เห็ดโคน ยังไม่เคยมีรายงาน แต่ในเห็ดกลุ่ม Agaricales เดียวกัน คือ *Agaricus bisporus* มีผู้ศึกษากันมากและรายงานว่าปริมาณ CO_2 ที่เหมาะสมต่อการสร้างปุ่มดอกของ *A. bisporus* จะอยู่ในช่วง 0.03 - 0.1 % ดังราย

งานของ Tschierpe และ Sinden (1964) ; Long และ Jacobs (1969) และ Nichols (1985) และช่วง CO_2 ที่มากกว่า 0.2 % จะยับยั้งการสร้างปุ่มดอกของ *A. bisporus* (Flegg และ Wood, 1985)

ตารางที่ 5 แสดงจำนวนของปุ่มดอกที่มีการพัฒนาเป็นดอก

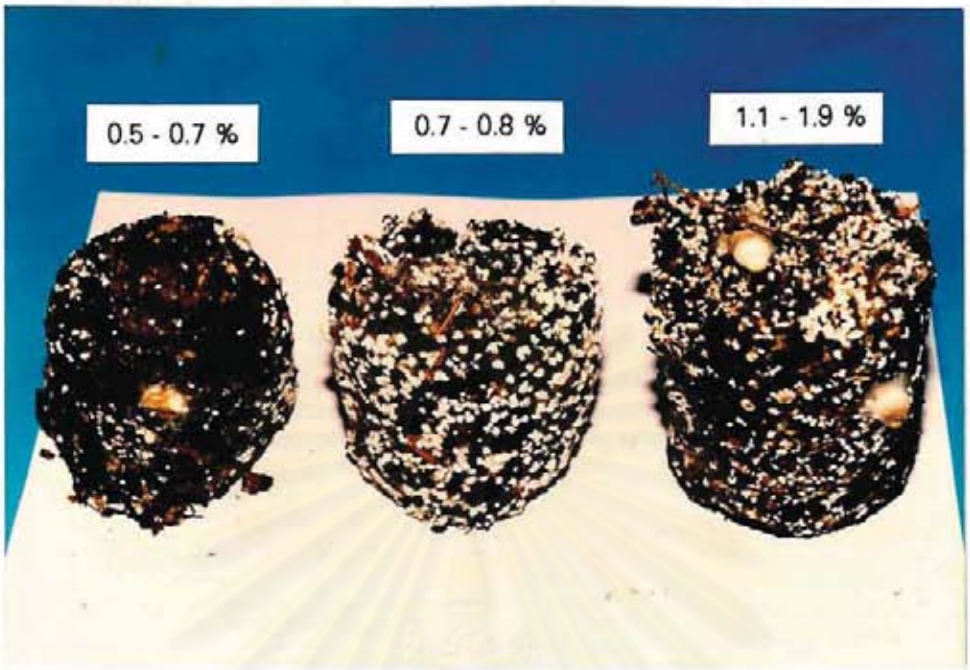
สายพันธุ์	จำนวนปุ่มดอกที่พัฒนาในช่วง CO_2					
	0.06-0.13 %	0.2-0.5 %	0.5-0.7 %	0.7-0.8 %	1.1-1.9 %	control 2 - 7 %
V	9	6	8	12	-	0
T1	-	0	0	0	0	0
T3	0	0	0	0	0	0
T3A	50	38	30	33	21	0
$VT1_{(4y)}$	0	-	-	0	0	0
$VT1_{(4yt)}$	0	-	-	-	0	0
$VT1_{(7)}$	0	-	-	-	0	0
$VT1_{(7t)}$	-	-	1	1	1	0

0 หมายถึง ไม่พบปุ่มดอก

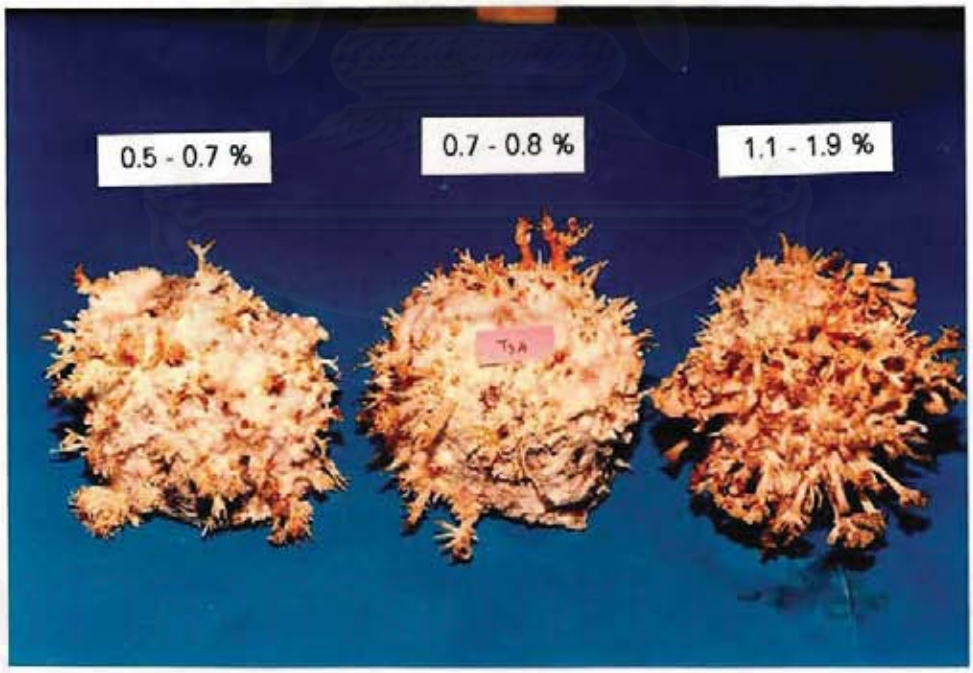
\- หมายถึง ปุ่มดอกที่ไม่มีการพัฒนา

จากผลในตารางที่ 5 จะเห็นว่าสายพันธุ์เห็ดฟาง (V) สามารถพัฒนาให้เกิดดอกที่สมบูรณ์ได้ ลักษณะดอกเป็นปกติ (ภาพที่ 19) ในทุกช่วงที่ CO_2 เข้มข้น 0.06 - 0.13, 0.2 -0.5, 0.5 - 0.7 และ 0.7 - 0.8 % แต่ในช่วง CO_2 เข้มข้น 1.1 - 1.9 % ไม่เกิดการพัฒนาของปุ่มดอก

เห็ดโคน T3A สร้างปุ่มดอกและพัฒนาเป็นดอกเห็ดได้ทุกช่วง (ยกเว้นในตู้ control ที่มี CO_2 สะสมถึง 2 - 7 %) ดอกเห็ดของสายพันธุ์ T3A มีลักษณะที่แปลกและผิดปกติจากดอกเห็ดทั่วไปคือ หมวกดอกเมื่อบานจะแสดงครีบดอกขึ้นด้านบนลักษณะของก้านดอกคล้ายปะการัง (ภาพที่ 20 และ 22) ซึ่ง Plunkett (1982) รายงานว่าในเห็ด *Auricularia* CO_2 เข้มข้นมากกว่า 5 % ดอกเห็ดมีลักษณะผิดปกติรูปร่างดอกคล้ายปะการัง และ กระบอง



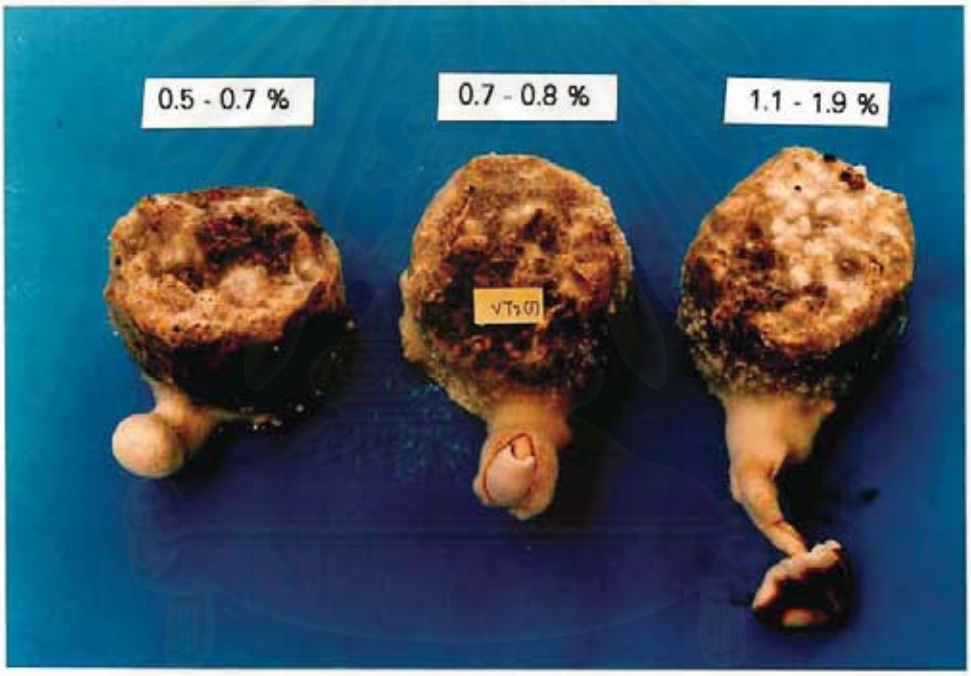
ภาพที่ 19 แสดงก้อนเชื้อที่เลี้ยงในตู้ทดลอง และปริมาณ CO_2 ที่เหมาะสมต่อการสร้างปุ่มดอก และการพัฒนาของดอกเห็ดฟาง



ภาพที่ 20 แสดงก้อนเชื้อที่เลี้ยงในตู้ทดลอง และปริมาณ CO_2 ที่เหมาะสมต่อการสร้างปุ่มดอก และการพัฒนาของดอกเห็ดโคนสายพันธุ์ T3A

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เห็ดลูกผสมที่สามารถพัฒนาเป็นดอกเห็ดได้ คือ สายพันธุ์ $VT1_{(7)}$ โดยมีปุ่มดอกที่พัฒนาได้ 1 ปุ่มดอก ในแต่ละช่วง CO_2 เข้มข้น 0.5 - 0.7 , 0.7 - 0.8 และ 1.1 - 1.9 % ลักษณะของดอกเห็ด มีการพัฒนาเป็นปกติ (ภาพที่ 21)



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 21 แสดงก้อนเชื้อที่เลี้ยงในตู้ทดลอง และปริมาณ CO_2 ที่เหมาะสมต่อการสร้างปุ่มดอก และการพัฒนาของดอกเห็ดลูกผสม สายพันธุ์ $VT_{1(7)}$

ภาพที่ 22 แสดงดอกเห็ดโคน สายพันธุ์ T3A ที่พัฒนาผิดปกติ ซึ่งเลี้ยงในตู้ทดลองให้ความเข้มข้นของ CO_2 0.06 - 0.13 % ลักษณะของดอกจะคล้ายปะการัง

ก. การบานที่ผิดปกติของดอกเห็ด

ข. ปุ่มดอกที่จะพัฒนาไปเป็นดอกเห็ด

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 23 แสดงดอกเห็ดโคน สายพันธุ์ T3A ที่พัฒนาผิดปกติ ซึ่งเลี้ยงในตู้ทดลองให้ความเข้มข้นของ CO_2 0.06 - 0.13 % ลักษณะของดอกจะคล้ายปะการัง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

1. ตู้ทดลอง มีประสิทธิภาพป้องกันการรั่วซึมของแก๊สในตู้ทดลองได้ดี และป้องกันไม่ให้ความชื้นการระเหยออกจากตู้ทดลอง อุปกรณ์ ไฮโกรมิเตอร์ พัดลมกวนอากาศ และเทอร์โมมิเตอร์ มีทำหน้าที่ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2. ในอาหารหมักที่หมักด้วยใส้นุ่น เพื่อใช้เป็นอาหารปลูกเห็ดพบว่า อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio) ที่เหมาะสมในการปลูกเห็ด มีอัตราส่วน 16.17:1 ซึ่งหมักเป็นเวลา 4 วัน

3. ปริมาณของ CO_2 ที่เกิดขึ้นในตู้ทดลองปริมาตร 31,250 ลบ.ซม. ในระบบกึ่งเปิด-ปิด ของการเจริญของสายใยของเห็ดฟาง (V) มีความเข้มข้น 0.03 - 1.51 % เห็ดโคนสายพันธุ์ T1, T3, T3A และ T3B มีความเข้มข้น 0.03 - 0.89, 0.03 - 0.9, 0.03 - 0.94, 0.03 - 0.97 % ตามลำดับ และเห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(4y)}$, $VT1_{(4yt)}$, $VT1_{(7)}$ และ $VT1_{(7t)}$ ความเข้มข้น 0.03 - 1.65, 0.03 - 1.6, 0.03 - 0.37 และ 0.03 - 1.17 % ตามลำดับ พบว่า CO_2 ไม่มีผลยับยั้งการเจริญของสายใย สายใยเมื่อเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อทั้งหมดในตู้ จะมีพื้นที่ 1272 ตร.ซม. และในเห็ดฟาง เห็ดโคนสายพันธุ์ T1 เห็ดลูกผสม สายพันธุ์ $VT1_{(4y)}$, $VT1_{(4yt)}$, $VT1_{(7)}$ และ $VT1_{(7t)}$ ใช้ระยะเวลาเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อ 6 วัน ส่วนเห็ดโคนทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ T3, T3A และ T3B ใช้เวลาถึง 8 วัน ในการเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อ

ในระบบปิด ปริมาณของ CO_2 ที่เกิดขึ้นจากการเจริญของสายใยและสะสมในตู้ทดลองของเห็ดฟาง (V) มีความเข้มข้น 0.03 - 1.7 % เห็ดโคนสายพันธุ์ T1, T3, T3A และ T3B มีความเข้มข้น 0.03 - 2.5, 0.03 - 0.75, 0.03 - 0.1.17, 0.03 - 1.79 % ตามลำดับ และเห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(4y)}$, $VT1_{(4yt)}$, $VT1_{(7)}$ และ $VT1_{(7t)}$ ความเข้มข้น 0.03 - 3.58, 0.03 - 2.41, 0.03 - 1.44 และ 0.03 - 1.24 % ตามลำดับ ซึ่ง CO_2 ส่งเสริมการเจริญของสายใยเห็ดทุกสายพันธุ์ โดยสายใยเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อได้เร็วขึ้น เห็ดโคนสายพันธุ์ T1 และเห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(4y)}$, $VT1_{(4yt)}$ ใช้เวลา 4 วัน เห็ดฟาง และเห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(7)}$ และ $VT1_{(7t)}$ ใช้เวลา 5 วัน ส่วนเห็ดโคนสายพันธุ์ T3, T3A และ T3B ใช้เวลา 6 วัน ในการเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อ

เมื่อเปรียบเทียบกันใน 2 ระบบ จะพบว่าการเจริญของสายใยเห็ดที่เจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อ ในระบบปิดจะใช้เวลาที่สั้นกว่าเมื่อมีการเจริญในระบบกึ่งเปิด-ปิด

4. ความเข้มข้นของ CO_2 ที่เหมาะสมต่อการสร้างปุ่มดอกของสายใยของเห็ดฟาง เห็ดโคนสายพันธุ์ T1 , T3A และเห็ดลูกผสมสายพันธุ์ $VT1_{(4y)}$, $VT1_{(4y)'}$, $VT1_{(7)}$ และ $VT1_{(7)'}$ อยู่ในช่วง 0.7-0.8, 0.06-0.13, 0.5-0.7, 0.5-0.7, 0.5-0.7, 0.5-0.7 และ 0.7-0.8 % ตามลำดับ ซึ่งให้จำนวนปุ่มดอกมากที่สุดคือ 336, 11, 345, 108, 42, 16 และ 61 ตามลำดับ สำหรับสายพันธุ์เห็ดโคน T3 ไม่พบการสร้างปุ่มดอกในทุกช่วงของความเข้มข้น CO_2 และคอนโทรลที่มีช่วงของ CO_2 2 - 7 % ไม่พบการสร้างปุ่มดอก ในเห็ดทุกสายพันธุ์

5. การพัฒนาของปุ่มดอกไปเป็นดอกเห็ด มีเพียง 3 สายพันธุ์ ที่ปุ่มดอกมีการพัฒนาเป็นดอกเห็ดคือ เห็ดฟาง (V) พบ 12 ปุ่มดอกที่พัฒนาไปเป็นดอกเห็ดที่ช่วงของความเข้มข้น CO_2 0.7-0.8 % และเห็ดโคนสายพันธุ์ T3A มี 50 ปุ่มดอกที่พัฒนาไปเป็นดอกเห็ดที่ช่วงของความเข้มข้น CO_2 0.06 - 0.13 %

6. ผลของ CO_2 ต่อการผิดปกติของดอกจะเห็นได้ชัดในเห็ดโคนสายพันธุ์ T3A ลักษณะของดอกเห็ดจะคล้ายปะการัง และการบานของดอกจะรูส่วนครีบดอกหงายขึ้น และหมวกดอก จะติดกับก้านดอก แต่ในธรรมชาติมี CO_2 (0.03 %) เห็ดโคนสายพันธุ์ T3A จะสร้างปุ่มดอกและมีการพัฒนา และบานโดยครีบดอกจะคว่ำลงด้านล่าง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

อานนท์ เอื้อตระกูล. 2530. *การเพาะเห็ดฟาง*. พิมพ์ครั้งที่ 2 . 258 หน้า.

อัจฉรา พยัพพานนท์. 2530. การศึกษาและเปรียบเทียบวัสดุทำเชื้อเห็ดฟาง. *เทคโนโลยีใหม่ในการเพิ่มผลผลิตเห็ดฟาง*. กรมวิชาการเกษตร. หน้า 21 - 32.

อนงค์ จันทร์ศรีกุล. 2530. เห็ดโคน. *เห็ดเมืองไทย*. โรงพิมพ์ ไทยวัฒนาพานิช. 150. หน้า

สุชาดา กีระนันทน์ และ จลีพร โกลากุล. 2534. *คู่มือการใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SAS กับการวิเคราะห์ข้อมูล* เล่ม 2. โรงพิมพ์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 390 หน้า.

ภาษาอังกฤษ

Alexopolos, J. C. and Mims, W. C. 1979. *Introductory Mycology.* Third Edition. New York : John Wiley & Sons.

Alicbuson, R. V. 1979. Recent trends in mushroom production in Philippine. *Mushroom Sci.* 10 (2) : 547 - 553.

Bels, P. J. and Pataragetvit, S. 1982. Edible mushrooms in Thailand cultivated by termite In S. T. Chang and T.H. Quimio (eds.), *Tropical Mushrooms Biological Nature and cultivation Methods*, pp. 445 - 461. Hong Kong : The Chinese University Press.

Bremner, J. M. 1960. Determination of Nitrogen in Soil by The Kjeildahl Method. *J. Agric. Sci.* 55 : 11 - 33.

Chandra, A. and Purkayastha, R. P. 1977. Physiological studies on Indian edible mushroom *Trans. Br. Mycol. Soc*. 69 (1) : 63 - 70.

Chang, S. T. 1974. Production of straw mushroom (*Volvariella volvacea*) from cotton waste. *Mushroom J.* 9 (1) : 348 - 354.

_____. 1977a. Biological and commercial aspects of straw mushroom cultivation. *Mushroom Sci.* 9 (2) : 157 - 167.

_____. 1978. *Volvariella volvacea*. In *The Biology and cultivation of edible mushrooms*

edited by S. T. Chang and W. A. Hays, pp. 573 - 603. New york: Academic Press.

_____. 1979. Cultivation of *Volvariella volvacea* from cotton waste composts. *Mushroom Sci.* 10 : 609.

_____, and Chu, S. S. 1969. Factor effacting spore germination of *V. volvacea*. *Phisiol. Plant*.. 22 : 734 - 741.

_____, and Miles, G. P. 1989. Vitamin Requirement for Growth. *Edible Mushrooms and thair Cultivation.* Boca raton Florida: pp. 55. CRC Press.

_____, and Yau, C. K. 1971. *Volvariella volvacea* and it life history. *Am. J. Bot.* 58 : 552 - 561.

Chang Ho, Y. 1980. Some factor affecting cellulose utilization by *Volvariella volvacea.* In *The Tropical Mushroom Biological Nature and cultivation method,* pp. 154 - 155. Hong Kong: The Chinese University Press.

_____, and Yee, N.T. 1977. Comparative study of the physiology of *Volvariella volvacea* and *Coprinus cinereus*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 68 : 167 - 172.

Dixon, P. A. 1983. Reproduction capacity of *Termitomyces striatus*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 80 (1) : 131 - 139.

Elliott, J. T. 1982. Genetics and breeding of Cultivated Mushrooms. In S. T. Chang, and T.H. Quimio (eds.), In *The Tropical Mushrooms Biological Nature and cultivation method,* pp. 11 - 26. Hong Kong : The Chinese University Press.

Flegg, J. and Wood, D. A. 1985. The biology and method of cultivation mushroom. New York : John Weiley & Son .

Heim Roger. 1977. *Termite et Champigongs.* 285 p.

Ho, M. S. 1972. Straw mushroom cultivation in plastic house. *Mushroom Sci.* 8 : 257 - 263.

Hu, K. J., Song, S. F. and Liu, P. 1976. The comparison of compost made of diffrent raw materials for *Volvariella volvacea* . *Mushroom Sci.* 9 (1) : 670 - 687.

Ingold, C. and Nawaz, M. 1967. Carbon dioxide and Fruiting in *Sphaerobolus*. *Annual of Botany*. 31 (122) : 351 - 375.

Impens, R. 1970. Recerches sur la croissance du mycelium de *Volvariella volvacea* . In S. T. Chang, and T.H. Quimio (eds.), In *The Tropical Mushroom Biological Nature*

and cultivation method, pp. 150 - 151. Hong Kong : The Chinese University Press.

Kurtzman, R. H. Jr. 1979c. Metabolism and Culture of Pleurotus The Oyster Mushroom. *Taiwan Mushrooms.* 3: 1 - 13.

_____, and Chang Ho, Y. 1982. Physiological consideration for cultivation of *V. volvacea.* In S. T. Chang, and T.H. Quimio (eds.), In *TheTropical Mushroom Biological Nature and cultivation method,* pp. 15 - 154. Hong Kong : The Chinese University Press.

_____, and Zadrazil, F. 1989. Physiological and taxonomic considerations for cultivation of *Pleurotus* mushroom. In S. T. Chang, and T.H. Quimio (eds.), In *The Tropical Mushroom Biological Nature and cultivation method,* pp. 77- 80. Hong Kong : The Chinese University Press.

Lambert, B. E. 1933. Effect of excess carbon dioxide on growing mushrooms. *J. Agric Res.* 47 (8) : 599 - 608

_____, 1965. Ventilation Requirements During Cropping. *Mushroom Sci.* 6 : 371 - 378.

Long, E. P. and Jacob, L. 1969. Some observation on CO_2 and Sporophore initiation in the cultivated mushroom. *Mushroom Science.* 7 : 373 - 384.

Miles, G. P. 1989. *Volvariella volvacea* A high Temperature cultivated mushroom. *Edible mushrooms and thair cultivation.* Boca raton Florida: pp. 255 - 251., CRC Press.

Nair, N. G. 1982. Substrate for Mushroom Production. In S. T. Chang, and T.H. Quimio (eds.), In *The Tropical Mushroom Biological Nature and cultivation method,* pp. 47 - 61 Hong Kong : The Chinese University Press.

Niederpreum, J. D. 1963. Role of carbon dioxide in the control of fruiting of *Schizophyllum commune. J. Bacteriol.* 85 : 1300 - 1307.

Noble, R. and Love, E. M. 1991. Carbon dioxide enrichment to control the growth of the mushroom *Agaricus bisporus* for mechanical harvesting. *Mushroom Science XIII.* 1 : 253 - 261.

Okech, M. A. and Kotengo, M. O. 1988. Culture Isolation and microscopic studies on *Termitomyces* species from the fungus comb of *Macrotermes michaelseni. Mush. J. Tropics.* 8 : 53 - 57.

Pichyangkura, S., Kanoknukroh, V. and Tiabjuturus. 1990. Fusant from Protoplast fusion of Straw mushroom and *Termitomyces sp. Int. Conf. Biotech. Envir. Sci.* Aug. 21 - 24, Bangkok, Abstract : p 123.

Plunkett, B. E. 1982. The Influence of Factor of The Aeration Complex and Light upon Fruit Body from in Pure Cultures of Agaric and Polypore. *Ann. Bot.* 20 : 563 - 5486.

Quimio. T. H. 1977. Isolation and Laboratory culture of *Termitomyces cartilagineus*. *Phil. Agr.* 61 : 55 - 63.

Raper, C. A. 1978. Sexuality and Breeding. *The Biology and Cultivation of Edible Mushroom* edited by S. T. Chang and W. A. Hays, pp. 83 - 117. New york : Academic Press.

Rasmussen, C. R. 1959. Shake - Up Spawning. *Mushroom Sci.* 34 : 21 - 29.

_____. 1962. Carbon Dioxide Accumulation in Mushroom Compost and its Influence on Cropping Yield. *Mushroom Sci.* V : 390 - 414.

Roy, A. and Samajpati, N. 1982. Edible mushrooms of west Bengal-IX *T. tatestui* (PAT) Heim, A new Indian edible mushroom. *Mushroom Newaletter for the Tropics.* 3(1) :10 - 12.

San Antonio, P. J. and Thomas, L. R. 1972. Carbon Dioxide Stimulation of Hyphal Growth of the Cultivated Mushroom, *Agaricus bisporus* (Lenge) Sing. *Mushroom Sci.* VIII. : 623 - 629.

Sands, W. A. 1969. The association of termites and fungi. In K. Krishan and W. Weesner (eds.), *Biology of Termites.* Vol. 1, pp. 495 - 524. New York and London : Academic Press.

Singer, R. 1975. *The Agaricales in Modern Taxoriomy* 3rd eds. New york: Higher publishing.

Tabak, H. H. and Cooke, W. B. 1968. The effect of gaseos environments on the growth and metaolism of fungi. *Bot. Rev.* 33 : 126 - 252.

Tonomura, H. 1978. *Flammulina velutipes*. In *The Biology and Cultivation of Edible Mushroom,* edited by S. T. Chang and W. A. Hays, pp. 409. New york : Academic Press.

Tschierpe, J. H. 1961. Influence of carbon dioxide on micelial growth and sporophore initiation of mushroom . *Mushroom Science.* IV : 250 - 270.

_____, and Sinden, W. J. 1964. Studies on The Composition of Horse Manure Compost from Beginning of Phase II Through Mushroom Cropping as Related to CO_2 Evolution. *Mushroom Sci.* : 61 - 80.

Van der westhuizeng, C. A. and Eicker, A. 1990. Species of *Termitomyces* occuring in South Africa. *Mycol Res.* 94 (7) : 923 - 937.

Voltz., P. A. 1972. Nutritional studies on speices and mutant of *Lepista, Cantharella, Pleurotus* and *Volvariella.* In *the Tropical Mushrooms Biological Nature and cultivation Methods,* edited by S. T. Chang and T. H. Quimio, pp. 140 - 145. Hong Kong : The Chinese University Press.

Walkey, A. L. and Black, L. A. 1934. An Examination of The Degteareff Method of etermining Soil Organic Matter and a Proposed Modification of The Chronic Acid Titration Method. In *Soil Science.* 37 : 29 - 38.

Zadrazil, F. 1978. Cultivation of *Pleurotus.* In *The Biology and Cultivation of Edible Mushroom,* edited by S. T. Chang and W. A. Hays. pp. 521. New york : Academic Press.

_____, and Kurtzman, R. H., Jr. 1982. The Biology of Pleurotus Cultivation in The Tropics. In *the Tropical Mushrooms Biological Nature and cultivation Methods,* edited by S. T. Chang and T. H. Quimio, pp. 277 - 298. Hong Kong : The Chinese University Press.

_____. and Schieman, J. 1978. Cultivation of Pleurotus. In *The Biology and Cultivation of Edible Mushroom,* edited by S. T. Chang and W. A. Hays. pp. 519 - 536. New york : Academic Press.

ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารสูตรมาตรฐาน Potato Dextrose Agar (PDA)

ละลาย Potato Dextrose Agar (PDA) ซึ่งเป็นอาหารสูตรสำเร็จ จำนวน 40 กรัม ในน้ำปลอดอิออน โดยตั้งไฟแล้วคนให้ละลาย จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข
สารเคมี

1. <u>สารละลาย 1 N โปตัสเซี่ยมไดโครเมต ($K_2 Cr_2 O_7$)</u>

อบ $K_2 Cr_2 O_7$ (reagent grade) ที่อุณหภูมิ 100°ซ 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นใน descicator แล้วนำมาชั่ง 49.04 กรัม ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1,000 มล.

2. <u>สารละลาย 0.025 M O-Phenanthroline ferrous complex</u>

ชั่ง O-Phenanthroline monoyhydrate 14.85 กรัม และ Ferrous sulfate heptahydrate ($FeSO_4 . 7 H_2O$) 6.95 กรัม ละลายทั้งสองชนิดในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มล.

3. <u>สารละลาย 0.5 N Ferrous sulfate</u>

ละลาย 140 กรัม ของ Ferrous sulfate heptahydrate ($FeSO_4 . 7 H_2O$) ในน้ำกลั่น แล้วเติมด้วยกรดเกลือเข้มข้น (Conc. H_2SO_4) 5 มล. ทำสารละลายให้เย็น ปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มล.

4. <u>สารละลาย บอริค แอซิด 4 % W/V</u>

ชั่ง boric acid (H_3BO_3) 4 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มล.

5. <u>สารละลาย 40 % โซเดียมไฮดรอกไซด์</u>

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 40 กรัม ละลายในน้ำกลั่นที่ต้มไล่อากาศออก ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มล.

6. <u>สารละลาย อินดิเคเตอร์โบรโมครีซอลกรีน และ เมทธิล เรด</u>

ชั่ง Bromocresal green 0.099 กรัม และ methyl red 0.066 กรัม ละลายสารทั้งสองชนิดใน 95 % เอทานอล 100 มล. ปรับ pH ให้ได้ 5.0 โดยใช้ 0.1 N NaOH ซึ่งสารละลายจะเป็นสีม่วงแดง

7. การเตรียม 0.1 N HCl

เติมกรดไฮโดรคลอริค เข้มข้น ปริมาตร 0.84 มล. ลงในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1,000 มล.

8. การเตรียมสารรมฆ่าเชื้อ

ด่างทับทิม ($KMnO_4$) 1 กรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้องวางในตู้ทดลอง เติมฟอร์มาลิน 40 % 2 มล. ปิดตู้ทดลองให้สนิททันที สารทั้งสองจะทำปฏิกิริยาได้เป็นไอสีขาว

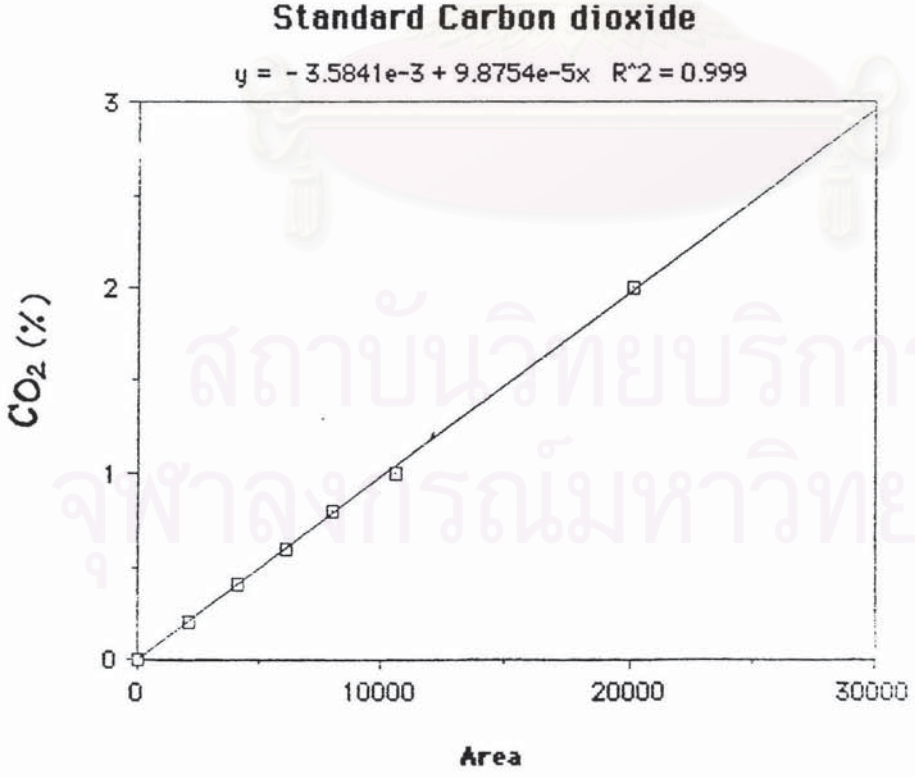
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค

ตัวอย่างผลการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ (Gas Chromatograph, GC) แสดงผลเป็นโครมาโตแกรม และพื้นที่ใต้โครมาโตแกรม

SMPL #	00
FILE #	2
REPT #	51
METHOD	41

#	NAME	TIME	CONC	MK	AREA
0		0.39	99.6482		1789907
0		0.85	0.3516	I	6317
	TOTAL		99.9999		1796224



%CO_2	Area
0.00	0.00
0.20	2082.00
0.40	4040.00
0.60	6035.00
0.80	8018.00
1.00	10542.00
2.00	20168.00

ภาคผนวก ง

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของจำนวนปุ่มดอกที่สร้างขึ้นในช่วงความเข้มข้นของ CO_2 ต่างๆ กัน และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan' s Multiple Range Test วิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ ด้วยโปรแกรมทางคอมพิวเตอร์ SAS (Statistical Analysis System)

1. เห็ดลูกผสมสายพันธุ์ VT1(7t)

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
REP	2	1 2
CO_2	5	0.06-0.13, 0.2-0.5, 0.5-0.7, 0.7-0.8, 1.1-1.9

Number of observations in data set = 10

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: FF

Source	DF	Sum of Squares	MeanSquare	F Value	Pr > F
Model	5	2853.800000	570.760000	10.84	0.0193
Error	4	210.600000	52.650000		
Corrected Total	9	3064.400000			

R-Square	C.V.	Root MSE	FF Mean
0.931275	17.11328	7.256032	42.4000000

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: FF

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
REP	1	48.400000	48.400000	0.92	0.3920
CO_2	4	2805.400000	701.350000	13.32	0.0139

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: FF

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 4 MSE= 52.65

Number of Means 2 3 4 5

Critical Range 20.18 20.61 20.69 20.73

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	CO_2
A	60.500	2	0.7 - 0.8
A			
A	50.000	2	0.5 - 0.7
A			
A	48.000	2	0.2 - 0.5
A			
A	42.500	2	0.06 - 0.13
B	11.000	2	1.1 - 1.9

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. เห็ดโคนสายพันธุ์ T3A

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
REP	2	1 2
CO_2	5	0.06-0.13, 0.2-0.5, 0.5-0.7, 0.7-0.8, 1.1-1.9

Number of observations in data set = 10

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: FF

Source	DF	Sum of Squares	MeanSquare	F Value	Pr > F
Model	5	90582.80000	18116.56000	35.78	0.0020
Error	4	2025.60000	506.40000		
Corrected Total	9	92608.40000			

R-Square	C.V.	Root MSE	FF Mean
0.978127	10.78779	22.50333	208.600000

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: FF

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
REP	1	32.40000	32.40000	0.06	0.8128
CO_2	4	90550.40000	22637.60000	44.70	0.0014

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: FF

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 4 MSE= 506.4

Number of Means 2 3 4 5

Critical Range 62.59 63.92 64.15 64.28

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	CO_2
A	345.00	2	0.5-0.7
B	242.00	2	0.03-0.16
B			
B	216.00	2	0.2-0.5
B			
B	190.00	2	0.7-0.8
C	50.00	2	1.1-1.9

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. เห็ดฟาง

Analysis of Variance Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
REP	2	1 2
CO_2	5	0.06-0.13, 0.2-0.5, 0.5-0.7, 0.7-0.8, 1.1-1.9

Number of observations in data set = 10

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: FF

Source	DF	Sum of Squares	MeanSquare	F Value	Pr > F
Model	5	145265.0000	29053.0000	21.86	0.0053
Error	4	5317.4000	1329.3500		
Corrected Total	9	150582.4000			

R-Square	C.V.	Root MSE	FF Mean
0.964688	36.68033	36.46025	99.4000000

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: FF

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
REP	1	291.6000	291.6000	0.22	0.6639
CO_2	4	144973.4000	36243.3500	27.26	0.0037

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: FF

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 4 MSE= 1329.35

Number of Means 2 3 4 5

Critical Range 101.4 103.6 103.9 104.1

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	CO_2
A	336.00	2	0.7-0.8
B	77.00	2	1.1-1.9
B			
B	43.50	2	0.06-10.13
B			
B	33.50	2	0.5-0.7
B			
B	7.00	2	0.2-0.5

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก จ

ตารางแสดงรายงานวิจัยผลของ CO_2 ต่อการเจริญของเห็ด

สายพันธุ์เห็ด	CO_2 (%)	ผลที่เกิดขึ้นกับเห็ด	ผู้วิจัย (ปีที่ตีพิมพ์)
Agaricus bisporus	0.03-0.6	กระตุ้นการเจริญของสายใย	Long และ Jacobs (1969)
	0.1-0.5	เหมาะสมต่อการเจริญของสายใย	SanAntonio และ Thomas (1972)
	> 2	สายใยเจริญช้าลง	Tschierpe (1961)
	0.03 - 0.1	กระตุ้นการสร้างปุ่มดอก	Tschierpe และ Sinden (1964); Long และ Jacobs (1969)และ Nichols (1985)
	> 0.2	ยับยั้งการสร้างปุ่มดอก	Flegg และ Wood (1985)
	6-18	การพัฒนาดอกเห็ด	Lambert (1933)
	> 1.5	ก้านดอกยาวเกินปกติ	Tschierpe (1961)
	> 11	ปุ่มดอกเห็ดแห้งตายลง	Tschierpe (1961)
	< 10	ก้านดอกและหมวกดอกเจริญอย่างปกติ	Nichols (1985)
	0.5 - 1.5	ผลผลิตดอกเห็ดลดลง	Noble และ Love (1991)
Pleurotus oystreatus	15 - 20	เหมาะต่อการเจริญของสายใย	Zadrazil (1978)
	30	สายใยเจริญช้าลง	Zadrazil (1978)
	28	กระตุ้นการเจริญของสายใย	Zadrazil และ Schieman (1978)
Pleurotus oystreatus	> 0.08	ก้านดอกยาวและหมวกดอกเจริญผิดปกติ	Zadrazil (1978)
Pleurotus florida	28	กระตุ้นการเจริญของสายใย	Zadrazil และ Schieman (1978)

ตาราง (ต่อ)

สายพันธุ์เห็ด	CO_2 (%)	ผลที่เกิดขึ้นกับเห็ด	ผู้วิจัย (ปีที่ตีพิมพ์)
Pleurotus eryngii	22	กระตุ้นการเจริญของสายใย	Zadrazil และ Schieman (1978)
Schizophyllum commune	5	กระตุ้นการเจริญและการสร้างปุ่มดอก	Niederpreum (1963)
Sphaerobolus	> 5	ยับยั้งการสร้างปุ่มดอก	Ingold และ Nawaz (1967)
Flammulia velutipes	0.06-4.9	การพัฒนาดอกเห็ดและการสร้างปุ่มดอก	Tonomura (1978)
	> 4.9	หมวกดอกเล็กและสร้างหมวกดอกช้ากว่าปกติ	Tonomura (1978)
Auricularia auricula	> 5	ดอกเห็ดไม่บาน ลักษณะคล้ายปะการัง	Plunkett (1982)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติ

นายสราวุธ สมถวิล เกิดเมื่อวันที่ 21 กุมภาพันธ์ 2513 ที่จังหวัด สุรินทร์ สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) จากคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ปีการศึกษา 2533

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย