# การเพาะเลี้ยงเห็ดสกุล *Pleurotus* โดยการใช้ผักตบชวา

# CULTIVATION OF *PLEUROTUS* USING WATER HYACINTH AS A SUBSTRATE

นายจิรพรพงศ์ นุ่มศิริ
นายธีรวัฒน์ คิดเห็น
นายอภิวัฒน์ สุขเกษม

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# CULTIVATION OF *PLEUROTUS* USING WATER HYACINTH AS A SUBSTRATE

Jirapornpong Numsiri
Teerawat Khithen
Apiwat Sukkasem

A SPECIAL PROJECT EDUCATION SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
IN BIOTECHNOLOGY
DEPARTMENT OF BIOLOGY
FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2018

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | | | |
|---|---|---|---|
| **หัวข้อโครงงานพิเศษ** | การเพาะเลี้ยงเห็ดสกุล *Pleurotus* โดยการใช้ผักตบชวา<br>CULTIVATION OF *PLEUROTUS* USING WATER HYACINTH AS A SUBSTRATE | | |
| **ชื่อนักศึกษา** | นายจิรพรพงศ์ | นุ่มศิริ | รหัสนักศึกษา 58050723 |
| | นายธีรวัฒน์ | คิดเห็น | รหัสนักศึกษา 58050769 |
| | นายอภิวัฒน์ | สุขเกษม | รหัสนักศึกษา 58050841 |
| **ปริญญา** | วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) | | |
| **ภาควิชา** | ชีววิทยา | | |
| **ปีการศึกษา** | 2561 | | |
| **อาจารย์ที่ปรึกษา** | ผศ.ดร.ณัฐวุฒิ รุ่งจินดามัย | | |

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2561

| คณะกรรมการสอบ | ลายมือชื่อ |
|---|---|
| รศ.ดร.จิตติ ท่าไว<br>ประธานกรรมการ | |
| รศ.ดวงใจ โอชัยกุล<br>กรรมการ | |
| ผศ.ดร.ณัฐวุฒิ รุ่งจินดามัย<br>กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา | |

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | | | |
|---|---|---|---|
| **หัวข้อโครงงานพิเศษ** | การเพาะเลี้ยงเห็ดสกุล *Pleurotus* โดยการใช้ผักตบชวา | | |
| **ชื่อนักศึกษา** | นายจิรพรพงศ์ | นุ่มศิริ | รหัสนักศึกษา 58050723 |
| | นายธีรวัฒน์ | คิดเห็น | รหัสนักศึกษา 58050769 |
| | นายอภิวัฒน์ | สุขเกษม | รหัสนักศึกษา 58050841 |
| **ปริญญา** | วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) | | |
| **ภาควิชา** | ชีววิทยา | | |
| **คณะ** | วิทยาศาสตร์ | | |
| **มหาวิทยาลัย** | สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) | | |
| **ปีการศึกษา** | 2561 | | |
| **อาจารย์ที่ปรึกษา** | ดร.ณัฐวุฒิ รุ่งจินดามัย | | |


**บทคัดย่อ**

งานวิจัยนี้ได้ศึกษามุ่งศึกษาเห็ดสกุล *Pleurotus* 3 ชนิด ได้แก่ เห็ดนางฟ้า (*Pleurotus sajor-caju*) เห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*) และเห็ดเป๋าฮื้อ (*Pleurotus abalonus*) โดยทำการแยกเชื้อเห็ดทั้ง 3 ชนิดจากตัวอย่างตัวอย่างเห็ดสด และหัวเชื้อเมล็ดข้าวฟ่าง ได้เชื้อเห็ด 13 ไอโซเลต แล้วจึงศึกษาความสามารถในการเจริญบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) และทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์บนอาหาร Czapek Dox Agar (CZ) ผสมกับ 1% ของ carboxymethyl cellulose (CMC) โดยทั้ง 2 การทดลอง บ่มเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่าจาก 13 ไอโซเลตที่แยกได้ มี 3 ชนิดที่เจริญเร็วและสร้างเอนไซม์ได้ดี ได้แก่ (1) เห็ดนางฟ้า AG-PL (2) เห็ดนางรม OS-PL และ (3) เห็ดเป๋าฮื้อ PH(T)-PTR หลังจากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่พัฒนาขึ้นทั้งหมดจำนวน 4 สูตรได้แก่ (1) PDA (2) PDA ผสมขี้เลื้อยไม้ (3) PDA ผสมผักตบชวาแห้ง และ (4) PDA ผสมผักตบชวาสด แต่ละสูตรในขวดแก้วนำไปที่ 2 อุณหภูมิที่แตกต่างกันได้แก่ อุณหภูมิห้อง (อยู่ระหว่าง 25-32°C) และอุณหภูมิ 25°C นาน 6 สัปดาห์ ผลการศึกษาพบว่าเส้นใยของเชื้อเห็ดทั้ง 3 ชนิด สามารถเจริญเติบโตได้ดีทั้งในอุณหภูมิ 25°C และที่อุณหภูมิห้อง และเห็ดเป๋าฮื้อเจริญเติบโตได้เร็วกว่าเห็ดอีก 2 ชนิด เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารทุกสูตร ยกเว้น PDA ผสมผักตบชวาแห้ง ซึ่งเห็ดเป๋าฮื้อไม่มีการเจริญใดๆ เกิดขึ้น สำหรับเห็ดนางฟ้าและเห็ดนางรม โตได้ดีที่สุดในสูตรอาหาร PDA ผสมผักตบชวาสด พบว่าเห็ดทั้ง 3 ชนิดสามารถเจริญและสร้างเส้นใยได้เป็นอย่างดี ดังนั้นผักตบชวาแบบสด สามารถเป็นทางเลือกเพิ่มเติมในการเพาะเห็ดแทนวัสดุดั้งเดิม เพื่อลดต้นทุนและใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือใช้ในธรรมชาติด้วยการใช้ความรู้ด้านเทคโนโลยีชีวภาพ


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**คำสำคัญ** ผักตบชวา วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม เห็ดเป๋าฮื้อ *Pleurotus*

| | |
|---|---|
| Title | CULTIVATION OF *PLEUROTUS* USING WATER HYACINTH AS A SUBSTRATE |
| Students | Mr. Jirapornpong Numsiri Student ID 58050723 |
| | Mr. Teerawat Khithen Student ID 58050769 |
| | Mr. Apiwat Sukkasem Student ID 58050841 |
| Degree | Bachelor of Science (Biotechnology) |
| Department | Biology |
| Faculty | Science |
| University | King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL) |
| Academic Year | 2018 |
| Advisor | Nattawut Rungjindamai D. |



Abstract

Three species of *Pleurotus*, widely consumed edible mushrooms, consisting of *P. sajor-caju*, *P. ostreatus* and *P. abalonus* were studied. Their cultures were isolated from fresh mushrooms and inocula on sorghum seeds collected from 8 provinces in Central Thailand. Thirteen isolates were recovered from these samples which include 5, 6 and 2 isolates, respectively. The studies of their growth rates and enzymatic capability were performed on Potato Dextrose Ager (PDA) and Czapek Dox Agar mixed with 1% carboxymethyl cellulose (CZ+CMC), respectively. Both media were incubated at 25°C for seven days. The best 3 isolates were selected including *P. sajor-caju* AG-PL, *P. ostreatus* OS-PL and *P. abalonus* PH(T)-PTR). They were grown on 4 types of substrates including (1) PDA, (2) PDA mixed with sawdust, (3) PDA mixed dried water hyacinth and (4) PDA mixed fresh water hyacinth. The mushrooms were grown in glass jars and incubated at two conditions [room temperature (25-32 °C) and 25 °C] for six weeks. The fungal growth was checked weekly and when the spores were produced, the samples were photographed at macroscopic and microscopic levels. The result showed that there was no difference between the fungal growth at 25°C and room temperature. Generally, *P. abalonus* grew faster than other 2 species in all types of substrates except when it grew on PDA mixed with dried water hyacinth. While *P. sajor-*


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*caju* and *P. ostreatus* grew best on PDA mixed with fresh water hyacinth. Although these three isolates failed to produce fruiting bodies in all types of media, they were able to grow actively on these biomaterials emphasising that water hyacinth could be an alternative source for mushroom cultivation. Further biotechnological studies e.g. cost reduction and utilisation of agricultural waste should be focused.

Keywords : water hyacinth, agricultural waste, *P. sajor-caju*, *P. ostreatus*, *P. abalonus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อ ศึกษาการเพาะเห็ดสกุล *Pleurotus* โดยการใช้ผักตบชวา โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยการเอื้อเฟื้อข้อมูลที่เป็นประโยชน์ และความร่วมมือต่างๆของหลายท่าน ซึ่งให้การสนับสนุนให้คำแนะนำปรึกษาตลอดจนปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ต่อคณะผู้ทำโครงงานพิเศษตั้งแต่เริ่มต้นโครงงานพิเศษจนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ดร.ณัฐวุฒิ รุ่งจินดามัย ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษนี้ ที่กรุณารับเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาให้แก่คณะผู้ทำโครงงานพิเศษ รวมทั้งสละเวลาให้คำแนะนำและความคิดเห็นที่เป็นประโยชน์เกี่ยวกับแนวทางการทำโครงงานพิเศษ การปรับปรุงโครงงานพิเศษและการนำเสนอโครงงานพิเศษโดยเฉพาะอย่างยิ่งที่คอยชี้แนะ ทำให้โครงงานพิเศษได้รับข้อมูลที่ถูกต้องครบถ้วน ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างมากตลอดจนขอขอบพระคุณ รศ.ดร.จิตติ ท่าไว และ รศ. ดวงใจ โอชัยกุล ที่ให้เกียรติมาเป็นกรรมการในการสอบโครงงารพิเศษฉบับนี้และขอขอบคุณฟาร์มเห็ดโพธาราม ฟาร์มเห็ดศรีทอง ที่ให้คำแนะนำความรู้ข้อมูลต่างๆ ในการทำโครงงานพิเศษนี้

ขอขอบคุณผู้ที่เกี่ยวข้องทุกท่านที่ไม่ได้กล่าวนามไว้ในที่นี้ที่กรุณาสละเวลาเอื้อเฟื้อข้อมูลและให้ความร่วมมือในด้านต่างๆไม่มากก็น้อยที่มีส่วนช่วยในการจัดทำโครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ ผู้วิจัยหวังว่า โครงงานพิเศษฉบับนี้จะมีประโยชน์อยู่ไม่น้อย จึงขอมอบส่วนดีทั้งหมดนี้ให้แก่เหล่าคณาจารย์ที่ได้ประสิทธิประสาทวิชาจนทำให้โครงงานพิเศษนี้เป็นประโยชน์ต่อผู้ที่เกี่ยวข้องและขอมอบความกตัญญูกตเวทิตาคุณ แด่บิดา มารดา และผู้มีพระคุณทุกท่าน สำหรับข้อบกพร่องต่าง ๆ ที่อาจจะเกิดขึ้นนั้น ผู้ทำโครงงานพิเศษขอน้อมรับผิดและยินดีที่จะรับฟังคำแนะนำจากทุกท่านที่ได้เข้ามาศึกษา เพื่อเป็นประโยชน์ในการพัฒนาโครงงานพิเศษต่อไป

นายจิรพรพงศ์ นุ่มศิริ
นายธีรวัฒน์ คิดเห็น
นายอภิวัฒน์ สุขเกษม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ


| เรื่อง | หน้า |
|---|---|
| บทคัดย่อ | ก |
| Abstract | ข |
| กิตติกรรมประกาศ | ง |
| สารบัญ | จ |
| สารบัญตาราง | ช |
| สารบัญรูปภาพ | ฌ |
| คำย่อ/สัญลักษณ์ | ญ |
| บทที่ 1 | 1 |
| บทนำ | 1 |
| 1.1 ที่มาและความสำคัญ | 1 |
| 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ | 1 |
| 1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ | 1 |
| 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ | 2 |
| บทที่ 2 | 3 |
| ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง | 3 |
| 2.1 เห็ดในสกุลนางรม *(Pleurotus)* | 3 |
| 2.1.1 ความหลากหลายของเห็ดสกุลนางรม *(Pleurotus)* | 3 |
| 2.1.2 มูลค่าทางเศรษฐกิจของเห็ดสกุล *pleurotus* | 4 |
| 2.1.3 องค์ประกอบหลักที่ใช้ในการผลิตก้อนเห็ด | 5 |
| 2.2 ผักตบชวา | 6 |
| 2.2.1 ลักษณะเบื้องต้นของผักตบชวา | 6 |
| 2.2.2 ปัญหาของผักตบชวาที่มีผลต่อสิ่งแวดล้อม | 6 |
| 2.2.3 การศึกษาเพื่อนำผักตบชวาไปใช้ประโยชน์ทางอุตสาหกรรม | 7 |
| 2.2.4 การศึกษาการใช้ผักตบชวา เพื่อเป็นวัตถุดิบในการเพาะเห็ด | 8 |
| บทที่ 3 | 9 |
| วิธีการดำเนินงานวิจัย | 9 |


เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทำโครงงานพิเศษ 9
3.1.1 อุปกรณ์ 9
3.1.2 สารเคมี 10
3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ 10
3.1.4 อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ด 10
3.2 การเก็บตัวอย่างเห็ดสกุล *Pleurotus* 11
3.2.1 วิธีการเก็บตัวอย่าง และสถานที่เก็บตัวอย่าง 11
3.3 การแยกเชื้อเห็ด 13
3.3.1 การแยกเชื้อเห็ดจากดอกเห็ด 13
3.3.2 การแยกเชื้อเห็ดจากเมล็ดข้าวฟ่าง 13
3.3.3 การเก็บรักษาเชื้อเห็ด 13
3.4 การศึกษาคุณสมบัติพื้นฐานของเห็ดสกุล *Pleurotus* 14
3.4.1 การศึกษาอัตราการเจริญบนอาหารแข็ง PDA 14
3.4.2 การศึกษาความสามารถในการสร้างเอนไซม์บนอาหารแข็ง CZ+CMC 14
3.5 การศึกษาการกระตุ้นให้เห็ดสกุล *Pleurotus* สร้างดอกเห็ด 15
3.5.1 การเตรียมตัวอย่างผักตบชวา 15
3.5.2 การศึกษาปัจจัยการกระตุ้นให้เห็ดสกุล *Pleurotus* สร้างดอกเห็ด 16
บทที่ 4 17
ผลการวิจัยและอภิปรายผล 17
4.1 จำนวนของเชื้อเห็ดสกุล *Pleurotus* ที่แยกได้ 17
4.2 อัตราการเจริญของเห็ดสกุล *Pleurotus* บนอาหาร PDA 19
4.3 ความสามารถในการสร้างเอนไซม์ของเห็ดสกุล *Pleurotus* บนอาหาร CZ+CMC 20
4.4 การกระตุ้นให้เห็ดสกุล *Pleurotus* สร้างดอกเห็ด 24
4.4.1 ผลการศึกษาในด้านสัณฐานวิทยา 24
4.4.2 ลักษณะของโครงสร้างการสืบพันธุ์ของเห็ดที่พบ 27
บทที่ 5 30
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 30
5.1 สรุปผลการวิจัย 30
5.2 ข้อเสนอแนะ 30
อ้างอิง 32
ภาคผนวก ก 35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารเลี้ยงเชื้อ 35
ภาคผนวก ข 37
การเตรียมสารเคมี 37
ภาคผนวก ค 38
ตารางที่ 1 แสดงอัตราการเจริญของเห็ด *Pleurotus* บนอาหาร PDA ในระยะเวลาเพาะเลี้ยง 7 วัน 38
ตารางที่ 2 แสดงค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน(SE) ของการเจริญเห็ด *Pleurotus* บนอาหาร PDA ในระยะเวลาเพาะเลี้ยง 7 วัน 39
ตารางที่ 3 ความสามารถในการสร้างเอนไซม์ของเห็ดสกุล *Pleurotus* บนอาหาร CMC+CZ 40
ตารางที่ 4 ผลการคัดเลือกเห็ดสกุล *Pleurotus* โดยเปรียบเทียบระหว่างการเจริญบนอาหาร PDA และการสร้างเอนไซม์บนอาหาร CZ + CMC 41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง


| ตารางที่ | หน้า |
|---|---|
| ตาราง 3.1 รายละเอียดสถานที่เก็บตัวอย่างเห็ดสกุล *Pleurotus* จากจังหวัดต่างๆ ของประเทศไทย | 12 |
| ตาราง 4.1 ตารางผลการเก็บตัวอย่างและแยกเชื้อเห็ดในสถานที่ต่างๆ | 18 |
| ตาราง 4.2 แสดงความสามารถในการสร้างเอนไซม์ของเห็ดสกุล *Pleurotus* | 21 |
| ตาราง 4.3 แสดงความสามารถในการสร้างดอกเห็ดในสกุล *Pleurotus* | 26 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญรูปภาพ


| รูปที่ | หน้า |
|---|---|
| รูปที่ 3.1 สถานที่เก็บตัวอย่างเห็ดสกุล *Pleurotus* จาก 8 จังหวัดในภาคกลางของประเทศไทย | 11 |
| รูปที่ 3.2 ลักษณะตัวอย่างที่เก็บของเห็ดสกุล Pleurotus จาก 8 จังหวัดในภาคกลางของประเทศไทย | 13 |
| รูปที่ 3.3 ลักษณะของผักตบชวาที่ใช้ในการศึกษาการเพาะเห็ด | 15 |
| รูปที่ 4.1 แผนภูมิแสดงอัตราการเจริญเติบโตเห็ดสกุล *Pleurotus* บนอาหาร PDA ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 7 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส | 20 |
| รูปที่ 4.2 แผนภูมิแสดงความสามารถในการสร้างเอนไซม์ของเห็ดสกุล *Pleurotus* บนอาหาร CZ+CMC | 22 |
| รูปที่ 4.3 การเจริญของเห็ดนางฟ้าบนอาหาร PDA ผสมผักตบชวาแบบแห้ง | 27 |
| รูปที่ 4.4 การเจริญของเห็ดนางรมบนอาหาร PDA ผสมผักตบชวาแบบสด | 28 |
| รูปที่ 4.5 การเจริญของเห็ดเป๋าฮื้อบนอาหาร PDA ผสมผักตบชวาแบบสด | 29 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# คำย่อ/สัญลักษณ์

| | |
|---|---|
| PDA | คือ Potato dextrose agar |
| CMC | คือ Carboxymethyl cellulose |
| CZ | คือ Czapek dox broth |
| ° C | คือ องศาเซลเซียส |



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1

# บทนำ

## 1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ

ผักตบชวาเป็นพืชต่างถิ่น (alien species) ที่ถูกนำเข้ามาในประเทศไทยเนื่องจากเป็นพืชดอกมีความสวยงาม แต่ในปัจจุบันพบว่าผักตบชวาเมื่อหลุดรอดไปยังแหล่งน้ำตามธรรมชาติ ผักตบชวามีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิตที่อาศัยในระบบนิเวศน์ และยังสร้างปัญหาได้หลายด้าน เช่น ด้านชลประทาน เพราะผักตบชวาไปลดการไหลของน้ำ เป็นอุปสรรคในการระบายน้ำของฝายหรือประตูระบายน้ำ และด้านกสิกรรม เพราะผักตบชวาจะใช้ออกซิเจน และสารอาหารที่มีอยู่ในน้ำอย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดภาวะน้ำเสียเกิดขึ้น

ขั้นตอนการกำจัดผักตบชวาทำโดยการตัดและบดให้ลำต้นฉีกขาด บางส่วนของผักตบชวาจมลงใต้น้ำ และบางส่วนถูกนำขึ้นมาตากทิ้งเอาไว้บนฝั่ง ซึ่งวิธีดังกล่าวแม้ว่าจะทำได้ง่าย แต่ก่อให้เกิดขยะทางชีวภาพในสิ่งแวดล้อมมากขึ้น ดังนั้นจึงมีแนวคิดในการศึกษาการใช้ประโยชน์จากผักตบชวาซึ่งเป็นของเหลือที่สำคัญ โดยเน้นการนำต้นผักตบชวามาใช้เป็นแหล่งของวัตถุดิบในการเพาะเลี้ยงเห็ดสำคัญทางเศรษฐกิจ

ในการศึกษาครั้งนี้ ได้เน้นเห็ดสกุล *Pleurotus* เช่น เห็ดนางรม เห็ดนางฟ้า เห็ดเป๋าฮื้อ เนื่องจากมีมูลค่าสูงทางเศรษฐกิจ และนิยมบริโภคทั่วไป โดยทำการศึกษาการเจริญเติบโตของเห็ดสกุล *Pleurotus* และนำมาเพาะเลี้ยงรวมกับผักตบชวา เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการนำผักตบชวามาเป็นวัตถุดิบเพื่อผลิตเห็ดต่อไปในอนาคต เพื่อเพิ่มมูลค่าของผักตบชวา และลดต้นทุนการผลิตเห็ดในระดับอุตสาหกรรม

## 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1. เพื่อแยกเชื้อเห็ดสกุล *Pleurotus* จากตัวอย่างในจังหวัดต่างๆ ของประเทศไทย
2. เพื่อศึกษาคุณสมบัติพื้นฐานและปัจจัยต่างๆ ที่ส่งผลในการเจริญของเห็ดในสกุล *Pleurotus*
3. เพื่อศึกษาการกระตุ้นให้เห็ดสกุล *Pleurotus* สร้างดอกเห็ด เมื่อทดลองในห้องปฏิบัติการ

## 1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

1. แยกเชื้อเห็ดสกุล *Pleurotus* ทั้งหมดจำนวน 15 ไอโซเลต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. คัดเลือกเชื้อเห็ดสกุล *Pleurotus* ที่มีอัตราการเจริญเติบโตเร็ว และสร้างเอนไซม์ได้ดีที่สุด จำนวน 15 ไอโซเลต

3. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเห็ด *Pleurotus* จำนวน 3 ไอโซเลต เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยผักตบชวา

**1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ**

1. ได้เชื้อเห็ดสกุล *Pleurotus* ที่เป็นเชื้อบริสุทธิ์
2. ได้ทราบคุณสมบัติพื้นฐานและการเจริญของเห็ดสกุล *Pluerotus* บนอาหารสังเคราะห์
3. การใช้ประโยชน์และการแปรรูปจากผักตบชวาด้วยการใช้เทคโนโลยีชีวภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 2

# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เห็ดในสกุลนางรม (*Pleurotus*)

2.1.1 ความหลากหลายของเห็ดสกุลนางรม (*Pleurotus*)

เห็ดสกุล *Pleurotus* เป็นเห็ดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ และมีความหลากหลายของชนิด เช่น เห็ดนางรมภูฐาน เห็ดนางรมหลวง เห็ดนางฟ้า และเห็ดเป๋าฮื้อ เป็นต้น เห็ดสกุลนี้ได้รับความนิยมปลูกมากในแทบทวีปเอเชีย ลักษณะพื้นฐานของดอกเห็ดสกุลนี้ประกอบด้วยส่วนต่างๆดังนี้

1. หมวกดอก (cap หรือ pileus) มีลักษณะและสีคล้ายหอยนางรม เมื่อโตเต็มที่หมวกดอกมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2-15 เซนติเมตร มีสีแตกต่างกันตามชนิดของเห็ด โดยมีสีขาว ครีม เหลือง ไปจนถึงน้ำตาล

2. ก้านดอก (stalk) เป็นส่วนก้านดอกเห็ดที่สร้างขึ้นรองรับหมวกดอก มีการเจริญไปในทิศทางด้านแสงสว่าง ขนาดของก้านขึ้นอยู่กับชนิดของเห็ด

3. ครีบดอก (gill) มีลักษณะเป็นครีบบางๆ ซ้อนกันแบบอัดแน่น มีการสร้างสปอร์จำนวนมาก โดยบางชนิดมีสีขาวอมม่วง บางชนิดมีสีขาว

อนุกรมวิธานของเห็ดสกุล *Pleurotus*

Kingdom Fungi
Phylum Basidiomycota
Class Agaricomycetes
Order Agaricales
Family Pleurotaceace
Genus *Pleurotus*

ในฐานข้อมูล Index Fungorum เห็ดในสกุล *Pleurotus* เป็นเห็ดกลุ่ม Agarics จัดอยู่ใน Phylum Basidiomycota โดยเป็นเห็ดที่พบได้หลายภูมิภาคทั่วโลกมีสมาชิกอยู่มากมาย มีจำนวนสูงถึง 205 species (Kirk 2019) แต่ในการศึกษาครั้งนี้มุ่งเน้นศึกษาเห็ดในสกุล *Pleurotus* 3 ชนิดได้แก่ เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม และเห็ดเป๋าฮื้อ เนื่องจากเป็นเห็ดที่ได้รับความนิยมในการเพาะปลูกในประเทศไทย และมีมูลค่าสูงในทางการตลาด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อไทย เห็ดนางฟ้า
ชื่อวิทยาศาสตร์ *Pleurotus sajor-caju*
ชื่อเรียกอื่น Grey oyster mushroom

ดอกเห็ดเมื่อโตเต็มที่เป็นแบบกรวยลึก บาง ผิวเรียบ มีสีขาว ไปจนถึงสีครีม หรือน้ำตาลอ่อน ก้านดอกทรงกระบอก แข็ง สีเดียวกับหมวกดอก สปอร์มีรูปร่างทรงกระบอกแคบ ผนังบาง โค้งมนเล็กน้อย ดำรงชีวิตในธรรมชาติแบบผู้ย่อยสลาย บนกิ่งไม้และขอนไม้แห้ง เป็นเห็ดเศรษฐกิจที่สำคัญของไทย

การผลิต เจริญเต็มก้อนเห็ดภายในเวลา 30-40 วัน ที่อุณหภูมิ 30-33°C และออกดอกนาน 2-3 เดือนที่อุณหภูมิ 20-30°C ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 75-85%

ชื่อไทย เห็ดนางรม
ชื่อวิทยาศาสตร์ *Pleurotus ostreatus*
ชื่อเรียกอื่น Pearl oyster mushroom, tree oyster mushroom

ดอกเห็ดเมื่อโตเต็มที่มีลักษณะเป็นรูปพัด แผ่แบน สีเทาดำ เนื้อแน่น นุ่มนิ่ม ลักษณะผิวสัมผัสและรสชาติคล้ายหอยนางรม ก้านเห็ดเป็นทรงกระบอกยาว สปอร์มีรูปร่างรี ไปจนถึงทรงกระบอก ผิวเรียบ ใส พบในธรรมชาติแบบผู้ย่อยสลาย นิยมนำมาเพาะเลี้ยงในระดับอุตสาหกรรม

การผลิต เจริญเต็มก้อนเห็ดภายในเวลา 30-40 วัน ที่อุณหภูมิ 30-35°C และออกดอกนาน 2-3 เดือนที่อุณหภูมิ 22-26°C ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 75-85%

ชื่อไทย เห็ดเป๋าฮื้อ
ชื่อวิทยาศาสตร์ *Pleurotus abalonus*

ดอกเห็ดเมื่อโตเต็มที่มีลักษณะเป็นรูปพัด มีหลายสีตั้งแต่ ครีม น้ำตาลอ่อน ไปจนถึงเทาดำ เนื้อดอกเห็ดแน่น ลักษณะกลางหมวกดอกเว้าตื้น เนื้อภายในของเห็ดสดมีสีขาว เมื่อแก่จะมีความเหนียวมากขึ้น ก้านเห็ดมีสีขาวนวล สร้างสปอร์มีลักษณะยาว รี ขาว ผิวเรียบ ผนังบาง ดำรงชีวิตในธรรมชาติแบบผู้ย่อยสลาย เห็ดชนิดนี้นิยมนำมารับประทาน

การผลิต เจริญเต็มก้อนเห็ดภายในเวลา 40-50 วัน ที่อุณหภูมิ 28-32°C และออกดอกที่อุณหภูมิ 28-32°C ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 80-85%

2.1.2 มูลค่าทางเศรษฐกิจของเห็ดสกุล *Pleurotus*

จากรายงานเกี่ยวกับข้อมูลประกอบการตัดสินใจเพาะเห็ด โดย ชาญยุทธ์ (2544) พบว่าผลผลิตเห็ดที่เพาะได้ทั่วโลกมีประมาณ 12.25 ล้านตัน โดยประเทศจีนผลิตเห็ดได้มากที่สุดที่ 8.65 ล้านตัน หรือประมาณ 70% ของผลผลิตทั่วโลก สำหรับประเทศไทยมีผลผลิตประมาณ 12,000 ตัน

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หรือประมาณ 0.1% ของผลผลิตทั้งโลก ผลผลิตส่วนใหญ่ในประเทศไทยคือเห็ดสกุล *Pleurotus* ได้แก่ เห็ดนางฟ้าและเห็ดนางรม (ศูนย์เห็ดล้านนาเชียงใหม่, 2560) เห็ดสกุล *Pleurotus* เป็นเห็ดที่มีการเพาะปลูกเป็นอันดับต้นๆ ของประเทศไทย และเป็นที่นิยมของผู้บริโภคโดยทั่วไป เพราะมีรสชาติที่ดี มีคุณค่าทางอาหารสูง โดยทั่วไปนิยมบริโภคทั้งแบบสดและแบบแปรรูป

สำหรับราคาเห็ดสดภายในประเทศไทยที่เกษตรกรขายได้ มีความผันแปลตามฤดูกาลและตามปริมาณผลผลิตที่ออกสู่ตลาด โดยเห็ดหลินจือจะมีมูลค่าสูงสุด กิโลกรัมละ 700-800 บาท รองลงมาคือเห็ดหอม กิโลกรัมละประมาณ 50 บาท แต่พบว่าราคาขายปลีกแตกต่างจากราคาขายส่งค่อนข้างมาก โดยอาจแตกต่างกัน 3-4 เท่า เช่น เห็ดนางฟ้าและเห็ดนางรมมีราคาขายส่งอยู่ที่กิโลกรัมละประมาณ 17-18 บาท แต่ราคาขายปลีกสูงถึงกิโลกรัมละ 60 บาท โดยทั่วไปเห็ดนางฟ้ามีราคาขายอยู่ในช่วงกิโลกรัมละ 20-200 บาท โดยขึ้นอยู่กับฤดูกาล และคุณภาพของดอกเห็ด (ชาญยุทธ์ 2561) และเห็ดเป๋าฮื้อมีราคาขายส่งกิโลกรัมละ 25 บาท แต่ราคาขายปลีกสูงถึงกิโลกรัมละ 70 บาท (ประไพศรี 2544)

อย่างไรก็ตามผลผลิตเห็ดสกุลนี้มีข้อจำกัดเนื่องจาก หลังจากเก็บเกี่ยวแล้วเห็ดกลุ่มนี้มีการเปลี่ยนแปลงคุณภาพอย่างรวดเร็ว เพราะเกิดการย่อยสลายและบอบช้ำได้อย่างรวดเร็ว เนื่องจากเป็นเห็ดที่มีลักษณะเนื้อเยื่ออ่อนนุ่ม ฉ่ำน้ำ และเสื่อมสภาพง่าย ส่งผลให้ดอกเห็ดมีอายุการเก็บรักษาสั้น ส่งผลต่อต้นทุนและราคาจำหน่ายของเห็ดกลุ่มนี้เป็นอย่างมาก ทำให้การขยายตลาดและจัดจำหน่ายทำได้อย่างไม่เต็มที่ รวมถึงมีการเพาะปลูกที่ยากกว่าเห็ดหลายๆชนิด จึงทำให้ยังไม่เป็นที่นิยมในการเพาะปลูกมากเท่าเห็ดเข็มทอง เห็ดหูหนู และเห็ดฟาง

2.1.3 องค์ประกอบหลักที่ใช้ในการผลิตก้อนเห็ด

การเพาะเลี้ยงเห็ดในระดับอุตสาหกรรมนิยมเพาะเลี้ยงในระบบถุง ซึ่งระบบนี้เป็นการเตรียมวัสดุเพาะเลี้ยงแล้วนำไปบรรจุอยู่ในถุงพลาสติก แล้วนำก้อนวัสดุไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ แล้วนำหัวเชื้อมาเพาะลงในก้อนเห็ด หลังจากนำไปบ่มในโรงเรือนในสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม เพื่อเก็บผลผลิตต่อไป วิธีนี้มีความสะดวก และมีต้นทุนถูก เหมาะกับการผลิตในระดับอุตสาหกรรม (อุทัยวรรณ และคณะ 2556) สูตรและความเข้มข้นของวัสดุที่ใช้การเพาะเห็ดมีความแตกต่างกันไปตามวัสดุท้องถิ่น และชนิดของเห็ดที่เพาะเลี้ยง แต่อย่างไรก็ตามวัสดุพื้นฐานที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเห็ดสกุล *Pleurotus* มีองค์ประกอบหลักคือ ขี้เลื่อยแห้ง รำละเอียด ปูนขาว ตัวอย่างเช่น สูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับเห็ดสำคัญทางเศรษฐกิจ รวมทั้งเห็ดสกุล *Pleurotus* มีจำนวน 5 สูตร

เอกสารนี้เป็นลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ห้ามนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(สำนักงานส่งเสริมและฝึกอบรม มก. 2562) โดยในแต่สูตรอาหารอาจมีการเติม น้ำตาลทราย ฟางสับ มูลวัว หรือวัสดุอื่นๆ เพื่อเพิ่มสารอาหารและแร่ธาตุให้เห็ดโตได้ดียิ่งขึ้น โดยเมื่อลงเชื้อเห็ดเรียบร้อย จึงนำไปวางในโรงเรือนหรือสถานที่บ่มเห็ดที่มีอุณหภูมิที่เหมาะสมเพื่อให้เส้นใยเจริญ อาจต้องใช้แสงกับเห็ดบางชนิด แต่ไม่ต้องให้น้ำ จนเส้นใยเริ่มเจริญรวมตัวกัน จึงเริ่มเปิดดอกเห็ด เพื่อให้ดอกเห็ดงอกออกดอกต่อไป

2.2 ผักตบชวา

2.2.1 ลักษณะเบื้องต้นของผักตบชวา

ผักตบชวา มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Eichhornia crassipes* เป็นพืชล้มลุกซึ่งเป็นพืชพื้นเมืองของทวีปอเมริกาใต้ มีถิ่นกำเนิดจากลุ่มน้ำอเมซอนในเขตประเทศบราซิล ผักตบชวาถูกนำเข้ามาในประเทศไทยในสมัยรัชกาลที่ 5 โดยนำเข้ามาจากเกาะชวา ในฐานะพันธุ์ไม้ประดับ เพราะมีดอกสีม่วงที่สวยงาม ผักตบชนิดนี้นำเข้ามาจากเกาะชวา จึงเป็นที่มาของชื่อ เรียกว่า ผักตบชวา ในประเทศไทยพบได้ทั่วไปในแหล่งน้ำสาธารณะ ผักตบชวาดำรงชีวิตในลักษณะพืชลอยน้ำ ลำต้นสั้น แตกใบเป็นกอใบเดี่ยว รูปไข่ หรือกลม ก้านใบกลมอวบน้ำ ตรงกลางพองออก เนื้อเยื่อภายในเป็นช่องอากาศคล้ายฟองน้ำช่วยให้ลอยน้ำได้ ดอกออกเป็นช่อ ดอกย่อย 3-25 ดอก ลำต้นใช้ทำเครื่องจักสานได้หลายชนิด เนื่องจากมีความเหนียวและทนทาน สำหรับยอดอ่อน ใบอ่อน และดอกอ่อน สามารถรับประทานได้ โดยลวกให้สุกหรือรับประทานเป็นผักสดร่วมกับน้ำพริกหรือนำไปแกงส้ม

2.2.2 ปัญหาของผักตบชวาที่มีผลต่อสิ่งแวดล้อม

ผักตบชวาสามารถเจริญได้ในแหล่งน้ำธรรมชาติได้หลากหลายสภาวะ และมีอัตราการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว จึงก่อให้เกิดปัญหาในแหล่งน้ำ เนื่องจากพืชชนิดนี้จะเจริญจนแย่งพื้นที่และสารอาหารจากแหล่งน้ำ จนส่งผลกระทบต่อพืช และสัตว์น้ำชนิดต่างๆ และเมื่อเจริญเต็มที่จะแพร่กระจายครอบคลุมแหล่งน้ำนั้นๆ ทำให้ปิดกั้นแสงแดด และอากาศไม่ให้ผ่านลงไปยังพื้นน้ำ ทำให้เกิดปัญหาน้ำเน่าเสียตามมาในภายหลัง (นพพล 2562) ตัวอย่างปัญหาด้านต่างๆ ของผักตบชวาเช่น

(1) การชลประทาน

เมื่อปริมาณของผักตบชวาเพิ่มขึ้น มีผลทำให้ชะลอการไหลของน้ำลง 40% และซากของผักตบชวาที่ตายแล้ว จมลงใต้ท้องน้ำ ทำให้อุดตันในระบบระบายน้ำ เช่น ปิดกันฝายน้ำ ประตูระบายน้ำ เป็นต้น และทำให้ทางเดินน้ำตื้นเขินเร็วกว่าปกติ

(2) การไฟฟ้าพลังงานน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซากผักตบชวาตายทับถมกันทำให้แหล่งน้ำตื้นเขิน จึงกักเก็บน้ำได้น้อยลง และการเจริญของผักตบอย่างรวดเร็ว จะเพิ่มอัตราการระเหยของน้ำ ส่งผลให้ปริมาณน้ำลดลงอย่างรวดเร็ว ทำให้น้ำในแหล่งกักเก็บลดน้อยลงอย่างรวดเร็ว

(3) การเกษตร

ผักตบชวาสร้างปัญหาโดยแย่งน้ำและสารอาหารที่มีอยู่ในน้ำ ทำให้น้ำที่นำไปเพาะปลูกมีปริมาณ และสารอาหารน้อยลง ส่งผลให้พืชที่ปลูกไม่สามารถเจริญได้อย่างเต็มที่ และแพของผักตบชวายังเป็นแหล่งเพาะพันธุ์ของศัตรูพืชนานาชนิด จึงทำให้ศัตรูพืชเข้าทำลายพืชได้เป็นวงกว้าง

(4) การประมง

ผักตบชวาส่งผลกระทบต่อการเพาะเลี้ยงปลาน้ำจืด โดยถึงแม้ว่าผักตบชวาจะไม่ได้มีความเป็นพิษโดยตรงกับปลาน้ำจืด แต่ส่งผลกระทบทางอ้อม โดยทำให้ปลาน้ำจืดที่เพาะเลี้ยงมีขนาดและน้ำหนักตัวลดลง โดยผักตบชวาเมื่อลอยแพร่กระจายอยู่บนผิวน้ำอย่างหนาแน่น ทำให้แสงสว่างในน้ำลดลงอย่างเร็ว ทำให้แพลงตอนพืชไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้ โดยที่แพลงตอนพืชเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญของปลาน้ำจืดหลายชนิด และยังสามารถสร้างออกซิเจนในน้ำได้ เมื่อแพลงตอนพืชมีจำนวนลดลง ความอุดมสมบูรณ์ของน้ำจึงลดลงไปด้วย ทำให้ปลาที่เพาะเลี้ยงมีขนาดเล็กลงไปด้วย

(5) การสาธารณะสุข

กอผักตบชวาเป็นแหล่งกักเก็บและแหล่งเพาะพันธุ์ของพาหะนำโรค เช่นหอยไบธีเนีย ซึ่งหอยชนิดนี้เป็นพาหะนำโรคพยาธิใบไม้ในตับ และเป็นที่อาศัยของลูกน้ำยุงที่เป็นพาหะของโรคเท้าช้าง ซึ่งปริมาณของผักตบชวาที่เพิ่มขึ้น ทำให้มีโอกาสเพิ่มการระบาดของโรคต่างๆ ในคนได้เช่นเดียวกัน

(6) การคมนาคมทางน้ำ

ผักตบชวาที่เจริญเติบโตอัดแน่นในแหล่งน้ำ เป็นอุปสรรคสำคัญที่กีดขวางการสัญจรทางน้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในคลองบางแห่งที่มีลักษณะแคบ เช่น คลองรังสิต คลองประเวศบุรีรมย์ เป็นต้น โดยเมื่อมีผักตบชวาเจริญอยู่ทำให้การสัญจรทางน้ำในหน้าน้ำเป็นไปได้ยาก หรืออาจทำให้เกิดอุบัติเหตุเนื่องจากลำต้นและรากของผักตบชวาเข้าไปเกี่ยวพันกับใบพัดและเครื่องยนต์ของเรือได้

2.2.3 การศึกษาเพื่อนำผักตบชวาไปใช้ประโยชน์ทางอุตสาหกรรม

ในปัจจุบันวิธีการทำลายผักตบชวามี 2 วิธีหลัก คือ (1) การตัดทำลายต้นให้เป็นท่อน แล้วปล่อยให้จมลงสู่ท้องน้ำ และ (2) นำผักตบชวาขึ้นมาจากน้ำ แล้วทิ้งให้แห้งและปล่อยให้ย่อยสลายตามธรรมชาติ แต่เนื่องจากผักตบชวามีปริมาณมาก ดังนั้นการกำจัดซากของผักตบชวาทั้ง 2 รูปแบบยังคงส่งผลกระทบในสิ่งแวดล้อม จึงมีความพยายามอย่างแพร่หลายในการนำผักตบชวามาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด และลดผลกระทบทางสิ่งแวดล้อม ตัวอย่างเช่น การนำผักตบชวามาให้เป็นแหล่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้นำไปดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารสัตว์ สำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้องชนิดต่างๆ การนำไปใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพ เนื่องจากผักตบชวามีปริมาณของแร่ธาตุหลายชนิด เช่น โพแทสเซียม ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส และได้มีการนำผักตบชวามาใช้เป็นหนึ่งในวัตถุดิบในการเพาะเลี้ยงเห็ดหลายชนิด

2.2.4 การศึกษาการใช้ผักตบชวา เพื่อเป็นวัตถุดิบในการเพาะเห็ด

มีคณะทำงานวิจัยมากมายที่ศึกษาการนำผักตบชวามาใช้ในการเพาะเลี้ยงเห็ดใน เพื่อช่วยลดปัญหาผักตบชวาในสิ่งแวดล้อม เพื่อเพิ่มมูลค่าของวัสดุเหลือใช้ในธรรมชาติ และเพื่อสร้างงานในชุมชมให้แก่เกษตรกร

ทับทิม (2543) ได้ศึกษาการนำผักตบชวามาใช้เป็นวัสดุเพื่อเพาะเลี้ยงเห็ดนางรม โดยเปรียบเทียบกับการใช้ขี้เลื่อยไม้ยางพารา โดยใช้ผักตบชวา 2 แบบได้แก่ แบบผักตบชวาทั้งต้น และผักตบชวาตัดราก และปรับ pH เริ่มต้นเป็น 7 และ 8 ผลการศึกษาหลักพบว่าการใช้ผักตบชวาเพียงอย่างเดียว ไม่เหมาะสมในการนำมาเพาะเลี้ยงเห็ดนางรม เนื่องจากให้ผลผลิตต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ขี้เลื่อยไม้ยางพาราเป็นวัสดุเพาะปลูก โดยที่การเพาะเห็ดนางรมด้วยการใช้ขี้เลื่อยให้ผลิตสูงกว่าการใช้ผักตบชวาถึง 1.4 เท่า

Nageswaran et al (2003) ได้ศึกษาการใช้ผักตบชวา ผสมกับฟางข้าวเพื่อเพาะเห็ดนางรม โดยผสมผักตบชวากับฟางข้าวในอัตราส่วน 25, 50, 75 และ 100% พบว่าการใช้ผักตบชวาอย่างเดียว (100%) ได้ผลผลิตเป็นดอกเห็ดน้อยที่สุด (182 กรัม/น้ำหนักกิโลกรัมของผักตบชวา) การใช้ฟางข้าวอย่างเดียว (100%) ให้ผลผลิตปานกลาง (231 กรัม/น้ำหนักกิโลกรัมของฟางข้าว) แต่พบว่าวัตถุดิบที่มีอัตราผสมของผักตบชวาและฟางข้าว (25:75) ให้ผลผลิตสูงสุด (276 กรัม/น้ำหนักกิโลกรัมของวัสดุ)

Banpopadhyay (2013) ได้ศึกษาการนำผักตบชวาและฟางข้าว เพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงเห็ดนางรมสกุล *Pleurotus* 3 ชนิดได้แก่ *P. citrinopileatus, P. pulmonarius* และ *P. nomennudum* ผลการศึกษาพบว่าการผสมผักตบชวากับฟางข้าวในอัตราส่วนเท่ากัน (1:1) สามารถเพิ่มผลผลิตดอกเห็ดทั้ง 3 ชนิดได้ดีกว่าการใช้ฟางข้าว และผักตบชวาเพียงอย่างเดียว โดยเฉลี่ยพบว่าเห็ด *P. citrinopileatus* ให้ผลิตผลสูงสุด

จากศึกษาดังกล่าวชี้ให้เห็นว่า ถึงแม้ผักตบชวาเพียงอย่างเดียวจะไม่เหมาะสมที่ใช้ในการเพาะเห็ดโดยตรง แต่เมื่อนำไปผสมกับวัสดุชนิดอื่นๆ สามารถส่งเสริมการสร้างผลผลิตและลดต้นทุนได้อย่างมาก เพราะผักตบชวาเป็นวัสดุเหลือใช้ที่ปล่อยทิ้งเอาไว้ หากสามารถนำมาใช้ผสมในการเพาะเห็ดจะช่วยเพิ่มมูลค่าของวัสดุชนิดดังกล่าวได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 3

# วิธีการดำเนินงานวิจัย

## 3.1 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทำโครงงานพิเศษ

### 3.1.1 อุปกรณ์

- ตู้ปลอดเชื้อ (Lamina flow)
- ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
- ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
- เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
- เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)
- เครื่องไมโครเวฟ
- กล้องจุลทรรศน์
- ตู้เย็น
- ตู้แช่แข็งอุณหภูมิต่ำ -80 องศาเซลเซียส
- ช้อนตักสาร
- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- แท่งแก้ว
- ลูกยาง
- มีดผ่าตัด
- ไฟแช็ค
- หลอดทดลอง
- บีกเกอร์
- ขวดดูแรน
- กระบอกตวง
- autopipette
- eppendorf
- loop
- needle
- parafilm
- pipette
- pipette tip
- test tube rack

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.2 สารเคมี

- น้ำกลั่น
- Agar
- Alcohol 95 % และ Alcohol 70 %
- Congo red
- Glycerol
- lactophenol cotton blue
- Magnesium sulphate heptahydrate ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)
- Polypeptone™
- potassium dihydrogen phosphate ($KH_2PO_4$)
- Sodium carbonate ($Na_2CO_3$)
- Sodium chloride (NaCl)
- Yeast extract

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

- อาหาร PDA
- อาหาร PDB
- อาหาร CZ+CMC

3.1.4 อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ด

- อาหาร PDA
- อาหาร PDA + ผักตบชวาสด
- อาหาร PDA + ผักตบชวาตากแห้ง
- อาหาร PDA + ขี้เลื่อยไม้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 3.2 การเก็บตัวอย่างเห็ดสกุล *Pleurotus*

### 3.2.1 วิธีการเก็บตัวอย่าง และสถานที่เก็บตัวอย่าง

หาข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับตลาดและฟาร์มเห็ดที่มีเห็ดสกุล *Pleurotus* หลังจากนั้นทำการลงพื้นที่เพื่อซื้อดอกเห็ดที่ต้องการจากแหล่งดังกล่าว ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 3.1 ในการศึกษาครั้งนี้เลือกเก็บตัวอย่างเห็ดสกุล *Pleurotus* จาก 8 จังหวัดในภาคกลาง (รูปที่ 3.1) โดยเลือกเก็บตัวอย่างเห็ด 3 ชนิดได้แก่ เห็ดนางรม เห็ดนางฟ้าภูฐาน และเห็ดเป๋าฮื้อ แบ่งการเก็บตัวอย่างเป็น 2 ประเภทได้แก่ (1) ดอกเห็ดสด และ (2) หัวเชื้อเห็ดในเมล็ดข้าวฟ่าง (รูปที่ 3.2) โดยดอกเห็ดที่เก็บมาจะต้องไม่อ่อนไม่แก่เกินไป และยังไม่บานเต็มที่ และสำหรับหัวเชื้อเห็ดในเมล็ดข้าวฟ่าง ตัวอย่างที่ใช้ทำการเลือกขวดที่มีเส้นใยของเห็ดเจริญอย่างน้อยครึ่งขวด

รูปที่ 3.1 สถานที่เก็บตัวอย่างเห็ดสกุล *Pleurotus* จาก 8 จังหวัดในภาคกลางของประเทศไทย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 รายละเอียดสถานที่เก็บตัวอย่างเห็ดสกุล *Pleurotus* จากจังหวัดต่างๆ ของประเทศไทย

| สถานที่ | จังหวัด | ลักษณะของสถานที่เก็บตัวอย่าง | เห็ดที่เก็บ | ลักษณะของเห็ดที่เก็บ | จำนวนตัวอย่างที่เก็บ (ตัวอย่าง) |
|---|---|---|---|---|---|
| ตลาดหัวตะเข้ | กรุงเทพ | ตลาดสด | นางฟ้า | ดอกเห็ดสด | 2 |
| ตลาดไท | ปทุมธานี | ตลาดสด | นางฟ้า, นางรม | ดอกเห็ดสด และหัวเชื้อเห็ดในเมล็ดข้าวฟ่าง | 4 |
| ตลาดบ่อบัว | ฉะเชิงเทรา | ตลาดสด | นางรม | ดอกเห็ดสด | 1 |
| ตลาดพัทยา | ชลบุรี | ตลาดสด | นางรม | ดอกเห็ดสด | 1 |
| ฟาร์มเห็ดบางกระเจ้า | สมุทรปราการ | ฟาร์มเห็ดทางการค้าและท่องเที่ยวเชิงนิเวศ | นางฟ้า, นางรม | หัวเชื้อเห็ดในเมล็ดข้าวฟ่าง | 1 |
| ฟาร์มเห็ดศรีทอง | นครปฐม | ฟาร์มเห็ดทางการค้า | นางฟ้า, นางรม | หัวเชื้อเห็ดในเมล็ดข้าวฟ่าง | 3 |
| ฟาร์มเห็ดโพธาราม | ราชบุรี | ฟาร์มเห็ดทางการค้าและการเรียนรู้ | นางฟ้า, นางรม, เป๋าฮื้อ | หัวเชื้อเห็ดในเมล็ดข้าวฟ่าง | 4 |
| ฟาร์มเห็ดไพลิน | นนทบุรี | ฟาร์มเห็ดทางการค้า | นางฟ้า,นางรม | หัวเชื้อเห็ดในเมล็ดข้าวฟ่าง | 2 |
| | | | | รวม | 18 |

## 3.3 การแยกเชื้อเห็ด

### 3.3.1 การแยกเชื้อเห็ดจากดอกเห็ด

ทำการแยกเชื้อเห็ดจากก้านดอก โดยเลือกดอกเห็ดที่มีขนาดใหญ่ แต่ยังไม่บานเต็มที่ (รูปที่ 3.2) ใช้ใบมีดผ่าตัดจุ่มแอลกอฮอล์ 95% แล้วนำไปผ่านไฟ แล้วนำไปตัดส่วนก้านเห็ดด้านในที่ไม่สัมผัสกับอากาศและสิ่งแวดล้อม ตัดออกเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมลูกเต๋าขนาดเล็ก โดยตัดทั้งหมด 5-10 ชิ้น จากนั้นใช้ปากคีบนำไปวางบนอาหาร PDA ที่มียาปฏิชีวนะ Penicilin G (ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/ลิตร) ด้วยวิธีปลอดเชื้อ โดยวางตัวอย่างเนื้อเยื่อเห็ดจำนวน 3 ชิ้นต่อ 1 จานเพาะเลี้ยงเชื้อ ปิดจานอาหารด้วยแผ่นพาราฟิล์มแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน เมื่อพบว่ามีเส้นใยเจริญออกจากตัวอย่างชิ้นเห็ด ทำการแยกเชื้อลงบนอาหาร PDA แบบไม่ผสมยาปฏิชีวนะ จะได้เชื้อเห็ดบริสุทธิ์ออกมาใช้ในการศึกษาต่อไป

### 3.3.2 การแยกเชื้อเห็ดจากเมล็ดข้าวฟ่าง

ใช้เข็มเขี่ยเชื้อราเขี่ยเชื้อเห็ดที่บรรจุอยู่ในขวด นำไปวางลงบนจานเพาะอาหาร PDA เลือกเมล็ดข้าวฟ่างที่มีเส้นใยเห็ดขึ้นจนทั่วเมล็ดข้าวฟ่าง โดยวางเมล็ดข้าวฟ่างจำนวน 3 เมล็ด ต่อ 1 จานเพาะเลี้ยงเชื้อโดยทุกขั้นตอนใช้เทคนิคปลอดเชื้อ ทำการปิดจานเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยแผ่นพาราฟิล์ม แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน เมื่อพบว่ามีเส้นใยเจริญออกจากตัวอย่างชิ้นเห็ด ทำการแยกเชื้อลงบนอาหาร PDA แบบไม่ผสมยาปฏิชีวนะ จะได้เชื้อเห็ดบริสุทธิ์ออกมาใช้ในการศึกษาต่อไป

ดอกเห็ดสด

หัวเชื้อในเมล็ดข้าวฟ่าง

รูปที่ 3.2 ลักษณะตัวอย่างที่เก็บของเห็ดสกุล *Pleurotus* จาก 8 จังหวัดในภาคกลางของประเทศไทย

### 3.3.3 การเก็บรักษาเชื้อเห็ด

3.3.3.1 การเก็บรักษาเชื้อเห็ดระยะสั้น

ใช้มีดผ่าตัดเพื่อตัดอาหาร PDA ที่มีเส้นใยของเห็ดบริสุทธิ์เจริญอยู่ โดยตัดออกเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมเล็กๆ ใช้ needle เขี่ยชิ้นอาหารที่มีเส้นใยเห็ด 1 ชิ้น มาใส่ในหลอดทดลองที่มีอาหาร PDA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบบเอียง (PDA slant) โดยทุกขั้นตอนใช้เทคนิคปลอดเชื้อ นำไปบ่มเป็นเวลา 7 วัน หรือจนกว่าเส้นใยจะเจริญเต็มหน้าอาหาร หลังจากนั้นนำไปเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.3.3.2 การเก็บรักษาเชื้อเห็ดระยะยาว

อาหาร PDA ที่มีเส้นใยของเห็ดบริสุทธิ์เจริญอยู่ โดยตัดออกเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมเล็กๆ ใช้ needle เขี่ยชิ้นอาหารที่มีเส้นใยเห็ดมาใส่ในหลอดทดลองที่มีอาหาร PDA ใช้ needle เขี่ยชิ้นวุ้น 10-15 ชิ้น ใส่ลงในหลอด Eppendorf ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่มี 10% glycerol ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร บรรจุอยู่และผ่านการฆ่าเชื้อมาแล้ว โดยทุกขั้นตอนใช้เทคนิคปลอดเชื้อ ทำการปิดฝาด้วยพาราฟิล์มและนำไปเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

## 3.4 การศึกษาคุณสมบัติพื้นฐานของเห็ดสกุล *Pleurotus*

### 3.4.1 การศึกษาอัตราการเจริญบนอาหารแข็ง PDA

นำเชื้อเห็ดบริสุทธิ์ที่เก็บรักษาไว้บน PDA slant มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วัน เมื่อโคโลนีของเชื้อเห็ดโตเต็มที่ ใช้หลอดพลาสติกที่ผ่านการทำให้ปลอดเชื้อแล้วเจาะลงบนเส้นใยเชื้อราบริเวณขอบของโคโลนี แล้วใช้ needle ถ่ายเชื้อของชิ้นวุ้น โดยคว่ำส่วนด้านที่เป็นเส้นใยติดมาแนบติดกับอาหารในจานเพาะเลี้ยง PDA โดยวางตรงจุดกึ่งกลางของจานเพาะเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ทำการวัดอัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด โดยเก็บข้อมูลในวันที่ 0, 3, 5 และ 7 โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีของเชื้อเห็ดเป็นค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีจากแนวตั้งและแนวนอนที่ตั้งฉากกัน วัดค่าเป็นเซนติเมตร แต่ละไอโซเลตของเชื้อเห็ดทำ 3 ซ้ำ (อาหาร PDA 3 จาน) แล้วนำค่าทั้ง 3 มาหาค่าเฉลี่ย (mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard Error, SE)

### 3.4.2 การศึกษาความสามารถในการสร้างเอนไซม์บนอาหารแข็ง CZ+CMC

เตรียมอาหาร Czapek Dox Agar (CZ) ผสมกับ 1% ของ carboxymethyl cellulose (CMC) รายละเอียดการเตรียมอาหารแสดงไว้ในภาคผนวก ใช้หลอดพลาสติกปลอดเชื้อแล้วเจาะลงบนเส้นใยของหัวเชื้อเห็ด ถ่ายเชื้อลงบนอาหาร CZ+CMC โดยคว่ำส่วนด้านที่เป็นเส้นใยติดกับอาหารตรงจุดกึ่งกลางของจานเพาะเลี้ยงเชื้อ ปิดพาราฟิล์มที่จานเพาะเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เมื่อครบ 7 วันทำการวัดอัตราการสร้างเอนไซม์โดยทำการหยดสารละลาย 1% Congo red ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงบนหน้าอาหาร CZ+CMC ที่มีโคโลนีของเชื้อเห็ดเจริญอยู่ ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที แล้วเทสารละลาย Congo red ทิ้ง จากนั้นล้างด้วยสารละลายน้ำเกลือ 1 % (1% NaCl) ปริมาณ 5 มิลลิลิตร แล้วเทสารละลายน้ำเกลือทิ้ง แล้วทำการวัดวงใส (clear zone) ที่เกิดขึ้นโดยวัดในแนวตั้งฉากกัน หน่วยเซนติเมตร ในการทดลองการทดสอบเอนไซม์ ทำ 5 ซ้ำ ต่อ 1 ไอโซเลต (5 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 3.5 การศึกษาการกระตุ้นให้เห็ดสกุล *Pleurotus* สร้างดอกเห็ด

### 3.5.1 การเตรียมตัวอย่างผักตบชวา

ทำการเก็บผักตบชวาจากแหล่งธรรมชาติ โดยเก็บตัวอย่างที่คลองระบายน้ำ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (รูปที่ 3.3) โดยล้างคราบดินโคลนออกจากตัวอย่างผักตบชวาด้วยน้ำประปาเพื่อลดการปนเปื้อน สำหรับตัวอย่างผักตบชวาแห้ง ให้นำผักตบชวามาตากแดดกลางแจ้งเป็นเวลา 2 สัปดาห์ หลังจากตัวอย่างแห้งทำการตัดรากของผักตบชวาทิ้ง แล้วตัดผักตบชวาเป็นชิ้นเล็กแล้วนำไปใช้ในการศึกษาต่อไป

สำหรับผักตบชวาแบบเปียก เก็บตัวอย่างผักตบชวาจากแหล่งเดียวกัน เมื่อเก็บตัวอย่างเสร็จล้างดินโคลนด้วยน้ำประปา ตัดรากทิ้งและหั่นเป็นชิ้นเล็ก แล้วนำไปใช้ในการศึกษาต่อไป ซึ่งการใช้ผักตบชวาแบบสด จะเก็บตัวอย่างและเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อให้เสร็จภายใน 1 วัน

สถานที่เก็บตัวอย่าง

ผักตบชวาสด

รูปผักตบชวาที่ตากแห้งแล้ว

รูปผักตบชวาที่ตากแห้งแล้วผ่าเป็นท่อน

รูปที่ 3.3 ลักษณะของผักตบชวาที่ใช้ในการศึกษาการเพาะเห็ด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.2 การศึกษาปัจจัยการกระตุ้นให้เห็ดสกุล *Pleurotus* สร้างดอกเห็ด

เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ด โดยเพาะเลี้ยงในอาหาร 4 ชนิด ได้แก่ (1) อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (2) อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA+ผักตบชวาตากแห้ง (3) อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA+ผักตบชวาแบบสด และ (4) อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA+ขี้เลื่อย รายละเอียดการเตรียมอาหารแสดงไว้ภาคผนวก โดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 4 ชนิด ใส่ขวดแก้วปริมาตร 500 มิลลิลิตร และเจาะรูที่ฝาด้านบน และปิดด้วยจุกสำลีเพื่อระบายอากาศ หลังจากฆ่าเชื้ออาหารแล้ว นำหัวเชื้อเห็ดที่ได้ผลจากการวิเคราะห์อัตราการเจริญและอัตราการย่อยเซลลูโลสจากผลการทดลองก่อนหน้าที่ดีที่สุด 3 ลำดับแรกมาเพาะเลี้ยงในขวดแก้ว เพื่อทดสอบการกระตุ้นให้เห็ดสกุล *Pleurotus* เตรียมหัวเชื้อเห็ดทั้ง 3 ชนิดบนอาหาร PDA เพาะเลี้ยงนาน 1 สัปดาห์จนเชื้อเจริญเต็มที่ หลังจากนั้นถ่ายเชื้อเห็ดจาก PDA โดยใช้มีดผ่าตัด เพื่อตัดเส้นใยเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาดเล็ก แล้วถ่ายเชื้อลงในขวดจำนวน 5 ชิ้นต่อขวด หลังจากนั้นอาหารแต่ละสูตรนำไปบ่มที่ 2 อุณหภูมิได้แก่ อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิคงที่ 25 องศาเซลเซียส ในแต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำ (3 ขวด) โดยบ่มไว้นาน 6 สัปดาห์ โดยตรวจผลทุกๆ สัปดาห์ หากพบว่ามีการเจริญหรือสร้างโครงสร้างการสืบพันธุ์ ให้ทำการบันทึกผลการทดลองเกี่ยวกับการสร้างดอกเห็ดในแต่ละสภาวะ และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเห็ด ซึ่งประกอบด้วย เส้นใย โครงสร้างการสืบพันธุ์ และดอกเห็ด เป็นต้น บันทึกผลที่เห็นด้วยตาเปล่าด้วยการถ่ายรูป และใช้กล้อง stereo microscope และบันทึกผลภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยการย้อมด้วยสี lactophenol cotton blue และบันทึกภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 4

# ผลการวิจัยและอภิปรายผล

## 4.1 จำนวนของเชื้อเห็ดสกุล *Pleurotus* ที่แยกได้

จากผลการเก็บตัวอย่างเห็ดสกุลนางรม 3 ชนิด คือ เห็ดนางรม เห็ดนางฟ้าและเห็ดเป๋าฮื้อโดยเก็บตัวอย่างจากสถานที่ต่างๆเป็นจำนวน 15 สถานที่ตามที่ระบุในตารางที่ 4.1 เก็บตัวอย่างระยะเวลา 3 เดือน ตั้งแต่เดือนพฤศจิกายนจนถึงเดือนมกราคมโดยการใช้หัวเชื้อเห็ดในรูปเมล็ดข้าวฟ่างและใช้ตัวอย่างดอกเห็ดสดที่ขายตามท้องตลาด นำมาเลี้ยงเชื้อในจานเพาะอาหาร PDA จากผลการศึกษาที่ได้ค้นพบว่าตัวอย่างที่ไม่สามารถแยกเป็นเชื้อเดี่ยวได้มี 2 ตัวอย่างคือ OS – BB (ตลาดสดบ่อบัว) และ OS – PT (ตลาดสดพัทยา) ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บจากดอกเห็ดสด ส่วนตัวอย่างที่เหลือที่สามารถเจริญเติบโตได้ เป็นการเก็บตัวอย่างจากหัวเชื้อเห็ดในรูปเมล็ดข้าวฟ่าง

**ความแตกต่างของการแยกเชื้อระหว่างตัวอย่างเมล็ดข้าวฟ่างกับตัวอย่างจากดอกเห็ด**

จากการศึกษาการแยกเชื้อเดี่ยวจากตัวอย่างเห็ดพบว่าสามารถแบ่งตัวอย่างได้เป็น 2 ประเภท คือ ตัวอย่างเชื้อในเมล็ดข้าวฟ่างและตัวอย่างจากดอกเห็ดที่ขายตามท้องตลาด ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเชื้อเห็ดที่ทำการแยกเชื้อเดี่ยวจากตัวอย่างที่ได้จากดอกเห็ดที่ขายตามท้องตลาดนั้น ไม่สามารถแยกให้เป็นเชื้อเดี่ยวได้ ซึ่งคาดการณ์ว่าตัวอย่างที่ได้จากดอกเห็ดที่ขายตามท้องตลาดอาจผ่านกระบวนการณ์ต่างๆมาหลายอย่างทำให้มีการปนเปื้อนเชื้ออื่นๆที่ดอกเห็ด รวมถึงดอกเห็ดที่ขายตามท้องตลาดอาจจะมีความแก่เกินไป จึงทำให้เชื้อเห็ดมีสภาพไม่เหมาะสมแก่การณ์เจริญและไม่สามารถแยกเป็นเชื้อเดี่ยวได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.1 ตารางผลการเก็บตัวอย่างและแยกเชื้อเห็ดในสถานที่ต่างๆ**

| ชนิดเห็ด | วันที่เก็บ | Code | สถานที่เก็บ | จังหวัด | ผลการแยกเชื้อ |
|---|---|---|---|---|---|
| เห็ดนางรม | 27 พ.ย. 61 | OS-TM1 | ตลาดไท | ปทุมธานี | + |
| | | OSTM2 | ตลาดไท | ปทุมธานี | + |
| | | OS-BKJ | ฟาร์มเห็ดบางกระเจ้า | สมุทรปราการ | + |
| | | OS-PT | ตลาดสดพัทยา | ชลบุรี | - |
| | | OS-BB | ตลาดสดบ่อบัว | ฉะเชิงเทรา | - |
| | 23 ธ.ค. 61 | OS-ST | ฟาร์มเห็ดศรีทอง | นครปฐม | + |
| | | OS-PL | ฟาร์มเห็ดไพลิน | นนทบุรี | + |
| | 5 ม.ค. 62 | OS-PTR | ฟาร์มเห็ดโพธาราม | ราชบุรี | + |
| เห็ดนางฟ้า | 7 ธ.ค. 61 | AG-TM2 | ตลาดไท | ปทุมธานี | + |
| | 15 ธ.ค. 61 | AG(H)-ST* | ฟาร์มเห็ดศรีทอง | นครปฐม | + |
| | 19 ธ.ค. 61 | AG-PTR | ฟาร์มเห็ดโพธาราม | ราชบุรี | + |
| | 23 ธ.ค. 61 | AG-ST | ฟาร์มเห็ดศรีทอง | นครปฐม | + |
| | | AG-PL | ฟาร์มเห็ดไพลิน | นนทบุรี | + |
| เห็ดเป๋าฮื้อ | 15 ม.ค. 62 | PH(T)-PTR** | ฟาร์มเห็ดโพธาราม | ราชบุรี | + |
| | 15 ม.ค. 62 | PH(J)-PTR*** | ฟาร์มเห็ดโพธาราม | ราชบุรี | + |
| | | | | รวม | 13 ไอโซเลต |

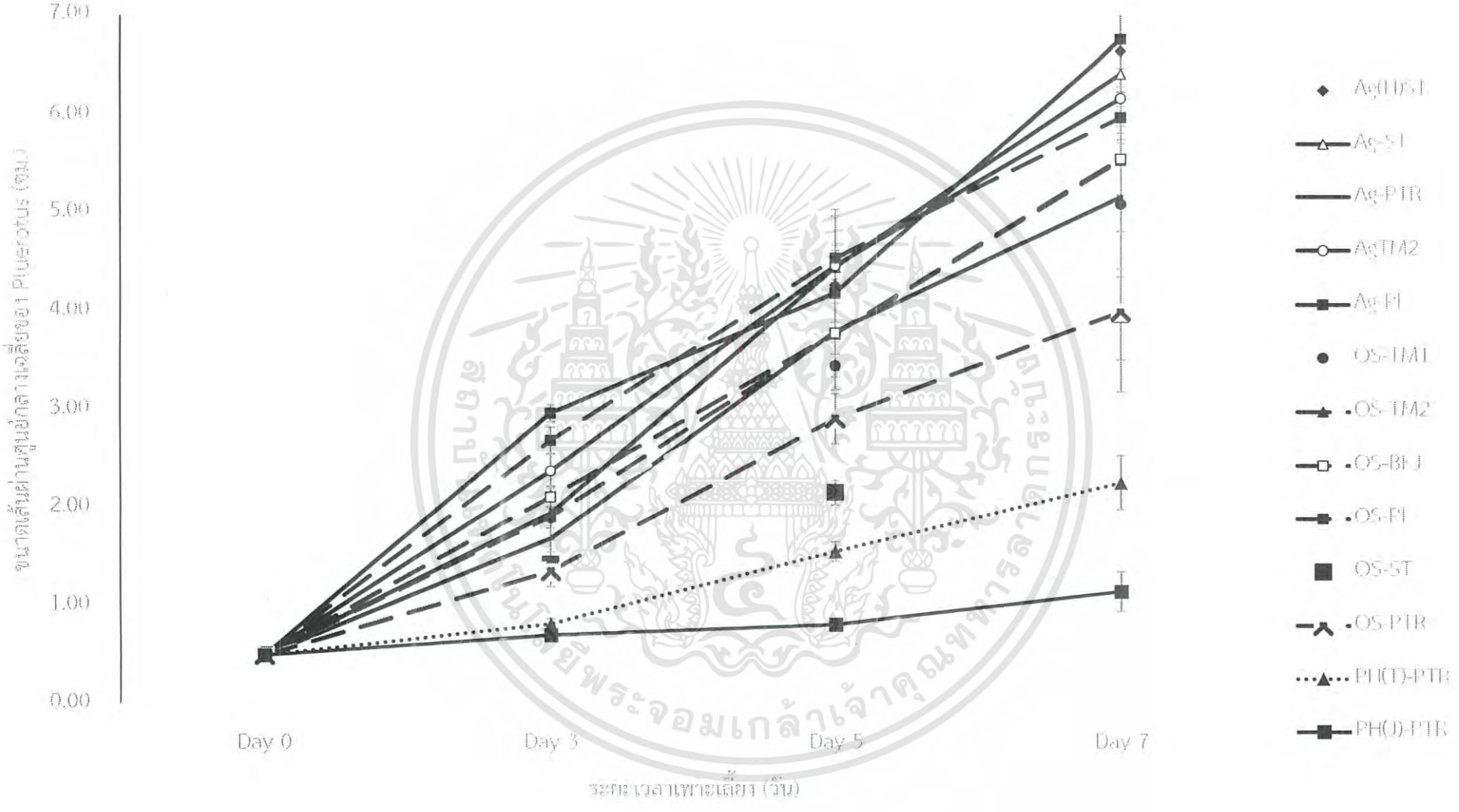
*เห็ดนางฟ้าฮังการี **เห็ดเป๋าฮื้อไทย ***เห็ดเป๋าฮื้อญี่ปุ่น

### 4.2 อัตราการเจริญของเห็ดสกุล *Pleurotus* บนอาหาร PDA

จากการศึกษาอัตราการเจริญของเห็ดสกุล *Pleurotus* บนอาหาร PDA ในระยะเวลา 7 วัน ประกอบด้วย เห็ดนางฟ้า (Ag) 5 ไอโซเลต เห็ดนางรม (OS) 6 ไอโซเลต และเห็ดเป๋าฮื้อ (PH) 2 ไอโซเลต รวมทั้งหมด 13 ไอโซเลต (รูปที่ 4.1) จากการเก็บข้อมูลในวันที่ 0, 3, 5 และ 7 ผลการศึกษาพบว่าสามารถแบ่งอัตราการเจริญของเห็ดที่ศึกษาได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มมีอัตราการเจริญสูง จำนวน 9 ไอโซเลต ได้แก่ Ag-PL, Ag(H)ST, Ag-ST, Ag-TM2, OS-PL, OS-BKJ, OS-TM2, Ag-PTR, OS-TM1 กลุ่มมีอัตราการเจริญปานกลาง 2 ไอโซเลต ได้แก่ OS-PTR , OS-ST และกลุ่มที่มีอัตราการเจริญต่ำ จำนวน 2 ไอโซเลต ได้แก่ PH(T)-PTR, PH(J)-PTR พบว่าเห็ดกลุ่มที่มีอัตราการเจริญเร็ว และปานกลางมีพฤติกรรมการเจริญคล้ายกัน คือเริ่มเจริญตั้งแต่วันที่ 3 และโตขึ้นเรื่อยๆ เป็นลำดับ เมื่อครบ 7 วันมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีอยู่ในช่วง 3-4 เซนติเมตร สำหรับเห็ดที่โตปานกลาง และมีขนาด 5-6 เซนติเมตร สำหรับเห็ดโตเร็ว แต่เห็ดกลุ่มโตช้า พบว่าเริ่มเจริญมากขึ้นในวันที่ 5 เป็นต้นไป และเติบโตอย่างช้า โดยมีค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดประมาณ 1-2 เซนติเมตร

จากผลการศึกษาที่ได้ จึงทำการคัดเลือกเห็ด 3 ไอโซเลต ที่มีอัตราการเจริญสูงสุด ได้แก่ (1) เห็ดนางฟ้า ไอโซเลต Ag-PL (2) เห็ดนางรมไอโซเลต OS-PL และ (3) เห็ดเป๋าฮื้อไอโซเลต PH(T)-PTR (เส้นผ่านศูนย์กลาง 6.76, 5.98 และ 2.26 เซนติเมตร ตามลำดับ) ความสามารถในการเจริญของเห็ดที่แตกต่างกันอาจเกิดจากอิทธิพลของสูตรอาหาร Mahadevan and Shanmugasudaram (2018) ศึกษาการเจริญของ *Pleurotus sapidus* บนอาหารที่แตกต่างกัน 6 ชนิด ได้แก่ (1) Potato Dextrose Agar (PDA), (2) Malt Extract Agar (MEA), (3) Glucose Peptone Agar (GPA), (4) Yeast Malt Agar (YMA), (5) Sabouraud's Dextrose Agar (SDA), (6) Czapek Dox Agar (CDA) พบว่าเห็ด *P. sapidus* สามารถเจริญบนอาหาร MEA, PDA และ YMA ได้ดีเส้นผ่านศูนย์กลางกว้างเต็มจานเพาะเลี้ยง และมีลักษณะเส้นใยหนา จึงทำให้เห็นว่า อาหารสูตรดังกล่าวช่วยส่งเสริมการเจริญของเห็ด *P. sapidus* ได้เป็นอย่างดี Zagrean et al (2016) ศึกษาการเจริญของ *Pleurotus eryngii* บนอาหาร MEA, PDA และ WEA (wheat extract agar) เพื่อศึกษาอาหารและ pH (5.5, 6.0, 6.5) ที่เหมาะสมที่สุด ผลคือ เห็ดสามารถเจริญบน MEA ได้ดีที่สุด ในส่วนของ pH นั้นไม่มีความแตกต่างมากนัก ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Hoa and Wang (2015) ที่พบว่าเห็ดนางรมและเห็ดเป๋าฮื้อ บนอาหาร PDA และ yam dextrose agar (YDA) เหมาะต่อการเจริญของเห็ดทั้ง 2 ชนิด เนื่องจากในอาหารพวกนี้มีแหล่งคาร์บอนที่สำคัญเช่น น้ำตาลกลูโคส และแป้ง ที่ช่วยเร่งการเจริญเติบโตได้ดี ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาที่ได้ โดยพบว่าอาหาร PDA เป็นอาหารที่เหมาะสมในการนำมาใช้เพื่อการศึกษาการเจริญของเห็ดในสกุล *Pleurotus* โดยสามารถกระตุ้นให้เห็ดทั้ง 3 ชนิด คือ เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม และเห็ดเป๋าฮื้อ โตได้ดีภายในระยะเวลาเพียง 7 วัน

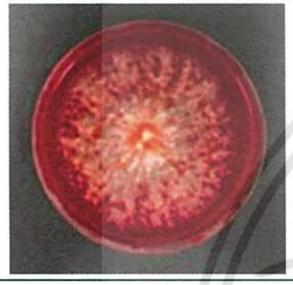
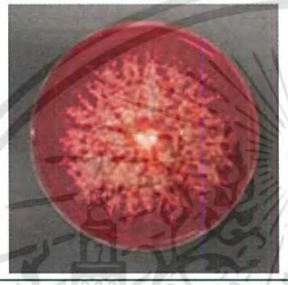
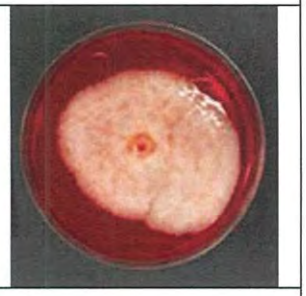
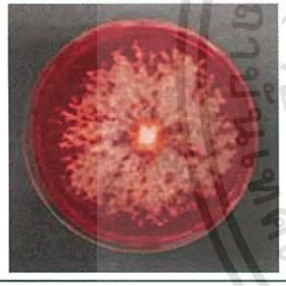
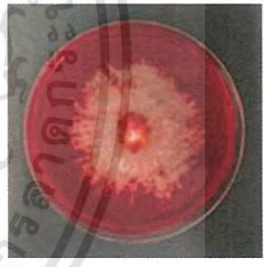
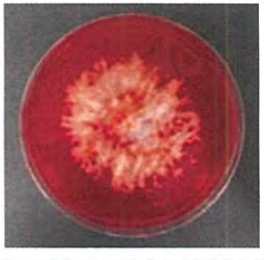
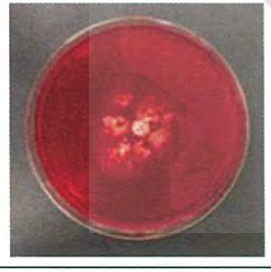
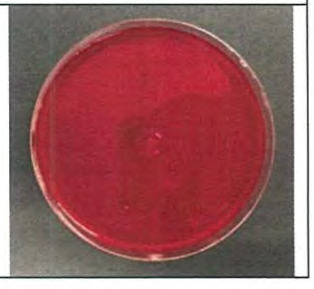
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

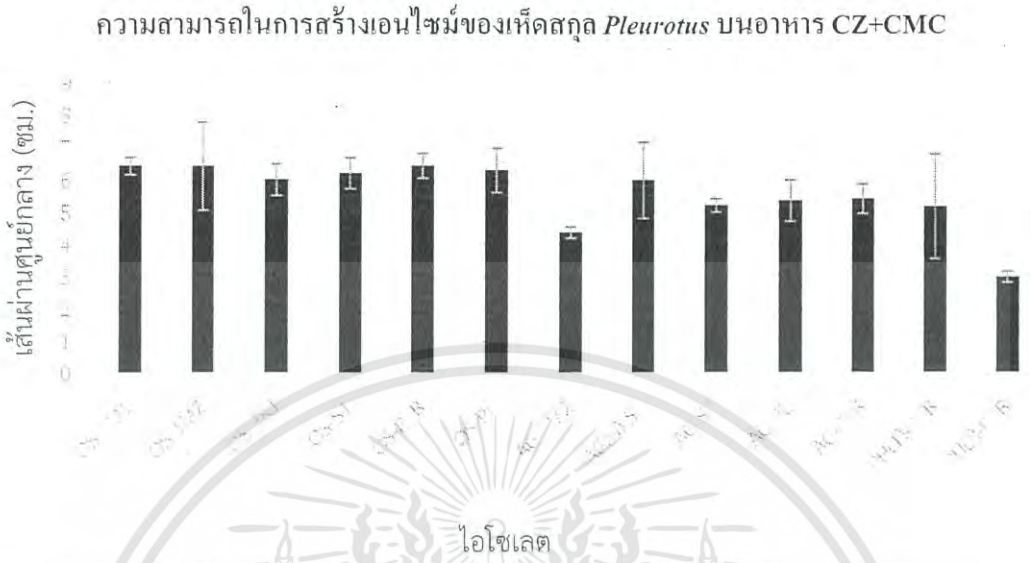



รูปที่ 4.1 แผนภูมิแสดงอัตราการเจริญเติบโตเห็ดสกุล *Pleurotus* บนอาหาร PDA ระยะเวลา เพาะเลี้ยง 7 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

**4.3 ความสามารถในการสร้างเอนไซม์ของเห็ดสกุล *Pleurotus* บนอาหาร CZ+CMC**

ตารางที่ 4.2 แสดงความสามารถในการสร้างเอนไซม์ของเห็ดสกุล *Pleurotus* หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 5 ซ้ำ (n = 5) , * คือ ไอโซเลตที่เลือกใช้

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| OS-TM1=6.45 | OS-TM2=6.44 | OS-BKJ=6.02 | OS-ST=6.22 | OS-PTR=6.45 | **OS-PL=6.31*** |
| |  |  | | |  |
| AG-TM2=4.38 | AG(H)-ST=5.99 | AG-ST=5.22 | **AG-PL=5.37*** | AG-PTR=5.42 | |
| |  | | |  | |
| **PH(T)-PTR=5.17*** | PH(J)-PTR=2.99 | | | | Control |
|  |  | | | |  |




รูปที่ 4.2 แผนภูมิแสดงความสามารถในการสร้างเอนไซม์ของเห็ดสกุล *Pleurotus* บนอาหาร CZ+CMC

จากการทดลองเพื่อหาความสามารถในการสร้างเอนไซม์ของเห็ดสกุล *Pleurotus* บนอาหาร Czapek dox โดยใช้ carboxymethyl cellulose เป็นแหล่งคาร์บอน (CZ+CMC) โดยเพาะเลี้ยงเชื้อบริสุทธิ์ของเห็ดสกุล *Pleurotus* บนอาหาร CZ+CMC บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส สำหรับเห็ดนางรม เห็ดนางฟ้า และเห็ดเป๋าฮื้อทำการเลี้ยงเชื้อบนอาหารเป็นเวลา 7 วัน เมื่อครบกำหนดจัดทำการวัดความสามารถในการสร้างเอนไซม์ ผลการศึกษาพบว่าเห็ดทุกไอโซเลตที่ศึกษาสามารถสร้างเอนไซม์เพื่อย่อย CMC ได้ และได้ผลการศึกษาเป็นผลบวกคือเกิดเป็นวงใส รูปที่ 4.2 แสดงข้อมูลเปรียบเทียบเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสที่วัดได้ โดยรวมพบว่าขนาดของวงใสที่ได้จากเห็ดนางรม (รหัส OS) มีขนาดใหญ่ที่สุด อยู่ในช่วง 6.02-6.45 เซนติเมตร และเห็ดนางฟ้า (รหัส AG) มีขนาดอยู่ในช่วง 4.38-5.99 เซนติเมตร และเห็ดเป๋าฮื้อมีขนาดวงใสโดยรวมเล็กที่สุด โดยอยู่ในช่วง 2.99-5.17 เซนติเมตร

ดังนั้นจึงได้ทำการคัดเลือกเห็ดแต่ละชนิดที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ได้มากที่สุด โดยใช้เงื่อนไขจากขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสที่ได้ สำหรับเห็ดนางรม ใช้ไอโซเลต OS-PL เห็ดนางฟ้า ใช้ไอโซเลต AG-PL และเห็ดเป๋าฮื้อ ใช้ PH(T)-PTR ดังนั้นจึงทำการศึกษาอัตราเจริญเติบโตบนสารอาหารชนิดต่างๆ กับ 3 ไอโซเลตนี้

ผลการศึกษาครั้งนี้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Baldrian et al (2003) ซึ่งพบว่าเห็ดนางรมสามารถสร้างเอนไซม์เพื่อย่อยสลาย cellulose และ hemicellulose ได้เป็นอย่างดี และได้ผลเช่นเดียวกัน คือการที่เห็ด *Pleurotus nebrodensis* ไม่ได้สร้างโซนใส (transparent circle) แต่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยังคงสามารถย่อยสลายสาร CMC ได้เป็นอย่างดี และในผลการศึกษาครั้งนี้เห็ดทั้ง 3 ชนิด ไม่ได้สร้างโซนใส แต่ก็สามารถเห็นสภาวะการย่อยสลาย CMC ได้เป็นอย่างดี และงานวิจัยของ Atri and Sharma (2012) พบว่าเห็ดสกุล *Pleurotus* 5 ชนิด (*P. cystidiosus, P. floridanus, P. sapidus P. pulmonarius* และ *P. sajor–caju*) ก็สามารถเจริญได้ดีบนอาหารที่มี CMC เป็นแหล่งคาร์บอน ดังนั้นจะเห็นได้ว่าเป็นเห็ดที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ได้เป็นอย่างดี และอาหาร CZ ผสม CMC เป็นอาหารที่เหมาะสมสำหรับการตรวจสอบเบื้องต้นในการสร้างเอนไซม์ในเห็ดสกุล *Pleurotus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 4.4 การกระตุ้นให้เห็ดสกุล *Pleurotus* สร้างดอกเห็ด

4.4.1 ผลการศึกษาในด้านสัณฐานวิทยา

(1) ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญของเห็ดสกุล *Pleurotus*

เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ด 3 ชนิดลงบนอาหาร 4 สูตร และนำไปบ่มที่ 2 อุณหภูมิ ในการศึกษาครั้งนี้เปรียบเทียบการเจริญของเห็ดที่อุณหภูมิคงที่ 25 องศาเซลเซียส และ อุณหภูมิห้องซึ่งแปรผันอยู่ในช่วงระหว่าง 25-32 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 4.3) ผลการศึกษาพบว่าเส้นใยของเชื้อเห็ดทั้ง 3 ชนิด สามารถเจริญเติบโตได้ดีทั้งในอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสและที่อุณหภูมิห้อง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Zharare et al (2010) รายงานว่าเห็ดสกุล *Pleurotus* สามารถเจริญได้ในช่วงตั้งแต่ 25-35 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ Bellettini et al 2019 ได้รายงานว่าเห็ดสกุล *Pleurotus* เป็นเห็ดที่มีความสามารถในการปรับตัวเข้ากับอุณหภูมิได้หลากหลาย โดยสามารถพบเห็ดสกุลนี้ได้ตลอดทั้งปี ในทุกทวีปทั่วโลกยกเว้นบริเวณขั้วโลกเท่านั้น โดยเห็ดสกุลนี้สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 18 ไปจนถึง 30 องศาเซลเซียส

นอกจากนี้พบว่าผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Hoa and Wang (2015) ที่ศึกษาผลของอุณหภูมิตั้งแต่ 16-36 องศาเซลเซียส ต่อการเจริญของเห็ดนางรมและเห็ดเป๋าฮื้อ พบว่าเห็ดทั้ง 2 ชนิดเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ซึ่งแสดงว่าเห็ดทั้ง 3 ชนิดมีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ และยังมีความสามารถในการเจริญเติบโตในช่วงของอุณหภูมิที่กว้าง ซึ่งส่งผลดีต่อการเพาะเลี้ยงในระดับอุตสาหกรรมและประเทศเขตร้อนชื้นอย่างประเทศไทย เนื่องจากในประเทศไทย อาจมีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิได้มาก ในช่วงระหว่างรอยต่อของฤดู เช่นจากฤดูหนาวไปฤดูร้อน หรือฤดูร้อนไปฤดูฝนเป็นต้น

(2) ผลของวัสดุชนิดต่างๆ ต่อการเจริญของเห็ดสกุล *Pleurotus*

โดยทั่วไปพบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ผสมวัสดุธรรมชาติ เห็ดเป๋าฮื้อเจริญเติบโตได้เร็วกว่าเห็ดนางฟ้าและเห็ดนางรม เมื่อพิจารณาอาหารในแต่ละสูตรพบว่า เห็ดทั้ง 3 ชนิดเจริญได้ดีบนอาหาร PDA (ตารางที่ 4.3) สำหรับอาหาร PDA ผสมขี้เลื่อย พบว่ามีเพียงเห็ดเป๋าฮื้อชนิดเดียวที่สามารถเจริญได้ แต่เห็ดนางรมและและเห็ดนางฟ้าไม่สามารถเจริญได้เลย ขวัญใจ และคณะ (2559) พบว่าค่า C:N Ratio มีบทบาทสำคัญในการเพาะเลี้ยงเห็ดนางฟ้าภูฏาณ โดยทั่วไปเห็ดสกุล *Pleurotus* โตได้ดีในวัสดุที่มีค่า C:N Ratio อยู่ในช่วง 32:1 ไปถึง 150:1 (Cueva et al 2017) แต่อย่างไรก็ตามขี้เลื่อยมีค่า C:N Ratio (Carbon : Nitrogen Ratio) ประมาณ 500:1 ซึ่งถือเป็นสารอาหารที่ใช้ได้ยาก ซึ่งอาจทำให้เห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าไม่สามารถย่อยขี้เลื่อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้ แต่พบว่าเห็ดเป๋าฮื้อยังสามารถเจริญได้ดี แสดงให้เห็นว่าเห็นเป๋าฮื้อมีความสามารถในการใช้วัสดุที่ค่า C:N Ratio สูงเป็นอย่างดี แต่ถ้าต้องการใช้ขี้เลื่อยในการเพาะเลี้ยงเห็ด จำเป็นต้องผสมสารอื่นๆ ลงไปเพื่อช่วยปรับค่า C:N Ratio ให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อไป

เมื่อพิจารณาถึงผลของการใช้ผักตบชวาต่อการเจริญของเห็ดทั้ง 3 ชนิดพบว่าลักษณะของผักตบชวาที่ใช้ในแบบแห้งและแบบเปียก มีผลอย่างยิ่งต่อการเจริญของเห็ดทั้ง 3 ชนิด โดยพบว่าเห็ดนางฟ้าและเห็ดนางรมสามารถเจริญได้ดีบนอาหาร PDA ที่ผสมด้วยผักตบชวาแบบแห้ง แต่เห็ดเป๋าฮื้อไม่สามารถเจริญได้เลย สำหรับสูตรอาหาร PDA ที่ผสมด้วยผักตบชวาแบบเปียก เชื้อเห็ดทั้ง 3 ชนิดโตได้ดีเช่นเดียวกัน แสดงให้เห็นว่าปริมาณน้ำและความชื้นในวัสดุมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งต่อการเจริญของเห็ดเป๋าฮื้อ หากต้องการใช้ผักตบชวาเป็นวัสดุเพาะเลี้ยง

โดยภาพรวมเห็ดทั้ง 3 ชนิดสามารถเจริญและย่อยสลายผักตบชวาได้เป็นอย่างดี เนื่องมาจากผักตบชวาเป็นวัสดุเหลือทิ้งในสิ่งแวดล้อมที่มีความเหมาะสม เพราะมี C:N Ratio อยู่ในช่วง 15:1 ไปจนถึง 25:1 (Su et al 2018) ซึ่งอัตราส่วนดังกล่าวเหมาะสมกับการเจริญของเห็ดหลายชนิด และจากการศึกษาของ Bandopadhyay (2013) พบว่าหากใช้ผักตบชวาอย่างเดียวเพื่อนำมาใช้เป็นวัสดุในการเพาะเห็ดสกุล *Pleurotus* เห็ดกลุ่มนี้เจริญได้ไม่ดีนัก แต่เมื่อทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้ฟางข้าวผสมกับผักตบชวา ในอัตราส่วน 1:1 พบว่าสามารถช่วยเพิ่มผลผลิตได้เป็นอย่างดี ซึ่งสอดคล้องการศึกษาในครั้งนี้ที่พบว่าการใช้อาหารผสมระหว่าง PDA และผักตบชวาช่วยส่งเสริมการเจริญและกระตุ้นให้เห็ดสกุล *Pleurotus* สามารถสร้างโครงสร้างพื้นฐานได้ในห้องปฏิบัติการ แสดงให้เห็นว่าผักตบชวาเป็นวัสดุทางเลือกอีกชนิดหนึ่งที่ใช้ได้ง่ายกว่าขี้เลื่อย จึงสมควรได้รับการศึกษาเพิ่มเติม เช่นการศึกษาการเพาะเลี้ยงในเรือนเพาะชำ หรือการผสมกับวัสดุชนิดอื่นๆ เพื่อเพิ่มองค์ความรู้ในการนำผักตบชวามาใช้ประโยชน์ในทางเทคโนโลยีชีวภาพ

ถึงแม้ว่าผักตบชวาจะมีจำนวนมากในสิ่งแวดล้อม และควรนำมาใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรม แต่พบว่าผักตบชวาไม่ถูกนิยมใช้ในการเพาะปลูกเห็ดระดับโรงเรือน เนื่องจากผักตบชวาเป็นวัตถุดิบที่เน่าเสียได้ง่ายทำให้มีระยะเวลาในการเก็บรักษาที่สั้น รวมถึงมีขั้นตอนที่ยุ่งยากในการเก็บเกี่ยวและเตรียมสภาพ ซึ่งแตกต่างจากขี้เลื่อยไม้ที่เป็นวัตถุดิบหลักในการเพาะปลูกเห็ดที่เป็นของเหลือจากกระบวนการการผลิตอื่นๆ ที่เตรียมสภาพได้ง่ายและเน่าเสียช้ากว่า ดังนั้นการหากต้องการส่งเสริมการใช้ผักตบชวา จำเป็นต้องมีการศึกษาการปรับสภาพ และเตรียมตัวอย่างผักตบชวาเพื่อให้เหมาะสมและใช้งานได้ดีขึ้น และประสิทธิภาพใกล้เคียงกับขี้เลื่อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 แสดงความสามารถในการสร้างดอกเห็ดในสกุล *Pleurotus*

| อาหารเลี้ยงเชื้อ | เห็ดนางรม *Pleurotus ostreatus* | | เห็ดนางฟ้า *Pleurotus sajor-caju* | | เห็ดเป๋าฮื้อ *Pleurotus abalonus* | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | อุณหภูมิห้อง | 25 องศาเซลเซียส | อุณหภูมิห้อง | 25 องศาเซลเซียส | อุณหภูมิห้อง | 25 องศาเซลเซียส |
| (1) อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA | + | + | + | + | + | + |
| (2) อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA + ขี้เลื่อย | - | - | - | - | + | + |
| (3) อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA + ผักตบชวาแห้ง | + | + | + | + | - | - |
| (4) อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA + ผักตบชวาสด | + | + | + | + | + | + |

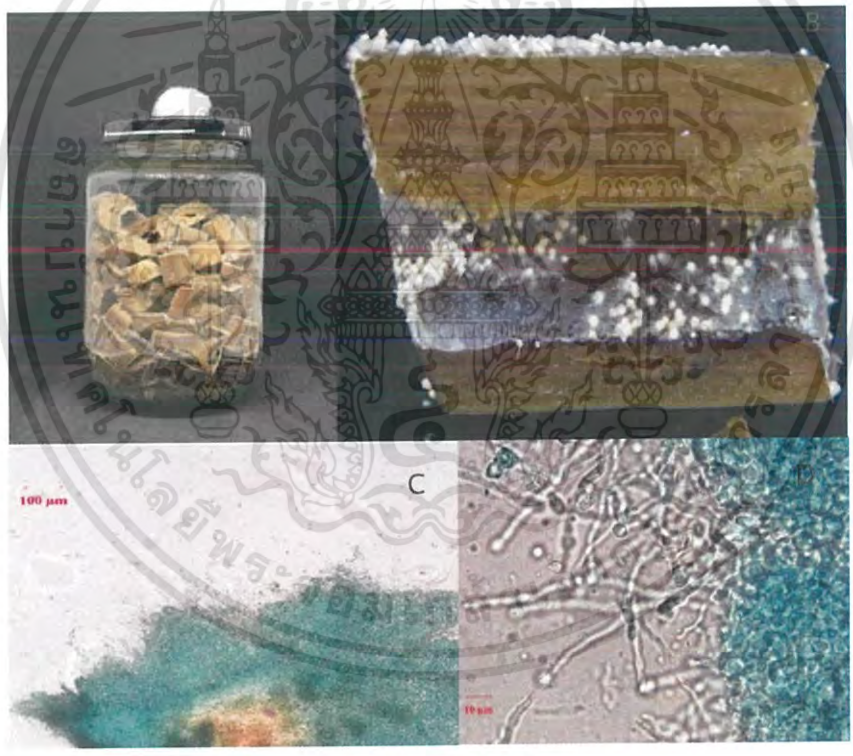
หมายเหตุ + = มีการเจริญของเส้นใยเห็ด - = ไม่มีการเจริญของเส้นใยเห็ด

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

4.4.2 ลักษณะของโครงสร้างการสืบพันธุ์ของเห็ดสกุล *Pleurotus* เมื่อเพาะเลี้ยงในวัสดุชนิดต่างๆ

(1) ลักษณะของเห็ดนางฟ้าบนอาหาร PDA ผสมผักตบชวาแบบแห้ง (รูปที่ 4.3)

เห็ดนางฟ้าสามารถเจริญเติบโตได้ในทุกบริเวณของขวด โดยพบตั้งแต่ด้านบนถึงด้านล่างของขวด เมื่อนำชิ้นตัวอย่างผักตบชวาไปศึกษาพบว่าเห็ดนางฟ้าสามารถสร้างเส้นใยแพร่กระจายครอบคลุมตลอดทั้งชิ้นของวัสดุ ทั้งผิวนอกและผิวด้านในของตัวอย่าง และมีเส้นใยเป็นสีขาว มีหมวกดอกสีขาว ขนาดเล็ก (รูป 4.3 B) เมื่อศึกษาใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่ามีลักษณะเป็นเส้นใยแบบไม่มีสี (hyaline) แบบมีผนังกั้น (septate hypha) เกาะอยู่รวมกัน สปอร์ลักษณะกลมไปจนถึงรูปรี (รูป 4.3 C)




รูปที่ 4.3 การเจริญของเห็ดนางฟ้าบนอาหาร PDA ผสมผักตบชวาแบบแห้ง

A : ขวดเพาะเลี้ยงเห็ดนางฟ้าเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 สัปดาห์

B : ชิ้นของผักตบขวา ที่ถูกผ่าครึ่งและมีเส้นใยของเห็ดนางฟ้าเจริญอยู่บนพื้นผิว

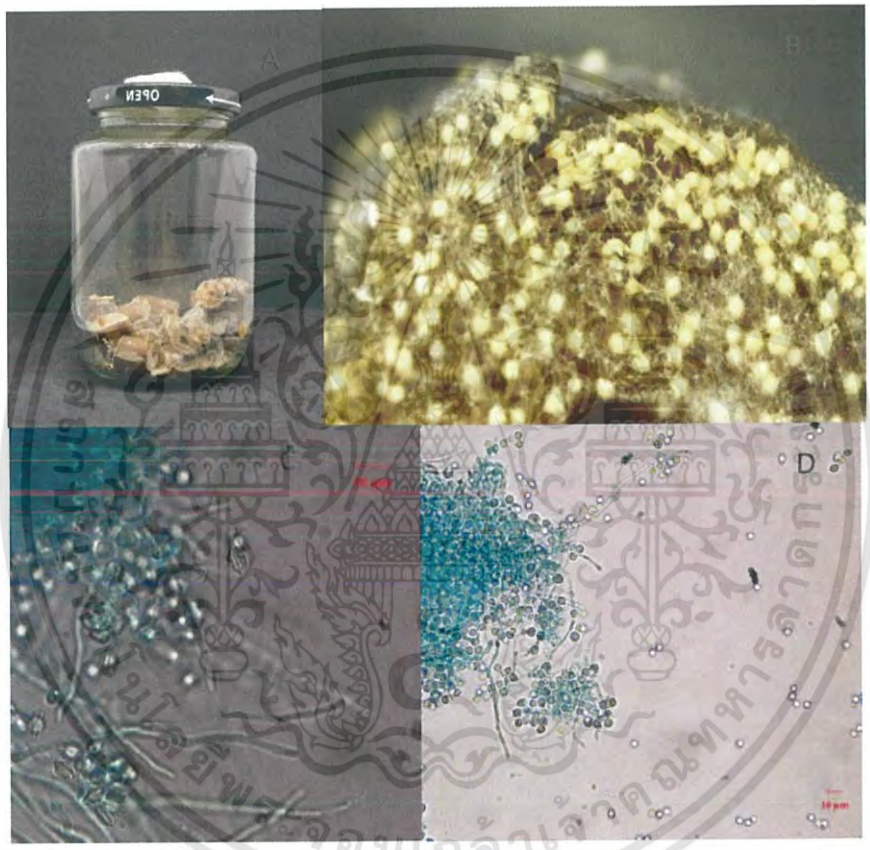
C : เส้นใยเชื้อเห็ดนางฟ้า เมื่อย้อมด้วยสี lactophenol cotton blue

D : ลักษณะของเห็ดนางฟ้าที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(2) ลักษณะของเห็ดนางรมบนอาหาร PDA ผสมผักตบชวาสด (รูปที่ 4.4)

เห็ดนางรมสามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วบนหน้าอาหาร PDA ผสมผักตบชวาสด (รูป 4.4 A) และยังสามารถเจริญเข้าไปในเนื้อเยื่อภายในของผักตบชวาได้เป็นอย่างดี (รูป 4.4 B) โดยเห็ดนางรมสามารถสร้างเส้นใยสีขาว ไปจนถึงสีเหลืองอ่อนบนพื้นผิวของวัสดุ เมื่อศึกษาใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่ามีลักษณะเป็นเส้นใยแบบไม่มีสี (hyaline) แบบมีผนังกั้น (septate hypha) เกาะอยู่รวมกัน สปอร์ลักษณะกลมไปจนถึงรูปรี (รูป 4.4 C และ รูป 4.4 D)




รูปที่ 4.4 การเจริญของเห็ดนางรมบนอาหาร PDA ผสมผักตบชวาแบบสด

A : ขวดเพาะเลี้ยงเห็ดนางรมเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 สัปดาห์

B : ชิ้นของผักตบขวา ที่ถูกผ่าครึ่งและมีเส้นใยของเห็ดนางรมเจริญอยู่บนพื้นผิว

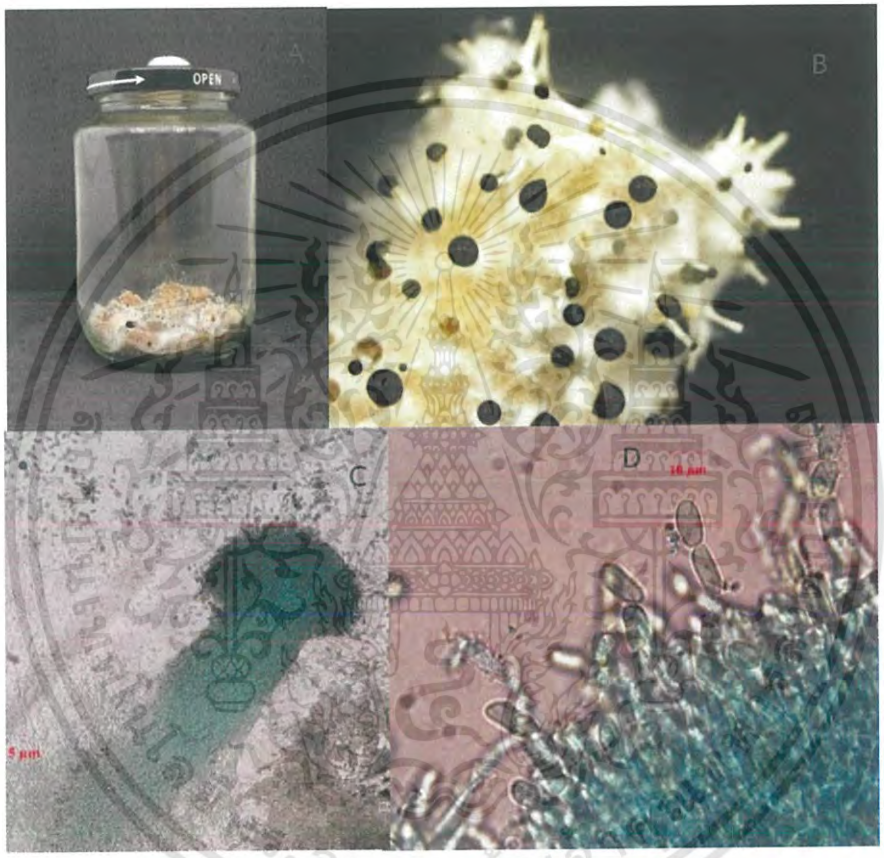
C : เส้นใยเชื้อเห็ดนางรม เมื่อย้อมด้วยสี lactophenol cotton blue

D : ลักษณะของเห็ดนางฟ้าที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(3) ลักษณะของเห็ดเป๋าฮื้อบนอาหาร PDA ผสมผักตบชวาแบบสด (รูปที่ 4.5)

เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดเป๋าฮื้อบนอาหารสูตรนี้เป็นเวลา 6 สัปดาห์พบว่าเห็ดเป๋าฮื้อสร้างเส้นใยสีขาว เจริญได้อย่างรวดเร็วทั้งภายในและภายนอกของชิ้นวัสดุ และบริเวณส่วนปลายยอดของเส้นใยมีลักษณะเป็นหยดน้ำขนาดเล็กสีดำ (รูปที่ 4.5 B) เมื่อนำไปศึกษาใต้กล้องพบว่าเป็นแผงเส้นอัดแน่นกันเป็นแพ เป็นเส้นใยแบบไม่มีสี (hyaline) มีสปอร์รูปร่างยาวรี หัวท้ายมน สีน้ำตาลเข้ม อยู่ต่อกันเป็นสาย ประมาณ 3-4 เซลล์




รูปที่ 4.5 การเจริญของเห็ดเป๋าฮื้อบนอาหาร PDA ผสมผักตบชวาแบบสด

A : ขวดเพาะเลี้ยงเห็ดเป๋าฮื้อเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 สัปดาห์

B : ชิ้นของผักตบขวา ที่ถูกผ่าครึ่งและมีเส้นใยของเห็ดเป๋าฮื้อเจริญอยู่บนพื้นผิว

C : เส้นใยเชื้อเห็ดเป๋าฮื้อ เมื่อย้อมด้วยสี lactophenol cotton blue

D : ลักษณะของเห็ดเป๋าฮื้อที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 5

# สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

## 5.1 สรุปผลการวิจัย

จากศึกษาเห็ดสกุล *Pleurotus* 3 ชนิด ได้แก่ เห็ดนางฟ้า (*Pleurotus sajor-caju*) เห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*) และเห็ดเป๋าฮื้อ (*Pleurotus abalonus*) โดยทำการแยกเชื้อเห็ด ทดสอบการเจริญและการสร้างเอนไซม์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ และการเจริญบนวัสดุเหลือใช้ พบว่า

(1) สามารถแยกเชื้อเห็ดสกุล *Pleurotus* ได้ทั้งหมด 13 ไอโซเลต แบ่งเป็น เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม และเห็ดเป๋าฮื้อ จำนวน 5, 6 และ 2 ไอโซเลต ตามลำดับ

(2) เมื่อศึกษาความสามารถในการเจริญบนอาหาร PDA และการสร้างเอนไซม์บนอาหาร CZ ผสม CMC พบว่า มี 3 ชนิดที่เจริญเร็วและสร้างเอนไซม์ได้ดี 3 ไอโซเลต ได้แก่ เห็ดนางฟ้า AG-PL, เห็ดนางรม OS-PL และ เห็ดเป๋าฮื้อ PH(T)-PTR

(3) เมื่อนำเห็ดทั้ง 3 ไอโซเลตนำไปเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่พัฒนาขึ้นจากวัสดุเหลือใช้และนำไปบ่มที่ 2 อุณหภูมิพบว่า เห็ดทั้ง 3 ชนิดโตได้ทั้งที่อุณหภูมิห้อง และ 25 องศาเซลเซียส

(4) จากอาหาร 4 สูตรที่ทดสอบ เห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า ไม่สามารถเจริญได้บนอาหาร PDA ผสมขี้เลื่อย แต่เห็ดเป๋าฮื้อสามารถเจริญได้บนอาหารชนิดนี้

(5) เห็ดทั้ง 3 ชนิดเจริญได้ดีบนอาหาร PDA ผสมกับผักตบชวา โดยที่เห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าเจริญได้ทั้งผักตบชวาแบบแห้งและแบบสด แต่เห็ดเป๋าฮื้อเจริญได้เฉพาะบนผักตบชวาแบบสดเท่านั้น

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

ผลการศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าผักตบชวาซึ่งเป็นพืชน้ำที่สร้างปัญหาในสิ่งแวดล้อม แต่กลับมีศักยภาพในการนำมาใช้เป็นวัสดุในการเพาะปลูกเห็ดได้ดี จึงควรนำมาศึกษาต่อยอดเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ด้านการเกษตร โดยใช้ความรู้ด้านเทคโนโลยีชีวภาพ ตัวอย่างหัวข้องานวิจัยที่ควรศึกษาเพิ่มเติม เช่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(1) การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการใช้ผักตบชวา เพื่อเพาะเลี้ยงเห็ดสกุล *Pleurotus* ในแบบก้อนเชื้อเห็ด และเพาะเลี้ยงในระดับการค้า ด้วยระบบโรงเรือน

(2) การศึกษาการปรับสภาพ (pre-treatment) ผักตบชวาก่อนนำไปเพาะเลี้ยงเห็ด เพื่อให้เห็ดสามารถนำสารอาหารไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และได้ผลผลิตได้สูงสุด

(3) การศึกษาการใช้ผักตบชวาเพื่อผสมกับวัสดุทางการเกษตรอื่นๆ เช่น ซังข้าวโพด กากปาล์มน้ำมัน ฟางข้าว เป็นต้น เพื่อนำไปใช้ในการเพาะเลี้ยงเห็ดสำคัญๆ

(4) การศึกษาการนำผักตบชวาไปเพาะเลี้ยงเห็ดชนิดอื่นๆ ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เช่น เห็ดถั่งเช่า เห็ดหลินจือ เห็ดหอม เป็นต้น

(5) การตรวจสอบสภาพของวัตถุดิบธรรมชาติที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# อ้างอิง

ขวัญใจ หรูพิทักษ์, จิตตราวรรณ พี่พานิช, เรืองปัญญา ดาวเรือง และ กฤษณา โสภี. 2559. ศึกษาการเจริญ ของเส้นใยและผลผลิตของเห็ดนางฟ้าภูฏานเมื่อใช้ชานอ้อยและชานอ้อยบดเป็นวัสดุเพาะ. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์. ปีที่ 3: 48-53

ชาญยุทธ์ ภาณุทัต. 2544. ข้อมูลประกอบการตัดสินใจเพาะเห็ด ใน เอกสารนักวิจัยและเพาะเห็ดแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ. น. 1-12.

ชาญยุทธ์ ภาณุทัต. 2561. สถานการณ์เห็ดของประเทศไทย ใน เอกสารประกอบการบรรยายพิเศษแนวทางการพัฒนาการวิจัยด้านเห็ด 15 กุมภาพันธ์ 2561 สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน. 2544 เส้นทางเห็ดไทย. วารสารผลิใบ 1: 5-7.

ทับทิม ลิ้มสุนทร 2543. การใช้ผักตบชวาเป็นวัสดุเพาะเห็ดนางรม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีที่เหมาะสมเพื่อการพัฒนาทรัพยากร มหาวิทยาลัยมหิดล.

สำนักงานส่งเสริมและฝึกอบรม มก. 2562. การเพาะเห็ดในถุงพลาสติก. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพ. 10 หน้า

อุทัยวรรณ แสงวณิช, พูนพิไล สุวรรณฤทธิ์, อัจฉรา พยัพพานนท์, เจนนิเฟอร์ เหลืองสอาด, อนงค์ จันทร์ศรีกุล และบารมี สกลรักษ์. 2556. บัญชีรายชื่อทรัพยากรชีวภาพ เห็ด. สำนักงานพัฒนาเศรษฐกิจจากฐานชีวภาพ (องค์กรมหาชน). กรุงเทพ. 374 หน้า

Atri, N.S. and Sharma, S. 2012. Qualitative estimation of cellulase and lignin modifying enzymes in five wild fungal species collected from Northern West India. Journal of Plant Sciences. 5(1): 23-27.

Baldrian, P. and Gabriel, J. 2003. Lignocellulose degradation by *Pleurotus ostreatus* in the presence of cadmium. FEMS Microbiology Letters. 220: 235-240.

Bandopadhyay, S. 2013. Effect of supplementing rice straw with waterhyacinth on the yield and nutritional qualities of oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.). Micologia Aplicada International. 25: 15-21.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Belletini, M.B., Fiorda, F.A., Maieves, H.A., Teixeira, G.L., Avila, S., Hornung, P.S., Maccari Jr., A. and Ribani, R.H. 2019. Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. Saudi Journal of Biological Sciences. 26 (4): 633-646.

Beristain, S., Sánchez, C., Loera, O. and Robson, G. 2008. Laccases of *Pleurotus ostreatus* observed at different phases of its growth in submerged fermentation : Production of a novel laccase isoform. Mycological Research. 112: 1080-1084.

Carabajal, M., Levin, L., Albertó, E. and Lechner, B. 2012. Effect of co-cultivation of two *Pleurotus* species on lignocellulolytic enzyme production and mushroom fructification. International Biodeterioration & Biodegradation. 66: 71-76.

Cueva, M.B.R., Hernandez, A. and NinoRuiz, Z. 2017. Influence of C/N ratio on productivity and the protein contents of *Pleurotus ostreatus* grown in difference residue mixtures. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. 49 (2): 331-344.

Hoa, H.T. and Wang C.L. 2015. The effects of temperature and nutritional conditions on mycelium growth of two oyster mushrooms (*Pleurotus osteratus* and *Pleurotus cystidiosus*). Mycobiology. 43(1): 14-23.

Li F., Zhu X., Li N., Zhang P., Zhang S., Zhao X., Zhu Q. and Lin H. 2014. Screening of lignocellulose-degrading superior mushroom strains and determination of their CMCase and laccase activity. The Scientific World Journal: 1-6

Kirk P.M. 2019. Species Fungorum (version 10 May 2019). In ITIS Species 2000 and Catalogue of Life: 2019 Annual Checklist. www.catalogueoflife.org

Mahadevan, K. and Shanmugasundaram, K. 2018. Comparative effect of different culture media on mycelial growth performance of *Pleurotus sapidus*. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 7(4): 874-878.

Nageswaran, M., Gopalakrishnan, A., Ganesan, M., Vethamurthy, V. and Selevaganapahty, E. 2003. Evaluation of waterhyacinth and paddy straw waste for culture of oyster mushrooms. Journal of Aquatic Plant Management. 41: 122-123.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ ใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sabina, B., France, P., Tom, T. and Kristina, S. 2008. Induction of fruiting in oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) by polymeric 3-alkylpyridinium salts. Mycological Research: 1085-1087.

Su, W.P., Sun, Q.P., Xia, MS., Wen, Z.S. and Yao, Z.T. 2018. The resource utilization of water hyacinth (Eichhornia crassipes [Mart.] Solms) and its challenges. Resources. 7(4): 1-9.

Valentin, Z., Gicuta, S., Mihaela-Alina, B. and Iuliana, M. 2016. Effect of nutritive media and pH on mycelial growth of some *Pleurotus eryngii* strains *in vitro*. Bulletin UASVM Horticulture. 73(2): 276-278.

Zharare, G., Kabanda, S. and Poku, J. 2010. Effects of temperature and hydrogen peroxide of eight *Pleurotus* strains. Scientia Horticulturae. 125: 95-102.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ก
# อาหารเลี้ยงเชื้อ

สูตรอาหาร

1. Potato dextrose agar

| | | |
|---|---|---|
| Potato dextrose broth | 24 | กรัม |
| Agar | 15 | กรัม |
| Distilled water | 100 | มิลลิลิตร |

2. Czapek ผสม Carboxymethyl cellulose

| | | |
|---|---|---|
| Czapek dox broth | 35.01 | กรัม |
| Carboxymethyl cellulose | 10 | กรัม |
| Agar | 15 | กรัม |
| Distilled water | 1000 | มิลลิลิตร |

3. PDA ผสมผักตบชวาแห้ง

| | | |
|---|---|---|
| Potato dextrose broth | 24 | กรัม |
| Agar | 15 | กรัม |
| ผักตบชวาแห้ง | 1500 | กรัม |
| Distilled water | 1000 | มิลลิลิตร |

4. PDA ผสมผักตบชวาสด

| | | |
|---|---|---|
| Potato dextrose broth | 24 | กรัม |
| Agar | 15 | กรัม |
| ผักตบชวาสด | 1500 | กรัม |
| Distilled water | 1000 | มิลลิลิตร |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. PDA ผสมขี้เลื่อยไม้

| | | |
|---|---|---|
| Potato dextrose broth | 24 | กรัม |
| Agar | 15 | กรัม |
| ขี้เลื่อยไม้ | 1500 | กรัม |
| Distilled water | 1000 | มิลลิลิตร |



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ข

# การเตรียมสารเคมี

1. การเตรียม 1% Congo red

การเตรียม 1% Congo red ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทำการชั่ง Congo red แบบผงปริมาณ 1 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร ก็จะได้ 1% Congo red

2. การเตรียม 1% Sodium chloride

การเตรียม 1% Sodium chloride ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทำการชั่ง Sodium chloride ปริมาณ 1 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร ก็จะได้ 1% Sodium chloride

3. การเตรียม 20% Glycerol

การเตรียม 20% Glycerol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทำการดูด Glycerol ด้วยปิเปตปริมาตร 20 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 80 มิลลิลิตร ทำการเขย่าให้เข้ากันนำไปใส่หลอด Eppendorf ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นทำการฆ่าเชื้อด้วย Autoclave

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ค

# สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ผลการทดสอบ

ตารางที่ 1 แสดงอัตราการเจริญของเห็ด *Pleurotus* บนอาหาร PDAในระยะเวลา เพาะเลี้ยง 7 วัน

| Isolation | เฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเห็นสกุล *Pleurotus* (ซม.) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Day 0 | Day 3 | Day 5 | Day 7 |
| AG(H)-ST | 0.50 | 2.13 | 4.27 | 6.64 |
| AG-ST | 0.50 | 1.94 | 4.45 | 6.42 |
| AG-PTR | 0.50 | 1.68 | 3.79 | 5.16 |
| AG-TM2 | 0.50 | 2.38 | 4.46 | 6.17 |
| AG-PL | 0.50 | 2.96 | 4.18 | 6.76 |
| OS-TM1 | 0.50 | 1.89 | 3.44 | 5.08 |
| OS-TM2 | 0.50 | 1.91 | 3.77 | 5.53 |
| OS-BKJ | 0.50 | 2.11 | 3.78 | 5.55 |
| OS-PL | 0.50 | 2.68 | 4.54 | 5.98 |
| OS-ST | 0.50 | 1.42 | 2.16 | 3.97 |
| OS-PTR | 0.50 | 1.35 | 2.91 | 3.99 |
| PH(T)-PTR | 0.50 | 0.82 | 1.55 | 2.26 |
| PH(J)-PTR | 0.50 | 0.70 | 0.81 | 1.14 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 แสดงค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน(SE) ของการเจริญเห็ด *Pleurotus* บนอาหาร PDA ในระยะเวลาเพาะเลี้ยง 7 วัน

| ไอโซเลต | วันที่ 0 | วันที่ 3 | วันที่ 5 | วันที่ 7 |
|---|---|---|---|---|
| AG(H)-ST | 0.00 | 0.27 | 0.70 | 0.89 |
| AG-ST | 0.00 | 0.27 | 0.12 | 0.33 |
| AG-PTR | 0.00 | 0.33 | 0.40 | 0.73 |
| AG-TM2 | 0.00 | 0.18 | 0.57 | 0.99 |
| AG-PL | 0.00 | 0.09 | 0.10 | 0.28 |
| OS-TM1 | 0.00 | 0.10 | 0.24 | 0.73 |
| OS-TM2 | 0.00 | 0.10 | 0.16 | 0.61 |
| OS-BKJ | 0.00 | 0.11 | 0.44 | 0.74 |
| OS-PL | 0.00 | 0.14 | 0.08 | 0.26 |
| OS-ST | 0.00 | 0.13 | 0.13 | 0.46 |
| OS-PTR | 0.00 | 0.15 | 0.25 | 0.81 |
| PH(T)-PTR | 0.00 | 0.05 | 0.10 | 0.27 |
| PH(J)-PTR | 0.00 | 0.03 | 0.01 | 0.20 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 แสดงความสามารถในการสร้างเอนไซม์ของเห็ดสกุล *Pleurotus* บนอาหาร CMC+CZ

| ไอโซเลต | ซ้ำ 1 | ซ้ำ 2 | ซ้ำ 3 | ซ้ำ 4 | ซ้ำ 5 | $\bar{X}$ | SE | ผลการสร้างเอนไซม์ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| AG-TM2 | 4.15 | 4.40 | 4.25 | 4.55 | 4.55 | 4.38 | 0.178 | + |
| AG(H)-ST | 6.00 | 4.20 | 5.65 | 6.95 | 7.15 | 5.99 | 1.181 | + |
| AG-ST | 5.40 | 5.00 | 5.10 | 5.40 | - | 5.22 | 0.206 | + |
| AG-PL | 4.35 | 5.75 | 5.65 | 5.95 | 5.15 | 5.37 | 0.641 | + |
| AG-PTR | 5.75 | 5.60 | 4.65 | 5.35 | 5.75 | 5.42 | 0.460 | + |
| OS-TM1 | 6.65 | 6.60 | 6.40 | 6.60 | 6.00 | 6.45 | 0.269 | + |
| OS-TM2 | 7.05 | 7.15 | 4.00 | 7.05 | 6.95 | 6.44 | 1.365 | + |
| OS-BKJ | 6.10 | 6.70 | 5.35 | 6.10 | 5.85 | 6.02 | 0.488 | + |
| OS-ST | 6.55 | 6.50 | 5.40 | 6.20 | 6.45 | 6.22 | 0.477 | + |
| OS-PTR | 6.95 | 6.20 | 6.10 | 6.55 | - | 6.45 | 0.385 | + |
| OS-PL | 5.60 | 7.05 | 5.55 | 6.65 | 6.70 | 6.31 | 0.688 | + |
| PH(T)-PTR | 6.10 | 6.15 | 5.55 | 5.75 | 2.30 | 5.17 | 1.623 | + |
| PH(J)-PTR | 3.05 | 2.75 | 3.05 | 2.90 | 3.20 | 2.99 | 0.171 | + |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 ผลการคัดเลือกเห็ดสกุล *Pleurotus* โดยเปรียบเทียบระหว่างการเจริญบนอาหาร PDA และการสร้างเอนไซม์บนอาหาร cz + cmc

| ไอโซเลต | การเจริญบนPDA (cm.) | การสร้างเอนไซม์ (cm.) |
|---|---|---|
| AG(H)-ST | 0.89 | 4.38 |
| AG-ST | 0.33 | 5.99 |
| AG-PTR | 0.73 | 5.22 |
| AG-TM2 | 0.99 | 5.37 |
| *AG-PL | 0.28 | 5.42 |
| OS-TM1 | 0.73 | 6.45 |
| OS-TM2 | 0.61 | 6.44 |
| OS-BKJ | 0.74 | 6.02 |
| *OS-PL | 0.26 | 6.22 |
| OS-ST | 0.46 | 6.45 |
| OS-PTR | 0.81 | 6.31 |
| *PH(T)-PTR | 0.27 | 5.17 |
| PH(J)-PTR | 0.20 | 2.99 |

*เชื้อเห็ดของแต่ละชนิดที่ดีที่สุดที่คัดเลือกในการทำการทดลองเพาะเลี้ยงในอาหาร 4 สูตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้