หอสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ

156

ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

เรื่อง

การแยกเชื้อราจากฟางข้าว และศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อรากับการเจริญของเห็ดฟาง

Isolation of fungi from rice straw and studies on the relationship between fungi and straw mushroom growth

โดย นาย กวินหาญ พลหาญ

ได้รับพิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการอาจารย์ที่ปรึกษา.....วันที่ เดือน พ.ศ.

(ดร. เกษม สร้อยทอง)

หัวหน้าภาควิชา.....วันที่/6 เดือน พ.ย. พ.ศ. 2533

(ผศ. ดร. อารมย์ ศรีพิจิตต์)

คณบดีคณะเทคโนโลยีการเกษตร

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ปพ.
ก 323 ก
2533.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

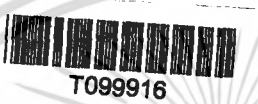
13932

ปัญหานิเศษปริญญาตรี

เรื่อง

การแยกเชื้อราจากฟางข้าว และการศึกษาความสัมพันธ์ ระหว่างเชื้อรากับการเจริญของเห็ดฟาง

Isolation of fungi from rice straw and studies on the relationship between fungi and straw mushroom growth



โดย

นาย ภวินหาญ พลหาญ

เสนอ

สาขาวิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (เกษตรศาสตร์)
พ.ศ. 2533

ปพ.
ก323ก
2533
สขหมู่.....
สขทะเบียน.....99916
วัน.เดือน,ปี.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

ชื่อเรื่อง : การแยกเชื้อราจากฟางข้าว และการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อรากับการเจริญของเห็ดฟาง

โดย : นาย กวินหาญ พลหาญ

ชื่อปริญญา : วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

สาขาวิชา : เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

ประธานกรรมการอาจารย์ที่ปรึกษา : .....

(ดร. เกษม สร้อยทอง)

การแยกเชื้อราจากฟางข้าว ที่นำเอามาใช้เป็นวัสดุเพาะเห็ด โดยวิธี dilution plate technique แยกได้ 15 isolates และจัดจำแนกเป็น 11 species ได้แก่ *Aspergillus terreus, A. niger, A. flavus, Chaetomium* spp., *Curvularia lunata, Humicola* spp., *Penicillium* spp., *Phytophthora* spp. และ *Rhizoctonia* spp. การศึกษาผลของการเจริญของเชื้อราที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดฟาง (*Volvariella volvacea*) ในอาหารเลี้ยงเชื้อพบเชื้อราที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อเห็ดฟาง ได้แก่ *A. niger, Penicillium* spp. isolate No.3, *Chaetomium* spp., *A.terreus, Humicola* spp. และ *Penicillium* spp. isolate No.2 สำหรับเชื้อราที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อเห็ดฟางได้เล็กน้อยได้แก่ *C. lunata, Penicillium* spp. isolate No.1 และ *Rhizoctonia* spp. ส่วนเชื้อราที่ไม่สามารถยับยั้ง และไม่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดฟางได้ ได้แก่ *Phytophthora* spp. และ *A. flavus* จากการศึกษานี้พบว่า *C. lunata* มีแนวโน้มในการส่งเสริมการเจริญของเส้นใยเห็ดฟางและการสร้างดอกเห็ดในการทดสอบ dual agar culture แต่เมื่อนำไปทดสอบในกระบะเพาะเห็ดฟาง พบว่ารา *C. lunata* ไม่มีผลในการส่งเสริมการเจริญของเส้นใยเห็ดฟาง ที่ทุกระดับความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลอง แต่เมื่อใช้ stock solution ของ *C. lunata* มีแนวโน้มว่าส่งเสริมการเจริญ และการสร้างดอกเห็ด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ABSTRACT

Title : Isolation of fungi from rice straw and studies on the relationship between fungi and straw mushroom growth

By : Kawinharn Palaharn

Degree : Bachelor of Science (Agriculture)

Major Field : Technology of Plant Pest Management

Chairman, Special Problem Advisor : .....Kasem Soytong.....

(Dr. Kasem Soytong)

Eleventh fungal species were identified from rice straw by using dilution plate technique. These were *Aspergillus terreus, A. niger, A. flavus, Chaetomium* spp., *Curvularia lunata Humicola* spp., *Penicillium* spp., *Phytophthora* spp., *Rhizoctonia* spp. and two unidentified species. The effect of isolated fungi on the growth of *Volvariella volvacea* was tested in dual agar culture. It was found that *Aspergillus niger, Penicillium* spp. No.3 and *Chaetomium* spp. had highly inhibited the fungal growth of *Volvariella volvacea.* Moderate inhibition was showed in the species of *Aspergillus terreus, Humicola* spp., *Penicillium* spp. No.2. However, *Curvularia lunata, Penicillium* spp. No.1 and *Rhizoctonia* spp. There was some spesies that did not showed any inhibition and stimulation of *Volvariella volvacea.* These were *Phytophthora* spp. and *Aspergillus flavus.* Accordingly, the result showed that *C. lunata* had tended to stimulate the fungal mushroom and produced fruiting bodies in dual agar culture test. But *C. lunata* did not showed any stimulation when incorpurated with *Volvariella volvacea* which grown in rice straw for mushroom

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

production in plastic basket at all tested spore concentration of *C. lunata*. However, some observation had tended to stimulation of mushroom production when using stock solution of *C. lunata*.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ดร.เกษม สร้อยทอง อาจารย์ภาควิชา เทคโนโลยี-การผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่กรุณาให้คำปรึกษา และคำแนะนำจนปัญหาพิเศษนี้เสร็จไปด้วยดี และอาจารย์อภิศักดิ์ โพธิ์ปั้น ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือ

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ประจำห้องโรคพืช และเจ้าหน้าที่ประจำตึกปฏิบัติการเห็ดรา ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ อุปกรณ์ที่ใช้ในปัญหาพิเศษ ขอขอบคุณเพื่อนนักศึกษาปริญญาตรีภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช และน้อง ๆ ที่ได้ให้กำลังใจและมีส่วนช่วยในงานทดลอง

ขอกราบขอบพระคุณ หลวงพ่อ หลวงพี่ คุณพ่อ คุณแม่ คุณอา และคุณพี่ ที่ให้กำลังใจและสนับสนุนเงินทุนในการศึกษามาโดยตลอด ทำให้ปัญหาพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

กวินหาญ พลหาญ

เมษายน 2533

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญตารางภาคผนวก	(3)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
ตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	8
ผลการทดลอง	14
วิจารณ์ผลการทดลอง	44
สรุปผลการทดลอง	47
เอกสารอ้างอิง	48
ภาคผนวก	51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.	แสดงเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อเห็ดฟาง ใน dual agar culture	18
2.	ชนิดของเชื้อราที่แยกได้ และผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อเห็ดฟาง โดยเชื้อราชนิดต่าง ๆ เมื่อนำมาเลี้ยงร่วมกันในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA	19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตารางภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ **หน้า**

1. แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของเส้นผ่า ศูนย์กลาง เชื้อเห็ดฟาง ใน dual agar culture 52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1.	แสดงกองปุ๋ยหมักที่จะนำมาเตรียมหัวเชื้อเห็ดฟาง	10
2.	แสดงการทดสอบ Dual agar culture ของเชื้อรา ชนิดต่าง ๆ กับเชื้อเห็ดฟาง	11
3.	รา *Aspergillus terreus*	20
4.	รา *A. niger*	21
5.	รา *A. flavus*	22
6.	รา *Chaetomium spp.*	23
7.	รา *Curvularia lunata*	24
8.	รา *Humicola* spp.	25
9.	รา *Penicillium* spp. isolate No.1	26
10.	รา *Penicillium* spp. isolate No.2	27
11.	รา *Penicillium* spp. isolate No.3	28
12.	รา *Phytophthora* spp.	29
13.	รา *Rhizoctonia* spp.	30
14.	unidentified speceis No.1	31
15.	unidentified speceis No.2	32
16.	แสดงผลของการทดสอบ Dual agar culture ของเชื้อรากลุ่ม *Aspergillus.*	34
17.	แสดงผลของการทดสอบ Dual agar culture ของเชื้อรา *Curvularia lunata, Chaetomium* spp., *Humicola* spp.	35
18.	แสดงผลของการทดสอบ Dual agar culture ของเชื้อรากลุ่ม *Penicillium* spp.	36
19.	แสดงผลของการทดสอบ Dual agar culture	37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
	ของเชื้อรา *Phytophthora* spp., *Rhizoctonia* spp., unidentified species No.1	
20.	แสดงความสามารถของเชื้อรา *Curvularia lunata* ที่ทำให้เส้นใยเห็ดฟางเกิดการสร้างดอกเห็ด ในการทดสอบ Dual agar culture	38
21.	แสดงการเจริญของเส้นใยเชื้อเห็ดฟาง ที่เจริญบนโคโลนีของเชื้อ *C. lunata* แล้วเกิดการสร้างดอกเห็ด ถ่ายภาพภายใต้กล้อง steriomicroscope	39
22.	แสดงกระบะเพาะเห็ดฟางเปรียบเทียบระหว่าง A.กระบะเพาะเห็ดฟางที่ใส่ stock solution ของ *C. lunata* B.กระบะเพาะเห็ดฟาง(control) ที่อายุ 12 วัน	41
23.	แสดงการเปรียบเทียบลักษณะการเจริญของเส้นใย และการสร้างดอกเห็ดของ A.กระบะเพาะเห็ด(control) B.กระบะเพาะเห็ดฟางที่ใส่ stock solution ของ *C. lunata* ที่มีการเจริญเติบโตของเส้นใย และการสร้างดอกเห็ด ที่อายุ 12 วัน	42
24.	แสดงกระบะเพาะเห็ดฟางที่ใส่ stock solution ของ *C. lunata* มีการเจริญของเส้นใย และการสร้างดอกเห็ด ที่อายุ 12 วัน	43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

เห็ดฟาง [*Volvariella volvacea* (Bull. ex Fr.) Sing] เป็นเห็ดที่มีมูลค่าการผลิต และการบริโภคสูงสุดในประเทศไทย รวมทั้งประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ขั้นตอนในการผลิตเห็ดฟางแต่ละขั้นตอน มีความสำคัญต่อการผลิตเป็นอย่างมาก ขั้นตอนการผลิตประกอบด้วย การทำเชื้อเห็ด, การเพาะลงแปลง, การดูแลรักษา, การเก็บรักษาดอกเห็ด และการจัดส่งตลาด การทำเชื้อเห็ดฟางเป็นขั้นตอนที่สำคัญ ที่ต้องการความรู้ความชำนาญ อุปกรณ์ และเงินลงทุน วัสดุที่ใช้ทำเชื้อเห็ดฟางได้แก่ ปุ๋ยหมัก และเมล็ดธัญพืช เช่น เมล็ดข้าวฟาง เมล็ดข้าวเปลือก เป็นต้น แต่วัสดุที่นิยมใช้กันคือ ปุ๋ยหมัก เนื่องจากมีความเหมาะสมกว่าเชื้อเห็ดที่ทำจากเมล็ดธัญพืช สำหรับวัสดุเพาะที่ใช้กันเห็ดส่วนใหญ่เตรียมจากฟางข้าวต่าง ๆ เนื่องจากเห็ดเป็นราชนิดหนึ่งที่ไม่มี คลอโรฟิลด์ จึงไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้ต้องอาศัยอาหารจากสารอินทรีย์ และสารอินทรีย์จากดิน ปุ๋ยหมัก และอินทรียวัตถุ เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต ดังนั้นในการเตรียมวัสดุเพาะเห็ดจึงต้องคำนึงถึงสารอาหารในวัสดุเพาะให้มีสารอาหารครบ เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต วัสดุเพาะส่วนใหญ่จะเป็นแหล่งของ cellulose, hemicellulose, lignin ซึ่งเห็ดจะใช้ในระหว่างการเจริญของเส้นใย และในระยะออกดอก โดยจะใช้ในรูปของน้ำตาล ฟางข้าวเมื่อนำมาแช่น้ำทำให้เกิดการหมักแบบ aerobic เกิดการเจริญของจุลินทรีย์มากมาย มาย่อยสลายฟางข้าว จุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการย่อยมากที่สุดคือ รา และแบคทีเรีย

ในการศึกษาครั้งนี้จะเน้นศึกษาทางด้านเชื้อรา ที่อาศัยอยู่ในฟางข้าว ที่จะนำเอามาเพาะเห็ด โดยจะศึกษาเชื้อราที่อาศัยอยู่ในฟางแห้ง จากการศึกษาที่ผ่านมามีรายงานทางการศึกษาด้านนี้น้อยมาก เกี่ยวกับราที่มีผลต่อการส่งเสริมหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดฟาง จึงทำให้เกิดการศึกษาในครั้งนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์ในการทดลอง

1. รวบรวมเชื้อราที่เจริญอยู่ในฟางข้าวที่นำมาเป็นวัสดุเพาะเห็ด
2. จัดหมวดหมู่ และจำแนกชนิด ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราที่แยกได้
3. ทดสอบความสัมพันธ์ ระหว่างเชื้อราที่พบในฟางข้าว ที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อเห็ดฟาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจเอกสาร

เห็ดฟาง [Straw mushroom : *Volvariella volvacea* (Bul.ex Fr.)Sing] จัดเป็นราชนิดหนึ่งสามารถจัดลำดับชั้นได้ดังนี้ Class Basidiomycetes , Subclass Holobasidiomycetidae , Order Agaricales , Family Volvaceae (Alexopoulos,1979) เห็ดเป็นราชนิดหนึ่งซึ่งไม่มีคลอโรฟิลล์ จึงไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้ ดังนั้นต้องอาศัยอาหารจาก สารอนินทรีย์ และสารอินทรีย์จากดิน, ปุ๋ยหมัก, อินทรีย์วัตถุ เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต การเตรียมวัสดุเพาะเห็ดจึงต้องคำนึงถึงสารอาหารในวัสดุเพาะให้มีสารอาหารครบสำหรับการเจริญเติบโต วัสดุหลักสำหรับการเพาะเห็ดฟางได้แก่ ฟางข้าวต่าง ๆ หรือ ชานอ้อยก็ได้ ส่วนใหญ่วัสดุเหล่านี้จะเป็นแหล่งของ cellulose, hemicellulose, lignin ซึ่งเห็ดจะใช้ระหว่างการเจริญของเส้นใย และในระยะออกดอกของเห็ดโดยจะใช้ในรูปของน้ำตาลซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรทโมเลกุลขนาดเล็ก ฟางข้าวเมื่อนำมาแช่น้ำจะทำให้เกิดความชื้นจึงเกิดการหมักแบบ aerobic ซึ่งจุลินทรีย์จะเจริญมากขึ้นเกิดการย่อยสลายฟางข้าว หรือ ชานอ้อย ทำให้วัสดุเหล่านี้อ่อนนิ่ม จุลินทรีย์ที่มีบทบาทมากที่สุดในการหมักปุ๋ยคือ รา และ แบคทีเรีย เมื่อเกิดการหมักแล้ว จะทำให้อุณหภูมิภายในกองสูงประมาณ 50-70 องศาเซลเซียส ดังนั้นราที่พบมากในกองปุ๋ยจึงเป็นพวก thermophilic fungi ซึ่งสามารถที่จะย่อย cellulose, hemicellulose, lignin ได้เช่น *Humicola* spp., *Cladosporium* spp., *Aureobasidium pullulans* และ *Alternalia* spp. เชื้อเหล่านี้สามารถพบใน 2 วันแรกของการหมักปุ๋ย เมื่ออุณหภูมิภายในกองปุ๋ยสูงประมาณ 45 องศาเซลเซียส จะพบพวก *Mucor* spp., *Absidia ramosa* และ *Aspergillus* sp. จะพบมากขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นเป็น 50 องศาเซลเซียส จะมีราซึ่งมีประสิทธิภาพในการย่อยสลาย cellulose ดี เจริญมากมายเช่น *Humicola* spp., *Chaetomium* sp. และ *Talaromyces* sp. ส่วนแบคทีเรียที่พบเสมอในกองปุ๋ยหมักตัวอย่างเช่น *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas* spp., *Serratia* spp., *Cellulomonas* spp. เป็นต้น ซึ่งเป็นพวกที่มี cellulolytic enzyme สูงย่อยสลาย cellulose ได้ดีนอกจากราและแบคทีเรียที่จะมีบทบาทในกองปุ๋ยหมักแล้ว ยังสามารถพบจุลินทรีย์อีกตัวคือ actinomycetes ซึ่งจะพบในสภาพอุณหภูมิสูงมีความสามารถในการย่อยสลายต่ำกว่าราการเจริญเติบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โตจะช้ากว่าจึงมักพบในช่วงหลังของการหมักปุ๋ย เนื่องจาก actinomycetes มีขนาดเล็กและมีเส้นใยที่มีขนาดเล็กกว่าเชื้อรา จึงสามารถที่จะเจริญเข้าไปในวัสดุที่นำมาหมักจำพวกขี้เลื่อย หรือกระดาษได้ดีและที่สำคัญคือสามารถสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiotic)เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อื่นได้หลังจากนึ่งฆ่าเชื้อปุ๋ยหมักแล้ว (ธีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์, 2529) จุลินทรีย์ที่พบปนเปื้อนในกองปุ๋ยหมักอาจแยกได้เป็น 2 ประเภทคือ (1) พวกที่เป็นจุลินทรีย์ต่อต้าน หรือเชื้อโรค(antagonism or pathogen) (2) เป็นพวกที่แข่งขันแย่งอาหาร จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนเชื้อเห็ดฟางจะทำให้เส้นใยเจริญไม่เต็มที่ เนื่องจากราบางชนิด จะสร้างสารพิษออกมามีผลยับยั้ง หรือทำลายการเจริญของเส้นใยเห็ด จุลินทรีย์ที่มักพบเสมอและเป็นพวกที่มักพบว่า ก่อปัญหาในการผลิตเชื้อเห็ดฟางมากที่สุดได้แก่ *Penicillium, Aspergillus, Rhizopus* เป็นต้น (ศักรินทร์, 2529)

วรลักษณ์ และคณะ (2526) พบว่าการปนเปื้อนของเชื้อราในเชื้อเห็ดฟางได้แก่ *Penicillium* sp. และ *Neurospora* sp. เชื้อราต่อไปนี้เป็นเชื้อราที่พบปนเปื้อนในปุ๋ยหมักเพาะเห็ด *Agaricus* ในต่างประเทศเช่น *Aspergillus, Trichoderma, Gliocladium, Sporotrichum, Chaetomium, Monilia, Rhizopus, Coprinus , Fusarium, Cladosporium* และ *Geotrichum* เป็นต้น (Zaayen, 1982; De-Geijn, 1982; Betterley, 1983)

ประไพศรี และคณะ (2527)ได้ศึกษาถึงเชื้อราชนิดต่าง ๆ ที่ทำความเสียหายให้แก่การเพาะเห็ดเศรษฐกิจในถุงพลาสติก หรือในก้อนเชื้อเห็ดซึ่งใช้ขี้เลื่อยเป็นวัสดุเพาะสำคัญรวม 5 ชนิดคือ เห็ดหูหนู, เห็ดเป๋าฮื้อ, เห็ดนางนวล, เห็ดนางฟ้า, เห็ดนางรม ผลการแยกเชื้อบริสุทธิ์จำแนกชนิดของเชื้อราปนเปื้อนมีดังนี้คือ *Aspergillus flavus, A. fumigatus, A. niger, Neurospora* sp., *Botryodiplodia* sp., *Penicillium* spp., *Trichoderma aureuviridae, Trichoderma* spp., *Gliocladium* sp. และ *Physarella oblonga* เชื้อราเหล่านี้ทำให้เส้นใยหยุดการเจริญหรือชงักการเจริญเติบโต บางกรณีทำให้ดอกเห็ดฝ่อ หรือ ออกดอกน้อยกว่าปกติ

Chang-Ho (1982) ได้รายงานถึงปัจจัยที่เกี่ยวข้องซึ่งได้แก่ อุณหภูมิ และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ธาตุอาหาร ซึ่งพบว่า เมื่อฟางข้าวมีความชื้น พวก Mesophilic-Zygomycetes และ Deuteromycetes จะเจริญได้น้อย

Chang (1978) รายงานว่า การเพาะเห็ดในเกาะฮ่องกง ประสบปัญหาโรคเห็ดที่เกิดจากเชื้อรา เชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคคือ *Mycogone perniciosa, Scopulariopsis fimicola* ซึ่งมีลักษณะเป็นผงสีขาว (white plaster mold or flour mold), *Verticillium agaricicotum* การศึกษาเชื้อราในปุ๋ยหมักขี้ฝ้ายพบเชื้อราหลายชนิดคือ *Thielavia terricola, Trichoderma* sp.,*Aspergillus* spp. , *Pythium* spp. และ *Rhizoctonia* spp. เป็นต้น Yee และ Chang-Ho (1980) รายงานว่า *Aspergillus* sp.ปรากฏพบบ่อยหลังจากกองวัสดุเพาะเห็ดแล้ว 3-4 วัน และยังมีแนวโน้มว่าจะพบตลอดการเพาะเห็ด แต่ *Coprinus* spp. มีแนวโน้มว่าจะพบหลังจากที่ให้ความร้อนแก่วัสดุเพาะแล้วประมาณ 10-14 วัน ด้วยเหตุนี้จึงทำให้ Chang (1982) ได้ทำการศึกษาแยกรา *Coprinus* จากกองเพาะเห็ด ได้ดังนี้คือ *Coprinus* sect. *Vestii* ซึ่งปรากฏที่ชั้นแรกของกองเพาะเห็ด ติดตามด้วย *C.* cinereus บทบาทของเชื้อราเหล่านี้จะสัมพันธ์กับการลดกิจกรรม และสร้างดอกเห็ดของเห็ดฟาง

Sukara และคณะ (1985) รายงานว่า เชื้อราที่เกิดปนเปื้อนเชื้อเห็ดฟางระหว่างเพาะเห็ดส่วนใหญ่แล้วจะเป็น species ของ *Coprinus* ส่วนเชื้อราอื่นที่พบบริเวณกองเพาะเห็ด เช่น *Corticium* sp., *Dactylium dendroides, Diechliomyces microsporus, Fusarium* spp. และ *Sclerotium* sp.

Lim (1981) ได้แยกเชื้อราจากฟางข้าวที่จะนำเอาไปทำวัสดุเพาะเห็ดฟางเปรียบเทียบกับเชื้อราที่แยกจากฟางข้าวสาลีที่จะนำเอาไปทำวัสดุเพาะเห็ด *Agaricus bisporus* ซึ่งราที่แยกได้คือ *Humicola insolens, H. grisea, Penicillium, H. lanuginosa* และ *Aspergillus fumigatus* ซึ่งจะพบที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสส่วน *Trichoderma, Penicillium, Aspergillus* และ *Coprinus* เป็นเชื้อราที่พบมากที่สุดที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ตลอดช่วงของการทำปุ๋ยหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Betterley (1983) ศึกษาพบเชื้อราเจริญในปุ๋ยหมักเพาะเห็ด *Agaricus brunnescens* ในประเทศสหรัฐอเมริกา เชื้อราที่เจริญในปุ๋ยหมักเพาะเห็ดจะใช้ธาตุอาหารที่มีอยู่ในปุ๋ยหมักร่วมกับเชื้อเห็ด เชื้อราที่พบเจริญได้แก่ *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp., *Rhizopus* spp., *Monilia* spp., *Penicillium* spp. และ *Trichoderma* spp. พบได้มากในปุ๋ยหมักที่มีคาร์โบไฮเดรตมาก ส่วนเชื้อราพวก *Chaetomium* spp., *Coprinus* spp. และ *Sporotrichum* spp. พบได้มากในปุ๋ยหมักที่มีแอมโมเนียเหลืออยู่ในปุ๋ยหมักมาก หรือปุ๋ยหมักที่มีสภาพเป็นด่าง มีความชื้นมากจะส่งเสริมการเจริญของเชื้อราเหล่านี้ *Geotrichum* sp. พบมากในปุ๋ยหมักที่ใส่ไนโตรเจนมากเกินไปขณะที่ทำการหมักปุ๋ย และมีความชื้นน้อยเกินไป

Fergus (1982) ได้ศึกษาความสามารถในการทนความร้อนของราพวก mesophiles บางชนิดที่แยกได้จากปุ๋ยหมักในการเพาะเห็ด *Agaricus brunnescens* พบเชื้อราพวก mesophiles จำนวนมากในปุ๋ยหมักช่วงมีการเพาะเห็ดอยู่จึงมีปัญหาว่าเชื้อราเหล่านี้มีชีวิตอยู่รอดจากการฆ่าเชื้อออบไอน้ำในช่วงสุดท้ายของการทำปุ๋ยหมัก หรือมีการปนเปื้อนเข้ามาในปุ๋ยหมักหลังการฆ่าเชื้อแล้ว จากการศึกษาพบว่าเชื้อราทั้งหมดจะสร้างแต่ asexual spore มากมายในปุ๋ยหมักยกเว้น *Epicoccum purpurascens* สร้างเฉพาะเส้นใย, *Anixiella reticulata* สร้าง perithica และ ascospore, *Papulaspora byssica* และ *Papulaspora* spp. สร้าง bulbils, *Thielavia sepedonium* สร้างทั้ง conidia และascospore หลังจากผ่านระยะที่สองและพาสเจอร์ไรซ์ เชื้อราที่ยังคงมีชีวิตอยู่รอดคือ *Anixiella reticulata*, *Paecilomyces varioti* และ *Thielavia sepedonium* จากการทดลองแสดงว่า จะมีราน้อยมากที่พบในช่วงที่เห็ดเจริญ แต่ที่พบเชื้อราจำนวนมากเนื่องจากมีการปนเปื้อนเข้ามาหลังจากการฆ่าเชื้อปุ๋ยหมักแล้วเชื้อราจะไม่เจริญเป็นโคโลนีให้เห็นเนื่องจากเส้นใยของเห็ดจะสร้างสารปฏิชีวนะออกมายับยั้งการเจริญของเชื้อรา หรืออาจเกิดจากสภาพแวดล้อมและอาหารที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา *Paecilomyces* และ *Thielavia sepedonium* ที่มีชีวิตอยู่รอดหลังผ่านระยะที่สองและพาสเจอร์ไรซ์ จะสามารถเจริญได้ร่วมกับเชื้อเห็ด และจากขบวนการหายใจของเชื้อรานี้ ทำให้อุณหภูมิของวัสดุเพาะสูงถึง 45 องศาเซลเซียส ซึ่งจะสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเห็ด อันเป็นสาเหตุทำให้ผลผลิตเห็ดลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kitamoto และคณะ (1984) รายงานว่า *Trichoderma harzianum* ที่แยกได้จากไม้ใช้เพาะเห็ด shiitake (*Lentinus edodes*) สามารถสร้าง enzyme B-1,3 gluconase และ chitinase ซึ่งสามารถย่อยสลายผนังเซลของเชื้อเห็ดได้

การศึกษากองปุ๋ยหมักโดยใช้ฟางข้าวสาลีและตอซังของถั่วในประเทศอียิปต์โดย Mouvasher และคณะ (1984) พบว่าเชื้อราที่เจริญในอุณหภูมิสูงในกองปุ๋ยหมักจะมีความสามารถย่อยสลายฟางข้าวสาลีและตอซังถั่ว โดยการตรวจสอบในกองปุ๋ยหมักในกองปุ๋ยหมักสองกองซึ่งหมักระหว่าง 4-9 วัน และ 1-8 วัน ทำการแยกเชื้อที่อุณหภูมิ 58-67 องศาเซลเซียส และ 58-70 องศาเซลเซียส พบเชื้อราดังนี้ *Penicillium dupontii, Myriococcum albomyces, Thermomyces lanuginosus, Sporotrichum thermophile*

De-Geijn (1982) ศึกษาถึงเชื้อราที่เป็นสาเหตุทำให้เห็ดเป็นโรคพบว่าในการเพาะเห็ดเป็นการค้าใน ประเทศเนเธอร์แลนด์ มีเชื้อราอยู่หลายชนิดที่ก่อให้เกิดการเสียหายต่อการเพาะเห็ด เนื่องจากเห็ดเป็นราชนิดหนึ่ง ดังนั้นจึงเป็นการยากในการควบคุมโรคที่เกิดจากราที่เกิดโดยใช้ยาฆ่าเชื้อรา การป้องกันที่ดีที่สุดคือ การรักษาความสะอาดเพื่อลดจำนวนเชื้อราลงป้องกันการติดเชื้อ หรือลดจำนวนเชื้อราในโรงเพาะเห็ดลง โดยการใช้ยาฆ่าเชื้อราก่อนการเพาะเห็ด

จุลินทรีย์ที่พบเจริญอยู่ในกองเพาะเห็ดฟาง เชื้อเหล่านี้อาจจะเจริญแข่งขันกับการเจริญของเส้นใยเห็ด โดยอาจจะแข่งขันในการแย่งอาหาร หรือจุลินทรีย์เหล่านี้อาจจะช่วยส่งเสริมการเจริญของเห็ด โดยเฉพาะบทบาทของ enzyme และการผลิตวิตามินของจุลินทรีย์เหล่านี้ ด้วยเหตุนี้จึงทำให้เกิดการศึกษาถึงบทบาทของจุลินทรีย์เหล่านี้โดยเฉพาะเชื้อราที่มีผลกระทบต่อการเจริญของเห็ดฟางในกองเพาะเห็ดฟาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์ และวิธีการ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารที่ใช้สำหรับแยกราออกจากฟางข้าว ใช้อาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) ผสมกับ Rose Bengal 30 มิลลิกรัม และ Streptomycin 0.2 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 ลิตร โดยเติม rose bengal นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที เมื่ออาหารเย็นลงจนมีอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จึงเติม streptomycin เพื่อยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

2. การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างฟางข้าวจากกองฟางข้าวที่ บริเวณตึกเห็ด คณะเทคโนโลยีการเกษตร สจล. โดยตัวอย่างฟางข้าวที่เก็บเป็นฟางข้าวที่จะนำมาใช้เป็นวัสดุเพาะเห็ดฟางโดยเฉพาะ

3. การแยกเชื้อราโดยวิธี Dilution Plate Technique

นำฟางข้าวมาแยกเชื้อราโดยใช้ฟางข้าวแห้ง และฟางข้าวที่ผ่านการหมักแช่น้ำนาน 24 ชั่วโมง โดยนำฟางที่ตัดเป็นท่อนชิ้นเล็กขนาด 0.5 เซนติเมตร ต่อมาใช้ปากคีบที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วคีบเอาชิ้นฟางที่ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ใส่ลงในขวดน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วโดยใช้ฟาง 10 กรัม ใส่ในขวดน้ำกลั่นที่มีน้ำกลั่นบรรจุ 100 มิลลิลิตร เขย่าขวดแล้วทิ้งไว้ 2-3 นาที จึงทำการเจือจางโดยใช้วิธี dilution plate technique ให้ได้เชื้อในปริมาณที่เหมาะสม (10^{-3}-10^{-5}) ก็ดูดเอาน้ำกลั่นจากขวดที่ทำการเจือจางให้เหมาะสมแล้วใส่ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อจานละ 1 มิลลิลิตร แล้วเอาอาหาร PDA ที่เตรียมเอาไว้เทใส่จานละ 25 มิลลิลิตร เขย่าจานอาหารเลี้ยงเชื้อก่อนอาหารแข็งตัวนำเอาจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-3 วัน ทำการทดลองตัวอย่างละ 4 ซ้ำ ตรวจและแยกราให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ เก็บรักษาไว้ในขวดเก็บตัวอย่างรา และเก็บไว้ในหลอดอาหารเอียง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของ PDA เพื่อเอาไว้ศึกษาต่อไป ในการบันทึกแต่ละตัวอย่างฟางข้าวว่ามีราอยู่กี่ชนิด โดยดูจากลักษณะของเส้นใยและลักษณะสีของโคโลนีถ้าแตกต่างกันก็แยกราแต่ละชนิดไว้ในหลอดอาหารเอียงของ PDA โดยทำการตรวจนับเป็นเวลา 3-7 วันหลังจากที่บ่มเอาไว้ที่อุณหภูมิห้องแล้ว

4. การจัดจำแนกชนิดของเชื้อราที่แยกได้

เขี่ยเชื้อราบริสุทธิ์ออกจากหลอดอาหารเอียง นำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเจริญเติบโตของรา, วัดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (เซนติเมตร) ทำสไลด์ถาวร สังเกตและศึกษาลักษณะโครงสร้างต่าง ๆ ของเชื้อราและอื่น ๆ เพื่อจัดจำแนกหมวดหมู่ของเชื้อราจนถึง species ต่อไป ในการจัดจำแนกรากลุ่ม *Aspergillus* และ *Penicillium* นั้นนอกจากจะศึกษาลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยาแล้วยังศึกษาถึงสีและลักษณะการเจริญบนอาหาร Czapek's Dox solution agar มาช่วยประกอบในการศึกษาลักษณะต่าง ๆ ของเชื้อรา ปริมาณอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อราจะต้องใส่ในปริมาณที่เท่ากัน คือ 25 มิลลิลิตร เมื่อเลี้ยงราบนอาหารเป็นเวลา 7-10 วัน วัดขนาดของโคโลนี บันทึกลักษณะสี รอยแยกบนอาหาร จากนั้นเขี่ยเส้นใยของเชื้อรามาทำสไลด์แล้วนำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จดบันทึกลักษณะสำคัญต่าง ๆ ถ่ายภาพลักษณะต่าง ๆ ของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์

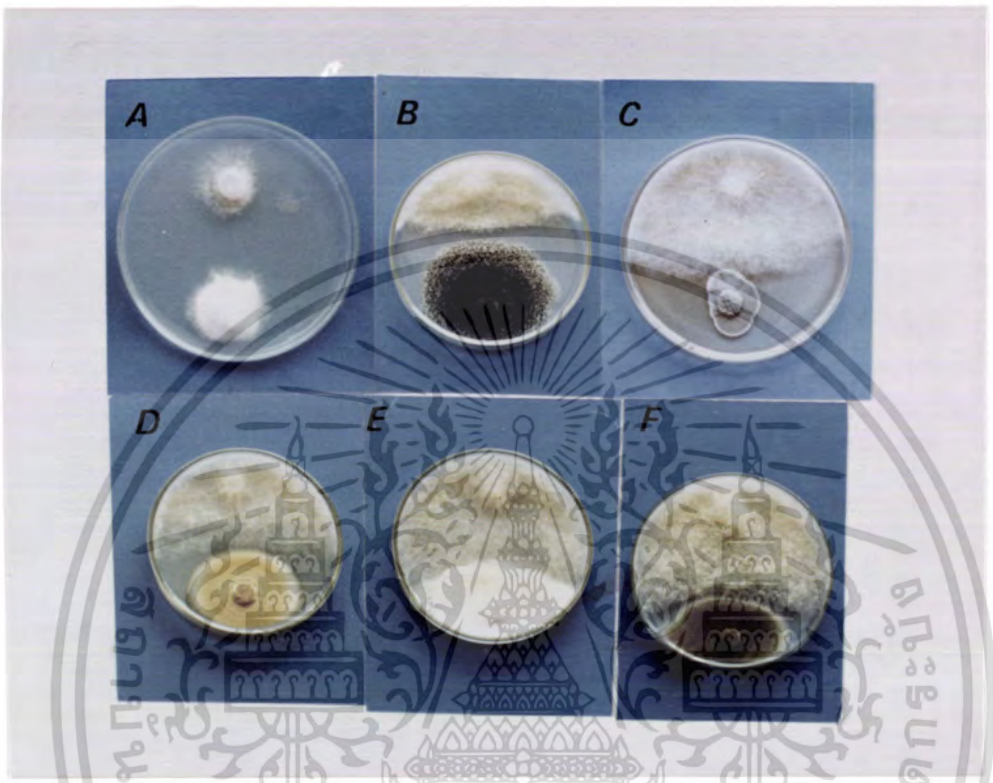
5. การเตรียมเชื้อเห็ดฟาง

นำเห็ดฟางมาเขี่ยเอาเนื้อเยื่อภายในดอกเห็ดไปเลี้ยงในอาหาร PDA ให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ เตรียมหัวเชื้อทำจากปุ๋ยหมัก ดังแสดงในภาพที่ 1 มีกรรมวิธีทำดังนี้ ใช้ขี้ม้าแห้งผสมกับกากเมล็ดฝ้าย ในอัตราส่วน 4:1 กลับกองปุ๋ยทุก 3 วัน ใช้เวลาหมัก 20-25 วัน เมื่อหมักได้ที่แล้ว ผสมไส้นุ่นลงไปทำการหมักต่ออีก 1 คืน หลังจากนั้นนำเอาปุ๋ยหมักมาบรรจุลงถุงพลาสติคทนร้อน แล้วนำเอาไปนึ่งฆ่าเชื้อ หลังจากปล่อยให้เย็น นำเอาเชื้อเห็ดฟางบริสุทธิ์ที่เลี้ยงในอาหาร PDA มาใส่ในถุงปุ๋ยหมักที่เตรียมเอาไว้ จากนั้นนำเอาไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7-10 วัน เมื่อเชื้อเห็ดเจริญลงไปข้างล่างของถุงที่บรรจุ เก็บ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 1 แสดงกองปุ๋ยหมักที่นำมาเตรียมหัวเชื้อเห็ดฟาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 แสดงวิธีการทดสอบ Dual agar culture ของเชื้อราชนิดต่าง ๆ กับเชื้อเห็ดฟาง (*volvariella volvacea*)

A.= *V. volvacea* against *Phytophthora* spp., B.= *V. volvacea* against *Aspergillus niger*, C.= *V.volvacea* against *Penicillium* spp. No.1, D.= *V. volvacea* against *A. terreus*, E.= *V. volvacea* against unidentified species No.1, F.= *V. volvacea* against *Penicillium* spp. isolate No.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รอการเพาะลงในกระบะทดลองต่อไป

6. การศึกษาผลของการเจริญของเชื้อราแต่ละชนิด ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดฟาง ในอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการ

เตรียมเชื้อราบริสุทธิ์ที่แยกได้จากฟางข้าว และเชื้อเห็ดฟางบริสุทธิ์ โดยเขี่ยเชื้อราจากหลอดอาหารเอียง PDA ไปเลี้ยงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ส่วนเชื้อเห็ดฟางทำเช่นเดียวกัน เมื่อเชื้อราและเชื้อเห็ดฟางอายุครบ 5 วัน ก็ใช้ cork borrer ตัดอาหาร PDA ที่มีเชื้อราเจริญอยู่ ส่วนเชื้อเห็ดฟางก็ทำเช่นเดียวกันย้ายชิ้นวุ้นอาหารเชื้อราลงบนจานอาหารในด้านตรงกันข้ามกับเชื้อเห็ดฟาง โดยวางชิ้นวุ้นของเชื้อราและเชื้อเห็ดฟางห่างกัน 4 เซนติเมตรในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ดังแสดงในภาพที่ 2 ทำการทดลอง 4 ซ้ำ สังเกตการเจริญของเชื้อราและเชื้อเห็ดฟางทุกวัน โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราและเชื้อเห็ดฟางทุกวัน บันทึกลักษณะการเจริญ เมื่อเส้นใยของเชื้อทั้งสองเจริญมาพบกัน ความสามารถของเชื้อราในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเห็ดฟาง ดังนี้ ++++ =เส้นใยของเชื้อราสามารถยับยั้งการเจริญหรือสามารถเจริญบนโคโลนีของเชื้อเห็ดฟางได้ดี, +++ =เส้นใยของเชื้อราสามารถยับยั้งการเจริญหรือสามารถเจริญบนโคโลนีของเชื้อเห็ดฟางได้ดีรองลงมา, ++ =เส้นใยของเชื้อราสามารถยับยั้งการเจริญหรือสามารถเจริญบนโคโลนีของเชื้อเห็ดฟางได้, + =เส้นใยของเชื้อราสามารถยับยั้งการเจริญหรือสามารถเจริญบนโคโลนีของเชื้อเห็ดฟางได้น้อย, - =เส้นใยของเชื้อราไม่สามารถยับยั้งการเจริญ หรือไม่สามารถเจริญบนโคโลนีของเชื้อเห็ดฟางได้เลย ทำการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) นำเอาค่าขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อเห็ดฟางมาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of variance)

7. การศึกษาความสามารถในการเจริญของเชื้อเห็ดฟาง ร่วมกับเชื้อราในกระบะทดสอบ

เตรียมฟางข้าวที่จะนำเอามาเป็นวัสดุเพาะเห็ดแช่น้ำไว้ 1 คืน จากนั้นนำเอามาบรรจุถุงพลาสติคทนร้อนเพื่อนำไปทำการฆ่าเชื้อที่อยู่ในฟางข้าวที่ความดัน 5-17 ปอนด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อตารางนิ้ว นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นนำเอาฟางฆ่าเชื้อมาบรรจุลงในกระบะทดสอบขนาด 8 นิ้ว x 12 นิ้ว x 5 นิ้ว ซึ่งเป็นตะกร้าพลาสติคใส่ฟางสูงประมาณ 3 นิ้วหลังจากใส่ฟางแล้วเอาหัวเชื้อเห็ดฟาง ที่เตรียมไว้ในปุ๋ยหมักใส่ลงตะกร้าโดยทำการโรยเชื้อเห็ดฟางให้ทั่ว ก่อนทำการโรยเชื้อเห็ดฟางให้คลุกเชื้อเห็ดฟางกับรำละเอียด เพื่อใช้เป็นอาหารเสริม แล้วทำการเขี่ยเชื้อราที่เตรียมเอาไว้ลงในน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว และเจือจางในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ดังนี้ 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} และ 10^{-4} ปลูกเชื้อที่เตรียมเอาไว้ลงบนเชื้อเห็ดฟางโดยการฉีดพ่น จากนั้นนำเอาเอาฟางข้าวมาคลุมไว้บาง ๆ ที่ผิวหน้าแล้วเอาพลาสติคคลุมทับอีกที เพื่อรักษาความชื้นทำการทดลองที่ระดับความเข้มข้นละ 4 ซ้ำ สำหรับตัวเปรียบเทียบไม่ต้องทำการปลูกเชื้อรา บันทึกผลการทดลองสังเกตการเจริญของเชื้อเห็ดฟาง และน้ำหนักผลผลิตที่ได้นำมา วิเคราะห์หาค่าความแปรปรวน และเปรียบเทียบ Treatment means โดยวิธี Least Significan Different Test (LSD)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

1. การแยกเชื้อราจากฟางข้าว และการจำแนกชนิดของเชื้อรา

ผลของการแยกเชื้อราจากฟางข้าว จากตัวอย่างฟางข้าวที่นำมาเป็นวัสดุเพาะเห็ดฟาง แยกเชื้อราจากฟางข้าวได้ 15 isolates เมื่อนำมาจำแนกชนิดตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาสามารถจัดจำแนกชนิดของเชื้อราได้ 11 isolates และ unidentified 2 isolates ดังแสดงในตารางที่ 1 เชื้อราที่แยกได้จากฟางข้าวได้แก่ *Aspergillus terreus* Thom., *A. niger* V. Tiegh., *A. flavus* Link., *Penicillium* spp., *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn., *Chaetomium* spp., *Humicola* spp., *Rhizoctonia* spp., *phytophthora* spp. และ unidentified species 2 isolates

ลักษณะของเชื้อราชนิดต่าง ๆ ที่แยกได้จากฟางข้าว

Aspergillus terreus Thom.

ลักษณะการเจริญบนอาหาร PDA โคโลนีเป็นสีเหลือง - น้ำตาล ส่วนโคโลนีที่เจริญบนอาหาร Czapek s Dox agar เป็นสีขาว-เหลืองและอาหารเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล บริเวณการเจริญของเชื้อ การเจริญเติบโตช้า อัตราการเจริญเติบโตบนอาหาร PDA โดยเฉลี่ย 0.45 เซนติเมตร ต่อวัน, ลักษณะของ vesicle ค่อนข้างกลมขนาด 14 ไมครอน conidial head มีรูปร่างลักษณะเป็น columellar, phialide มี 1 ชั้น, ขนาดของ phialophore 5 ไมครอน สีใส ยาว, ขนาดของ phialospores 1.95 ไมครอน มีสีใส และกลม (ภาพที่ 3)

Aspergillus niger V. Tiegh.

ลักษณะโคโลนีเมื่อเจริญบนอาหาร PDA เส้นใยจะฟูสีขาวปนกับสีน้ำตาล อัตราการเจริญเติบโต 0.91 เซนติเมตร ต่อวัน vesicle ค่อนข้างกลมขนาด 28.5 x 29.5 ไมครอน มีผนัง 2 ชั้น มี phialide 1 ชั้น ขนาด 5 x 2.8 ไมครอน phialospores กลม ผิวขรุขระเป็นหนาม สีน้ำตาล ขนาด 4.1 ไมครอน phialophore ยาว สีน้ำตาล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขนาด 6.75 ไมครอน (ภาพที่ 4)

Aspergillus flavus Link.

ลักษณะการเจริญเติบโตบนอาหาร PDA ค่อนข้างช้า โคโลนีสีเขียว เจริญเป็นชั้น ๆ ขอบโคโลนีสีขาว อัตราการเจริญเติบโต 0.56 เซนติเมตร ต่อวัน การเจริญใน Czapek's Dox agar เจริญช้าขนาดของโคโลนี 1.25 เซนติเมตร ที่อายุ 7 วัน มีลักษณะสีส้ม ปล่อยสารสีชมพูลงในอาหาร ลักษณะของ vesicle เป็นรูปไข่ขนาด 9.8 x 8.5 ไมครอน ลักษณะของ conidial head จะเห็น phialospores ต่อกันยาวเป็นลูกโซ่ phialides มี 2 ชั้น phialospores กลม ใส ผิวขรุขระ ขนาด 2.0 ไมครอน phialophore สีใส ขนาด 5.2 ไมครอน (ภาพที่ 5)

Chaetomium spp.

ลักษณะการเจริญบนอาหาร PDA โคโลนีเป็นสีขาว-เทาเจริญนูนขึ้นมาจากผิวหน้าของอาหาร บริเวณกลางโคโลนีมีหยดน้ำใส ไม่มีการปล่อยสารลงในอาหาร อัตราการเจริญเติบโต 0.6 เซนติเมตร ต่อวัน ลักษณะของ perithecia ค่อนข้างกลม,สีน้ำตาล ขนาด 86 ไมครอน ลักษณะ terminal hairs ผิวขรุขระ ขดเป็นเกลียว สีน้ำตาล มี septate ขนาด 3 ไมครอน lateral hairsเป็นเส้นตรง สีน้ำตาล มี septaetขนาด 2.8 ไมครอน ascospores แบบ lemon shaped สีน้ำตาลเข้ม มี 1 apical germ pore ขนาด 6.9 x 5.2 ไมครอน asci เป็นแบบ cylindical (ภาพที่ 6)

Curvularia lunata (Wakker) Boedijn.

ลักษณะการเจริญบนอาหาร PDA โคโลนีสีน้ำตาล - ดำ เจริญเป็นชั้น ๆมีเส้นใยฟูเล็กน้อย เส้นใยมี septate สีเข้ม อัตราการเจริญเติบโต 1.1 เซนติเมตร ต่อวัน conidia รูปร่างโค้ง สีน้ำตาลเข้ม มี septate ไม่อยู่ตรงกลาง จำนวน 3 septate conidiophore สีน้ำตาลเข้ม มี septate ตรงส่วนปลายสร้าง conidia ขนาดของ conidiophore 24.5 ไมครอน (ภาพที่ 7)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Humicola spp.

ลักษณะการเจริญบนอาหาร PDA โคโลนีสีเหลือง - น้ำตาล เส้นใยฟูเล็กน้อย เจริญเติบโตเร็ว อัตราการเจริญเติบโต 1.7 เซนติเมตร ต่อวัน conidiophore สั้น สีเข้มมีผนังกั้น (septate) เจริญแตกมาจากเส้นใย ผิวเรียบ ส่วนปลายสร้าง conidia เซลเดียว รูปร่างกลม สีเข้ม ขนาด 5.6 ไมครอน มีลักษณะเป็น aleuriospore นอกจากนี้ยังสร้าง phialospores ซึ่งให้กำเนิดจากส่วนปลายของ phialide ลักษณะของ phialospores เป็นเซลเดี่ยวเกิดต่อกันเป็นลูกโซ่ ขนาด 4.6 x 1.9 ไมครอน phialides สามารถแตกแขนงได้ สีเข้ม ขนาด 12.2 x 3.0 ไมครอน (ภาพที่ 8)

Penicillium spp. isolate No.1

ลักษณะโคโลนีเมื่อเจริญบนอาหาร PDA มีสีขาว - เทา มีเส้นใยสีขาวอยู่บนโคโลนี อาหารเกิดรอยย่น อัตราการเจริญเติบโต 0.41 เซนติเมตร ต่อวัน phialide มี 3 - 4 อัน ขนาด 11.2 x 3.1 ไมครอน phialospores กลม สีเขียวใส ผิวเรียบ เรียงต่อกันเป็นลูกโซ่ ขนาด 3.9 ไมครอน phialophore ยาว ขนาด 13 ไมครอน (ภาพที่ 9)

Penicillium spp. isolate No.2

ลักษณะการเจริญบนอาหาร PDA โคโลนีสีเขียวขี้ม้า ขอบโคโลนีสีขาวอัตราการเจริญเติบโต 0.68 เซนติเมตร ขอบโคโลนีหยัก ส่วนการเจริญบนอาหาร Czapek's Dox agar ตรงกลางโคโลนีเป็นสีเหลือง - เขียว ขอบโคโลนีสีขาว รูปร่างโคโลนีกลม ขนาด 3.5 เซนติเมตร ที่อายุ 7 วัน phialophore, metula และ phialide สีเข้ม ขนาดของ phialophore 8.2 ไมครอน phialides มี 3 - 4 อันขนาด 27 x 7.75 ไมครอน phialospores รูปร่างคล้ายไข่ ขนาด 12.25 x 6.4 ไมครอน ผิวเรียบ สีเข้ม (ภาพที่ 10)

Penicillium spp. isolate No.3

ลักษณะโคโลนีเมื่อเจริญบนอาหาร PDA มีสีเขียวปนน้ำตาล ขอบโคโลนีเป็นสีขาว-เทา อาหารไม่เกิดรอยย่น อัตราการเจริญเติบโต 0.80 เซนติเมตร ต่อวัน phia-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

lide มี 2-3 อัน ขนาด 9.7 x 1.2 ไมครอน phialospores กลม สีเขียว เรียงยาวต่อกันเป็นลูกโซ่ ขนาด 2.1 ไมครอน phialophore ยาว สีใส ขนาด 12 ไมครอน (ภาพที่ 11)

Phytophthora spp.

ลักษณะการเจริญบนอาหาร PDA โคโลนีสีขาว เส้นใยฟูสีขาว ละเอียด ไม่มี septate รูปร่างของ sporangium เป็นรูป lemon - shaped ขนาด 11.3 x 8.7 ไมครอน ผนัง 2 ชั้น อัตราการเจริญเติบโต 0.75 เซนติเมตรต่อวัน sporangium เกิดที่ส่วนปลาย sporangiophore ที่แตกออกมาจากเส้นใย (ภาพที่ 12)

Rhizoctonia spp.

ลักษณะการเจริญบนอาหาร PDA โคโลนีสีดำ มีเส้นใยฟูเล็กน้อย อัตราการเจริญเติบโต 1.1 เซนติเมตร ต่อวัน สร้าง sclerotia สีน้ำตาล - ดำ ขนาด 125 x 107 ไมครอน เส้นใยมีลักษณะแตกตั้งฉากกัน สีน้ำตาล - ดำ ขนาด 10.5 ไมครอน (ภาพที่ 13)

Unidentified species No. 1

ลักษณะการเจริญบนอาหาร PDA เป็นโคโลนีเส้นใยสีขาว เส้นใยบาง เจริญเรียบไปกับผิวหน้าของอาหาร ลักษณะคล้ายแป้ง เส้นใยไม่มีseptate สร้างsporangium รูป lemon - shapedขนาด 5.25 x 3.0 ไมครอน อัตราการเจริญเติบโต 1.23 เซนติเมตร ต่อวัน (ภาพที่ 14)

ป

Unidentified species No. 2

ลักษณะการเจริญบนอาหาร PDA โคโลนีเป็นสีชมพูอ่อน ๆ เส้นใยตรงกลางโคโลนีจะฟูเป็นเส้น ๆ conidiophore รวมตัวกันเป็น synnemata และสร้าง conidia ที่ส่วนปลายของ conidiophore ขนาดของ conidiophore 1.3 ไมครอน conidia รูปร่างเรียว สีเขียว ขนาด 5.25 x 2 ไมครอน (ภาพที่ 15)

9991C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 แสดงชนิดของเชื้อราที่แยกได้ และผลของการยับยั้งการเจริญของเชื้อเห็ดฟาง โดยเชื้อราชนิดต่าง ๆ ที่แยกได้จากฟางข้าวเมื่อนำมาเลี้ยงร่วมกันในจานอาหาร PDA โดยแสดงในรูปของเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อเห็ดฟาง

ชนิดของเชื้อรา	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีของเชื้อเห็ดฟาง (เซนติเมตร)				ค่าเฉลี่ย
	R_1	R_2	R_3	R_4	
Aspergillus terreus	4.14	4.68	4.40	4.66	4.47
A. flavus	4.62	5.00	5.10	4.94	4.91
A. niger	3.90	1.30	3.90	3.70	3.20
Chaetomium spp.	2.54	2.86	2.64	2.68	2.68
Curvularia lunata	4.63	4.70	4.93	4.66	4.73
Humicola spp.	4.30	4.62	4.50	5.50	4.73
Penicillium spp. No. 1	3.71	3.55	3.06	2.78	3.27
Penicillium spp. No. 2	3.65	3.65	4.00	3.50	3.67
Penicillium spp. No. 3	3.63	2.61	2.55	1.68	2.61
Phytophthora spp.	4.90	4.73	4.88	5.20	4.92
Rhizoctonia spp.	4.93	5.08	5.00	4.78	4.94
unidentified species No.1	4.25	4.13	3.95	4.00	4.08
unidentified species No.2	5.92	5.37	5.75	5.68	4.73

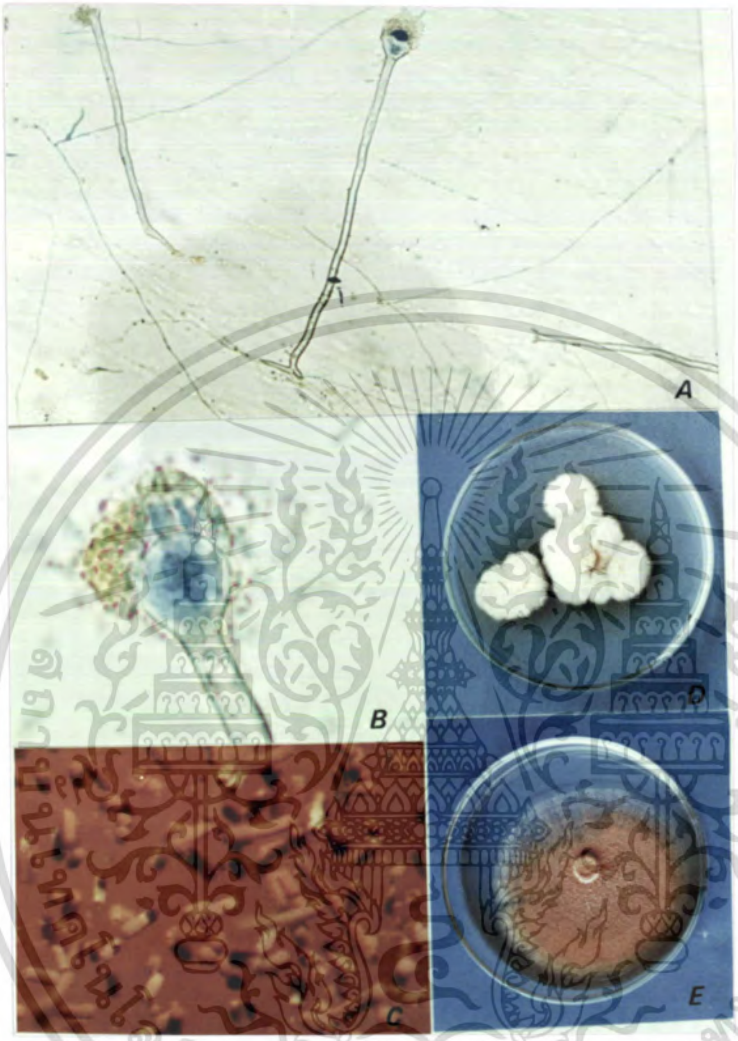
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 แสดงชนิดของเชื้อราที่แยกได้ และผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อเห็ดฟาง โดยเชื้อราชนิดต่าง ๆ เมื่อนำมาเลี้ยงร่วมกันในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

ชนิดของเชื้อรา	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อเห็ดฟาง (เซนติเมตร)	ความสามารถในการยับยั้งของเชื้อรา[1]
Aspergillus terreus	4.47	+ +
A. flavus	4.91	-
A. niger	3.20	+ + +
Chaetomium spp.	2.68	+ + +
Curvularia lunata	4.78	+
Humicola spp.	4.73	+ +
Penicillium spp. No. 1	3.27	+
Penicillium spp. No. 2	3.67	+ +
Penicillium spp. No. 3	2.61	+ + +
Phytophthora spp.	4.92	-
Rhizoctonia spp.	4.94	+
unidentified species No.1	4.08	+ +
unidentified species No.2	4.73	-

[1] + + + + = เส้นใยเชื้อราสามารถยับยั้งการเจริญ หรือสามารถเจริญบนโคโลนีของเชื้อเห็ดฟางได้ดี, + + + = เส้นใยเชื้อราสามารถยับยั้งการเจริญ หรือสามารถเจริญบนโคโลนีของเชื้อเห็ดฟางได้ดีรองลงมา, + + = เส้นใยเชื้อราสามารถยับยั้งการเจริญ หรือสามารถเจริญบนโคโลนีของเชื้อเห็ดฟางได้ดีรองลงมาตามลำดับ, + = เส้นใยเชื้อราสามารถยับยั้งการเจริญ หรือสามารถเจริญบนโคโลนีของเชื้อเห็ดฟางได้เล็กน้อย, - = เส้นใยเชื้อราไม่สามารถยับยั้งการเจริญหรือไม่สามารถเจริญบนโคโลนีของเชื้อเห็ดฟางได้เลย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 รา *Aspergillus terreus*

A. thallus (10x)

B. vesicle และ phialide (40x)

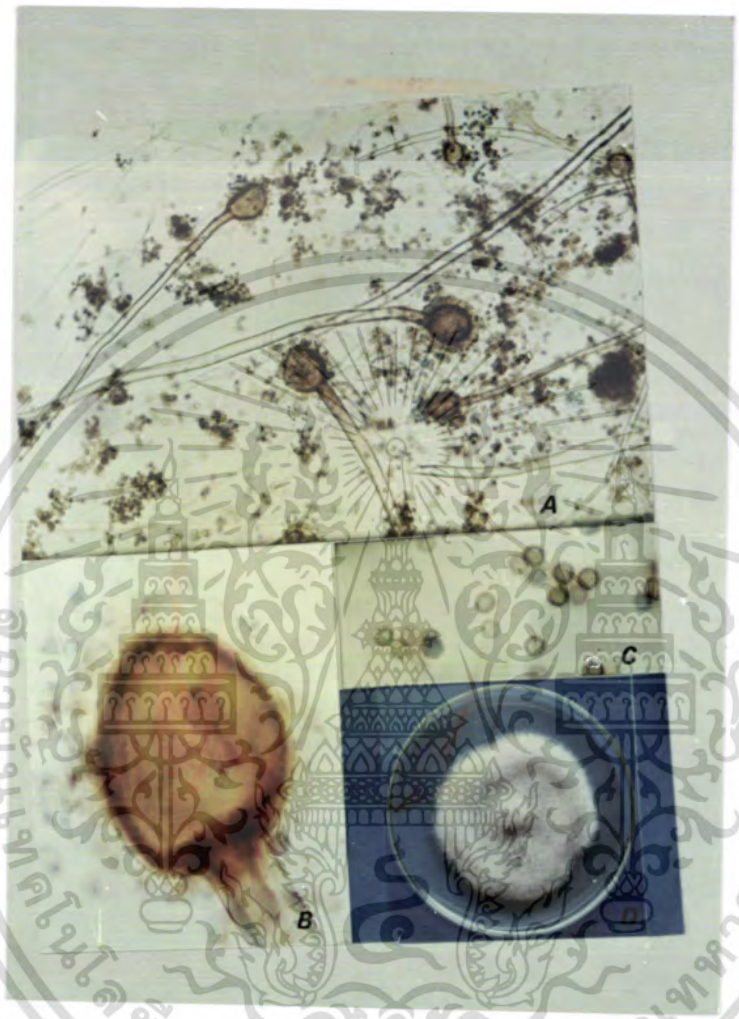
C. conidial head

D. โคโลนีเจริญบนอาหาร Czapek's agar ที่อายุ 7 วัน

E. โคโลนีเจริญบนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

13932



ภาพที่ 4 รา *Aspergillus niger*

A. ลักษณะ thallus (10x)

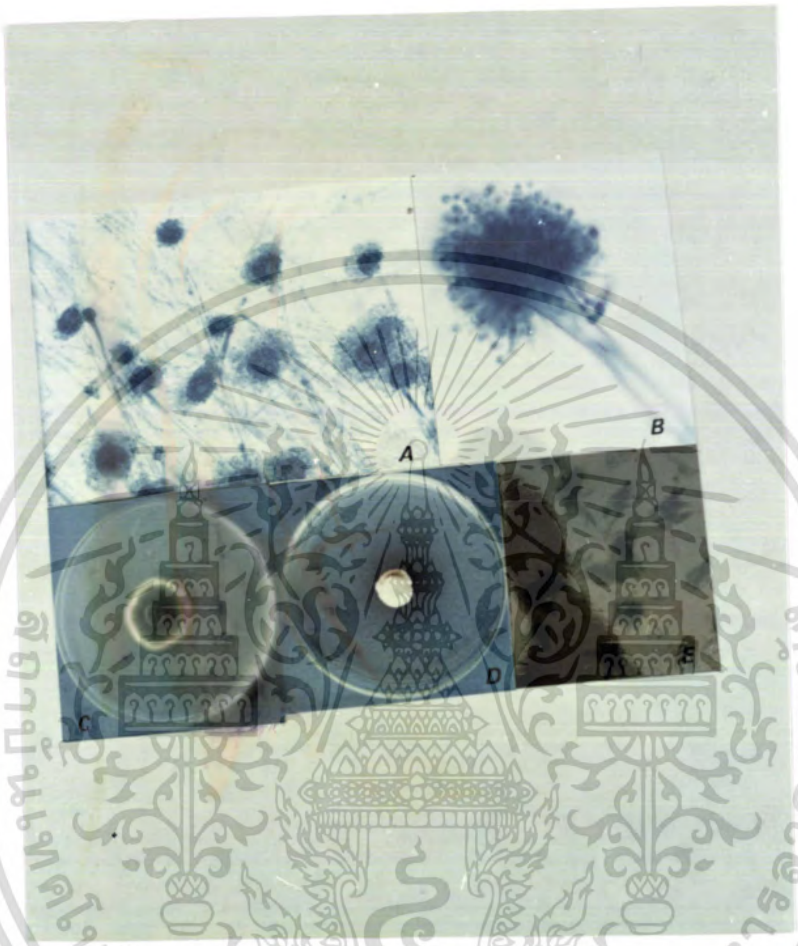
B. ลักษณะ vesicle และ phialide (40x)

C. phialospores (40x)

D. โคโลนีเจริญบนอาหาร PDA ที่อายุ 6 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง



ภาพที่ 5 รา *Aspergillus flavus*

A. thallus (10x)

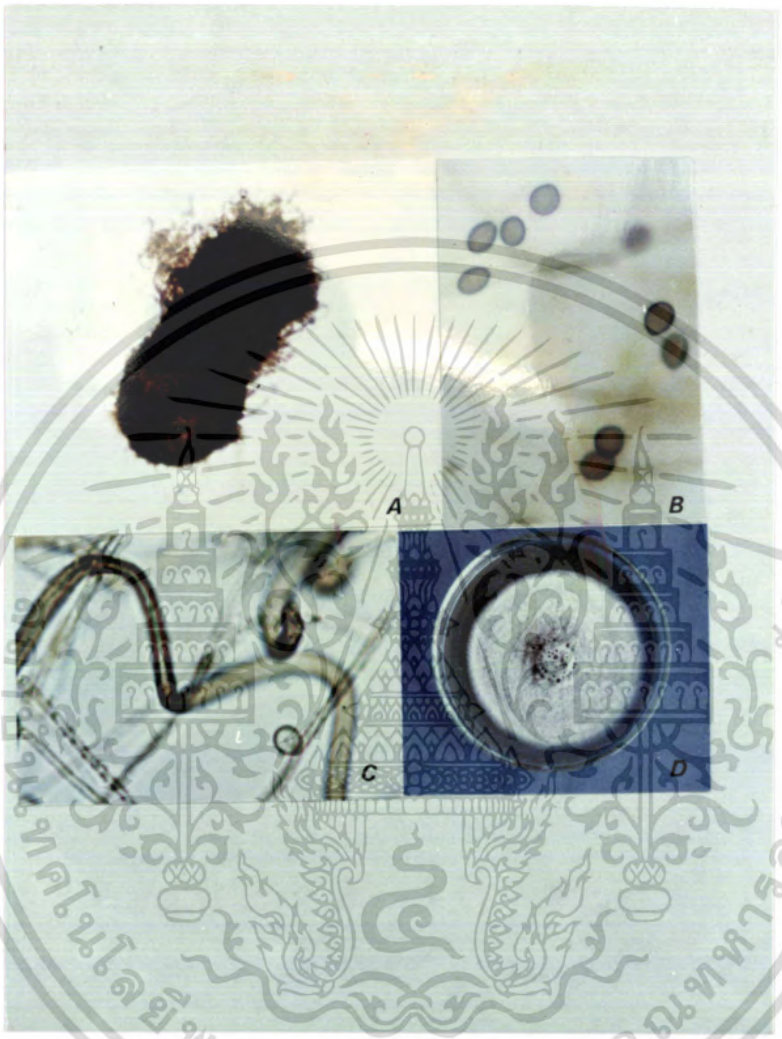
B. vesicle และ phialide (40x)

C. โคโลนีเจริญบนอาหาร PDA ที่อายุ 7 วัน

D. โคโลนีเจริญบนอาหาร Czapek's agar ที่อายุ 7 วัน

E. conidial head

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 6 รา *Chaetomium* spp.

A. perithecium (10x)

B. ascospores (40x)

C. terminal hairs (40x)

D. โคโลนีเจริญบนอาหาร PDA ที่อายุ 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

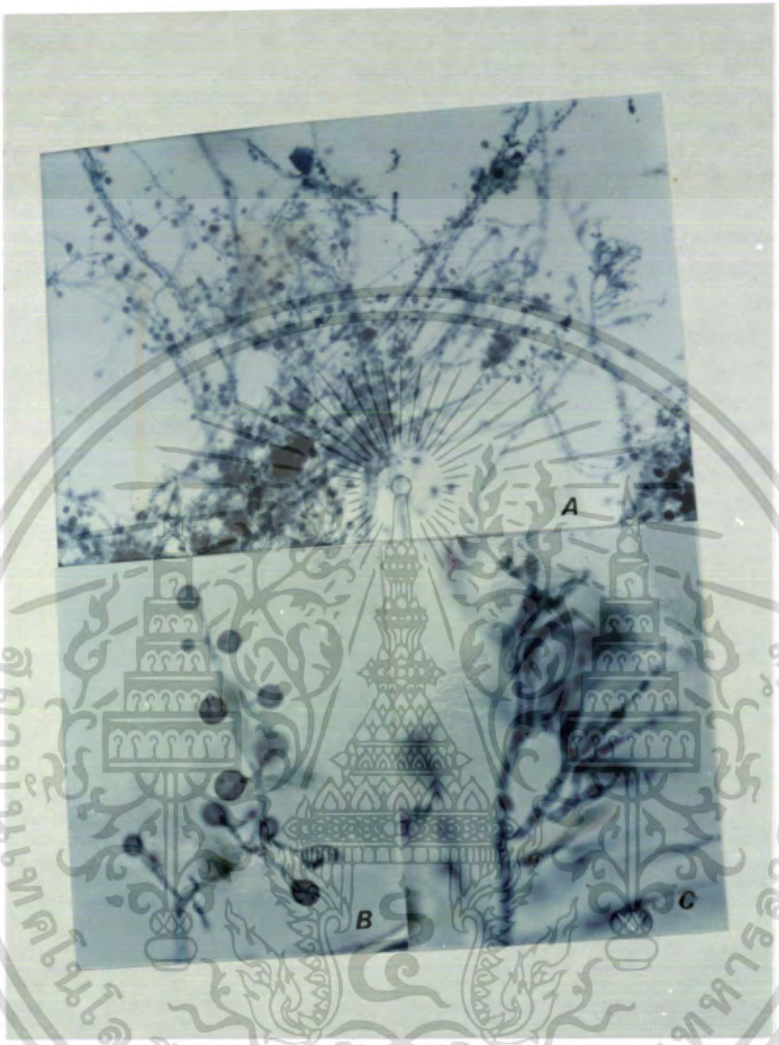
ภาพที่ 7 รา *Curvularia lunata*

A. conidia และ conidiophore (10x)

B. porospores (40x)

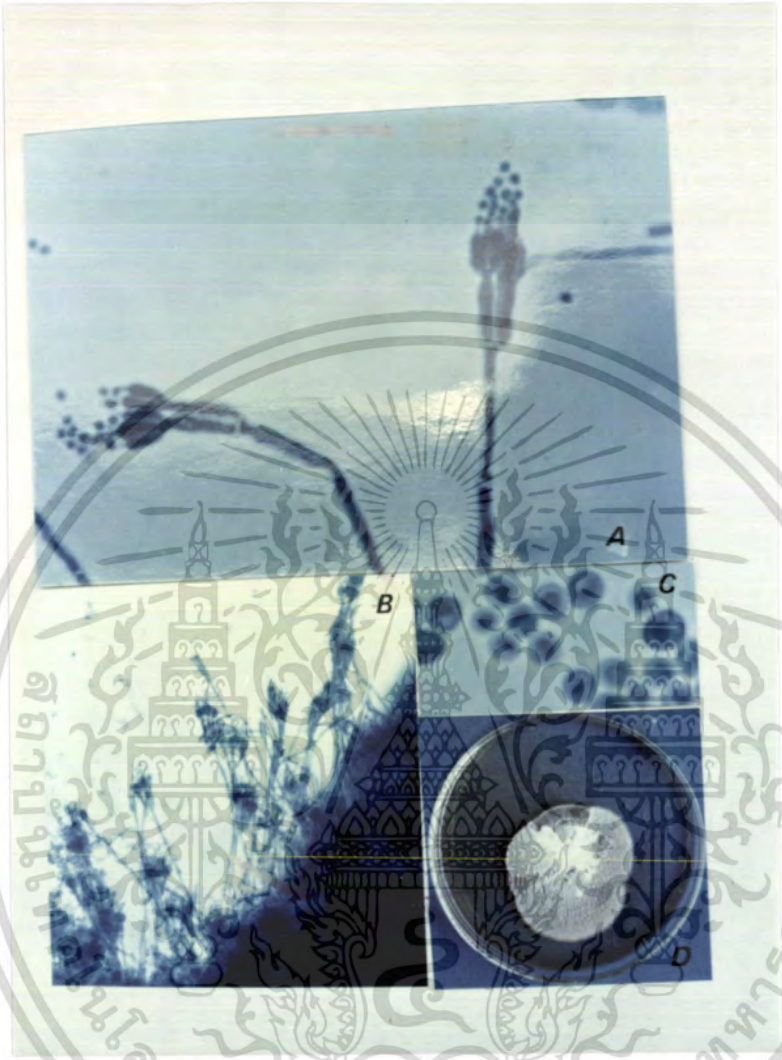
C. โคโลนีเจริญบนอาหาร PDA ที่อายุ 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 8 รา *Humicola* spp.
A. conidiophore, conidia, phialophore และ phialide (10x)
B. conidiophore และ conidia (40x)
C. phialospores, phialophore และ phialide (40x)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 9 รา *Penicillium* spp. isolate No.1

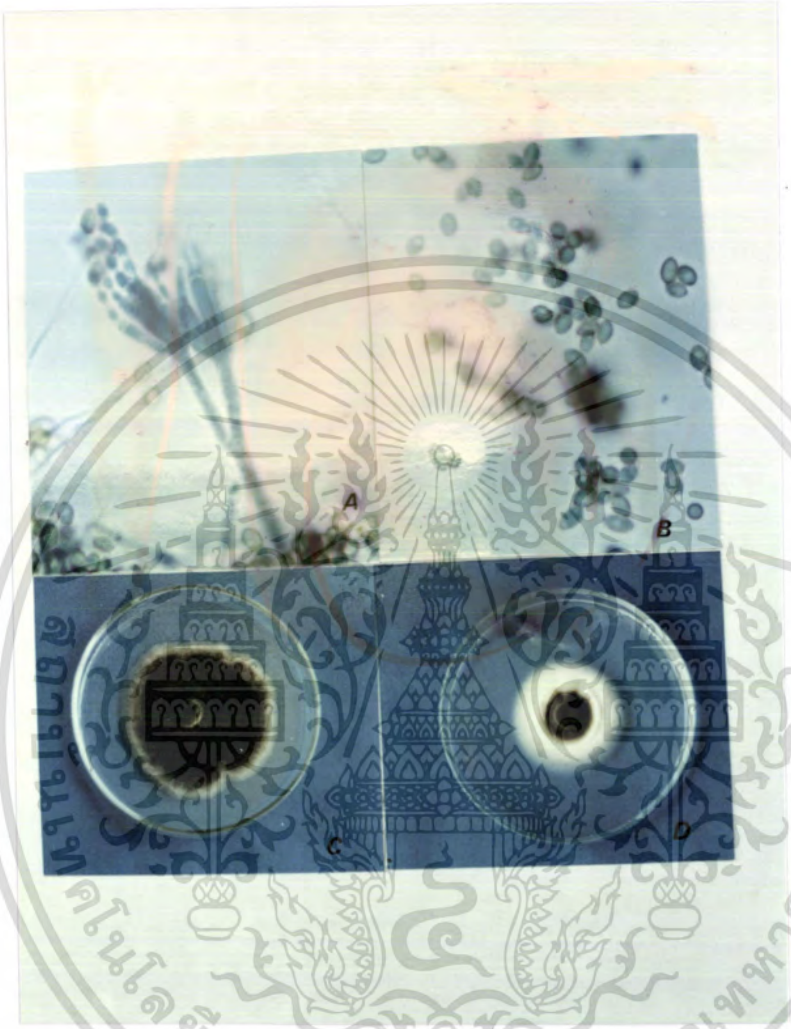
A. phialospores, phialides, phialophore และ metula (40x)

B. phialospore, phialides และ metula (10x)

C. phialospores (100x)

D. โคโลนีเจริญบนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 10 รา *Penicillium* spp. isolate No.2

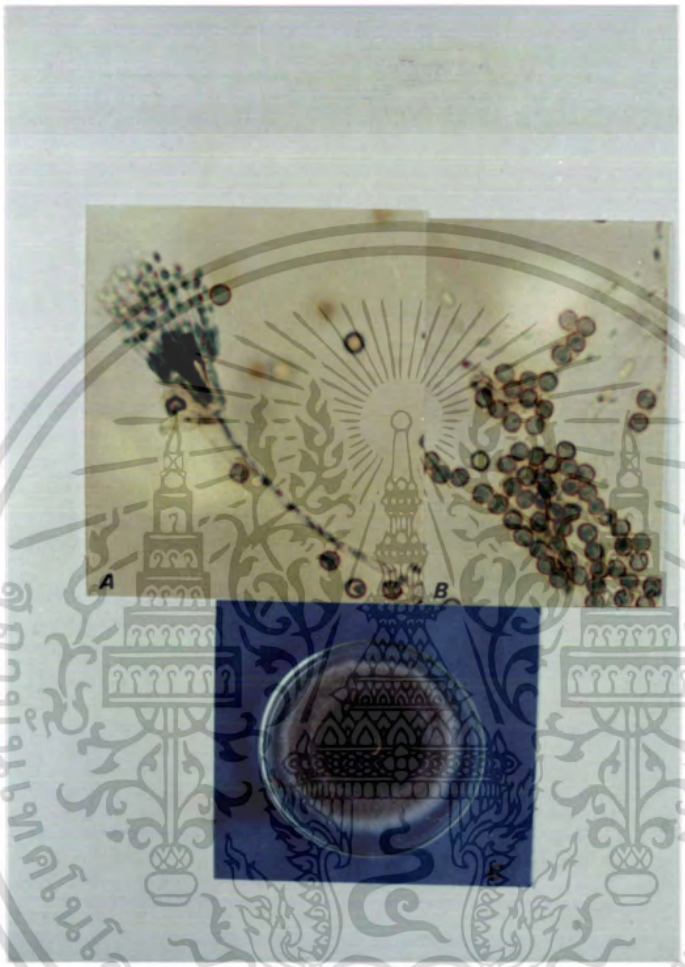
A. phialides, metula และ phialophore (40x)

B. phialospores (40x)

C. โคโลนีเจริญบนอาหาร PDA ที่อายุ 7 วัน

D. โคโลนีเจริญบนอาหาร Czapek's agar ที่อายุ 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



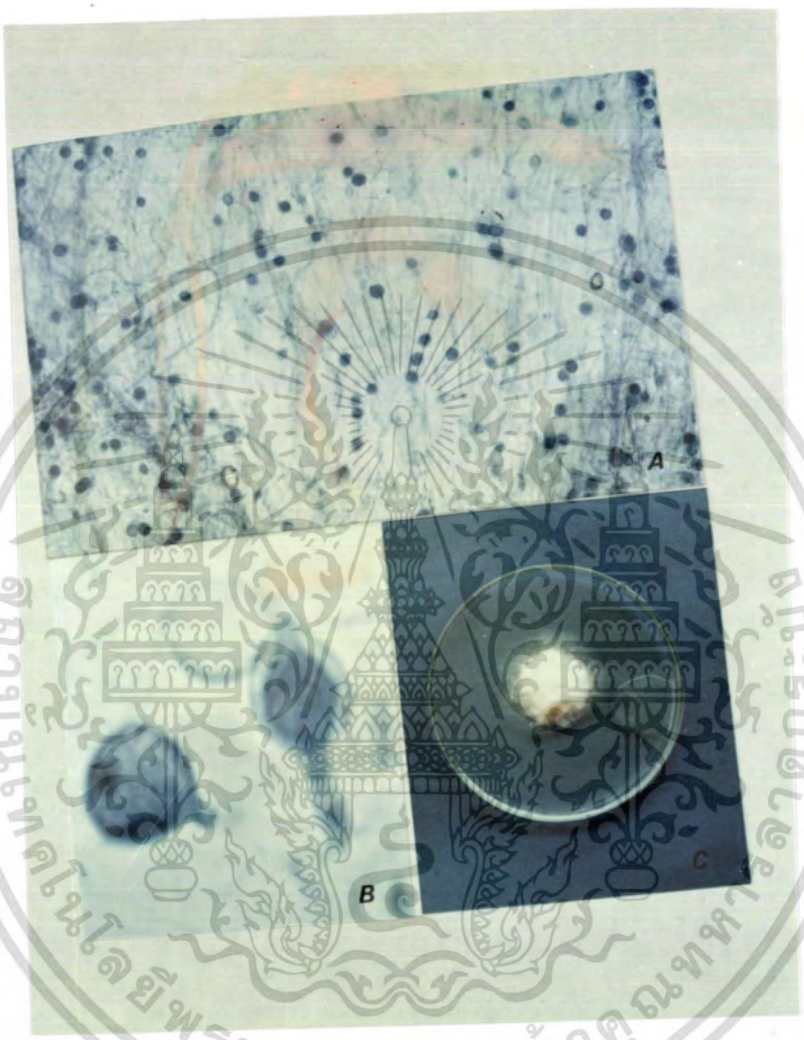
ภาพที่ 11 รา *Penicillium* spp. isolate No.3

A. phialides, metula และ phialophore (40x)

B. phialospores (40x)

C. โคโลนีเจริญบนอาหาร PDA ที่อายุ 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



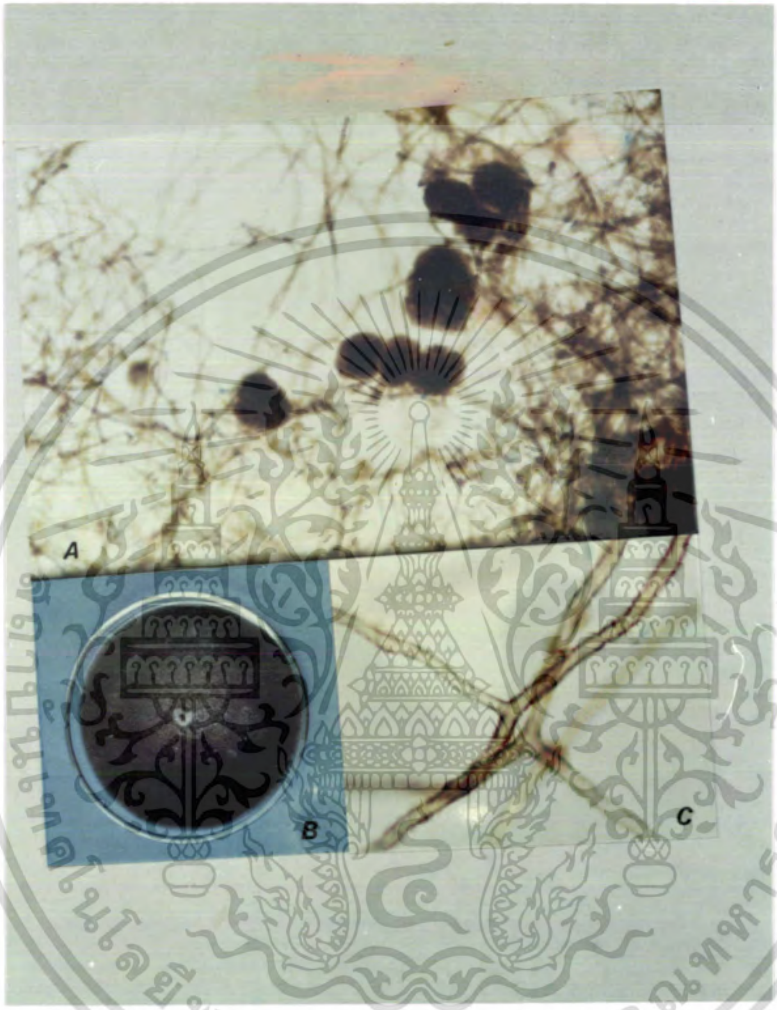
ภาพที่ 12 รา *Phytophthora* spp.

A. sporangiophore, sporangium (10x)

B. sporangium (100x)

C. โคโลนีเจริญบนอาหาร PDA ที่อายุ 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 13 รา *Rhizoctonia* spp.

A. sclerotia และ เส้นใย (10x)

B. โคโลนีเจริญบนอาหาร PDA ที่อายุ 7 วัน

C. ลักษณะเส้นใยที่ตั้งฉาก (40x)

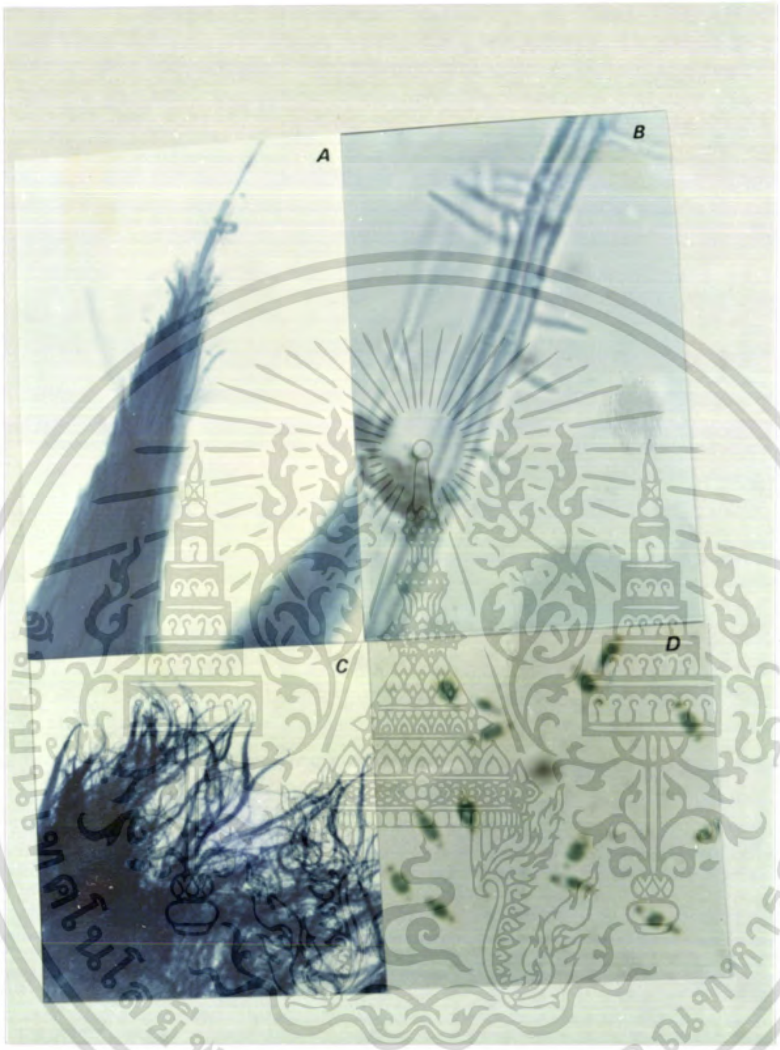
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 14 รา Unidentified specie No.1

A. sporangium (40x)

B. โคโลนีเจริญบนอาหาร PDA ที่อายุ 6 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 15 รา Unidentified specie No.2

A. synnemata (40x)

B. conidiophore (100x)

C. synnema (10x)

D. conidia (100x)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การศึกษาผลของการเจริญของเชื้อราแต่ละชนิด ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดฟาง ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ในห้องปฏิบัติการ

ผลของเชื้อราแต่ละชนิด ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดฟาง ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เมื่อนำเชื้อราแต่ละชนิด ที่แยกได้จากฟางข้าวมาเลี้ยงคู่กับเชื้อเห็ดฟางพบว่า *Apergillus niger, Chaetomium* spp. และ*Penicillium* spp. No.3 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อเห็ดฟางได้ดี แต่ไม่มีเชื้อราใดเจริญคลุมโคโลนีเชื้อเห็ดฟางได้ ในทางตรงกันข้ามเส้นใยของเชื้อเห็ดฟางสามารถเจริญคลุมโคโลนีของ *Chaetomium* spp. ได้ ส่วนราชนิดอื่นเส้นใยเห็ดฟางจะเจริญล้อมรอบโคโลนี เชื้อราที่มีความสามารถยับยั้งได้ดีรองลงมาได้แก่ *Aspergillus tereus, Humicola* spp., *Penicillium* spp. No.2 และ Unidentifid species No.1 ตามลำดับ เชื้อราที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญได้เพียงเล็กน้อย ได้แก่ *Curvularia lunata, Penicillium* spp. No.1 และ *Rhizoctonia* spp. เชื้อรากลุ่มนี้ไม่มีเชื้อราชนิดใดเจริญคลุมเชื้อเห็ดฟางได้เลย แต่เชื้อเห็ดฟางสามารถเจริญคลุมเชื้อราได้โดยเฉพาะเชื้อ *Curvulalia lunata* และ *Rhizoctonia* spp. ส่วนเชื้อราที่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อเห็ดฟางได้เลย ได้แก่ *Phytophthora* spp., *Aspergillus terreus* และ Unidentified species No.2 ซึ่งเชื้อเหล่านี้ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อเห็ดฟางได้เลย ซึ่งเป็นผลให้เส้นใยเชื้อเห็ดฟางเจริญคลุม โคโลนีเชื้อราเหล่านี้หมด ดังแสดงในภาพที่ 16 - 19

จากการทดลองนี้ได้ทำการคัดเลือกเชื้อราเพื่อนำไปทดสอบในกระบะเพาะเห็ดฟางได้คือ *Curvularia lunata* เนื่องจากการทดสอบในห้องปฏิบัติการพบว่า เชื้อรา *C. lunata* มีผลทำให้เส้นใยเห็ดฟางที่เจริญเกิดการสร้างดอกเห็ด บนโคโลนีของเชื้อรา *C. lunata* ได้ โดยสังเกตุพบว่า เมื่อเส้นใยของเชื้อทั้งสองเจริญมาพบกัน *C. lunata* หยุดการเจริญเพียงแค่นั้น แล้วปล่อยให้เส้นใยเชื้อเห็ดฟางเจริญคลุมไปบนโคโลนี และเส้นใยเชื้อเห็ดฟางเกิดการสร้างดอกเห็ด ขนาดของดอกเห็ดที่สร้างขึ้นมามีขนาดใหญ่กว่าดอกเห็ด ที่เกิดบริเวณโคโลนีของเส้นใยเห็ดฟาง แม้ว่าปริมาณดอกเห็ดที่เกิดมีจำนวนน้อยกว่าก็ตามดังแสดงในภาพที่ 20 - 21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 16 ผลการทดสอบ Dual agar culture ของเชื้อราชนิดต่าง ๆ กับเชื้อเห็ดฟาง (*Volvariella volvacea*)

A1= *V. volvacea*, A2= *V. volvacea* against *Aspergillus terreus*, A3= *A. terreus*, B1= *V. volvacea*, B2= *V. volvacea* against *A. flavus*, B3= *A. flavus*, C1= *V. volvacea*, C2= *V. volvacea* against *A. niger*, C3= *A. niger*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 17 D1= *V. volvacea*, D2= *V. volvacea* against *Curvularia lunata*, D3= *Curvularia lunata*, E1= *V. volvacea*, E2= *V. volvacea* against *Chaetomium* spp., E3= *Chaetomium* spp., F1= *V. volvacea*, F2= *V. volvacea* against *Humicola* spp. F3= *Humicola* spp.

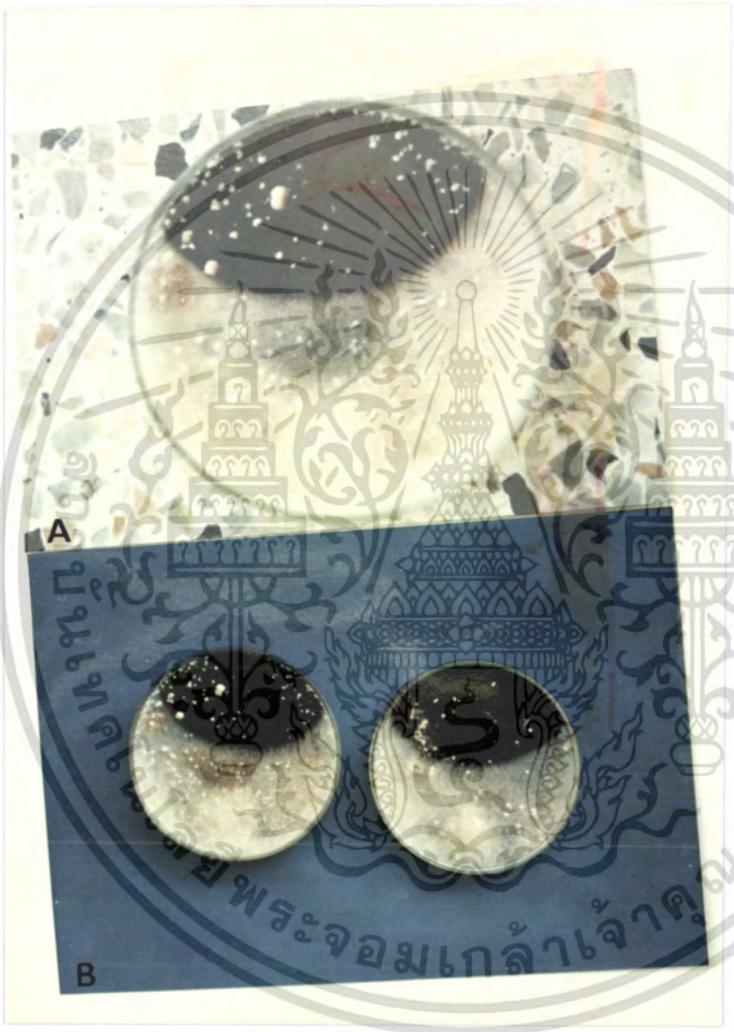
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 18 G1= *V. volvacea*, G2= *V. volvacea* against *Penicillium* spp.No.2, G3= *Penicillium* spp.No.2, H1= *V. volvacea*, H2= *V. volvacea* against *Penicillium* spp.No.3, H3= *Penicillium* spp.No.3, I1= *V. volvacea*, I2= *V. volvacea* against *Penicillium* spp. No.1, I3= *Penicillium* spp. No.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

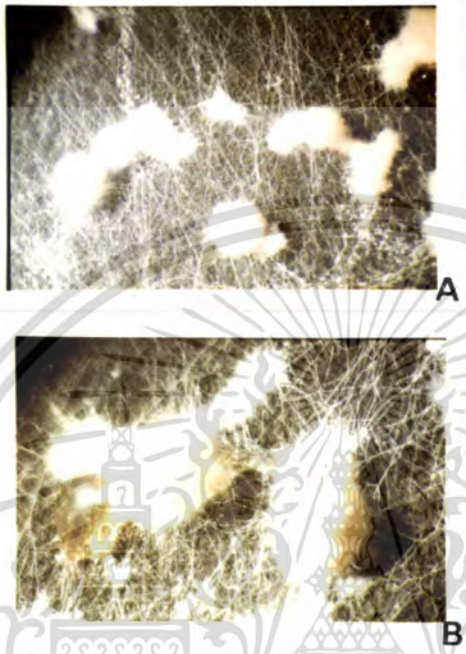
ภาพที่ 19 J1= *V. volvacea*, J2= *V. volvacea* against *Phytophthora* spp., J3= *Phytophthora* spp., K1= *V. volvacea*, K2= *V. volvacea* against *Rhizoctonia* spp., K3= *Rhizoctonia* spp., L1= *V. volvacea*, L2= *V. volvacea* against unidentified spp. No.1, L3= unidentified spp. No.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 20 แสดงความสามารถของ *Curvularia lunata* ที่สามารถทำให้เส้นใยเห็ด เกิดการสร้างดอกเห็ด ในการทดสอบ Dual agar culture

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 21 แสดงการเจริญของเส้นใยเชื้อเห็ดฟาง ที่เจริญบนโคโลนีของเชื้อ *C. lumata* แล้วเกิดการสร้างดอกเห็ด (A - B) ถ่ายภาพภายใต้กล้อง steriomicroscope

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ผลการทดสอบเชื้อรา *Curvularia lunata* ร่วมกับเชื้อเห็ดฟาง ในกระบะทดสอบ

จากผลการทดลองในตอนที่ 2 การทดสอบเชื้อราชนิดต่าง ๆ ร่วมกับเชื้อเห็ดฟาง ได้เชื้อ *Curvularia lunata* เป็นเชื้อที่มีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของเชื้อเห็ดฟางในห้องปฏิบัติการ จึงได้นำมาทดสอบในกระบะทดสอบร่วมกับเชื้อเห็ดฟาง โดยทดสอบที่ระดับความเข้มข้นของเชื้อต่าง ๆ กัน คือ 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} และ 10^{-4} ซึ่งผลการทดสอบ *C. lunata* ไม่ส่งเสริมการเจริญของเชื้อเห็ดฟาง เมื่อเปรียบเทียบกับ control ดังแสดงในภาพที่ 22 โดยพบว่ากระบะทดสอบที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กันและมีเชื้อราอื่นปนเปื้อน จึงทำให้เส้นใยเชื้อเห็ดฟางไม่เจริญเติบโต แต่ในกระบะทดสอบอีกกระบะได้ทดลองใส่เชื้อ *C. lunata* ทั้งหมดที่เตรียมเอาไว้โดยไม่คำนึงถึงความเข้มข้น พบว่า มีการเจริญของเส้นใยเห็ดฟางได้ดี และมีการสร้างดอกเห็ดขึ้นมาได้ผลใกล้เคียงกับ control ดังแสดงในภาพที่ 22 - 24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 22 แสดงกระบะเพาะเห็ดฟางเปรียบเทียบระหว่าง A.กระบะเพาะเห็ดฟางที่ใส่ stock solution ของ *C. lunata* B.กระบะเพาะเห็ดฟาง control ที่อายุ 12 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 23 แสดงการเปรียบเทียบลักษณะการเจริญของเส้นใย และการสร้างดอกเห็ดของ A.กระบะเพาะเห็ด control B.กระบะเพาะเห็ดที่ใส่ stock solution ของ *C. lunata* ที่มีการเจริญเติบโตของเส้นใย และการสร้างดอกเห็ด ที่อายุ 12 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 24 แสดงกระบะเพาะเห็ดฟางที่ใส่ stock solution ของเชื้อรา *C. lunata* มีการเจริญเติบโตของเส้นใย และการสร้างดอกเห็ด ที่อายุ 12 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการแยกเชื้อราในฟางข้าว พบเชื้อราดังนี้ *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. terreus*, *Chaetomium* spp., *Curvularia* spp., *Humicola* spp., *Penicillium* spp., *Rhizoctonia* spp., และ *Phytophthora* spp. เชื้อราที่พบมีรายงานว่า บางสกุลเป็นเชื้อราที่พบปนเปื้อนในปุ๋ยหมักเพาะเห็ด *Agaricus* ในต่างประเทศ ได้แก่ *Aspergillus*, *Penicillium* และ *Chaetomium* เป็นต้น (Betterley, 1983) นอกจากนี้เชื้อราที่พบยังสอดคล้องกับรายงานของ ประไพศรี และคณะ(2527) ซึ่งได้รายงานเกี่ยวกับเชื้อราชนิดต่าง ๆ ที่ทำความเสียหายให้แก่การเพาะเห็ดในถุงพลาสติก หรือในก้อนเชื้อเห็ดที่ใช้ขี้เลื่อยเป็นวัสดุเพาะ พบเชื้อราที่ปนเปื้อน คือ *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *Neurospora* sp., *Penicillium* spp., *Trichoderma* spp. และ *Gliocladium* sp. เชื้อราเหล่านี้บางชนิดเป็นเชื้อราที่สามารถแยกได้จากฟางข้าว แสดงให้เห็นว่าเชื้อราชนิดต่าง ๆ ดังกล่าว สามารถพบได้ในวัสดุเพาะเห็ดชนิดอื่น ๆ ได้ Garcha และ Kiran (1981) ได้รายงานว่าเชื้อรา *Curvularia lunata* และ *Aspergillus sydowii* เป็นเชื้อราชนิดใหม่ที่แยกได้จากวัสดุเพาะเห็ดในประเทศ อินเดีย

นอกจากนี้ Vasun(1988) ยังรายงานว่า พบได้ในกองเพาะเห็ดฟาง โดยพบได้ทุกระยะของการเจริญของเห็ด คือ ตั้งแต่ระยะเส้นใยเจริญ ระยะสร้างดอกเห็ด และระยะหลังการเก็บดอกเห็ดแล้ว เชื้อราที่พบทุกระยะของการเพาะเห็ดได้แก่ *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus*, *Chaetomium globosum*, *Cladosporium cladosporoides*, *Curvularia lunata*, *Mucor* sp., *Penicillium citrinum*, *Trichoderma harzianum* และ *Verticillium* sp. เชื้อราที่พบเหล่านี้เป็นเชื้อราที่พบในฟางข้าวก่อนที่จะนำไปใช้เป็นวัสดุเพาะเห็ด มีรายงานเชื้อราที่สามารถพบในช่วงแรกของการเพาะเห็ดนอกโรงเรือนได้แก่ *Alternaria padwichii*, *Acremonium* spp. *Candida* sp., *Cladosporium* spp., *Curvularia* และ *Mucor* sp. เป็นต้น เชื้อรา *Humicola insolens* ที่พบหลังการเก็บดอกเห็ดซึ่งจัดว่าเป็น thermophilic fungi มีแนวโน้มในการเพิ่มการพัฒนาของเห็ดฟาง

การทดสอบความสามารถของเชื้อราในการยับยั้งการเจริญของเชื้อเห็ดฟางพบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ว่า *A. niger, Chaetomium, Penicillium* และ *Humicola* สามารถยับยั้งการเจริญได้ดีรองลงมา ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Vasun (1988) ว่า เชื้อราที่สามารถยับยั้งการเจริญของเห็ดฟางได้ ได้แก่ *Aspergillus, Fusarium, Penicillium* และ *Chaetomium globosum* เป็นต้น แต่ไม่มีรายงานเกี่ยวกับการยับยั้งโดยเชื้อรา *Humicola* spp. ในทางตรงกันข้าม มีรายงานว่าเชื้อเห็ดฟางสามารถตอบสนองต่อเชื้อรา *Humicola* sp. ในกองเพาะเห็ด (Chang-Ho, 1982) เชื้อราชนิดอื่นที่ยับยั้งเชื้อเห็ดฟางได้บ้าง เช่น *A. terreus, Curvularia lunata, Rhizoctonia* spp. และ *Penicillium* บางชนิด ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Vasun (1988) ว่า *A. terreus* และ *Penicillium* สามารถยับยั้งเชื้อเห็ดฟางได้ แต่เชื้อราอื่นไม่แสดงปฏิกิริยาหลังการทดสอบแล้ว 3 วัน

การทดสอบเชื้อราในห้องปฏิบัติการพบว่า *Curvularia lunata* มีแนวโน้มในการส่งเสริมการเจริญของเส้นใยเห็ดฟาง และการสร้างดอกเห็ด หลังจากที่มีการปล่อยให้เจริญร่วมกับ เชื้อเห็ดฟางเป็นเวลานาน 10 วัน ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อราอื่นแล้วเชื้อราชนิดอื่นไม่ปรากฏลักษณะเช่นนี้ อาจเป็นเพราะว่าในการทดสอบเชื้อราในห้องปฏิบัติการใช้เวลาทดสอบแค่ 3 - 7 วัน จึงไม่พบการเจริญของเชื้อราร่วมกับเชื้อเห็ดฟางในลักษณะเช่นนี้ จึงได้นำเชื้อราชนิดนี้มาทดสอบในกระบะทดสอบซึ่งมีฟางข้าวฆ่าเชื้อแล้วบรรจุอยู่ โดยให้เจริญร่วมกับเชื้อเห็ดฟางพบว่า ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของเชื้อรา *C. lunata* คือ 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} และ 10^{-4} ปรากฏว่าเชื้อราชนิดนี้ไม่มีแนวโน้มในการส่งเสริมการเจริญของเชื้อเห็ดฟางเมื่อเปรียบเทียบกับ control อาจจะเป็นเพราะในระยะแรกของการเพาะเห็ดฟางได้วางกระบะ นอกจากทดลองใช้เชื้อที่ระดับความเข้มข้นดังที่กล่าวมาแล้ว ได้ทดลองเชื้อราชนิดนี้ที่ระดับความเข้มข้นที่สูงกว่าความเข้มข้นที่ใช้ดังกล่าวมาแล้วคือ ใช้ความเข้มข้นของเชื้อราที่ระดับเริ่มต้นของการเตรียมเชื้อรา (stock solution) พบว่ามีการเจริญของเส้นใยและการสร้างดอกเห็ดได้ดีกว่ากระบะcontrol ที่ไม่ได้ทำการพ่นเชื้อรา แต่การทดสอบที่ระดับความเข้มข้นนี้ได้ทำการทดสอบเพียง 2 กระบะทดสอบจึงไม่ได้นำน้ำหนักผลผลิตที่ได้มาเปรียบเทียบค่าทางสถิติ และข้อมูลอื่น ๆ แต่ได้ถ่ายภาพ ลักษณะการเจริญของเส้นใยเห็ดฟาง และการเกิดดอกเห็ดของกระบะทดสอบนี้เปรียบเทียบกับกระบะ control ให้เห็นลักษณะที่แตกต่างกัน ดังแสดงในภาพที่ 22 - 24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสนอแนะ

1.ในการแยกเชื้อราโดยวิธี Dilution Plate Technique อาจจะเป็นวิธีที่ไม่สามารถแยกราที่อาศัยอยู่ในฟางข้าวออกมาได้ทั้งหมด ควรจะใช้วิธีอื่นร่วมด้วย เช่น การใช้วิธีวางชิ้นส่วนฟางข้าวลงบนอาหารโดยตรง

2.ในการทดสอบ Dual culture agar ควรจะใช้เวลาในการทดสอบที่นานกว่าที่เคยทำการทดลอง ซึ่งอาจจะทำให้สามารถคัดเลือกเชื้อราได้หลายชนิด

3.การทดสอบในกระบะเพาะเห็ดฟางโดยใช้เชื้อรา *C. lunata* ยังขาดการทดสอบในฟางข้าวที่ไม่ต้องทำการฆ่าเชื้อ และการคัดเลือกอายุของเชื้อราที่เหมาะสมที่จะนำเอาไปใช้

4.การวางกระบะทดสอบควรจะวางในที่ร่มที่แสงแดดส่องไม่ถึง เพราะถ้าแสงแดดส่องถึงจะทำให้ฟางข้าวสูญเสียความชื้น ซึ่งจะทำให้เชื้อราชนิดอื่นสามารถเจริญบนฟางข้าวได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

การแยกเชื้อราจากฟางข้าว จากตัวอย่างฟางข้าวที่นำมาเป็นวัสดุเพาะเห็ดฟาง สามารถจำแนกได้ 15 isolates จัดจำแนกได้ 11 ชนิด และ unidentified species 2 ชนิดได้แก่ *Aspergillus terreus*, *A. flavus*, *A. niger*, *Chaetomium* spp., *Curvularia lunata*, *Humicola* spp., เชื้อรากลุ่ม *Penicillium*, *Phytophthora* spp. และ *Rhizoctonia* spp.

ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อเห็ดฟางโดยเชื้อราชนิดต่าง ๆ ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อนำมาเลี้ยงเป็นคู่ ๆ พบว่า *A. niger*, *Chaetomium* spp. และ *Penicillium* spp. No.3 สามารถยับยั้งได้ดี แต่ไม่สามารถเจริญคลุมโคโลนีเชื้อเห็ดฟางได้ เชื้อราที่สามารถยับยั้งได้ดีรองลงมาได้แก่ *A.terreus*, *Humicola* spp., *Penicillium* spp. No.2 และ unidentified species No.1 ตามลำดับ เชื้อราที่สามารถยับยั้งได้เพียงเล็กน้อยได้แก่ *C. lunata*, *Penicillium* spp. No.1 และ *Rhizoctonia* spp. เชื้อราที่ไม่สารมารถยับยั้งได้เลย ได้แก่ *Phytophthora* spp., *A. flavus* และ unidentified species No.2 ในการทดลองตอนนี้ได้คัดเลือกเชื้อราที่มี แนวโน้มในการส่งเสริม การเจริญของเชื้อเห็ดฟางได้หนึ่งชนิด คือ *C. lunata* โดยสังเกตพบว่าเมื่อเชื้อเห็ดฟางเจริญคลุมโคโลนีของเชื้อราแล้ว เกิดการสร้างดอกเห็ดที่บริเวณโคโลนีของเชื้อรา โดยที่เชื้อราชนิดอื่นไม่เกิดลักษณะเช่นนี้

ได้นำเชื้อรา *C. lunata* ที่คัดเลือกไว้ไปทดสอบในกระบะที่มีฟางข้าวที่ฆ่าเชื้อแล้วบรรจุอยู่ร่วมกับเชื้อเห็ดฟาง ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน(10^{-1} - 10^{-4}) พบว่า เชื้อราไม่ส่งเสริมการเจริญของเส้นใยเห็ดฟางที่ทุกระดับความเข้มข้นที่ใช้ในการทดสอบ แต่ได้มีการทดสอบที่ระดับความเข้มข้นที่สูงกว่านี้ (stock solution) พบว่า *C. lunata* สามารถส่งเสริมการเจริญของเส้นใยเชื้อเห็ดฟาง และการสร้างดอกเห็ด ให้ผลได้ดี เมื่อเปรียบเทียบกับกระบะ control

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ดีพร้อม ไชยวงศ์เกียรติ. 2525. การเพาะเห็ด และผลิตเห็ดบางชนิดในประเทศไทย. โรงพิมพ์ มิตรสยาม. กรุงเทพ ฯ 188 น.

ประไพศรี นิทักษไพรวัน, สัญชัย ตันตยาภรณ์, พัฒนา สนธิรัตน, วิรัช ชูบำรุง และไพบูลย์ นาคสุวรรณ. 2527. การศึกษาเชื้อราปนเปื้อนในก้อนเชื้อเห็ด. รายงานผลการทดลองและวิจัย. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ 9 น.

ธีรศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์. 2529. การผลิตเห็ด. ภาควิชากีฏวิทยา และโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ศักรินทร์ บวรติเรกลาภ. 2529. การศึกษาเชื้อราที่ปนเปื้อนเชื้อเห็ดฟาง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

วรลักษณ์ พฤติภิญโญ, ศิริพร เรืองไทย, ยุพิน กสินเกษมพงษ์ และ พันธุ์ทวี ภักดีดินแดน. 2526. ศึกษาวิธีการฆ่าเชื้อปุ๋ยหมักสำหรับทำเชื้อเห็ดฟาง (spawn compost) ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโต และผลผลิตเห็ด. รายงานผลการทดลอง พ.ศ. 2526 เล่ม 2. กองโรคพืช และจุลชีววิทยา. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 1075 น.

Alexopoulos, C.I. and C.W. Mims. 1979. Introductory Mycology. John Wiley & Sons, New York. 632 pp.

Barnett, H.L. and B.B. Hunter. 1960. Illustrated Genera of Fungi. Burgess Publishing Co., Minnesota. 241 pp.

Betterley, D.A. 1983. Indicator and Weed molds. Mushr. News

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

31 (3): 9-12.

Chang, S.T. 1978. *Volvariella volvacea.* In the biology and cultivation of edible mushroom. edited by S.T. Chang and W.A. Hays, New York. Academic press. 819 pp.

Chang, S.T. 1982. Cultivation of *Vovariella* mushroom in Souteast Asia. p. 221-252. In Chang, S.T. and T.H. Quimio (ed.). Tropical Mushrooms, Biological Nature and Cultivation Methods. The Chiness University Press, Hongkong.

Chang-Ho, Y. 1982. Ecological studies of *Volvariella volvacea.* In Tropical Mushroom edited by S.T. Chang and T.H. Quimio. The Chiness University Press. 493 pp.

De-Geijn, J. Van. 1982. Fungal disease : practice. Mushr. J. 113: 157-161.

Fergus, C.L. 1982. The heat resistance of some mesophilic fungi isolateed from mushroom compost. Mycologia 74 : 149-152.

Kitamoto, Y., R. Kono, K. Tokimoto, N. Mori and Y. Ichikawa. 1984. Production of lytic enzyme against cell walls of basidiomycetes from *Trichoderma harzianum.* trans. Mycol. Soc. Japan. 26: 69-79.

Garcha, H. and U. Kiram. 1981. Studies of Mushroom Compost

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Under Tropical Conditions. Mushroom Science XI: 219-235

Lim, W.C. 1981. The microbiology of paddy straw compost for the cultivation of *Volvariella volvacea.* Mushroom Science vol.XI : 595-601

Moubasher, A.H., S.I.I. Abdel-Hafez, H.M. Faittah and A.M. Moharran. 1984. Fungi of wheat and broad bean straw composts. Mycopathologia 84: 65-72.

Raper, K.B. and D.I., Funnel. 1965. The Genus *Aspergillus.* The Williams & Wilkins Company.

Sukara, E., I.B. Hentrato and C.H. Dickinson. 1985. The cultivation of the paddy straw mushroom. Bulletin of the Mycological Society Vol. 19, Part II. 129-132

Vasun Petcharat. 1988. Microflora associated with outdoor cultivation mushroom of *Volvariella volvacea* (Bull. ex Fr.) Sing. Doctor of Philosophy

Yee, N.T. and Y. Chang-Ho. 1980. Interaction between *Volvariella volvacea* and some weed fungi. Trans. Br. Mycol.Soc. 75: 498-501.

Zaayen, A. Van. 1982. Fungal diseases. Mushr. J. 113: 149-156

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 1 วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน ของผลการยับยั้งของเชื้อราชนิดต่าง ๆ ต่อการเจริญของโคโลนีเชื้อเห็ดฟาง

S.V	D.F	S.S	M.S	$F_{12,39}$ Cal	$F_{12,39}$ Table
Varieties	12	37.08	3.09*	2.491	2.01
Error	39	48.64	1.24		
Total	51	85.72			

* แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.05 หรือมีความแปรปรวนระหว่างชนิดของเชื้อราที่ทดสอบอย่างแท้จริง ที่ระดับความเป็นไปได้ 0.05 (95%)

C.V. = 27.70 %

$LSD_{.01}$ = 1.603

$LSD_{.05}$ = 1.113

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้