13398

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

เรื่อง

ผลของ C-source, N-source และ amino acid บางชนิด ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ด

Effect of C-source, N-source and amino acid on mycelial growth of mushroom

โดย

นายชนิต จันทร์แจ่มใส

นายนาวิน ผสมทรัพย์

T100327

ผศ. ดร. คุภชัย รดโนภาส ประธานกรรมการอาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์อรทัย เดียวสมบูรณ์ใจ กรรมการ

ภาควิชารับรองแล้ว

เลขหมู่ 100327
เลขทะเบียน
วัน เดือน ปี 18 มิถุนายน 2009

.....

(นายสมภพ ฐิตะวสันต์)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

วันที่ ๒๐ เดือน มิ.ย. พ.ศ. ๒๕๔๑

ปก.
ช262ผ
2541

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของ C-source, N-source และ Amino acid บางชนิดต่อการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ด

การศึกษาเกี่ยวกับการทดลองใช้ C-source, N-source และ Amino acid บางชนิดในการเลี้ยงเชื้อเห็ด 3 ชนิด คือ เห็ดกระด้างดำ (Lentinus praerigidus Berk), เห็ดเป๋าฮื้อ (Pleurotus abalonus) และเห็ดนางรม (Pleurotus ostreatus) โดยได้ทดลองใช้สูตรอาหารทั้งหมด 15 สูตร ซึ่งเป็นสูตรอาหาร control 1 สูตร, C-source 8 สูตร, N-source 4 สูตร และ Amino acid 2 สูตร ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการเห็ดคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าวิทยาเขตเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

ในการทดลองวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design 15 ตำรับ ตำรับละ 10 ซ้ำ ในเห็ดแต่ละชนิด ใช้ petridish ทั้งหมด 450 ชุด บรรจุอาหาร 20 c.c. ต่อ 1 plate

อาหารทั้ง 15 สูตรที่ใช้ทดลองได้แปรการใช้ C-source, N-source และ amino acid ตามลำดับดังนี้ สูตรที่ 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ใช้ mannose, glucose, maltose, fructose, manitol, ethanol, xylose และ oxalate เป็น C-source แทน D-glucose ในสูตรที่ 1, ใช้ ammonium sulfate, ammonium chloride, ammonium nitrate เป็น N-source แทน peptone ในสูตรที่ 10, 11, 12, 13 และใช้ amino acid คือ glycine, methionine ในสูตรที่ 14 และ 15 ตามลำดับ

ผลการศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเส้นใยของเห็ดทั้ง 3 ชนิด พบว่า เห็ดกระด้างดำเจริญเติบโตดีที่สุดในอาหารที่มี fructose และ peptone

ส่วนเห็ดนางรมเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารที่มี D-glucose และ methionine
ส่วนเห็ดเป๋าฮื้อเจริญเติบโตได้ดีในสูตรอาหาร 4 ตำรับได้แก่ D-glucose, glycine; xylose, peptone; fructose, peptone; และ D-glucose, KNO_3

สารบาญ

	หน้า
สารบาญตาราง	(1)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	8
ผลการทดลอง	15
วิจารณ์ผลการทดลอง	39
สรุปผลการทดลอง	40
เอกสารอ้างอิง	41
ภาคผนวก	42

สารบาญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดกระด้างดำในจานเลี้ยงเชื้อวันที่ 1	18
2	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดกระด้างดำ วันที่ 1	19
3	แสดงอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดเป๋าฮื้อในจานเลี้ยงเชื้อวันที่ 1	20
4	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดเป๋าฮื้อ วันที่ 1	21
5	แสดงอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดนางรมในจานเลี้ยงเชื้อวันที่ 1	22
6	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดนางรมวันที่ 1	23
7	แสดงอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดกระด้างดำในจานเลี้ยงเชื้อวันที่ 1	24
8	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดกระด้างดำวันที่ 4	25
9	แสดงอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดเป๋าฮื้อในจานเลี้ยงเชื้อวันที่ 4	26
10	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดเป๋าฮื้อ วันที่ 4	27

สารบาญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
11	แสดงอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดนางรมในจานเลี้ยงเชื้อ วันที่ 4	29
12	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดนางรมวันที่ 4	30
13	แสดงอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดกระด้างด่างในจานเลี้ยงเชื้อ วันที่ 7	31
14	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดกระด้างด่าง วันที่ 7	32
15	แสดงอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดเป๋าฮื้อในจานเลี้ยงเชื้อ วันที่ 7	33
16	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดเป๋าฮื้อ วันที่ 7	34
17	แสดงอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดนางรมในจานเลี้ยงเชื้อ วันที่ 7	35
18	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดนางรม วันที่ 7	36
19	ผลของค่า SSR และ LSR ตามวิธีวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดย Duncan's New multiple Range Test ของเห็ดกระด้างด่างในจานเลี้ยงเชื้อ	37

สารบาญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
20	ผลของค่า SSR และ LSR ตามวิธีวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดย Duncan's New multiple Range Test ของเห็ดเป๋าฮื้อในจานเลี้ยงเชื้อ	38
21	ผลของค่า SSR และ LSR ตามวิธีวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดย Duncan's New multiple Range Test ของเห็ดนางรมในจานเลี้ยงเชื้อ	39

สารบาญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	เส้นใยเชื้อเห็ดกระด้างคำอายุ 7 วัน	42
2	เส้นใยเชื้อเห็ดเป๋าฮื้ออายุ 7 วัน	43
3	เส้นใยเชื้อเห็ดนางรมอายุ 7 วัน	44

คำนำ

ระยะเวลาที่ใช้ในการเพาะเห็ดนับว่ามีความสำคัญมากในแง่การผลิตเพื่อเป็นการค้า ถ้าผู้เพาะสามารถเร่งอัตราการเจริญของเชื้อเห็ดเพื่อให้ได้ช่วงระยะเวลาเพาะที่สั้นลง จะสามารถประหยัดต้นทุน เวลา และแรงงานได้ ในการศึกษาครั้งนี้ จึงเห็นสมควรทำการทดลองเลี้ยงเชื้อเห็ด นางรม เห็ดเป๋าฮื้อ และเห็ดกระด้างดำ ในอาหารวุ้นสูตรต่าง ๆ ที่เติม carbon source,nitrogen source และ amino acid บางชนิด เพื่อศึกษาระยะเวลาและความสามารถในการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด และเพื่อศึกษาแนวทางการพัฒนาการเพาะเลี้ยงเห็ดป่าบางชนิด (เห็ดกระด้างดำ)

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาอิทธิพลของ C-source, N-source, Amino acid ที่มีต่อการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ด

2. เพื่อศึกษาความสามารถของเห็ดกระด้างดำ, เห็ดเป๋าฮื้อ และเห็ดนางรม ในการสร้างเส้นใย ในอาหารวุ้น

การตรวจเอกสาร

1. ลักษณะของเชื้อเห็ดและดอกเห็ดทางชีววิทยา

เห็ดเป๋าฮื้อหรือเห็ดหอยโข่งทะเล ชื่อนี้มาจากภาษาอังกฤษว่า abalone mushroom เพราะเมื่อนำดอกเห็ดไปปรุงอาหารจะมีรสชาติคล้ายกับเนื้อของเป๋าฮื้อหรือหอยโข่งทะเล

ชื่อวิทยาศาสตร์ของเห็ดเป๋าฮื้อคือ Pleurotus abalonus Han et al.sp.nov. เห็ดเป๋าฮื้อจำแนกชั้นได้ดังนี้

Class Basidiomycetes

Sub class Homobasidiomycetidae

Order Agaricales

Family Tricholomataceae

เห็ดเป๋าฮื้อจัดอยู่ในตระกูลเดียวกัน เห็ดหอยนางรม และนับเป็น species ใหม่ ในบรรดาพวกเห็ดหอยนางรมที่สร้าง conidia เป็นแบบที่เรียกว่า coremium

ลักษณะของดอกเห็ด ดอกเห็ดเป๋าฮื้อ แบ่งได้ 3 ส่วนคือ ส่วนหมวก (pileus) ส่วนครีบใต้หมวก (lamellae) และส่วนก้านดอก (stipe)

1. ส่วนหมวก มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 – 24 ซ.ม. ผิวของดอกมีลักษณะแห้ง ไม่เป็นกเป็นเมือก ผิวจะมีตั้งแต่สีครีมจนถึงสีเทาเข้ม ส่วนตรงกลางของหมวกจะบุ๋มลงไป

2. ครีบใต้หมวก จะมีความยาวจากขอบหมวกไปจนจดก้านดอก ครีบแต่ละอันมีขนาดใหญ่ มองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัด ปกติครีบมีสีขาวถึงครีม

3. ก้านดอก มีขนาดใหญ่ อวบแน่นและแข็งแรง ก้านปกติไม่ติดอยู่ตรงกลาง จะติดต่อกับด้านหนึ่งของหมวก ก้านมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 – 3 ซ.ม. และยาว 5 – 8 ซ.ม. บาง

ดอกอาจจะมีก้านสั้นมาก ก้านมีสีขาวหรือเทาอ่อน ดอกเห็ดเป็นชั้นให้กำเนิด basidiospores ซึ่งมีผิวเรียบไม่ขรุขระ

เห็ดหอยนางรม หรือเห็ดนางรมมีชื่อภาษาอังกฤษว่า Oyster mushroom ชื่อวิทยาศาสตร์ ของเห็ดชนิดนี้ คือ Pleurotus ostreatus (Jacq. ex Fr.) Kummer เป็นเห็ดที่ขึ้นบนท่อนไม้ที่ตายแล้วในป่า เห็ดชนิดนี้พบเจริญบนไม้จำพวก oak, elm, maple, beach และ poplar พบทั่วไปในเขตอบอุ่น อุณหภูมิที่เห็ดเจริญตามธรรมชาติอยู่ระหว่าง 15 – 20 °ซ. เห็ดหอยนางรมมีการจำแนกชั้นดังนี้

Class Basidiomycetes

Order Agaricales

Family Tricholomataceae

Pileus และ stalk จะติดกันเป็นเนื้อเยื่อเดียวกัน แยกจากกันไม่ได้ stalk จะติดอยู่ทางด้านข้างของ pileus ดอกเห็ดมีลักษณะเป็นรูปคล้ายหอย (shell) หรือคล้ายช้อน (spatula) หรือรูปคล้ายลิ้น (tongue-shaped) เมื่อเจริญเต็มที่ pileus จะมีขนาด 5 – 15 ซ.ม. และมีสีขาว หรือสีเทา แล้วแต่ชนิด เห็ดหอยนางรมเมื่อนำไปเพาะจะขึ้นแน่นเป็นกระจุก เห็ดชนิดนี้มี lamellae สีขาวหรือสีเทาเจริญจาก pileus ลงมายัง stalk มีขนาดสั้น basidiospores แต่ละอันจะใส เมื่ออยู่รวมกันเป็นกลุ่มจะมีสีขาว หรือเทาปนม่วง (lilac grey) basidiospore มีรูปไข่ มีขนาดเฉลี่ย 5 x 12.5 ไมครอน spore จะงอกให้เส้นใยสีขาวบนอาหารวุ้น

เห็ดลมหรือเห็ดกระด้าง

Lentinus praerigidus Berk

เห็ดลมหรือเห็ดกระด้าง เป็นเห็ดชนิดหนึ่งที่รับประทานได้ เห็ดลมมีจำหน่ายมากปลายฤดูฝนและฤดูหนาวทางภาคเหนือ และตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ผู้ขายเก็บมาจาก

ซอนไม้ในป่า เห็ดลมจัดว่าเป็นเห็ดเนื้อแห้งคล้ายหนัง ชาวบ้านจะเก็บเห็ดชนิดนี้รอบเป็นพวงขาย หรือขายปนกับผักที่ใช้ประกอบแกงแคที่มีชื่อเสียงทางภาคเหนือ

ลักษณะดอกเห็ดขึ้นเป็นดอกเดียวมีโคนก้านเล็กปลายบานออกคล้ายรูปกรวย ตรงกลางดอกเห็ดบุ๋มลึกลงไปเป็นรูปกรวย ผิวด้านบนของดอกเห็ดมีสีขาวนวลและมีขนละเอียด สีน้ำตาล ซึ่งเอามือลูบจะรู้สึกเหมือนขนกำมะหยี่ ด้านล่างมีครีบหมวกซึ่งเรียงเป็นรัศมีรอบก้านดอก และยาวขนานกับก้านดอกลงไปเกือบถึงโคนก้านดอก แล้วเชื่อมติดกับโคนก้านดอก ดอกเห็ดด้านล่างมีขี้หมวกสีน้ำตาลเข้มกว่าด้านบน และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มปนแดง เมื่อเป็นเห็ดแก่ ขอบหมวกเห็ดบางกว่าส่วนกลาง เพราะครีบหมวกก่อย ๆ เรียวเล็กเชื่อมติดกับขอบหมวก ครีบหมวกแคบบาง และไม่ลึกเหมือนเห็ดอื่น ๆ ทั่วไปขอบหมวกจะโค้งลงเล็กน้อย หมวกเห็ดกว้างประมาณ 5 – 10 ซ.ม.

ก้านดอกเห็ดสั้นแข็งและเหนียว มีความกว้างประมาณ 0.5 – 1 ซ.ม. ยาวประมาณ 1 – 2 ซ.ม. ผิวเรียบและมีสีน้ำตาลอ่อนก้านดอกมักอยู่ค่อนไปทางด้านใดด้านหนึ่งของกรวยไม่อยู่ตรงกลางเป็นเห็ดชนิดหนึ่งในสกุล Lentinus และมีลักษณะใกล้เคียงกับเห็ด Lentinus praerigidus Berk ซึ่ง ดร. D.A. Reid จำแนกไว้แต่ ดร. R.Heim ให้ชื่อไว้เป็น L. kurzanus Berk. et Curr.

2. ความต้องการอาหารในการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ด

Kazuya Hashimoto และ Zenjiro Takahashi (1974) ได้ทดลองเพาะเห็ดนางรม (Pleurotus ostreatus) ใน flask ขนาด 100 ml. ด้วยอาหาร 20 ml. ซึ่งประกอบด้วย D-glucose 20 g., peptone 2 g; KH_2PO_4 0.5 g. $MgSO_4.7H_2O$ 0.5 g; $CaCl_2$ 0.1 g. thiamine hydrochloride 100 µg. ส่วนผสมทั้งหมดนึ่งฆ่าเชื้อเข้าด้วยกัน บ่มเชื้อไว้ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 27°ซ. แล้วทำการกรองเส้นใยผ่านตะแกรงละเอียดล้างและทำให้แห้งโดยการอบที่อุณหภูมิ 100°ซ. นาน 15 ชั่วโมง ในการทดลองใช้ C-source พบว่าเส้นใยของ Pleurotus ostreatus เติบโตเร็วที่สุดเมื่อใช้ mannose เป็นแหล่งให้

c-source เพียงอย่างเดียว รองลงมาคือ starch, glucose, maltose, sucrose fructose, manitol และ ethyl alcohol ซึ่งมีผลในการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดในระดับปานกลาง ส่วน pentose, xylose และ arabinose ไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อเห็ด แหล่งอาหาร nitrogen ก็มีผลช่วยให้การเจริญเติบโตดีขึ้น พบว่า peptone, กรด casamino, asparagine, serine, leucine และ alanine ช่วยส่งเสริมการเจริญของเชื้อเห็ด ส่วน ammonium tartrate ส่งเสริมการเจริญเติบโตน้อยมาก ถัดไปคือ ammonium salt และ nitrate อินทรีย์ไนโตรเจนเป็นแหล่งที่ให้ทั้งธาตุคาร์บอนและไนโตรเจน แอมโมเนี่ยมซัลเฟตก็เช่นกันกับเกลือแอมโมเนียมอื่น ๆ ของกรดอนินทรีย์ซึ่งไม่เหมาะที่จะเป็นแหล่งอาหารไนโตรเจนเนื่องจาก pH ต่ำ thiamine นับว่าเป็นสารที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโต ความเข้มข้นที่เหมาะสมในการใช้คือประมาณ 100 µg/L สำหรับการทดลองการเพิ่มวิตามินอื่น ๆ ลงไปในสูตรอาหารพบว่าไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ด

Yeo, S.G. และ Hayes, W.A. (1977) ได้ทดลองเพาะเห็ดฝรั่ง (Agaricus bisporus) ในสูตรอาหารเหลวซึ่งประกอบด้วย maltose 7.8 g., glucose 2.9 g., sucrose 0.27 g., dextrose 2.25 g. asparagine 2.0 g., KCl 0.2 g. $MgSO_4$ 0.2 g., ferrous sulphate 0.001 g., di sodium phosphate 0.0.6 g., biotin 5 µg., thiamine 200 µg., ethyl acetate 0.01 mg., de-ionised water to 1 L. บรรจุใน flask และนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121°ซ. นาน 15 นาที สารพวก vitamin, biotin, thiamine และ ethyl acetate ทำให้ปราศจากเชื้อโดยการกรองผ่านตะแกรงขนาด 0.2 ไมครอน ผลปรากฏว่าการเจริญเติบโตของเส้นใย เห็ดฝรั่ง (Agaricus bisporus) ดีขึ้นในอาหารเหลวที่ประกอบด้วยสารละลายเกลือของโปแตสเซี่ยมและโซเดียม

ศุภชัย (2521) รายงานไว้ว่า อาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อเห็ดฟางได้มีสูตรดังนี้คือ $MgSO_4$ 0.5 กรัม, KH_2PO_4 0.46 กรัม, K_2HPO_4 1 กรัม peptone 2 กรัม, dextrose 20 กรัม, agar 15 กรัม, น้ำกลั่น 1 ลิตร

ดีพร้อม (2523) รายงานไว้ว่า อาหารที่เลี้ยงเชื้อเห็ดฟางได้ดีมีสูตรดังนี้

1. Potato Dextrose Agar มีสูตรคือ มันฝรั่งปอกเปลือกหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ต้ม เอาแต่น้ำ 200 – 300 กรัม, dextrose 20 – 40 กรัม, agar 15 – 20 กรัม, น้ำกลั่น หรือน้ำฝน 1 ลิตร และ

2. Sobouroads'medium มีสูตรคือ peptone 1%, dextrose 4%,agar 2.3%

Wardle และ Schisler (1969) รายงานว่าพวกเอสเตอร์ของกรดโอเลอิค (oleic acid) และกรดลิโนเลอิค (linoleic acid) จะทำให้เส้นใยเจริญเพิ่มมากขึ้น ทำให้ผลผลิตของเห็ดเพิ่มมากขึ้นด้วย

ศุภชัย (2521) รายงานว่าอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อเห็ดหอยนางรมได้ มีสูตรดังนี้

1. PDA

2. Malt extract agar

Malt extract	25	g.
agar	20	g.
Water to make	1	l.

3. อาหารผสมแร่ธาตุต่าง ๆ

K_2HPO_4	0.3	g.
KH_2PO_4	0.3	g.
$MgSO_4\ 2H_2O$	10.3	g.
Peptone	5	g.
Glucose	50	g.
agar	20	g.
น้ำ	1	l.

หย่ง หุ่นภักดี, ประเสริฐ วุฒิคัมภีร์ (2526) รายงานไว้ว่าอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อเห็ดหูหนูได้ผลดีคือ

สูตรอาหารวุ้น

มันฝรั่ง	200	กรัม
น้ำตาลทราย	20	กรัม
วุ้น	17 – 20	กรัม
น้ำ	1000	ml. pH 6.0 - 6.5

และเพิ่มอาหารบางอย่างเข้าไปคือ

กากถั่วเหลือง	10	กรัม (ต้มปนเข้าไปกับมันฝรั่ง)
หรือ กากถั่วเหลือง	40	กรัม (ใช้ล้วน ๆ ไม่ต้องใช้มันฝรั่ง)
โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	1	กรัม
ดีเกลือ ($MgSO_4$)	5	กรัม

นึ่งด้วยความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 20 – 30 นาที จะได้อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส

ผลการทดลองพบว่าสูตรอาหารดังกล่าวใช้เพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดหูหนูได้ดีมากและสม่ำเสมอสมบูรณ์ ผ่านการต่อเชื้อไปเรื่อย ๆ โดยไม่เสื่อมได้ง่าย

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

ก. อุปกรณ์การทำสูตรอาหาร

1.	น้ำกลั่น	15	ลิตร
2.	D-glucose	140	กรัม
3.	peptone	18	กรัม
4.	KH_2PO_4	7.5	กรัม
5.	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	7.5	กรัม
6.	$CaCl_2$	1.5	กรัม
7.	thiamine hydrochloride	0.0015	กรัม
8.	agar	225	กรัม
9.	mannose	20	กรัม
10.	glucose	20	กรัม
11.	maltose	20	กรัม
12.	fructose	20	กรัม
13.	manitol	20	กรัม
14.	ethanol	20	กรัม
15.	xylose	20	กรัม
16.	oxalate	20	กรัม
17.	ammonium sulfate	13.34	กรัม
18.	ammonium chloride	10.69	กรัม
19.	ammonium nitrate	16.00	กรัม
20.	potassium nitrate	20.22	กรัม
21.	glycine	15.01	กรัม

22. methionine 29.84 กรัม
23. หลอดแก้วทดลอง
24. สำลี
25. ยางรัด
26. กระดาษหนังสือพิมพ์
27. เครื่องชั่ง
28. กระบอกตวง
29. จานเลี้ยงเชื้อ
30. flask
31. beaker

ข. อุปกรณ์การทำสูตรอาหาร Banana Sucrose Agar (B.S.A.)

1. กล้วยน้ำว้าสุก 200 กรัม
2. น้ำตาลซูโครส 20 กรัม
3. วุ้น 17 กรัม
4. น้ำกลั่น 1 ลิตร

ค. อุปกรณ์การนึ่งฆ่าเชื้อ

1. หม้อนึ่งความร้อน
2. เตาแก๊ส

ง. อุปกรณ์การเขี่ยเชื้อ

1. ตู้เขี่ยเชื้อ
2. ดอกเห็ด นางรม
   ดอกเห็ด เป๋าฮื้อ
   ดอกเห็ด กระด้างดำ

3. ตะเกียงแอลกอฮอล์ และไม้ขีดไฟ
4. เข็มเขี่ยเชื้อ,
5. cork borer
6. แอลกอฮอล์ 70%, clorox

การวางแผนการทดลอง

ในการทดลองครั้งนี้ ได้วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design

1. เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของเห็ดกระด้างด่า, เห็ดเป๋าฮื้อ, เห็ดนางรม ที่เลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ มี 15 ตำรับ ตำรับละ 10 ซ้ำต่อเห็ดแต่ละชนิด

สถานที่ทำการทดลอง

ใช้ห้องปฏิบัติการของคีกเห็ด ที่คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า วิทยาเขตเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

วิธีดำเนินการทดลอง

ก. การเตรียมอาหาร B.S.A. (Banana Sucrose Agar)

กล้วยน้ำว้าสุก	200	กรัม
น้ำตาลซูโครส	20	กรัม
วุ้น	17	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

วิธีการ

1. ปอกและหั่นกล้วยน้ำว้าออกเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 1 x 1 x 3 ซ.ม.

2. ล้างน้ำ ชั่งให้ได้ 200 กรัม ต้มกับน้ำ 500 ซีซี. จนกล้วยสุกสามารถใช้ขอนบดได้ง่าย

3. กรองเอาเฉพาะน้ำต้มกล้วยด้วยผ้าขาวบาง

4. ผสมน้ำตาลลงไปกวนจนละลายหมด

5. ต้มน้ำอีก 500 ซีซี. กับวุ้นเกี๋ยวจนวุ้นละลายหมดแล้วจึงผสมรวมกับน้ำต้มกล้วยที่เตรียมไว้เติมน้ำทดแทนส่วนที่พร่องไปจนถึง 1,000 ซีซี. ตามเดิม

6. ตั้งไฟจนส่วนผสมทั้งหมดละลายเป็นเนื้อเดียวกัน

7. กรอกอาหารวุ้นใส่หลอดทดลองใช้สำลีทำเป็นจุก ตัดกระดาษหุ้มจุกสำลี พร้อมกับใช้ยางรัดเพื่อป้องกันจุกสำลีเปียก และหลุดซึ่งจะทำให้เชื้ออื่นเข้าปนได้ง่าย

8. นำหลอดอาหารวุ้นที่เตรียมแล้วไปนึ่งฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ด้วยหม้อนึ่งความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 20 นาที

9. ทิ้งให้หลอดอาหารวุ้นเย็นลงจนใช้หลังมือแตะพอทนได้แล้วเอียงหลอดอาหารลงบนกระดาษซึ่งพับเป็นมุมเพื่อทำ slant culture

ข. ขั้นตอนการต่อเชื้อลงบน slant culture โดยทำในตู้เขี่ยเชื้อ

วิธีการ

1. เลือกดอกเห็ดกระด้างดำ, เห็ดเป๋าฮื้อเห็ดนางรม ที่มีขนาดดอกโต สมบูรณ์ไม่มีแมลงกัดกิน เช็ดด้วย แอลกอฮอล์ 70% แล้วเช็ดด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้ออีกครั้ง

2. เอามีดจุ่ม แอลกอฮอล์ 95% แล้วเผาไฟ ปล่อยให้เย็นเอาปลายมีดเจาะตรงกลางลำต้นของดอกเห็ดให้มีขนาดเล็ก 1 ชิ้น จากนั้นใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่จุ่มแอลกอฮอล์ 95% แล้วเผาไฟ หลังจากเย็นแล้วใช้ปลายเข็มแตะชิ้นส่วนของเห็ดที่ถูกตัดไปวางลงบน Slaut culture โดยลนไฟที่ปากหลอดอาหารก่อนจะ เปิดจุกสำลี

3. ทำการต่อเชื้อเห็ดทั้ง 3 ชนิดลงใน slant culture จนหมด

4. บ่มเชื้อในหลอดอาหารที่อุณหภูมิห้อง

ค. ขั้นตอนการเลี้ยงเชื้อใน plate ด้วยอาหาร B.S.A (Banana Sucrose Agar)

วิธีการ

1. เตรียมอาหาร BSA ใส่ flask อุดจุกสำลีและหุ้มกระดาษอีกชั้นหนึ่ง

2. นำ Flask ไปนึ่งฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยหม้อนึ่งความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วใช้เวลา 20 นาที

3. เทอาหารวุ้นจาก flask ลงจานเลี้ยงเชื้อที่อบฆ่าเชื้อแล้วในตู้เขี่ยเชื้อประมาณ 15 ซีซี. ต่อ plate

4. เมื่ออาหารวุ้นแข็งตัวแล้วก็ทำการเขี่ยเชื้อในตู้เขี่ยเชื้อโดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อจุ่มแอลกอฮอล์ 95% แล้วเผาไฟ ปล่อยให้เย็น เขี่ยเชื้อจากหลอดอาหารวางลงกลาง plate อาหารที่เตรียมไว้

5. เก็บจานเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง

ง. ขั้นตอนการเตรียมอาหารวุ้นสูตรต่าง ๆ

- สูตรอาหารวุ้นชนิดต่าง ๆ มีทั้งหมด 15 สูตรดังตาราง

สูตรที่ / ส่วนประกอบ	C-source 20 g.	N-source 0.2gN/l	amino acid 0.2gN/l	KH_2PO_4 0.5g	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5 g.	$CaCl_2$ 0.1g.	thiamine HCl 0.0001 g
1	D-glucose	peptone 20g)	-	✓	✓	✓	✓
2	mannose	peptone	-	✓	✓	✓	✓
3	glucose	peptone	-	✓	✓	✓	✓
4	maltose	peptone	-	✓	✓	✓	✓
5	fructose	peptone	-	✓	✓	✓	✓
6	manitol	peptone	-	✓	✓	✓	✓
7	ethanol	peptone	-	✓	✓	✓	✓
8	xylose	peptone	-	✓	✓	✓	✓
9	oxalate	peptone	-	✓	✓	✓	✓
10	D-glucose	$(NH_4)_2SO_4$ (13.34g)	-	✓	✓	✓	✓
11	D-glucose	NH_4Cl (10.64g)	-	✓	✓	✓	✓
12	D-glucose	NH_4NO_3 (16g.)	-	✓	✓	✓	✓
13	D-glucose	KNO_3 (20.22 g.)	-	✓	✓	✓	✓
14	D-glucose	-	glycine (15.01g.)	✓	✓	✓	✓
15	D-glucose	-	methionine (29.84g.)	✓	✓	✓	✓

ทุกสูตรใช้วุ้น 15 กรัม น้ำ 1000 ml.

– วิธีการเตรียมอาหาร

1. นำส่วนผสมทั้งหมด (ยกเว้นวุ้น) ผสมกับน้ำ 500 ซีซี. กวนละลายจนส่วนผสมทั้งหมดเข้ากันดี

2. ผสมน้ำอีก 500 ซีซี. กับวุ้นเคี่ยวจนวุ้นละลายหมดแล้วจึงผสมกับสารละลายส่วนที่เตรียมไว้ เติมน้ำทดแทนส่วนที่พร่องไปจนถึง 1,000 ซีซี. ตามเดิม ตั้งไฟจนส่วนผสมทั้งหมดละลายเป็นเนื้อเดียวกัน

3. กรอกอาหารวุ้นลงflask อุดจุกสำลีและหุ้มกระดาษ

4. นำ flask ไปนึ่งฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ด้วยหม้อนึ่งความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 20 นาที

5. เทอาหารวุ้นลงจานเลี้ยงเชื้อที่อบฆ่าเชื้อแล้วในตู้เขี่ยเชื้อประมาณ 20 ซีซีต่อ plate เตรียมอาหาร 30 plate ในแต่ละสูตรอาหาร

จ. การเลี้ยงเชื้อเห็ดในอาหารวุ้นสูตรต่าง ๆ

วิธีการ

1. นำเชื้อเห็ดกระด้างดำ, เห็ดเป๋าฮื้อและเห็ดนางรมที่เลี้ยงในอาหาร BSA ซึ่งเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเส้นใยเจริญเกือบเต็ม plate มาใช้ในการทดลอง

2. ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร จุ่มแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซนต์ ลนไฟฆ่าเชื้อทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเจาะเส้นใยบริเวณรอบ ๆ เส้นรอบวงของ colony

3. ใช้เข็มเขี่ยเชื้อจุ่มแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซนต์ แล้วลนไฟจนร้อนแดง ทิ้งให้เย็น แล้วตักส่วนของเส้นใยที่เจาะแล้วมาวางตรงกลางจานเลี้ยงเชื้อซึ่งมีอาหารเตรียมไว้แล้ว โดยให้ส่วนที่มีเส้นใยแตะติดกับผิวหน้าอาหาร ทำ 10 plate ต่อเชื้อเห็ด 1 ชนิดในแต่ละสูตรอาหาร บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง วัดอัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยในวันที่ 1, 4 และ 7

ผลการทดลอง

จากการทดลองใช้ C-source, N-source และ amino acid บางชนิดในการเลี้ยงเชื้อเห็ดกระด้างดำ เห็ดเป๋าฮื้อและเห็ดนางรม ผลการทดลองพบว่าได้ตัดการทดลองตำรับที่ใช้ NH_4SO_4, NH_4Cl และ NH_4NO_3 (สูตรที่ 10, 11, และ 12 ตามลำดับ) เนื่องจากวุ้นไม่แข็งตัว การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดในอาหารวุ้นมีดังนี้คือ

1. ผลการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดในวันที่ 1

ไม่พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติสำหรับอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ด ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1 – 2 (เห็ดกระด้างดำ), ตารางที่ 3 – 4 (เห็ดเป๋าฮื้อ), ตารางที่ 5 – 6 (เห็ดนางรม)

2. ผลการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดในวันที่ 4

2.1 พบว่าเชื้อเห็ดกระด้างดำเจริญได้เร็วที่สุดในอาหารสูตรที่ผสม fructose, peptone (ตารางที่ 7)

2.2 เชื้อเห็ดเป๋าฮื้อเจริญได้เร็วที่สุดในอาหารสูตรที่ใช้ D-glucose, KNO_3 (ตารางที่ 9)

2.3 เชื้อเห็ดนางรมเจริญได้เร็วที่สุดในอาหารสูตรที่ใช้ D-glucose, methionine (ตารางที่ 11)

3. ผลการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดในวันที่ 7

3.1 เห็ดกระด้างดำ ในสูตรอาหารที่ 5, 6, 1, 3, 8, 2, 7, 4, 13, 15, 14, 9 มีอัตราการเจริญเติบโตภายในระยะเวลา 7 วันวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีได้เฉลี่ย 9.00, 7.98, 7,90, 7.85, 7.75, 6.97, 6,78, 6,75, 6,30, 6,22, 5,92, และ

.91 เซ็นติเมตรตามลำดับ จะเห็นได้ว่าสูตรอาหารที่ 5 (fructose และ peptone) เส้นใยของเห็ดมีการเจริญเติบโตเร็วที่สุด โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลาง เฉลี่ย 9.00 เซ็นติเมตร สูตรที่มีอัตราการเจริญเติบโตรองลงมามีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 7.98 – 7.75 เซ็นติเมตร ได้แก่สูตรที่ 6 (manitol และ peptone) สูตรที่ 1 (D-glucose และ peptone) สูตรที่ 3 (glucose และ peptone) สูตรที่ 8 (xylose และ peptone) สูตรที่มีอัตราการเจริญเติบโตถัดไป คือเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 6.98 – 6.22 เซ็นติเมตรได้แก่สูตรที่ 2 (manose และ peptone), สูตรที่ 7 (ethanol และ peptone) สูตรที่ 4 (maltose และ peptone) สูตรที่ 13 (D-glucose และ KNO_3) สูตรที่ 15 (D-glucose และ methionin) ส่วนสูตรที่มีอัตราการเจริญเติบโตน้อยคือเฉลี่ย 5.92 เซ็นติเมตรได้แก่สูตรที่ 14 (D-glucose และ glycine) และสูตรที่มีอัตราการเจริญเติบโตน้อยที่สุด ได้แก่สูตรที่ 9 (oxalate และ peptone) มีค่าเฉลี่ย .91 เซ็นติเมตร

3.2 เห็ดเป๋าฮื้อในสูตรอาหารที่ 14, 8, 5, 13, 1, 2, 6, 4, 7, 3, 15, 9 มีอัตราการเจริญเติบโตภายในระยะเวลา 7 วันวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีได้เฉลี่ย 3.73, 3.45, 3.27, 3.26, 3.11, 2.86, 2.58, 2.35, 2.34, .98, .5 เซ็นติเมตรตามลำดับ จะเห็นได้ว่าสูตรอาหารที่ 14 (D-glucose และ glycine) สูตรที่ 8 (xylose และ peptone) สูตร 5 (fructose และ peptone) สูตรที่ 13 (D-glucose และ KNO_3) มีการเจริญเติบโตเร็วที่สุดโดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 3.37 – 3.11 เซ็นติเมตร สูตรอาหารที่มีอัตราการเจริญเติบโตรองลงมา คือมีค่าเฉลี่ยระหว่าง 2.97 – 2.34 เซ็นติเมตร ได้แก่สูตรที่ 1 (D-glucose และ peptone) สูตรที่ 2 (mannose และ peptone), สูตรที่ 6 (manitol และ peptone), สูตรที่ 4 (maltose และ peptone), สูตรที่ 7 (ethanol และ peptone), สูตรที่ 3 (glucose และ peptone) ส่วนสูตรที่ 15 (D-glucose และ methionin) มีอัตราการเจริญเติบโตน้อยคือมีค่าเฉลี่ย .98 เซ็นติเมตร ส่วนสูตรที่ 9 (oxalate และ peptone) เส้นใยเห็ดไม่มีการเจริญเติบโตเลย

3.3 เห็ดนางรม ในสูตรอาหารที่ 15, 14, 4, 6, 5, 2, 13, 7, 3, 1, 8, 9 มีอัตราการเจริญเติบโต ภายในระยะเวลา 7 วันวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีได้เฉลี่ย

4.50, 3.19, 2.51, 2.39, 2.40, 2.15, 2.13, 2.08, 2.03, 1.88, 1.64, .5 เซ็นติเมตรตามลำดับ จะเห็นได้ว่าสูตรอาหารที่ 15 (D-glucose และ methionine) มีการเจริญเติบโตเร็วที่สุดคือมีค่าเฉลี่ย 4.50 เซ็นติเมตร สูตรอาหารที่ 14 (D-glucose และ glycine), สูตรที่ 4 (maltose และ peptone) มีอัตราการเจริญเติบโตรองลงมาคือมีค่าเฉลี่ยระหว่าง 3.19 – 2.51 เซ็นติเมตร สูตรที่มีอัตราการเจริญเติบโตถัดไปคือเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 2.40 – 1.82 เซ็นติเมตร ได้แก่สูตรที่ 5 (fructose และ peptone) สูตรที่ 6 (manitol และ peptone) สูตรที่ 2 (mannose และ peptone), สูตรที่ 13 (D-glucose และ KNO_3) สูตรที่ 7 (ethanol และ peptone) สูตรที่ 3 (glucose และ peptone), สูตรที่ 1 (D-glucose และ peptone) ส่วนสูตรที่มีอัตราการเจริญเติบโตน้อยคือเฉลี่ย 1.64 เซ็นติเมตร ได้แก่สูตรที่ 8 (xylose และ peptone) ส่วนสูตรที่ 9 (oxalate และ peptone) พบว่าเส้นใยเห็ดไม่มีการเจริญเติบโตเลย

เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของระยะการเจริญเติบโตที่เชื้อเห็ดกระด้างดำ, เห็ดเป๋าฮื้อ และเห็ดนางรมเจริญในจานเลี้ยงเชื้อระยะเวลา 7 วัน ตามวิธีของ Duncan's New Multiple Range Test (ตารางที่ 19, 20, 21 ตามลำดับ) ได้ผลดังนี้คือ

เห็ดกระด้างดำ

1. สูตรที่ 5 แตกต่างจากสูตรที่ 6, 1, 3, 8, 2, 7, 4, 13, 15,14 และ 9 ทางสถิติ
2. สูตรที่ 6, 1, 3, 8 แตกต่างจากสูตรที่ 2, 7, 4, 13, 15, 14 และ 9 ทางสถิติ
3. สูตรที่ 2, 7, 4, 13, 15 แตกต่างจากสูตรที่ 14 และ 9 ทางสถิติ
4. สูตรที่ 6, 1, 3, 8 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ
5. สูตรที่ 2, 7, 4, 13, 15 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

100327

6. สูตรที่ 14 แตกต่างจากสูตรที่ 9 ทางสถิติ

เห็ดเป๋าฮื้อ

1. สูตรที่ 14, 8, 5, 13 แตกต่างจากสูตรที่ 1, 2, 6, 4, 7, 3, 15 และ 9 ทางสถิติ
2. สูตรที่ 1, 2, 6, 4, 7, 3 แตกต่างจากสูตรที่ 15 และ 9 ทางสถิติ
3. สูตรที่ 15 แตกต่างจากสูตรที่ 9 ทางสถิติ
4. สูตรที่ 14, 8, 5, 13 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ
5. สูตรที่ 1, 2, 6, 4, 7, 3, 15, 9 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

เห็ดนางรม

1. สูตรที่ 15 แตกต่างจากสูตรที่ 14, 4, 5, 6, 2, 13, 7, 3, 1, 8 และ 9 ทางสถิติ
2. สูตรที่ 14, 4 แตกต่างจากสูตรที่ 5, 6, 2, 13, 7, 3, 1, 8 และ 9 ทางสถิติ
3. สูตรที่ 5, 6, 2, 13, 7, 3, 1 แตกต่างจากสูตรที่ 8 และ 9 ทางสถิติ
4. สูตรที่ 8 แตกต่างจากสูตรที่ 9 ทางสถิติ
5. สูตรที่ 14, 4 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ
6. สูตรที่ 5, 6, 2, 13, 7, 3, 1 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 1 แสดงอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดกระด้างดำในจานเลี้ยงเชื้อ วันที่ 1 วัด เป็นเซนติเมตร.

Variety	Replication										เฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	.6	.6	.6	.6	.6	.6	.6	.6	.6	.6	.6
2	.7	.6	.7	.7	.6	.6	.5	.5	.5	.5	.59
3	.7	.7	.7	.6	.7	.6	.5	.7	.6	.7	.65
4	.5	.5	.6	.6	.5	.6	.7	.7	.5	.5	.57
5	.7	.8	.6	.5	.7	.7	.7	.6	.8	.8	.69
6	.7	.7	.6	.6	.6	.6	.6	.7	.6	.6	.63
7	.6	.6	.6	.6	.6	.6	.7	.6	.6	.6	.61
8	.7	.7	.6	.6	.7	.7	.6	.7	.6	.7	.66
9	.5	.5	.5	.5	.5	.7	.5	.5	.5	.5	.52
13	.7	.6	.6	.6	.5	.5	.5	.5	.6	.5	.56
14	.7	.6	.6	.6	.6	.6	.6	.6	.7	.6	.62
15	.6	.6	.6	.6	.5	.6	.5	.6	.7	.6	.59

สูตรที่ 10, 11, 12 อาหารไม่แข็งตัว

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดกระด้างดำในจานเลี้ยงเชื้อ วันที่ 1

SOV	df.	S.S.	M.S.	F
Variety	11	.29	.026	006.95
Error	108	404.63	3.74	
Total	119	404.92		

ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

CV = 4.02%

13398

ตารางที่ 3 แสดงอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดเป๋าฮื้อในจานเลี้ยงเชื้อ วันที่ 1 วัดเป็นเซนติเมตร

Variety	Replication										เฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5
2	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5
3	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5
4	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5
5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5
6	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5
7	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5
8	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5
9	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5
13	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5
14	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5
15	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5

ห้องสมุด
สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดเป๋าฮื้อ ในจานเลี้ยงเชื้อ วันที่ 1

SOV	df.	S.S.	M.S.	F
Variety	11	0	0	0
Error	108	0	0	
Total	119	0		

ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 5 แสดงอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดนางรมในจานเลี้ยงเชื้อ วันที่ 1 วัดเป็นเซนติเมตร

Variety	Replication										เฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5
2	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5
3	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5
4	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5
5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5
6	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5
7	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5
8	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5
9	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5
13	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5
14	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5
15	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5

ตารางที่ 6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดนางรมในจานเลี้ยงเชื้อ วันที่ 1

Sov	df.	S.S.	M.S.	F
Variety	11	0	0	0
Error	108	0	0	
Total	119	0		

ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 7 แสดงอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดกระด้างดำ ในจานเลี้ยงเชื้อ วันที่ 4 วัด เป็นเซนติเมตร

Variety	Replication										เฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	4.4	4.5	4.4	4.5	4.5	4	4	4	4.4	4.3	4.3
2	6	4.3	4.1	4.7	4.7	4.4	4.5	4.3	4.3	5.2	4.65
3	4.2	4.4	4.4	4.5	4.4	4.5	4.4	4.5	4.4	4.3	4.4
4	3.9	4	4	4	3.8	3.9	4	4	3.8	4	3.94
5	5.6	5.8	4.4	5.1	5.3	5.5	5.7	5.4	4.8	5.6	5.32
6	4.4	4.4	4	5.1	4	4	4	5.2	4.1	5	4.02
7	4.4	3.4	3.6	3.5	3.8	4	3.6	4.3	3.6	3.5	3.77
8	4.1	4.4	4.4	4.2	5.1	5	5	5.2	4.9	5	4.73
9	.5	.5	.5	.5	.5	1.6	.5	.5	.5	.5	.61
13	4.2	3.6	3.8	3.4	3.2	3.3	3.1	3.8	3.4	3.8	3.56
14	2.7	3	3	3.1	3	3.1	3	3.2	3.1	3	3.02
15	3.6	3	3.5	2.8	1.5	3.2	2.2	4.2	3.4	3.5	3.09

ตารางที่ 8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดกระด้างต่ำในจานเลี้ยง วันที่ 4

Sov	df.	S.S.	M.S.	F
Variety	11	159.13	14.46**	35.26
Error	108	45.16	.41	
Total	119	204.29		

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (Highly significant) ที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

CV = .03%

ตารางที่ 9 แสดงอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดเป๋าฮื้อ ในจานเลี้ยงเชื้อ วันที่ 4 วัดเป็นเซนติเมตร

Variety	Replication										เฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	4.2	1.7	1.6	1.8	1.8	1.6	1.8	1.5	1.7	2	1.97
2	1.6	1.4	1.5	1.6	2	2	2.1	3	2.4	1.7	1.93
3	1.3	1.3	1.7	1.6	1.6	1.6	1.5	1.7	1.5	1.3	1.51
4	1.6	1.8	1.8	1.6	1.9	1.6	1.8	1.6	1.7	1.9	1.73
5	1.1	1.4	1.3	1.4	2.3	1.7	2.1	1.7	1.6	2.1	1.67
6	2.1	2.3	2.5	1.7	1.6	1.6	1.7	2.1	2	1.7	1.93
7	1.6	1.4	1.5	1.7	1.5	1.5	1.5	1.3	1.4	1.3	1.47
8	1.8	1.6	1.9	1.5	1.5	2.2	2.4	1.4	1.7	1.4	1.74
9	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5
13	2.6	2.8	1.4	2	1.6	1.6	2.1	2.2	2.6	2.4	2.13
14	1.8	2.3	2.1	1.9	2	2.3	1.9	2.2	1.8	2	2.03
15	.9	.6	.6	.5	.8	.5	.5	.5	.5	.5	.59

ตารางที่ 10 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดเป๋าฮื้อ ในจานเลี้ยงเชื้อ วันที่ 4

Sov	df.	S.S.	M.S.	F
variety	11	37.17	3.37**	37.44
Error	108	10.18	0.09	
Total	119	47.35		

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (Highly significant) ที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

CV = .09%

ตารางที่ 11 แสดงอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดนางรม ในจานเลี้ยงเชื้อ วันที่ 4 วัด เป็นเซนติเมตร

Variety	Repilcation										เฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	1.1	.8	.9	1	1.1	1	.9	1.1	1	1.2	1.01
2	1.2	1.1	1.1	1.4	1.3	1	.9	1.1	1.1	1.2	1.14
3	.8	1.3	1.4	1.1	1	1	1	1.1	1.2	1	1.09
4	1.3	1.4	1.6	1.8	1.8	1.6	1.9	1.6	1.8	1.6	1.64
5	1	1.2	1.4	1.4	1.4	1.2	1.1	1.5	1.1	1.2	1.25
6	1.5	1.2	1.4	1.5	1.6	1.9	1.9	1.4	1.6	1.9	1.59
7	1.6	1	1	1	1	1.1	1	.7	1	.9	1.03
8	1.3	1.2	1	.7	.8	1.2	.7	.7	.8	.8	.92
9	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5
13	1	1.1	1	.9	1	1.3	1.4	1.1	1.1	1.1	1.1
14	.6	.9	1.7	1.5	1.2	1.4	1.6	1.7	1.6	2	1.42
15	4.6	4.5	4.4	3	3.1	4	.6	.6	.7	.8	2.63

ตารางที่ 12 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดนางรมในจานเลี้ยงเชื้อ วันที่ 4

Sov	df.	S.S	M.S	F
Variety	11	32.59	2.95**	9.83
Error	108	32.46	.30	
Total	119	65.05		

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (Highly significant) ที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

CV = .28%

ตารางที่ 13 แสดงอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดกระด้างด่าง ในจานเลี้ยงเชื้อ วันที่ 7 วัดเป็นเซนติเมตร

Variety	Replication										เฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	8.2	8.3	7.7	8	8.5	7.5	7.6	7.4	8.1	7.7	7.90
2	8.2	7.8	5.2	6.5	7.3	5.7	6.5	7.5	7	8.1	6.98
3	7.7	8.4	7.6	7.7	7.8	7.7	7.6	8.2	7.8	8	7.85
4	6.5	6.9	6.5	7	7.1	7	6.7	7	6.2	6.6	6.75
5	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
6	7.6	7.8	7.5	8.5	7.5	6.9	8	8.5	9	8.5	7.98
7	7.5	6.5	6.2	6.1	6.7	7	7	7.7	6.8	6.3	6.78
8	7.2	7.3	7.3	7.9	7.1	8.2	7.5	8	8.5	8.5	7.75
9	.5	.5	.5	.5	.5	4.6	.5	.5	.5	.5	.91
13	7.1	6.4	6.6	6.2	5.8	5	6	6.7	6.5	6.7	6.3
14	6.7	5.9	5.8	5.7	5.6	5.8	5.6	6	6.4	5.7	5.92
15	6.1	6	6.2	5.5	4.8	6.3	5.2	7.6	7.5	7	6.22

ตารางที่ 14 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดกระด้างดำในจานเลี้ยงเชื้อ วันที่ 7

Sov	df.	S.S	M.S	F
Variety	11	454.03	41.27**	43.79
Error	108	48.41	.44	
Total	119	502.44		

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (Highly significant) ที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

CV = 0.01%

ตารางที่ 15 แสดงอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดเป๋าฮื้อในจานเลี้ยงเชื้อ วันที่ 7 วัดเป็นเซนติเมตร

Variety	Replication										เฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	8	2.7	2.6	2.5	2.4	2.5	2.4	2.4	2.7	2.9	3.11
2	2.7	2.4	2.7	2.8	2.8	3.1	3.3	4.1	3.2	2.6	2.97
3	2.2	2.4	2.2	2.7	2.3	2.5	2.2	2.3	2.1	2.5	2.34
4	2.5	2.5	2.5	2.8	2.8	2.9	2.5	2.5	2.4	2.4	2.58
5	3.5	2.5	4	3.6	2.6	3.2	3.5	2.9	3.2	3.7	3.27
6	3	2.8	3.3	2.5	2.5	2.9	3	3.2	2.7	2.7	2.86
7	2.4	2.4	2.5	2.2	2.1	2.6	2.1	2.3	2.4	2.5	2.35
8	3	3.7	3.8	.4	3.4	3.2	4	.3	3.4	.3	3.45
9	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5
13	3.2	3.2	2.4	3.5	2.3	2.6	3.4	4.2	3.8	.4	3.26
14	3.7	4.2	3.8	3.7	3.5	.4	3.8	3.4	3.7	3.5	3.7
15	1.5	1.1	.7	1	1.2	.8	1.3	.8	.7	.7	.98

ตารางที่ 16 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดเป๋าฮื้อในจานเลี้ยงเชื้อวันที่ 7

Sov	df.	S.S.	M.S.	F
Variety	11	105.1	9.55**	27.28
Error	108	38.2	.35	
Total	119	143.3		

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (Highly Significant) ที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

CV = .07%

ตารางที่ 17 แสดงอัตราการเจริญเติบโต ของเชื้อเห็ดนางรม ในจานเลี้ยงเชื้อ วันที่ 7 วัด เป็นเซนติเมตร

Variety	Replication										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
1	2.1	1.3	2.3	2.1	1.7	2.3	1.5	1.7	1.8	2	1.88
2	3	2.2	2.3	2.5	2.4	2.1	2	1.7	1.8	1.5	2.15
3	2.4	1.8	2.2	1.7	2.1	1.7	2.3	2	2.3	1.9	2.03
4	2.1	2.4	2.7	2.8	2.8	2.5	2.4	2.3	2.7	2.4	2.51
5	2	2.4	2.6	3.2	2.9	2.1	2.4	2.7	1.6	2.1	2.4
6	.2	2	2.1	2.3	2.7	2.7	2.4	2.9	1.9	2.9	2.39
7	2.6	2.5	2.1	2	1.9	2.1	2	2.1	1.8	1.7	2.08
8	2.3	2.4	2	1.5	2.7	1.6	.7	1	1.2	1	1.64
9	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5
13	2.9	2.5	.1	1.6	2.6	2.5	2.5	1.5	2.7	1.5	3.26
14	2.5	4	3.6	3.4	1.5	2.9	3.3	4	3.3	3.4	3.19
15	7.3	6.8	1.7	5.8	6.8	6.7	1.3	1.4	1	1.2	4.5

ตารางที่ 18 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน อัตราการเจริญเติบโต ของเชื้อเห็ดนางรม ในจานเลี้ยงเชื้อ วันที่ 7

Sov.	df.	S.S.	M.S.	F
Variety	11	102.92	9.35	22.26
Error	108	45.73	.42	
Total	119	145.65		

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (Highly significant) ที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

C.V. = .09%

ตารางที่ 19 ผลของค่า SSR และ LSR เพื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New multiple Range Test ในจานเลี้ยงเชื้อของเห็ดกระ — ด้างดำ

P	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12
SSR	3.64	3.80	3.90	3.98	4.04	4.09	4.14	4.17	4.20	4.26
LSR	.69	.72	.74	.76	.77	.78	.79	.79	.80	.80

อันดับที่	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
สูตร	5	6	1	3	8	2	7	4	13	15	14	9
ค่าเฉลี่ย	9	7.98	7.90	7.85	7.75	6.98	6.78	6.75	6.30	6.22	5.92	.91

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ไม่อยู่บนเส้นตรง เดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

ส่วนค่าเฉลี่ยที่อยู่บนเส้นตรง เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

ตารางที่ 20 ผลของค่า SSR และ LSR เพื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ในจานเลี้ยงเชื้อของเห็ดเป๋าฮื้อ

P	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12
SSR	3.64	3.80	3.90	3.98	4.04	4.09	4.14	4.17	4.20	4.26
LSR	.62	.72	.66	.67	.69	.70	.70	.71	.71	.72

อันดับที่	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
สูตร	14	8	5	13	1	2	6	4	7	3	15	9
ค่าเฉลี่ย	3.73	3.45	3.26	3.11	2.97	2.86	2.58	2.58	2.35	2.34	.98	.5

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ไม่อยู่บนเส้นตรงเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

ส่วนค่าเฉลี่ยที่อยู่บนเส้นตรงเดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

ตารางที่ 21 ผลของค่า SSR และ LSR เพื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New multiple Range Test ในจานเลี้ยงเชื้อ ของเห็ดนางรม

P	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12
SSR	3.64	3.80	3.90	3.98	4.04	4.09	4.14	4.17	4.20	4.26
LSR	.65	.68	.70	.68	.73	.74	.75	.75	.76	.77

อันดับที่	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
สูตร	15	14	4	5	6	2	13	7	3	1	8	9
ค่าเฉลี่ย	4.50	3.19	2.51	2.40	2.39	2.15	2.13	2.08	2.03	1.88	1.64	.5

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ไม่อยู่บนเส้นตรงเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

ส่วนค่าเฉลี่ยที่อยู่บนเส้นตรงเดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาพบว่าการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดทั้ง 3 ชนิด คือเห็ดกระด้างดำ เห็ดเป๋าฮื้อ และเห็ดนางรม ในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 12 สูตร แตกต่างกัน ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่าการใช้ส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อต่าง เพื่อเลี้ยงเชื้อเห็ดแต่ละชนิด มีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดต่างกัน

สูตรอาหารที่ศึกษามีทั้งหมด 15 สูตร แต่ปรากฏว่าสูตรที่ใช้ $(NH_4)_2SO_4$, NH_4Cl และ NH_4NO_3 เป็น N-source อาหารวุ้นไม่แข็งตัว อาจเป็นเพราะเกิดปฏิกริยาเคมีไปสลายความแข็งตัวของวุ้น ซึ่งน่าที่จะได้มีการศึกษาต่อไป ที่เหลืออีก 12 สูตร พบว่าสำหรับเห็ดกระด้างดำ สูตรที่ใช้ fructose เป็น C-source และ peptone เป็น N-source มีการเจริญเติบโตดีมาก คือเส้นใยเห็ดสามารถเจริญเต็ม plate ภายในระยะเวลา 7 วัน พบว่าเห็ดเป๋าฮื้อเจริญเติบโตได้ดีในอาหารตำรับที่ประกอบด้วย D-glucose, glycine; xylose peptone; fructose, peptone; และ D-glucose, KNO_3 ส่วนเห็ดนางรมใช้อาหารที่เติม D-glucose และ methionine เชื้อเห็ดสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุด

ในการศึกษาครั้งนี้ใช้ระยะเวลาบ่มเชื้อเห็ดประมาณ 7 วัน ซึ่งพบว่าเห็ดป่าหรือเห็ดกระด้างดำที่ใช้ทดลองมีแนวโน้มเจริญเติบโตได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับเห็ดเป๋าฮื้อและเห็ดนางรม ดังจะเห็นว่าเส้นใยเห็ดสามารถเจริญได้เต็ม plate ในขณะที่เห็ดเป๋าฮื้อและเห็ดนางรมมีการเจริญของเส้นใยวัดได้เส้นผ่าศูนย์กลาง เพียง 3.73 ซ.ม. และ 4.50 ซ.ม. ตามลำดับ ผลจากการทดลองแสดงให้เห็นว่า สามารถใช้สูตรอาหารวุ้นซึ่งประกอบไปด้วย fructose, peptone, KH_2PO_4, $MgSO_4.7H_2O$, $CaCl_2$ และ thiamine HCl ในการเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดกระด้างดำได้ผลดี การเพิ่ม amino acid เช่น glycine ลงไปในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อเห็ดเป๋าฮื้อ และการเพิ่ม methionine ลงไปในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อเห็ดนางรม มีผลทำให้เส้นใยเห็ดดังกล่าวมีการเจริญเติบโตได้ดีกว่า control อย่างไรก็ตามสูตรอาหารที่ใช้ทดลองเหล่านี้พบว่าเส้นใยของเห็ดเป๋าฮื้อและเห็ดนางรมยังคงเจริญได้ช้าในช่วงระยะเวลา 7 วันน่าจะได้มีการศึกษาต่อไปเพื่อหาสูตรอาหารที่สามารถเร่งการเจริญเส้นใยของเห็ดทั้งสองได้เร็วกว่านี้

สรุปผล

ผลการศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อของเห็ด 3 ชนิด คือ เห็ดกระด้างดำ, เห็ดเป๋าฮื้อและเห็ดนางรมจากการวิเคราะห์ Analysis of variance และการเปรียบเทียบตามความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของอัตราการเจริญเติบโต เป็นเรนดิเมตรในจานเลี้ยงเชื้อ ตามวิธี Duncan's new multiple range test

พบว่าเชื้อเห็ดกระด้างดำมีแนวโน้มเจริญเติบโตเร็วที่สุดในสูตรอาหารที่มี fructose เป็น C-source และpeptone เป็น N-source การเพิ่ม amino acid ลงไปในสูตรอาหารมีแนวโน้มช่วยส่งเสริมการเจริญของเชื้อเห็ดเป๋าฮื้อและเห็ดนางรม เมื่อเติม glycine และ methionine ลงไปตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

1. ดีพร้อม ไชยวงศ์เกียรติ. 2519. การเพาะเห็ดและเห็ดบางชนิดในประเทศไทย. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, บางเขน กรุงเทพฯ.

2. ดีพร้อม ไชยวงศ์เกียรติ. 2523. การเพาะเห็ดและเห็ดบางชนิดในประเทศไทย. ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, บางเขน กรุงเทพฯ.

3. คุภัย รดโนภาส. 2521. การผลิตเห็ด. ภาควิชาณีฏวิทยาและโรคพืช, คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น.

4. สุมิตร บุญน้ำ. 2520. ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับเห็ด เพื่อนเห็ด ชุมนุมอาสาพัฒนาแม่โจ้, สถาบันเทคโนโลยีการเกษตรแม่โจ้ เชียงใหม่.

5. สุรพล อุปดิสสกุล. 2521. สถิติการวางแผนการทดลองเบื้องต้น. อาจารย์ผู้บรรยายและอบรมสถิติการวางแผนการทดลอง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

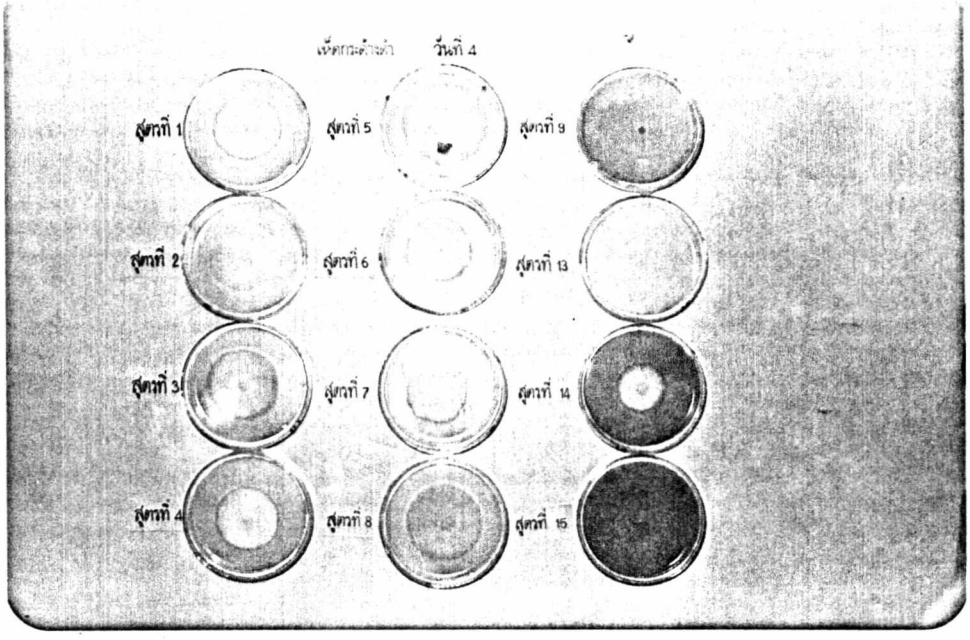
6. หง่ง หุ่นภักดี, ประเสริฐ วุฒิคัมภีร์. 2526. เกล็ดความรู้เรื่องการเพาะเห็ดจากประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน วารสารเกษตรพระจอมเกล้า ปีที่ 1 กันยายน – ธันวาคม หน้า 17 – 23

7. อนงค์ จันทร์ศรีกุล. 2520. เห็ดเมืองไทย สาขาโรคพืช กองวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร.

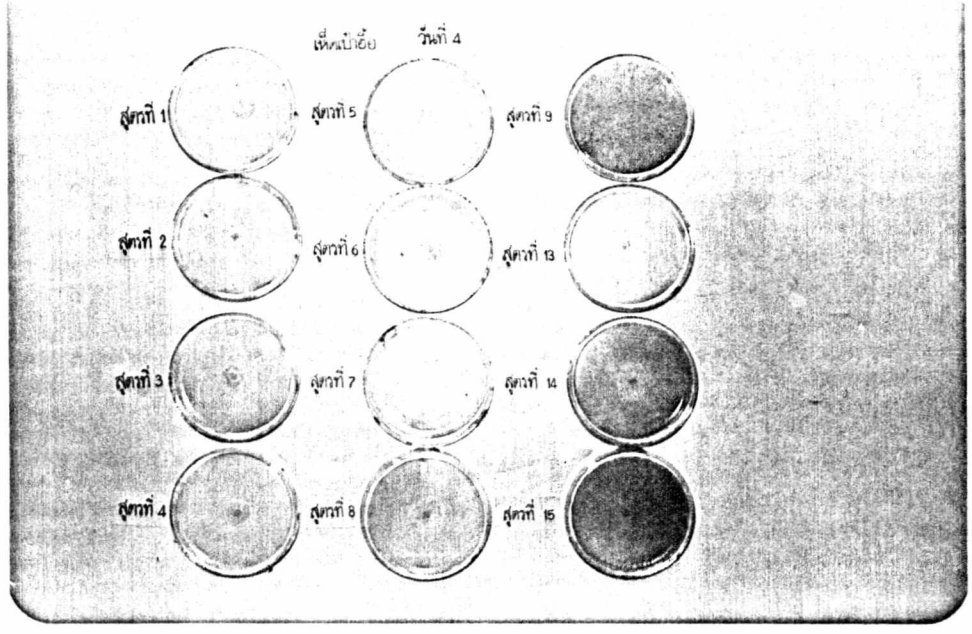
8. Kazuya Hashimoto, Zenjiro Takahashi. 1974. Study on the growth of Pleurotus ostreatus. Mushroom Science IX (Part I):585-593.

9. S.G. Yeo and W.A. Hages. 1981. Solubilization and utilization of phosphorus by Agaricus bisporus (Lange) plant. Mushroom Science XI : 73-75.

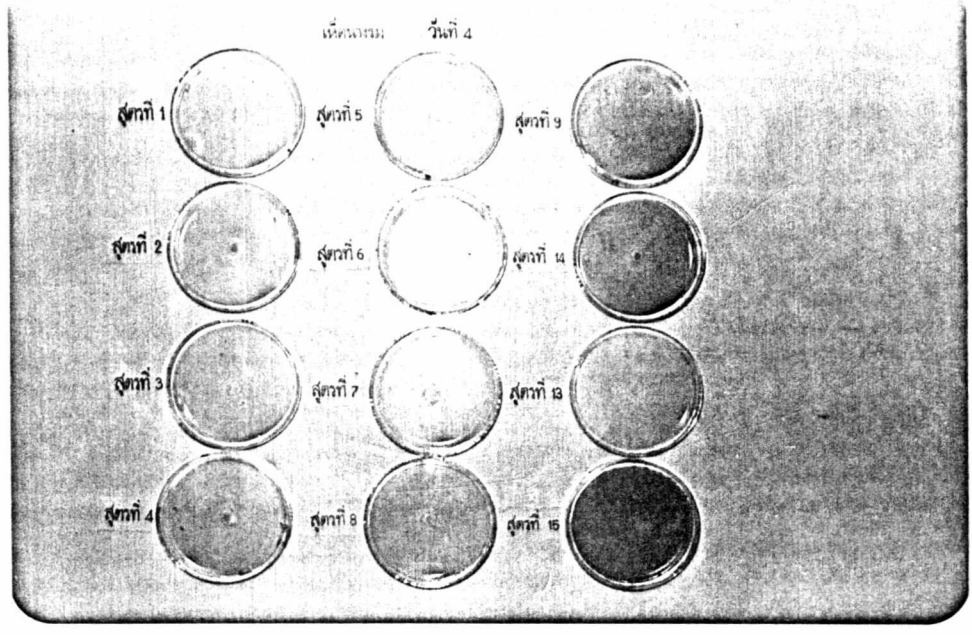
ภาคผนวก



เส้นใยเชื้อเห็ดกระด้างดำ (อายุ 4 วัน)



เส้นใยเชื้อเห็ดเป๋าฮื้อ (อายุ 4 วัน)



เส้นใยเชื้อเห็ดนางรม (อายุ 4 วัน)