บทที่ 5
อภิปรายผลการวิจัย

1. การศึกษาและเก็บรวบรวมข้อมูลของเชื้อราปนเปื้อนตลอดกระบวนการผลิตเห็ดยานางิและเห็ดนางรมดอย

จากการสำรวจเชื้อราปนเปื้อนในกระบวนการผลิตเห็ดยานางิและเห็ดนางรมดอย พบเชื้อราปนเปื้อนในขั้นตอนการผลิตหัวเชื้อวุ้น ขั้นตอนการผลิตหัวเชื้อข้าวฟ่าง และขั้นตอนการผลิตก้อนเชื้อ ตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ ถึง ตุลาคม พ.ศ.2551 จากนั้นสุ่มเลือกตามลักษณะของการปนเปื้อน (ตาราง 3.1) พบว่าขั้นตอนการผลิตหัวเชื้อวุ้นเป็นขั้นตอนแรกเริ่มถึงแม้จะมีแผนการผลิตปริมาณน้อย เพราะในการนำไปใช้หัวเชื้อวุ้นหนึ่งขวดสามารถผลิตหัวเชื้อข้าวฟ่างได้หลายขวด ฉะนั้นความเสียหายในกระบวนการผลิตนั้นสาเหตุหลักเกิดมาจากการผลิตหัวเชื้อวุ้นและการใช้หัวเชื้อข้าวฟ่างที่มีเชื้อราปนเปื้อนที่แฝงตัวอยู่ซึ่งสามารถสังเกตได้ยากเมื่อเชื้อเห็ดเจริญเต็มขวดแล้ว รวมไปถึงความผิดพลาดของการปลูกเชื้อยังขาดความรอบคอบและความชำนาญของบุคลากร วัสดุเพาะก็เป็นอีกหนึ่งสาเหตุเพราะมีการสะสมของเชื้อราปนเปื้อน หรือผ่านขั้นตอนการนึ่งฆ่าเชื้ออุปกรณ์ที่ไม่สมบูรณ์ (อภิรัชต์, 2551) หรือการนึ่งฆ่าเชื้อในวัสดุเลี้ยงเชื้อด้วยวิธีการและความร้อนไม่เหมาะสม การไม่ทำความสะอาดบริเวณพื้นที่การผลิตเชื้อเห็ดเป็นสาเหตุหลักทำให้เกิดการปนเปื้อนทั้งในการเลี้ยงเชื้อเห็ดในอาหารวุ้นและการเลี้ยงเชื้อเห็ดในเมล็ดข้าวฟ่างเกิดการสูญเสียได้ง่าย อีกหนึ่งสาเหตุที่เกิดขึ้นกับ กลุ่มสายสัมพันธ์การเพาะเห็ดบ้านธิ จังหวัดลำพูนคือ การจัดการก้อนเชื้อเห็ดเก่าล่าช้า ทำให้มีการปล่อยทิ้งไว้ในโรงเรือนเป็นแหล่งสะสมโรคและแมลง (สมศรี, 2553)

จากการแยกเชื้อที่เข้าปนเปื้อนในขั้นตอนการผลิตเห็ดพบเชื้อราปนเปื้อนที่สามารถพบได้ทุกครั้งที่มีการตรวจเช็คและมีจำนวนที่แตกต่างกันได้แก่เชื้อ *Aspergillus* sp. เป็นเชื้อปนเปื้อนที่สามารถพบได้โดยส่วนใหญ่ซึ่งสร้างความเสียหายเป็นอย่างมากในแต่ละขั้นตอนการผลิตเห็ด อันเนื่องจากเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ตามธรรมชาติสามารถพักตัวรอการปนเปื้อนได้ตลอดเวลา มีการแพร่กระจายระบาดในแหล่งเพาะเห็ดและมีความคงทนต่อแอลกอฮอล์และคลอรีนแม้จะมีการฆ่าเชื้ออย่างต่อเนื่องก็ตาม ส่วนเชื้อปนเปื้อนที่พบได้ค่อนข้างน้อยคือ *Rhizopus* sp. เพราะถึงแม้จะสามารถพักตัวอยู่ในธรรมชาติก็ตามหรือมีการสร้างสปอร์ที่มากมาย แต่เชื้ออ่อนแอต่อแอลกอฮอล์และคลอรีน

จึงทำให้สร้างความสูญเสียได้น้อยกว่าเชื้อชนิดอื่น ทั้งนี้เชื้อปนเปื้อนที่สามารถแยกได้คือ *Aspergillus fumigatus*, *A. sclerotiorum*, *Aspergillus* sp., *Botryodiplodia* sp., *Monilia* sp., *Penicillium* sp., *P. citrinum*, *Rhizopus stolonifer*, *Trichoderma atroviride* และ *T. virens* สามารถปนเปื้อนในทุกขั้นตอนการผลิตเห็ดทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยของเชื้อปนเปื้อนเอง และปัจจัยอื่น เช่น อุณหภูมิ ความชื้นที่ใช้ในการบ่มเชื้อการเขี่ยเชื้อในแต่ละขั้นตอนการผลิต สิ่งแวดล้อมที่มีสภาพเป็นป่าสามารถเป็นที่อยู่อาศัยของศัตรูเห็ดได้ตลอดทั้งปี รวมถึงข้อผิดพลาดระหว่างการปฏิบัติในแต่ละขั้นตอนการผลิตเห็ดเองด้วย

การเก็บรวบรวมตัวอย่างในแต่ละขั้นตอนการผลิตเห็ดแสดงให้เห็นว่าเชื้อปนเปื้อนทั้งหมดส่วนใหญ่ เช่น *A. fumigatus*, *Monilia* sp. และ *Penicillium* sp. เป็นเชื้อที่สร้างความเสียหายมากในขั้นตอนการผลิตเห็ดของศูนย์วิจัยเห็ดเขตหนาว อันเนื่องมาจากมีการใช้สถานที่และเครื่องมือต่างๆในแต่ละขั้นตอนการผลิตยาวนานนับ 30 ปี และยังขาดการบำรุงรักษาอนึ่งเชื้อปนเปื้อนมีแหล่งอาศัยสะสมในธรรมชาติทั้งในวัสดุการเพาะ เมล็ดข้าวฟ่าง อาหารเสริม วัสดุอุปกรณ์ในการเพาะและทำเชื้อเห็ด และปัจจัยที่สำคัญมากที่สุดอย่างหนึ่งคือการนึ่งฆ่าเชื้อเพื่อกำจัดเชื้อในวัสดุก่อนการเลี้ยงเชื้อแบบ sterilization เพราะเมื่อศึกษาระยะการเจริญของเชื้อปนเปื้อนเทียบกับระยะเวลาพบว่าเชื้อปนเปื้อนเจริญได้ดีและรวดเร็วบนอาหารเลี้ยงเชื้อเห็ดชนิดต่างๆในแต่ละขั้นตอนการผลิต

2. การศึกษาผลของการปนเปื้อนในหัวเชื้อเห็ด

จากการคัดเลือกเชื้อราปนเปื้อนในขั้นตอนการผลิตหัวเชื้อวุ้น ขั้นตอนการผลิตหัวเชื้อข้าวฟ่าง และขั้นตอนการผลิตหัวเชื้อขี้เลื่อย ของการผลิตเชื้อเห็ดยานางิและเชื้อเห็ดนางรมดอย โดยภาพรวมพบว่าเชื้อราชนิดต่างๆเมื่อเข้าปนเปื้อนเชื้อเห็ดยานางิและเห็ดนางรมดอย มีความหนาแน่นของเส้นใย การสร้าง conidia และความสามารถรุกรานจัดอยู่ในระดับ 3 คือ 60-90 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเชื้อปนเปื้อนสามารถใช้ประโยชน์ในอาหารเลี้ยงเชื้อวุ้นได้ดีกว่าจึงเจริญอย่างรวดเร็วและแย่งอาหารมากกว่าเชื้อเห็ด เพราะ spore ของเชื้อราปนเปื้อนมีขนาดเล็กมากมีจำนวนมาก และสามารถแพร่กระจายไปได้ง่ายอย่างรวดเร็ว ส่วนการปนเปื้อนในหัวเชื้อข้าวฟ่างเห็ดยานางิมีความหนาแน่นของเส้นใย การสร้าง conidia และความสามารถรุกรานจัดอยู่ในระดับ 3 คือ 30-60 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการปนเปื้อนในหัวเชื้อเห็ดนางรมดอยมีความหนาแน่นของเส้นใย 10-30 เปอร์เซ็นต์ การสร้าง conidia 60-90 เปอร์เซ็นต์ และความสามารถรุกราน 30-60 เปอร์เซ็นต์ เพราะเมล็ดข้าวฟ่างเรียงตัวกันแน่นภายในขวดหัวเชื้อสปอร์ของเชื้อปนเปื้อนจึงกระจายได้เฉพาะพื้นที่ผิวด้านบนของหัวเชื้อข้าวฟ่างเท่านั้น ส่วนการสร้างเส้นใยเชื้อเห็ดและเชื้อปนเปื้อนสามารถเจริญได้ในอาหารเมล็ดข้าวฟ่างระยะที่ใกล้เคียงกัน และการปนเปื้อนในหัวเชื้อขี้เลื่อยพบว่าผลของเชื้อราชนิดต่างๆต่อหัวเชื้อเห็ด

ยานางิในภาพรวมความหนาแน่นของเส้นใย การสร้าง conidia และความสามารถรุกรานจัดอยู่ในระดับ 3 คือ 30-60 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการปนเปื้อนในหัวเชื้อเห็ดนางรมดอยมีความหนาแน่นของเส้นใย 30-60 เปอร์เซ็นต์ การสร้าง conidia 30-60 เปอร์เซ็นต์ และความสามารถรุกราน 10-30 เปอร์เซ็นต์ เพราะเชื้อเห็ดสามารถเจริญได้รวดเร็วกว่าเชื้อปนเปื้อน โอกาสที่จะเจริญเข้าปนเปื้อนจึงมีน้อยหากเชื้อเห็ดเจริญบนขี้เลื่อยแล้ว เนื่องมาจากเชื้อปนเปื้อนส่วนใหญ่จะสร้างสปอร์มากกว่าการสร้างเส้นใยเมื่อเกิดถุงรั่วหรือขาดเฉพาะบริเวณเชื้อปนเปื้อนจึงเจริญได้เฉพาะจุดเท่านั้น ซึ่งต่างจากเชื้อเห็ดที่สร้างเส้นใยเป็นหลักไปจนเกิดดอกเห็ดที่แก่แล้วจึงสร้างสปอร์

3. การศึกษาผลของการปนเปื้อนต่อการให้ผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยวและการป้องกันการเสียสภาพโดยใช้แคลเซียมคลอไรด์

การเก็บผลผลิตเห็ดนางรมดอยจากก้อนเชื้อปกติที่ถูกทำให้ปนเปื้อนด้วยเชื้อ *A. fumigatus* หลังการฉีดพ่นด้วย $CaCl_2$ ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยเก็บเกี่ยวผลผลิตรุ่นแรกของดอกเห็ดที่อายุ 4 วัน พบว่าที่อายุการฉีดพ่น 1 วันก่อนการเก็บเกี่ยว การฉีดพ่น $CaCl_2$ที่ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ ได้ผลผลิต 37.7, 37.0, 35.5, 29.6 และ 29.3 กรัม ตามลำดับ ก้อนเชื้อปกติที่ถูกทำให้ปนเปื้อนด้วยเชื้อ *A. fumigatus* ที่ไม่ได้ทำการฉีดพ่น ได้ผลผลิต 34.2 กรัม เนื่องจากการใช้ $CaCl_2$ ที่อายุการฉีดพ่นน้อยดอกเห็ดสามารถดูดซึมไปใช้ต่อเนื่องได้ดีจนถึงอายุเก็บเกี่ยวและไม่เกิดความผิดปกติใดๆจึงสามารถรักษาปริมาณน้ำหนักของผลผลิตได้ดี

เมื่อดอกเห็ดมีการเจริญเติบโตเกิดการรวมตัวของเส้นใยและพัฒนาไปสู่การเจริญพันธุ์มากขึ้นตามระยะเวลาการเปิดดอกทำให้โครงสร้างและความแข็งแรงของตัวดอกเห็ดมีมากขึ้นตามไปด้วย การเก็บเกี่ยวดอกเห็ดนางรมดอยขนาดเล็ก กลาง และใหญ่ จากก้อนเชื้อที่ถูกทำให้ปนเปื้อนด้วยเชื้อ *A. fumigatus* หลังการฉีดพ่นด้วย $CaCl_2$ ที่ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ระยะ 1 วันก่อนการเก็บเกี่ยว โดยเก็บเกี่ยวผลผลิตรุ่นแรกของดอกเห็ดที่อายุ 4 วัน พบว่าดอกเห็ดทั้ง 3 ขนาด มีน้ำหนัก 3.5, 6.0 และ 11.4 กรัม ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าดอกเห็ดที่เก็บเกี่ยวจากก้อนเชื้อที่ถูกทำให้ปนเปื้อนด้วยเชื้อ *A. fumigatus* แต่ไม่ได้ทำการฉีดพ่น มีน้ำหนักเพียง 1.5, 2.7 และ 3.7 กรัม โดยดอกเห็ดที่ได้มีน้ำหนักเพิ่มสูงขึ้นตามระยะที่ทำการฉีดพ่นก่อนการเก็บเกี่ยว

จากการวัดค่าความแน่นเนื้อของดอกเห็ดนางรมดอย บริเวณหมวกเห็ดและบริเวณก้านเห็ด โดยการเก็บเกี่ยวและรักษาดอกเห็ดนางรมดอย 3 ขนาด จากการเพาะบนวัสดุเพาะและทดสอบฉีดพ่นด้วย $CaCl_2$ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ทั้ง 3 ระยะก่อนการเก็บเกี่ยว หลังจากการเก็บรักษาไว้ในกล่องพลาสติกใส (polypropyrine) ที่อุณหภูมิ 4, 10 และ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4, 8 และ 12 วัน

พบว่า โดยเฉลี่ยขนาดของดอกเห็ดนางรมดอยทั้ง 3 ขนาด ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ทั้ง 3 ระยะก่อนการเก็บเกี่ยว มีค่าความแน่นเนื้อบริเวณหมวกเห็ดและบริเวณก้านต่างกันไปตามขนาดของดอกเห็ด โดยดอกเห็ดขนาดใหญ่จะมีค่าความแน่นเนื้อมากที่สุด และเริ่มลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษา และการวัดค่าความสว่างของดอกเห็ดนางรมดอย บริเวณหมวกเห็ด ครีบ และก้าน โดยเฉลี่ยแล้วหลังการเก็บเกี่ยวและรักษาดอกเห็ดนางรมดอย 3 ขนาด ที่ได้จากการเพาะบนวัสดุเพาะและทดสอบฉีดพ่นด้วยสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ทั้ง 3 ระยะก่อนการเก็บเกี่ยว หลังจากนั้นเก็บรักษาไว้ในกล่องพลาสติกใส (polypropyrine) ที่อุณหภูมิ 4, 10 และ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 2 และ 4 วัน พบว่าความสว่างของดอกเห็ดนางรมดอยทั้ง 3 ขนาด มีแนวโน้มมากขึ้นตามลำดับตามระดับความเข้มข้นที่เพิ่มสูงขึ้น

การเก็บรักษาดอกเห็ดนางรมดอยไว้ที่อุณหภูมิต่ำดอกเห็ดนางรมดอยจะมีค่าความแน่นเนื้อบริเวณหมวกเห็ดและก้านโดยเฉลี่ยนั้นมากขึ้นและลดลงตามอุณหภูมิการเก็บรักษา ในแต่ละระดับความเข้มข้นต่างๆ ทั้ง 3 ระยะก่อนการเก็บเกี่ยว (ดนัยและนิธิยา, 2548) ทั้งนี้การเก็บรักษาโดยใช้ความเย็นหรืออุณหภูมิต่ำจะช่วยชะลอปฏิกิริยาทางเคมีต่างๆ ของกระบวนการเมตาบอลิซึมภายในเซลล์ให้ช้าลง ทำให้ผลผลิตนิ่มและอ่อนตัวช้าลงเพราะอุณหภูมิต่ำมีส่วนในการควบคุมการทำงานของเอนไซม์ต่างๆในปฏิกิริยาเคมีให้ช้าลงการเก็บรักษาดอกเห็ดนางรมดอยเป็นเวลานานขึ้น ความแน่นเนื้อของดอกเห็ดนางรมดอยบริเวณหมวกเห็ดและบริเวณก้านเห็ดมีแนวโน้มที่ลดลง เนื่องจากการเก็บดอกเห็ดนางรมดอยไว้เป็นระยะเวลานานขึ้นที่อุณหภูมิสูงทำให้การสูญเสียน้ำของดอกเห็ดนางรมดอยมีมากขึ้น ในสภาพที่มีอุณหภูมิสูงอากาศสามารถอุ้มน้ำได้มากผลิตผลจึงมีการสูญเสียน้ำให้บรรยากาศโดยรอบได้ง่ายการลดอุณหภูมิของอากาศให้ต่ำลงทำให้ความสามารถในการอุ้มน้ำของอากาศลดลง (ดนัย, 2540; ยงยุทธ, 2539) ส่วนระยะเวลาในการเก็บรักษาดอกเห็ดนางรมดอยมีผลต่อความสว่างของดอกเห็ดนางรมดอย โดยค่าความสว่างจะลดลงตามจำนวนวันที่มากขึ้นและที่อุณหภูมิ 4 C° มีความสว่างมากกว่าที่ 10 C° และ 15 C° ตามลำดับ เนื่องจากที่อุณหภูมิต่ำมีผลชะลอการทำงานของเอนไซม์ และการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีต่างๆของกระบวนการเมแทบอลิซึมภายในเซลล์ให้เกิดช้าลงทำให้ผลไม้แก่และสุกช้าลง ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงสีจึงเกิดน้อยกว่าที่อุณหภูมิสูง (ดนัย, 2540)

การเก็บดอกเห็ดนางรมดอยทั้งจากก้อนเชื้อที่ถูกทำให้ปนเปื้อนด้วยเชื้อ *A. fumigatus* หลังการฉีดพ่นด้วย $CaCl_2$ ความเข้มข้นต่างๆ ระยะ 1, 2 และ 3 วันก่อนการเก็บเกี่ยว และวัดคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวจากการเปลี่ยนแปลงของค่าความแน่นเนื้อและค่าความสว่าง เมื่อถึงระยะเก็บเกี่ยวดอกเห็ดอายุ 4 วัน พบว่าที่ระยะ 1 วันก่อนการเก็บเกี่ยว ระดับความเข้มข้น $CaCl_2$ 2.5% อายุการเก็บรักษา 4, 8 และ 12 วัน ความแน่นเนื้อมีค่า 42, 38 และ 37 นิวตัน ความสว่าง มีค่า 82, 81 และ 81 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ให้ผลดีที่สุด ลำดับรองลงมาคือที่ ระยะ 2 วันก่อนการเก็บเกี่ยว ความแน่นเนื้อมีค่า 38, 35

และ 20 นิวตัน ความสว่างมีค่า 79, 78 และ 78 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และที่ ระยะ 3 วันก่อนการเก็บเกี่ยว ความแน่นเนื้อมีค่า 29, 27 และ 20 นิวตัน ความสว่างมีค่า 81, 76 และ 76 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการใช้ $CaCl_2$ ทุกระดับความเข้มข้นสามารถที่จะป้องกันการเสียสภาพของดอกเห็ดนางรมดอยได้ทั้งนี้ขึ้นกับอุณหภูมิและอายุการเก็บรักษา