



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (จุลชีววิทยา)

ปริญญา

จุลชีววิทยา

จุลชีววิทยา

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การคัดเลือกแบคทีเรียสร้างเอนโดสปอร์ที่มีศักยภาพในการเพิ่มผลผลิตเห็ดฟาง

Screening for Endospore Forming Bacteria Potentially Increase Straw
Mushroom Yield

نامผู้วิจัย นางสาวสุนีย์ คำพันธ์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(อาจารย์เยาวภา อร่ามศิริรุจิเวทย์, วท.ด.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุรางค์ สุธิราชูธ, Dr.Agr.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์นันทนา สีสุข, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

สิงห์สีหิ มทาวิตยาสยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การคัดเลือกแบคทีเรียสร้างเอนโดสปอร์ที่มีศักยภาพ
ในการเพิ่มผลผลิตเห็ดฟาง

Screening for Endospore Forming Bacteria Potentially
Increase Straw Mushroom Yield

โดย

นางสาวสุนีย์ คำพันธ์

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (จุลชีววิทยา)
พ.ศ. 2557

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สุณีย์ คำพันธ์ 2557: การคัดเลือกแบคทีเรียสร้างเอนโดสปอร์ที่มีศักยภาพในการเพิ่ม
ผลผลิตเห็ดฟาง ปรินญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (จุลชีววิทยา) สาขาจุลชีววิทยา ภาควิชา
จุลชีววิทยา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อาจารย์เยาวภา อร่ามศิริรุจิเวทย์,
วท.ด. 176 หน้า

จากการแยกเชื้อแบคทีเรียสร้างสปอร์จากสภาพแวดล้อมในการเพาะเห็ดฟางและวัสดุเพาะ
เห็ดฟาง สามารถแยกแบคทีเรียสร้างสปอร์ได้ จำนวน 22 ไอโซเลท นำมาทดสอบความเป็นปฏิกิริยา
ต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืช เชื้อราแข่งขันในโรงเพาะเห็ด และเชื้อเห็ดฟาง โดยวิธี dual culture พบว่า
เชื้อแบคทีเรียที่ให้ผลการยับยั้งได้ดี มีจำนวน 8 ไอโซเลท ได้แก่ BC01, BC02, BC03, BC05, BC06,
BF02, BF04 และ MK07 นำมาจำแนกชนิดพบว่า แบคทีเรียทั้ง 8 ไอโซเลท มีความคล้ายคลึงกับ
Bacillus subtilis และแบคทีเรียที่ให้ผลการยับยั้งได้น้อย จำนวน 3 ไอโซเลท คือ MA02, MK02
และ MK05 พบว่าเป็น *Bacillus thuringiensis* จากการนำเชื้อ *B. subtilis* B2 (จากงานวิจัยของ
Payapanon et al., 2011) มาทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมในการนำเชื้อแบคทีเรียมาช่วยเพิ่ม
ผลผลิตของเห็ดฟาง พบว่าการใช้เชื้อแบคทีเรียที่เลี้ยงแบบแขวนในอาหาร nutrient broth
(suspension) นาน 24 ชั่วโมง และการใช้ตะกอนเชื้อ (pellet) ให้ผลผลิตของเห็ดฟางได้ดีกว่า
กรรมวิธีอื่น เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียสร้างสปอร์ จำนวน 10 ไอโซเลท (BC01, BC02, BC03, BC05,
BF02, BF04, MK07, MA02, MK02 และ MK05) ที่เลี้ยงแบบแขวนในอาหาร nutrient broth นาน
24 ชั่วโมง มีปริมาณเซลล์ประมาณ 10^7 - 10^8 cfu/ml มาฉีดพ่นลงบนวัสดุเพาะเห็ดฟาง ปริมาตร 1
ลิตรต่อพื้นที่เพาะเห็ด 4 ตารางเมตร พบว่าการฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียไอโซเลท BC05 ให้ผลผลิต
ค่อนข้างดี และโรงเรือนมีการปนเปื้อนของเชื้อราแข่งขันลดลง แต่เมื่อนำผลการทดลองที่ได้มา
วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ทั้งนี้สันนิษฐานได้
ว่าปัจจัยภายนอกอาจมีบทบาทสำคัญต่อผลผลิตของเห็ดฟาง ทำให้ผลการทดลองแต่ละครั้งยังมีความ
ผันแปรค่อนข้างมาก เป็นที่น่าสนใจว่าจากผลการทดลองที่ได้พบว่าปริมาณเชื้อราแข่งขันในโรงเพาะ
เห็ดลดลง ซึ่งแสดงว่าเชื้อแบคทีเรียทดสอบมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อราแข่งขัน

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

Sunee Khumpun 2014: Screening for Endospore Forming Bacteria Potentially Increase Straw Mushroom Yield. Master of Science (Microbiology), Major Field: Microbiology, Department of Microbiology. Thesis Advisor: Mrs. Yaovapa Aramsirujiwet, Ph.D. 176 pages.

Twenty-two isolates of the endospore-forming bacteria were isolated from the mushroom farm and mushroom substrate. The isolated bacteria were tested for their antagonistic with plant pathogenic fungi, the competitive fungi in mushroom farm and the straw mushroom cultures using dual culture method. The result found that eight bacterial isolates; BC01, BC02, BC03, BC05, BC06, BF02, BF04 and MK07 could produce high inhibition efficiency. The isolated bacteria were identified. The result indicated that 8 bacterial isolates were closely related to *Bacillus subtilis*. Three bacterial isolates (MA02, MK02 and MK05) which showed low inhibition efficiency were clearly identified as *Bacillus thuringiensis*. The next experiments were done in the field of mushroom farm to find out the best condition for bacterial cultures preparation. We found that the treatment which prepared with cultivated bacteria in nutrient broth and shaken for 24 hours (suspension) and cell pellet could gain highest straw mushroom yield when compared with another treatments. Ten bacterial isolates (BC01, BC02, BC03, BC05, BF02, BF04, MK07, MA02, MK02 and MK05) were cultivated in nutrient broth and shaken for 24 hours, which gave bacterial cells about 10^7 - 10^8 cfu/ml and bacterial cell suspension were sprayed on the straw mushroom substrate before inoculated the mushroom culture. One liter of bacterial suspension per 4 m² of mushroom cultivated areas. The result showed that most of the bacterial treated areas provided higher mushroom yield, especially when treated with bacterial strain BC05 and the contamination from the competitive fungi was also decrease. The mushroom yields were done statistical analysis. The results showed no significant difference ($p>0.05$) of the straw mushroom yields between bacterial spraying treatments and control. The result was still variable might due to the environmental factor which may took an important role to the mushroom production in mushroom farm. Interestingly, we found that the competitive fungi in mushroom farm were decrease which indicated the endospore-forming bacteria may affect to the competitive fungi.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

___ / ___ / ___

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ดร. เยาวภา อร่ามศิริรุจิเวทย์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการวางแผนงานวิจัยในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ตลอดจนการให้คำปรึกษาแนะนำและตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆเป็นอย่างดี ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรางค์ สุธิราวุธ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษาและให้ความอนุเคราะห์ดูแลและช่วยแก้ไขข้อบกพร่องด้วยดีเสมอมา ขอกราบขอบพระคุณ ดร.พรพิมล อธิปัญญาคม จากกรมวิชาการเกษตร อาจารย์ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ขอกราบขอบพระคุณ ดร. ปิ่นสุรางค์ ศิวังษ์ ประธานการสอบ และ อาจารย์อัฉรดา พัพพานนท์ ข้าราชการบำนาญ กรมวิชาการเกษตร ที่ปรึกษาโครงการวิจัย ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำและให้ความช่วยเหลือในการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่ได้มอบทุนอุดหนุนการวิจัย ปีงบประมาณ 2554 และคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ได้มอบทุนสนับสนุนการวิจัยของคณะวิทยาศาสตร์ (ScRF) ประจำปี 2554 ในการทำวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กลุ่มวิจัยและพัฒนาเห็ด กรมวิชาการเกษตร และภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน ที่ให้ความอนุเคราะห์เชื้อราสาเหตุโรคพืช เชื้อราแข่งขันของเห็ด และเชื้อเห็ดฟาง ที่ใช้ในงานวิจัยตลอดจนสถานที่และอุปกรณ์ในการทดลอง

ขอขอบพระคุณ คุณจรัญ เฉลิมพร เกษตรกรเจ้าของฟาร์มเห็ดฟาง อำเภอบางบาล จังหวัดพระนครศรีอยุธยา ในการเอื้อเฟื้อสถานที่และช่วยเตรียมวัสดุเพาะเห็ดฟางเพื่อทำการทดลองในโรงเรือน

ขอขอบพระคุณฟาร์มเห็ดฟางบางบัวทอง-บัวขาว อำเภอบางบัวทอง จังหวัดนนทบุรี ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการเก็บวัสดุเพาะเห็ดฟางเพื่อนำมาคัดแยกเชื้อแบคทีเรีย

ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา พี่ น้อง และเพื่อน ๆ ตลอดจนเจ้าหน้าที่ภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ทุกท่าน ที่ให้การสนับสนุนในด้านการศึกษาและให้คำแนะนำ ช่วยเหลือเป็นกำลังใจให้ข้าพเจ้าในการทำวิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สุนีย์ คำพันธ์
กรกฎาคม 2557

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(6)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	34
ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล	54
สรุปและข้อเสนอแนะ	82
สรุป	82
ข้อเสนอแนะ	82
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	85
ภาคผนวก	92
ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อ	93
ภาคผนวก ข ผลการจำแนกเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Biolog Gen III	96
ภาคผนวก ค ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ด้วยโปรแกรม SPSS (Statistics Package for the Social Sciences) version 11.5	101
ภาคผนวก ง ผลการทดลองในโรงเรือนทดลอง	104
ภาคผนวก จ แผนผังโรงเรือนทดลอง	138
ภาคผนวก ฉ การตีพิมพ์ผลงานวิจัย	161
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	176

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 จุลินทรีย์ควบคุมโรคพืชที่ได้รับการวิจัยและพัฒนาในหน่วยงานต่างๆ	29
2 ชนิดและแหล่งที่มาของเชื้อราทดสอบ	34
3 สายพันธุ์ของเห็ดฟางทดสอบและแหล่งที่มาของเชื้อเห็ดฟางที่ใช้ทดสอบ (ได้รับความอนุเคราะห์จาก ศูนย์รวบรวมเชื้อเห็ด กรมวิชาการเกษตร)	36
4 แสดงการทดลองคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมกับเชื้อเห็ดฟางแต่ละสายพันธุ์	49
5 แสดงการทดลองวางแผนการทดลองเป็นแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD (การทดลองวิธีที่ 1)	51
6 แสดงการทดลองวางแผนการทดลองเป็นแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD (การทดลองวิธีที่ 2)	52
7 ตารางแสดงเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนโดสปอร์ จำนวน 22 ไอโซเลท ที่คัดแยกได้	54
8 แสดงผลการจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียโดยวิธีดั้งเดิม (Conventional method)	57
9 แสดงผลการจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียด้วยชุดทดสอบ Biolog GEN III Microplate	59
10 แสดงเปอร์เซ็นต์การถูกยับยั้งของเชื้อราในห้องปฏิบัติการโดยเชื้อแบคทีเรียทดสอบ	63
11 แสดงเปอร์เซ็นต์การถูกยับยั้งของเชื้อเห็ดฟางในห้องปฏิบัติการโดยเชื้อแบคทีเรียทดสอบ และเชื้อ <i>B. subtilis</i> B2	65
12 จำนวนเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง โดยวิธี spread plate บนอาหาร nutrient agar	66
13 แสดงผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์ยูร่ากับเชื้อแบคทีเรีย <i>B. subtilis</i> B2 เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการนำแบคทีเรียไปใช้ช่วยส่งเสริมผลผลิตของเห็ดฟาง ครั้งที่ 1	66
14 แสดงผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์ยูร่ากับเชื้อแบคทีเรีย <i>B. subtilis</i> B2 เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการนำแบคทีเรียไปใช้ช่วยส่งเสริมผลผลิตของเห็ดฟาง ครั้งที่ 2	67
15 แสดงการตรวจนับจำนวนของเชื้อแบคทีเรียทดสอบตั้งต้นที่ใช้ในการทดลอง	69
16 แสดงผลผลิตเห็ดฟางในการนำเชื้อแบคทีเรียไปทดสอบการส่งเสริมผลผลิตของเห็ดฟางแต่ละสายพันธุ์ (แต่ละกรรมวิธี ทำการทดลอง 3 ซ้ำ)	70
17 แสดงการตรวจนับจำนวนของเชื้อแบคทีเรียทดสอบที่ใช้ในการทดลองวิธีที่ 1	74
18 แสดงผลผลิตเห็ดฟางจากการวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD ในการทดลองวิธีที่ 1 โรงเรือนที่ 1 (แบ่งชั้นเพาะเป็น 4 ส่วน)	75
19 แสดงผลผลิตเห็ดฟางจากการวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD ในการทดลองวิธีที่ 1 โรงเรือนที่ 2 (แบ่งชั้นเพาะเป็น 4 ส่วน)	76
20 แสดงการตรวจนับจำนวนของเชื้อแบคทีเรียทดสอบที่ใช้ในการทดลองวิธีที่ 2	79
21 แสดงผลผลิตเห็ดฟางจากการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD ในการทดลองช่วงที่ 2 (แบ่งชั้นเพาะเป็น 2 ส่วน)	80

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ง1 ผลผลิตการทดสอบหาวิธีที่เหมาะสมในการใช้เชื้อแบคทีเรีย (<i>B. subtilis</i> B2) ไปใช้ในการส่งเสริมผลผลิตของเห็ดฟาง (สายพันธุ์อุยธยา) ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 1 (ระหว่างวันที่ 9-25 กันยายน 2554)	105
ง2 ผลผลิตการทดสอบหาวิธีที่เหมาะสมในการใช้เชื้อแบคทีเรีย (<i>B. subtilis</i> B2) ไปใช้ในการส่งเสริมผลผลิตของเห็ดฟาง (สายพันธุ์อุยธยา) ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 2 (ระหว่างวันที่ 9-25 กันยายน 2554)	106
ง3 ผลผลิตการทดสอบหาวิธีที่เหมาะสมในการใช้เชื้อแบคทีเรีย (<i>B. subtilis</i> B2) ไปใช้ในการส่งเสริมผลผลิตของเห็ดฟาง (สายพันธุ์อุยธยา) ครั้งที่ 2 โรงเรือนที่ 1 (ระหว่างวันที่ 19 กุมภาพันธ์-13 มีนาคม 2555)	107
ง4 ผลผลิตการทดสอบหาวิธีที่เหมาะสมในการใช้เชื้อแบคทีเรีย (<i>B. subtilis</i> B2) ไปใช้ในการส่งเสริมผลผลิตของเห็ดฟาง (สายพันธุ์อุยธยา) ครั้งที่ 2 โรงเรือนที่ 2 (ระหว่างวันที่ 19 กุมภาพันธ์-13 มีนาคม 2555)	108
ง5 ผลผลิตการทดสอบหาวิธีที่เหมาะสมในการใช้เชื้อแบคทีเรีย (<i>B. subtilis</i> B2) ไปใช้ในการส่งเสริมผลผลิตของเห็ดฟาง (สายพันธุ์อุยธยา) ครั้งที่ 2 โรงเรือนที่ไม่มีการฉีดพ่น (control)	109
ง6 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์อุยธยา จากการทดลองคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีความเหมาะสมกับสายพันธุ์ของเห็ดฟาง ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 1 (ระหว่างวันที่ 15 มิถุนายน-6 กรกฎาคม 55)	110
ง7 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์ Vvol-019 จากการทดลองคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีความเหมาะสมกับสายพันธุ์ของเห็ดฟาง ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 2 (ระหว่างวันที่ 15 มิถุนายน-6 กรกฎาคม 55)	111
ง8 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์ Vvol-009 จากการทดลองคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีความเหมาะสมกับสายพันธุ์ของเห็ดฟาง ครั้งที่ 2 โรงเรือนที่ 1 (ระหว่างวันที่ 17 กรกฎาคม-4 สิงหาคม 55)	112
ง9 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์ Vvol-037 จากการทดลองคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีความเหมาะสมกับสายพันธุ์ของเห็ดฟาง ครั้งที่ 2 โรงเรือนที่ 2 (ระหว่างวันที่ 17 กรกฎาคม-4 สิงหาคม 55)	113
ง10 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์ Vvol-045 จากการทดลองคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีความเหมาะสมกับสายพันธุ์ของเห็ดฟาง ครั้งที่ 3 โรงเรือนที่ 1 (ระหว่างวันที่ 21 สิงหาคม-4 กันยายน 55)	114
ง11 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์ Vvol-071 จากการทดลองคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีความเหมาะสมกับสายพันธุ์ของเห็ดฟาง ครั้งที่ 3 โรงเรือนที่ 2 (ระหว่างวันที่ 21 สิงหาคม-4 กันยายน 55)	115

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ง12 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์ Vvol-024 จากการทดลองคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีความเหมาะสมกับสายพันธุ์ของเห็ดฟาง ครั้งที่ 4 โรงเรือนที่ 1 (ระหว่างวันที่ 18 กันยายน-3 ตุลาคม 55)	116
ง13 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์ Vvol-029 จากการทดลองคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีความเหมาะสมกับสายพันธุ์ของเห็ดฟาง ครั้งที่ 4 โรงเรือนที่ 2 (ระหว่างวันที่ 18 กันยายน-3 ตุลาคม 55)	117
ง14 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์อุยธยา โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD ช่วงที่ 1 ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 1 (ระหว่างวันที่ 6-24 มีนาคม 56)	118
ง15 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์อุยธยา โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD ช่วงที่ 1 ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 2 (ระหว่างวันที่ 6-24 มีนาคม 56)	120
ง16 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์ Vvol-009 โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD ช่วงที่ 1 ครั้งที่ 2 โรงเรือนที่ 1 (ระหว่างวันที่ 10-22 เมษายน 56)	122
ง17 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์ Vvol-009 โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD ช่วงที่ 1 ครั้งที่ 2 โรงเรือนที่ 2 (ระหว่างวันที่ 10-22 เมษายน 56)	124
ง18 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์อุยธยา โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD ช่วงที่ 1 ครั้งที่ 3 โรงเรือนที่ 1 (ระหว่างวันที่ 29 พฤษภาคม-19 มิถุนายน 56)	126
ง19 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์อุยธยา โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD ช่วงที่ 1 ครั้งที่ 3 โรงเรือนที่ 2 (ระหว่างวันที่ 29 พฤษภาคม-19 มิถุนายน 56)	128
ง20 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์อุยธยา โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD ช่วงที่ 1 ครั้งที่ 4 โรงเรือนที่ 1 (ระหว่างวันที่ 11-27 มิถุนายน 56)	130
ง21 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์อุยธยา โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD ช่วงที่ 1 ครั้งที่ 4 โรงเรือนที่ 2 (ระหว่างวันที่ 11-27 มิถุนายน 56)	132
ง22 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์อุยธยา โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD ช่วงที่ 2 ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 1 (ระหว่างวันที่ 13-26 พฤศจิกายน 56)	134

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ง23 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์ยูธยา โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD ช่วงที่ 2 ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 2 (ระหว่างวันที่ 13-26 พฤศจิกายน 56)	135
ง24 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์ยูธยา โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD ช่วงที่ 2 ครั้งที่ 3 โรงเรือนที่ 1 (ระหว่างวันที่ 26 กุมภาพันธ์-15 มีนาคม 57)	136
ง25 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์ยูธยา โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD ช่วงที่ 2 ครั้งที่ 3 โรงเรือนที่ 2 (ระหว่างวันที่ 26 กุมภาพันธ์-15 มีนาคม 57)	137

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 วงจรชีวิตเห็ดฟาง	6
2 สัณฐานวิทยาของดอกเห็ดฟาง	7
3 เชื้อราเขียวเจริญบนก้อนเชื้อเห็ดฟาง (1) และ เชื้อราเจริญบนวัสดุเพาะเห็ดฟาง (2)	17
4 ลักษณะของเห็ดน้ำหมึกหรือเห็ดขี้ม้า (<i>Coprinus</i> sp.) ที่เจริญบนวัสดุเพาะเห็ดฟาง	18
5 เห็ดถั่วอกหัวโต (<i>Bolbitius fissus</i>) ที่เจริญบนวัสดุเพาะเห็ดฟาง	18
6 แบคทีเรียผลิตสารลดแรงตึงผิวและครอบครองพื้นผิวใบพืชได้อย่างแน่นหนาดีกว่าเชื้อโรค	24
7 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์การผลิตเชื้อ <i>Bacillus subtilis</i> ในรูปแบบผง	26
8 ระยะในการสร้างเอนโดสปอร์ระยะที่ 1-ระยะที่ 9	33
9 แสดงอุปกรณ์และเครื่องมือของชุดทดสอบ Biolog GEN III Microplate	39
10 แสดงขั้นตอนและวิธีในการจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียด้วยชุดทดสอบ Biolog GEN III Microplate	40
11 ลักษณะการทดสอบเชื้อด้วยวิธี dual culture	41
12 ลักษณะก้อนเชื้อเห็ดฟางที่เส้นใยเจริญเต็มถุง สำหรับการนำไปเพาะลงบนวัสดุเพาะ	44
13 ลานคอนกรีต ยกขอบรูปทรงสี่เหลี่ยม ที่เกษตรกรใช้ในการเตรียมหมักวัสดุเพาะเห็ดฟาง เป็นเวลา 2 คืน ก่อนนำขึ้นชั้นเพาะในโรงเรือน	45
14 วัสดุเพาะเห็ดฟางที่เตรียมบนชั้นเพาะในโรงเรือน ซึ่งผ่านการหมักมาแล้ว 3 วัน รออบไอน้ำกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ และรอการฉีดพ่นด้วยสารละลายเชื้อแบคทีเรียทดสอบ	45
15 แสดงลักษณะภายนอกของโรงเรือนทดสอบของเกษตรกร	46
16 ลักษณะภายในโรงเรือน ประกอบด้วยชั้นเพาะ จำนวน 3 แถว แต่ละแถวมีจำนวน 4 ชั้น ทำด้วยไม้และมีตาข่ายรองรับวัสดุเพาะในแต่ละชั้น	46
17 แหล่งกำเนิดไอน้ำอาศัยพลังงานเชื้อเพลิงจากฟืน พร้อมท่อสำหรับต่อนำไอน้ำผ่านเข้าสู่โรงเรือนเพื่ออบไอน้ำกำจัดเชื้อบนเปื้อนในภายในโรงเรือน ก่อนการเพาะเห็ดฟาง	47
18 การฉีดพ่นสารละลายทดสอบลงบนวัสดุเพาะเห็ดฟางในโรงเรือน	48
19 อุปกรณ์และภาชนะบรรจุสารละลายทดสอบ (NB) ที่ใช้ในการฉีดพ่นบนวัสดุเพาะเห็ดฟาง	48
20 การแบ่งพื้นที่เพาะเห็ดฟางออกเป็น 4 ส่วน โดยการใช้วัสดุกั้น เพื่อป้องกันการปนเปื้อน	50
21 ลักษณะการแบ่งพื้นที่เพาะเห็ดฟางทดสอบออกเป็น 2 ส่วนเท่าๆกัน (ส่วนละ 2 ตารางเมตร และการใช้วัสดุกั้นแบ่งแยกแต่ละส่วนออกจากกันอย่างชัดเจน เพื่อป้องกันการปนเปื้อนกันของแต่ละวิธีการทดลองบนชั้นเพาะเดียวกัน)	53

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
22	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการสร้างสปอร์ของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้	56
23	การถูกยับยั้งเส้นใยของเชื้อเห็ด <i>Coprinus</i> sp. cin-037 โดยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท (1) BC02 เปรียบเทียบกับ (2) control ที่ไม่มีการฉีดเชื้อแบคทีเรีย อายุทดสอบ 10 วัน	60
24	ถั่วงอกหัวโต (<i>Bolbitius fissus</i>) โดยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท (1) BC05 เปรียบเทียบกับ (2) control ที่ไม่มีการฉีดเชื้อแบคทีเรีย อายุทดสอบ 3 วัน	60
25	การถูกยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา <i>Gliocladium</i> sp. T2 โดยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท (1) BC05 เปรียบเทียบกับ (2) control ที่ไม่มีการฉีดเชื้อแบคทีเรีย อายุทดสอบ 4 วัน	60
26	การถูกยับยั้งเส้นใยของเชื้อเห็ดฟางสายพันธุ์ยูธยา โดยแบคทีเรียไอโซเลท (1) BC05 (2) BC02 และ (3) <i>B. subtilis</i> B2 เปรียบเทียบกับ (4) control ที่ไม่มีการฉีดเชื้อแบคทีเรีย อายุทดสอบ 4 วัน	61
27	การถูกยับยั้งเส้นใยของเชื้อเห็ดฟางสายพันธุ์ยูธยา โดยแบคทีเรียไอโซเลท (1) MA02 (2) MK02 และ (3) MK05 เปรียบเทียบกับ (4) control ที่ไม่มีการฉีดเชื้อแบคทีเรีย อายุทดสอบ 4 วัน	61
28	(ชั้นบน) ลักษณะดอกเห็ดฟางจากการทดลองกรรมวิธีที่ 1 (control) และ (ชั้นล่าง) ลักษณะดอกเห็ดฟางจากการทดลองกรรมวิธีที่ 2 (supernatant)	68
29	(ชั้นบน) ลักษณะดอกเห็ดฟางจากการทดลองกรรมวิธีที่ 3 (pellet) และ (ชั้นล่าง) ลักษณะดอกเห็ดฟางจากการทดลองกรรมวิธีที่ 4 (suspension)	68
30	ดอกเห็ดฟางเจริญบนวัสดุเพาะจากการทดลองกรรมวิธีที่ 5 ไม่มีการฉีดพ่น (control)	68
31	ลักษณะดอกเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-024 ที่ได้จากการฉีดพ่นแต่ละวิธี ในการทดลองครั้งที่ 4 โรงเรือนที่ 1	71
32	ลักษณะดอกเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-029 ที่ได้จากการฉีดพ่นแต่ละวิธี ในการทดลองครั้งที่ 4 โรงเรือนที่ 2	72
33	ลักษณะดอกเห็ดฟางสายพันธุ์ยูธยาที่ได้จากการฉีดพ่นแต่ละวิธี ที่ทำการทดลองครั้งที่ 1	77
34	ลักษณะดอกเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-009 มีลักษณะสีขาวนวล และดอกมีขนาดค่อนข้างใหญ่	78

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
ข1 แหล่งคาร์บอน ที่เคลือบอยู่ใน Biolog GEN III Micro plate TM	97
ข2 ผลการจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท BC02 ด้วยวิธี Biolog Gen III	98
ข3 ผลการจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท BC05 ด้วยวิธี Biolog Gen III	99
ข4 ผลการจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท BF02 ด้วยวิธี Biolog Gen III	100
ค1 ผลวิเคราะห์การทดสอบหาวิธีที่เหมาะสมในการใช้เชื้อแบคทีเรีย (<i>B. subtilis</i> B2) ไปใช้ในการส่งเสริมผลผลิตของเห็ดฟาง (สายพันธุ์อยุธยา) ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 1 ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)	102
ค2 ผลวิเคราะห์การทดสอบหาวิธีที่เหมาะสมในการใช้เชื้อแบคทีเรีย (<i>B. subtilis</i> B2) ไปใช้ในการส่งเสริมผลผลิตของเห็ดฟาง (สายพันธุ์อยุธยา) ครั้งที่ 2 โรงเรือนที่ 1 ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)	103
จ1 แสดงลักษณะแผนผังภายในโรงเรือนที่ใช้ในการทดลอง มีขนาด กว้าง x ยาว x สูง 5.8 x 6.8 x 3.5 เมตร	139
จ2 แผนผังการทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมในการนำเชื้อแบคทีเรียไปใช้ในโรงเรือนเพาะเห็ดฟาง (สายพันธุ์อยุธยา) ด้วย <i>B. subtilis</i> B2 ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 1 โดยวิธีการสุ่ม	140
จ3 แผนผังการทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมในการนำเชื้อแบคทีเรียไปใช้ในโรงเรือนเพาะเห็ดฟาง (สายพันธุ์อยุธยา) ด้วย <i>B. subtilis</i> B2 ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 2 โดยวิธีการสุ่ม	141
จ4 แผนผังการทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมในการนำเชื้อแบคทีเรียไปใช้ในโรงเรือนเพาะเห็ดฟาง (สายพันธุ์อยุธยา) ด้วย <i>B. subtilis</i> B2 ครั้งที่ 2 โรงเรือนที่ 1 และ 2	142
จ5 แผนผังการทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมในการนำเชื้อแบคทีเรียไปใช้ในโรงเรือนเพาะเห็ดฟาง (สายพันธุ์อยุธยา) ด้วย <i>B. subtilis</i> B2 ครั้งที่ 2 โรงเรือนที่เพาะปกติ (control)	143
จ6 แผนผังการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมกับเชื้อเห็ดฟางสายพันธุ์อยุธยา ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 1 โดยวิธีการสุ่ม	144
จ7 แผนผังการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมกับเชื้อเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-019 ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 2 โดยวิธีการสุ่ม	145
จ8 แผนผังการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมกับเชื้อเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-009 ครั้งที่ 2 โรงเรือนที่ 1 โดยวิธีการสุ่ม	146
จ9 แผนผังการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมกับเชื้อเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-037 ครั้งที่ 2 โรงเรือนที่ 2 โดยวิธีการสุ่ม	147
จ10 แผนผังการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมกับเชื้อเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-045 ครั้งที่ 3 โรงเรือนที่ 1 โดยวิธีการสุ่ม	148
จ11 แผนผังการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมกับเชื้อเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-071 ครั้งที่ 3 โรงเรือนที่ 2 โดยวิธีการสุ่ม	149

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
จ12 แผนผังการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมกับเชื้อเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-024 ครั้งที่ 4 โรงเรือนที่ 1 โดยวิธีการสุ่ม	150
จ13 แผนผังการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมกับเชื้อเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-029 ครั้งที่ 4 โรงเรือนที่ 2 โดยวิธีการสุ่ม	151
จ14 แผนผังการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD เชื้อเห็ดฟางทดสอบสายพันธุ์ยูรยา วิธีที่ 1 ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 1 โดยวิธีการสุ่ม	152
จ15 แผนผังการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD เชื้อเห็ดฟางทดสอบสายพันธุ์ยูรยา วิธีที่ 1 ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 2 โดยวิธีการสุ่ม	153
จ16 แผนผังการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD เชื้อเห็ดฟางทดสอบสายพันธุ์ Vvol-009 วิธีที่ 1 ครั้งที่ 2 โรงเรือนที่ 1 โดยวิธีการสุ่ม	154
จ17 แผนผังการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD เชื้อเห็ดฟางทดสอบสายพันธุ์ยูรยา วิธีที่ 2 ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 1 โดยวิธีการสุ่ม	155
จ18 แผนผังการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD เชื้อเห็ดฟางทดสอบสายพันธุ์ยูรยา วิธีที่ 2 ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 2 โดยวิธีการสุ่ม	156
จ19 แผนผังการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD เชื้อเห็ดฟางทดสอบสายพันธุ์ยูรยา วิธีที่ 2 ครั้งที่ 2 โรงเรือนที่ 1 โดยวิธีการสุ่ม	157
จ20 แผนผังการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD เชื้อเห็ดฟางทดสอบสายพันธุ์ยูรยา วิธีที่ 2 ครั้งที่ 2 โรงเรือนที่ 2 โดยวิธีการสุ่ม	158
จ21 แผนผังการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD เชื้อเห็ดฟางทดสอบสายพันธุ์ยูรยา วิธีที่ 2 ครั้งที่ 3 โรงเรือนที่ 1 โดยวิธีการสุ่ม	159
จ22 แผนผังการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD เชื้อเห็ดฟางทดสอบสายพันธุ์ยูรยา วิธีที่ 2 ครั้งที่ 3 โรงเรือนที่ 2 โดยวิธีการสุ่ม	160

การคัดเลือกแบคทีเรียสร้างเอนโดสปอร์ที่มีศักยภาพในการเพิ่มผลผลิตเห็ดฟาง

Screening for Endospore Forming Bacteria Potentially Increase Straw Mushroom Yield

คำนำ

จากอดีตจนถึงปัจจุบันทั้งนักวิชาการเกษตรและเกษตรกรผู้เพาะเห็ดได้มีความพยายามพัฒนาเทคนิควิธีการเพิ่มผลผลิตเห็ดฟางเพื่อเป็นการเพิ่มรายได้ให้กับเกษตรกร ซึ่งวิธีการเพาะเห็ดโดยเฉพาะเห็ดฟาง มีผู้คิดค้นดัดแปลงทั้งวัสดุเพาะ หักเชื้อ สายพันธุ์เห็ด จนปัจจุบันมีวิธีการเพาะที่หลากหลาย แต่การคิดที่จะนำจุลินทรีย์มาช่วยในการเพิ่มผลผลิตเห็ดฟางเพิ่งจะได้รับความสนใจเมื่อไม่นานมานี้เอง (Payapanon *et al.*, 2011) นอกจากนี้ปัญหาต่างๆ ในโรงเรือนเพาะเห็ดได้แก่ ปัญหาจากศัตรูเห็ด เช่น เชื้อราที่เจริญบนวัสดุเพาะยับยั้งการเจริญของเส้นใยเห็ด ไร หนอนแมลงต่างๆ เข้าไปทำลายเส้นใยหรือดอกเห็ด ทำให้เกิดการเน่าเสีย ผลผลิตต่ำไม่คุ้มทุน จนทำให้บางรายต้องเลิกกิจการไป เพราะประสบปัญหาการขาดทุน บุชบา (2542) กล่าวว่า เชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคเห็ด เช่น *Sclerotium rolfsii* ก่อโรคราเมล็ดผักกาด ทำให้เห็ดไม่เป็นดอกหรือดอกนึ่มกว่าปกติ นอกจากนี้ยังมีโรคราเขียวที่เกิดจากราเขียว ได้แก่ *Trichoderma* และ *Gliocladium* ซึ่งมีสีเขียวอ่อนหรือเขียวเข้ม ราเขียว *Penicillium* มีสีเขียวอมเทา ที่เจริญจากขี้ฟ้ายหรือฟางข้าว เจริญแข่งขันกับเชื้อเห็ดฟาง ทำลายดอกเห็ดอ่อนๆ ทำให้ผลผลิตของเห็ดต่ำ จึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจค้นหาวิธีในการป้องกันกำจัดศัตรูของเห็ด เพื่อเพิ่มผลผลิตให้มากขึ้น

โรคราเขียว (green mold disease) เกิดจากเชื้อรา *Trichoderma* sp. เป็นโรคที่สำคัญของเห็ดหลายชนิด เชื้อราจะเข้าทำลายเห็ดอย่างรวดเร็ว ทำให้การเจริญของเส้นใยเห็ดผิดปกติ การระบาดของราเขียวทำให้เกิดความเสียหายในระดับเศรษฐกิจ (Chen *et al.*, 1999) การระบาดของโรคราเขียวเกิดขึ้นครั้งแรกในประเทศไอร์แลนด์ และประเทศในแถบทวีปอเมริกาเหนือ (Sinden and Huser, 1953) และ ในปี ค.ศ. 1985 พบว่าเกิดการระบาดของเชื้อรา *T. koningii* กับเห็ดกระดุม (*Agaricus bisporus*) ทำให้เห็ดมีอาการเน่า ซึ่งเชื้อราชนิดนี้ เป็นเชื้อที่ติดมาจากวัสดุเพาะ (Stauton, 1987) หลังจากนั้นพบว่าในปี ค.ศ. 1996 เกิดการระบาดในประเทศเนเธอร์แลนด์ และเยอรมัน (Sharma *et al.*, 1999) และการระบาดในประเทศสกอตแลนด์และอังกฤษ ทำให้เกิดความเสียหายกับอุตสาหกรรมการเพาะเห็ดกระดุมคิดเป็นมูลค่าประมาณ 30 ล้านดอลลาร์ (Seaby, 1998) ในรัฐเพนซิลวาเนีย ประเทศสหรัฐอเมริกา ก็เช่นเดียวกัน มีรายงานว่า ในปี ค.ศ. 1995-1997 เชื้อรา *T. harzianum* ที่ระบาดทำความเสียหายให้กับเห็ดเป็นเชื้อ *T. harzianum* biotype Th2 และ Th4 (Castle *et al.*, 1998; Seaby, 1998; Ospina-Girado *et al.*, 1999) ในประเทศไทยพบว่า เชื้อราเขียวระบาดทำความเสียหายให้กับเห็ดที่เพาะในถุงพลาสติกเกือบทุกชนิด รวมทั้งเห็ดฟางด้วย เชื้อราเขียวที่พบได้บ่อย ได้แก่ *T. harzianum*, *T. harmatum*, *T. aureoviridae*, และ *T. virens* (*Gliocladium virens*) (ประไพศรี, 2542) ซึ่ง Beyer *et al.* (2001) ศึกษาการเข้าทำลายของเชื้อรา

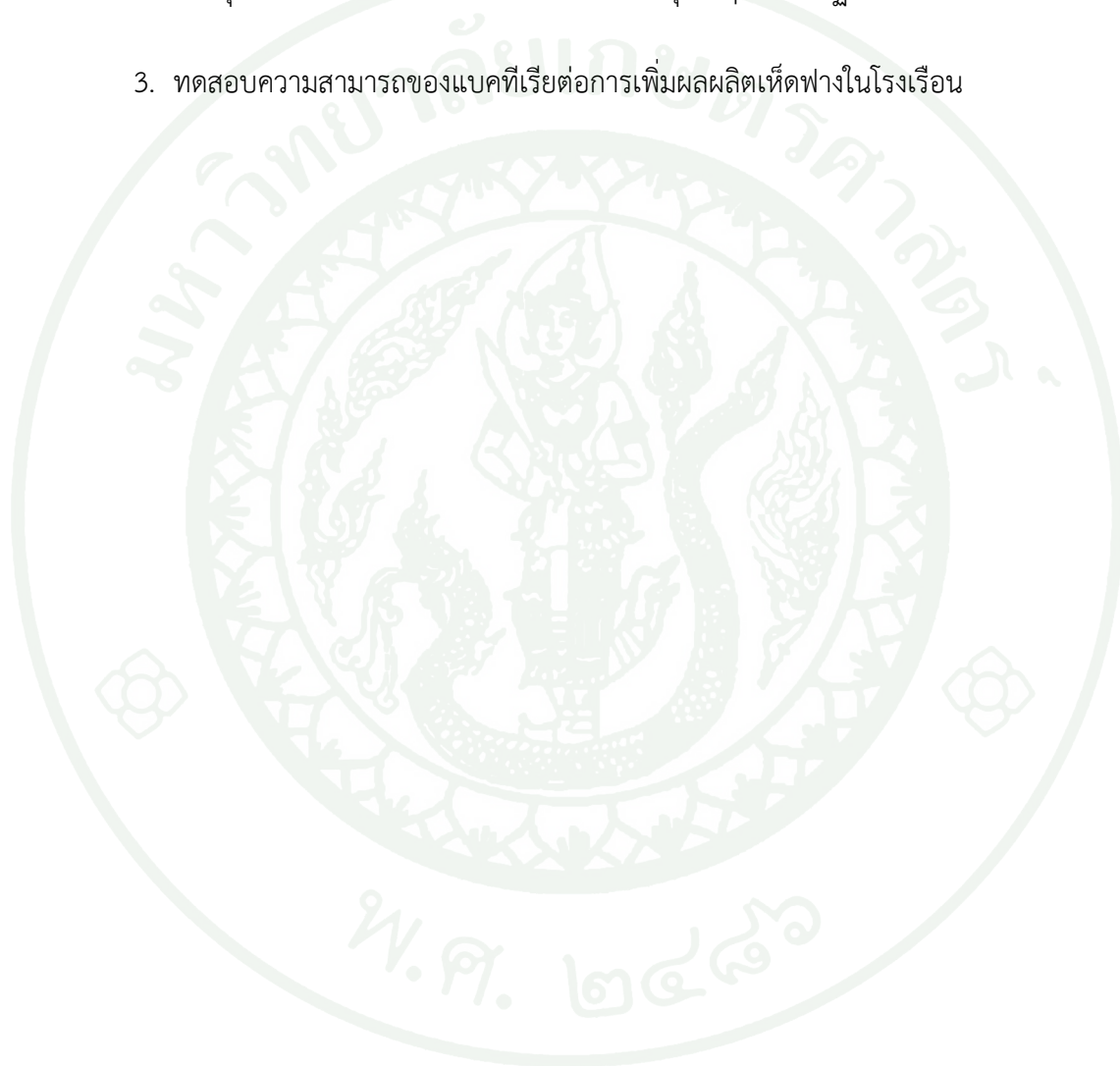
Trichoderma พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* เข้าทำลายในถุงวัสดุเพาะเห็ด และพบอยู่บริเวณหมวกเห็ด โดยในระยะแรกเส้นใยเชื้อรา จะมีสีขาวอยู่กันอย่างหนาแน่น แต่ไม่มีการผลิตสปอร์ ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีเขียวในวัสดุเพาะ (Stauton, 1987) เชื้อรา *Trichoderma* จะสร้างเอนไซม์เพื่อช่วยย่อยสลายเนื้อเยื่อของเห็ด ส่งผลให้เห็ดไม่สามารถออกดอกได้ ทำให้เนื้อเยื่อเห็ดเน่าเปื่อย หลังจากนั้นเส้นใยของเชื้อราชนิดนี้จะเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้ม ในปัจจุบันยังไม่มีวิธีการควบคุมโรคราเขียวอย่างมีประสิทธิภาพ วิธีการส่วนใหญ่ ใช้วิธีกำจัดแหล่งเพาะเชื้อ และทำความสะอาดอุปกรณ์ต่างๆ สำหรับเพาะเห็ด การป้องกันกำจัดราเขียวโดยใช้สารเคมีขณะเพาะเห็ดทำได้ยาก เนื่องจากมีพิษต่อเส้นใยเห็ด และมีปัญหาเรื่องสารพิษตกค้าง เกษตรกรบางรายหาวิธีกำจัดโรคด้วยตนเอง เช่นการใช้จุลินทรีย์ EM ฉีดพ่นก่อนเชื้อเห็ด การใช้ปุ๋ยหมักชีวภาพรดก่อนเชื้อเห็ด ซึ่งวิธีการต่างๆ เหล่านี้ เกษตรกรบางรายเชื่อว่าการระบาดของเชื้อโรคราเขียวได้ การควบคุมโรคราเขียว โดยใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ เป็นอีกวิธีหนึ่งที่กำลังได้รับความสนใจ โดย Romaine *et al.* (1996) รายงานว่าแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่อาศัยอยู่ในแปลงเพาะเห็ดกระดุม สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Trichoderma* sp. สาเหตุโรคราเขียวได้ Singh and Singh (2001) ศึกษาเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากวัสดุเพาะเห็ดกระดุม พบว่าเชื้อแบคทีเรียที่สามารถเกิดการเรืองแสง fluorescent คือ เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* ไอโซเลต Cllb และ Cvla สามารถควบคุมปริมาณเชื้อ *Trichoderma* sp. ได้

ส่วนราเขียว *Penicillium* มีสีเขียวอมเทา ที่เจริญจากขี้ฟ้ายหรือฟางข้าว เจริญแข่งขันกับเชื้อเห็ดฟาง ทำลายดอกเห็ดอ่อนๆ ทำให้ผลผลิตของเห็ดต่ำ จึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจค้นหาวิธีในการป้องกันกำจัดศัตรูของเห็ด ซึ่งน่าจะเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการช่วยเพิ่มผลผลิตเห็ดให้มากขึ้น

มีรายงานจาก Payapanon *et al.* (2011) พบว่าการนำน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนโดสปอร์ของ *Bacillus subtilis* B2 ที่แยกได้จากพื้นที่ที่ใช้ในการเพาะเห็ดฟาง และ *Paenibacillus polymyxa* N10 แยกได้จากเปลือกปอสา (mulberry) มาฉีดพ่นบนวัสดุเพาะเห็ดฟาง ในอัตราส่วน 1 ลิตรต่อพื้นที่ 4 ตารางเมตร พบว่าแบคทีเรียมีผลในการควบคุมเชื้อราแข่งขันและช่วยเพิ่มสารอาหารทำให้ผลผลิตเห็ดฟางเพิ่มขึ้นได้ อย่างไรก็ตาม งานวิจัยดังกล่าวยังไม่ชัดเจนว่าการเพิ่มขึ้นของผลผลิตเห็ดฟาง เป็นผลมาจากตัวเชื้อแบคทีเรีย หรือจากสาร metabolite ที่เชื้อสร้างขึ้นระหว่างการเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ หรือจากเหตุผลทั้งสองประการร่วมกัน ซึ่งถ้าได้ข้อสรุปที่ชัดเจนจะเป็นประโยชน์อย่างมากต่อการทดลองในขั้นตอนต่อไป ในการเพาะระดับโรงเพาะเห็ดของเกษตรกร ก่อนการพัฒนาไปเป็นผลิตภัณฑ์และเผยแพร่ต่อเกษตรกรผู้เพาะเห็ดฟางทั่วประเทศ ประกอบกับสายพันธุ์เชื้อเห็ดฟางที่นิยมเพาะในประเทศไทยมีหลายสายพันธุ์ การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียชนิดใหม่ๆ ที่มีคุณสมบัติเหมาะสมต่อการเพิ่มผลผลิตเห็ดแต่ละสายพันธุ์ยังไม่เคยมีผู้ทำการศึกษามาก่อน งานทดลองนี้จึงเป็นการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อช่วยยืนยันผลการทดลองที่ผ่านมาให้เป็นที่ยอมรับ และเพื่อค้นหาเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ใหม่ๆ ที่สามารถนำมาใช้เพิ่มผลผลิตเห็ดฟางและนำมาทำเป็นผลิตภัณฑ์ต้นทุนต่ำ เพื่อเผยแพร่ออกสู่เกษตรกรต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อคัดแยกแบคทีเรียที่สร้างสปอร์จากวัสดุเพาะเห็ดและสภาพแวดล้อมในโรงเรือนเพาะเห็ดฟาง
2. ตรวจสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ต่อการยับยั้งเจริญของราแข่งขันของเห็ดฟาง ราสาเหตุโรคพืชบางชนิด และเชื้อเห็ดฟางสายพันธุ์ต่างๆในห้องปฏิบัติการ
3. ทดสอบความสามารถของแบคทีเรียต่อการเพิ่มผลผลิตเห็ดฟางในโรงเรือน



การตรวจเอกสาร

ลักษณะทั่วไปของเห็ดฟาง

เห็ดฟาง (straw mushroom) เป็นเห็ดที่ทุกคนรู้จักกันมากที่สุดในการนำมาปรุงอาหาร พบว่ามีเจริญตามธรรมชาติ ตามกองฟางข้าวเก่าๆ หรือเปลือกเมล็ดบัว โดยสปอร์ของเห็ดฟางไปตกยังวัสดุดังกล่าว เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมก็เจริญเติบโตเป็นดอกเห็ด บุคคลแรกของประเทศไทยที่ทำการศึกษา และแยกเชื้อบริสุทธิ์ของเห็ดฟางได้คือ อาจารย์กาน ชลวิจารณ์ ซึ่งต่อมาได้มีการพัฒนาและปรับปรุงวิธีการเพาะ และส่งเสริมให้เกษตรกรเพาะกันอย่างกว้างขวาง ประกอบกับประเทศไทยมีสภาพภูมิอากาศเหมาะกับการเจริญเติบโตของเห็ดฟาง ทำให้ฟางข้าวซึ่งเป็นวัสดุเหลือใช้จากการทำนา มีประโยชน์แทนที่จะเผาทิ้ง นอกจากนั้น ยังมีวัสดุอื่นๆ เช่น กากทะลายปาล์ม เปลือกถั่วเขียว เปลือกถั่วเหลือง ผักตบชวาแห้ง ใบกล้วย และต้นกล้วยตากแห้ง กากฝ้าย และสับปะรด เป็นต้น สามารถนำมาเพาะเห็ดฟางได้ ประกอบกับเห็ดฟางเป็นเห็ดที่เพาะง่าย ใช้เวลาน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับเห็ดชนิดอื่น นำมาปรุงอาหารรสชาติดี มีคุณค่าทางอาหารสูง จึงทำให้มีการส่งเสริมการเพาะเห็ดฟางในทุกภาคของประเทศไทย ได้แก่ สระบุรี นครนายก พระนครศรีอยุธยา อ่างทอง สงขลา สุราษฎร์ธานี ขอนแก่น กาฬสินธุ์ นครราชสีมา ทำรายได้ให้กับครอบครัวและประเทศในปีหนึ่ง นับเป็นมูลค่าเป็นพันล้านบาท มีหน่วยงานจัดทำหัวเชื้อเห็ดฟางจำหน่ายให้กับเกษตรกร โดยมีกลุ่มงานจุลชีววิทยาประยุกต์ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เป็นผู้ให้ความรู้ทางวิชาการในด้านสายพันธุ์ เทคนิคการเพาะแบบต่างๆ ตลอดจนการป้องกันกำจัดโรคและศัตรูของเห็ดฟาง (ประสาน, 2549)

ชีววิทยาของเห็ดฟาง

1. อนุกรมวิธาน (Taxonomy) ของเห็ดฟาง

ชื่อภาษาไทย	เห็ดฟาง
ชื่อวิทยาศาสตร์	<i>Volvariella volvacea</i> (Bull.ex Fr.) Sing.
ชื่อสามัญ	Straw mushroom, Paddy mushroom, Chinese mushroom
ชั้น (Class)	Agaricomycetes
ลำดับ (Order)	Agaricales
วงศ์ (Family)	Pluteaceae
สกุล (Genus)	<i>Volvariella</i>
ชนิด (Species)	<i>volvacea</i>

2. วงจรชีวิตของเห็ดฟาง

เห็ดฟางเป็นเห็ดที่มีวงจรชีวิตแบบโฮโมทัลลิก (homothallic life cycle) กล่าวคือ เส้นใยจะเจริญเติบโตมาจากสปอร์เดียวกัน เมื่อดอกเห็ดเจริญเติบโตเต็มที่ก็จะมีการสร้างสปอร์ที่เรียกว่า เบสิดิโอสปอร์ (basidiospore) เมื่อสปอร์ปลิวไปตกยังที่มีสภาพแวดล้อมเหมาะสมก็จะงอกออกเป็นเส้นใย มีอยู่ 3 ระยะ คือ

2.1 เส้นใยระยะที่ 1 (primary mycelium) คือ เส้นใยที่เกิดจากการงอกของสปอร์ที่มี 1 นิวเคลียส เมื่อมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมสปอร์จะเกิดการงอกเป็นเส้นใยและมีการสร้างผนังขึ้นมาขึ้น เส้นใยระยะนี้จะมี 1 นิวเคลียส เหมือนกันทุกเซลล์ เรียกเส้นใยในระยะนี้ว่า homokaryont หรือ homokaryotic mycelium

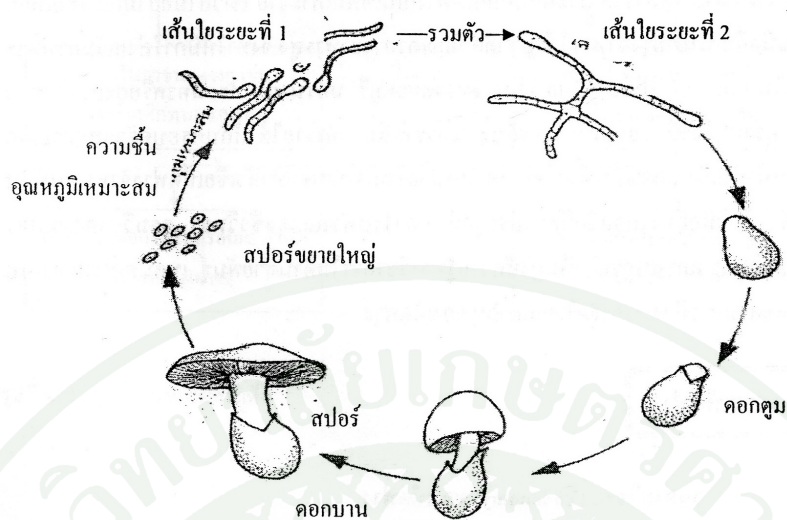
2.2 เส้นใยระยะที่ 2 (secondary mycelium) คือ เส้นใยที่เกิดจากเส้นใยในระยะที่ 1 ซึ่งเจริญมาจากสปอร์เดียวกันมาสัมผัสกัน ผนังส่วนที่สัมผัสกันเกิดการสลายไป ทำให้นิวเคลียสและไซโทพลาสซึมไหลมารวมอยู่ภายในเซลล์เดียวกัน เรียกว่า การเกิดพลาสโมแกรมมี (plasmogamy) ทำให้ภายใน 1 เซลล์ มีนิวเคลียส 2 นิวเคลียส เรียกเส้นใยระยะนี้ว่า heterokaryont หรือ dikaryotic mycelium ซึ่งเป็นเส้นใยที่มีวงจรชีวิตแบบไม่ต้องผสม (homothallic life cycle)

2.3 เส้นใยระยะที่ 3 (tertiary mycelium) คือ เส้นใยในระยะ dikaryotic mycelium มีการอัดรวมตัวกันแน่นเป็นกลุ่มก้อน เจริญและพัฒนาเป็นดอกเห็ด (fruiting body หรือ basidiocarp) ดังภาพที่ 1 จากนั้นมีการพัฒนาเพื่อสร้างสปอร์โดยมีขั้นตอนดังนี้คือ

2.3.2 นิวเคลียส 2 นิวเคลียส ในเบสิดิเทียม (basidium) รวมกันและแลกเปลี่ยนพันธุกรรมกัน เรียกนิวเคลียสในระยะนี้ว่า คาร์ิโอแกรมมี (karyogamy) ทำให้ได้นิวเคลียสที่มีโครโมโซมเป็น $2n$ (diploid chromosome)

2.3.2 นิวเคลียสที่มี $2n$ แบ่งตัวแบบเซลล์สืบพันธุ์ (meiosis) ได้นิวเคลียส จำนวน 4 นิวเคลียส แต่ละนิวเคลียสมีโครโมโซมเป็น n (haploid)

2.3.3 เบสิดิเทียม (basidium) สร้างก้านชูสปอร์ (sterigma) 4 อัน และมีนิวเคลียส 4 นิวเคลียส เคลื่อนไปที่ส่วนปลายของก้านชูสปอร์ และพัฒนาไปเป็นเบสิดิโอสปอร์ (basidiospore) เมื่อแก่ก็จะหลุด และปลิวไปตกอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมจะงอกเป็นเส้นใยในระยะที่ 1 ต่อไป



ภาพที่ 1 วงจรชีวิตของเห็ดฟาง

ที่มา: ยูพยงค์ (2542)

3. ระยะการเจริญของดอกเห็ดฟาง

การเจริญของดอกเห็ด จะมีระยะต่างๆ แบ่งออกได้เป็น 6 ระยะ ดังนี้คือ

3.1 ระยะหัวเข็มหมุด (pin head stage) เส้นใยจะรวมตัวกันเป็นจุดสีขาวๆ บนวัสดุเพาะ

3.2 ระยะกระดุมเล็ก (tiny button stage) ดอกเห็ดจะขยายใหญ่ขึ้น มีขนาดเท่ากับกระดุมขนาดเล็ก

3.3 ระยะกระดุม (button stage) ขนาดของดอกเห็ดใหญ่ขึ้น แต่ส่วนประกอบทั้งหมดของดอกเห็ดยังหุ้มด้วยเยื่อหุ้มดอก ถ้าผ่าตามขวางจะพบก้านดอก และหมวกดอกที่ยังไม่บาน

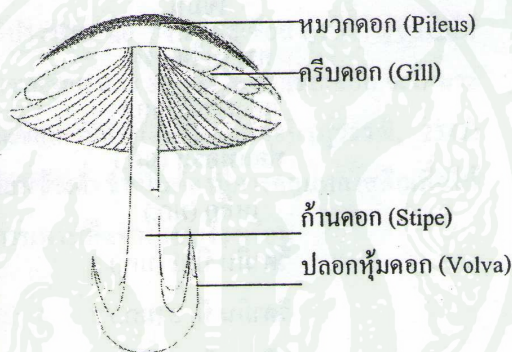
3.4 ระยะรูปไข่ (egg stage) ดอกเห็ดจะเจริญใหญ่ขึ้น ดันออกจนเนื้อเยื่อเริ่มปริแตก ซึ่งเนื้อเยื่อนี้ก็จะกลายเป็นปลอกหุ้ม (volva) ถ้านำดอกเห็ดไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ จะพบว่าส่วนของเบสิดิอัม (basidium) มีการสร้างก้านสปอร์ (sterigma) แต่ยังไม่มีการสร้างสปอร์ ระยะรูปไข่เป็นระยะที่เหมาะสมต่อการบริโภค เพราะเป็นระยะที่เห็ดเจริญเติบโตเต็มที่ และดอกเห็ดยังไม่บาน

3.5 ระยะยืดตัว (elongation stage) เป็นระยะที่เปลือกหุ้มดอกแตกออก ก้านดอกจะยืดดอกให้สูงขึ้น ทำให้มองเห็นหมวกดอก ครีบดอก และก้านดอกชัดเจน แต่ดอกเห็ดยังไม่บาน มีการสร้างสปอร์ แต่ยังไม่ถูกปลดปล่อยออกมา

3.6 ระยะดอกบานเต็มที่ (mature stage) เป็นระยะที่หมวกดอกกางออก หรือบานออกเต็มที่ ที่ครีบดอก (gill) จะมีสปอร์และถูกปลดปล่อยออกมา

สัณฐานวิทยาของเห็ดฟาง

เห็ดฟางมีส่วนประกอบของดอกเห็ดครบทุกส่วน แต่ไม่มีส่วนของวงแหวน (ring) โดยในระยะยืดตัว และระยะดอกบานเต็มที่ จะประกอบไปด้วยส่วนต่างๆดังนี้คือ



ภาพที่ 2 สัณฐานวิทยาของดอกเห็ดฟาง

ที่มา: Chang and Miles (2004)

1. เนื้อเยื่อหรือปลอกหุ้มดอก (volva) เป็นเนื้อเยื่อที่หุ้มดอกไว้ทั้งหมด ในระยะที่ดอกเห็ดยังอ่อนอยู่ เมื่อดอกเห็ดโตขึ้น หมวกดอกก็จะดันเนื้อเยื่อส่วนนี้ขาด ทำให้มีเนื้อเยื่อเหลือติดอยู่ที่โคนดอก มีรูปร่างเหมือนถ้วย รองรับที่โคนดอกเห็ด

2. ก้านดอก (stalk หรือ stipe) เป็นส่วนที่เชื่อมติดระหว่างหมวกดอก กับปลอกที่หุ้มโคนดอก ขนาดของก้านดอก จะขึ้นอยู่กับขนาดของดอก ถ้าดอกใหญ่ ก้านดอกจะใหญ่ และยาว ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5-1.5 เซนติเมตร ยาวประมาณ 3.0-8.0 เซนติเมตร มีสีเช่นเดียวกับปลอกหุ้ม โคนดอกไม่มีวงแหวน (ring)

3. หมวกดอก (cap หรือ pileus) หมวกดอกของเห็ดฟาง มีลักษณะคล้ายร่ม ทรงกลม ผิวเรียบ ตรงกลางหมวกดอกจะมีสีคล้ำเกือบดำ บริเวณขอบหมวกจะมีสีอ่อนกว่า แต่ทั้งนี้จะขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม ถ้าถูกแสงแดดจะมีสีคล้ำกว่าไม่ถูกแสง มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 6.0-10.0 เซนติเมตร ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับที่ใช้ในการวัสดุเพาะและสภาพแวดล้อม ใต้หมวกดอกจะมีครีบ (gill) ซึ่งเป็นที่กำเนิดของสปอร์

4. ครีบดอก (gill) ครีบดอกอยู่ใต้หมวกดอก เป็นแหล่งที่ใช้ผลิตสปอร์ของเห็ดเรียกว่า เบสิดิโอสปอร์ (basidiospore) ลักษณะของครีบดอกจะเหมือนร่ม เรียงโดยรอบ ครีบดอกผิวเรียบ เมื่อยังอ่อนจะมีสีขาวนวล เมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม

5. สปอร์ (Spore) สปอร์ของเห็ดฟางมีลักษณะเป็นรูปไข่ (egg shape) ขนาดประมาณ 5 x 8 ไมครอน แตกต่างกันตามสายพันธุ์

คุณค่าทางอาหาร

เห็ดฟางเป็นเห็ดที่มีเนื้อหนานุ่ม รสชาติอร่อย มีกลิ่นหอม คล้ายกล้วยไม้ มีกรดอะมิโน โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรตและวิตามินหลายชนิด ในเห็ดฟางสดมีน้ำ 92.39% โปรตีน 2.68% ไขมัน 2.24% น้ำตาล 2.6% และเห็ดฟางทุกๆ 100 กรัม จะมีวิตามินบี 206.27 มิลลิกรัม

นอกจากนี้เห็ดฟางยังมีสารประเภทโปรตีนคาร์ดิโอท็อกซิน (cardiotoxic protein) ซึ่งเรียกว่าโวลวาท็อกซิน (volvatoxin) มีคุณสมบัติในการต่อต้านเชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดโรคหัวใจและสารป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อมะเร็ง นักโภชนาการยืนยันว่าผู้ที่บริโภคเห็ดฟางอยู่เป็นประจำจะไม่มีปัญหาเกี่ยวกับโรคไขมันอุดตันในเส้นเลือดและหัวใจ จึงถือได้ว่าเห็ดฟางเป็นเห็ดชนิดหนึ่งที่ควรค่าต่อการบริโภค และราคาไม่สูงมากจนเกินไป เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อสัตว์และผักชนิดต่างๆ

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ดฟาง

ปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการเจริญของเห็ดฟาง ประกอบด้วยปัจจัยดังต่อไปนี้

1. สารอาหาร (nutrient) เห็ดฟางชอบเจริญในบริเวณที่มีพืชเน่าเปื่อยผุพัง เจริญเติบโตได้โดยอาศัยสารอาหารจากวัสดุเพาะ เป็นแหล่งคาร์บอน (carbon source) แหล่งไนโตรเจน (nitrogen source) ใช้แอมโมเนียเป็นแหล่งไนโตรเจน เช่น แอมโมเนียมซัลเฟต (ammonium sulfate) เพื่อดูดซับเอาธาตุไนโตรเจนและธาตุคาร์บอนในนั้นมาเป็นสารอาหารในการเจริญของเส้นใยและดอกเห็ด ถ้าวัสดุเพาะมีธาตุแอมโมเนียมากเกินไปจะทำให้การเจริญของเส้นใยเห็ดฟางชะงัก ซึ่งถ้าสารอาหารในวัสดุเพาะอุดมสมบูรณ์เส้นใยจะเจริญเติบโตได้ดี ให้ผลผลิตดีมีคุณภาพดี แต่ถ้าวัสดุเพาะมีสารอาหารที่ใช้ในการเจริญของเห็ดฟางน้อยไม่เพียงพอ เส้นใยจะเจริญเติบโตได้ไม่ดี จะไม่รวมตัวเป็นดอกเห็ด ให้ผลผลิตน้อย ดังนั้นการเพาะเห็ดฟางจึงต้องใช้วัสดุเพาะที่มีคุณภาพ ไม่เน่าเสียหรือมีการปนเปื้อนจาก

เชื้อรา อาจใช้อาหารเสริม เช่น ยูเรีย มูลสัตว์ชนิดต่างๆ หรือรำข้าวในปริมาณที่พอเหมาะ ช่วยเพิ่มคุณค่าของธาตุอาหารในวัสดุเพาะ (อดุลย์, 2546)

2. ความเป็นกรด-ด่าง (pH) สภาพที่เป็นกลาง หรือเป็นกรดอ่อนๆจะเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยและการเกิดดอก ช่วง pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญของเห็ดฟาง คือ 6.5-7.0 น้ำที่ใช้ในการหมักฟางและวัสดุเพื่อผลิตเชื้อเห็ดฟาง จะต้องมีสภาพเป็นกลาง และสะอาด ไม่มีโคลนตม ไม่มีตะกอน ของหินปูนและโลหะหนักต่างๆสะสมอยู่

3. อุณหภูมิ (temperature) เห็ดฟางเป็นเห็ดในเขตร้อนชื้น อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเห็ดฟางค่อนข้างสูง ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการงอกของสปอร์ประมาณ 38-40 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของเส้นใยประมาณ 36-40 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเป็นดอกเห็ดประมาณ 30-35 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิสูงเกินไปดอกเห็ดจะมีขนาดเล็ก ผิวของดอกเห็ดจะเป็นขนขรุขระคล้ายหนังคางคก ดอกบานเร็วและโรยเร็ว เกิดการผ่อและเน่าในเวลาต่อมา(อภิชาติ และ พริ้ม, 2555) แต่ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส เห็ดฟางจะออกดอกช้าหรือไม่เกิดดอก (สุวรรณี, 2542) ดังนั้นการเพาะเห็ดฟางในฤดูหนาว จึงให้ผลผลิตค่อนข้างต่ำ จำเป็นต้องมีการคลุมพลาสติก เพื่อให้อุณหภูมิภายในกองสูงขึ้น หรือเพิ่มไอร้อนสำหรับการเพาะเห็ดฟางในโรงเรือน

4. ความชื้น (moisture) เป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดเป็นอย่างมาก ความชื้นที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเห็ดฟางอยู่ระหว่าง 65-70% ซึ่งถ้าความชื้นน้อยเกินไปจะทำให้เส้นใยของเห็ดฟางจะเจริญได้ช้า และไม่สามารถพัฒนาไปเป็นดอกเห็ดได้ แต่ถ้าความชื้นมากเกินไป จะทำให้เส้นใยชะงักการเจริญผล และจะทำให้อากาศในวัสดุเพาะลดลง ขาดออกซิเจน เส้นใยอาจเจริญได้ไม่ดีหรือเน่าตาย ดังนั้นจะต้องควบคุมความชื้นบนวัสดุเพาะและความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศให้เหมาะสมต่อการเจริญของเห็ดและเส้นใยเห็ดฟาง ในการเพาะเห็ดฟางกองเดี่ยวจำเป็นต้องคลุมด้วยพลาสติก เพื่อป้องกันไม่ให้ความชื้นในแปลงระเหยออกไป แต่ถ้ามีฝนตกก็จำเป็นต้องทำหลังคาคลุม และทางระบายน้ำ เพื่อป้องกันไม่ให้น้ำขัง มิฉะนั้นเส้นใยเห็ดจะเน่าเสียและไม่เกิดดอก

การควบคุมความชื้นในอากาศควบคุมได้โดยการพ่นละอองน้ำในอากาศ ถ้าการหมุนเวียนของอากาศมีมากเกินไป จะทำให้ความชื้นสัมพัทธ์ (relative humidity) ลดลง ดอกเห็ดโดยทั่วไปมีน้ำเป็นส่วนประกอบร้อยละ 90 ถ้าความชื้นในอากาศมีน้อยก็จะเกิดการระเหยของน้ำออกไปจากดอกเห็ด ทำให้ดอกเห็ดแห้ง และชะงักการเจริญ ถ้าความชื้นมากเกินไปจะเกิดเส้นใยที่บริเวณโคนดอกจะฟู ทำให้ดอกเห็ดมีคุณภาพต่ำ ฉ่ำน้ำ และเกิดดอกน้อยลง ความชื้นสัมพัทธ์ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเห็ดฟางอยู่ระหว่าง 80-90% บวกลบได้ 5%

5. แสงสว่าง (light) ช่วยกระตุ้นการสร้างดอกเห็ด (fruiting body) โดยเฉพาะแสงสีน้ำเงิน จะช่วยกระตุ้นการสร้างดอกเห็ดได้ดีกว่าช่วงแสงอื่นๆ ในโรงเรือนเพาะเห็ดฟางแบบอุตสาหกรรม หรือในโรงเรือน จึงนิยมให้แสงสว่างสีน้ำเงิน หรือใช้ผ้าพลาสติกสีน้ำเงิน ให้แสงส่องผ่านเพื่อช่วยกระตุ้นให้

เส้นใยเห็ดเจริญเป็นดอกเห็ดได้ดียิ่งขึ้น ปกติดอกเห็ดที่ถูกแสงแดดทำให้ดอกเห็ดมีสีคล้ำ หมวกดอกมีสีดำและบานเร็ว

6. อากาศ (air) เป็นปัจจัยสำคัญสำหรับการเจริญของเห็ดฟาง สภาพแวดล้อมในการเพาะเห็ดฟางจะต้องมีระบบการถ่ายเทอากาศที่ดี มีออกซิเจนอย่างเพียงพอสำหรับการเจริญ การเจริญของเส้นใยเห็ดฟางมักจะสะสมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จนทำให้ขาดออกซิเจนได้ง่าย (อดุลย์, 2546) ในระยะการเจริญเติบโตของเส้นใย ถ้ามีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์บริเวณกองเพาะสูง จะทำให้เส้นใยเห็ดเจริญเติบโตช้า หรือทำให้เส้นใยตาย ในระยะเส้นใยเจริญพัฒนาไปเป็นดอกเห็ด ถ้ามีจำนวนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มากจะทำให้ก้านดอกยืดยาว และหมวกดอกไม่เจริญขยายกว้างออกไป หรือทำให้ดอกเห็ดบานเร็วผิดปกติ (อภิชาติ และ พริ้ม, 2555)

วิธีการเพาะเห็ดฟาง

วิธีการเพาะเห็ดฟางทำได้หลายวิธี เช่น การเพาะเห็ดฟางแบบกองสูง การเพาะเห็ดฟางแบบกองเตี้ย การเพาะเห็ดฟางแบบอุตสาหกรรม หรือแบบโรงเรือน การเพาะเห็ดฟางในตะกร้า การเพาะเห็ดฟางในกล่อง ในถุงปุ๋ย

1. การเพาะเห็ดฟางแบบกองสูง เป็นการเพาะเห็ดฟางวิธีการดั้งเดิม และใช้พื้นที่ในการเพาะกลางแจ้ง ปัจจุบันไม่ค่อยนิยม เพราะเปลืองฟางซึ่งเป็นวัสดุเพาะที่สำคัญ และใช้แรงงานมาก เห็ดฟางจะทยอยให้ผลผลิต ทำให้เสียเวลาในการดูแล ผลผลิตไม่ค่อยสม่ำเสมอเหมือนการเพาะแบบอื่น

2. การเพาะเห็ดฟางกองเตี้ย เป็นการเพาะแบบกลางแจ้งที่พัฒนามาจากการเพาะแบบกองสูง แต่สามารถเพาะได้ง่าย ประหยัดวัสดุเพาะและค่าใช้จ่าย รวมทั้งดูแลได้ง่ายมากกว่าการเพาะแบบกองสูง สามารถใช้อาหารเสริมและให้ผลผลิตที่แน่นอน (สุเทพ, 2552)

3. การเพาะเห็ดฟางแบบอุตสาหกรรมหรือในโรงเรือน เป็นการเพาะที่นิยมของเกษตรกร ได้ผลผลิตที่ดีกว่า และแน่นอนกว่าแบบกลางแจ้ง แต่ต้นทุนสูงกว่า โดยเฉพาะโรงเรือน ต้องเข้าใจธรรมชาติและสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเห็ดฟาง ต้องมีเครื่องกำเนิดไอน้ำขึ้นวางวัสดุเพาะในโรงเรือน อุปกรณ์วัดความชื้นและอุณหภูมิ อย่างสำหรับหมักวัสดุเพาะ แต่ก็ให้ผลผลิตที่คุ้มค่ากับการลงทุน

4. การเพาะเห็ดฟางในตะกร้า ทำได้ง่าย ใช้พื้นที่น้อยขึ้นตอนไม่ยุ่งยาก ต้นทุนน้อย สามารถเพาะเพื่อบริโภคในครัวเรือนได้ ดอกเห็ดสามารถออกได้เรื่อยๆ ช่วยลดรายจ่ายในครัวเรือน และเป็นกิจกรรมเสริมเพื่อพักผ่อนหย่อนใจได้ วัสดุที่ใช้เพาะสามารถใช้วัสดุที่เหลือจากการเกษตร เช่นเดียวกับ การเพาะเห็ดฟางแบบอื่นๆ และสามารถนำก้อนเชื้อเห็ดถุงที่ผ่านการเพาะแล้วมาใช้เป็นวัสดุเพาะได้

การผลิตหัวเชื้อเห็ดบรืสุทธิ์

1. การคัดเลือกสายพันธุ์ของเห็ดฟาง ต้องคัดเลือกดอกเห็ดที่มีขนาดและรูปทรงที่ดี เพื่อใช้ในการเชื้อเนื้อเยื่ออาหารเลี้ยงเชื้อและถ่ายลงในก้อนปุ๋ยหมัก ก่อนนำไปเพาะให้เกิดดอก ดอกเห็ดที่ควรเลือกใช้ควรคัดเลือกจากแปลงที่ให้ผลผลิตสูง เป็นดอกตูม ทรงเรียวยาวเหมือนรูปไข่ ขนาดพอเหมาะสม น้ำหนักดี เมื่อผ่าดอกเห็ดออกมาแล้วเนื้อเยื่อจะต้องแน่นไม่มีช่องอากาศ

2. การผลิตเชื้อเห็ดฟาง ทำการแยกเชื้อบริสุทธิ์จากดอกเห็ด โดยเชื้อเนื้อเยื่อด้านในของดอกเห็ดจากข้อ 1. ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อพีดีเอ (potato dextrose agar; PDA) โดยใช้เทคนิคปลอดเชื้อ (asepticed technique) ปั่นเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 5-7 วัน เส้นใยเห็ดฟางจะเจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อ หลังจากนั้นจึงนำไปขยายในอาหารเลี้ยงเชื้อขวดอื่นๆ

3. การเตรียมก้อนเชื้อเห็ดฟาง เป็นขั้นตอนที่นำเอาหัวเชื้อเห็ดฟางบริสุทธิ์จากก้อนอาหารในข้อ 2. มาขยายให้มากขึ้น เพื่อนำไปใช้เพาะให้เกิดดอก เป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญต้องเตรียมหมักวัสดุเพาะก่อนนำไปใช้เพาะ เนื่องจากเชื้อเห็ดฟางจะไม่สามารถย่อยสลายประเภทเซลลูโลส (cellulose) และเฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) ได้โดยตรง จึงจำเป็นต้องอาศัยเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติช่วยในการย่อยสลายโดยผ่านกระบวนการหมักของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทนความร้อน (thermophilic microorganisms) ทำให้กองปุ๋ยหมักมีอุณหภูมิสูงประมาณ 60-70 องศาเซลเซียส เชื้อจุลินทรีย์ที่ช่วยในการย่อยสลายวัสดุเพาะส่วนใหญ่จะเป็นเชื้อแอคติโนมัยซีส (actinomycetes) เชื้อแบคทีเรีย และเชื้อราร้อนบางชนิด (Fermor *et al.*, 1985) เชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้จะช่วยย่อยให้สารอาหารที่มีโครงสร้างสลับซับซ้อนอยู่ในโครงสร้างที่ย่อยง่าย หลังจากนั้นเชื้อเห็ดฟางจึงเจริญเติบโตและใช้สารอาหารเหล่านั้นต่อไปได้

3.1 วัสดุเพาะหรือปุ๋ยหมักเห็ดฟางที่ดี ก่อนนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ ควรมีลักษณะ สีคล้ำ ร่วนซุย ไม่จับกันเป็นก้อน มีค่า pH เป็นกลาง ไม่มีกลิ่นแอมโมเนีย แต่มีกลิ่นคล้ายกลิ่นเห็ด และมีความชื้นที่เหมาะสมประมาณ 60-70%

3.2 วัสดุที่นิยมใช้ในการเพาะหรือหมักปุ๋ย ได้แก่ มูลสัตว์ เช่น มูลม้า มูลวัว มูลควาย แต่ที่ให้ผลผลิตดีคือมูลม้า เพราะมีเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถปลดปล่อยความร้อนได้สูง จึงทำให้ปุ๋ยหมักมีอุณหภูมิสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว ขณะเดียวกันก็สร้างสารปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา ดังนั้นการใช้มูลม้ามาทำปุ๋ยหมักเห็ดฟางจะทำให้ก้อนเชื้อเห็ดเกิดการปนเปื้อน (contaminate) น้อยกว่ามูลสัตว์ชนิดอื่น (สุทธิชัย, 2545)

วัสดุเพาะที่นิยมใช้เพาะเห็ดฟาง ได้แก่ กากฝ้าย (cotton wast) เพราะหาง่ายมีเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสที่มีคุณภาพดีเหมาะสมต่อการเจริญของเห็ด ใสนุ่ม หาง่าย ราคาถูกสามารถนำมาใช้แทนกันได้ และเปลือกถั่วเหลืองหรือถั่วเขียว มีสารอาหารโดยเฉพาะไนโตรเจนสูง ทำให้เส้นใยเห็ดเจริญเติบโตได้เร็ว นิยมนำมาทำเป็นอาหารเสริม แต่มีข้อเสียคือมักปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ได้ง่าย

4. สูตรและขั้นตอนการหมัก

4.1 สูตรที่นิยมใช้มีหลายสูตร การเลือกใช้แตกต่างกันตามสภาพพื้นที่ เช่น

สูตรที่ 1 มูลม้าสด และเปลือกถั่ว อัตราส่วน 1:1

สูตรที่ 2 มูลม้าสด เปลือกบัว ไส้หนู อัตราส่วน 1:1:1

สูตรที่ 3 มูลม้าสด ไส้หนู เปลือกถั่วเหลืองหรือถั่วเขียว อัตราส่วน 1:2-4:1

4.2 ขั้นตอนการหมัก ควรทำในโรงเรือนที่มีหลังคา พื้นคอนกรีต อากาศถ่ายเทสะดวก ใกล้แหล่งน้ำหรือน้ำประปา และระบายน้ำได้ดี มีขั้นตอนดังนี้คือ

4.2.1 นำเปลือกบัวหรือเปลือกถั่วมาหมักให้นิ่มและดูดซับน้ำจนอืดตัว จากนั้นนำขึ้นมาผึ่งบนพื้นซีเมนต์ให้หมาดๆ

4.2.2 นำขี้ฝ้ายหรือไส้หนู มาตีให้แตกออกจากกัน แล้วจึงนำไปหมัก โดยให้กองเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า สูงประมาณ 5.0-6.0 เซนติเมตร กว้างประมาณ 1.5-2.0 เซนติเมตร ความยาวแล้วแต่พื้นที่ รดน้ำให้ทั่วกอง

4.2.3 นำเปลือกบัวหรือเปลือกถั่วจากข้อ 4.2.1 มาผสมกับขี้ฝ้ายหรือไส้หนูในข้อ 4.2.2 โดยใช้เครื่องผสมให้เข้ากัน พร้อมกับใส่มูลม้าที่ปั่นแล้วผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน

4.2.4 นำพลาสติกหรือผ้ายางมาคลุมกองไว้ 3 วัน และกลับกองทุกๆ 3 วัน ประมาณ 2-3 ครั้ง ถ้ากองปุ๋ยหมักแห้งเกินไปควรรดน้ำ เพื่อรักษาความชื้นให้ได้ประมาณ 60-70%

4.2.5 กองวัสดุเพาะที่หมักประมาณ 12-15 วัน สามารถนำมาใช้ได้ หลังจากนั้นนำมาบรรจุในภาชนะ ที่นิยมคือถุงพลาสติกชนิดทนร้อน แต่เดิมใช้ขวดแก้ว หรือกระป๋องโลหะ ซึ่งไม่สะดวกในการขนส่ง และมีน้ำหนักมาก หลังจากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15-20 นาที แต่ส่วนใหญ่จะนึ่งโดยใช้หม้อนึ่งไอน้ำธรรมดาหรือหม้อนึ่งลูกทุ่ง ซึ่งใช้อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 3-5 ชั่วโมง สำหรับเวลาในการนึ่งนั้นจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณของวัสดุเพาะ การนึ่งจะมีตะแกรงวางเป็นชั้นๆ ภายในหม้อนึ่ง เมื่อนึ่งได้เวลาก็กดไฟ ทิ้งไว้ให้อุณหภูมิลดลงจึงเปิดและนำถุงปุ๋ยหมักออกมาเพื่อรอการถ่ายเชื้อเห็ดต่อไป

4.3 การถ่ายเชื้อหรือต่อเชื้อเห็ด ต้องทำในที่ลมสงบ และต้องสะอาด อุปกรณ์ที่ใช้ ได้แก่ ตะเกียงแอลกอฮอล์ ข้อนตัก ปากคีบ เข็มเขี่ย ก่อนใส่เชื้อเห็ดฟางจะต้องตรวจสอบสภาพของปุ๋ยหมัก เพราะอาจติดเชื้อรา เช่นราเขียว ราดำ หรือราที่ทนความร้อนต่างๆ ถ้าพบวัสดุเพาะมีราเขียวเจริญ ต้องทิ้งและนำไปนึ่งทำลาย ไม่นำมาใช้

การถ่ายเชื้อเห็ดฟางลงบนวัสดุเพาะ ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ดังต่อไปนี้

4.3.1 การถ่ายจากเชื้อเห็ดฟางบริสุทธิ์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ตัดเชื้อเห็ดฟางบนชิ้นวุ้นขนาด 1x1 ตารางเซนติเมตร ใส่ลงในถุงวัสดุเพาะก้อนเชื้อเห็ดฟาง และปิดปากถุง นำไปบ่มไว้ที่มีอากาศถ่ายเทสะดวก อุณหภูมิประมาณ 30-35 องศาเซลเซียส ประมาณ 6-7 วัน สามารถนำไปใช้เป็นหัวเชื้อเห็ดได้

4.3.2 การถ่ายจากเชื้อเห็ดที่เจริญบนเมล็ดธัญพืช ใช้ปากคีบ หรือเข็มเย็บคนให้เมล็ดธัญพืชกระจายออกจากกัน เพื่อสะดวกต่อการถ่ายเชื้อ ในแต่ละถุงควรใส่ประมาณ 25-30 เมล็ดและปิดปากถุงแล้วนำไปบ่ม

4.3.3 การถ่ายจากวัสดุเพาะเชื้อเห็ดฟางเดิม เป็นวิธีที่ฟาร์มผลิตเชื้อเห็ดฟางนิยมใช้กันมากที่สุด ผู้ผลิตจะทำการคัดเลือกเชื้อเห็ดฟางที่มีคุณภาพดีที่ผลิตได้ในรุ่นก่อนไว้จำนวนหนึ่ง และใช้เชื้อเห็ดในวัสดุเพาะนี้ใส่ในถุงวัสดุที่เพาะเตรียมไว้ใหม่ แทนที่อาหารเลี้ยงเชื้อหรือจากเมล็ดธัญพืช โดยปกติหนึ่งถุงจะใช้เชื้อเห็ดประมาณ 1 ข้อน

4.4 ลักษณะของเชื้อเห็ดที่ดี คือ เส้นใยเจริญได้ดี ไม่ฟูมากจนเกินไป มีลักษณะหยาบ สีขาว มีกลิ่นหอมคล้ายเห็ด ไม่มีการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ ไม่แฉะหรืออ่อนเกินไป อายุของเชื้อเห็ดที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้เพาะประมาณ 7-10 วัน ถ้าอายุเชื้อเห็ดเกิน 20 วัน ไม่ควรนำไปใช้ เพราะถ้าเส้นใยแฉะเกินไป คือเริ่มมีการยุบตัวและเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ถ้านำไปเพาะเส้นใยจะได้เจริญช้า และให้ผลผลิตไม่ดี

เชื้อเห็ดฟางจะเจริญบนวัสดุเพาะได้เร็วและแก่เร็ว จึงไม่ควรซื้อเชื้อเห็ดมาเก็บไว้ ควรใช้ให้หมดในแต่ละครั้ง อาจเก็บได้ประมาณ 10-15 วัน ถ้าหากพบเส้นใยเริ่มเป็นสีน้ำตาลอ่อนแสดงว่าเริ่มแก่และเสื่อมสภาพ (ประสาน, 2549)

วัสดุที่ใช้เพาะเห็ดฟาง

สำเนา (2551) กล่าวว่า วัสดุที่ใช้เพาะเห็ดฟางต้องเป็นวัสดุที่สามารถย่อยได้ง่าย ไม่มีการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์และสารเคมีเป็นพิษต่อเชื้อเห็ดฟาง วัสดุที่นิยมใช้เพาะเห็ดฟางในปัจจุบันมีหลายชนิดได้แก่

1. ฟางข้าว ได้แก่ ฟางข้าวเหนียว ฟางข้าวเจ้า และตอซังข้าว เป็นวัสดุเพาะที่นิยมใช้กันมากเนื่องจากหาได้ง่าย ราคาถูก และให้ผลผลิตดี

2. เปลือกถั่ว ได้แก่ เปลือกถั่วเขียว ถั่วเหลือง และถั่วลิสง นำมาใช้เพาะเห็ดได้ผลดี มีธาตุอาหารสูง ก่อนนำมาใช้ต้องตากให้แห้ง ไม่เปียกชื้น ไม่เน่าและไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อรา เปลือกถั่ว

ที่เก็บมาใหม่ๆไม่ควรนำมาใช้เพราะดูดซับน้ำได้น้อย ถ้าจะนำมาใช้ควรทิ้งไว้อย่างน้อย 1 เดือน

3. ขี้ฝ้าย เศษฝ้ายที่ได้จากโรงงานปั่นฝ้าย แบ่งออกได้เป็นสองชนิด คือ ขี้ฝ้ายคอก เป็นขี้ฝ้ายที่อยู่ใต้เครื่อง จะถูกคัดออก เนื่องจากเป็นฝ้ายปุยสั้น ส่วนนี้มีอาหารเหลืออยู่มาก มีส่วนของฝุ่นหนัก เศษสมอหรือเปลือกฝ้ายติดอยู่ ขี้ฝ้ายชนิดนี้นำมาใช้เพาะเห็ดฟางได้ดี มีราคาสูง ส่วนขี้ฝ้ายปึกหรือขี้ฝ้ายกระสือ เป็นขี้ฝ้ายเบา ละเอียดคล้ายสาลีเปื้อนฝุ่น จะอัดเป็นก้อนหรือแผ่นใหญ่ มีอาหารเหลือน้อย และขี้ฝ้ายปึกได้ยาก ไม่ค่อยนิยมนำมาใช้เพาะเห็ดฟาง ปกตินำขี้ฝ้ายปึกมาผสมกับขี้ฝ้ายคอกอัตราส่วน 1:2 หรือผสมกับเปลือกถั่วเขียว เปลือกมันสำปะหลัง กากเมล็ดฝ้าย อัตราส่วน 1:1 ซึ่งกากเมล็ดฝ้ายนั้น เป็นส่วนที่ผ่านการสกัดน้ำมันออกแล้ว สามารถนำมาเพาะเห็ดฟางได้

4. ใสนุ่น คือ ส่วนแกนกลางของผลนุ่น ที่นำเอาปุยและเมล็ดนุ่นออกไปใช้แล้ว อาจรวมไปถึงส่วนที่เป็นเปลือก เส้นใย และแกนกลางของผลนุ่น บดเป็นชิ้นเล็กๆ รวมเรียกว่า ใสนุ่น สามารถใช้เป็นอาหารเสริมหรือวัสดุเพาะ แต่ปัจจุบันใสนุ่นราคาค่อนข้างแพงและหายาก

5. ผักตบชวา สามารถใช้ได้ทุกส่วนทั้งต้นแห้งและสด ควรเลือกผักตบชวาที่แก่เต็มที่ ซึ่งจะมีธาตุอาหารสูง เวลาจะนำมาใช้เพาะอาจจะสับเป็นชิ้นสั้นๆ ประมาณ 1-2 เซนติเมตร

6. ต้นและใบข้าวโพด ภายหลังจากที่เก็บเกี่ยวผลผลิตเอาฝักข้าวโพดแล้ว ใช้เพาะเห็ดได้ผลดี เช่นเดียวกับการใช้ฟางข้าว แต่ก่อนนำไปใช้ควรสับหรือตีต้นข้าวโพดให้เป็นชิ้นเล็กๆเสียก่อน แล้วจึงนำไปแช่น้ำ 1 คืน จึงนำไปใช้เพาะเห็ดฟาง

7. ชานอ้อยหรือกากอ้อย คือ ส่วนที่เหลือจากการบีบน้ำอ้อยออกแล้ว นำไปตากแดดให้แห้ง สามารถนำมาใช้เพาะเห็ดฟางได้

8. กากเปลือกมันสำปะหลัง จะมีแป้งและคาร์โบไฮเดรตเป็นส่วนประกอบ สามารถนำไปใช้ในการเพาะเห็ดฟางได้เป็นอย่างดี แต่เปลือกมันสำปะหลังที่ยังสดจะมีสารพวกไซยาไนด์ปริมาณมากควรทำให้แห้ง ก่อนนำมาใช้ในการเพาะเห็ด

9. ทะลายปาล์มน้ำมัน ทะลายปาล์มน้ำมันที่เอาผลปาล์มน้ำมันออกแล้วใช้เป็นวัสดุเพาะเห็ดฟางได้ผลผลิตสูง ส่วนของใยที่ได้จากการหีบน้ำมันปาล์มจากผลแล้ว ก็สามารถนำมาเพาะเห็ดฟางได้เช่นกัน แต่ข้อเสียในการใช้ทะลายปาล์มน้ำมัน คือ เห็ดฟางมักมีกลิ่นของทะลายปาล์ม จึงอาจไม่เป็นที่นิยมของผู้บริโภค

10. วัสดุที่เหลือทิ้งจากการเพาะเห็ดถุง ซึ่งเห็ดที่นิยมเพาะในถุง เช่น เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม เห็ดหูหนู เห็ดเป๋าฮื้อ เห็ดขอนขาว เห็ดลม เป็นต้น เห็ดเหล่านี้สามารถย่อยสลายอาหารเชิงซ้อนได้ ซึ่งเห็ดฟางไม่สามารถย่อยได้ ก่อนเชื้อเห็ดเก่าเหล่านี้สามารถนำมาเพาะเห็ดฟางได้ โดยบดให้เป็นชิ้นเล็กๆ ส่วนวัสดุเพาะบรรจุถุงที่มีเชื้อราอื่นๆ เช่น เชื้อราดำ ราเขียว ราเหลือง เป็นต้น

11. ต้นกล้วย สามารถใช้เป็นวัสดุเพาะเห็ดฟางได้ทุกส่วน แต่ก่อนนำมาใช้ต้องสับให้เป็นชิ้นเล็กๆเสียก่อน
12. ใบแค ใช้เป็นวัสดุเพาะเห็ดฟางได้ทั้งใบสดและใบแห้ง
13. มูลสัตว์ เช่น มูลม้า มูลวัว และมูลควายแห้งป่น สามารถนำมาผสมในวัสดุเพาะเห็ดฟางเพื่อใช้เป็นอาหารเสริมได้
14. เปลือกทุเรียน นำมาสับให้มีขนาดเล็กลงประมาณ 1-2 นิ้ว ตากให้แห้งหรือสดสามารถนำมาใช้เพาะเห็ดฟางได้

ปัญหาอุปสรรคของการเพาะเห็ดฟางในโรงเรือน

ประสาน (2549) กล่าวว่า ปัญหาและอุปสรรคในการเพาะเห็ดฟางมีหลายสาเหตุ ดังต่อไปนี้

1. การหมักวัสดุเพาะ อุณหภูมิในกองปุ๋ยไม่สูงเท่าที่ควร พบได้บ่อยเมื่อนำวัสดุเพาะเก่าหรือมีการเก็บรักษาไม่ดีมาใช้ ทำให้อาหารเหลือน้อย เกิดกิจกรรมการหมักของจุลินทรีย์น้อย มีผลทำให้อุณหภูมิในกองปุ๋ยไม่สูงเท่าที่ควร เกษตรกรควรเลือกวัสดุเพาะใหม่ๆ มีธาตุอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์
2. การอบไอน้ำในโรงเรือนไม่ได้ระดับอุณหภูมิที่ต้องการ อาจเนื่องมาจากอุปกรณ์กำเนิดไอน้ำไม่สามารถให้ไอน้ำได้เพียงพอกับที่ต้องการ คือ 60–65 องศาเซลเซียส นานต่อเนื่อง 3-6 ชั่วโมง
3. เส้นใยไม่เจริญหรือเจริญได้น้อย เนื่องจากเชื้อเห็ดฟางไม่มีคุณภาพ หรืออายุมากจนเกินไป ควรเลือกก้อนเชื้อที่อายุเหมาะสมต่อการเพาะ ไม่อ่อนหรือแก่จนเกินไป
4. เส้นใยไม่พัฒนาเป็นดอกเห็ด น่าจะมีสาเหตุมาจากการถ่ายเทอากาศไม่ดี อุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญ ควรเพิ่มการระบายอากาศ ติดหลอดไฟเพื่อช่วยเพิ่มแสงสว่างในการกระตุ้นการเจริญของดอกเห็ด หรือควบคุมอุณหภูมิให้เหมาะสมสำหรับการเจริญของดอกเห็ด
5. การปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์บนวัสดุเพาะ เช่น เชื้อราเจริญบนวัสดุเพาะ มีสาเหตุจากการอบไอน้ำไม่ดี ควรอบไอน้ำให้อุณหภูมิสูง 60–65 องศาเซลเซียส นานอย่างน้อย 3-6 ชั่วโมง
6. การเจริญของเชื้อแข่งขันของเห็ดบนวัสดุเพาะ เช่น เห็ดน้ำหมึก เห็ดถั่วอกหัวโตหรือเห็ดขาขาว น่าจะมีสาเหตุมาจากการหมักปุ๋ยไม่ดีมีแอมโมเนียสูง หรือใส่ยูเรียผสมในวัสดุเพาะมากเกินไป

7. ดอกเห็ดมีขนาดเล็ก และบานเร็ว ให้ผลผลิตที่น้อย มีสาเหตุมาจากเชื้อเห็ดฟางไม่แข็งแรง เนื่องจากการต่อเชื้อหลายครั้ง วัสดุเพาะมีอาหารน้อย หรือเก่าเก็บรักษาไม่ดี

8. ดอกเห็ดมีลักษณะคล้ายกับหนังคางคก เนื่องจากอากาศร้อนเกินไป ควรเพิ่มการระบายอากาศ รดน้ำบริเวณพื้นและผนังโรงเรือนเพื่อช่วยรักษาอุณหภูมิให้เหมาะสม 28–32 องศาเซลเซียส

ปัญหาจากโรคและแมลงศัตรูของเห็ดฟาง

บุษบา (2542) กล่าวว่า โรคเห็ด เป็นอาการผิดปกติของดอกเห็ด ทำให้รูปทรงผิดไปจากเดิม เช่น ดอกเห็ดเล็ก แคระแกร็น และเกิดแผลตามผิวของดอกเห็ด โรคของเห็ดโดยทั่วไปแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ โรคที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ และโรคที่ไม่ได้มีสาเหตุมาจากเชื้อ

โรคที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ ได้แก่

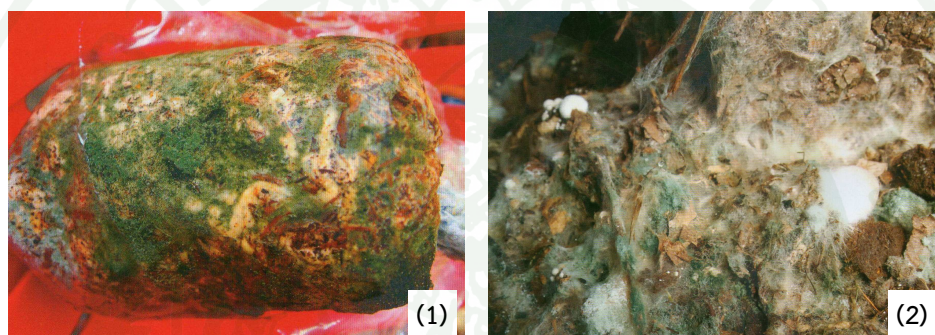
1. โรคที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา เชื้อราบางชนิดทำให้เส้นใยเห็ดเจริญเติบโตช้า หรือทำให้เส้นใยชะงักการเจริญเติบโต เรียกว่า เชื้อราแข่งขัน เป็นเชื้อราที่สามารถเจริญเติบโตเร็วกว่าเห็ด และเจริญแย่งสารอาหารจากเส้นใยและดอกเห็ดฟาง เชื้อราบางชนิดทำให้เกิดโรคและอาการผิดปกติกับดอกเห็ดฟาง ทำให้ผลผลิตของเห็ดฟางลดลงอย่างมาก บางครั้งทำให้ดอกเห็ดไม่เจริญเติบโตหรือไม่สามารถเก็บผลผลิตได้ เชื้อราศัตรูเห็ดฟางที่พบบ่อยๆ ได้แก่

1.1 โรคราเมล็ดผักกาด (*Sclerotium rolfsii*) พบมากในช่วงที่อากาศร้อนจัด และการใช้วัสดุเพาะที่ไม่สะอาดเก็บค้างปี หรือมีเชื้อราเจริญปนเปื้อนมาก่อน วัสดุเพาะไม่แห้ง ในธรรมชาติราชนิดนี้จะมีลักษณะเป็นตุ่มหรือเมล็ดเล็กๆ สีน้ำตาลขนาดเท่ากับเมล็ดผักกาด พบกระจายทั่วไปบนวัสดุเพาะ พบมากในการเพาะเห็ดฟางกองเตี้ย การสังเกต คือ เส้นใยของเชื้อรามีลักษณะหนากว่าเส้นใยของเห็ดฟาง เริ่มเกิดขึ้นได้ในวันที่ 3-4 ของการเพาะ และเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ต่อมาจะเกิดเส้นใยแผ่ขยายออกไป มีลักษณะเป็นวงกลมโดยเฉพาะที่หลังกอง เมื่อเส้นใยมีอายุมากขึ้นจะสร้างโครงสร้างรูปร่างกลม มีสีขาว เมื่ออ่อน และเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาลเมื่อแก่ ทำให้มีลักษณะคล้ายคลึงกับเมล็ดผักกาด จึงได้ชื่อว่าราเมล็ดผักกาด เชื้อราชนิดนี้มักเกิดเป็นหย่อมเท่านั้น ไม่กระจายไปทั้งแปลงเพาะ แต่ทำลายเส้นใยของเห็ดโดยตรง ทำให้บริเวณที่เกิดราเมล็ดผักกาดไม่มีดอกเห็ด นอกจากนั้นยังทำลายดอกเห็ดอ่อนๆ ทำให้ดอกเห็ดอ่อนมีลักษณะนิ่มกว่าปกติ

1.2 โรคราเขียว มักพบบนขี้ฟ้าย ฟางข้าว บนดินและดอกเห็ด ในการเพาะเห็ดฟางแบบกองเตี้ย หรือการเพาะเห็ดฟางแบบอุตสาหกรรม ราเขียวที่พบบ่อย มี 3 ชนิด ได้แก่ *Trichoderma* sp. และ *Gliocladium* sp. มีลักษณะเป็นสีเขียวอ่อน หรือสีเขียวเข้ม นอกจากนี้ยังพบเชื้อราเขียว *Penicillium* sp. มีลักษณะสีเขียวอมเทา ชอบเจริญบนอุณหภูมิปานกลาง พบทั่วไปในดิน หรืออายุประมาณ 3 วันจะเริ่มสร้างสปอร์สีเขียว สามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว สร้างสปอร์ขนาดเล็กจำนวนมาก สามารถแพร่กระจายไปตามอากาศได้ง่าย ถือเป็นเชื้อราแข่งขันที่สำคัญของเห็ดฟาง

จะแย่งสารอาหารที่ใช้ในการเจริญเติบโตไปใช้ก่อน ทำให้เส้นใยของเห็ดฟางเจริญไม่ทัน นอกจากนี้ยังเข้าทำลายเส้นใยและดอกเห็ด ทำให้ดอกเห็ดฟางเกิดความเสียหาย ผลผลิตน้อยลง

Chen *et al.* (1999) กล่าวว่า เชื้อรา *Trichoderma* sp. เป็นเชื้อราเขียวสายพันธุ์ที่มีความรุนแรงในการก่อโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *Trichoderma harzianum* ที่เจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว สร้างสปอร์ได้มาก การระบาดจึงเกิดขึ้นอย่างรุนแรงและต่อเนื่อง ทำให้เส้นใยเห็ดไม่สามารถเจริญเติบโตได้ กลไกการเข้าทำลายของเชื้อรา *Trichoderma* ต่อเส้นใยเห็ดมีหลายวิธี เช่น การแก่งแย่งแข่งขันพื้นที่และอาหาร การเป็นปรสิตกับเส้นใยเห็ด โดยการพันรัดและแทงเส้นใยเข้าไปเจริญภายในเส้นใยของเห็ด สร้างสารปฏิชีวนะหรือเอนไซม์ต่างๆ เพื่อใช้ในการย่อยสลายผนังของเส้นใยเห็ด ทำให้เห็ดไม่สามารถสร้างดอกได้ (Stauton, 1987)



ภาพที่ 3 เชื้อราเขียวเจริญบนก้อนเชื้อเห็ดฟาง (1) และเชื้อราเจริญบนวัสดุเพาะเห็ดฟาง (2)

ที่มา: อภิชาติ และ พร้ม (2555)

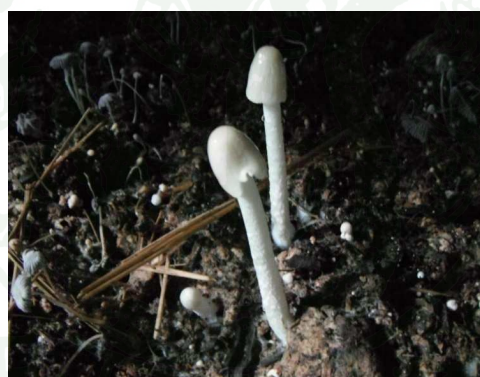
นอกจากนี้ยังพบเชื้อราเขียวอีกชนิดที่ถือว่าเป็นศัตรูสำคัญของเห็ด คือ *Paecilomyces* sp. สร้างสปอร์จำนวนมาก เจริญเติบโตได้เร็ว เป็นราทนร้อน ชอบร้อน พบมากในช่วงที่มีความชื้นสูงและอากาศร้อนอบอ้าว เกิดจากวัสดุเพาะที่มีเชื้อราเขียวปนเปื้อนมาก่อนหรือติดมากับเชื้อเห็ดฟาง

1.3 เห็ดน้ำหมึกหรือเห็ดขี้ม้า (*Coprinus* sp.) เป็นเชื้อแข่งขันที่สำคัญของเห็ดฟางที่พบได้บ่อยที่สุดบนวัสดุเพาะ ทั้งในการเพาะเห็ดฟางกองเดี่ยวและเห็ดฟางอุตสาหกรรม เห็ดน้ำหมึกในกองเพาะเห็ดฟางอุตสาหกรรมแสดงถึงการหมักฟางไม่ได้ที่มีก๊าซแอมโมเนียหลงเหลืออยู่ การอบไอน้ำในอุณหภูมิไม่ได้ที่ไม่สามารถทำลายสปอร์ของเห็ดน้ำหมึกได้ ในการเพาะเห็ดฟางกองเดี่ยว การเกิดเห็ดน้ำหมึกเกิดจากการใช้ฟางเก่า หรือวัสดุเพาะที่มีเชื้อเห็ดน้ำหมึกเจริญอยู่ หรืออาจเกิดจากกองเพาะร้อนและแฉะเกินไป เมื่อคลุมพลาสติกไว้ อุณหภูมิร้อนขึ้น จึงเหมาะต่อการเจริญของเชื้อเห็ดน้ำหมึก



ภาพที่ 4 ลักษณะของเห็ดน้ำหมึกหรือเห็ดขี้ม้า (*Coprinus* sp.) ที่เจริญบนวัสดุเพาะเห็ดฟาง

1.4 เห็ดถั่วอกหัวโต (*Bolbitius fissus*) เป็นเชื้อแข่งขันอีกชนิดหนึ่งที่สามารถพบได้บ่อยบนวัสดุเพาะเห็ดฟางทั้งแบบกองเตี้ยและอุตสาหกรรม เจริญแข่งขันกับเส้นใยของเห็ดฟาง แย่งสารอาหารจากเห็ดฟาง แต่พบได้น้อยกว่าเห็ดหมึกหรือเห็ดขี้ม้า



ภาพที่ 5 เห็ดถั่วอกหัวโต (*Bolbitius fissus*) ที่เจริญบนวัสดุเพาะเห็ดฟาง

1.5 เชื้อราดำ *Aspergillus* sp. มักพบเจริญตามวัสดุเพาะของเห็ดฟาง

1.6 โรคเน่าของเห็ดฟาง เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. เกิดเฉพาะกับเห็ดฟางในโรงเรือนในฤดูฝน ทำให้ดอกเห็ดผิวไม่เรียบ มีจุดขาวคล้ายปะแป้ง ต่อมาภายในระยะเวลาไม่เกินหนึ่งวันผิวดอกเห็ดจะเปลี่ยนเป็นตะปุ่มตะป่ำผิวขรุขระทั้งดอก ดอกเห็ดมีอาการช้ำ สีของดอกเห็ดบริเวณดังกล่าวเปลี่ยนจากสีขาวเป็นสีน้ำตาลอ่อน อาการเป็นไปอย่างรวดเร็ว ต่อมาเริ่มเน่าและมีน้ำเยิ้มออกมา

โรคที่ไม่ได้มีสาเหตุมาจากเชื้อ เป็นลักษณะอาการผิดปกติบางอย่างของดอกเห็ด เกิดจากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น การแปรปรวนของสภาพอากาศ อุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงไปจากที่ควรจะเป็นตามฤดูกาล ความชื้นในวัสดุเพาะไม่เพียงพอ ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศมีน้อย และโรงเรือนมีปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้นมากเกินไป หรืออาจเกิดจากการเสื่อมของหัวเชื้อ หรือลักษณะผิดปกติบางอย่างทางสารพันธุกรรม

แมลงศัตรูเห็ด ปัญหาที่เกิดจากแมลงศัตรูเห็ดที่คอยทำลายเห็ดและพบเป็นประจำ ส่วนใหญ่จะเป็นแมลงตัวเล็กๆ มีปีก หรือแมลงวัน แมลงหริ จะเข้าทำลายทำให้ดอกเห็ดเกิดความเสียหายและเน่าเสียเป็นจำนวนมาก ซึ่งที่มักพบบ่อยๆได้แก่

1. หนอนแมลงวัน พบระบาดเข้าทำลายเห็ดเกือบทุกชนิด โดยเฉพาะเห็ดที่เก็บดอกขายได้แล้ว หรือการเพาะเลี้ยงเห็ดในปีที่ 2 โดยทั่วไปชอบเจริญบนของเน่าเหม็นรวมทั้งสิ่งที่เกิดจากกลิ่นแอมโมเนียจากอาหารเห็ด หนอนพวกนี้เมื่อเข้าทำลายจะทำให้เกิดโรคเน่าเกิดขึ้นตามมา ในปัจจุบันที่ทำลายเห็ดอย่างรุนแรงมี 3 ชนิด ได้แก่

1.1 หนอนแมลงวันเห็ดปีกดำ มีสีขาวยใส หรือสีเหลืองส้ม บางครั้งส่วนหัวมีสีดำ มีความยาวประมาณ 5-7 มิลลิเมตร เคลื่อนไหวได้รวดเร็ว เมื่อเข้าดักแต่ใหม่ๆ จะเป็นสีขาว และมีสีเข้มขึ้นจนกลายเป็นสีดำเห็นได้ชัดเจนก่อนออกเป็นตัวแก่ ลักษณะตัวแก่จะเป็นสีดำโดยเฉพาะที่ปีก ตัวขนาดใกล้เคียงกับยุงบ้าน มีขนาด 2-3 มิลลิเมตร ช่วงท้องแคบ ตัวแก่จะไม่ทำลายหรือกัดกินดอกเห็ด

1.2 หนอนแมลงวันหลังโกง ตัวแก่จะพบทั้งชนิดที่มีปีกและไม่มีปีก ระยะตัวหนอนมักจะทำลายเส้นใยเห็ดที่กำลังเจริญ และมักจะเจาะเข้าทำลายส่วนของโคนและหมวกดอกทำให้พุ่มและเสียหาย แต่ความรุนแรงพบน้อย

1.3 แมลงหวี่เห็ด เป็นแมลงหวี่สีดำ ขนาดเล็กมาก คล้ายกับแมลงหวี่ที่พบตามที่อับชื้น ตัวแก่มักจะเกาะตามดอกเห็ด ทุ่งเห็ด ฝา เสาโรงเรือน และมักจะทำความรำคาญโดยตอมตามตาของผู้เข้ามาปฏิบัติงานในโรงเรือนเพาะเห็ด ลักษณะการเข้าทำลายของหนอน จะเริ่มเจาะที่โคนดอกเห็ด ทำให้เห็ดแคะแกระ็น ด้าน มีสีน้ำตาลและเน่าเสีย การระบาดของแมลงชนิดนี้จะพบมากหลังจากการเพาะเห็ดประมาณ 5-6 เดือน แต่ส่วนมากโดยทั่วไปพบการทำลายไม่รุนแรง

2. หนอนผีเสื้อ (*Daysyses rugosella*) ตัวแก่เป็นผีเสื้อกลางวันขนาด 8-9 มิลลิเมตร มักจะพบเกาะอยู่ตามผนังโรงเรือน ปีกสีน้ำตาลสลับสีน้ำตาลดำ ปีกด้านล่างยาวกว่าด้านบน ส่วนท้องสีน้ำตาลอ่อน ขณะเกาะนิ่งอยู่กับที่จะเป็นรูปสามเหลี่ยมคล้ายหลังคา หนอนระยะวัยเล็กจะมีสีครีม ต่อมาจะเป็นสีน้ำตาลแดง ส่วนหัวและปากเป็นสีดำหรือสีน้ำตาลเข้มเห็นได้ชัดเจน บนส่วนอกด้านหลังติดกับส่วนหัวจะมีสีน้ำตาลพาดขวางของลำตัว หนอนโตเต็มที่มีขนาด 15 มิลลิเมตร ระยะวัยหนอนประมาณ 14-21 มิลลิเมตร ตัวหนอน จะซ่อนไขไปตามเชื้อที่มีเส้นใยเห็ดสีขาว ทำให้เส้นใยเห็ดขาดไม่เจริญและไม่ออกดอก จะสังเกตเห็นขุยสีน้ำตาลเป็นทางยาวคดเคี้ยวไปมา และถ้าหากพบการ

ทำลายอย่างรุนแรงก็จะเห็นมูลหนอนที่ถ่ายออกมาสีน้ำตาลเต็มไปหมด การทำลายเป็นไปอย่างรวดเร็วและรุนแรงมาก หากป้องกันกำจัดไม่ทันเวลา

3. หนอนผีเสื้อกินใบ (*Lepidoptera*) ตัวแก่เจริญไปเป็นผีเสื้อกลางคืน มีขนาดปานกลางมีสีน้ำตาล พบมีขนปุกปุย ด้านปลายท้อง วางไข่บริเวณใบจากที่นำมาทำโรงเรือน ตัวหนอนมีสีน้ำตาล หัวสีดำโตขนาดประมาณ 10-20 มิลลิเมตร หนอนวัยแรกจะกินใบจากที่แห้ง ประมาณฤดูฝนหรืออากาศเริ่มขึ้นจนใบจากที่นำมาปลูกหลังคาเริ่มเปียก หนอนชนิดนี้จะเริ่มเคลื่อนย้ายลงมาทำลายเห็ด

4. ไรศัตรูเห็ด ถือเป็นศัตรูของเห็ดที่มีขนาดเล็กมาก ต้องอาศัยแว่นขยายช่วยดูจึงจะสามารถมองเห็นได้ชัด เกิดจากการนำวัสดุเพาะที่ไม่สะอาดมีไรติดมาใช้ในการเพาะ เช่น การใช้ฟางข้าวค้างปีหรือการที่ไรติดมากับก้อนเชื้อเห็ดที่ผ่านการเพาะเห็ดถุงมาใช้ การเพาะเห็ดหลายๆ รุ่นซ้ำๆ ที่เดิมสถานที่เพาะเห็ดไม่สะอาด (พรศิลป์ และ คมสันต์, 2548) ตามธรรมชาติมักจะเห็นเป็นจุดเล็กๆ สีขาวใสกระจายเต็มไปหมด ที่น่าสนใจคือ การที่ไรชนิดต่างๆ ที่ทำลายเห็ดนั้นจะมีวงจรชีวิตสั้นมาก โดยใช้เวลาเพียง 4-5 วันเท่านั้น และโดยทั่วไปมักจะพบตัวเมียมากกว่าตัวผู้ถึง 4 เท่า โดยตัวเมียยังสามารถขยายพันธุ์ได้ด้วยการออกไข่และเป็นตัว ไม่จำเป็นต้องผสมพันธุ์กับตัวผู้ จึงทำให้ไรสามารถเกิดการทำลายอย่างรวดเร็ว และรุนแรงจนเกิดความเสียหาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะเส้นใยเห็ดกำลังเจริญ ถ้ามีไรระบาดจะเข้ากัดกินเส้นใยและทำให้เส้นใยขาดออกจากกัน ไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้

นอกจากนี้ยังพบไรชนิดอื่นๆ อีกหลายชนิดที่คอยทำลายเห็ดที่ปลูกเป็นการค้า เช่น ไรหยดน้ำ ไรไข่ปลา ไรขาวใหญ่ และไรกันชน ดอกเห็ดที่พบไรไข่ปลาเป็นเม็ดกลมๆ ควรรีบทำลาย เพื่อป้องกันการขยายพันธุ์ต่อไป

5. ศัตรูอื่นๆ ได้แก่ หนู มด ปลวก ซึ่งอาจจะเข้าไปสร้างความเสียหายให้แก่เส้นใยและดอกเห็ดได้ ทำให้ผลผลิตเสียหาย

วิธีการแก้ไขและควบคุมศัตรูของเห็ดฟาง

1. การใช้สารเคมีควบคุมศัตรูเห็ด เกษตรกรจะนิยมใช้สารเคมีที่มีขายตามท้องตลาด นำมาช่วยในการกำจัดไรศัตรูเห็ดและควบคุมเชื้อราแข่งขันในการเพาะเห็ดฟาง เนื่องจากใช้ได้ผลเร็ว หาซื้อได้ง่าย วิธีการใช้ไม่ยุ่งยาก จึงนิยมนำมาใช้ในการกำจัดศัตรูเห็ดกันอย่างแพร่หลาย

จากรายงานของ เทวินทร์ และคณะ (2552) ได้สำรวจการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในเห็ดที่ผลิตเป็นทางการค้า พบว่า จากการใช้แบบสอบถามเกษตรกรผู้เพาะเห็ดจำนวน 100 ราย จาก 27 จังหวัดในประเทศไทย พบว่า เกษตรกรมีการใช้สารกำจัดเชื้อรา 1 ชนิด คือ สาร mancozole ใช้เพื่อป้องกันกำจัดศัตรูเห็ดจำนวน 1 ราย และใช้สารฆ่าแมลงเพื่อป้องกันกำจัดแมลงศัตรูเห็ดจำนวน 52 ราย ซึ่งสารฆ่าแมลงที่เกษตรกรใช้มีจำนวน 10 ชนิด ได้แก่ carbaryl, cypermethrin, methomyl, malathion, carbosulfan, chlorpyrifos, tarmaron, carbofuran, folidol และ abamectin

และใช้สารฆ่าไรเพื่อป้องกันกำจัดศัตรูเห็บจำนวน 27 ราย สารที่ใช้มีจำนวน 7 ชนิด ได้แก่ carbaryl, amitraz, dicofol, cypermethrin, methomyl, tetradifion และ carbofuran

อย่างไรก็ตามวิธีนี้ แม้ว่าจะได้ผลดี แต่สารเคมีจะส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ผู้ใช้ รวมไปถึงเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคด้วย

2. การควบคุมโดยชีววิธี เนื่องจากการใช้สารเคมีหรือสารฆ่าแมลงในการป้องกันและกำจัดศัตรูเห็บนั้น เป็นอันตรายต่อทั้งเกษตรกรผู้เพาะเห็บรวมถึงผู้บริโภค ตลอดทั้งยังเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม นักวิจัยหลายหน่วยงานจึงได้มีการศึกษาและค้นคว้าวิจัยหาวิธีทางในการลดการใช้สารเคมีให้น้อยลง นอกจากการนำเอาวิธีการทางชีววิธีมาใช้ในการควบคุมป้องกันโรคเห็บ ศัตรูเห็บ ยังสามารถนำมาใช้ในการควบคุมและป้องกันโรคและศัตรูต่างๆของพืชได้ผลดีเช่นเดียวกัน ซึ่งพบว่ามีหลากหลายวิธีด้วยกันและยังสามารถนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ออกจำหน่ายมากมายตามท้องตลาด อีกทั้งยังได้มีการนำมาถ่ายทอดความรู้ตลอดจนวิธีการใช้ให้แก่เกษตรกรผู้เพาะเห็บให้นำไปทดลองใช้หลากหลายชนิด จึงทำให้ในปัจจุบันมีเกษตรกรผู้เพาะเห็บฟางหลายคน เริ่มหันมาให้ความสนใจในการเลือกใช้เชื้อจุลินทรีย์แทนการใช้สารเคมีในการควบคุมเชื้อราแข่งขันของเห็บฟางกันมากขึ้น เพราะนอกจากจะไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมแล้ว ยังเป็นการช่วยลดการใช้สารเคมีในการเกษตรให้น้อยลง รวมทั้งไม่เป็นอันตรายต่อเกษตรกรผู้นำไปใช้

มนตรี (2553) มีรายงานว่า เชื้อจุลินทรีย์บีเอส พลายแก้ว ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียที่ได้รับการพัฒนาโดยอาจารย์ดีพร้อม ไชยวงศ์เกียรติ อดีตนายกสมาคมผู้เพาะเห็บแห่งประเทศไทย อดีตข้าราชการบำนาญประจำภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน ซึ่งผู้ค้นพบเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์นี้ คือ คุณพลายแก้ว เพชรบ่อแก นิสิตคณะประมง ค้นพบโดยบังเอิญจากถังหมักขยะทำปัญหาพิเศษ โดยมีอาจารย์ดีพร้อมเป็นที่ปรึกษา เชื้อจุลินทรีย์บีเอส พลายแก้ว เป็นเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อราแข่งขันได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยไม่ทำลายเชื้อเห็บ เนื่องจากว่าเห็บเป็นเชื้อราที่จัดว่าเป็นสายพันธุ์สูงกว่าเชื้อราแข่งขัน เกษตรกรผู้เพาะเห็บมือใหม่ จึงให้ความสนใจจุลินทรีย์นี้เป็นอย่างมาก ในการนำมาใช้เพื่อแก้ไขปัญหาการเพาะเห็บแทนสารเคมี หรือยาฆ่าเชื้อรา ซึ่งมีอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมตลอดจนเกษตรกรผู้เพาะเห็บด้วย

วิเชียร (2552) มีรายงานว่าเชื้อบีเอส พลายแก้ว คือ เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ใช้ในการกำจัดโรคที่เกิดจากเชื้อรา ส่วนเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ใช้กำจัดหนอนแมลงหวี่ แมลงวันเสียด และหนอนผีเสื้อ และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus mitophagus* ใช้กำจัดไรศัตรูเห็บ ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดนี้ สามารถหมักขยายได้ง่าย เกษตรกรทำเองได้ ราคาถูก ช่วยลดต้นทุนในการเพาะเห็บได้มาก

Katz and Kemain (1977) ได้ทำการศึกษาพบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. สามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้ ซึ่งต่อมา Boer and Diderichsen (1991) พบว่าสารปฏิชีวนะที่เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. สร้างขึ้นมานั้นมีฤทธิ์ในการต่อต้านเชื้อราได้ เช่น เชื้อแบคทีเรีย *B. brevis* สามารถสร้าง

สาร gramicidin S ซึ่งจากรายงานของ Ovchinnikov and Lvanov (1982) พบว่าเป็นสารปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกโคนิเดียมของเชื้อรา

Sandrin *et al.* (1990) รายงานว่าเชื้อ *B. subtilis* ผลิตสารปฏิชีวนะ เช่น iturin เป็นสารที่ออกฤทธิ์ต่อต้านเชื้อราและยีสต์ ซึ่ง Cooper *et al.*, (1981) เคยมีรายงานว่าสาร surfactin ที่เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ผลิตขึ้นมาเป็นสารปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ

Ferreira *et al.* (1991) สามารถนำเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* มาใช้ในการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืชได้ Nalisha *et al.* (2006) ได้ศึกษาการนำเอาเชื้อ *B. subtilis* มาใช้ในการควบคุมเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* โดยทำการศึกษาที่สภาวะต่างๆ คือ แสง pH และอุณหภูมิ พบว่าเชื้อ *B. subtilis* สามารถสร้างสารมาควบคุมเชื้อรา *S. rolfsii* ได้อย่างคงที่คือ 58.3% ที่อุณหภูมิ 80 °C pH ที่ให้ผลดีที่สุดคือ pH 11 ยับยั้งได้ 31.57% และสภาวะที่อยู่ในที่มีดจะสามารสร้างสารมาควบคุมเชื้อราได้ดีคือยับยั้งได้ 46.24%

Payapanon *et al.* (2011) ได้เอนำน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนโดสปอร์ของ *Bacillus subtilis* B2 ที่แยกได้จากพื้นที่ใช้เพาะเห็ดฟาง และ *Paenibacillus polymyxa* N10 แยกได้จากเปลือกปอสา มาฉีดพ่นลงบนวัสดุเพาะของเห็ดฟาง ในอัตราส่วน 1 ลิตรต่อพื้นที่ 4 ตารางเมตร พบว่าแบคทีเรียมีผลในการควบคุมและช่วยเพิ่มสารอาหารทำให้ผลผลิตของเห็ดฟางเพิ่มขึ้นได้ 5-10% นับเป็นรายงานแรกที่สามารถเพิ่มผลผลิตเห็ดฟางโดยใช้แบคทีเรีย

พรศิลป์ และคณะ (2548) ได้คัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากก้อนเชื้อเห็ดและดอกเห็ด นำมาศึกษาความสัมพันธ์กับเส้นใยของเชื้อเห็ดนางฟ้า (*Plurotus pulmonarius* (Fr.) Quel.) ในห้องปฏิบัติการ พบเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถกระตุ้นให้เห็ดนางฟ้าสร้างตุ่มดอกได้ เมื่อนำไปทดสอบการยับยั้งเชื้อราเขียว *Trichoderma harzianum* ที่ก่อโรคบนก้อนเชื้อเห็ดตุ่มในระดับโรงเรือนทดลองพบเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ จำนวน 6 สายพันธุ์ที่สามารถส่งเสริมผลผลิตของเห็ดนางฟ้าให้สูงขึ้นได้ โดยทำการฉีดพ่นเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ของแต่ละไอโซเลทลงบนเส้นใยเห็ดบริเวณปากถุงก้อนเชื้อเห็ดนางฟ้าหลังจากเปิดปากถุง หลังจากนั้น จึงทำการฉีดพ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* ลงบนเส้นใยเห็ด เพื่อทำให้เกิดโรค และตรวจนับการเกิดโรคของถุงเห็ดเมื่อครบ 30 วัน หลังจากฉีดพ่นเชื้อราบนก้อนเห็ด พบว่า เชื้อแบคทีเรียไอโซเลท B012-022 มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรคราเขียว ทำให้เกิดโรคได้น้อยเพียง 6.7% และทำให้ได้ผลผลิตของเห็ดสูงมากกว่าถุงที่เป็นโรคและที่ไม่ได้ฉีดพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรีย 71.1% และเมื่อนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไปจัดจำแนก พบว่าเป็นเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ทั้ง 6 ไอโซเลท

พรศิลป์ และ วุฒิชัย (2551) ได้ทำการศึกษาผลของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคที่เกิดมาจากเชื้อราเขียว คือ *Trichoderma harzianum* ของเห็ดหูหนู (*Auricularia polytricha* (Mont.) Sacc.) โดยนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ จำนวน 5 สายพันธุ์ ซึ่งคัดแยกได้จากก้อนเชื้อเห็ดที่เป็นโรค นำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราเขียว *T. harzianum* ด้วยวิธี dual

culture บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutreint agar (NA) พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียวได้ 30-43.75% เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ไปฉีดพ่นเพื่อควบคุมโรคราเขียวของเห็ดหูหนูในโรงเรือน พบว่าเชื้อปฏิปักษ์สายพันธุ์ A001 มีประสิทธิภาพสูงสุดที่ช่วยทำให้ผลผลิตของเห็ดหูหนูเพิ่มขึ้นมากกว่าที่ไม่ได้ฉีดพ่นด้วยเชื้อปฏิปักษ์ ซึ่งเป็นโรคถึง 80% และให้ผลผลิตเฉลี่ยเพียง 35.88 กรัมต่อถุงเท่านั้น

อัจฉรา และ สัญชัย (2531, 2535) ได้ทำการศึกษาสูตรปุ๋ยหมักเพื่อช่วยในการเพิ่มผลผลิตของเห็ดฟาง พบว่ารำร้อนที่เจริญอยู่บนกองปุ๋ยหมักช่วยให้ผลผลิตของดอกเห็ดฟางเพิ่มขึ้น และต่อมา Payapanon *et al.* (2003) ได้ใช้เชื้อราร้อน *Scytalidium thermophilum* ที่แยกจากกองปุ๋ยหมักเติมในกองฟาง เพื่อช่วยขบวนการหมัก และเมื่อนำปุ๋ยหมักที่ได้ไปเพาะเห็ดฟางจะได้ผลผลิตมากกว่าการใช้ฟางข้าวที่หมักโดยไม่เติมรำร้อนประมาณ 1- 4%

Straastma *et al.* (1994) รายงานว่าเชื้อราร้อน *Scytalidium thermophilum* ในปุ๋ยหมักสามารถผลิตสารกระตุ้นการเจริญของเห็ดแชมปิญองได้ และ Gerben *et al.* (1994) ได้ทดลองแยกเชื้อราร้อน *S. thermophilum* จากดอกเห็ด ซึ่งเป็นเชื้อราเจริญได้ที่อุณหภูมิ 70 °C นำมาใช้ช่วยยับยั้งเชื้อราศัตรูของเห็ด *Agaricus bisporus* มีผลทำให้ผลผลิตของเห็ดสูงขึ้นเช่นเดียวกัน

สุทธิชัย (2553) ทำการทดลองเพาะเห็ดฟางในตะกร้า โดยการใช้วัสดุเพาะและอาหารเสริมที่แตกต่างกัน ร่วมกับการใช้กลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ และน้ำหมักชีวภาพในการผลิตเห็ดฟางที่เพาะในตะกร้าพลาสติก ในการทดลองวัสดุที่ใช้ในการเพาะเห็ดฟางนั้น ทำการทดลอง 3 วิธีการ โดยวิธีการที่ 1 คือ การใช้ฟางข้าวเป็นวัสดุเพาะ ทำการทดลองโดยการแช่ฟางข้าวเป็นเวลานาน 12 ชั่วโมง ในน้ำหมักเชื้อของจุลินทรีย์ที่แตกต่างกัน ได้แก่ น้ำหมักจุลินทรีย์อีเอ็ม (EM) น้ำหมักจากสูตรของสถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย น้ำที่ผสมกับเชื้อจุลินทรีย์ พด.1, 2 และ 3 ได้มาจากกรมพัฒนาที่ดิน เชื้อ *Bacillus subtilis* (Bs) จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และการแช่น้ำเปล่า ส่วนวิธีการที่ 2 คือ การใช้ขี้เลื่อยที่ใช้แล้วเป็นวัสดุเพาะ และวิธีการที่ 3 คือ การใช้ขี้เลื่อยใหม่ โดยวิธีการที่ 2 และวิธีการที่ 3 นำเอาวัสดุเพาะมาทำการหมักเป็นเวลานาน 9 วัน กับน้ำหมักจุลินทรีย์และน้ำผสมเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ เช่นเดียวกันกับที่ใช้ในการทดลองในวิธีการที่ 1 (การใช้ฟางข้าวเป็นวัสดุเพาะ) โดยวางแผนการทดลองเป็นแบบ Factorial (3x5) RCBD ทำการทดลองวิธีการละ 5 ซ้ำๆ ละ 1 ตะกร้า จากผลการทดลองที่ได้พบว่า การทดลองวิธีที่ 1 (การเพาะด้วยฟางข้าวแช่น้ำ 12 ชั่วโมง) ให้ผลผลิตสูงสุด 529.40 กรัมต่อตะกร้า แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสิ่งทดลองอื่นๆ ส่วนขนาดของดอกไม่แตกต่างกัน

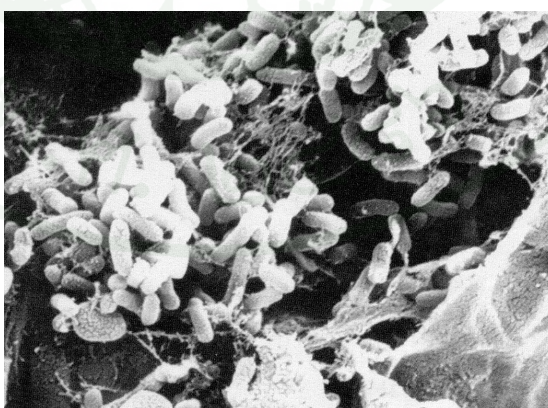
ส่วนการทดลองใช้อาหารเสริมที่แตกต่างกันในการเพาะเห็ดฟางในตะกร้านั้น อาหารเสริมที่ใช้ในการทดลอง มี 4 ชนิด คือ ภูไมค์ ขี้เถ้า ผักตบชวา และรำละเอียด วางแผนการทดลองเป็นแบบ RCB ทำการทดลองละ 5 ซ้ำๆ ละ 3 ตะกร้า โดยใช้อาหารเสริมในอัตรา 6% ของน้ำหนักแห้งของวัสดุเพาะ ผลการทดลองพบว่า การใช้ขี้เถ้าเป็นอาหารเสริมนั้นให้ผลผลิตสูงสุด คือ 572.52 กรัมต่อตะกร้า ส่วนขนาดของดอกไม่แตกต่างกัน

นอกจากนี้ยังพบว่าการทดลองหาปริมาณที่เหมาะสมของการใช้ขี้เถ้าเป็นอาหารเสริมในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน คือ 2, 4, 6, 8 และ 10% โดยวางแผนการทดลองแบบ RCBD ทำการทดลองวิธีการละ 5 ซ้ำๆ ละ 3 ตะกร้า ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า การใช้ขี้เถ้า 8% ของวัสดุเพาะหรือประมาณ 200 กรัมต่อตะกร้า มีแนวโน้มให้ผลผลิตสูงสุด คือ 562.10 กรัมต่อตะกร้า

การใช้จุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคพืช

วิธีการนำเชื้อจุลินทรีย์มาใช้ส่งเสริมการเจริญและควบคุมโรคพืช สามารถนำมาใช้ได้หลายวิธี เช่น คลุกกับเมล็ดพืช ราดลงในดิน การสัมผัสกับวัสดุเพาะปลูกฉีดพ่นลงบนใบพืช นำรากพืชมาจุ่มหรือแช่ก่อนการย้ายต้นกล้าไปเพาะปลูก การนำเชื้อจุลินทรีย์ไปใช้จะต้องคำนึงถึง ค่าใช้จ่าย ความเหมาะสมต่อสภาพแวดล้อมรวมทั้งโอกาสในการเกิดโรคของเชื้อโรคด้วย ควรนำมาใช้ก่อนการเพาะปลูก จะให้ผลได้ดีกว่าการนำมาใช้ในการกำจัดพืชที่เกิดโรคแล้ว

สุดฤดี (2552) กล่าวว่า การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี เป็นวิธีการใช้เชื้อจุลินทรีย์ เช่น เชื้อรา เชื้อแบคทีเรีย หรือเชื้อไวรัส มาช่วยลดปริมาณเชื้อโรคหรือลดกิจกรรมของเชื้อโรคให้อยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายกับพืช ทั้งนี้ต้องคำนึงถึงปัจจัยต่างๆ ที่อาจจะมีผลกระทบต่อการนำเชื้อจุลินทรีย์ไปใช้ด้วย เช่น กลไกและวิธีการกำจัดเชื้อโรค ระยะเวลา ปริมาณของเชื้อ สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมในการเจริญ และความจำเพาะเจาะจง ซึ่งกลไกการควบคุมโรคของเชื้อจุลินทรีย์นั้น อาจมีได้หลายวิธีขึ้นอยู่กับชนิดและคุณสมบัติของเชื้อจุลินทรีย์ เช่น การควบคุมโดยการแข่งขันกับเชื้อโรค การสร้างสารปฏิชีวนะ ชักนำให้เกิดความต้านทานต่อเชื้อ และการผลิตสารส่งเสริมประสิทธิภาพการยึดติดแน่นกับผิวพืช เป็นต้น เชื้อแบคทีเรียหลายชนิดมีความสามารถยึดติดครอบครองผิวใบพืชได้แน่น ซึ่งนอกจากจะช่วยลดแรงดึงผิวพืช และเชื่อมสารที่มีประโยชน์ให้พืช ยังช่วยในการกีดกันหรือจำกัดช่องทางเชื้ออื่นไม่ให้สัมผัสผิวพืชและเชื้อก่อโรคไม่สามารถเข้าทำลายพืชได้ ดังภาพที่ 6



ภาพที่ 6 แบคทีเรียผลิตสารลดแรงดึงผิวและครอบครองพื้นผิวใบพืชได้อย่างแน่นหนาดีกว่าเชื้อโรค

ที่มา: สุดฤดี (2552)

Sunslow and Schroth (1982); Windels and Kommedahl (1982) กล่าวว่าปัจจุบันพบว่าการใช้เชื้อจุลินทรีย์เพื่อควบคุมโรคพืชสามารถนำมาใช้แทนสารเคมีได้ในกรณีที่ไม่สามารถใช้สารเคมีหรือเมื่อสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการใช้สารเคมีเช่น อุณหภูมิสูงหรือต่ำเกินไป หรือไม่สามารถจัดหาสารเคมีได้ และข้อดีอีกประการหนึ่งก็คือ จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในดินสามารถเพิ่มปริมาณและคงทนอยู่ในดินได้เป็นระยะเวลานาน จึงทำให้ไม่จำเป็นต้องใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์บ่อยครั้ง

บุญชู (2556) กล่าวว่า การนำเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัส ซับทีลีส *Bs* (*Bacillus subtilis*) ซึ่งเป็นเชื้อทางการค้าผลิตในรูปผงเปียกน้ำ (Wettable Powder) ความเข้มข้น 1×10^9 cfu/gm นำไปใช้ในปริมาณ 30-50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นทุกๆ 5-7 วัน เพื่อใช้ในการควบคุมและป้องกันโรครากเน่าโคนเน่าในทุเรียนที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* โรคกุ้งแห้ง (แอนแทรคโนส) ในพริกจากเชื้อรา *Collectotrichum* spp. โรคกาบใบแห้งในข้าวจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* โรครากโคนเน่าในพริกไทยจากเชื้อรา *Alternaria* spp. เป็นต้น ซึ่งเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* จะมีคุณสมบัติในการอาศัยอยู่ภายในพืชโดยไม่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อพืช และสามารถปรับตัวช่วยให้ทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดี โดยการสร้างโครงสร้างที่เรียกว่าเอนโดสปอร์ (endospore) ที่ทนต่ออุณหภูมิสูงและสภาพอากาศร้อนขึ้นได้ดี สามารถผลิตสารพวก toxic metabolite บางชนิดที่มีประโยชน์ในการนำมาใช้กระตุ้นการเกิดความต้านทานของพืชต่อเชื้อสาเหตุโรคพืชที่เข้าทำลาย และยังสามารถเข้าทำลายโดยตรงและจากการสร้างสารปฏิชีวนะได้หลายชนิด รวมทั้งสามารถแก่งแย่งธาตุอาหารได้ดีกว่าจุลินทรีย์อื่นๆ ในสภาพแวดล้อมที่ขาดแคลน

การขยายเชื้อเพื่อเพิ่มปริมาณ สามารถทำได้ด้วยวิธีการต่างๆดังต่อไปนี้

1. ขยายเชื้อด้วยมะพร้าวอ่อน ใช้มะพร้าวอ่อน 1 ผล เจาะเปิดฝาแง้มพอใส่เชื้อลงไปได้ใส่ผงเชื้อ 1 ช้อนชา ปิดฝาทิ้งไว้ 1-2 วัน นำมาผสมน้ำได้ 20 ลิตร
2. ขยายเชื้อด้วยน้ำมะพร้าวแก่จากตลาด นำน้ำมะพร้าวแก่จากตลาดมาต้มให้เดือด 5 นาที ช้อนฟองทิ้ง ตั้งให้เย็น ใส่ผงเชื้อ 5 ช้อนชา ต่อน้ำมะพร้าว 15 ลิตร (ถ้าน้ำมะพร้าวไม่พอ เติมน้ำเปล่าจนได้รวม 15 ลิตรก่อนต้ม) ให้อากาศแบบที่ใช้ในตู้ปลา 24 ชั่วโมง นำไปผสมกับน้ำได้รวม 100 ลิตร สำหรับฉีดพ่น
3. ขยายเชื้อด้วยนมข้นหวานและน้ำตาลทราย ใช้น้ำ 15 ลิตร เติมนมข้นหวาน 1 กระป๋อง น้ำตาลทราย 3 ช้อน ใส่ผงเชื้อ 5 ช้อนชา ให้อากาศแบบตู้ปลา 24 ชั่วโมง สามารถใช้ผสมน้ำได้ 100 ลิตร หรือ 5 ปี๊ป
4. ขยายเชื้อด้วยไข่ไก่สด ใช้น้ำ 15 ลิตร ไข่ไก่ 5 ฟอง ใส่ผงเชื้อ 5 ช้อนชา สเม็คไทด์ 8 ชิด น้ำมันพืช 1.5-2 ช้อนชา เป่าอากาศแบบตู้ปลา 24 ชั่วโมง ใช้ผสมน้ำ 5 ปี๊ป (100 ลิตร)

5. ขยายเชื้อด้วยนมกล่อง โดยใช้นมกล่องพาสเจอร์ไรท์ตามท้องตลาดทั่วไป 1 กล่อง (250 มิลลิลิตร) เปิดฝาออกให้เทเชื้อใส่ได้ ใส่ผงเชื้อ 1 ช้อนชา หมักทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงมาผสมน้ำได้ 20 ลิตร

ปัญหาการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (Problems of Biocontrol Application)

นิพนธ์ (2538) กล่าวว่า การนำเชื้อจุลินทรีย์ไปใช้ควบคุมโรคพืชมักพบปัญหาและอุปสรรคสำคัญหลายประการ เช่น ความน่าเชื่อถือ (reliability) ประสิทธิภาพ (effective) ในการนำจุลินทรีย์ไปใช้ควบคุมโรคพืชแต่ละชนิด รวมทั้งขอบเขตในการควบคุมโรค (spectrum of activity) เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิต มีความผันแปรได้ง่าย ถ้าไม่มีการควบคุมคุณภาพในการผลิตให้ดี จะทำให้การควบคุมโรคไม่มีประสิทธิภาพเท่าที่ควร และไม่มี ความน่าเชื่อถือ อีกทั้งเชื้อแบคทีเรียต่างชนิด ต่างสายพันธุ์ จะมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพืชจำเพาะเจาะจงหรือแตกต่างกัน ถ้ามีการนำไปใช้ด้วยวิธีที่ไม่เหมาะสม อาจทำให้ไม่มีประสิทธิภาพและสูญเสียคุณสมบัติการเป็นเชื้อไปอีกด้วย

การพัฒนาชีวภัณฑ์ (Development of Biocontrol Products)

นิพนธ์ (2538) กล่าวว่า ปัจจุบันมีการนำเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพืชหรือเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ มาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ออกขายในรูปแบบต่างๆ เพื่อให้เกษตรกรสามารถนำไปใช้ได้สะดวกและง่ายต่อการเก็บรักษา เช่น การผลิตในรูปแบบน้ำ แบบผง เป็นต้น

จากงานวิจัยของไก่อแก้ว และ นิพนธ์ (2552) ได้ทำการศึกษาวิจัยนำเอาเชื้อ *B. subtilis* ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพืช มาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบผงบรรจุในขวดหรือบรรจุภัณฑ์ ดังแสดงในภาพที่ 7



ภาพที่ 7 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์การผลิตเชื้อ *Bacillus subtilis* ในรูปแบบผง

ที่มา: ไก่อแก้ว และ นิพนธ์ (2552)

ขั้นตอนและวิธีการผลิตผงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* นั้น นำเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* มาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว เป็นเวลา 4 วัน หลังจากนั้นนำมาปั่นให้ตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) เพื่อแยกเอาเฉพาะส่วนที่เป็นตะกอนเซลล์ แล้วนำเอาตะกอนเซลล์ที่แยกได้มาละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ และผสมเมทิลเซลลูโลส 1.25 % อัตราส่วน 1:1 เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำเอาสารละลายเชื้อมาผสมกับปลายข้าวที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วในอัตราส่วน 1:2 ผสมให้เข้ากัน แล้วนำมาเทใส่ถาดและเกลี่ยให้ทั่ว แล้วนำไปทำให้แห้ง โดยการอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน หลังจากนั้นนำผงเชื้อที่แห้งแล้วบรรจุใส่ในขวดที่สะอาดปราศจากเชื้อหรือถุงพลาสติกแล้วปิดให้สนิท ทำให้สะดวกและง่ายต่อการที่จะนำไปใช้ ซึ่งวิธีการนำไปใช้นั้น โดยการนำผงเชื้อ 1 กรัม เติมน้ำในน้ำสะอาด 1 ลิตร เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 2 วัน (เขย่าเป็นบางเวลา) และนำหัวเชื้อที่ได้ไปผสมน้ำ 10 ลิตร เพื่อนำไปฉีดพ่นหรือราดต้นพืชที่ต้องการเพื่อป้องกันกำจัดโรคพืช ส่วนวิธีในการเก็บรักษา สามารถเก็บรักษาได้ง่ายและสะดวกไม่ยุ่งยาก คือ สามารถการเก็บไว้ในที่แห้ง อุณหภูมิห้อง

แพรววดี (2555) มีรายงานว่า การนำเชื้อจุลินทรีย์มาผลิตเป็นปุ๋ยอินทรีย์สูตรต่างๆ เพื่อใช้ในการควบคุมและป้องกันโรคพืชจำวนหลายสูตร เช่น สารเร่ง พด.1 เป็นการนำเอาจุลินทรีย์ที่มีความสามารถสูงในการย่อยสลายวัสดุเหลือใช้จากการเกษตร เพื่อผลิตปุ๋ยหมักในช่วงระยะเวลาอันสั้น ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรีย แอคติโนมัยซิส และรา ซึ่งมีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สูง ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้จะช่วยลดระยะเวลาในการทำปุ๋ยหมักให้สั้นลงและยังช่วยทำให้ได้ปุ๋ยหมักที่มีคุณภาพสูง สารเร่ง พด.2 เป็นการนำเอาเชื้อจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติในการย่อยสลายวัสดุการเกษตรลักษณะเปียกหรือมีความชื้นสูงเพื่อผลิตปุ๋ยอินทรีย์น้ำ โดยดำเนินกิจกรรมหมักในสภาพที่ไม่มีออกซิเจนทำให้กระบวนการหมักดำเนินไปอย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น กรมพัฒนาที่ดินจึงได้ผลิตเชื้อจุลินทรีย์ สารเร่ง พด.2 สำหรับผลิตปุ๋ยอินทรีย์น้ำที่มีคุณภาพดี เพื่อช่วยเร่งการเจริญเติบโตของพืช การแตกตา การออกดอก การผลิตผลดี และช่วยเพิ่มผลผลิต ส่วนสารเร่ง พด.3 เป็นจุลินทรีย์ ที่มีคุณสมบัติเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุของโรคพืชในดิน ใช้สำหรับผลิตจุลินทรีย์ควบคุมโรคพืช ประกอบไปด้วยจุลินทรีย์ที่มีความสามารถป้องกันหรือยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคพืชที่ทำให้เกิดอาการรากหรือโคนเน่าของพืชเศรษฐกิจ เช่น ส้ม ทุเรียน สับปะรด ยางพารา พืชไร่ พืชผัก และไม้ดอก นอกจากนี้ยังสามารถปลดปล่อยธาตุอาหารในดินให้เป็นประโยชน์ต่อพืช ซึ่งเป็นการช่วยป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อโรค และทำให้ต้นพืชมีความแข็งแรง สารเร่งพด.3 ประกอบด้วยเชื้อจุลินทรีย์ 2 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Trichoderma* spp. และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ซึ่งพด.3 มีประโยชน์ในการป้องกัน ควบคุม และลดปริมาณเชื้อสาเหตุโรครากและโคนเน่าในดิน ช่วยเพิ่มธาตุอาหารในดิน รวมทั้งช่วยให้รากพืชแข็งแรงและพืชเจริญเติบโตดี

นัฐพร และคณะ (2549) ได้ทำการศึกษาผลของเชื้อรา *Gliocladium virens* และเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ในการควบคุมเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* พบว่าการทำงานร่วมกันของเชื้อรา *G. virens* กับเชื้อรา *T. harzianum* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ช่วยยับยั้งเชื้อรา *S. rolfsii* ซึ่งก่อให้เกิดโรคเน่าระดับดินในต้นถั่วฝักยาว มีประสิทธิภาพสูงที่สุดคือ สามารถยับยั้งได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือเชื้อรา *G. virens* และเชื้อรา *T. harzianum* โดยเส้นใยและสปอร์ของเชื้อรา

ทั้งสองชนิดนี้สามารถเจริญคลุมทับโคลนของเชื้อรา *S. rolfsii* ได้ 97.78 และ 82.22% ตามลำดับ ส่วนการทดลองในแปลงปลูกพืชหรือในดิน เชื้อรา *G. virens* สามารถควบคุมเชื้อรา *S. rolfsii* ได้ผลใกล้เคียงกับการใช้เชื้อรา *T. harzianum* และจากผลการทดสอบประสิทธิภาพของการทำงานร่วมกันระหว่างเชื้อรา *G. virens* กับเชื้อรา *T. harzianum* ในการควบคุมเชื้อรา *S. rolfsii* พบว่ามีแนวโน้มที่จะควบคุมโรคเน่าระดับดินได้ดี ดังนั้นจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของการทำเกษตรแบบชีววิธี เพื่อช่วยรักษาสมดุลของสภาพแวดล้อม

เนตรดาราร และคณะ (2552) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* ในระดับห้องปฏิบัติการ ซึ่งพบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จำนวน 5 ไอโซเลท ที่แยกได้จากตัวอย่างดินในจังหวัดทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* DOAC 1258 บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อได้ ซึ่งไอโซเลท MBA 10 และ MuBA 3 ให้ผลการยับยั้งได้สูงสุดที่ระดับ 36.19% ($P < 0.01$) เมื่อนำสารกรองเชื้อแบคทีเรียจำนวน 5 ไอโซเลท มาทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* DOAC 1285 พบว่า เชื้อแบคทีเรียทุกไอโซเลทจะทำให้ลักษณะของเส้นใยเชื้อราผิดรูปไปจากเดิม หรือเกิดการสลายของไฮโดรพลาสซึม และสารกรองเชื้อจากแบคทีเรียไอโซเลท MuBA 3 และ MBA 49 สามารถช่วยลดการงอกของโคนิเดียเชื้อราได้สูงที่ระดับ 86.77% และ 96.72% ($P < 0.01$) ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง หลังจากการเพาะเลี้ยงตามลำดับ นอกจากนี้เชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 ไอโซเลท ยังสามารถสร้างสาร indole-3- acetic acid (IAA) ซึ่งเป็นฮอร์โมนเร่งการเจริญเติบโตของพืชได้ด้วย

Leelasuphakul *et al.* (2007) ได้ทดลองศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญและการสร้างสาร เมแทบอลิต์ของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ที่แยกได้จากดิน ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียว *Penicillium digitatum* Sacc. ที่ก่อให้เกิดโรคเน่ากับผลมะนาว พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ที่แยกได้จากดินบริเวณสวนที่เพาะปลูกต้นมะนาวมีคุณสมบัติเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *P. digitatum* ในระดับห้องปฏิบัติการได้มากกว่า 80% และเมื่อนำมาเชื้อแบคทีเรียมาทดสอบการสร้างสารเมแทบอลิต์ทุติยภูมิที่ผลิตออกมายับยั้งการเจริญเส้นใยและการงอกของสปอร์เชื้อรา พบว่าเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้สามารถสร้างสารเมแทบอลิต์ออกมายับยั้งการเจริญของเส้นใย 77.26 ไมโครกรัมต่อลิตร และยับยั้งการงอกของสปอร์ 82.10 ไมโครกรัมต่อลิตร สปอร์ของเชื้อแบคทีเรียที่เพาะอายุ 24 ชั่วโมง สามารถยับยั้งการเกิดโรคของผลมะนาวที่ใส่สปอร์เชื้อรา *P. digitatum* ที่ความเข้มข้นของสปอร์ 10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ได้ 86.7% ในระยะเวลา 6 วัน และ 9 วันหลังจากการทดสอบอาการของโรคจะลดลงตามลำดับอย่างเห็นได้ชัด ส่วนการทดสอบสารเมแทบอลิต์ต่อการก่อโรคกับผลมะนาวที่ถ่ายสปอร์ของเชื้อรา *P. digitatum* ใส่ลงไป พบว่าช่วยลดอาการของการเกิดโรคให้ลดลงได้ 72.5% ในระยะเวลา 5 วันอาการของโรคจะลดลง แต่เมื่อเวลาผ่านไป 9 จะให้ผลไม่แตกต่างกันกับช่วง 5 วันแรกมากนัก ซึ่งจากผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นได้ว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* และสารเมแทบอลิต์จากเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้นี้สามารถที่จะนำมาใช้ในการป้องกันหรือควบคุมการเกิดโรคกับผลมะนาวหลังการเก็บเกี่ยวด้วยวิธีทางชีววิธีกับเชื้อรา *P. digitatum* ได้

นอกจากนี้ยังมีเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้รับการวิจัยและพัฒนาจากหน่วยงานต่างๆ นำมาใช้ควบคุมโรคพืช ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 จุลินทรีย์ควบคุมโรคพืชที่ได้รับการวิจัยและพัฒนาในหน่วยงานต่างๆ

ชื่อจุลินทรีย์	การควบคุมโรคพืช	รูปแบบชีวภัณฑ์	สถาบันที่พัฒนา
1. <i>Pseudomonas fluorescens</i> สายพันธุ์ SP007s	- เจริญแข่งขันเชื้อโรคพืช - สร้างสารส่งเสริมการเจริญของพืช - ผลิตสารปฏิชีวนะยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืช	สูตรผงเชื้อ เพิ่มปริมาณ และสูตรผง พร้อมใช้	ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน
2. <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> สายพันธุ์ KP46	- ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดนูน (<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>glyciens</i>) - สร้างสารปฏิชีวนะ (surfactin) และยึดติดแน่นกับผิวพืช	สูตรผงเชื้อ เพิ่มปริมาณ และสูตรผง พร้อมใช้	ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน
3. <i>Bacillus subtilis</i> (เชื้อจากขยะอินทรีย์)	- ยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคต้นเหี่ยวในมะเขือเทศ (<i>Fusarium oxysporum</i>) - ยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคกุ้งแห้งในพริก (<i>Collectotrichum</i>)	ผงแห้งและ ชนิดน้ำ	ภาควิชาโรคพืช คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
4. <i>Bacillus megaterium</i>	- ยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าว (<i>Rhizoctonia solania</i>)	เกล็ด และ เม็ดฟู	การพัฒนาร่วมกันของ ภาควิชาธรณีศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และสาขาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะสัตวศาสตร์และ เทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชื่อจุลินทรีย์	การควบคุมโรคพืช	รูปแบบชีวภัณฑ์	สถาบันที่พัฒนา
5. <i>Trichoderma virens</i>	- โรครากเน่า โคนเน่า หรือเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อราในดิน เช่น <i>Sclerotium rolfsii</i> , <i>Phytophthora</i> sp., <i>Pythium</i> sp., <i>Rhizoctonia</i> sp. และ <i>Fusarium</i> sp. - โรคกุ้งแห้งในพริกและมะม่วงจากเชื้อรา (<i>Collectortrichum</i> spp.)	- หัวเชื้อสด - หัวเชื้อแห้ง - ผงเชื้อแห้ง	งานอารักขาพืช สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตร ลำปาง สถาบันเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา
6. <i>Trichoderma hazianum</i>	- ยับยั้งการเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสในมะม่วง (<i>Collectotrichum gloesporioides</i>) - ยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชในดินหลายชนิด เช่น <i>Pythium</i> spp., <i>Phytophthora</i> spp., <i>Rhizoctonia solania</i> , <i>Sclerotium rolfsii</i> และ <i>Fusarium</i> sp.	- สารสกัดจากเชื้อรา - ชนิดสด - ผสมวัสดุปลูก	การวิจัยของสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน
7. แอคติโนมัยสีท ไอโซเลท K8S3	- ยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้ง โรคถอดฝักดาบ โรคใบจุดสีน้ำตาล และโรคกาบใบแห้งในข้าว	หัวเชื้อสด	ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
8. สารพด. (พิเศษ) ARDA 3	ใช้ควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช	ผงแห้ง	สำนักงานการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน)

ที่มา: ดัดแปลงจาก สุตฤดี (2552)

แบคทีเรียแกรมบวกสร้างเอนโดสปอร์ (Endospore-Forming Gram-Positive Bacteria)

Logan and De Vos (2009) กล่าวว่า คุณสมบัติที่สำคัญของเชื้อแบคทีเรียกลุ่มนี้ คือ เซลล์มีรูปร่างเป็นท่อน (rod-shaped) ลักษณะตรง (straight) หรือโค้งงอเล็กน้อย (slightly curved) บางชนิดเป็นทรงกลม (cocci-shaped) การเรียงตัวของเซลล์ มักจะอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว (singly) และเป็นคู่ (pairs) มีบางชนิดเป็นสายโซ่ (chains) แต่ละเซลล์สามารถสร้างเอนโดสปอร์ (endospore) ที่ทนต่อสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้ดี เช่น อุณหภูมิ ความร้อน รังสียูวี และน้ำยาทำความสะอาด ส่วนใหญ่ในระยะแรกของการเจริญ จะย้อมติดสีแกรมบวก (Gram-positive) มีบางชนิดที่ติดสีแกรมลบ (Gram-negative) สามารถเคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลา (flagella) แต่บางชนิดไม่สามารถเคลื่อนที่ได้

ลักษณะการเจริญ ส่วนใหญ่เจริญได้ในสภาวะที่มีอากาศ (aerobic) และสามารถเจริญได้ทั้งสภาวะที่มีและไม่มีอากาศ (facultative anaerobic) แต่ก็ยังมีบางชนิดที่เจริญได้เฉพาะในสภาวะที่ไม่มีอากาศ (anaerobic) ส่วนมากสามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA) และ Blood agar ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และขนาดของโคโลนีจะมีความแตกต่างกันในแต่ละชนิด โดยปกติมีความสามารถสร้างสปอร์ในการทนต่ออุณหภูมิได้สูง (thermophilic) ทนต่อกรด (acidophilic) และด่าง (alkaliphilic) มีบางสายพันธุ์ที่ทนต่อเกลือ (halophilic) การทดสอบทางเคมี ซึ่งโดยส่วนมากจะสามารถสร้างเอนไซม์ catalase ได้ ในการทดสอบ oxidase test จะให้ผลเป็นบวก (positive) และลบ (negative)

สามารถพบทั่วไปทั้งในดินและสภาพแวดล้อมต่างๆ แต่ในบางครั้งจะพบในน้ำ อาหาร และสิ่งส่งตรวจทางคลินิก ซึ่งโดยปกติจะเป็นเชื้อที่ไม่ก่อโรคกับมนุษย์และสัตว์ เช่น เชื้อ *Bacillus subtilis* มีความสามารถเป็นเชื้อปฏิปักษ์ ปัจจุบันถูกนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมโรคพืชหลายชนิด แต่มีเชื้อบางชนิดที่สามารถก่อโรคได้ เป็นเชื้อก่อโรคฉวยโอกาสในกรณีที่มีสุขภาพอ่อนแอ เช่น เชื้อ *Bacillus anthracis* เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรกซ์ (anthrax) เชื้อ *Bacillus thuringiensis* ก่อโรคกับสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังบางชนิด

นางลักษณ์ และ ปรีชา (2552) ได้รายงานว่ามีเชื้อแบคทีเรียสร้างสปอร์หลายชนิดที่สร้างสามารถเอกโซเอนไซม์ (exoenzyme) ย่อยโปรตีนหรือคาร์โบไฮเดรตที่ซับซ้อน ทำให้อาหารเน่าเสีย และทำให้อาหารเป็นพิษ เช่น *Bacillus cereus* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง พบในธรรมชาติทั่วไป *Bacillus stearothermophilus* เป็นเชื้อแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูง ต้องการอุณหภูมิต่ำสุด 30-45 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงสุด 60-75 องศาเซลเซียส เอนโดสปอร์ทนความร้อนสูงมาก เป็นสาเหตุทำให้อาหารกระป๋องเน่าเสีย *Bacillus polymyxa* หมักน้ำตาลให้ก๊าซ สามารถตรึงก๊าซไนโตรเจนในสภาพไม่ใช้ออกซิเจนได้ *Bacillus popilliae* ทำให้เกิดโรคมิลกี (milky disease) กับตัวอ่อนด้วงชนิดหนึ่ง (Japanese beetle grubs)

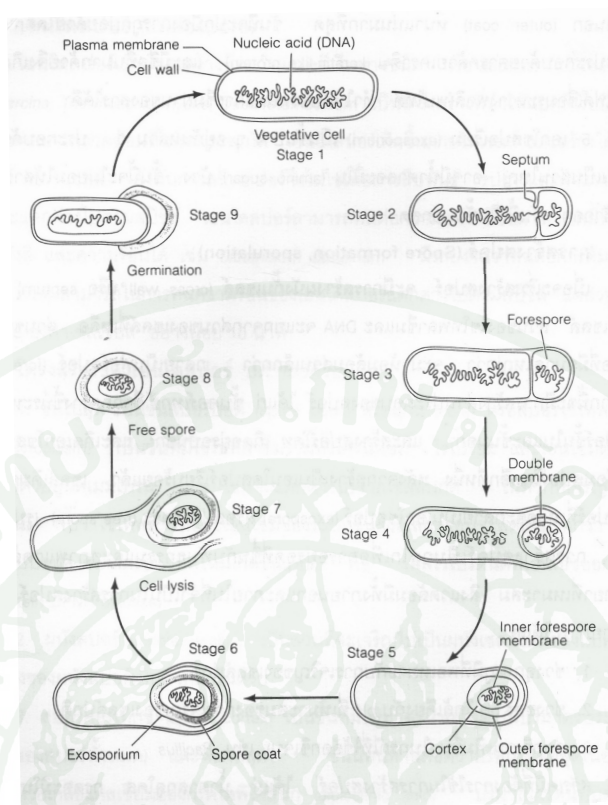
เอนโดสปอร์ (Endospore)

เอนโดสปอร์ เป็นโครงสร้างที่พบได้ในเชื้อแบคทีเรียบางชนิด เช่น เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus*, *Clostridium*, *Sporosarcina*, *Thermoactinomyces* และ *Desulfotomaculum* ภายในเซลล์ 1 เซลล์ สามารถสร้างเอนโดสปอร์ได้ 1 อัน เป็นโครงสร้างที่ช่วยทำให้เชื้อทนต่อความแห้งแล้ง สีย้อม สารเคมีที่ใช้ฆ่าเชื้อ รังสี และความร้อนได้ เช่น *Clostridium botulinum* มีรายงานว่าทนต่อการต้มหลายชั่วโมง ความสามารถในการทนความร้อนของเอนโดสปอร์แตกต่างกันไปตามสปีชีส์ แต่ส่วนใหญ่ทนได้ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที

โครงสร้างของเอนโดสปอร์ ประกอบไปด้วย ชั้นในสุด (core) เป็นชั้นที่มีไซโทพลาสซึม และโครโมโซม ไรโบโซม และเอนไซม์ต่างๆ ล้อมรอบด้วยยูนิทเมมเบรน เอนไซม์จะแตกต่างไปจากเซลล์ปกติ ผนังสปอร์ (spore wall) เป็นส่วนที่เจริญไปเป็นผนังเซลล์ใหม่ของแบคทีเรีย โครงสร้างของผนังเซลล์เป็นพวกมิวรีน สปอร์คอร์เท็กซ์ (spore cortex) เป็นชั้นที่มีปริมาณมากที่สุดและหนาที่สุด ชั้นนี้จะช่วยทำให้ทนต่อความร้อนได้ดีที่สุด เนื่องจากประกอบด้วยเกลือแคลเซียมของกรดไดพicolinic (dipicolinic acid) และประกอบด้วยมิวโคเพปไทด์ (มิวรีน) ชั้นนี้ถูกย่อยด้วยไลโซไซม์ได้ สปอร์โคท (spore coat) เป็นชั้นที่ทนทานมาก มีความหนาและเหนียว ชั้นนี้จะป้องกันการถูกย่อยด้วยไลติกเอนไซม์ ประกอบด้วยสารคล้ายเคราติน (keratin-like protein) และมีซิสตีนมากจนถึงเกิดพันธะไดซัลไฟด์ เชื่อมระหว่างพอลิเพปไทด์ ทำให้สปอร์ทนต่อการซึมผ่านของสารต่างๆได้ดี และ เอกโซสปอร์เรียม (exosporium) เป็นชั้นนอกสุด มีลักษณะบาง ประกอบด้วยลิโปโปรตีนเป็นส่วนใหญ่ ชั้นนี้จะไม่ยอมให้สารต่างๆผ่านเข้าออก

การสร้างสปอร์ (spore formation, sporulation)

เริ่มจากการสร้างผนังกั้นเซลล์ (cross wall หรือ septum) ใกล้ๆบริเวณของปลายเซลล์ ซึ่งไซโทพลาสซึม และ DNA จะแยกจากส่วนของเซลล์ที่เหลือ และส่วนของเซลล์ที่เหลือที่มีขนาดใหญ่กว่าจะมาห่อหุ้มส่วนที่มีขนาดเล็กกว่า กลายเป็นฟอร์สปอร์ (fore spore) และหลังจากนี้จะมีการสร้างส่วนประกอบของสปอร์ ได้แก่ ชั้นคอร์เท็กซ์ ซึ่งถูกสร้างขึ้นระหว่างเยื่อหุ้มสปอร์ชั้นในและชั้นนอก และสร้างสปอร์โคท เกิดอยู่รอบนอก และเกิดเอกโซสปอร์เรียม ห่อหุ้มสปอร์โคทอีกทีหนึ่ง หลังจากการสร้างเอนโดสปอร์เรียบร้อยแล้ว เซลล์เดิมก็จะเกิดการสลายตัวไป สปอร์ที่เหลือก็จะกลายเป็นเอกโซสปอร์ (exospore) หรือสปอร์อิสระ (free spore) ดังภาพที่ 8



ภาพที่ 8 ระยะในการสร้างเอนโดสปอร์ระยะที่ 1-ระยะที่ 9

ที่มา: นงลักษณ์ และ ปรีชา (2552)

การงอกของสปอร์ (Germination) เมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญ สปอร์จะเกิดการเปลี่ยน 2 ขั้นตอน คือ หยุดสภาพพักตัว (cessation of dormancy) โดยการกระตุ้นด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 60-70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 นาที เพื่อช่วยกระตุ้นให้สปอร์สูญเสียคุณสมบัติการทนต่อความร้อน และทำลายสปอร์โคท ให้พร้อมที่จะเข้าสู่ระยะแบ่งตัว เพื่อเจริญเป็นเซลล์ปกติ และเกิดการงอก (outgrowth)

อุปกรณ์และวิธีการ

1. อุปกรณ์และเครื่องมือ

1.1 ครุภัณฑ์ autoclave, hot air oven, shaker โรงเรือนเพาะเห็ดฟางขนาดเล็ก และ โรงเรือนทดลองของเกษตรกร อำเภอกาฬ จังหวัดพระนครศรีอยุธยา ขนาด 5.8 x 6.8 x 3.5 เมตร

1.2 เครื่องมือและเครื่องแก้ว ได้แก่ loop, needle ตะเกียงแอลกอฮอล์ ตู้แช่แข็ง เครื่องชั่ง ซ้อนตักสาร cork borer NO. 2 จานเพาะเชื้อ หลอดทดลอง ขวดแก้ว

2. สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.1 สารเคมี alcohol 95% และ 70%

2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar, nutrient agar, nutrient broth อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการจำแนกชนิดเชื้อ *Bacillus* โดยวิธีดั้งเดิม จำนวน 29 ชนิด และชุดทดสอบ Biolog GEN III Microplate

3. เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ

3.1 เชื้อราแข่งขันและเชื้อราสาเหตุโรคพืช จำนวน 23 สายพันธุ์ ดังแสดงในตารางที่ 2

3.2 เชื้อเห็ดฟางทดสอบ จำนวน 13 สายพันธุ์ ดังแสดงในตารางที่ 3

3.3 เชื้อแบคทีเรียทดสอบ จำนวน 22 ไอโซเลท ได้จากการคัดแยกจากวัสดุเพาะเห็ดฟาง และสภาพแวดล้อมในการเพาะเห็ดฟาง

ตารางที่ 2 ชนิดและแหล่งที่มาของเชื้อราทดสอบ

ลำดับ	ชื่อเชื้อรา	สาเหตุและการก่อโรค	แหล่งที่มา
1	<i>Alternaria brassicola</i>	โรคใบจุดในพืช	กรมวิชาการเกษตร
2	<i>Aspergillus niger</i>	โรคโคนเน่าและเชื้อ แข่งขันของเห็ด	กรมวิชาการเกษตร
3	<i>Bolbitius fissus</i>	เชื้อแข่งขันของเห็ด	โรงเรือนของเกษตรกร จังหวัดพระนครศรีอยุธยา
4	<i>Coprinus</i> sp.	เชื้อแข่งขันของเห็ด	ภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยา เขตบางเขน
5	<i>Coprinus</i> sp. cin-003	เชื้อแข่งขันของเห็ด	ฟางข้าว จังหวัดสระบุรี
6	<i>Coprinus</i> sp. cin-004	เชื้อแข่งขันของเห็ด	การหมักฟางข้าว กรุงเทพมหานคร

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ลำดับ	ชื่อเชื้อรา	สาเหตุและการก่อโรค	แหล่งที่มา
7	<i>Coprinus</i> sp. cin-006	เชื้อแข่งขันของเห็ด	การหมักฟางข้าว จังหวัดเชียงใหม่
8	<i>Coprinus</i> sp. cin-009	เชื้อแข่งขันของเห็ด	ทะเลสาบปาล์ม จังหวัดสุราษฎร์ธานี
9	<i>Coprinus</i> sp. cin-011	เชื้อแข่งขันของเห็ด	การหมักฟางข้าว จังหวัด พระนครศรีอยุธยา
10	<i>Coprinus</i> sp. cin-016	เชื้อแข่งขันของเห็ด	กากเมล็ดกาแฟ กรุงเทพมหานคร
11	<i>Coprinus</i> sp. cin-026	เชื้อแข่งขันของเห็ด	เปลือกถั่ว กรุงเทพมหานคร
12	<i>Coprinus</i> sp. cin-031	เชื้อแข่งขันของเห็ด	ทะเลสาบปาล์ม จังหวัดชุมพร
13	<i>Coprinus</i> sp. cin-037	เชื้อแข่งขันของเห็ด	เปลือกมันสำปะหลัง จังหวัด นครราชสีมา
14	<i>Coprinus</i> sp. cin-057	เชื้อแข่งขันของเห็ด	ต้นปาล์ม จังหวัดเพชรบุรี
15	<i>Curvularia lunata</i> TISTR 3282	โรคใบจุดในพืช	ศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัย วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่ง
16	<i>Gliocladium</i> sp. T2	เชื้อแข่งขันของเห็ด	ภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขต บางเขน
17	<i>Monilia</i> sp.	โรคสมอเน่าในฝ้ายและ เชื้อแข่งขันเห็ด	กรมวิชาการเกษตร
18	<i>Fusarium</i> sp.	โรคพืชในดิน	ภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขต บางเขน
19	<i>Fusarium oxysporum</i>	โรคเหี่ยวในมะเขือเทศ	กรมวิชาการเกษตร
20	<i>Rhizoctonia solani</i>	โรคกาบใบแห้งในข้าว	ภาควิชาโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขต บางเขน
21	<i>Pythium</i> sp.	โรคพืชในดิน	ผักกวางตุ้ง ภาควิชาโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขต บางเขน

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ลำดับ	ชื่อเชื้อรา	สาเหตุและการก่อโรค	แหล่งที่มา
22	<i>Sclerotium rolfsii</i>	โรคพืชในดิน และเชื้อ แข่งขันของเห็ด	กรมวิชาการเกษตร
23	<i>Trichoderma harzianum</i>	โรคพืชในดิน และเชื้อ แข่งขันของเห็ด	กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 3 สายพันธุ์ของเห็ดฟางทดสอบและแหล่งที่มาของเชื้อเห็ดฟางที่ใช้ทดสอบ (ได้รับความอนุเคราะห์จาก ศูนย์รวบรวมเชื้อเห็ด กรมวิชาการเกษตร)

ลำดับ	ชื่อเชื้อเห็ดฟาง	แหล่งแยกเชื้อ/จังหวัด
1	เชื้อเห็ดฟาง Vvol-002	ศูนย์รวบรวมเชื้อพันธุ์เห็ด กรมวิชาการเกษตร
2	เชื้อเห็ดฟาง Vvol-006	ทะเลสาบปาล์มน้ำมัน จังหวัดสตูล
3	เชื้อเห็ดฟาง Vvol-007	ทะเลสาบปาล์มน้ำมัน จังหวัดชลบุรี
4	เชื้อเห็ดฟาง Vvol-009	ฟางข้าว อำเภอนิคมพัฒนา จังหวัดสระบุรี
5	เชื้อเห็ดฟาง Vvol-010	ฟางข้าว จังหวัดอ่างทอง
6	เชื้อเห็ดฟาง Vvol-019	ประเทศฮ่องกง
7	เชื้อเห็ดฟาง Vvol-024	เปลือกกาแฟ อำเภอสวี จังหวัดชุมพร
8	เชื้อเห็ดฟาง Vvol-029	ประเทศฮ่องกง
9	เชื้อเห็ดฟาง Vvol-037	ปุ๋ยเชื้อเพาะข้าว V45 จังหวัดนนทบุรี
10	เชื้อเห็ดฟาง Vvol-045	ฟางข้าว จังหวัดนนทบุรี
11	เชื้อเห็ดฟาง Vvol-058	ศูนย์รวบรวมเชื้อพันธุ์เห็ด กรมวิชาการเกษตร
12	เชื้อเห็ดฟาง Vvol-071	ทะเลสาบปาล์มน้ำมัน V47-ทลป จังหวัดนนทบุรี
13	เชื้อเห็ดฟาง สายพันธุ์อยุธยา	แยกจากดอกเห็ดฟาง ฟาร์มเห็ดฟาง จังหวัด พระนครศรีอยุธยา

4. การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากวัสดุเพาะเห็ดฟาง

4.1 สถานที่และวิธีการเก็บตัวอย่าง

การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียสร้างสปอร์เพื่อใช้ในการทดลอง ทำ 2 วิธี คือ

4.1.1 การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากสภาพแวดล้อมบริเวณที่เพาะเห็ดฟาง โดยการนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar เปิดฝาไปวางไว้ในบริเวณที่เพาะเห็ดฟาง เป็นเวลาประมาณ 1 ชั่วโมง แล้วเก็บจานอาหารเพื่อนำมาบ่มต่อในห้องปฏิบัติการ

4.1.2 การเก็บตัวอย่างวัสดุเพาะเห็ดฟางจากสถานที่ต่างๆ ทำโดยการเก็บตัวอย่างใส่ลงในถุงพลาสติกที่ปราศจากเชื้อ พร้อมบันทึกรายละเอียดของตัวอย่าง จำนวน 3 แห่ง ประกอบด้วย

4.1.2.1 โรงเรือนทดลองเพาะเห็ด ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

4.1.2.2 แปลงสาธิตการเพาะเห็ดฟางกองเตี้ยในการฝึกอบรมการเพาะเห็ดฟาง ภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

4.1.2.3 ฟาร์มผลิตเชื้อเห็ดฟางบางบัว-บัวขาว ตำบลบางบัวทอง อำเภอบางบัวทอง จังหวัดนนทบุรี

4.2 วิธีการคัดแยกเชื้อแบคทีเรีย

4.2.1 การแยกเชื้อแบคทีเรียจากสภาพแวดล้อมบริเวณที่เพาะเห็ดฟาง

นำตัวอย่างจานอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar (NA plate) ไปวางและเปิดฝาไว้ในแต่ละจุดทดสอบในข้อ 4.1.1 แล้วมาบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1-2 วัน จนโคโลนีปรากฏ คัดแยกเอาเชื้อที่มีลักษณะคล้ายกับเชื้อแบคทีเรีย นำไปคัดแยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ด้วยวิธี cross streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar plate หลังจากนั้นนำมาเก็บในอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar slant (NA slant) เพื่อทำการย้อมสีแบบแกรมทดสอบลักษณะเบื้องต้น และเก็บตัวอย่างไว้เพื่อนำไปทดสอบการยับยั้งเชื้อราต่อไป

4.2.2 การแยกเชื้อแบคทีเรียจากวัสดุเพาะเห็ดฟาง

นำตัวอย่างที่เก็บตามข้อ 4.1.2 มาชั่ง 1 กรัม ใส่ในน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร บรรจุในขวดฝาเกลียว ทำจนได้ความเจือจางที่ 10^{-5} เลือกความเจือจางที่ 10^{-3} ,

10^{-4} และ 10^{-5} นำสารละลายที่ได้ไปแยกเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี spread plate technique บนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar plate (NA plate) และนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1-2 วัน จนโคโลนีปรากฏ คัดแยกเอาเชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกัน นำไปแยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ ด้วยวิธี cross streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar plate (NA plate) แล้วนำมาแยกเก็บใน nutrient agar slant (NA slant) เพื่อทดสอบลักษณะเบื้องต้น และเก็บตัวอย่างไว้เพื่อนำไปทดสอบการยับยั้งเชื้อราต่อไป

5. การจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรีย การจำแนกชนิดของแบคทีเรียทำได้โดย 2 วิธี คือ

5.1 การจำแนกชนิดโดยวิธีดั้งเดิม (Conventional method)

ตรวจสอบคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา ชีวเคมี และสรีรวิทยา ตามวิธีการของ Claus and Berkeley (1986) และ Gordon (1989)

5.1.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

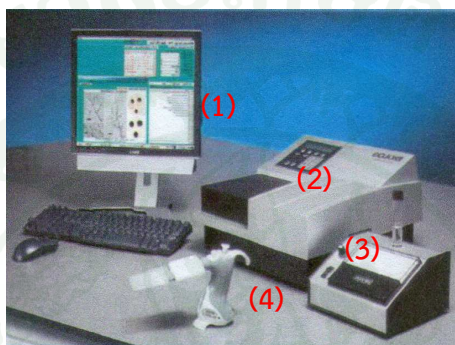
นำตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากข้อ 4.2 มาทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยวิธีการย้อมสีแบบแกรม แล้วนำมาตรวจสอบลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พร้อมทั้งบันทึกผล คัดเลือกเฉพาะเชื้อที่สามารถสร้างเอนโดสปอร์ได้ เพื่อนำไปตรวจสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราแข่งขันของเห็ดฟาง และราสาเหตุโรคพืชบางชนิดต่อไป

5.1.2 การศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีและสรีรวิทยา

เฉพาะเชื้อแบคทีเรียที่ผ่านการคัดเลือกว่ามีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชและเชื้อราแข่งขันของเห็ดได้ผลดี จำนวน 8 ไอโซเลท คือ BC01, BC02, BC03, BC05, BC06, BF02, BF04 และ MK07 และเชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อราและเชื้อเห็ดฟางได้น้อย จำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ MA02, MK02 และ MK05 นำมาตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีและสรีรวิทยา ดังต่อไปนี้ คือ ทดสอบความต้องการอากาศเพื่อระบุว่าเป็น aerobe หรือ facultative anaerobe โดยใช้ อาหารเลี้ยงเชื้อ anaerobic agar, VP test, nitrate reduction test ทดสอบการเคลื่อนที่ การเจริญในอาหาร nutrient broth pH 5.7 การเจริญในอาหาร nutrient broth ที่อุณหภูมิ 55 °C การเจริญใน nutrient broth ที่ผสมเกลือ NaCl 5, 7 และ 10% ตามลำดับ การสร้างกรดจากน้ำตาล D-glucose, L-arabinose, D-xylose, D-mannitol และ lactose ตามลำดับ การเจริญโดยใช้ citrate และ propionate เป็นแหล่ง carbon ทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์ catalase, oxidase, phenylalanine deaminase, esculinase, amylase, caseinase, gelatinase, lipase, urease และ lecithinase โดยผลการทดสอบที่ได้นำไปเทียบเคียงเพื่อระบุชนิดกับข้อมูลของ Claus and Berkeley (1986) และ Gordon (1989)

5.2 การจำแนกชนิดแบคทีเรียด้วยชุดทดสอบ Biolog GEN III Microplate

หลักการของวิธี Biolog GEN III คือการตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีและสรีรวิทยาของเชื้อ 95 คุณสมบัติที่ทางผู้ผลิตได้คัดเลือก และทำเป็นอาหารแห้งใส่ในแต่ละหลุมของ microplate ถ้าเชื้อทดสอบสามารถเจริญได้จะเปลี่ยนสีอินดิเคเตอร์ (tetrazolium) ที่ผสมไว้ ทำให้สามารถตรวจสอบผ่านเครื่องอ่านผล (Microplate reader) และประมวลผลจาก metabolic pattern ที่ได้โดยเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลของบริษัทผู้ผลิต ประกอบด้วยอุปกรณ์ เครื่องมือ และวิธีการทดสอบดังแสดงในภาพที่ 9



ภาพที่ 9 แสดงอุปกรณ์และเครื่องมือของชุดทดสอบ Biolog GEN III Microplate

- (1) เครื่องคอมพิวเตอร์ประมวลผล
- (2) เครื่องอ่านผล Biolog Microstation Reader
- (3) เครื่องวัดความขุ่น Biolog Turbidimeter
- (4) electronic 8-channel micropipettor

ที่มา: Focus Biotech (2013)

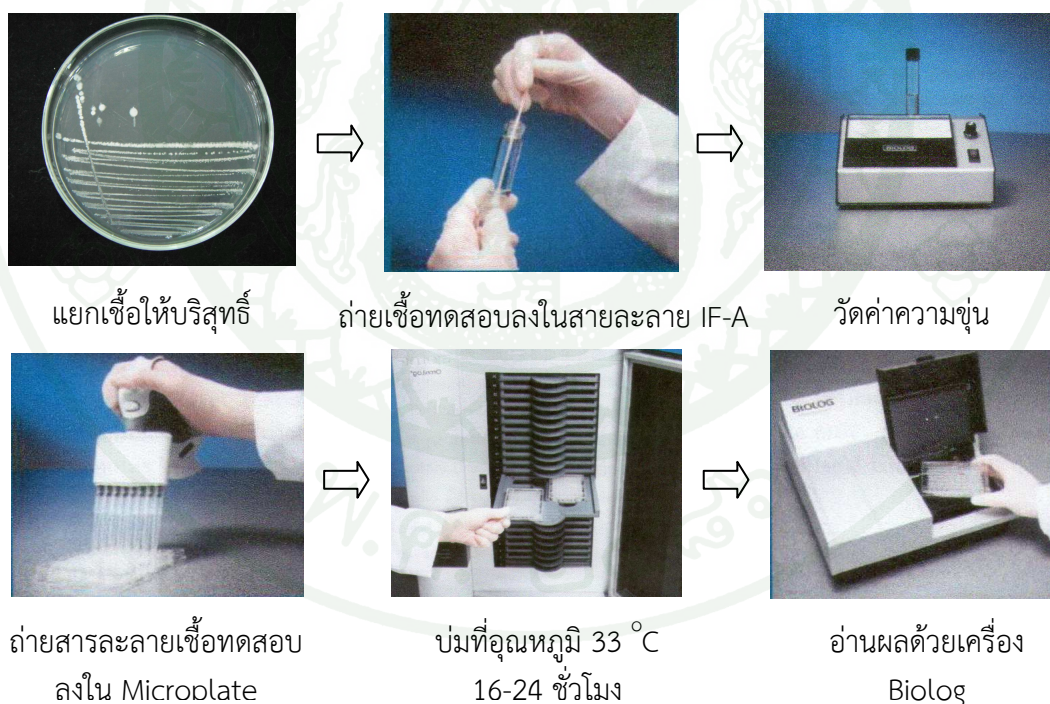
5.2.1 ขั้นตอนและวิธีการเตรียมเชื้อแบคทีเรียทดสอบ

คัดแยกเชื้อแบคทีเรียทดสอบให้ได้เชื้อที่บริสุทธิ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar (NA) ให้เชื้อทดสอบอายุประมาณ 4-24 ชั่วโมง ถ้าเป็นเชื้อในกลุ่ม *Bacillus* ควรให้เจริญน้อยกว่า 16 ชั่วโมง เพื่อไม่ให้เข้าสู่สภาวะการสร้างสปอร์ หลังจากนั้นใช้ไม้พันสำลี ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว (sterile cotton swap) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร โดยนำส่วนปลายมาแตะ single colony ของเชื้อทดสอบที่เจริญอยู่บริเวณผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth agar (NA) นำมาถ่ายลงในสารละลาย Inoculation Fluid (IF-A) โดยการใช้ส่วนปลายของไม้พันสำลีที่มีเชื้อแบคทีเรียติดอยู่มาป้ายลงที่ด้านในบริเวณข้างๆของหลอดบรรจุสารละลาย IF-A เบาๆ เพื่อให้เซลล์ของเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบที่เกาะกลุ่มกันอยู่เป็นก้อนเกิดการกระจายตัวและหลุดออกมาจากไม้พันสำลีมาติดอยู่ที่บริเวณด้านข้างของหลอดบรรจุสารละลาย IF-A กลับหลอดบรรจุสารละลายเชื้อ IF-A ไปมาเบาๆ 2-3 ครั้ง เพื่อให้เซลล์ของเชื้อแบคทีเรียกับสารละลายเข้ากันดี หลังจากนั้น นำไปวัดความ

หนาแน่นของเชื้อโดยการวัดเปอร์เซ็นต์แสงส่องผ่าน (%T) ด้วยเครื่อง Biolog Turbidimeter ให้ได้ค่าความขุ่นอยู่ในช่วง 93-98% (สำหรับเชื้อแบคทีเรียกลุ่มที่ต้องการอากาศ) ถ้าในกรณีที่เซลล์มีความขุ่นน้อยไปให้ใส่เชื้อเพิ่มเข้าไปอีก แต่ถ้าหากว่าเซลล์มีความหนาแน่นมากจนเกินไปให้เติมสารละลาย IF-A ลงไปเจือจาง

5.2.2 ขั้นตอนและวิธีการทดสอบ

บันทึกรายละเอียดของเชื้อแบคทีเรียทดสอบลงใน microplate หลังจากนั้นนำสารละลายเซลล์ที่เตรียมไว้มาเทลงใน sterile multichannel pipet reservoir แล้วนำ pipette tips ที่ปราศจากเชื้อใส่เข้ากับ electronic 8-channel micropipettor และปรับปริมาตรเป็น 100 ไมโครลิตร ดูดเชื้อปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในแต่ละหลุมของ Biolog GEN III microplate ระวังอย่าให้สารละลายของเชื้อทดสอบเกิดการปนเปื้อนหรือกระเด็นไปใส่หลุมอื่นๆ และควรใช้เวลาในการถ่ายเชื้อใส่ Biolog GEN III microplate อย่างรวดเร็วและเปลี่ยน pipette tips ออกจาก electronic 8-channel micropipettor ปิดฝา Biolog GEN III microplate นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 33 °C เป็นเวลา 16-24 ชั่วโมง ดังแสดงในภาพที่ 10



ภาพที่ 10 แสดงขั้นตอนและวิธีในการจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียด้วยชุดทดสอบ Biolog GEN III Microplate

ที่มา: Focus Biotech (2013)

5.2.3 การอ่านผลและการวิเคราะห์ผลเพื่อจัดจำแนกเชื้อ

เมื่อปมเชื้อทดสอบจนครบตามเวลาที่กำหนด นำ microplate ออกมาอ่านผลด้วยเครื่อง Biolog Microstation Reader และพริ้นท์ข้อมูลผลการตรวจออกมาวิเคราะห์เพื่อจัดจำแนกชนิดของเชื้อทดสอบ

6. การตรวจสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียในการยับยั้งการเจริญของราแข่งขันของเห็ดฟาง เชื้อราสาเหตุโรคพืชบางชนิด และเชื้อเห็ดฟาง

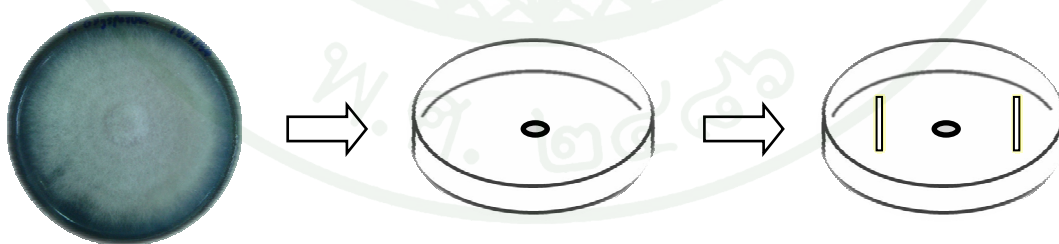
เชื้อราที่นำมาใช้ในการตรวจสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรามีจำนวน 23 สายพันธุ์ และเชื้อเห็ดฟาง จำนวน 13 สายพันธุ์ ทำการทดสอบโดยวิธี dual culture โดยใช้แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* B2 จากงานวิจัยของ Payapanon *et al.* (2011)

6.1 วิธีการทดสอบการยับยั้งการเจริญด้วย dual culture method (Prince *et al.*, 2011)

6.1.1 เลี้ยงเชื้อราทดสอบบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) จนเชื้อราเจริญเกือบเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

6.1.2 นำ cork borer เบอร์ 2 ตัดเส้นใยบริเวณปลายโคโลนีของเชื้อรา นำไปวางบริเวณกลางจานอาหาร PDA ใหม่

6.1.3 นำ loop เชื้อแบคทีเรียที่เลี้ยงบนอาหาร nuterint agar stant อายุ 24 ชั่วโมง ไปขีดลากขนานสองข้างของขึ้นวุ้นเชื้อราทดสอบ โดยการลากในแนวนอน ให้มีความยาวและระยะห่างจากขึ้นวุ้น 3 เซนติเมตร ทำ 3 ซ้ำในทุกชุดการทดลอง ดังภาพที่ 11



ภาพที่ 11 ลักษณะการทดสอบเชื้อด้วยวิธี dual culture

6.3.4 กรรมวิธีควบคุม ทดสอบโดยการตัดเส้นใยบริเวณปลายโคโลนีของเชื้อรา นำไปวางบนบริเวณตรงกลางของจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยไม่ลากเชื้อแบคทีเรียทดสอบ

6.1.6 นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเจริญของเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย และทำการบันทึกข้อมูลเมื่อโคโลนีของชุดควบคุมของเชื้อราเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยการถ่ายรูปและวัดรัศมีการเจริญของเชื้อรา รวมทั้งระยะห่างระหว่างเส้นใยของเชื้อรากับแนวการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

6.2 การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราทดสอบ

สูตรการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราทดสอบ (Prince *et al.*, 2011) ตามสมการ

$$\frac{A - B}{A} \times 100$$

โดยที่ A คือ รัศมีการเจริญของเชื้อราในกรรมวิธีควบคุม
B คือ รัศมีการเจริญเฉลี่ยของเชื้อราทดสอบ

7. การหาสภาวะที่เหมาะสมในการนำเชื้อแบคทีเรียไปใช้ในการส่งเสริมผลผลิตของเห็ดฟางในฟาร์มเพาะเห็ดฟางของเกษตรกร

นำเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* B2 จากผลงานวิจัยของ Payapanon *et al.* (2011) ที่รายงานว่ามีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญและช่วยเพิ่มผลผลิตของเห็ดฟางได้ มาทดสอบ เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการนำเชื้อไปใช้ในการส่งเสริมการเจริญของเห็ดฟางในฟาร์มเพาะเห็ดฟางของเกษตรกรได้อย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุด แบ่งการทดลองออกเป็น treatment ต่างๆ ดังนี้

- 1) กรรมวิธีที่ 1 อาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient broth (control)
- 2) กรรมวิธีที่ 2 น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่แยกเอาแต่ส่วนใส (supernatant)
- 3) กรรมวิธีที่ 3 ตะกอนเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียหลังปั่นแยกอาหารเลี้ยงเชื้อออกไป (pellet) เอามาผสมน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อให้มีปริมาตรเท่าเดิม
- 4) กรรมวิธีที่ 4 เชื้อแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงในอาหาร nutrient broth (suspension)
- 5) กรรมวิธีที่ 5 ไม่ฉีดพ่น เป็นกรรมวิธีควบคุม (control)

ทำการทดลอง 2 ครั้ง แต่การทดลองในครั้งที่ 1 ไม่ได้ทำการทดลองใน กรรมวิธีที่ 5 ซึ่งเป็นกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ฉีดพ่น (control) ทดลองเฉพาะกรรมวิธีที่ 1-4 เท่านั้น แต่วิธีการและการทดลองในขั้นตอนต่างๆเหมือนกันทุกประการ

7.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียทดสอบ

7.1.1 นำเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* B2 มาเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar (NA) นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง

7.1.2 ถ่ายเชื้อแบคทีเรียทดสอบจากข้อ 7.1.1 จำนวน 1 loop ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient broth (NB) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปเขย่าที่ความเร็ว 130 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

7.1.3 นำเชื้อจากข้อ 7.1.2 มาตรวจนับจำนวนเชื้อตั้งต้นด้วยวิธี spread plate โดยดูดเชื้อปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มาทำการเจือจางในน้ำ sterile แล้วนำมา spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar และถ่ายเชื้อ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ลงใน flask ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหาร nutrient broth ปริมาตร 200 มิลลิลิตร จำนวนทั้งหมด 60 flask และนำไปเขย่า ที่ความเร็ว 130 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

7.1.4 แบ่งเชื้อทดสอบออกเป็นสองส่วนเท่าๆกัน ส่วนละ 6,000 มิลลิลิตร โดยส่วนแรก นำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอทดสอบเป็นกรรมวิธีที่ 4 (suspension) ก่อนนำไปใช้ตรวจนับจำนวนแบคทีเรียด้วยวิธี spread plate โดยดูดเชื้อปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มาทำการเจือจางในน้ำ sterile แล้วนำมา spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar และส่วนที่สอง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แยกเก็บส่วนใส ตรวจนับจำนวนเชื้อที่เหลือในส่วนใส และนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอการทดสอบเป็นกรรมวิธีที่ 2 (supernatant) และเก็บส่วนตะกอนเซลล์ นำมาเติมน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ ปรับปริมาตรให้เท่ากับ กรรมวิธีอื่นๆ นำไปตรวจนับจำนวนเซลล์ที่ปั่นแยกออกมาได้ และนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอทดสอบเป็นกรรมวิธีที่ 3 (pellet) ก่อนจะนำทุกส่วนที่เตรียมไว้ไปใช้ฉีดพ่นที่ฟาร์มเพาะเห็ดฟางของเกษตรกรที่อำเภอกาฬสินธุ์ จังหวัดพระนครศรีอยุธยาต่อไป

7.2 การเตรียมก้อนเชื้อเห็ดฟาง

คัดเลือกสายพันธุ์ของเห็ดฟางที่ได้รับมาจากกรมวิชาการเกษตร โดยการคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีผลการถูกยับยั้งจากเชื้อแบคทีเรียน้อย และเส้นใยสามารถเจริญได้เร็ว

ส่วนขั้นตอนและวิธีการเตรียมก้อนเชื้อเห็ดฟาง ให้ฟาร์มของเกษตรกรที่อำเภอกาฬสินธุ์ จังหวัดพระนครศรีอยุธยา เตรียมก้อนเชื้อเห็ดฟางให้ ซึ่งส่วนประกอบในการทำปุ๋ยหมักสำหรับทำก้อนเชื้อเห็ดฟาง ประกอบด้วยส่วนผสมต่างๆ ได้แก่ ขี้เถ้า 900 กิโลกรัม เปลือกกล้วยเขียว 900 กิโลกรัม ขี้เถ้า 100 กิโลกรัม และ รำข้าว 30 กิโลกรัม นำมาผสมให้ความชื้นประมาณ 60-65 % หลังจากนั้นนำมาบรรจุใส่ถุงพลาสติก ให้ได้ถุงละ ½ กิโลกรัม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา

3 ชั่วโมง ความดัน 3 psi ทิ้งไว้ให้เย็น ก่อนจะนำมาถ่ายเส้นใยของเชื้อเห็ดฟางที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) ลงไปและนำไปบ่มจนเส้นใยเจริญเต็มถุง ซึ่ง 1 ชั้นเพาะ มีพื้นที่ 4 ตารางเมตร จะใช้ก้อนเชื้อจำนวน 5 ถุงต่อชั้นเพาะ



ภาพที่ 12 ลักษณะก้อนเชื้อเห็ดฟางที่เส้นใยเจริญเต็มถุง สำหรับการนำไปเพาะลงบนวัสดุเพาะ

- (1) ลักษณะก้อนเชื้อเห็ดฟาง ที่บ่มจนเส้นใยเจริญเต็มถุง
- (2) ก้อนเชื้อเห็ดฟางที่เกษตรกรนำออกจากถุงเพื่อเตรียมไปเพาะลงบนวัสดุเพาะ

7.3 การเตรียมวัสดุเพาะเห็ดฟางและโรงเรือนทดสอบ

7.3.1 การเตรียมวัสดุเพาะเห็ดฟาง เตรียมโดยเกษตรกรเจ้าของฟาร์มเป็นผู้จัดเตรียมให้ ซึ่งส่วนผสมของวัสดุเพาะเห็ดฟางที่ใช้ในการทดลอง ประกอบด้วย ฟางข้าว 15 กิโลกรัม และขี้ฝ้าย 220 กิโลกรัมของน้ำหนักเปียก ต่อโรงเรือน ส่วนอาหารเสริม ได้แก่ รำข้าว ร้อยละ 10, ยิปซัม ร้อยละ 1 ปูนเปลือกหอย ร้อยละ 1 แปะข้าวเหนียว ร้อยละ 1 และยูเรีย ร้อยละ 0.7 ซึ่งเกษตรกรจะนำวัสดุเพาะ คือ ขี้ฝ้ายแช่น้ำให้เปียกทิ้งไว้ในลานคอนกรีตที่ใช้สำหรับหารหมักวัสดุเพาะเป็นเวลา 1 คืน แล้วปล่อยน้ำทิ้ง หลังจากนั้นนำอาหารเสริมมาผสมกับขี้ฝ้าย แล้วหมักทิ้งไว้เป็นเวลา 2 คืน นำฟางข้าวที่รดด้วยน้ำจนเปียกชุ่มวางรองบนชั้นก่อนนำเอาขี้ฝ้ายที่หมักผสมกับอาหารเสริมขึ้นบนชั้นเพาะ และทิ้งไว้ในชั้นเพาะที่อยู่ในโรงเรือนต่ออีกเป็นเวลา 1 คืน หลังจากนั้นเกษตรกรจะอบไอน้ำเพื่อกำจัดเชื้อปนเปื้อนในโรงเรือน ที่อุณหภูมิ 60-65 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 6 ชั่วโมง และปล่อยทิ้งไว้ให้เย็นลง ก่อนนำสารละลายเชื้อแบคทีเรียทดสอบที่เตรียมไว้มาฉีดพ่นลงบนวัสดุเพาะ



ภาพที่ 13 ลานคอนกรีต ยกขอบรูปทรงสี่เหลี่ยม ที่เกษตรกรใช้ในการเตรียมหมักวัสดุเพาะเห็ดฟางเป็นเวลา 2 คืน ก่อนนำขึ้นชั้นเพาะในโรงเรือน



ภาพที่ 14 วัสดุเพาะเห็ดฟางที่เตรียมบนชั้นเพาะในโรงเรือน ซึ่งผ่านการหมักมาแล้ว 3 วัน รอกการอบไอน้ำกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ และรอกการผัดพ่นด้วยสารละลายเชื้อแบคทีเรียทดสอบ

7.3.2 การเตรียมโรงเรือนทดสอบ

7.3.2.1 ลักษณะของโรงเรือนทดสอบ มีลักษณะเป็นสี่เหลี่ยมผืนผ้า ขนาด 5.8 x 6.8 เมตร สูงประมาณ 3.5 เมตร ตัวโรงเรือนและหลังคามุงด้วยหญ้าทั้งหมด พื้นเป็นพื้นดิน ภายในบุด้วยแผ่นพลาสติกทนความร้อนทุกด้าน รวมทั้งหลังคาของโรงเรือน เพื่อช่วยควบคุมอุณหภูมิและความชื้นภายในโรงเรือน มีประตูทางเข้า-ออก สองด้าน ด้านละ 2 ประตู ใน 1 โรงเรือน ประกอบด้วยชั้นเพาะเห็ด จำนวน 3 แถว แถวละ 4 ชั้น ขนาดประมาณ 80 เซนติเมตร x 5 เมตร (แต่ละชั้นมีพื้นที่ 4 ตารางเมตร) ทำจากไม้และปูด้วยตาข่ายเพื่อรองรับวัสดุเพาะ ชั้นล่างสุดอยู่ห่างจากพื้นดิน 30 เซนติเมตร แต่ละชั้นมีความสูงห่างกันประมาณ 60 เซนติเมตร ตั้งห่างจากฝาผนังโรงเรือนโดยรอบประมาณ 80 เซนติเมตร



ภาพที่ 15 ลักษณะภายนอกของโรงเรือนทดสอบของเกษตรกร



ภาพที่ 16 ลักษณะภายในโรงเรือน ประกอบด้วยชั้นเพาะ จำนวน 3 แถว แต่ละแถวมีจำนวน 4 ชั้น ทำด้วยไม้และมีตาข่ายรองรับวัสดุเพาะในแต่ละชั้น

7.3.2.2 การอบไอน้ำโรงเรือนทดสอบ หลังจากนำวัสดุเพาะที่เตรียมไว้ตามข้อ 7.3.1 นำมาขึ้นชั้นเพาะและหมักทิ้งไว้ในโรงเรือนเป็นเวลา 1 คืนเรียบร้อยแล้ว เกษตรกรจะทำการอบไอน้ำ เพื่อกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ภายในโรงเรือนและวัสดุเพาะ ที่อุณหภูมิ 60-65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง โดยแหล่งกำเนิดความร้อน ใช้ถังขนาด 200 ลิตร มีฝาเปิดด้านข้าง นำมาวางในแนวนอน หัน ด้านที่เปิดฝาขึ้น สำหรับเติมน้ำ ต่อท่อเหล็กฝาเกลียวเข้ากับฝาถัง แล้วนำสายยางต่อจากท่อเหล็กยื่น เข้าไปที่โรงเรือน แหล่งพลังงานความร้อนใช้ฟืนในการต้มน้ำในถังให้เดือด ไอน้ำจะออกจากท่อเหล็ก และสายยางผ่านเข้าสู่โรงเรือน ดังภาพที่ 17 หลังจากครบเวลา 6 ชั่วโมง ปลอยให้อุณหภูมิเย็นลง แล้วจึงนำสารละลายเชื้อแบคทีเรียทดสอบที่เตรียมไว้มาทำการฉีดพ่น จากนั้นเกษตรกรจะนำเชื้อเห็ด พางจากข้อ 7.2 มาโรยเชื้อลงบนวัสดุเพาะ



ภาพที่ 17 แหล่งกำเนิดน้ำอาศัยพลังงานเชื้อเพลิงจากฟืน พร้อมท่อสำหรับต่อน้ำไอน้ำผ่านเข้าสู่โรงเรือนเพื่ออบไอน้ำกำจัดเชื้อปนเปื้อนในภายในโรงเรือน ก่อนการเพาะเห็ดฟาง

7.4 การฉีดพ่นเชื้อแบคทีเรียทดสอบในโรงเรือนเพาะเห็ดฟางของเกษตรกร

7.4.1 ฉีดพ่นสารละลายทดสอบบนวัสดุเพาะเห็ดฟางที่เตรียมไว้ในข้อ 7.3.2.2 ทำการทดลองครั้งละ 2 โรงเรือน ซึ่งแต่ละโรงเรือน มีจำนวน 3 แถว แต่ละแถวมี 4 ชั้น และ 1 ชั้นมีพื้นที่ 4 ตารางเมตร โดยทำการทดลองทั้งหมด 2 ครั้ง ซึ่งแต่ละครั้ง มีกรรมวิธีต่างดังนี้

7.4.1.1 กรรมวิธีที่ 1 อาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient broth (control)

7.4.1.2 กรรมวิธีที่ 2 น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่แยกเอาแต่ส่วนใส (supernatant)

7.4.1.3 กรรมวิธีที่ 3 ตะกอนเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียหลังปั่นแยกอาหารเลี้ยงเชื้อออกไป (pellet)

7.4.1.4 กรรมวิธีที่ 4 เชื้อแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงในอาหาร nutrient broth (suspension)

7.4.1.5 กรรมวิธีที่ 5 ไม่ฉีดพ่น เป็นชุดควบคุม (control) แยกทดลองต่างหากอีก 1 โรงเรือน แต่อยู่ในบริเวณใกล้เคียงกัน (ยกเว้นในการทดลองครั้งที่ 1 ไม่ได้ทำการทดลองใน กรรมวิธีนี้)

แต่ละกรรมวิธี ทำการฉีดพ่น 3 ซ้ำต่อโรงเรือน ในปริมาตรเท่าๆกัน คือ 1,000 มิลลิลิตรต่อพื้นที่ 4 ตารางเมตร การทดลองครั้งที่ 1 การฉีดพ่นแต่ละชั้นเพาะเป็นแบบสุ่มทั้ง 2 โรงเรือน แต่ในการทดลองครั้งที่ 2 การฉีดพ่นแต่ละชั้นเพาะ เป็นแบบจำเพาะเจาะจง โดยเรียงลำดับการฉีดพ่นจากชั้นบนลงมาชั้นล่าง ได้แก่ กรรมวิธีที่ 1 (NB) กรรมวิธีที่ 2) supernatant (กรรมวิธีที่ 3 (pellet) และกรรมวิธีที่ 4) suspension) ตามลำดับ เมื่อฉีดพ่นเสร็จ จะทำการใส่เชื้อเห็ดฟางในวันเดียวกัน



ภาพที่ 18 การฉีดพ่นสารละลายทดสอบลงบนวัสดุเพาะเห็ดฟางในโรงเรือน



ภาพที่ 19 อุปกรณ์และภาชนะบรรจุสารละลายทดสอบ (NB) ที่ใช้ในการฉีดพ่นบนวัสดุเพาะเห็ดฟาง

7.4.2 ตรวจสอบผลการทดลองโดยวิธีการชั่งน้ำหนักดอกเห็ดฟางที่เก็บผลผลิตได้ และตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อราแข่งขันบนวัสดุเพาะเห็ดฟาง เปรียบเทียบผลผลิตที่ได้ในแต่ละ treatment แล้วนำผลที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS (Statistics Package for the Social Sciences) version 11.5

8. การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมต่อสายพันธุ์ของเชื้อเห็ดฟางเพื่อนำไปใช้งานได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียจากการทดสอบการยับยั้งในท้องปฏิบัติการ โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ ไอโซเลทที่สามารถยับยั้งเชื้อราแข่งขันของเห็ด และเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ผลดี แต่สามารถยับยั้งเชื้อเห็ดฟางได้ มีจำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ BC02, BC03, BC05, MK07, BF02 และ BF04 ส่วนอีกกลุ่มมีจำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ MA02, MK02 และ MK05 เป็นกลุ่มที่ยับยั้งเชื้อราแข่งขันของเห็ด

เชื้อราสาเหตุโรคพืช และเชื้อเห็ดฟางได้น้อย มาเตรียมตามขั้นตอน วิธีการข้อ 7.1.4 คือเตรียมแบบ suspension นำไปทดสอบในโรงเรือนเพาะเห็ดฟางของเกษตรกร เพื่อคัดเลือกหาเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมผลผลิตเห็ดฟางแต่ละสายพันธุ์ได้อย่างเหมาะสม ที่ฟาร์มเพาะเห็ดฟางของเกษตรกร อำเภอภาชี จังหวัดพระนครศรีอยุธยา โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 4 ครั้ง โดยแสดงเชื้อแบคทีเรียทดสอบ สายพันธุ์เห็ดฟาง และช่วงเวลา ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงการทดลองคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมกับเชื้อเห็ดฟางแต่ละสายพันธุ์

ครั้งที่	ช่วงเวลา	โรงเรือนที่ 1		โรงเรือนที่ 2	
		เชื้อแบคทีเรีย	สายพันธุ์เห็ดฟาง	เชื้อแบคทีเรีย	สายพันธุ์เห็ดฟาง
1	15 มิ.ย.55-	BC05	อยุธยา	BC02	Vvol-009
	6 ก.ค. 55	MK02		BF04	
		MA02		MK05	
		Control (น้ำเปล่า)		Control (น้ำเปล่า)	
2	17 ก.ค.-	BC05	Vvol-009	BC05	Vvol-037
	4 ส.ค.55	BC03		BC03	
		BF02		BF02	
		Control (NB)		Control (NB)	
3	21 ส.ค.-	MK07	Vvol-045	MK07	Vvol-071
	4 ก.ย.55	7A/2(1)		7A/2(1)	
		Control (NB)		Control (NB)	
		Control (น้ำเปล่า)		Control (น้ำเปล่า)	
4	18 ก.ย.-	MK07	Vvol-024	MK07	Vvol-029
	3 ต.ค.55	7A/2(1)		7A/2(1)	
		Control (NB)		Control (NB)	
		Control (น้ำเปล่า)		Control (น้ำเปล่า)	

หมายเหตุ: เชื้อแบคทีเรียไอโซเลท 7A/2(1) เป็นเชื้อที่มีรายงาน (ไม่ได้ตีพิมพ์) การทดสอบในห้องปฏิบัติการมาก่อนแล้วว่า มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ดี แต่มีผลในการยับยั้งเชื้อเห็ดฟางได้น้อย ในการทดลองครั้งที่ 3 และ 4 จึงนำมาร่วมทดลองด้วย เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียไอโซเลทที่คัดแยกได้และให้ผลการยับยั้งดี สามารถยับยั้งเชื้อเห็ดฟางได้ดีเช่นกัน ส่วนที่ไม่ยับยั้งเชื้อเห็ดฟาง ก็จะไม่สามารถยับยั้งเชื้อราแข่งขันของเห็ดและเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้

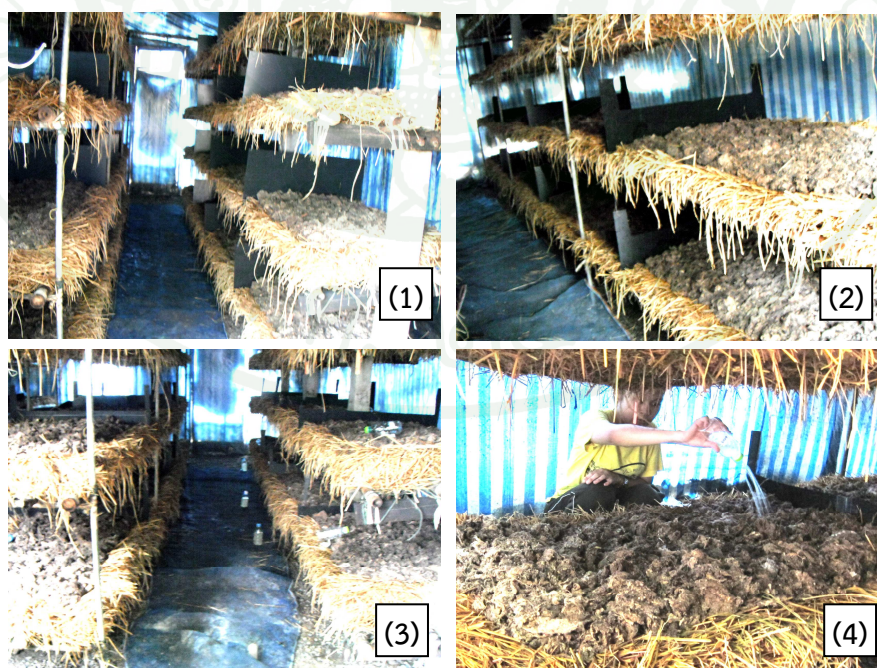
9. การทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD

แบ่งการทดลองออกเป็น 2 วิธี คือ

วิธีที่ 1 แบ่งพื้นที่เพาะเห็ดในแต่ละชั้นเพาะออกเป็น 4 ส่วนเท่าๆกัน

วิธีนี้ทำการทดลองระหว่างเดือนมีนาคม-เดือนมิถุนายน 2556 การทดลองนี้ได้วางแผนการทดลองเป็นแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD มีการนำเอาวัสดุมาแบ่งกันแต่ละชั้นเพาะ ให้การทดลองในแต่ละกรรมวิธีอยู่ในชั้นเพาะเดียวกันเพื่อให้สภาพแวดล้อมของการทดลองในทุกกรรมวิธีเหมือนกัน ซึ่งทำให้สามารถนำข้อมูลผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติและทำให้ผลการทดลองมีโอกาสผิดพลาดจากการทดลองน้อยลง

ส่วนขั้นตอนและวิธีการในการเตรียมเชื้อทดสอบยังทดสอบตามวิธีเดิมเหมือนเช่นการทดลองทั้ง 4 ครั้งที่ผ่านมาในข้อ 8 แต่แตกต่างกันที่มีการแบ่งพื้นที่ของชั้นเพาะในแต่ละแถวเพื่อให้สามารถนำการทดลองแต่ละวิธีการทดลอง มาทดสอบอยู่ในชั้นเดียวกัน ซึ่งใน 1 โรงเรือน มีจำนวน 3 แถว แต่ละแถวมีจำนวน 4 ชั้น และแต่ละชั้น มีพื้นที่ 4 ตารางเมตร ซึ่งจะแบ่งแต่ละชั้นออกเป็น 4 ส่วนเท่าๆกัน (ส่วนละ 1 ตารางเมตร ผิดพันเชื้อแบคทีเรีย ปริมาตร 250 มิลลิลิตร) โดยใช้วัสดุกันแต่ละส่วนไม่ให้ยู่ชิดกัน เพื่อป้องกันการปนเปื้อนระหว่างกันในแต่ละวิธีการทดลอง (ดังแสดงในภาพที่ 20) และที่แตกต่างอีกประการคือ ในแต่ละวิธีการทดลอง ทำการทดลอง จำนวน 4 ซ้ำ แบ่งการทดลองออกเป็น 4 ครั้ง ครั้งละ 2 โรงเรือน (ดังแสดงในตารางที่ 5)



ภาพที่ 20 การแบ่งพื้นที่เพาะเห็ดฟางออกเป็น 4 ส่วน โดยการใช้วัสดุกัน เพื่อป้องกันการปนเปื้อน

ภาพที่ 20 (ต่อ)

- (1) ลักษณะการใช้วัสดุกันแต่ละส่วนที่แบ่งทั้ง 4 ส่วน แยกจากกัน ในการทดลองครั้งที่ 1
- (2) ในการทดลองครั้งที่ 1 อากาศในโรงเรือนไม่ระบาย จึงแก้ไขโดยตัดวัสดุกันให้สั้นลง เพื่อช่วยระบายอากาศภายในโรงเรือน ในการทดลองครั้งที่ 2
- (3) ในการทดลองครั้งที่ 2 วัสดุกันยังสูงเกินไป ทำให้อากาศถ่ายเทไม่สะดวก จึงแก้ไขโดยตัดวัสดุกันให้สั้นลงอีก เพื่อช่วยระบายอากาศ ในการทดลองครั้งที่ 3 และ ครั้งที่ 4
- (4) การฉีดพ่นเชื้อลงบนวัสดุเพาะ จากภาชนะบรรจุปริมาตร 250 มิลลิลิตรต่อพื้นที่ 1 ตารางเมตร ในการทดลองทั้ง 4 ครั้ง

ตารางที่ 5 แสดงการทดลองวางแผนการทดลองเป็นแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD (การทดลองวิธีที่ 1)

ครั้งที่	ช่วงเวลา	โรงเรือนที่ 1		โรงเรือนที่ 2	
		เชื้อแบคทีเรีย	สายพันธุ์เห็ด	เชื้อแบคทีเรีย	สายพันธุ์เห็ด
1	6-24 มี.ค.56	BC02	อยุธยา	BC05	อยุธยา
		BC03		BF02	
		<i>B. subtilis</i> B2 ^a		<i>B. subtilis</i> พลายแก้ว ^b	
		Control (ไม่ฉีดพ่น)		Control (ไม่ฉีดพ่น)	
2	10-22 เม.ย.56	BC02	Vvol-009	BC05	Vvol-009
		BC03		BF02	
		<i>B. subtilis</i> B2 ^a		<i>B. subtilis</i> พลายแก้ว ^b	
		Control (ไม่ฉีดพ่น)		Control (ไม่ฉีดพ่น)	
3	29 พ.ค. - 19 มิ.ย.56	ทำการทดลองเช่นเดียวกับครั้งที่ 1 ทุกประการทั้ง 2 โรงเรือน			
4	10-22 เม.ย.56	BC02	อยุธยา	BC02	อยุธยา
		BC05		BC05	
		<i>B. subtilis</i> B2 ^a		<i>B. subtilis</i> B2 ^b	
		Control (ไม่ฉีดพ่น)		Control (ไม่ฉีดพ่น)	

หมายเหตุ: ^a *B. subtilis* B2 ได้มาจากการวิจัยของ Payapanon *et al.* (2011) ซึ่งมีรายงานว่าช่วยส่งเสริมผลผลิตเห็ดฟางได้ดี

^b *B. subtilis* พลายแก้ว คือ เชื้อแบคทีเรียทางการค้า ซึ่งใช้ในการช่วยยับยั้งเชื้อราแข่งขัน และเชื้อราก่อโรคในเห็ด

วิธีที่ 2 แบ่งพื้นที่เพาะเห็ดในแต่ละชั้นเพาะออกเป็น 2 ส่วนเท่าๆกัน

วิธีนี้ทำการทดลองระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2556-เดือนมีนาคม 2557 เนื่องจากพบปัญหาว่า ผลผลิตของการทดลองในช่วงแรกที่ผ่านมาทั้ง 4 ครั้ง ให้ผลผลิตที่ค่อนข้างต่ำในทุกวิธีการทดลอง การทดลองในช่วงนี้จึงได้ปรับเปลี่ยนวิธีการทดลองใหม่ เพื่อลดปัจจัยข้อสงสัยที่ว่าพื้นที่เพาะเห็ดที่น้อยไปอาจมีผลทำให้การเจริญของเส้นใยเห็ดเจริญได้ไม่เต็มที่ ในครั้งนี้จึงทำการแบ่งพื้นที่แต่ละชั้นเพาะ จากเดิมที่แบ่งออกเป็น 4 ส่วนเท่าๆกัน ลดพื้นที่การแบ่งลงเหลือเพียง 2 ส่วนเท่าๆกัน (ส่วนละ 2 ตารางเมตร ฉีดพ่นเชื้อแบคทีเรีย ปริมาตร 500 มิลลิลิตร) โดยใช้วัสดุกันแต่ละส่วนแยกออกจากกันให้กว้างขึ้นกว่าในวิธีที่ 1 เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการปนเปื้อนระหว่างกันในแต่ละวิธีทดลอง (ดังแสดงในภาพที่ 21) ส่วนวิธีการเตรียมตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียและเชื้อเห็ดฟางทดสอบเหมือนเดิมกับในช่วงแรกทุกประการ แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ครั้ง ครั้งละ 2 โรงเรือน (ดังแสดงในตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 แสดงการทดลองวางแผนการทดลองเป็นแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD (การทดลองวิธีที่ 2)

ครั้งที่	ช่วงเวลา	โรงเรือนที่ 1		โรงเรือนที่ 2	
		เชื้อแบคทีเรีย	สายพันธุ์เห็ด	เชื้อแบคทีเรีย	สายพันธุ์เห็ด
1 ^a	13-26 พ.ย.56	BC02	อยู่รยา	BC02	อยู่รยา
		BC03		BC03	
		BC05		BC05	
		BF02		BF02	
		Control (ไม่ฉีดพ่น)		Control (ไม่ฉีดพ่น)	
2 ^b	24 ธ.ค.56- 6 มกราคม 57	BC02	อยู่รยา	BC02	อยู่รยา
		BC05		BC05	
		Control (ไม่ฉีดพ่น)		Control (ไม่ฉีดพ่น)	
3 ^b	26 ก.พ. 57- 15 มีนาคม 57	BC05	อยู่รยา	BC05	อยู่รยา
		<i>B. subtilis</i> B2		<i>B. subtilis</i> B2	
		Control (ไม่ฉีดพ่น)		Control (ไม่ฉีดพ่น)	

หมายเหตุ: *B. subtilis* B2 ได้มาจากการวิจัยของ Payapanon *et al.* (2011) ซึ่งมีรายงานว่าช่วยส่งเสริมผลผลิตเห็ดฟางได้ผลดี

^a ทำการทดลองกรรมวิธีละ 4 ซ้ำ

^b ทำการทดลองกรรมวิธีละ 8 ซ้ำ



ภาพที่ 21 ลักษณะการแบ่งพื้นที่เพาะให้ตางทดสอบออกเป็น 2 ส่วนเท่าๆกัน (ส่วนละ 2 ตารางเมตร และการใช้วัสดุกันแบ่งแยกแต่ละส่วนออกจากกันอย่างชัดเจน เพื่อป้องกันการปนเปื้อนกันของแต่ละวิธีการทดลองบนชั้นเพาะเดียวกัน)

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. การแยกเชื้อแบคทีเรียจากวัสดุเพาะเห็ดฟาง

การแยกเชื้อแบคทีเรียจากวัสดุเพาะเห็ดฟางจากทั้ง 3 แหล่ง สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งหมด 38 ไอโซเลท ดังนี้

1.1 เชื้อที่แยกได้จากโรงเรือนทดลองภาควิชาจุลชีววิทยา 10 ไอโซเลท โดยแยกจากสภาพแวดล้อมภายในโรงเรือน 3 ไอโซเลท และจากวัสดุเพาะเห็ดฟาง 7 ไอโซเลท

1.2 เชื้อที่แยกได้จากฟาร์มผลิตเชื้อเห็ดฟางบางบัว-บัวขาว 22 ไอโซเลท โดยแยกจากสภาพแวดล้อมภายในโรงเรือน 12 ไอโซเลท และจากวัสดุเพาะเห็ดฟาง 10 ไอโซเลท

1.3 เชื้อที่แยกได้จากแปลงสาธิตการเพาะเห็ดฟางกองเดี่ยว 6 ไอโซเลท โดยแยกจากสภาพแวดล้อมภายในโรงเรือน 2 ไอโซเลท และจากวัสดุเพาะเห็ดฟาง 4 ไอโซเลท

2. การจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรีย

2.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้

เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้ มาทดสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยการย้อมสีแบบแกรม (Gram's stain) พบเซลล์ที่ติดสีแกรมบวก (Gram positive) มีลักษณะรูปร่างเป็นท่อน (rod shape) จัดเรียงตัวเป็นแบบเดี่ยว (singly) และต่อกันเป็นสายโซ่ (chains) สามารถสร้างเอนโดสปอร์ได้ จำนวน 22 ไอโซเลท (ดังแสดงในตารางที่ 7 และภาพที่ 22)

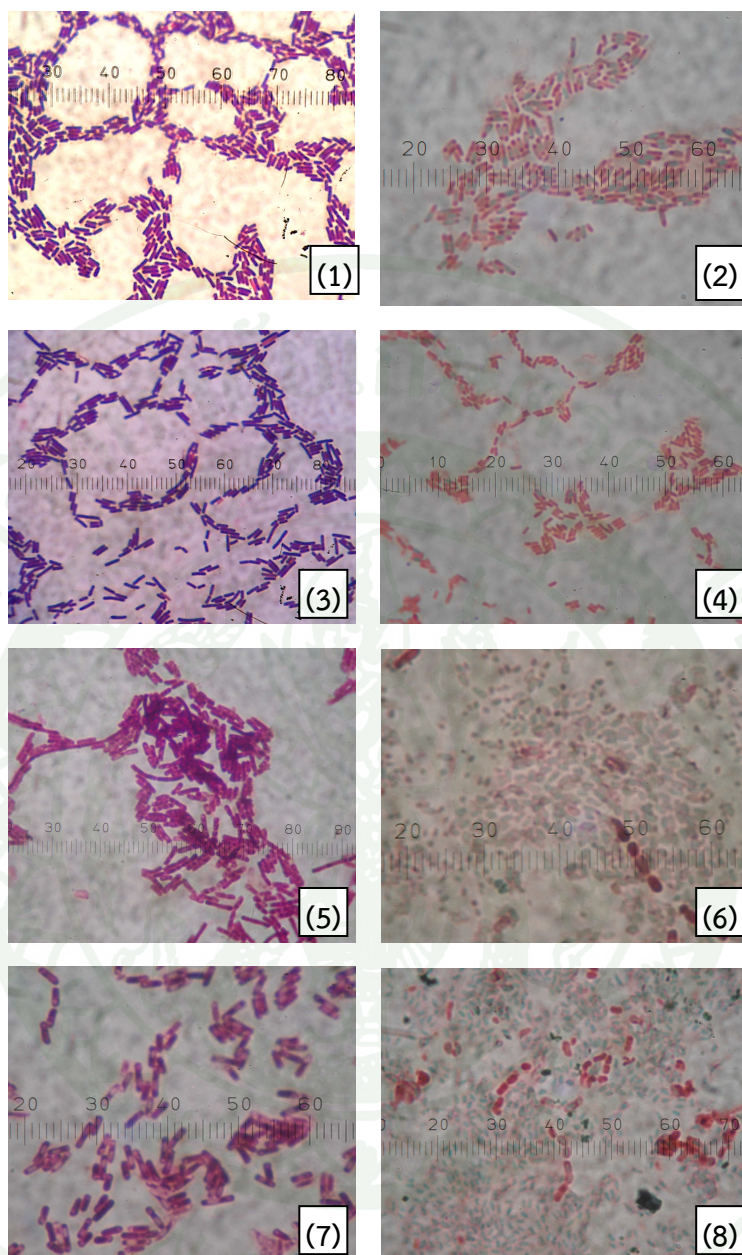
ตารางที่ 7 ตารางแสดงเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนโดสปอร์ จำนวน 22 ไอโซเลท ที่คัดแยกได้

ลำดับ	ไอโซเลท	แหล่งที่มา
1	BC01	วัสดุเพาะเห็ดฟาง ฟาร์มบางบัว-บัวขาวจุดที่ 1
2	BC02	วัสดุเพาะเห็ดฟาง ฟาร์มบางบัว-บัวขาวจุดที่ 1
3	BC03	วัสดุเพาะเห็ดฟาง ฟาร์มบางบัว-บัวขาวจุดที่ 2
4	BC04	วัสดุเพาะเห็ดฟาง ฟาร์มบางบัว-บัวขาวจุดที่ 2
5	BC05	วัสดุเพาะเห็ดฟาง ฟาร์มบางบัว-บัวขาวจุดที่ 2
6	BC06	วัสดุเพาะเห็ดฟาง ฟาร์มบางบัว-บัวขาวจุดที่ 3
7	BC07	วัสดุเพาะเห็ดฟาง ฟาร์มบางบัว-บัวขาวจุดที่ 3
8	BF01	สภาพแวดล้อมของกองปุ๋ยหมักวัสดุเพาะในการทำก้อนเชื้อเห็ดฟาง ฟาร์มบางบัว-บัวขาว

ตารางที่ 7 (ต่อ)

ลำดับ	ไอโซเลท	แหล่งที่มา
9	BF02	สภาพแวดล้อมของกองปุ๋ยหมักวัสดุเพาะก้อนเชื้อเห็ดฟาง (ที่มีการหมักปุ๋ยผ่านมาแล้วเป็นเวลา 3 วัน) ฟาร์มบางบัว-บัวขาว
10	BF03	สภาพแวดล้อมของกองปุ๋ยหมักวัสดุเพาะก้อนเชื้อเห็ดฟาง (ที่มีการหมักปุ๋ยผ่านมาแล้วเป็นเวลา 5 วัน) ฟาร์มบางบัว-บัวขาว
11	BF06	สภาพแวดล้อมแปลงเพาะเห็ดฟางกองเดี่ยวฟาร์มบางบัว-บัวขาวจุดที่ 1
12	BF07	สภาพแวดล้อมแปลงเพาะเห็ดฟางกองเดี่ยวฟาร์มบางบัว-บัวขาวจุดที่ 1
13	BF10	สภาพแวดล้อมของกองปุ๋ยหมักวัสดุเพาะก้อนเชื้อเห็ดฟาง (ที่มีการหมักปุ๋ยผ่านมาแล้วเป็นเวลา 30 วัน)ฟาร์มบางบัว-บัวขาว
14	MA01	สภาพแวดล้อมภายในบริเวณโรงเรือนทดลองภาควิชาจุลชีววิทยา จุดที่ 1
15	MA02	สภาพแวดล้อมภายในบริเวณโรงเรือนทดลองภาควิชาจุลชีววิทยา จุดที่ 2
16	MK01	วัสดุเพาะเห็ดฟาง โรงเรือนทดลองตะกร้าที่ 1
17	MK02	วัสดุเพาะเห็ดฟาง โรงเรือนทดลองตะกร้าที่ 2 จุดที่ 1
28	MK05	วัสดุเพาะเห็ดฟาง โรงเรือนทดลองตะกร้าที่ 3
29	MK07	วัสดุเพาะเห็ดฟาง โรงเรือนทดลองตะกร้าที่ 5
20	MT01	สภาพแวดล้อมแปลงสาธิตการเพาะเห็ดฟางกองเดี่ยว
21	MTC04	วัสดุเพาะเห็ดฟาง แปลงสาธิตการเพาะเห็ดฟางกองเดี่ยว
22	MTC05	วัสดุเพาะเห็ดฟาง แปลงสาธิตการเพาะเห็ดฟางกองเดี่ยว

หมายเหตุ: BC คือ เชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกจากวัสดุเพาะเห็ดฟาง ฟาร์มเพาะเห็ดฟางบางบัว-บัวขาว
 BF คือ เชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกจากสภาพแวดล้อมของกองปุ๋ยหมักและการเพาะเห็ดฟางกองเดี่ยว
 MA คือ เชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกจากสภาพแวดล้อม ในโรงเรือนทดลองภาควิชาจุลชีววิทยา
 MK คือ เชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกจากวัสดุเพาะเห็ดฟาง จากการเพาะเห็ดฟางในตะกร้าในโรงเรือนทดลอง ภาควิชาจุลชีววิทยา
 MT คือ เชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกจากสภาพแวดล้อม แปลงสาธิตการเพาะเห็ดฟางกองเดี่ยว
 MTC คือ เชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกจากวัสดุเพาะเห็ดฟางกองเดี่ยว แปลงสาธิตการเพาะเห็ดฟางกองเดี่ยว



ภาพที่ 22 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการสร้างสปอร์ของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้

- (1)-(2) BC05 เซลล์มีรูปร่างเป็นท่อน ติดสีแกรมบวก (สีม่วง) สร้างสปอร์ภายในเซลล์ สปอร์ย้อมติดสีเขียว
- (3)-(4) BC02 เซลล์มีรูปร่างเป็นท่อน ติดสีแกรมบวก (สีม่วง) สร้างสปอร์ภายในเซลล์ สปอร์ย้อมติดสีเขียว
- (5)-(6) MK02 รูปร่างเป็นท่อน ติดสีแกรมบวก (สีม่วง) สร้างสปอร์และเม็ดเกล็ดภายในเซลล์ สปอร์ย้อมติดสีเขียว
- (7)-(8) MK05 รูปร่างเป็นท่อน ย้อมติดสีแกรมบวก (สีม่วง) สร้างสปอร์ภายในเซลล์ และเม็ดเกล็ด สปอร์ย้อมติดสีเขียว

2.2 ผลการจำแนกชนิดแบคทีเรียโดยวิธีดั้งเดิม (Conventional method) ดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 แสดงผลการจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียโดยวิธีดั้งเดิม (Conventional method)

การทดสอบ	แบคทีเรียทดสอบ										
	BC01	BC02	B03	BC05	BC06	BF02	BF04	MK07	MA02	MK02	MK05
Bacillus group	IB	IB	IB	IB	IB	IB	IB	IB	IA	IA	IA
Aerobe	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Facul. Anaerobe	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Oxidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
VP test	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
pH in 7days VP	5.8	6	6	6.1	6.1	6	5.9	6	4.8	5.2	4.9
Nitrate reduction	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Growth in											
NB pH 5.7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NB+NaCl 5%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NB+NaCl 7%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NB+NaCl 10%	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-
Acid from											
D-glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-arabinose	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-
D-xylose	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-
D-mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Lactose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Utilization of											
Citrate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Propionate	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Enzyme production											
Amylase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Caseinase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gelatinase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Urease	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Esculinase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Phenylalanine deaminase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lecithinase	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Lipase (Tween 80 agar)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
(Tween 40 agar)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
(Tween 20 agar)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

แบคทีเรียที่นำมาจำแนกชนิด จำนวน 11 ไอโซเลท เป็นไอโซเลทที่สามารถยับยั้งเชื้อราแข่งขันของเห็ดและเชื้อราสาเหตุโรคพืชในห้องปฏิบัติการที่ได้ผลดีมี จำนวน 8 ไอโซเลท ได้แก่ BC01, BC02, BC03, BC05, BC06, BF02, BF04 และ MK07 ส่วนอีก 3 ไอโซเลท คือ MA02, MK02 และ MK05 เป็นไอโซเลทที่ยับยั้งเชื้อราแข่งขันของเห็ด และเชื้อราสาเหตุโรคพืช รวมทั้งเชื้อเห็ดฟางได้น้อย

เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียทั้ง 11 ไอโซเลทมาจำแนกชนิด สามารถจัดเข้าในสกุล *Bacillus* ตามเกณฑ์เดิมของ Claus and Berkley (1986) และ Gordon (1989) เนื่องจากมีรูปร่างเป็นท่อน สร้างสปอร์เป็น aerobe หรือ facultative anaerobe สามารถสร้างเอนไซม์อะไมเลสได้ ซึ่งจากคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยาพบว่าแบคทีเรียในกลุ่มนี้มีความแตกต่างในเรื่องของขนาดความกว้างของเซลล์ จึงสามารถจัดได้เป็น 2 กลุ่มคือกลุ่ม IA ได้แก่ ไอโซเลท MA02, MK02 และ MK05 แบคทีเรียกลุ่มนี้มีขนาดความกว้างของเซลล์ มากกว่า $1\ \mu\text{m}$ และมีแกรนูลในเซลล์ มีสปอร์เป็นรูปร่างรีหรือทรงกระบอกที่ไม่ทำให้เซลล์โป่งออก กลุ่ม IB ได้แก่ ไอโซเลท BC01, BC02, BC03, BC05, BC06, BF02, BF04 และ MK07 แบคทีเรียกลุ่มนี้มีขนาดความกว้างของเซลล์น้อยกว่า $1\ \mu\text{m}$ มีสปอร์เป็นรูปร่างรีหรือทรงกระบอก ที่ไม่ทำให้เซลล์โป่งออก

เมื่อนำผลทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีและสรีรวิทยาของแบคทีเรียในกลุ่ม IA 3 ไอโซเลท ดังกล่าว (ผลได้แสดงไว้ในตารางที่ 8) ไปเปรียบเทียบกับข้อมูลตามเกณฑ์ของ Claus and Berkley (1986) และ Logan and De Vos (2009) พบว่าสามารถจำแนกชนิดว่าเป็น *Bacillus thuringiensis* เนื่องจากอยู่ในกลุ่ม IA ที่เป็น facultative anaerobe สร้าง crystal protein ใน cytoplasm ให้ผลบวกกับการทดสอบ VP, nitrate reduction เจริญได้ใน nutrient broth pH 5.7 nutrient broth (NB) ที่ผสมเกลือ NaCl 5% และ 7% แต่ไม่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient broth (NB) ที่ผสมเกลือ NaCl 10% สามารถสร้างเอนไซม์ catalase, amylase, caseinase, gelatinase, lipase, (จาก Tween 20, Tween 40 และ Tween 80) lecithinase และ esculinase จะไม่สร้างเอนไซม์ phenylalanine deaminase, urease สร้างกรดจาก D-glucose แต่ไม่สร้างกรดจาก L-arabinos, D-xylose, D-mannitol และ lactose สามารถใช้ citrate และ propionate เป็นแหล่งคาร์บอนได้ ซึ่งกรณีของ MA02 ให้ผลลบกับ VP test รวมทั้งการใช้ propionate เป็นแหล่งคาร์บอนได้ Logan and De Vos (2009) ได้เคยมีรายงานแล้ว (โดยปกติแล้ว *Bacillus thuringiensis* ควรให้ผล VP เป็นบวก และไม่สามารถใช้ propionate เป็นแหล่งคาร์บอน)

เมื่อนำผลทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีและสรีรวิทยาของแบคทีเรียในกลุ่ม IB ทั้ง 8 ไอโซเลท มาเปรียบเทียบกับข้อมูลจาก Claus and Berkley (1986) พบว่า เชื้อแบคทีเรียเหล่านี้มีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับ *B. subtilis* เนื่องจากเป็น *Bacillus* ในกลุ่ม IB ที่ให้ผลบวกกับเกือบทุกคุณสมบัติที่ทำการทดสอบดังข้อมูลที่ได้แสดงในตารางที่ 8 การทดสอบที่ให้ผลลบ คือ การสร้างเอนไซม์ oxidase, phenylalanine deaminase, utilization of citrate การทดสอบที่ให้ผลแตกต่างกันในกลุ่มคือมีทั้งบวกและลบได้แก่ การเจริญในอาหาร NB ที่มีเกลือ NaCl 10% การสร้างเอนไซม์ lipase และการสร้างเอนไซม์ urease ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลเกี่ยวกับเชื้อ *B. subtilis* ที่ Logan and De Vos (2009) ได้เคยมีรายงานไว้ว่า *B. subtilis* ให้ผลการทดสอบ urease เป็นลบ ทำให้การระบุชนิดของ

แบคทีเรียทดสอบทั้ง 8 ไอโซเลตยังไม่ชัดเจนพอ

จากที่ได้กล่าวมาแล้วว่าผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ urease ของเชื้อแบคทีเรียที่นำมาทดสอบครั้งนี้ให้ผลการทดสอบเป็นบวก ซึ่งแตกต่างจากข้อมูลที่เคย Logan and De Vos (2009) ได้มีรายงานไว้ ประกอบกับการมีสปีชีส์ใหม่ๆ ที่ใกล้ชิดกับเชื้อ *B. subtilis* เกิดขึ้นในช่วงหลังอีกหลายสปีชีส์ เช่น *B. amyloliquefaciens*, *B. mojavensis*, *B. atrophaeus* และ *B. vallismortis* เป็นต้น ทำให้สามารถระบุในตอนนี้ได้เพียงว่า เชื้อแบคทีเรียไอโซเลตที่นำมาทดสอบครั้งนี้มีความใกล้เคียงกับเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ *B. subtilis* แต่แตกต่างกันในคุณสมบัติที่สามารถสร้างเอนไซม์ urease ได้

2.3 การจำแนกเชื้อแบคทีเรียด้วยชุดทดสอบ Biolog GEN III Microplate

การทดสอบเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต BC02, BC05 และ BF02 พบว่าแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลต ดังกล่าวสามารถระบุชนิดว่าเป็น *B. subtilis* ตามข้อมูลจากตารางที่ 9

ตารางที่ 9 แสดงผลการจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียด้วยชุดทดสอบ Biolog GEN III Microplate

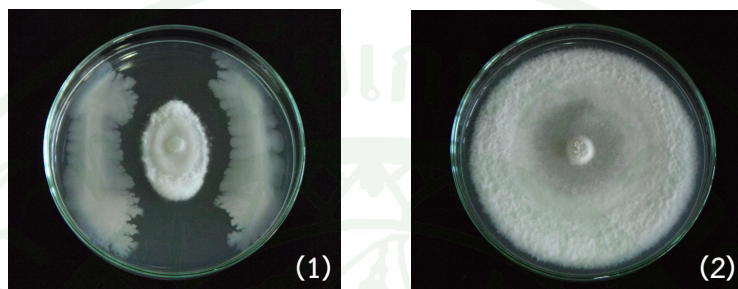
ลำดับที่	ชื่อไอโซเลต	ค่าความเหมือน	ชื่อเชื้อ
1	BC02	0.592	<i>Bacillus subtilis</i>
2	BC05	0.793	<i>Bacillus subtilis</i>
3	BF02	0.838	<i>Bacillus subtilis</i>

หมายเหตุ: ค่าความเหมือน หมายถึงค่าที่แสดงถึงความเหมือนกับเชื้อแบคทีเรียอ้างอิง ซึ่งค่าที่วัดได้ควรเข้าใกล้ 1.0 มากที่สุด

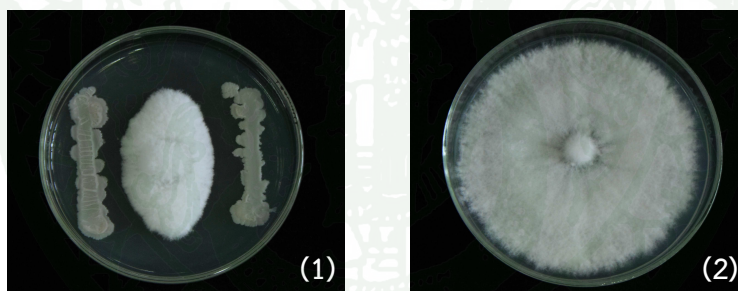
3. การตรวจสอบความสามารถของแบคทีเรียในการยับยั้งการเจริญของราแข่งขันของเห็ดฟางและราสาเหตุโรคพืชจำนวน 23 สายพันธุ์ เชื้อเห็ดฟาง 13 สายพันธุ์ ด้วยวิธี dual culture

ผลการตรวจสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในการยับยั้งเชื้อราแข่งขันของเห็ดฟางและเชื้อราสาเหตุโรคพืชในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี Dual culture บนอาหาร potato dextrose agar (PDA) เมื่อนำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การถูกยับยั้ง พบเชื้อแบคทีเรียไอโซเลตที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งดีจำนวน 8 ไอโซเลต ได้แก่ BC01, BC02, BC03, BC05, BC06, BF02, BF04 และ MK07 ไอโซเลต ที่สามารถยับยั้งเชื้อราแข่งขันและเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ดีที่สุดและสามารถยับยั้งเชื้อราทดสอบได้ทุกสายพันธุ์ คือ BC05 รองลงมา คือ BC02 ราสาเหตุโรคพืชได้ แต่เมื่อนำไปทดสอบการยับยั้งเส้นใยของเชื้อเห็ดฟาง พบว่าเชื้อแบคทีเรียนี้สามารถยับยั้งเชื้อเห็ดฟางได้เช่นเดียวกัน

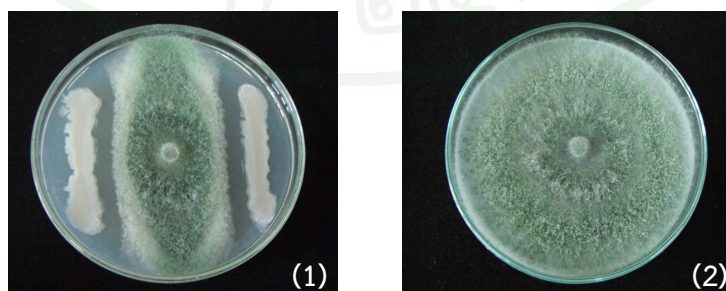
ในงานวิจัยนี้ได้นำเชื้อ *B. subtilis* B2 จากงานวิจัยของ Payapanon *et al.* (2011) ที่เคยมีรายงานว่าช่วยเพิ่มผลผลิตเห็ดฟางได้ มาทดสอบการยับยั้งกับเชื้อเห็ดฟางทั้ง 13 สายพันธุ์ (แต่ไม่ได้ทดสอบกับเชื้อราแข่งขันของเห็ดและเชื้อราสาเหตุโรคพืช) พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อเห็ดฟางได้เช่นเดียวกัน (ดังแสดงผลในตารางที่ 10) และจากงานวิจัยของ Payapanon *et al.* (2011) ก็เคยมีรายงานว่า เชื้อ *B. subtilis* B2 ยับยั้งเส้นใยของเชื้อเห็ดฟางได้ ลักษณะการถูกยับยั้งของเส้นใยของเชื้อแข่งขันโดยเชื้อแบคทีเรีย ดังภาพที่ 23-27 และเปอร์เซ็นต์การถูกยับยั้ง แสดงไว้ในตารางที่ 10-11



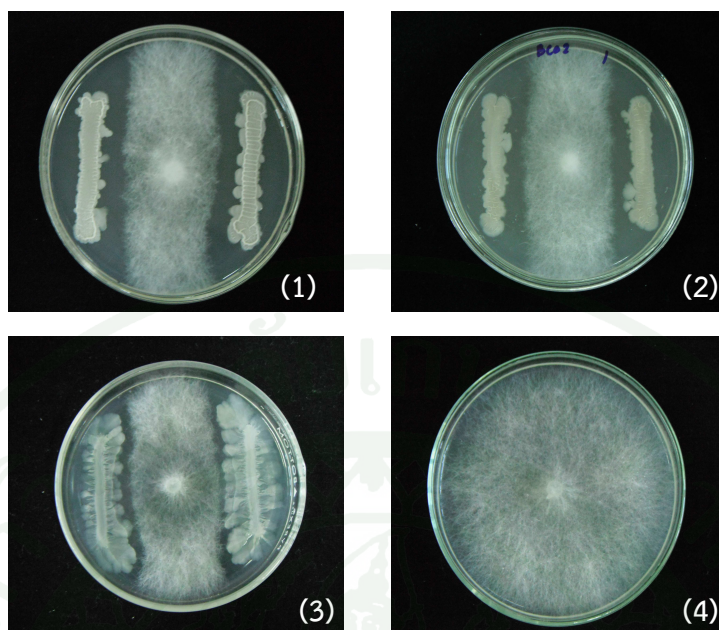
ภาพที่ 23 การถูกยับยั้งเส้นใยของเชื้อเห็ด *Coprinus* sp. cin-037 โดยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท (1) BC02 เปรียบเทียบกับ (2) control ที่ไม่มีการฉีดเชื้อแบคทีเรีย อายุทดสอบ 10 วัน



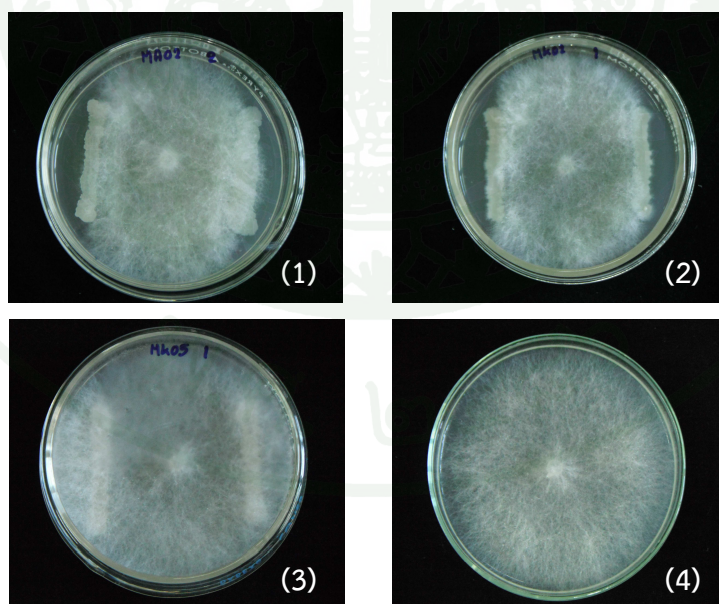
ภาพที่ 24 การถูกยับยั้งเส้นใยของเชื้อเห็ดถั่วอกหัวโต (*Bolbitius fissus*) โดยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท (1) BC05 เปรียบเทียบกับ (2) control ที่ไม่มีการฉีดเชื้อแบคทีเรีย อายุทดสอบ 3 วัน



ภาพที่ 25 การถูกยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *Gliocladium* sp. T2 โดยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท (1) BC05 เปรียบเทียบกับ (2) control ที่ไม่มีการฉีดเชื้อแบคทีเรีย อายุทดสอบ 4 วัน



ภาพที่ 26 การถูกยับยั้งเส้นใยของเชื้อเห็ดฟางสายพันธุ์ยูธยา โดยแบคทีเรียไอโซเลท
(1) BC05 (2) BC02 และ (3) *B. subtilis* B2 เปรียบเทียบกับ (4) control ที่ไม่มีการขีด
เชื้อแบคทีเรีย อายุทดสอบ 4 วัน



ภาพที่ 27 การถูกยับยั้งเส้นใยของเชื้อเห็ดฟางสายพันธุ์ยูธยา โดยแบคทีเรียไอโซเลท
(1) MA02 (2) MK02 และ (3) MK05 เปรียบเทียบกับ (4) control ที่ไม่มีรอยขีดของการ
ขีดเชื้อแบคทีเรีย อายุทดสอบ 4 วัน

จากภาพที่ 23-27 พบว่า เชื้อแบคทีเรียไอโซเลทที่ให้ผลการยับยั้งเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช และเชื้อราแข่งขันของเห็ดได้ผลดี แต่อย่างไรก็ตามยังสามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อเห็ดฟางได้มากตามไปด้วย ส่วนไอโซเลทที่ยับยั้งเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืช และเชื้อราแข่งขันของเห็ดได้น้อย ก็ยับยั้งเส้นใยของเชื้อเห็ดฟางได้น้อยเช่นกัน



ตารางที่ 10 แสดงเปอร์เซ็นต์การถูกยับยั้งของเชื้อราในห้องปฏิบัติการโดยเชื้อแบคทีเรียทดสอบ

ลำดับ	เชื้อรา ทดสอบ	อายุ (วัน)	เปอร์เซ็นต์การถูกยับยั้งโดยเชื้อแบคทีเรีย (%)																					
			BC01	BC02	BC03	BC05	BC06	BC07	BF01	BF02	BF03	BF04	BF06	BF07	BF10	MA01	MA02	MK01	MK02	MK05	MK07	MT01	MTC0	MTC0
1	<i>Alternaria brassicola</i>	13	57	70	72	74	63	0	0	65	0	66	0	0	0	0	0	0	0	68	0	0	0	
2	<i>Aspergillus niger</i>	10	0	45	0	55	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3	<i>Bolbitius fissus</i>	4	64	61	63	63	62	0	0	62	0	60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
4	<i>Coprinus sp.</i>	4	51	52	53	58	50	1	0	48	0	47	1	1	1	1	1	1	0	24	0	0	0	
5	<i>Coprinus sp. cin-003</i>	8	51	58	54	59	55	39	38	35	0	54	38	0	29	0	36	20	42	0	51	0	41	38
6	<i>Coprinus sp. cin-004</i>	9	50	50	35	39	52	51	46	55	0	51	48	51	40	23	0	52	40	0	0	0	34	46
7	<i>Coprinus sp. cin-006</i>	8	43	47	50	50	50	44	32	43	0	37	35	0	34	33	30	42	37	0	48	4	33	34
8	<i>Coprinus sp. cin-009</i>	8	55	53	56	55	56	47	38	57	43	57	39	43	41	36	35	46	18	0	56	0	47	43
9	<i>Coprinus sp. cin-011</i>	9	50	59	55	59	56	33	0	48	0	43	0	0	0	0	0	14	0	50	13	0	0	
10	<i>Coprinus sp. cin-016</i>	8	54	57	53	53	49	44	33	54	0	43	34	0	25	0	33	37	23	0	51	36	32	37
11	<i>Coprinus sp. cin-026</i>	8	73	76	65	70	59	59	70	74	0	61	50	64	63	41	31	37	40	0	27	37	48	39
12	<i>Coprinus sp. cin-031</i>	12	63	68	72	72	66	39	37	69	0	79	38	0	26	0	60	0	59	60	66	62	43	25

ตารางที่ 10 (ต่อ)

ลำดับ	เชื้อรา	ทดสอบ	อายุ(วัน)	เปอร์เซ็นต์การถูกยับยั้งโดยเชื้อแบคทีเรีย (%)																					
				BC01	BC02	BC03	BC05	BC06	BC07	BF01	BF02	BF03	BF04	BF06	BF07	BF10	MA01	MA02	MK01	MK02	MK05	MK07	MT01	MTC0	MTC0
13	<i>Coprinus sp.</i>	cin-037	10	67	66	67	65	70	19	19	66	0	59	21	0	0	0	24	0	41	0	67	38	14	25
14	<i>Coprinus sp.</i>	cin-057	8	38	44	33	49	33	22	0	29	0	29	21	0	0	0	0	23	22	0	0	0	31	0
	<i>Curvularia lunata</i>																								
15	<i>TISTR 3282</i>		6	24	63	63	62	59	0	24	61	0	27	26	0	24	24	34	24	27	24	62	24	24	24
16	<i>Gliocladium sp.</i>	T2	4	30	51	41	56	44	0	0	43	0	28	0	0	0	0	0	0	0	43	0	0	0	
17	<i>Monilia sp.</i>		1	0	0	0	45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
18	<i>Fusarium sp.</i>		7	42	45	47	55	46	0	0	49	0	31	0	46	0	0	0	30	29	22	49	0	16	44
19	<i>Fusarium oxysporum</i>		8	33	33	33	44	41	29	29	44	0	33	29	0	29	0	0	29	29	29	33	0	29	29
20	<i>Rhizoctonia solani</i>		2	37	40	44	46	37	13	21	37	16	39	13	20	18	12	35	25	35	10	38	21	14	22
21	<i>Pythium sp.</i>		2	0	0	39	34	0	0	0	41	0	43	0	0	0	0	0	0	0	42	0	0	0	
22	<i>Sclerotium rolfsii</i>		3	49	53	50	53	51	0	0	54	0	50	0	49	0	0	0	0	0	51	0	0	0	
	<i>Trichoderma</i>																								
23	<i>harzianum</i>		3	33	41	31	45	35	4	8	34	8	34	5	21	9	11	18	13	19	5	34	12	4	9

ตารางที่ 11 แสดงเปอร์เซ็นต์การถูกยับยั้งของเชื้อเห็ดฟางในห้องปฏิบัติโดยเชื้อแบคทีเรียทดสอบและเชื้อ *B. subtilis* B2

ลำดับ	สายพันธุ์เห็ดฟาง	อายุ (วัน)	เปอร์เซ็นต์การถูกยับยั้งโดยเชื้อแบคทีเรีย (%)																						
			BC01	BC02	BC03	BC05	BC06	BC07	BF01	BF02	BF03	BF04	BF06	BF07	BF10	MA01	MA02	MK01	MK02	MK05	MK07	MT01	MTC0	MTC0	B2
1	Vvol-002	11	66	59	74	64	70	0	44	64	0	58	0	0	0	0	44	40	49	0	69	61	0	0	59
2	Vvol-006	5	48	60	52	62	61	19	0	58	0	48	23	0	0	0	16	24	32	0	58	0	0	22	57
3	Vvol-007	6	59	62	70	62	50	43	43	76	0	69	42	0	0	35	40	0	56	0	60	0	0	0	59
4	Vvol-009	5	50	55	56	62	53	0	0	54	0	43	0	0	0	0	0	0	32	0	54	0	0	0	50
5	Vvol-010	9	62	57	61	65	53	0	0	66	0	52	0	0	0	0	0	0	53	54	77	0	0	0	58
6	Vvol-019	6	44	59	60	58	63	0	0	59	0	29	0	0	0	0	25	15	40	0	64	0	0	0	57
7	Vvol-024	6	41	52	52	61	47	0	0	45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	45	0	0	0	51
8	Vvol-029	6	46	62	61	63	63	0	0	60	0	46	0	0	0	0	32	40	43	0	61	0	0	0	61
9	Vvol-037	5	33	53	49	60	46	0	0	46	0	35	0	0	0	0	0	0	27	0	52	0	0	0	54
10	Vvol-045	6	41	53	49	60	51	0	0	47	0	0	0	0	0	0	0	0	36	0	47	0	0	0	50
11	Vvol-058	14	61	64	61	67	62	0	0	62	0	49	0	0	0	0	0	0	53	57	69	0	0	0	61
12	Vvol-071	6	41	51	51	58	50	0	0	54	0	27	0	0	0	0	0	37	28	0	53	0	0	0	53
13	สายพันธุ์ยูธยา	4	51	58	57	58	52	0	0	58	0	44	0	0	0	0	13	0	36	0	54	5	0	0	56

4. การหาสถานะที่เหมาะสมในการนำเชื้อแบคทีเรียไปใช้ในการส่งเสริมผลผลิตของเห็ดฟางในฟาร์มเพาะเห็ดฟางของเกษตรกร

4.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียทดสอบ *B. subtilis* B2

การตรวจนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียในแต่ละวิธีที่ใช้ในการทดลอง โดยวิธี spread plate บนอาหาร nutrient agar บ่มไว้เป็นเวลา 1 วัน นำมาตรวจนับจำนวนให้ผลดังแสดงในตารางที่ 12

ตารางที่ 12 จำนวนแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง โดยวิธี spread plate บนอาหาร nutrient agar

ลำดับ	เชื้อแบคทีเรีย	จำนวนเชื้อแบคทีเรีย (cfu/ml)	
		การทดลองครั้งที่ 1	การทดลองครั้งที่ 2
1	เชื้อตั้งต้น (1 loop ใน NB 100 ml)	4.65×10^7	5.35×10^7
2	Suspension (10 ml ใน NB 200ml) (กรรมวิธีที่ 4)	4.0×10^7	3.65×10^7
3	Supernatant (กรรมวิธีที่ 2)	4.70×10^4	5.4×10^4
4	Pellet (กรรมวิธีที่ 3)	7.9×10^7	8.3×10^7

4.2 การฉีดพ่นเชื้อแบคทีเรียทดสอบในฟาร์มเพาะเห็ดฟางของเกษตรกร

4.2.1 การทดลองครั้งที่ 1 (ระหว่างวันที่ 9-25 กันยายน 54)

เก็บผลผลิตของดอกเห็ดฟางที่ได้นำมาชั่งน้ำหนักและบันทึกผล นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS (Statistics Package for the Social Sciences) version 11.5 เพื่อเปรียบเทียบผลผลิตจากแต่ละกรรมวิธี (ดังแสดงผลในตารางที่ 13)

ตารางที่ 13 แสดงผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์อยุธยา กับเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* B2 เพื่อหาสถานะที่เหมาะสมในการนำแบคทีเรียไปใช้ช่วยส่งเสริมผลผลิตของเห็ดฟาง ครั้งที่ 1

วิธีทดสอบ	น้ำหนักของเห็ดฟาง (กก./ตร.ม.)		สายพันธุ์เห็ดฟาง	เวลาเก็บผลผลิต
	โรงเรือนที่ 1	โรงเรือนที่ 2		
Nutrient broth				
(NB) (control)	2.33 ^a	2.08 ^a		
Supernatant	2.38 ^a	2.14 ^a	อยุธยา	7 วัน
Pellet	2.24 ^a	2.03 ^a		
Suspension	2.18 ^a	2.21 ^a		
CV. (%)	2.89	2.12		

ตารางที่ 13 (ต่อ)

หมายเหตุ:^a คือ ค่าการจัดกลุ่ม จากการวิเคราะห์ทางสถิติ สามารถจัดกลุ่มได้กลุ่มเดียว หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)
CV. (%) คือ ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรผันของข้อมูล (Coefficient Variation)

จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติในตารางที่ 13 พบว่าผลผลิตที่ได้จากแต่ละกรรมวิธีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทำให้ยังไม่สามารถคัดเลือกวิธีการที่เหมาะสมในการนำเชื้อแบคทีเรียไปใช้เพาะเห็ดฟางได้ จึงได้ทำการทดลองซ้ำใหม่อีกครั้งเป็นครั้งที่ 2

4.2.1 การทดลองครั้งที่ 2 (ระหว่างวันที่ 19 กุมภาพันธ์-13 มีนาคม 55)

จากผลการทดลองในครั้งที่ 2 พบว่าผลผลิตของดอกเห็ดฟางที่ได้แต่ละกรรมวิธีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และพบว่าการฉีดพ่นด้วยสารละลายเชื้อแบคทีเรียทดสอบ (suspension) ให้ผลผลิตของดอกเห็ดฟางมากกว่าการฉีดพ่นด้วยกรรมวิธีอื่น ซึ่งให้ผลสอดคล้องกันทั้ง 2 โรงเรือน คือ 3.64 และ 4.63 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบผลผลิตกับกรรมวิธีควบคุม (control) ทั้ง 2 กรรมวิธี คือ กรรมวิธีที่ 1 การฉีดพ่นด้วย nutrient broth (NB) และกรรมวิธีที่ 5 ไม่มีการฉีดพ่น (กรรมวิธีที่ 5 แยกทดลองเป็น 1 โรงเรือน) พบว่าผลผลิตที่ได้จากกรรมวิธีควบคุม ให้ผลผลิตน้อยกว่าการฉีดพ่นด้วยสารละลายเชื้อแบคทีเรียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ดังแสดงในตารางที่ 14)

ตารางที่ 14 แสดงผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์ยูธูรากับเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* B2 เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการนำแบคทีเรียไปใช้ช่วยส่งเสริมผลผลิตของเห็ดฟาง ครั้งที่ 2

วิธีทดสอบ	น้ำหนักของเห็ดฟาง (กก./ตร.ม.)		สายพันธุ์เห็ดฟาง	เวลาเก็บผลผลิต
	โรงเรือนที่ 1	โรงเรือนที่ 2		
Nutrient broth (NB) (control)	2.40 ^a	3.26 ^b		
Supernatant	3.52 ^b	3.95 ^{bc}	ยูธูรา	12 วัน
Pellet	3.50 ^b	4.57 ^c		
Suspension	3.64 ^b	4.63 ^c		
CV. (%)	14.06	17.24		

หมายเหตุ:^{a,b,c} คือ ค่าการจัดกลุ่มทางสถิติตามวิธีของ Duncan หมายถึง สามารถจัดกลุ่มได้ 3 กลุ่ม คือ a, b และ c เนื่องจากมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)
CV. (%) คือ ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรผันของข้อมูล (Coefficient Variation)

ลักษณะการเจริญของดอกเห็ดฟางสายพันธุ์ยูธยา บนวัสดุเพาะจากการทดลองในแต่ละกรรมวิธีที่ใช้ในการทดลองครั้งที่ 2 ดังแสดงในภาพที่ 28-30



ภาพที่ 28 (ชั้นบน) ลักษณะดอกเห็ดฟางจากการทดลองกรรมวิธีที่ 1 (NB (control))
และ (ชั้นล่าง) ลักษณะดอกเห็ดฟางจากการทดลองกรรมวิธีที่ 2 (supernatant)



ภาพที่ 29 (ชั้นบน) ลักษณะดอกเห็ดฟางจากการทดลองกรรมวิธีที่ 3 (pellet)
และ (ชั้นล่าง) ลักษณะดอกเห็ดฟางจากการทดลองกรรมวิธีที่ 4 (suspension)



ภาพที่ 30 ดอกเห็ดฟางเจริญบนวัสดุเพาะจากการทดลองกรรมวิธีที่ 5 ไม่มีการฉีดพ่น (control)

5. การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมต่อสายพันธุ์ของเชื้อเห็ดฟางเพื่อการนำไปใช้งานได้อย่างมีประสิทธิภาพ

5.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียทดสอบ

การตรวจนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียแต่ละวิธีที่ใช้ในการทดลอง โดยวิธี spread plate บนอาหาร nutrient agar บ่มไว้เป็นเวลา 1 วัน นำมาตรวจนับจำนวนให้ผลดังแสดงในตารางที่ 15

ตารางที่ 15 แสดงการตรวจนับจำนวนของเชื้อแบคทีเรียทดสอบตั้งต้นที่ใช้ในการทดลอง

ครั้งที่	เชื้อแบคทีเรีย	เชื้อแบคทีเรีย (10 ml ในอาหาร NB 200 ml (cfu/ml))	เชื้อแบคทีเรีย ตั้งต้น (1 loop ในอาหาร NB 100 ml (cfu/ml))
1	BC05	6.60×10^7	5.55×10^7
	BC02	6.65×10^7	5.20×10^7
	BF04	4.45×10^7	4.35×10^7
	MA02	1.30×10^8	1.31×10^8
	MK02	1.52×10^8	1.52×10^8
	MK05	9.95×10^7	1.74×10^8
2	BC05	5.65×10^7	5.30×10^7
	BC03	7.50×10^7	7.10×10^7
	BF02	8.30×10^7	7.60×10^7
3	MK07	4.40×10^7	4.50×10^7
	7A/2(1)	4.90×10^7	4.75×10^7
4	MK07	6.85×10^7	5.90×10^7
	7A/2(1)	4.65×10^7	5.10×10^7

5.2 การเก็บผลผลิตของดอกเห็ดฟางและการวิเคราะห์ข้อมูล

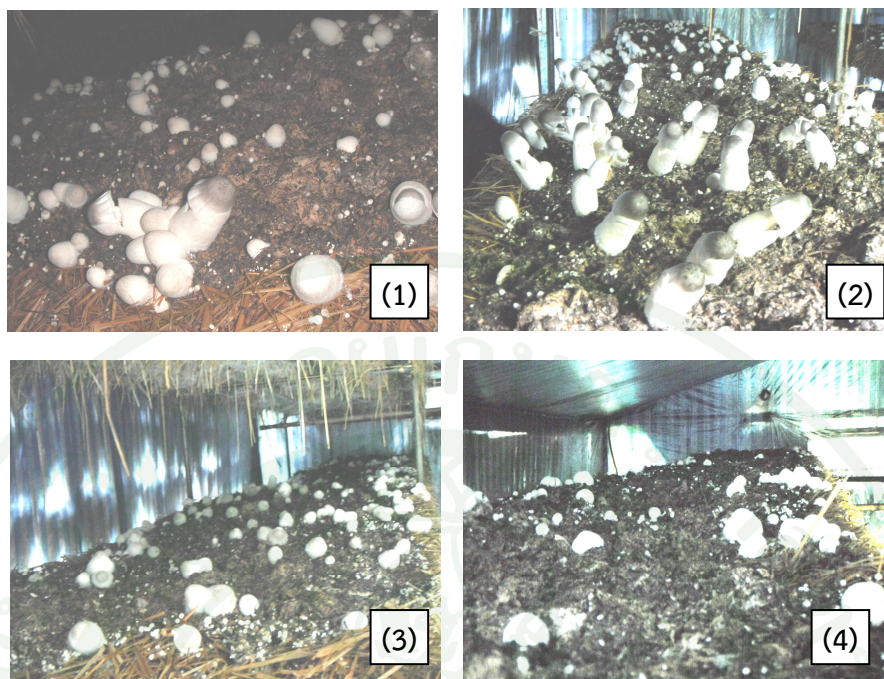
เก็บผลผลิตของดอกเห็ดฟางที่ได้นำมาชั่งน้ำหนัก นำมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบผลผลิตในแต่ละกรรมวิธีด้วยโปรแกรม SPSS version 11.5 ดังภาพที่ 31 และตารางที่ 16 ซึ่งลักษณะของดอกเห็ดฟางที่ได้จากแต่ละกรรมวิธีในการทดลอง (จากการทดลองครั้งที่ 4) ดังแสดงในภาพที่ 31 และ 32

ตารางที่ 16 แสดงผลผลิตเห็ดฟางในการนำเชื้อแบคทีเรียไปทดสอบการส่งเสริมผลผลิตของเห็ดฟางแต่ละสายพันธุ์ (แต่ละกรรมวิธีที่ทำการทดลอง 3 ซ้ำ)

ครั้งที่	โรงเรือนที่ 1			โรงเรือนที่ 2			หมายเหตุ
	แบคทีเรีย	สายพันธุ์เห็ด	ผลผลิตเห็ด (กก./ตร.ม.)	แบคทีเรีย	สายพันธุ์เห็ด	ผลผลิตเห็ด (กก./ตร.ม.)	
1	BC05	อยุธยา	4.12 ^a	BC02	Vvol-019	3.47 ^a	13 วัน
	MK02		3.73 ^a	BF04		3.53 ^a	
	MA02		3.67 ^a	MK05		3.15 ^a	
	น้ำเปล่า			น้ำเปล่า			
	(control)		3.85 ^a	(control)		3.26 ^a	
	CV. (%)		3.90	CV. (%)		4.02	
2	BC05	Vvol-009	4.66 ^a	BC05	Vvol-037	4.64 ^a	4 วัน
	BC03		4.43 ^a	BC03		4.10 ^a	
	BF02		4.64 ^a	BF02		4.22 ^a	
	NB			NB			
	(control)		4.52 ^a	(control)		3.87 ^a	
	CV. (%)		1.81	CV. (%)		5.70	
3	MK07	Vvol-045	3.37 ^a	MK07	Vvol-071	3.37 ^a	8 วัน
	7A/2(1)		3.42 ^a	7A/2(1)		3.47 ^a	
	NB			NB			
	(control)		3.64 ^a	(control)		3.49 ^a	
	น้ำเปล่า			น้ำเปล่า			
	(control)		3.42 ^a	(control)		3.38 ^a	
4	CV. (%)		2.70	CV. (%)		1.38	7 วัน
	MK07	Vvol-024	3.71 ^a	MK07	Vvol-029	3.17 ^a	
	7A/2(1)		3.73 ^a	7A/2(1)		3.14 ^a	
	NB			NB			
	(control)		3.60 ^a	(control)		3.29 ^a	
	น้ำเปล่า		3.68 ^a	น้ำเปล่า		3.31 ^a	
	(control)			(control)			
	CV. (%)		1.99	CV. (%)		1.18	

หมายเหตุ: ^a คือ ค่าการจัดกลุ่ม จากการวิเคราะห์ทางสถิติ สามารถจัดกลุ่มได้กลุ่มเดียว หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

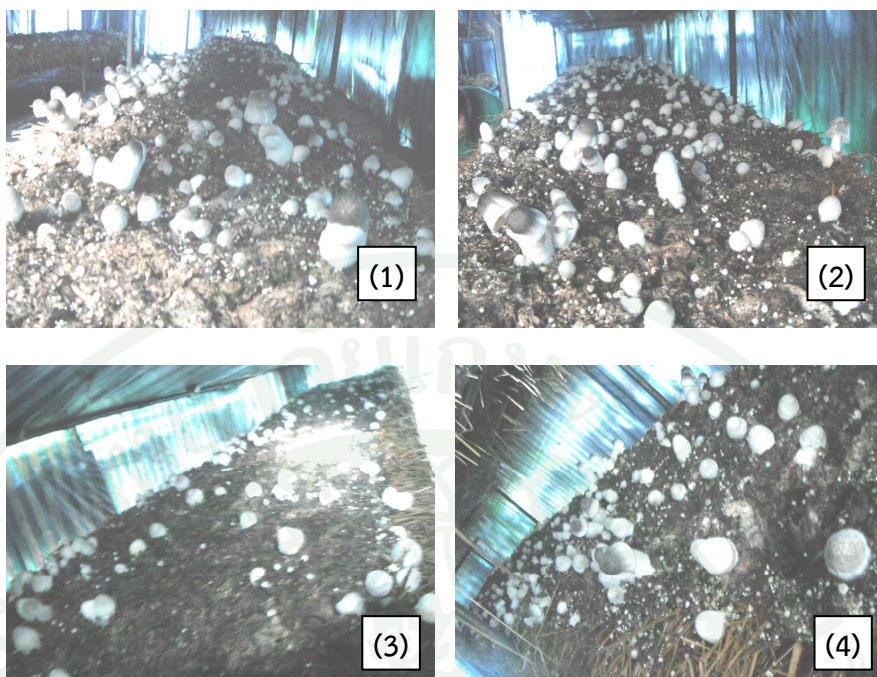
CV. (%) คือ ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรผันของข้อมูล (Coefficient Variation)



ภาพที่ 31 ลักษณะดอกเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-024 ที่ได้จากแต่ละกรรมวิธี ในการทดลอง ครั้งที่ 4 โรงเรือนที่ 1

- (1) ดอกเห็ดฟางที่ได้จากการฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า เป็นกรรมวิธีควบคุม (control) ชั้นที่ 4 (ล่างสุด)
- (2) ดอกเห็ดฟางที่ได้จากการฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียไอโซเลท 7A/2(1) ชั้นที่ 3
- (3) ดอกเห็ดฟางที่ได้จากการฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียไอโซเลท MK07 ชั้นที่ 2
- (4) ดอกเห็ดฟางที่ได้จากการฉีดพ่นด้วย NB เป็นกรรมวิธีควบคุม (control) ชั้นที่ 1 (บนสุด)

จากภาพที่ 31 และตารางที่ 16 พบว่าดอกเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-024 ที่ได้จากการฉีดพ่นด้วย NB และฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า ซึ่งเป็นกรรมวิธีควบคุม (control) นั้น มีน้ำหนักเฉลี่ย 3.60 และ 3.68 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ตามลำดับ (ดังแสดงในตารางที่ 16) มีผลผลิตที่น้อยกว่าการฉีดพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ไอโซเลท คือ MK07 และ 7A/2(1) ที่มีน้ำหนักเฉลี่ย 3.71 และ 3.73 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ตามลำดับ แต่เมื่อนำมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแล้ว พบว่าการทดลองในแต่ละกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ในการทดลองครั้งนี้ยังพบว่า ดอกเห็ดที่เจริญอยู่ชั้นเพาะชั้นบนสุดที่ติดกับหลังคาของโรงเรือน คือ ชั้นที่ 1 และชั้นที่ 2 ตามลำดับ ดอกเห็ดจะมีการเจริญได้ไม่ค่อยดีให้ผลผลิตที่น้อยกว่าดอกเห็ดที่เจริญอยู่บนชั้นเพาะที่ 3 และ 4 ซึ่งอยู่ถัดกันลงมา ยังชั้นล่างของชั้นเพาะตามลำดับ ทั้งนี้สันนิษฐานได้ว่าอุณหภูมิภายในโรงเรือนที่ไม่เท่ากันน่าจะมีผลต่อการเจริญของดอกเห็ดฟาง จึงทำให้ผลผลิตที่ได้ผันแปรไปตามสภาพอากาศ



ภาพที่ 32 ลักษณะดอกเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-029 ที่ได้จากการฉีดพ่นแต่ละกรรมวิธี ในการทดลอง ครั้งที่ 4 โรงเรือนที่ 2

- (1) ดอกเห็ดฟางที่ได้จากการฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียไอโซเลท MK07 (ชั้นที่ 4)
- (2) ดอกเห็ดฟางที่ได้จากการฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า เป็นกรรมวิธีควบคุม (control) (ชั้นที่ 3)
- (3) ดอกเห็ดฟางที่ได้จากการฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียไอโซเลท 7A/2(1) ชั้นที่ 1
- (4) ดอกเห็ดฟางที่ได้จากการฉีดพ่นด้วย NB เป็นกรรมวิธีควบคุม (control) ชั้นที่ 2

จากตารางที่ 16 พบว่าดอกเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-029 ที่ทดลองฉีดพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท MK07 และ 7A/2(1) ผลผลิตของดอกเห็ดฟางที่ได้มีน้ำหนักเฉลี่ย 3.17 และ 3.14 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีค่าน้อยกว่าการฉีดพ่นด้วย NB และน้ำเปล่า ที่เป็นกรรมวิธีควบคุม (control) มีน้ำหนักดอกเห็ดเฉลี่ย 3.29 และ 3.31 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ตามลำดับ แต่เมื่อนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ผลทางสถิติแล้วพบว่า ผลผลิตที่ได้จากแต่ละกรรมวิธี ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่อย่างใด นอกจากนี้ถ้าหากพิจารณาจากภาพที่ 32 จะพบว่า ดอกเห็ดที่เจริญอยู่บนชั้นเพาะชั้นบนสุดคือชั้นที่ 1 และชั้นที่ 2 ตามลำดับ จะมีการเจริญได้ค่อนข้างน้อย ไม่หนาแน่นเหมือนกับดอกเห็ดที่เจริญอยู่บนชั้นเพาะที่ 3 และ 4 ซึ่งอยู่ถัดลงมายังชั้นล่างสุดของชั้นเพาะ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-024 ที่พบว่าอุณหภูมิที่แตกต่างกันของแต่ละชั้นเพาะน่าจะมีผลต่อการเจริญของดอกเห็ด

จากตารางที่ 16 เมื่อพิจารณาผลผลิตของเห็ดฟางทั้งสองสายพันธุ์คือ Vvol-024 และ Vvol-029 นำมาเปรียบเทียบกัน จะพบว่าโดยรวมแล้ว ผลผลิตที่ได้ของเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-024 ในแต่ละกรรมวิธี จะให้ผลผลิตที่สูงกว่าเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-029 แต่ทั้งนี้เมื่อนำมาเปรียบเทียบผลผลิต

กับเห็ดฟางสายพันธุ์อื่นๆที่ทำการทดลองที่ผ่านมา คือ สายพันธุ์อยุธยา Vvol-019, Vvol-009, Vvol-037, Vvol-045 และ Vvol-071 พบว่าผลผลิตของเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-024 ยังน้อยกว่าเห็ดฟางทุกสายพันธุ์ที่กล่าวมา

จากการทดลองทั้ง 4 ครั้งที่ผ่านมา ถ้าพิจารณาข้อมูลในตารางที่ 16 พบว่าเห็ดฟางสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงสุดคือ สายพันธุ์ Vvol-009 ให้ผลผลิตโดยรวมเฉลี่ยประมาณ 4.56 กิโลกรัมต่อตารางเมตร รองลงมาคือสายพันธุ์ Vvol-037 และ Vvol-009 ให้ผลผลิตโดยรวมเฉลี่ยประมาณ 4.21 และ 3.84 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ตามลำดับ

แต่เนื่องจากว่า เมื่อนำข้อมูลที่ได้จากการเก็บผลผลิตของดอกเห็ดฟางที่ได้ในการทดลองแต่ละวิธี จากการทดลองทั้ง 4 ครั้ง นำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS version 11.5 พบว่าผลผลิตที่ได้ในแต่ละครั้งและแต่ละวิธีการทดลอง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) จึงทำให้การทดลองทั้ง 4 ครั้ง ยังไม่สามารถจะคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมกับสายพันธุ์ของเห็ดฟางได้ แต่ถ้าหากลองพิจารณาจากค่าน้ำหนักของดอกเห็ดที่ได้จะพบว่า ผลผลิตที่ได้จากการฉีดพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท BC05 จะให้ผลผลิตที่ค่อนข้างสูงมากกว่าแบคทีเรียไอโซเลทอื่นๆ ซึ่งมีแนวโน้มว่าน่าจะเป็นเชื้อแบคทีเรียที่อาจจะช่วยส่งเสริมผลผลิตเห็ดฟางได้ผลดี จึงต้องมีการทดลองเพื่อพิสูจน์ต่อไปอีกครั้ง โดยทำการวางแผนการทดลองใหม่ด้วยวิธี Randomized Complete Block Design (RCBD) เพื่อช่วยลดปัจจัยเสี่ยงจากภายนอกที่น่าจะมีผลกระทบต่อการทดลอง

6. การวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD)

แบ่งการทดลองออกเป็น 2 วิธี คือ วิธีที่ 1 นำวัสดุมาขึ้นบนวัสดุเพาะ เพื่อแบ่งพื้นที่การทดลองแต่ละชั้นเพาะออกเป็น 4 ส่วนเท่าๆกัน และวิธีที่ 2 แบ่งพื้นที่ในการทดลองของแต่ละชั้นเพาะออกเป็น 2 ส่วนเท่าๆกัน เพื่อควบคุมให้การทดลองในแต่ละกรรมวิธีอยู่ในสภาวะแวดล้อมเดียวกัน และช่วยลดปัจจัยเสี่ยงจากภายนอกที่อาจจะมีผลกระทบต่อการเจริญของดอกเห็ด เช่น อุณหภูมิ ความชื้น เป็นต้น

6.1 การทดลองวิธีที่ 1 แบ่งพื้นที่การทดลองแต่ละชั้นเพาะออกเป็น 4 ส่วนเท่าๆกัน

ทำการทดลองในระหว่างเดือนมีนาคม-เดือนมิถุนายน 2556

6.1.2 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียทดสอบในการทดลองวิธีที่ 1

การตรวจนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียแต่ละวิธีที่ใช้ในการทดลอง โดยวิธี spread plate บนอาหาร nutrient agar บ่มไว้เป็นเวลา 1 วัน ตรวจนับจำนวนให้ผลดังแสดงในตารางที่ 17

ตารางที่ 17 แสดงการตรวจนับจำนวนของเชื้อแบคทีเรียทดสอบที่ใช้ในการทดลองวิธีที่ 1

ครั้งที่	เชื้อแบคทีเรีย	เชื้อแบคทีเรีย (10 ml ใน อาหาร NB 200 ml (cfu/ml))	เชื้อแบคทีเรีย ตั้งต้น (1 loop ในอาหาร NB 100 ml (cfu/ml))
1	BC02	7.10×10^7	6.13×10^7
	BC03	8.45×10^7	7.80×10^7
	BC05	ND	ND
	BF02	ND	ND
	<i>B. subtilis</i> B2	1.18×10^8	9.10×10^7
	<i>B. subtilis</i> พลายแก้ว	ND	ND
2	BC02	ND	ND
	BC03	ND	ND
	BC05	5.10×10^8	1.25×10^8
	BF02	1.32×10^8	8.85×10^7
	<i>B. subtilis</i> B2	ND	ND
	<i>B. subtilis</i> พลายแก้ว	1.34×10^8	9.85×10^7
3	BC02	ND	ND
	BC03	ND	ND
	BC05	1.20×10^8	8.96×10^7
	BF02	ND	ND
	<i>B. subtilis</i> B2	ND	ND
	<i>B. subtilis</i> พลายแก้ว	1.34×10^8	9.85×10^7
4	BC02	1.10×10^8	9.16×10^7
	BC05	8.70×10^7	7.10×10^7
	<i>B. subtilis</i> B2	1.18×10^8	9.70×10^7

หมายเหตุ: ND หมายถึง ไม่ได้ทำการตรวจนับเชื้อแบคทีเรียทดสอบ

6.1.2 การเก็บผลผลิตของดอกเห็ดฟางและการวิเคราะห์ข้อมูลในการทดลองวิธีที่ 1

เก็บผลผลิตของเห็ดฟางที่ได้มาชั่งน้ำหนักและนำมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS (Statistics Package for the Social Sciences) version 11.5 เพื่อเปรียบเทียบข้อมูลที่ได้จากการทดลองในแต่ละวิธี ดังแสดงผลในตารางที่ 18 และ 19

ตารางที่ 18 แสดงผลผลิตเห็ดฟางจากการวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD ในการทดลองวิธีที่ 1 โรงเรือนที่ 1 (แบ่งชั้นเพาะเป็น 4 ส่วน)

ครั้งที่	โรงเรือนที่ 1					เวลาเก็บ ผลผลิต
	เชื้อแบคทีเรีย	สายพันธุ์เห็ดฟาง	ผลผลิต (กก./ตร.ม.)			
			แถวที่ 1	แถวที่ 2	แถวที่ 3	
1	BC02	อูยธยา	1.68 ^a	1.35 ^a	1.33 ^a	7 วัน
	BC03		1.28 ^a	1.38 ^a	1.20 ^a	
	<i>B. subtilis</i> B2 ^b		1.38 ^a	1.28 ^a	1.20 ^a	
	ไม่ฉีดพ่น (control)		1.13 ^a	1.30 ^a	1.10 ^a	
	CV. (%)		14.71	2.97	6.60	
2	BC02	Vvol-009	1.10 ^a	1.17 ^a	1.28 ^a	3 วัน
	BC03		1.21 ^a	1.30 ^a	0.98 ^a	
	<i>B. subtilis</i> B2 ^b		0.98 ^a	1.25 ^a	1.24 ^a	
	ไม่ฉีดพ่น (control)		1.17 ^a	1.34 ^a	1.41 ^a	
	CV. (%)		8.02	4.15	13.06	
3	BC02	อูยธยา	2.80 ^a	2.75 ^a	2.58 ^a	8 วัน
	BC03		3.00 ^a	2.70 ^a	2.50 ^a	
	<i>B. subtilis</i> B2 ^b		2.88 ^a	2.75 ^a	2.73 ^a	
	ไม่ฉีดพ่น (control)		2.70 ^a	3.08 ^a	2.83 ^a	
	CV. (%)		3.85	5.29	3.60	
4	BC02	อูยธยา	3.75 ^a	3.55 ^a	3.53 ^a	5 วัน
	BC05		3.78 ^a	3.68 ^a	3.55 ^a	
	<i>B. subtilis</i> B2 ^b		3.78 ^a	3.73 ^a	3.40 ^a	
	ไม่ฉีดพ่น (control)		3.68 ^a	2.73 ^a	3.93 ^a	
	CV. (%)		1.09	2.09	5.45	

หมายเหตุ: ^a คือ ค่าการจัดกลุ่มจากการวิเคราะห์ทางสถิติ สามารถจัดกลุ่มได้กลุ่มเดียว หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

^b *B. subtilis* B2 คือ เชื้อแบคทีเรียจากงานวิจัยของ Payapanon *et al.* (2011) ซึ่งมีรายงานว่าช่วยส่งเสริมผลผลิตเห็ดฟางได้ดี

CV. (%) คือ ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรผันของข้อมูล (Coefficient Variation)

ตารางที่ 19 แสดงผลผลิตเห็ดฟางจากการวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD ในการทดลองวิธีที่ 1 โรงเรือนที่ 2 (แบ่งชั้นเพาะเป็น 4 ส่วน)

ครั้งที่	โรงเรือนที่ 2					เวลาเก็บ ผลผลิต
	เชื้อแบคทีเรีย	สายพันธุ์เห็ดฟาง	ผลผลิต (กก./ตร.ม.)			
			แถวที่ 1	แถวที่ 2	แถวที่ 3	
1	BC05	อยุธยา	1.15 ^a	1.03 ^a	0.93 ^a	7 วัน
	BF02		1.15 ^a	1.18 ^a	1.08 ^a	
	<i>B. subtilis</i> พลายแก้ว ^c		1.58 ^a	1.03 ^a	0.68 ^a	
	ไม่ฉีดพ่น (control)		1.60 ^a	1.08 ^a	0.88 ^a	
	CV. (%)		15.98	5.67	16.09	
2	BC05	Vvol-009	1.10 ^a	1.17 ^a	1.28 ^a	3 วัน
	BF02		1.21 ^a	1.30 ^a	0.98 ^a	
	<i>B. subtilis</i> พลายแก้ว ^c		0.98 ^a	1.25 ^a	1.24 ^a	
	ไม่ฉีดพ่น (control)		1.17 ^a	1.34 ^a	1.41 ^a	
	CV. (%)		10.20	6.46	4.77	
3	BC05	อยุธยา	2.75 ^a	2.85 ^a	2.25 ^a	8 วัน
	BF02		3.08 ^a	2.60 ^a	2.55 ^a	
	<i>B. subtilis</i> พลายแก้ว ^c		2.70 ^a	3.00 ^a	2.33 ^a	
	ไม่ฉีดพ่น (control)		2.65 ^a	2.63 ^a	2.60 ^a	
	CV. (%)		5.95	5.97	6.79	
4	BC02	อยุธยา	3.48 ^a	3.65 ^a	3.35 ^a	5 วัน
	BC05		3.58 ^a	3.48 ^a	3.45 ^a	
	<i>B. subtilis</i> B2 ^b		3.23 ^a	3.83 ^a	3.50 ^a	
	ไม่ฉีดพ่น (control)		3.68 ^a	3.75 ^a	3.75 ^a	
	CV. (%)		4.79	3.56	4.20	

หมายเหตุ: ^a คือ ค่าการจัดกลุ่มจากการวิเคราะห์ทางสถิติ สามารถจัดกลุ่มได้กลุ่มเดียว หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

^b *B. subtilis* B2 คือ เชื้อแบคทีเรียจากงานวิจัยของ Payapanon *et al.* (2011) ซึ่งมีรายงานว่าช่วยส่งเสริมผลผลิตเห็ดฟางได้ผลดี

^c *B. subtilis* พลายแก้ว คือ เชื้อแบคทีเรียทางการค้า ซึ่งใช้ในการช่วยยับยั้งเชื้อรา แข่งขันและเชื้อราก่อโรคในเห็ด

CV. (%) คือ ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรผันของข้อมูล (Coefficient Variation)

ลักษณะของดอกเห็ดฟางที่ได้จากการทดลองในแต่ละวิธีดังแสดงผลดังภาพที่ 33-34



ภาพที่ 33 ลักษณะดอกเห็ดฟางสายพันธุ์อุยธยาที่ได้จากการฉีดพ่นแต่ละวิธีที่ทำการทดลองครั้งที่ 1
(1)-(2) เป็นลักษณะของดอกเห็ดฟางที่ได้จากโรงเรือนที่ 1 และภาพ (5)-(8) เป็น
ลักษณะของดอกเห็ดฟางที่ได้จากโรงเรือนที่ 2

ภาพที่ 33 (ต่อ)

- (1) ดอกเห็ดฟางที่ได้จากการฉีดพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท BC02
- (2) ดอกเห็ดฟางที่ได้จากการฉีดพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท BC03
- (3) ดอกเห็ดฟางที่ได้จากการฉีดพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* B2
- (4) ดอกเห็ดฟางที่ได้จากการไม่ฉีดพ่น เป็นกรรมวิธีควบคุม (control) โรงเรือนที่ 1
- (5) ดอกเห็ดฟางที่ได้จากการฉีดพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท BC05
- (6) ดอกเห็ดฟางที่ได้จากการฉีดพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท BF02
- (7) ดอกเห็ดฟางที่ได้จากการฉีดพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* พลายแก้ว
- (8) ดอกเห็ดฟางที่ได้จากการไม่ฉีดพ่น เป็นกรรมวิธีควบคุม (control) โรงเรือนที่ 2

จากภาพที่ 33 และตารางที่ 18 และ 19 สังเกตได้ว่าลักษณะของดอกเห็ดฟางที่ได้จากการฉีดพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรีย จะมีลักษณะดอกเห็ดขนาดใหญ่และมีรูปทรงที่สวยงามกว่าการไม่ฉีดพ่น ที่เป็นกรรมวิธีควบคุม (control) โดยเฉพาะการฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียไอโซเลท BC02 จะมีดอกขนาดใหญ่มากกว่าการฉีดพ่นด้วยวิธีอื่นอย่างชัดเจนและให้ผลผลิตมากกว่ากรรมวิธีควบคุม (control) คือ ผลผลิตของการฉีดพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรีย BC02 มีน้ำหนักเฉลี่ยรวมจากทั้งสามแถว 1.45 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ส่วน ผลผลิตของกรรมวิธีควบคุม (control) ที่ไม่มีการฉีดพ่นใดๆ มีผลผลิตเฉลี่ยรวมทั้งสามแถว 1.18 กิโลกรัมต่อตารางเมตร แต่ทั้งนี้เมื่อนำผลผลิตโดยรวมมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแล้วพบว่าผลผลิตของเห็ดฟางในแต่ละวิธีนั้น ยังไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ซึ่งให้ผลสอดคล้องกันทั้ง 2 โรงเรือน



ภาพที่ 34 ลักษณะดอกเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-009 ที่ได้จากการทดลองครั้งที่ 2 มีลักษณะสีขาวนวล และดอกมีขนาดค่อนข้างใหญ่

จากตารางที่ 18 และ 19 พบว่าผลการทดลองที่ได้มีความใกล้เคียงกันในแต่ละวิธีการทดลอง และเมื่อนำข้อมูลที่ได้ มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ ก็ให้ผลที่สอดคล้องกัน คือ ผลผลิตของเห็ดฟางที่ได้ที่ได้แต่ละสายพันธุ์จากแต่ละวิธีการทดลอง ทั้ง 4 ครั้ง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

แต่จากการทดลองแบ่งชั้นเพาะออกเป็น 4 ส่วนเท่าๆกัน เพื่อควบคุมให้การทดลองแต่ละกรรมวิธี อยู่บนชั้นเพาะเดียวกันทั้งหมด พบว่าวิธีนี้สามารถช่วยลดความแปรปรวนของข้อมูลจากปัจจัยภายนอก คือ อุณหภูมิที่แตกต่างกันระหว่างแต่ละชั้นเพาะ และในการทดลองครั้งที่ 2 (ระหว่างวันที่ 10-22 เมษายน 2556) ซึ่งทำการทดลองฉีดพ่นเชื้อแบคทีเรียกับเชื้อเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-009 พบว่าดอกเห็ดฟางที่ฉีดพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรีย BC02 ดอกเห็ดฟางมีขนาดค่อนข้างใหญ่ (ดังแสดงในภาพที่ 34) แต่ผลผลิตโดยรวมยังไม่ค่อยสูงมากนัก (ดังแสดงในตารางที่ 18 และ 19) เมื่อนำผลผลิตที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบผลผลิตที่ได้ในแต่ละวิธี ยังไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และยังเก็บผลผลิตของเห็ดฟางได้น้อยลงกว่าการทดลองในทุกครั้งที่ทำการทดลอง คือ เก็บผลผลิตได้เพียงแค่ 3 วัน เท่านั้น ทั้งนี้ส่วนหนึ่งอาจมีผลมาจากการที่มีการแบ่งส่วนวัสดุเพาะออกเป็นหลายส่วน อาจจะมีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดฟาง ทำให้เส้นใยเจริญได้ไม่เต็มที่ จึงให้ผลผลิตลดลง หรือบางทีอาจจะมีสาเหตุมาจากระหว่างที่ทำการทดลอง เป็นช่วงหน้าร้อนทำให้อุณหภูมิค่อนข้างสูง จึงอาจจะส่งผลกระทบทำให้เส้นใยเกิดการหยุดชะงักได้ง่าย ทำให้มีการพัฒนาไปเป็นดอกเห็ดได้น้อยกว่าปกติ

6.2 การทดลองวิธีที่ 2 แบ่งพื้นที่เพาะแต่ละชั้นออกเป็น 2 ส่วนเท่าๆกัน

ทำการทดลองระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2556-เดือนมีนาคม 2557

6.2.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียทดสอบในการทดลองวิธีที่ 2

การตรวจนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียแต่ละวิธีที่ใช้ในการทดลอง โดยวิธี spread plate บนอาหาร nutrient agar บ่มไว้เป็นเวลา 1 วัน ตรวจนับจำนวนให้ผลดังแสดงในตารางที่ 20

ตารางที่ 20 แสดงการตรวจนับจำนวนของเชื้อแบคทีเรียทดสอบที่ใช้ในการทดลองวิธีที่ 2

ครั้งที่	เชื้อแบคทีเรีย	เชื้อแบคทีเรีย (10 ml ในอาหาร NB 200 ml (cfu/ml))	เชื้อแบคทีเรีย ตั้งต้น (1 loop ในอาหาร NB 100 ml (cfu/ml))
1	BC02	7.80×10^7	6.90×10^7
	BC03	6.10×10^7	5.03×10^7
	BC05	5.95×10^7	5.15×10^7
	BF02	8.35×10^7	7.60×10^7
	<i>B. subtilis</i> B2	7.22×10^7	7.76×10^7
2	BC02	7.30×10^7	6.90×10^7
	BC05	6.80×10^7	6.60×10^7
3	BC05	5.15×10^8	4.15×10^8
	<i>B. subtilis</i> B2	5.70×10^8	4.55×10^8

6.2.2 การเก็บผลผลิตของดอกเห็ดฟางและการวิเคราะห์ข้อมูลในการทดลองวิธีที่ 2

ผลผลิตเห็ดฟางที่ได้นำมาชั่งน้ำหนักและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS version 11.5 เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของผลผลิตที่ได้แต่ละวิธีการทดลอง ดังตารางที่ 21

ตารางที่ 21 แสดงผลผลิตเห็ดฟางจากการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD ในการทดลองวิธีที่ 2 (แบ่งชั้นเพาะเป็น 2 ส่วน)

การ ซ้ำ	โรงเรือนที่ 1			โรงเรือนที่ 2			ระยะเวลา เก็บผลผลิต
	การ ปลูก	พันธุ์เห็ด ฟาง	ผล ผลิต (กก./ตร.ม.)	การ ปลูก	พันธุ์เห็ด ฟาง	ผล ผลิต (กก./ตร.ม.)	
1	BC02	อายุยา	2.48 ^a	BC02	อายุยา	2.94 ^a	6 วัน (21-22°C)
	BC03		2.23 ^a	BC03		3.08 ^a	
	BC05		2.96 ^a	BC05		3.03 ^a	
	BF02		2.53 ^a	BF02		2.96 ^a	
	<i>B. subtilis</i> B2		2.61 ^a	<i>B. subtilis</i> B2		3.06 ^a	
	ไม่ฉีดพ่น			ไม่ฉีดพ่น			
	(control)		2.16 ^a	(control)		2.76 ^a	
	CV. (%)		8.82	CV. (%)		2.90	
2	BC02	อายุยา	-	BC02	อายุยา	-	ไม่มีผลผลิต (16-18°C)
	BC05		-	BC05		-	
	ไม่ฉีดพ่น			ไม่ฉีดพ่น			
	(control)		-	(control)		-	
	CV. (%)		-	CV. (%)		-	
3	BC05	อายุยา	2.66 ^a	BC05	อายุยา	2.71 ^a	8 วัน (21-22°C)
	<i>B. subtilis</i> B2		2.63 ^a	<i>B. subtilis</i> B2		2.36 ^a	
	ไม่ฉีดพ่น			ไม่ฉีดพ่น			
	(control)		2.70 ^a	(control)		2.58 ^a	
	CV. (%)		1.73	CV. (%)		9.24	

ตารางที่ 21 (ต่อ)

หมายเหตุ: - ไม่สามารถเก็บผลผลิตเห็ดฟางได้ เนื่องจากอุณหภูมิภายในโรงเรือนทดลองต่ำเกินไป (ประมาณ 16-18 °C) ทำให้เส้นใยเห็ดเจริญช้า และไม่สามารถพัฒนาเป็นดอกเห็ดได้
CV. (%) คือ ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรผันของข้อมูล (Coefficient Variation)

จากตารางที่ 18-19 และตารางที่ 21 ผลการทดลองที่ได้จากการวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) โดยการแบ่งพื้นที่ออกเป็น 4 ส่วน และ 2 ส่วน นั้น เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่ากรรมวิธีไม่ฉีดพ่น (control) และการฉีดพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียแต่ละไอโซเลท บนวัสดุเพาะเห็ดฟางก่อนการเพาะเห็ด ให้ผลการทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยจะเห็นได้จากข้อมูลที่ได้จากตารางที่ 18-19 และตารางที่ 21 ในแต่ละการทดลองมีค่าที่ใกล้เคียงกันมาก จนไม่สามารถเปรียบเทียบความแตกต่างกันได้

ในการทดลองครั้งที่ 2 ครั้งที่ 2 (ผลดังแสดงในตารางที่ 21) ซึ่งทำการทดลองระหว่างวันที่ 24 ธันวาคม 2556-6 มกราคม 2557 พบปัญหาที่สำคัญเป็นอย่างมาก จนทำให้ไม่สามารถเก็บผลผลิตของดอกเห็ดได้เลยทั้ง 2 โรงเรือน เนื่องจากเป็นช่วงฤดูฝน ซึ่งมีความหนาวเย็นมาก ทำให้อุณหภูมิที่ต่ำเกินไป ประมาณ 16-18 องศาเซลเซียส ส่งผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดเป็นอย่างมาก ทำให้เส้นใยเจริญได้น้อย และช้ากว่าปกติ สุดท้ายเส้นใยเกิดการฝ่อ และตายไปทั้งหมด ไม่มีการเจริญพัฒนาไปเป็นดอกเห็ดได้ ทำให้การทดลองในครั้งนี้ 2 นี้ ไม่มีข้อมูลจากการทดลอง

นอกจากนี้ ในการทดลองครั้งที่ 3 ยังพบปัญหาระหว่างการทดลองที่สำคัญอีกประการ คือ มีหนูมากินเส้นใยของเห็ดฟางในระหว่างการทดลอง ทำให้เส้นใยเห็ดได้รับความเสียหาย เจริญเติบโตได้ไม่ดี และอาจจะมีผลทำให้ข้อมูลที่ได้แปรปรวนไปด้วย

ดังนั้นจากผลกระทบดังกล่าวในการทดลองครั้งที่ 2 และ 3 ทำให้ผลการทดลองที่น่าเชื่อถือได้เป็นผลการทดลองในครั้งนี้ 1 ซึ่งจากข้อมูลน้ำหนักดอกเห็ดที่ได้จะเห็นว่าในส่วนของกรรมวิธีควบคุม (control) ที่ไม่ได้ฉีดพ่นเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ให้ผลผลิตเห็ดฟางน้อยกว่าการฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียทดสอบในทุกสายพันธุ์ของแบคทีเรีย แม้ว่าเมื่อนำมาเปรียบเทียบข้อมูลทางสถิติจะไม่มี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ก็ตาม

ทั้งนี้ แม้ว่าผลการทดลองที่ได้จะไม่มี ความแตกต่างกันในแต่ละวิธีการทดลอง แต่ในระหว่างการทดลองพบว่าเชื้อราแข่งขันของเห็ดฟาง เช่น เชื้อเห็ดน้ำหมึก (*Coprinus*) หรือ เห็ดถั่วอกหัวโต (*Bolbitius fissus*) มีการเจริญลดลง หรือแทบจะไม่มี การเจริญบนวัสดุเพาะ

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

การแยกเชื้อแบคทีเรียสร้างสปอร์จากสภาพแวดล้อมในการเพาะเห็ดฟางและวัสดุเพาะเห็ดฟาง สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียสร้างสปอร์ได้จำนวน 22 ไอโซเลท นำมาทดสอบการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืชและราแข่งขันเชื้อเห็ดฟาง โดยวิธี dual culture พบว่ามีเชื้อแบคทีเรียจำนวน 8 ไอโซเลทที่ให้ผลการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคและราแข่งขันได้ผลดี แต่ในขณะเดียวกันก็สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเห็ดฟางด้วย

การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีดั้งเดิม (conventional method) พบว่าแบคทีเรียที่คัดแยกได้จำนวน 8 ไอโซเลท ได้แก่ BC01, BC02, BC03, BC05, BC06, BF02, BF04 และ MK07 มีคุณสมบัติทางชีวเคมีและสรีรวิทยาที่คล้ายคลึงกับเชื้อ *Bacillus subtilis* แต่สามารถสร้างเอนไซม์ urease ได้ ซึ่งคุณสมบัตินี้แตกต่างจากคุณสมบัติของ *B. subtilis* ที่เคยมีรายงานไว้ใน Logan and De Vos (2009) เมื่อนำแบคทีเรีย 3 ไอโซเลท ได้แก่ BC05, BC02 และ BF02 ไปทดสอบการจำแนกชนิดโดยวิธี Biolog Gen III microplate พบว่าสามารถจำแนกชนิดว่าเป็นเชื้อ *B. subtilis* ส่วนเชื้อแบคทีเรีย จำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ MA02, MK02 และ MK05 สามารถจำแนกชนิดว่าเป็น *Bacillus thuringiensis*

การทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมในการนำเชื้อแบคทีเรียไปใช้ในการเพิ่มผลผลิตเห็ดฟางในโรงเรือนได้อย่างมีประสิทธิภาพ พบว่า การฉีดพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient broth (suspension) ให้ผลผลิตมากกว่ากรรมวิธีอื่น และเมื่อนำเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้ไปทดสอบความสามารถส่งเสริมผลผลิตของเห็ดฟางในระดับโรงเรือน พบว่า แม้ข้อมูลที่ได้จากการทดลองในแต่ละกรรมวิธีจะไม่มี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่พบว่าเชื้อแข่งขันของเห็ดฟางลดลง และเมื่อพิจารณาจากค่าของตัวเลขจากผลผลิตของเห็ดฟางที่ได้จากการทดลอง พบว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท BC05 ให้ผลการทดลองที่โดดเด่นกว่าไอโซเลทอื่นๆ และมีแนวโน้มว่าน่าจะ สามารถเพิ่มผลผลิตเห็ดฟางได้

ข้อเสนอแนะ

1. การทดลองในงานวิจัยครั้งนี้อาจมีปัจจัยภายนอกหลายประการที่ส่งผลกระทบต่อ การเจริญของเส้นใยและการสร้างดอกเห็ด เช่น ปัจจัยของ อุณหภูมิ ความชื้น ที่เปลี่ยนแปลงไปในแต่ละฤดูกาลที่ต่างกัน อาจจะส่งผลกระทบต่อ การเจริญของดอกเห็ดฟาง สังเกตได้จากผลในช่วงฤดูร้อน (ระหว่างเดือนเมษายน-พฤษภาคม) ผลผลิตของเห็ดฟางที่ได้จะต่ำกว่าปกติ และในช่วงฤดูหนาวพบว่าอุณหภูมิที่ต่ำเกินไป (ระหว่าง 16-18 องศาเซลเซียส) มีผลทำให้เส้นใยของเห็ดฟางเจริญช้า และไม่สามารถพัฒนาไปเป็นดอกเห็ดได้ เกิดการฝ่อและตายในที่สุด ทำให้การทดลองในครั้งนี้ 2 ไม่สามารถเก็บผลผลิตของดอกเห็ดได้ทั้ง 2 โรงเรือน (ดังตารางที่ 21)

ดังนั้นหากมีวิธีควบคุมอุณหภูมิภายในโรงเรือนทดลองในแต่ละฤดูกาลให้คงที่และเหมาะสมต่อการเจริญของดอกเห็ดตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลองน่าจะช่วยลดความแปรปรวนของข้อมูลที่ได้จากการทดลองให้ลดลงไปได้ ซึ่งโดยปกติวิธีการควบคุมอุณหภูมิในโรงเรือน สามารถทำได้โดยการเพิ่มไอน้ำเข้าไปภายในโรงเรือนตลอดเวลา แต่วิธีการนี้ทำให้เสียค่าใช้จ่ายมาก และอาจจะทำให้ไม่คุ้มทุน ทำให้การทดลองแต่ละครั้งไม่สามารถควบคุมอุณหภูมิภายในโรงเรือนให้คงที่ได้ จึงอาจส่งผลกระทบต่อผลการทดลองทำให้ข้อมูลที่ได้แปรปรวน และไม่สามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่ช่วยเพิ่มผลผลิตของเห็ดฟางได้ผลที่ชัดเจน แต่ทั้งนี้เมื่อทำการสอบถามเกษตรกรผู้เพาะเห็ดฟาง พบว่าในภาพรวมเกษตรกรมีความพอใจเมื่อมีการฉีดพ่นเชื้อแบคทีเรีย โดยระบุว่าได้ผลผลิตมากขึ้น และโรงเรือนมีเชื้อราแข่งขันลดน้อยลงมาก (แม้ว่าจะไม่แตกต่างกับกรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ)

2. ในระหว่างการทดลอง พบหนูศัตรูของเห็ดฟางเข้ามาคุ้ยเขี่ยทำลายเส้นใยเห็ดและดอกเห็ดตลอดระยะเวลาของการทดลอง (การทดลองแบบ RCBD ซึ่งมีการแบ่งพื้นที่เพาะเห็ดฟางออกเป็น 2 ส่วน ในการทดลองครั้งที่ 3) เนื่องจากสภาพอากาศแห้งแล้งยาวนานจึงดำนาค้าว ทำให้หนูขาดแคลนแหล่งอาหาร จึงเข้ามารบกวนโรงเรือนเพาะเห็ดฟาง ทำให้ส่งผลกระทบต่อผลผลิตที่ได้ในการทดลองครั้งนี้อีกประการหนึ่ง

3. การวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) ช่วยลดความแปรปรวนของผลการทดลองลงได้ (ซึ่งจากข้อมูลในตารางที่ 19 และ 21 ผลผลิตที่ได้ในแต่ละซ้ำจะมีค่าใกล้เคียงกันมากขึ้น) แต่ทั้งนี้ก็ยังไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับกรรมวิธีควบคุม

4. การนำวัสดุมาขึ้นเพื่อแบ่งชั้นเพาะออกเป็น 4 ส่วน และ 2 ส่วนเท่าๆกันนั้น เพื่อควบคุมให้การทดลองแต่ละกรรมวิธีให้อยู่ในชั้นเพาะและสภาวะแวดล้อมเดียวกัน เป็นการควบคุมปัจจัยจากภายนอกอีกวิธีหนึ่ง อาจมีผลกระทบต่อเจริญของเส้นใยและดอกเห็ด ซึ่งวัสดุที่นำมาขึ้นนั้นควรมีขนาดที่เหมาะสมกับความสูงของชั้นเพาะ เนื่องจากขนาดของวัสดุที่นำมาขึ้นมีผลต่อระบายอากาศในโรงเรือน เพราะถ้าวัสดุเพาะสูงเกินไปจะทำให้การระบายอากาศภายในโรงเรือนไม่ดี มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด ทำให้เส้นใยเห็ดเจริญได้ช้าและเจริญได้น้อยกว่าปกติ และในการแบ่งชั้นวัสดุเพาะแยกออกจากกัน ควรให้วัสดุเพาะแยกห่างออกจากกันอย่างชัดเจน เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการปนเปื้อนกันในแต่ละกรรมวิธี

5. เมื่อวิเคราะห์ผลการทดลองที่ได้โดยไม่คำนึงถึงความแตกต่างทางสถิติจะเห็นว่าแบคทีเรียที่คัดแยกได้ ไอโซเลต BC05 สามารถเพิ่มผลผลิตของเห็ดฟางได้ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม และเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเห็ดแบบปกติของเกษตรกร พบว่าการใส่เชื้อแบคทีเรียให้ผลผลิตมากกว่าการไม่ใส่เชื้อ และพบว่าการปนเปื้อนของเชื้อราแข่งขันน้อยกว่าการเพาะแบบปกติ จะเห็นว่าจากผลการทดลองที่ได้จากการทดลองนี้ สามารถคัดสายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรียได้คือ BC05 ซึ่งอาจนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ให้เกษตรกรสามารถนำไปใช้ได้ง่าย โดยเก็บเชื้อแบคทีเรียในรูปแห้งมาเลี้ยงในน้ำนมถั่วเหลืองแทนการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย nutrient broth (NB) และนำไปใช้ฉีดพ่นใน

โรงเรือนเพาะเห็ดต่อไปได้ โดยจะต้องมีการทดลองเพิ่มเติมเพื่อเปรียบเทียบผลผลิตของเห็ดฟางที่ได้จากการใช้แบคทีเรียรูปแบบหนึ่งกับเมื่อไม่ใช้แบคทีเรีย และเปรียบเทียบกับผลการทดลองที่ผ่านมา ถ้าหากผลการทดลองที่ได้ให้ผลผลิตที่ดีกว่ากรรมวิธีควบคุม จะสามารถนำเชื้อแบคทีเรียที่เก็บในรูปแบบนี้ ไปแจกจ่ายให้เกษตรกรทดลองใช้ ซึ่งเป็นวิธีการที่ไม่ยุ่งยาก เกษตรกรสามารถที่จะนำไปปฏิบัติได้เอง จากนั้นสำรวจความพึงพอใจและสร้างความรู้ความเข้าใจให้เกษตรกรประกอบการตัดสินใจ ก่อนเลือกใช้ผลิตภัณฑ์จากเชื้อจุลินทรีย์เพื่อเพิ่มผลผลิตเห็ดฟางและทดแทนการใช้สารเคมีในการควบคุมเชื้อราแข่งขันในการเพาะเห็ดฟางต่อไปได้



เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- ไก่อแก้ว สุธรรมมา และ นิพนธ์ ทวีชัย. 2552. การผลิตผงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* (Bs). ภาควิชาโรคพืช. คณะเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
แหล่งที่มา: http://www.rdi.ku.ac.th/kasetresearch52/04-plant/gaigaew/plant_00.html, 5 มีนาคม 2555.
- เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ อัจฉรา พยัพพานนท์ มานิตา คงชื่นสิน พิเชฐ เซาว์นวัฒน์ และ พลอย ชมพู กรวิภาสเรือง. 2552, น. 69-73. การสำรวจการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในเห็ดที่ผลิตเป็นการค้า. ใน **เห็ดไทย 2552**. สมาคมนักวิจัยและเพาะพันธุ์เห็ดแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.
- นิพนธ์ ทวีชัย. 2538. งานวิจัยในปัจจุบันด้านการใช้เชื้อแบคทีเรียบางชนิดควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี, น. 120-145. ใน **เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมศัตรูพืช**. สำนักกองทุนสนับสนุนการวิจัยและกรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.
- นัฐพร เปียรักษา วนิดา ชื่นชื่น และ บุญมี กวินเศกสรรค์. 2549. ผลของเชื้อรา *Gliocladium virens* และ *Trichoderma harzianum* ในการควบคุมเชื้อรา *Sclerotium rolfsii*. น. 95-104. ใน **วารสารก้าวหน้าโลกวิทยาศาสตร์ 6(1)**. ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จ, กรุงเทพฯ.
- เนตรดารา จันอุตส่าห์ รุ่งฤดี ทิวทอง และ สุรศักดิ์ ชันคำ. 2552. ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* ในระดับห้องปฏิบัติการ. น. 263-265. ใน **การสัมมนาทางวิชาการเกษตร ประจำปี 2552 คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น**.
- นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. 2552. **จุลชีววิทยาทั่วไป**. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- บุญชู ลาลูน. 2556. **ชีววิทยป้องกันกำจัดโรคพืช**. สำนักงานเกษตรอำเภอขุนหาญ, ศรีสะเกษ.
แหล่งที่มา: [http://www.sisaket.doe.go.th/data/km/KM สารชีววิทย.pdf](http://www.sisaket.doe.go.th/data/km/KM%20สารชีววิทย.pdf), 29 พฤศจิกายน 2556.
- บุษบา ล้อประเสริฐ. 2542. **เห็ดฟาง**. ชมรมนักเพาะเห็ดแห่งประเทศไทย. เพื่อนเกษตร, กรุงเทพฯ.

ประสาน ยิ้มอ่อน. 2549. **การเพาะเห็ด**. คณะเทคโนโลยีการเกษตร, มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ในพระบรมราชูปถัมภ์, กรุงเทพฯ.

ประไพศรี พัทธ์ชัยไพรวิน. 2542. **โรคเห็ดในการบริหารศัตรูเห็ด**. กองส่งเสริมพืชสวน. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

แพรววดี วัฒนกุล. 2555. **คู่มือการใช้สารเร่งของกรมพัฒนาที่ดิน**. สำนักงานเกษตรจังหวัดยะลา, ยะลา. แหล่งที่มา: <http://www.yala.doae.go.th/abuyalylah/index.php/2012-03-13-04-23-14>, 29 พฤศจิกายน 2556.

พรศิลป์ มณีฉาย วันสันถ์ เพชรรัตน์ เสมอใจ ชื่นจิตต์ และ จรัสศรี นวลศรี. 2548. การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะเพื่อการควบคุมโรคราเขียว (*Trichoderma harzianum* Rifai) ของเห็ดนางฟ้า (*Pluotus pulmonarius* (Fr.) Quel.). น. 25-37. ใน **วารสารวิทยาศาสตร์สงขลานครินทร์ 39(3)(พิเศษ)**. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

พรศิลป์ สีเผือก และ คมสัน นันทสุนทร. 2548. **การพัฒนาสูตรอาหารเพื่อเพิ่มศักยภาพการเพาะเห็ดของชุมชน: กรณีศึกษาจังหวัดนครศรีธรรมราช**. คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย, นครศรีธรรมราช.

_____ และ วุฒิชัย สีเผือก. 2551. ผลของแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus* sp. ต่อการควบคุมโรคราเขียว (*Trichoderma harzianum*) ของเห็ดหูหนู (*Auricularia polytricha* (Mont.). น. 205-208. ใน **วารสารวิทยาศาสตร์การเกษตร 27(1)**. คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย, นครศรีธรรมราช.

มนตรี บุญจรัส. 2553. **จุลินทรีย์บีเอสพลายแก้วปราบเชื้อราศัตรูตัวสำคัญของเกษตรกรผู้เพาะเห็ด; ผืนแผ่นดินไทยปลูกพืชได้ไร้สารพิษ**. ชมรมเกษตรปลอดสารพิษ. แหล่งที่มา: <http://tree2520.wordpress.com/2012/01/04/จุลินทรีย์บีเอสพลายแก้ว>, 29 มิถุนายน 2556.

ยุพยงค์ สุทธิธรรม. 2542. **สารคดีชุดคู่มือของไทย; การเพาะเห็ดฟาง**. โอ. เอส. พรินต์ติ้ง เฮ้าส์, กรุงเทพฯ.

วิเชียร ธาตุงาม. 2552. การเพาะเห็ดบด เห็ดลมหรือเห็ดกระด้าง. น. 39. ใน **วารสารเกษตรก้าวหน้า**. สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุเทพ ญาติ. 2552. การเพาะเห็ดฟางกองเตี้ย. น. 18-23. ใน **วารสารเกษตรก้าวหน้า**. สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุดฤดี ประเทืองวงศ์. 2552. การใช้จุลินทรีย์ควบคุมโรคพืช. น. 29-39. ใน **วารสารเกษตรกรรมธรรมชาติ**. ภาควิชาโรคพืช, คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุทธิชัย ประทุมล่องทอง. 2545. **เห็ด พืชเศรษฐกิจยั่งยืน**. ชารบัวแก้ว, กรุงเทพฯ.

สุทธิชัย สมสุข. 2553. ผลของการใช้วัสดุเพาะและวัสดุอาหารเสริมชนิดต่าง ๆ ร่วมกับกลุ่มจุลินทรีย์และน้ำหมักชีวภาพต่อผลผลิตเห็ดฟางที่เพาะในตะกร้าพลาสติก. น. 17-36. ใน **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 8(2)**. ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, กรุงเทพฯ. แหล่งที่มา: http://www.tstj.research.tu.ac.th/Issue18No2_PDF/paper3.pdf, 29 มิถุนายน 2556.

สุวรรณิ จันทร์ตา. 2542. **เห็ดและการผลิตเห็ด**. คณะเทคโนโลยีการเกษตร. สถาบันราชภัฏลำปาง, ลำปาง.

สำเนาวิ ฤทธิสุข. 2551. **สูตรเด็ดการเพาะเห็ดฟางในตระกร้า**. เกษตรกรรมธรรมชาติ, กรุงเทพฯ.

อดุลย์ รัตนมันเกษม. 2546. **เพาะเห็ดขาย**. นานมีบุ๊คส์, กรุงเทพฯ.

อภิชาติ ศรีสะอาด และ พริ้ม ศรีหานาม. 2555. **นวัตกรรมใหม่ หลากวิธีการเพาะเห็ดฟางให้รวย**. นาคา อินเตอร์มีเดีย, กรุงเทพฯ.

อัจฉรา พยัพพานนท์ และ สัณชัย ตันตยภรณ์. 2531. ปรับปรุงคุณภาพของวัสดุเพาะที่มีอยู่โดยเพิ่มลดปริมาณธาตุอาหารในวัสดุผลิตเห็ดฟาง. น. 10-21. ใน **รายงานผลงานวิจัย กองโรคพืชและจุลชีววิทยา ปี 2531**. กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

_____. 2535. การใช้ขี้เลื่อยไม้ยางพาราและขี้เถ้าเพาะเห็ดฟางในโรงเรือน. น. 73-84. ใน **รายงานผลงานวิจัยกองโรคพืชและจุลชีววิทยา ปี 2535**. กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

Beyer, D. M., Wuest, P.J. and Anderson, M. G. 2001. **Green mold of mushrooms**. Available Source: <http://www.personal.psy.edu/users/m/gmga3/GMEB.Htm> [2001July 25], June 29, 2013.

Boer, A. S. and Diderichsen, B. 1991. On the safety of *Bacillus subtilis* and *Bacillus amyloliquefaciens*. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 64: 133-137.

- Castle, A., Speranzini, D., Rghei, N., Alm, G., Rinde, D. and Bissett, J. 1998. Morphological and molecular identification of *Trichoderma* isolated on north American mushroom farms. **Appl. Environ. Microbiol.** 64: 133-137.
- Claus, D. and R. C. W. Berkeley. 1986. Endospore forming Gram positive Rods and Cocci, pp. 1105–1139. *In* Sneath, P. H. A., N. S. Mair, M. E. Sharpe, J. G. Holt, M. D. Baltimore, Williams and Wilkins, eds. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology** 2. Springer, London.
- Chang, Shu-Ting and Philip G. Miles. 2004. **Mushroom: cultivation, nutritional value, medicinal effect and environmental impact.** 2nd ed. Boca Raton, Fla: CRC Press.
- Chen, X., C. P., D. J. Romaine., Q. Tan. Schagnhauser., B. Ospina-Giraldo., M. D. Royese., and D. R. Huff. 1999. A Polymerase chain reaction based for the identification of *Trichoderma harzianum* biotype 2 and responsible for the worldwide green mold epidemic cultivation *Agaricus bisporus*. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 52: 246-250.
- Cooper, D. G., MacDonald, C. R., Duff, S.J.B. and Kosaric, N. 1981. Enhanced production of surfactin by *Bacillus subtilis* by continuous remove and metal cation additions. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 42: 408-412.
- Gerben, S. W., O. Tineke. P.G.G. Jane, M. A. Jos, J.M. OP Den Camp Huub and J.L.D. Van Griensven Leo. 1994. Inoculation of *Scytalidium thermophilum* in Botton Mushroom Compost and Its Effect on Yield. **Applied and Environment Microbiology.** 6(9): 3049-3054.
- Gordon, R. E. 1989. The genus *Bacillus*. pp. 109–126. *In* W. M. O Leary, ed. **Practical Handbook of Microbiology.** CNC press, Florida.
- Ferreira, J.H.S., F.N. Matther and A.C. Thomas. 1991. Biological control of *Euthypa lata* on grapevine by an antagonistic strain of *Bacillus subtilis*. **Phytopathology.** 81: 283-287.

- Fermor, T.R., P.E. Randle and J.E. Smith. 1985. Compost as a substrate and its preparation. pp. 81-109. *In* P.B. Flegg, D.M. Spencer and D.A. Wood, eds. **The Biology and Technology of The Cultivated Mushroom**. John Wiley & Sons, Chichester United Kingdom.
- Focus Biotech Inc. 2013. **Biolog Gen III Microbiology Identification System: Hands-on Workshop**. Focus Biotech Thailand Representative office, Bangkok. Available Source: http://www.rigel-ls.com/?page_id=182, April 2, 2014.
- Katz, E. and Kemain, A. L. 1997. The peptide antibiotics of functions. **Bact. Rev.** 41: 499-574.
- Leelasuphakul, W., P. Hemmanee and S. Chuenchitt. 2007. Growth inhibitory properties of *Bacillus subtilis* strains and their metabolites against the green mold pathogen (*Penicillium digitatum* Sacc.) of citrus fruit. pp. 113-121. *In* **Postharvest Biology and Technology 48**. Biochemistry, Science, Prince of Songkla, Songkla. Available Source: <http://www.sciencedirect.com>, June 29, 2013.
- Logan, N. A and P. De Vos. 2009. Genus1 *Bacillus*. pp. 20-122. *In* The Firmicutes, ed. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd ed (3)**. Springer, London.
- Nalisha, I., M. Muskhazli and T. NorFarizan. 2006. Production of bioactive compounds by *Bacillus subtilis* against *Sclerotium rolfsii*. **Malaysian Journal of Microbiology**. 2(2): 19-23.
- Ovchinnikov, Y.A. and Lvanov, V.T. 1982. The cyclic peptides, structures, conformation and function. *In* **The protein**. (eds. H. Neurath and R.L.Hill.) Vol.5, pp. 310-642. New York: Interscience Publishers.
- Ospina-Girldo, M. D., Royes, D. J., Chen, X. and Romaine, C. P. 1999. Molecular phylogenetic analyses of biological control strains of *Trichoderma harzianum* and other biotype of *Trichoderma* spp. associated with mushroom green mold. **Phytopathol.** 89: 308-313.

- Romaine, C. P., Royes, Wuest, P.J. and Beyer, D. M. 1996. Mushroom green mold: cause, epaphic factors & control. **Mush. News.** 44: 20-23.
- Payapanon, A. and P. Pitukpriwan. 2003. Inoculation of *Scytalidium thermophilum* in straw mushroom compost for promoting the production of *Volvariella volvacea*. (Abstracts). pp. 41. **In Bio Thailand 2003 Technology for Life. 17-20 July 2003.** PEACH, Pattaya, Chonburi, Thailand.
- Payapanon, A. Suthirawut, S., Roongrawee, P., Kulpiyawat. T. and A. Somrith. 2011. Increase in Yield of the Straw mushroom (*Volvariella volvacea*) by Supplement with *Paenibacillus* and *Bacillus* to the Compost. **Jounal Faculty of Agriculture.** Kyushu University, Hakazoki, Fukuoka 812, Japan. 56 (2): 249-254.
- Prince, L. Raja, A. and Prabakaran P. 2011. Antagonistic Potentiality Of Some Soil MycoFlora Against *Colletotrichum falcatum*. **Science and Technology.** 1(4): 39-42.
- Sandrin, C., Peypoux, F. and Michel, G. 1990. Co-production of sursactin and iturin A, lipopeptides with surfactant and antifungal properties by *Bacillus subtilis*. **Biotechnol. Appl. Biochem.** 12: 370-375.
- Sharma, H. S. S., kilpatrich, M., Ward, F., Lyon, G. and Burns, L. 1999. Colonization of phase II compost by biotype of *Trichoderma harzianum* and the effect on mushroom yield and quality. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 51: 527-578.
- Seaby, D. 1998. *Trichoderma* as a weed mold or pathogen in mushroom cultivation. pp. 267-285. **Trichoderma and Gliocladium Basic Biology, Taxonomy and Genetic, eds (2).** Toyler & Francis, London.
- Sinden, J. and Huser, E. 1953. Nature and control of three midew disease of mushroom in America. **Mush. Sci.** 2: 177-180.
- Singh, M. and Singh, R. P. 2001. **Siderophore producing bacteria-as potential biocontrol agents of mushroom disease.** Available Source: [http://www.uio.no/conferences/June2000.thm#Samuels\[2001 Junly 3\]](http://www.uio.no/conferences/June2000.thm#Samuels[2001%20Junly%203]), March 5, 2012.

- Sunslow and Schroth. 1982. Rhizobacteria on sugar beets: effects of seed application and Root colonization on yield. **Phytopathology**. Available Source: <http://www.jb.asm.org/cgi/content/full/182/21/6233>, June 25, 2013.
- Stauton, L. 1987. *Trichoderma* green mold in mushroom compost. **The Mush. J.** 179: 362-363.
- Straatsma, G., R.A. Samson, T.W. Olijnsma, H.J.M. Op Den Camp, J.P.G. Gerrits and L.J.D. Van Griensven. 1994. Ecology of thermophilic fungi in mushroom compost with emphasis on *Scytalidium thermophilum* and growth stimulation of *Agaricus bisporus* mycelium. **Appl. Environ. Microbiol.** 60: 454-458.
- Windels and Kommedahl. 1982. The development of *Gibberella zeae* head blight of wheat. **Phytopathology**. Available Source: <http://www.cdl.umn.edu/Scab/epidem.html>, June 25, 2013.





1. Potato Dextrose Agar (PDA)

สูตรการเตรียม

Potato	200	กรัม
Dextrose	20	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. นำมันฝรั่งมาล้างน้ำให้สะอาด ปอกเปลือกออก นำไปหั่นเป็นลูกเต๋ารูปร่างประมาณ 1x1 เซนติเมตร ซึ่งให้ได้ 200 กรัม ถ้าง่ายในหม้อเพื่อนำไปต้ม เติมน้ำกลั่นจนท่วมมันฝรั่ง แล้วนำไปต้มจนสุก หลังจากนั้นนำมากรองด้วยผ้าขาวบาง เพื่อแยกเอาเนื้อมันฝรั่งทิ้ง เอาเฉพาะส่วนน้ำมันฝรั่งมาปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1000 มิลลิลิตร

2. ชั่ง agar 15 กรัม นำมาผสมลงไปในหม้อ และนำไปต้มจนละลาย

3. ตวงและบรรจุใส่ในขวดหรือภาชนะบรรจุ

4. นำไปนึ่งให้ปราศจากเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 20 ปอนด์

ต่อตารางนิ้ว 15 นาที

2. Nutrient Agar (NA)

สูตรการเตรียม

Beef extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร
ปรับ pH 6.8-7.0		

วิธีการเตรียม

ชั่ง beef extract 3 กรัม และ peptone 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร คนจนละลาย นำ agar 15 กรัม มาผสมลงไปในหม้อ แล้วนำไปต้มจนละลาย นำมาปรับ pH เป็น 6.8-7.0 นำมาตวงและบรรจุใส่ลงในขวดหรือภาชนะบรรจุ นำไปนึ่งให้ปราศจากเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 20 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที

3. Nutrient Broth (NB)

สูตรการเตรียม

Beef extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร
ปรับ pH 6.8-7.0		

วิธีการเตรียม

ชั่ง beef extract 3 กรัม และ peptone 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร คนจนละลาย ปรับ pH เป็น 6.8-7.0 ตวงและบรรจุใส่ลงในภาชนะบรรจุ นำไปนึ่งให้ปราศจากเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 20 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที



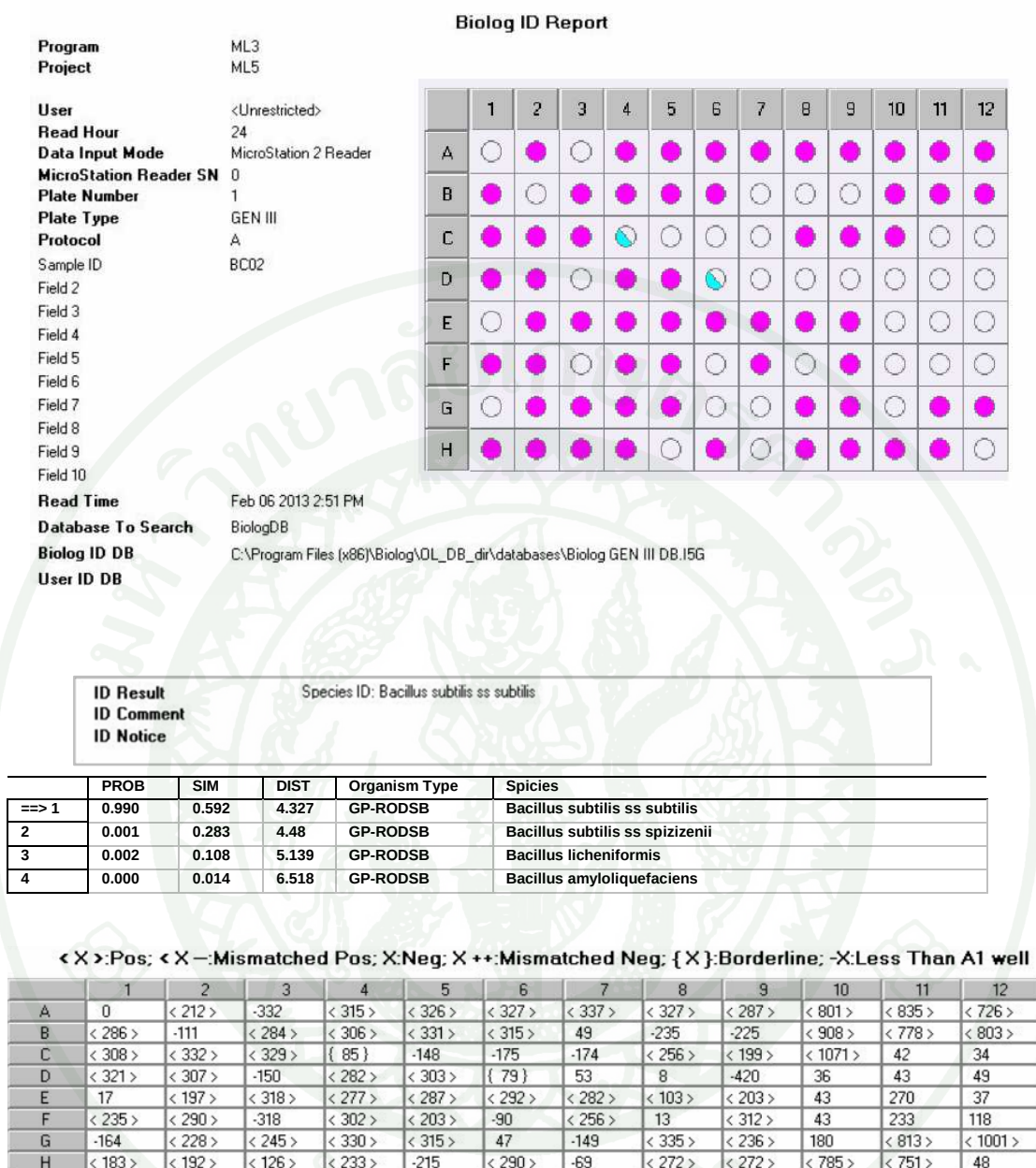
ภาคผนวก ข
ผลการจำแนกเชื้อแบคทีเรีย
ด้วยวิธี Biolog Gen III

GEN III MicroPlate™

A1 Negative Control	A2 Dextrin	A3 D-Maltose	A4 D-Trehalose	A5 D-Cellobiose	A6 Gentiobiose	A7 Sucrose	A8 D-Turanose	A9 Stachyose	A10 Positive Control	A11 pH 6	A12 pH 5
B1 D-Raffinose	B2 α -D-Lactose	B3 D-Melibiose	B4 β -Methyl-D-Glucoside	B5 D-Salicin	B6 N-Acetyl-D-Glucosamine	B7 N-Acetyl- β -D-Mannosamine	B8 N-Acetyl-D-Galactosamine	B9 N-Acetyl Neuraminic Acid	B10 1% NaCl	B11 4% NaCl	B12 8% NaCl
C1 α -D-Glucose	C2 D-Mannose	C3 D-Fructose	C4 D-Galactose	C5 3-Methyl Glucose	C6 D-Fucose	C7 L-Fucose	C8 L-Rhamnose	C9 Inosine	C10 1% Sodium Lactate	C11 Fusidic Acid	C12 D-Serine
D1 D-Sorbitol	D2 D-Mannitol	D3 D-Arabinol	D4 myo-Inositol	D5 Glycerol	D6 D-Glucose-6-PO ₄	D7 D-Fructose-6-PO ₄	D8 D-Aspartic Acid	D9 D-Serine	D10 Troleandomycin	D11 Rifamycin SV	D12 Minocycline
E1 Gelatin	E2 Glycyl-L-Proline	E3 L-Alanine	E4 L-Arginine	E5 L-Aspartic Acid	E6 L-Glutamic Acid	E7 L-Histidine	E8 L-Pyrogutamic Acid	E9 L-Serine	E10 Lincomycin	E11 Guanidine HCl	E12 Naproxen 4
F1 Pectin	F2 D-Galacturonic Acid	F3 L-Galactonic Acid Lactone	F4 D-Gluconic Acid	F5 D-Glucuronic Acid	F6 Glucuronamide	F7 Mucic Acid	F8 Quinic Acid	F9 D-Saccharic Acid	F10 Vancomycin	F11 Tetrazolium Violet	F12 Tetrazolium Blue
G1 p-Hydroxy-Phenylacetic Acid	G2 Methyl Pyruvate	G3 D-Lactic Acid Methyl Ester	G4 L-Lactic Acid	G5 Citric Acid	G6 α -Keto-Glutaric Acid	G7 D-Malic Acid	G8 L-Malic Acid	G9 Bromo-Succinic Acid	G10 Nalidixic Acid	G11 Lithium Chloride	G12 Potassium Tellurite
H1 Tween 40	H2 7-Amino-Butyric Acid	H3 α -Hydroxy-Butyric Acid	H4 β -Hydroxy-D,L-Butyric Acid	H5 α -Keto-Butyric Acid	H6 Acetoacetic Acid	H7 Propionic Acid	H8 Acetic Acid	H9 Formic Acid	H10 Aztreonam	H11 Sodium Butyrate	H12 Sodium Bromate

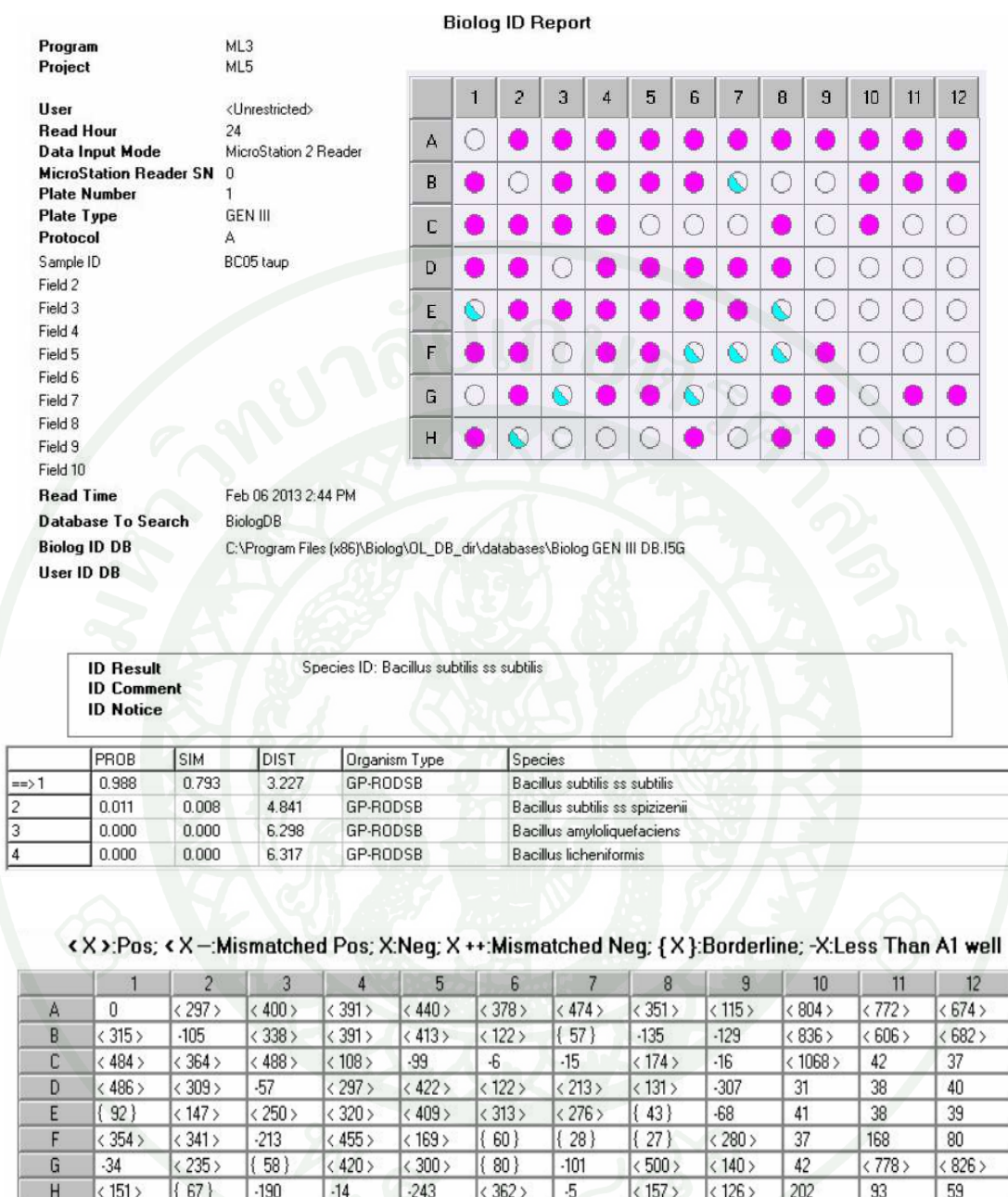
ภาพผนวกที่ ข1 แหล่งคาร์บอนและสารเคมีในชุดทดสอบ Biolog Gen III Micro plate™

ที่มา: Focus Biotech (2013)



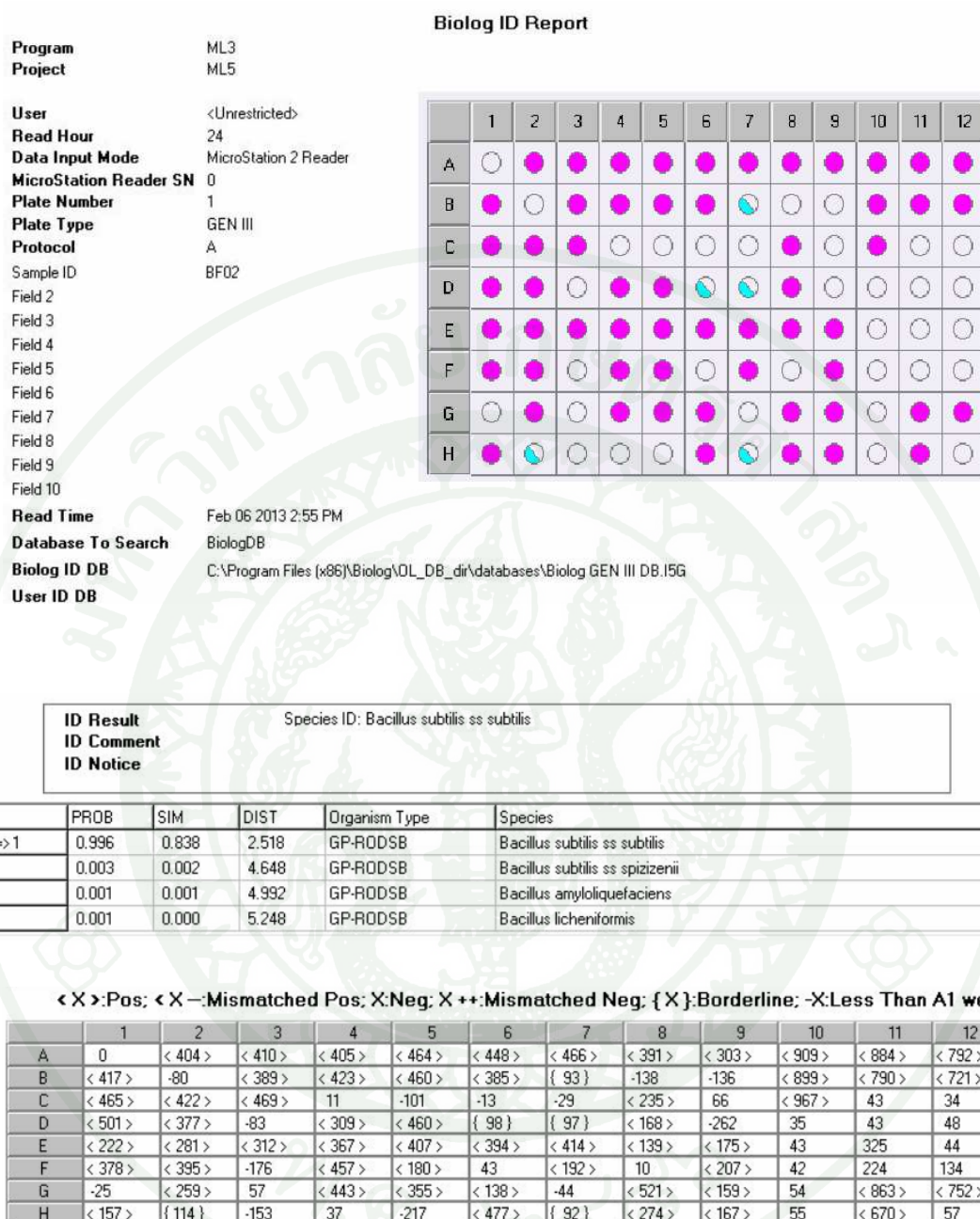
ภาพผนวกที่ ๒ ผลการจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท BC02 ด้วยวิธี Biolog Gen III

หมายเหตุ: สีม่วง คือ ผลการทดลองเป็นบวก (+) แสดงว่าเชื้อแบคทีเรียทดสอบมีการเจริญทำให้สีของอินดิเคเตอร์ (tetrazolium) เปลี่ยนสี
 ไม่มีสี คือ ผลการทดลองเป็นลบ (-) แสดงว่าเชื้อแบคทีเรียทดสอบไม่เจริญ สีของอินดิเคเตอร์จึงไม่เปลี่ยนแปลง
 สีฟ้า/ไม่มีสี คือ ผลการทดลองเป็นได้ทั้งบวกและลบ (+/-) แสดงว่าเชื้อแบคทีเรียทดสอบมีการเจริญได้เล็กน้อย ทำให้สีของอินดิเคเตอร์เปลี่ยนแปลงไปเล็กน้อย



ภาพผนวกที่ ๓ ผลการจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท BC05 ด้วยวิธี Biolog Gen III

หมายเหตุ: สีม่วง คือ ผลการทดลองเป็นบวก (+) แสดงว่าเชื้อแบคทีเรียทดสอบมีการเจริญทำให้สีของอินดิเคเตอร์ (tetrazolium) เปลี่ยนสี
 ไม่มีสี คือ ผลการทดลองเป็นลบ (-) แสดงว่าเชื้อแบคทีเรียทดสอบไม่เจริญ สีของอินดิเคเตอร์จึงไม่เปลี่ยนแปลง
 สีฟ้า/ไม่มีสี คือ ผลการทดลองเป็นได้ทั้งบวกและลบ (+/-) แสดงว่าเชื้อแบคทีเรียทดสอบมีการเจริญได้เล็กน้อย ทำให้สีของอินดิเคเตอร์เปลี่ยนแปลงไปเล็กน้อย



ภาพผนวกที่ ข4 ผลการจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท BF02 ด้วยวิธี Biolog Gen III

หมายเหตุ: สีม่วง คือ ผลการทดลองเป็นบวก (+) แสดงว่าเชื้อแบคทีเรียทดสอบมีการเจริญทำให้สีของอินดิเคเตอร์ (tetrazolium) เปลี่ยนสี
 ไม่มีสี คือ ผลการทดลองเป็นลบ (-) แสดงว่าเชื้อแบคทีเรียทดสอบไม่เจริญ สีของอินดิเคเตอร์จึงไม่เปลี่ยนแปลง
 สีฟ้า/ไม่มีสี คือ ผลการทดลองเป็นได้ทั้งบวกและลบ (+/-) แสดงว่าเชื้อแบคทีเรียทดสอบมีการเจริญได้เล็กน้อย ทำให้สีของอินดิเคเตอร์เปลี่ยนแปลงไปเล็กน้อย



ภาคผนวก ค

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วย

โปรแกรม SPSS (Statistics Package for the Social Sciences) version 11.5

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

	N
TRT1 NB(control)	3
Pellet	3
Supernatan	3
Suspension	3
REP1 1	4
2	4
3	4

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: ๑๒๓๔๕๖๗๘๙๐

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.073 ^a	5	.015	.208	.947
Intercept	62.472	1	62.472	897.050	.000
TRT1	.070	3	.023	.335	.801
REP1	.003	2	.001	.019	.981
Error	.418	6	.070		
Total	62.962	12			
Corrected Total	.490	11			

a. R Squared = .148 (Adjusted R Squared = -.562)

Post Hoc Tests

TRT1

REP1

Homogeneous Subsets

Homogeneous Subsets

๑๒๓๔๕๖๗๘๙๐

๑๒๓๔๕๖๗๘๙๐

Duncan^{a,b}

Duncan^{a,b}

TRT1	N	Subset
		1
Suspension	3	2.1767
Pellet	3	2.2467
NB(control)	3	2.3267
Supernatan	3	2.3767
Sig.		.407

REP1	N	Subset
		1
1	4	2.2700
3	4	2.2725
2	4	2.3025
Sig.		.871

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .070.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .070.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

b. Alpha = .05.

ภาพผนวกที่ ค1 ผลวิเคราะห์การทดสอบหาวิธีที่เหมาะสมในการใช้เชื้อแบคทีเรีย (*B. subtilis* B2) ไปใช้ในการส่งเสริมผลผลิตของเห็ดฟาง (สายพันธุ์อยู่ธยา) ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 1 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

	N
TRT3	
ไม่ฉีดพ่น (control)	3
NB(control)	3
Pellet	3
Supernat	3
Suspension	3
REP3	
1	5
2	5
3	5

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: อยุณย3

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	5.115 ^a	6	.853	20.005	.000
Intercept	143.964	1	143.964	3378.249	.000
TRT3	4.746	4	1.187	27.845	.000
REP3	.369	2	.184	4.326	.053
Error	.341	8	.043		
Total	149.420	15			
Corrected Total	5.456	14			

a. R Squared = .938 (Adjusted R Squared = .891)

Post Hoc Tests

TRT3

Homogeneous Subsets

อยุณย3

Duncan^{a,b}

TRT3	N	Subset	
		1	2
NB(control)	3	2.4000	
ไม่ฉีดพ่น (control)	3	2.4233	
Pellet	3		3.5033
Supernat	3		3.5200
Suspension	3		3.6433
Sig.		.893	.448

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square(Error) = .043.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

REP3

Homogeneous Subsets

อยุณย3

Duncan^{a,b}

REP3	N	Subset	
		1	2
3	5	2.9240	
2	5	3.0660	3.0660
1	5		3.3040
Sig.		.308	.106

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square(Error) = .043.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

b. Alpha = .05.

ภาพผนวกที่ 2 ผลวิเคราะห์การทดสอบหาวิธีที่เหมาะสมในการใช้เชื้อแบคทีเรีย (*B. subtilis* B2) ไปใช้ในการส่งเสริมผลผลิตของเห็ดฟาง (สายพันธุ์อุยธยา) ครั้งที่ 2 โรงเรือนที่ 1 ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



ภาคผนวก ง
ผลการทดลองในโรงเรือนทดลอง

ตารางผนวกที่ ง1 ผลผลิตการทดสอบหาวิธีที่เหมาะสมในการใช้เชื้อแบคทีเรีย (*B. subtilis* B2) ไปใช้ในการส่งเสริมผลผลิตของเห็ดฟาง (สายพันธุ์อยุธยา) ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 1 (ระหว่างวันที่ 9-25 กันยายน 2554)

การทดสอบ		ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์อยุธยา โรงเรือนที่ 2 (กิโลกรัม)										
วิธีทดสอบ	ซ้ำที่	19-9-54	20-9-54	21-9-54	22-9-54	23-9-54	24-9-54	25-9-54	น้ำหนักรวม 5 วัน	น้ำหนักรวม	น้ำหนักเฉลี่ยรวม	น้ำหนักเฉลี่ย/ตร.ม.
NB	1	2.0	2.5	2.0	1.4	0.5	0.1	0.3	8.8			
	2	2.0	2.5	1.8	1.3	0.8	-	0.4	8.8	27.9	9.30	2.33
	3	1.1	2.5	3.0	2.0	1.0	0.5	0.2	10.3			
Supernatant	1	1.2	2.5	2.5	2.0	1.1	0.4	0.1	9.8			
	2	2.2	2.5	1.5	1.5	1.1	-	0.2	9.0	28.5	9.50	2.38
	3	2.0	3.5	2.2	1.1	0.6	0.2	0.1	9.7			
Pellet	1	2.3	3.0	2.1	1.5	0.5	-	0.5	9.9			
	2	1.3	3.5	2.0	1.2	1.1	-	0.4	9.5	26.9	8.97	2.24
	3	2.0	2.0	2.0	1.0	0.5	-	-	7.5			
Suspension	1	2.1	2.0	2.0	1.0	0.6	-	0.1	7.8			
	2	1.0	2.5	3.1	1.6	0.6	0.5	0.2	9.5	26.1	8.70	2.18
	3	1.5	2.4	2.0	1.5	1.0	-	0.4	8.8			
ผลผลิตรวมทั้งโรงเรือน (กิโลกรัม)										109.4	36.5	9.1

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่มีผลผลิต

ตารางผนวกที่ ๒ ผลผลิตการทดสอบหาวิธีที่เหมาะสมในการใช้เชื้อแบคทีเรีย (*B. subtilis* B2) ไปใช้ในการส่งเสริมผลผลิตของเห็ดฟาง (สายพันธุ์อุยธยา) ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 2 (ระหว่างวันที่ 9-25 กันยายน 2554)

การทดสอบ		ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์อุยธยา โรงเรือนที่ 2 (กิโลกรัม)										
วิธีทดสอบ	ซ้ำที่	19-9-54	20-9-54	21-9-54	22-9-54	23-9-54	24-9-54	25-9-54	น้ำหนักรวม 5 วัน	น้ำหนักรวม	น้ำหนักเฉลี่ยรวม	น้ำหนักเฉลี่ย/ตร.ม.
NB	1	0.8	1.5	2.0	1.1	-	0.5	0.6	6.5			
	2	1.4	2.8	1.9	1.5	0.6	0.4	0.3	8.9	25.0	8.33	2.08
	3	1.6	3.5	2.0	1.1	0.4	0.4	0.6	9.6			
Supernatant	1	2.1	2.0	1.5	0.9	-	0.4	0.6	7.5			
	2	0.5	1.6	2.5	1.4	0.4	0.6	0.4	7.4	25.7	8.57	2.14
	3	2.1	3.5	3.0	1.0	-	0.2	1.0	10.8			
Pellet	1	1.6	1.8	1.5	1.0	-	0.5	0.8	7.2			
	2	2.0	3.1	2.0	1.3	0.2	0.2	0.5	9.3	24.3	8.10	2.03
	3	0.6	2.0	2.5	1.2	0.5	0.5	0.5	7.8			
Suspension	1	2.2	3.1	2.0	1.0	-	0.2	0.4	8.9			
	2	2.0	2.5	1.5	1.4	0.1	0.2	0.5	8.2	26.5	8.83	2.21
	3	2.2	3.0	2.0	1.2	0.2	0.5	0.3	9.4			
ผลผลิตรวมทั้งโรงเรือน (กิโลกรัม)										101.5	33.8	8.5

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่มีผลผลิต

ตารางผนวกที่ ง3 ผลผลิตการทดสอบหาวิธีที่เหมาะสมในการใช้เชื้อแบคทีเรีย (*B. subtilis* B2) ไปใช้ในการส่งเสริมผลผลิตของเห็ดฟาง (สายพันธุ์อุยยูยา) ครั้งที่ 2 โรงเรือนที่ 1 (ระหว่างวันที่ 19 กุมภาพันธ์-13 มีนาคม 2555)

การทดสอบ		ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์อุยยูยา โรงเรือนที่ 1 (กิโลกรัม)															
วิธีทดสอบ	ซ้ำที่													น้ำหนักรวม	น้ำหนักรวม 11 วัน	น้ำหนักรวมเฉลี่ยรวม	น้ำหนักรวมเฉลี่ย/ตรม.
		2-3-55	3-3-55	4-3-55	5-3-55	6-3-55	7-3-55	8-3-55	9-3-55	10-3-55	11-3-55	12-3-55					
NB	1	0.7	1.2	1.5	1.5	2.1	1.7	1.0	1.0	0.5	0.5	0.1	11.8				
	2	0.5	1.1	1.2	1.4	1.0	1.2	0.5	0.5	0.3	0.2	0.3	8.2	28.8	9.6	2.40	
	3	1.0	1.2	1.2	1.8	1.0	1.4	0.5	0.5	-	0.2	-	8.8				
Supernatant	1	2.2	4.1	3.5	2.0	1.3	1.0	0.5	0.2	-	-	-	14.8				
	2	1.8	4.0	3.1	1.9	1.1	1.0	0.7	0.3	0.1	0.1	0.2	14.3	42.2	14.1	3.52	
	3	1.8	3.8	2.7	2.0	1.2	0.8	0.3	0.3	0.2	-	-	13.1				
Pellet	1	2.4	4.1	3.2	1.8	1.2	1.0	0.4	0.1	0.1	-	0.1	14.4				
	2	2.2	4.2	2.8	2.0	1.1	0.9	0.4	0.1	0.5	0.2	0.1	14.5	42.0	14.0	3.50	
	3	2.1	4.0	2.5	1.6	1.3	1.0	0.4	0.2	-	-	-	13.1				
Suspension	1	2.4	4.0	3.0	1.5	2.0	1.0	0.6	0.5	0.2	-	0.2	15.4				
	2	2.3	4.1	3.0	2.1	1.4	0.7	0.3	0.2	0.2	-	-	14.3	43.7	14.6	3.64	
	3	2.0	4.1	3.0	2.5	1.5	0.5	0.3	0.1	-	-	-	14.0				
ผลรวมทั้งโรงเรือน (กิโลกรัม)														156.7	52.2	13.1	

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่มีผลผลิต

ตารางผนวกที่ ๔ ผลผลิตการทดสอบหาวิธีที่เหมาะสมในการใช้เชื้อแบคทีเรีย (*B. subtilis* B2) ไปใช้ในการส่งเสริมผลผลิตของเห็ดฟาง (สายพันธุ์อุยธยา) ครั้งที่ 2 โรงเรือนที่ 2 (ระหว่างวันที่ 19 กุมภาพันธ์-13 มีนาคม 2555)

การทดสอบ		ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์อุยธยา โรงเรือนที่ 2 (กิโลกรัม)															
วิธีทดสอบ	ซ้ำที่	2-3-55	3-3-55	4-3-55	5-3-55	6-3-55	7-3-55	8-3-55	9-3-55	10-3-55	11-3-55	12-3-55	13-3-56	น้ำหนักรวม	น้ำหนักรวม 11 วัน	น้ำหนักเฉลี่ยรวม	น้ำหนักเฉลี่ย/ตรม.
NB	1	-	-	1.0	1.5	1.6	2.1	1.6	1.5	1.0	0.6	0.5	0.6	12.0			
	2	-	-	1.2	1.3	2.0	2.2	1.8	1.2	1.0	0.8	0.5	0.5	12.5	39.1	13.0	3.26
	3	1.0	1.4	2.5	2.7	2.2	1.5	1.0	0.3	0.5	0.5	0.5	0.5	14.6			
Supernatant	1	2.3	3.5	3.7	3.0	2.0	1.5	1.1	0.8	0.5	0.5	0.2	0.2	19.3			
	2	1.0	1.0	2.8	2.5	2.1	1.5	1.0	0.9	0.5	0.4	0.1	-	13.8	47.4	15.8	3.95
	3	1.2	2.7	2.7	2.5	2.1	1.6	0.8	0.4	0.2	-	-	0.1	14.3			
Pellet	1	2.0	3.1	3.5	3.5	2.8	1.4	1.0	0.6	0.5	0.6	0.4	0.4	19.8			
	2	2.0	3.3	3.4	2.6	2.0	1.2	0.8	0.6	0.4	0.5	0.5	0.5	17.8	54.8	18.3	4.57
	3	2.0	3.5	3.6	2.8	2.3	1.2	1.0	0.5	0.2	-	-	0.1	17.2			
Suspension	1	1.0	3.0	3.2	3.0	2.5	1.5	1.2	1.1	1.0	0.4	0.4	0.1	18.4			
	2	2.5	3.0	3.2	3.0	2.4	1.3	1.0	0.5	0.3	0.3	-	0.2	17.7	55.5	18.5	4.63
	3	2.1	3.8	3.5	3.0	2.4	1.3	1.1	1.0	0.5	0.3	0.2	0.2	19.4			
ผลผลิตรวมทั้งโรงเรือน (กิโลกรัม)															196.8	65.6	16.4

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่มีผลผลิต

ตารางผนวกที่ 5 ผลผลิตการทดสอบหาวิธีที่เหมาะสมในการใช้เชื้อแบคทีเรีย (*B. subtilis* B2) ไปใช้ในการส่งเสริมผลผลิตของเห็ดฟาง (สายพันธุ์อุยยูยา) ครั้งที่ 2 โรงเรือนที่ไม่มี การฉีดพ่น (control)

การทดสอบ		ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์อุยยูยา โรงเรือนไม่ฉีดพ่น (control) (กิโลกรัม)												
วิธีทดสอบ	แถวที่	ซ้ำที่	27-2-55	28-2-55	29-2-55	1-3-55	2-3-55	3-3-55	4-3-55	5-3-55	น้ำหนักรวม	น้ำหนักรวม 8 วัน	น้ำหนักเฉลี่ยรวม	น้ำหนักเฉลี่ย/ตร.ม.
ไม่ฉีดพ่น	1	1	1.5	2.2	2.2	1.7	1.1	0.2	-	-	8.9	38.7	9.68	2.42
		2	1.4	2.1	2.3	1.6	1.0	0.6	0.2	-	9.2			
		3	0.7	2.0	2.1	2.0	1.1	0.4	0.2	0.3	8.8			
		4	1.8	1.8	2.0	2.0	2.0	1.2	0.5	0.5	11.8			
ไม่ฉีดพ่น	2	1	2.0	1.5	2.4	1.5	1.0	0.2	0.1	-	8.7	39.9	9.98	2.49
		2	1.5	2.4	2.0	1.8	1.0	0.4	0.2	-	9.3			
		3	2.5	2.3	2.0	2.0	1.3	0.3	0.3	0.4	11.1			
		4	2.0	2.5	1.0	2.1	1.6	0.5	0.6	0.5	10.8			
ไม่ฉีดพ่น	3	1	2.0	2.0	2.0	1.4	1.0	0.3	0.1	-	8.8	37.7	9.43	2.36
		2	2.0	2.1	1.8	1.7	0.8	0.3	0.2	-	8.9			
		3	1.5	2.1	1.5	2.1	1.3	1.1	0.2	0.2	10.0			
		4	1.2	1.4	1.5	2.2	1.8	1.1	0.3	0.5	10.0			
ผลผลิตรวมทั้งโรงเรือน (กิโลกรัม)												116.3	29.1	7.3

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่มีผลผลิต

ตารางผนวกที่ ๖ ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์ยูธยา จากการทดลองคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีความเหมาะสมกับสายพันธุ์ของเห็ดฟาง ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 1 (ระหว่างวันที่ 15 มิถุนายน-6 กรกฎาคม 55)

การทดสอบ		ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์ยูธยา โรงเรือนที่ 1 (กิโลกรัม)															
วิธีทดสอบ	ซ้ำที่	25-6-55	26-6-55	27-6-55	28-6-55	29-6-55	30-6-55	1-7-55	2-7-55	3-7-55	4-7-55	5-7-55	6-7-55	น้ำหนักรวม	น้ำหนักรวม 12 วัน	น้ำหนักเฉลี่ยรวม	น้ำหนักเฉลี่ย/ตร.ม.
BC05	1	1.0	1.6	1.8	2.2	2.2	2.1	1.3	1.1	0.8	0.5	1.0	1.0	16.6			
	2	1.0	1.8	2.0	2.5	1.8	1.6	1.4	1.0	1.0	0.4	0.4	0.8	15.7	49.4	16.5	4.12
	3	1.0	2.1	2.0	2.0	2.4	1.8	1.2	0.9	0.8	1.0	1.3	0.6	17.1			
MK02	1	1.3	1.7	2.1	1.9	2.0	1.4	1.0	0.8	0.8	0.9	1.1	0.4	15.4			
	2	1.0	1.6	2.0	2.1	2.3	1.3	1.3	1.0	0.7	0.7	1.2	1.0	16.2	44.8	14.9	3.73
	3	1.2	1.8	1.7	2.0	1.2	1.0	1.0	0.5	0.3	0.6	1.2	0.7	13.2			
MA02	1	1.1	1.8	1.7	1.8	1.5	1.8	1.2	0.9	0.7	0.5	1.0	0.4	14.4			
	2	1.0	2.0	2.0	2.1	1.9	1.6	1.1	1.0	0.4	0.7	1.1	0.6	15.5	44.0	14.7	3.67
	3	1.1	1.5	1.9	2.0	2.0	1.6	1.1	1.1	0.6	0.4	0.3	0.5	14.1			
น้ำเปล่า (control)	1	1.1	1.7	2.0	2.0	1.5	1.5	1.2	0.5	0.5	0.5	1.0	0.9	14.4			
	2	1.1	2.0	2.0	2.4	2.0	1.6	1.5	1.2	1.1	0.9	0.5	0.2	16.5	46.2	15.4	3.85
	3	1.0	1.5	2.1	2.4	2.0	1.5	1.1	0.6	0.5	0.6	1.0	1.0	15.3			
ผลผลิตรวมทั้งโรงเรือน (กิโลกรัม)															184.4	61.5	15.4

ตารางผนวกที่ ง7 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์ Vvol-019 จากการทดลองคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีความเหมาะสมกับสายพันธุ์ของเห็ดฟาง ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 2 (ระหว่างวันที่ 15 มิถุนายน-6 กรกฎาคม 55)

การทดสอบ		ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-019 โรงเรือนที่ 2 (กิโลกรัม)															
วิธีทดสอบ	ซ้ำที่	25-6-55	26-6-55	27-6-55	28-6-55	29-6-55	30-6-55	1-7-55	2-7-55	3-7-55	4-7-55	5-7-55	6-7-55	น้ำหนักรวม	น้ำหนักรวม 12 วัน	น้ำหนักเฉลี่ยรวม	น้ำหนักเฉลี่ย/ตรม.
BC02	1	1.3	2.1	2.1	2.0	2.0	1.3	0.6	0.3	0.5	0.2	0.3	0.2	12.9			
	2	1.2	2.0	2.2	2.3	2.1	1.2	1.0	0.5	0.6	0.4	0.1	-	13.6	41.6	13.9	3.47
	3	1.6	2.0	1.8	1.8	2.0	1.5	1.3	1.1	1.0	0.6	0.2	0.2	15.1			
BF04	1	1.4	1.8	2.1	2.4	1.8	1.2	0.7	0.4	0.4	0.1	-	-	12.3			
	2	1.2	2.0	2.0	2.0	1.5	1.6	1.1	0.6	0.4	0.4	0.3	0.3	13.4	37.8	12.6	3.15
	3	1.1	1.9	1.7	2.0	1.7	1.1	0.5	0.5	1.0	0.5	0.1	-	12.1			
MK05	1	1.4	1.9	2.0	1.8	1.5	1.3	0.6	0.6	0.8	0.3	0.1	-	12.3			
	2	1.2	1.7	2.0	2.4	2.3	2.0	1.4	0.8	0.7	0.7	0.3	0.3	15.8	42.4	14.1	3.53
	3	1.5	1.7	1.8	2.0	1.6	1.4	1.2	1.0	0.6	0.5	0.5	0.5	14.3			
น้ำเปล่า (control)	1	1.1	1.5	2.0	2.2	2.0	1.7	1.0	0.8	0.6	0.3	-	-	13.2			
	2	1.2	2.0	2.2	2.3	2.0	1.4	0.9	0.5	0.5	0.2	0.2	-	13.4	39.1	13.0	3.26
	3	1.3	1.9	1.7	1.9	2.2	1.4	1.1	0.5	0.3	0.2	-	-	12.5			
ผลผลิตรวมทั้งโรงเรือน (กิโลกรัม)															160.9	53.6	13.4

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่มีผลผลิต

ตารางผนวกที่ ๘ ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์ Vvol-009 จากการทดลองคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีความเหมาะสมกับสายพันธุ์ของเห็ดฟาง ครั้งที่ 2 โรงเรือนที่ 1 (ระหว่างวันที่ 17 กรกฎาคม-4 สิงหาคม 55)

การทดสอบ		ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-009 โรงเรือนที่ 1 (กิโลกรัม)														
วิธีทดสอบ	ซ้ำที่	24-7-55	25-7-55	26-7-55	27-7-55	28-7-55	29-7-55	31-7-55	1-8-55	2-8-55	3-8-55	4-8-55	น้ำหนักรวม	น้ำหนักรวม 12 วัน	น้ำหนักเฉลี่ยรวม	น้ำหนักเฉลี่ย/ตรม.
BC05	1	1.2	4.5	4.6	2.3	2.0	0.2	1.0	1.0	1.0	0.5	0.3	18.6			
	2	1.5	4.5	4.6	2.0	1.5	0.6	1.1	0.9	0.5	0.8	0.3	18.3	55.9	18.6	4.7
	3	1.0	4.0	4.2	2.1	2.0	2.0	1.0	0.9	0.8	0.7	0.3	19.0			
BC03	1	1.5	4.5	4.5	2.0	1.4	0.5	1.0	1.0	0.6	0.5	0.5	18.0			
	2	1.0	4.1	4.2	1.8	1.6	0.5	0.6	1.0	0.6	0.8	0.6	16.8	53.1	17.7	4.4
	3	1.3	4.1	4.2	2.0	2.0	1.6	0.9	1.0	0.5	0.5	0.2	18.3			
BF02	1	1.2	4.0	4.3	2.4	2.1	1.0	0.8	1.0	0.7	0.7	0.7	18.9			
	2	1.3	4.6	4.4	1.8	1.2	0.4	1.2	0.8	0.4	0.5	0.5	17.1	55.7	18.6	4.6
	3	1.3	4.5	4.7	2.0	1.5	1.0	1.2	1.1	1.0	1.0	0.4	19.7			
NB (control)	1	1.0	4.0	4.5	2.0	1.9	0.5	0.5	1.2	1.0	0.6	0.5	17.7			
	2	1.0	4.3	4.5	1.5	1.5	0.8	0.5	1.0	1.0	0.8	0.3	17.2	54.2	18.1	4.5
	3	1.1	4.3	4.6	2.0	2.0	1.4	1.0	1.1	0.7	0.5	0.6	19.3			
ผลผลิตรวมทั้งโรงเรือน (กิโลกรัม)													218.9	73.0	18.2	

ตารางผนวกที่ 9 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์ Vvol-037 จากการทดลองคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีความเหมาะสมกับสายพันธุ์ของเห็ดฟาง ครั้งที่ 2 โรงเรือนที่ 2 (ระหว่างวันที่ 17 กรกฎาคม-4 สิงหาคม 55)

การทดสอบ		ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-037 โรงเรือนที่ 2 (กิโลกรัม)															
วิธีทดสอบ	ซ้ำที่	24-7-55	25-7-55	26-7-55	27-7-55	28-7-55	29-7-55	30-7-55	31-7-55	1-8-55	2-8-55	3-8-55	4-8-55	น้ำหนักรวม	น้ำหนักรวม 12 วัน	น้ำหนักเฉลี่ยรวม	น้ำหนักเฉลี่ย/ตรม.
BC05	1	1.5	4.7	4.7	2.0	0.8	0.8	1.0	1.2	0.5	0.6	1.0	0.3	19.1			
	2	1.5	4.0	4.2	2.5	0.4	0.3	0.6	0.8	0.8	0.3	-	0.2	15.6	55.7	18.6	4.6
	3	1.2	4.0	4.5	3.0	2.5	1.6	1.5	1.1	0.4	0.4	0.5	0.3	21.0			
BC03	1	1.3	4.0	4.5	1.6	0.8	0.4	1.1	0.8	0.6	0.2	-	0.2	15.5			
	2	1.6	4.0	4.6	1.8	1.0	1.0	0.4	0.5	0.3	0.3	-	-	15.5	49.2	16.4	4.1
	3	1.4	4.0	4.1	2.5	1.1	1.0	1.0	0.6	0.5	0.9	0.6	0.5	18.2			
BF02	1	1.5	4.6	4.5	2.1	0.5	0.4	0.7	1.0	0.4	0.3	0.8	0.6	17.4			
	2	1.5	4.7	4.5	2.0	0.5	1.0	0.8	0.4	0.5	0.7	0.4	0.3	17.3	50.6	16.9	4.2
	3	1.2	4.5	4.5	2.4	0.7	0.4	1.0	0.3	0.1	-	0.4	0.4	15.9			
NB (control)	1	1.2	4.0	4.4	1.6	0.7	0.7	0.5	0.6	0.6	0.5	0.3	0.5	15.6			
	2	1.5	4.6	4.8	1.8	1.0	0.3	0.1	-	0.2	-	0.2	-	14.5	46.4	15.5	3.9
	3	1.2	4.0	4.0	3.2	1.2	1.0	0.6	0.3	-	0.2	0.5	0.1	16.3			
ผลผลิตรวมทั้งโรงเรือน (กิโลกรัม)															201.9	67.3	16.8

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่มีผลผลิต

ตารางผนวกที่ 10 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์ Vvol-045 จากการทดลองคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มี
ความเหมาะสมกับสายพันธุ์ของเห็ดฟาง ครั้งที่ 3 โรงเรือนที่ 1 (ระหว่างวันที่ 21
สิงหาคม-4 กันยายน 55)

การทดสอบ		ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-045 โรงเรือนที่ 1 (กิโลกรัม)											
วิธีทดสอบ	ซ้ำที่	28-8-55	29-8-55	30-8-55	31-8-55	1-9-55	2-9-55	3-9-55	4-9-55	น้ำหนักรวม	น้ำหนักรวม 8 วัน	น้ำหนักเฉลี่ยรวม	น้ำหนักเฉลี่ย/ตร.ม.
MK07	1	2.2	2.2	2.2	2.1	2.0	1.1	0.9	0.5	13.2			
	2	1.8	1.8	2	2.3	1.5	1.5	1.0	1.0	12.9	40.4	13.47	3.37
	3	2.5	2.5	2.6	2.3	1.3	1.1	1.0	1.0	14.3			
7A/2(1)	1	2.4	2.5	2.5	2.2	2.0	1.3	1.0	0.8	14.7			
	2	2.3	2.3	2.3	2.2	1.3	1.0	0.8	0.7	12.9	41.0	13.67	3.42
	3	2.0	2.5	2.5	2.4	1.5	1.0	1.0	0.5	13.4			
NB (control)	1	3.0	2.6	2.8	2.4	1.7	1.5	1.1	0.7	15.8			
	2	2.5	2.5	2.7	2	1.4	1.0	1.0	0.8	13.9	43.7	14.57	3.64
	3	2.2	2.3	2.2	2.6	1.8	1.3	1.1	0.5	14.0			
น้ำเปล่า (control)	1	2.0	2.2	2.3	2.3	1.6	1.5	1.2	1.0	14.1			
	2	2.3	2.3	2.2	2.4	1.4	1.2	1.1	1.0	13.9	41.0	13.67	3.42
	3	1.7	2.0	2.5	2.0	1.6	1.2	1.0	1.0	13.0			
ผลผลิตรวมทั้งโรงเรือน (กิโลกรัม)											166.1	55.4	13.8

ตารางผนวกที่ 11 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์ Vvol-071 จากการทดลองคัดเลือกเชื้อแบบคที่เรียที่มี
ความเหมาะสมกับสายพันธุ์ของเห็ดฟาง ครั้งที่ 3 โรงเรือนที่ 2 (ระหว่างวันที่ 21
สิงหาคม-4 กันยายน 55)

การทดสอบ		ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-071 โรงเรือนที่ 2 (กิโลกรัม)											
วิธีทดสอบ	ซ้ำที่	28-8-55	29-8-55	30-8-55	31-8-55	1-9-55	2-9-55	3-9-55	4-9-55	น้ำหนักรวม	น้ำหนักรวม 8 วัน	น้ำหนักเฉลี่ยรวม	น้ำหนักเฉลี่ย/ตร.ม.
MK07	1	1.5	1.5	2.3	2.1	2.3	2.1	1.2	0.5	13.5			
	2	1.2	1.7	2.2	2.6	2.2	1.6	1.6	1.0	14.1	40.4	13.47	3.37
	3	1.4	1.5	2.0	2.2	2.1	2.0	1.3	0.3	12.8			
7A/2(1)	1	1.5	1.5	2.0	2.2	2.4	2.0	1.7	1.2	14.5			
	2	1.5	1.6	2.0	2.2	2.4	1.9	1.2	1.0	13.8	41.6	13.87	3.47
	3	1.5	1.5	2.1	2.1	2.3	1.8	1.4	0.6	13.3			
NB (control)	1	1.5	1.8	2.0	2.4	2.4	2.1	1.2	0.6	14			
	2	1.4	1.4	2.0	2.0	2.2	2	1.3	0.8	13.1	41.9	13.97	3.49
	3	1.6	1.8	2.2	2.5	2.1	2.3	1.5	0.8	14.8			
น้ำเปล่า (control)	1	1.2	1.2	1.6	2.2	2.0	1.8	1.3	1.1	12.4			
	2	1.2	1.4	1.8	1.8	2.0	2.4	2.0	1.0	13.6	40.5	13.50	3.38
	3	1.6	1.6	2.0	2.0	2.4	2.1	1.8	1.0	14.5			
ผลผลิตรวมทั้งโรงเรือน (กิโลกรัม)											164.4	54.8	13.7

ตารางผนวกที่ 12 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์ Vvol-024 จากการทดลองคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีความเหมาะสมกับสายพันธุ์ของเห็ดฟาง ครั้งที่ 4 โรงเรือนที่ 1 (ระหว่างวันที่ 18 กันยายน-3 ตุลาคม 55)

การทดสอบ		ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-024 โรงเรือนที่ 1 (กิโลกรัม)										
วิธีทดสอบ	ซ้ำที่	27-9-55	28-9-55	29-9-55	30-9-55	1-10-55	2-10-55	3-10-55	น้ำหนักรวม	น้ำหนักรวม 7 วัน	น้ำหนักเฉลี่ยรวม	น้ำหนักเฉลี่ย/ตร.ม.
MK07	1	2.0	3.8	4.1	3.5	1.6	1	-	16			
	2	1	2.2	3.7	2.8	3	1	0.2	13.9	44.5	14.83	3.71
	3	1.5	2.8	3	3.5	2.1	1.5	0.2	14.6			
7A/2(1)	1	1.2	3.8	4.2	3.7	2.0	2	0.4	17.3			
	2	1.2	3.5	4	3	2.2	0.6	0.1	14.6	44.8	14.93	3.73
	3	-	2.7	3.4	3.5	2	1.1	0.2	12.9			
NB (control)	1	2.1	3.5	3.5	3	2.2	1.3	0.1	15.7			
	2	1.2	3.2	3.5	3.5	2	1.4	-	14.8	43.2	14.40	3.60
	3	0.8	2.8	3.4	2.8	2.2	0.7	-	12.7			
น้ำเปล่า (control)	1	0.5	3.4	3.8	3.5	2.4	1.2	-	14.8			
	2	0.7	2.8	3	3.8	1.8	1.2	0.3	13.6	44.2	14.73	3.68
	3	1.4	3.8	4.2	3.0	2.5	0.8	0.1	15.8			
ผลผลิตรวมทั้งโรงเรือน (กิโลกรัม)										176.7	58.9	14.7

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่มีผลผลิต

ตารางผนวกที่ 13 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์ Vvol-029 จากการทดลองคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีความเหมาะสมกับสายพันธุ์ของเห็ดฟาง ครั้งที่ 4 โรงเรือนที่ 2 (ระหว่างวันที่ 18 กันยายน-3 ตุลาคม 55)

การทดสอบ		ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-029 โรงเรือนที่ 2 (กิโลกรัม)											
วิธีทดสอบ	ซ้ำที่	27-9-55	28-9-55	29-9-55	30-9-55	1-10-55	2-10-55	3-10-55	น้ำหนักรวม	น้ำหนักรวม 7 วัน	น้ำหนักเฉลี่ยรวม	น้ำหนักเฉลี่ย/ตร.ม.	
NB (control)	MK07	1	1	3.5	3.6	2.5	1.5	0.3	0.1	12.5			
		2	1.6	3	4	2.1	1.1	0.1	0.1	12	38.0	12.67	3.17
		3	1.8	3.8	3.7	3	1	0.1	0.1	13.5			
	7A/2(1)	1	1.5	2.5	3.2	2	2	1.0	-	12.2			
		2	1.5	3.5	3.4	2.1	1	0.1	0.3	11.9	37.7	12.57	3.14
		3	-	3.5	3.5	3.7	2.5	0.3	0.1	13.6			
	(control)	1	1.1	3	3.0	3	2.5	0.2	-	12.8			
		2	1.6	3.8	4.0	2.7	1.5	0.4	0.2	14.2	39.5	13.17	3.29
		3	1.2	4	3.5	2.5	1.1	0.2	-	12.5			
น้ำเปล่า (control)	1	1.5	4	3	3.1	1.2	0.7	-	13.5				
	2	1.5	3.7	3.5	3.1	1.5	0.2	-	13.5	39.7	13.23	3.31	
	3	1.2	3	3.1	3.0	2	0.4	-	12.7				
ผลผลิตรวมทั้งโรงเรือน (กิโลกรัม)										154.9	51.6	12.9	

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่มีผลผลิต

ตารางผนวกที่ 14 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์ยูธยา โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD วิธีที่ 1 ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 1 (ระหว่างวันที่ 6-24 มีนาคม 56)

การทดสอบ		ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์ยูธยา โรงเรือนที่ 1 (กิโลกรัม)										
วิธีทดสอบ	แถวที่	ซ้ำที่	18-3-56	19-3-56	20-3-56	21-3-56	22-3-56	23-3-56	24-3-56	น้ำหนักรวม	น้ำหนักรวม 7 วัน	น้ำหนักเฉลี่ย/ตร.ม.
BC02	1	1	0.2	0.2	0.2	0.3	0.2	0.1	0.2	1.4	6.7	1.68
		2	0.3	0.5	0.3	0.2	0.5	0.2	0.3	2.3		
		3	0.4	0.4	0.2	-	0.1	0.2	0.4	1.7		
		4	0.3	0.4	0.2	0.1	0.1	0.2	-	1.3		
	2	1	0.1	0.5	0.2	0.4	0.1	0.1	0.2	1.2	5.4	1.35
		2	0.2	0.2	0.2	0.3	-	0.1	0.3	1.3		
		3	0.4	0.1	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1	1.3		
		4	0.4	0.4	0.2	0.2	0.2	-	0.2	1.6		
	3	1	0.2	0.1	0.2	0.2	0.1	-	0.1	0.9	5.3	1.33
		2	0.2	0.1	0.1	0.3	0.2	0.2	0.1	1.2		
		3	0.6	0.4	0.2	0.3	0.1	0.2	0.1	1.9		
		4	0.4	0.2	0.1	0.4	0.1	-	0.1	1.3		
	ผลผลิตรวมการฉีดพ่นด้วย BC02 (กิโลกรัม)										17.4	4.4
BC03	1	1	0.1	0.4	0.2	0.1	0.1	-	-	0.9	5.1	1.28
		2	0.2	0.4	0.3	0.4	0.1	-	0.3	1.7		
		3	0.1	0.6	0.1	0.4	0.2	0.1	0.2	1.7		
		4	0.3	0.2	0.1	0.1	-	-	0.1	0.8		
	2	1	0.4	0.5	0.3	-	-	-	0.1	1.3	5.5	1.38
		2	0.4	0.5	0.2	0.5	0.2	-	0.1	1.9		
		3	0.1	0.3	0.1	0.3	-	0.1	0.1	1.0		
		4	0.3	0.2	0.1	0.1	0.4	0.2	-	1.3		
	3	1	0.1	0.1	0.2	0.1	-	-	0.3	0.8	4.8	1.20
		2	0.3	0.2	0.1	0.1	0.2	0.1	0.4	1.4		
		3	0.3	0.2	0.1	0.2	-	0.2	-	1.0		
		4	0.4	0.2	0.1	0.5	0.2	-	0.2	1.6		
	ผลผลิตรวมการฉีดพ่นด้วย BC03 (กิโลกรัม)										15.4	3.9

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่มีผลผลิต

ตารางผนวกที่ ง14 (ต่อ)

การทดสอบ			ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์ยูริยา โรงเรือนที่ 1 (กิโลกรัม)									
วิธีทดสอบ	แถวที่	ซ้ำที่	18-3-56	19-3-56	20-3-56	21-3-56	22-3-56	23-3-56	24-3-56	น้ำหนักรวม	น้ำหนักรวม 7 วัน	น้ำหนักเฉลี่ย/ตร.ม.
B. subtilis B2	1	1	0.1	0.3	0.2	0.2	0.1	-	0.2	1.1	5.5	1.38
		2	0.1	0.3	0.1	0.3	0.2	-	0.4	1.4		
		3	0.1	0.1	0.2	0.5	0.1	-	0.2	1.2		
		4	0.2	0.6	0.3	0.2	0.2	0.2	0.1	1.8		
	2	1	0.2	0.6	0.2	0.1	-	-	0.2	1.3	5.1	1.28
		2	0.1	0.3	0.1	-	0.1	0.1	0.3	1.0		
		3	0.2	0.3	0.2	0.3	0.1	-	0.2	1.3		
		4	0.3	0.4	0.3	0.1	0.1	0.2	0.1	1.5		
	3	1	0.3	0.2	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2	1.3	4.8	1.20
		2	0.3	0.1	0.2	-	0.1	0.1	0.1	0.9		
		3	0.4	0.3	0.2	0.1	0.1	-	0.1	1.2		
		4	0.3	0.3	0.2	0.4	0.2	-	-	1.4		
	ผลผลิตรวมการฉีดพ่นด้วย B. subtilis B2 (กิโลกรัม)											15.4
ไม่ฉีดพ่น (control)	1	1	0.1	0.2	0.1	0.1	-	0.2	0.1	0.8	4.5	1.13
		2	0.2	0.3	0.2	0.2	0.1	0.2	0.4	1.6		
		3	0.3	0.4	0.4	0.1	0.1	0.1	0.3	1.7		
		4	0.1	0.2	0.1	-	-	-	-	0.4		
	2	1	0.2	0.4	0.1	0.3	0.1	0.1	0.3	1.5	5.2	1.30
		2	0.1	0.3	0.1	0.4	-	0.2	0.2	1.3		
		3	0.2	0.2	0.1	0.4	-	0.1	0.3	1.3		
		4	0.2	0.3	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	1.1		
	3	1	0.2	0.4	0.1	-	-	-	0.3	1.0	4.4	1.10
		2	0.2	0.1	0.1	0.2	0.2	-	0.2	1.0		
		3	0.3	0.6	0.2	0.1	-	0.1	0.1	1.4		
		4	0.2	0.1	0.1	0.4	0.1	0.1	-	1.0		
	ผลผลิตรวมการไม่ฉีดพ่น (control) (กิโลกรัม)											14.1

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่มีผลผลิต

ตารางผนวกที่ 15 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์อูยูรยา โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD วิธีที่ 1 ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 2 (ระหว่างวันที่ 6-24 มีนาคม 56)

การทดสอบ			ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์อูยูรยา โรงเรือนที่ 2 (กิโลกรัม)										
วิธีทดสอบ	แถวที่	ซ้ำที่	18-3-56	19-3-56	20-3-56	21-3-56	22-3-56	23-3-56	24-3-56	น้ำหนักรวม	น้ำหนักรวม 7 วัน	น้ำหนักเฉลี่ย/ตร.ม.	
BC05	1	1	0.3	0.2	0.1	-	-	-	-	0.6	4.6	1.15	
		2	0.4	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	1.1			
		3	0.5	0.4	0.2	0.2	-	-	0.2	1.5			
		4	0.2	0.2	0.3	0.4	0.2	0.1	-	1.4			
	2	1	0.3	0.2	-	0.2	0.1	0.1	0.5	1.4	4.1	1.03	
		2	0.3	0.4	0.1	0.1	0.2	-	0.5	1.6			
		3	0.3	0.1	-	0.2	-	-	-	0.6			
		4	0.1	0.1	-	0.1	-	0.2	-	0.5			
	3	1	0.2	0.1	0.1	-	0.3	0.2	-	0.9	3.7	0.93	
		2	0.3	0.2	0.1	-	0.1	0.2	-	0.9			
		3	0.2	0.2	-	-	-	0.2	-	0.6			
		4	0.2	0.4	-	0.3	0.3	0.1	-	1.3			
	ผลผลิตรวมการด้วยพันธุ์ด้วย BC05 (กิโลกรัม)										12.4	3.1	
	BF02	1	1	0.2	0.3	0.1	-	-	-	-	0.6	4.6	1.15
			2	0.3	0.2	0.2	-	0.1	0.2	0.2	1.2		
			3	0.7	0.2	0.1	-	-	-	-	1.0		
4			0.2	0.3	0.3	0.7	0.2	0.1	-	1.8			
2		1	0.2	0.2	-	0.2	0.1	0.2	0.1	1.0	4.7	1.18	
		2	0.6	0.3	0.1	0.3	-	-	0.6	1.9			
		3	0.6	0.3	0.1	-	0.1	-	-	1.1			
		4	0.1	0.1	0.2	0.2	0.1	-	-	0.7			
3		1	0.3	0.2	0.1	0.2	0.2	0.1	-	1.1	4.3	1.08	
		2	0.4	0.3	0.2	0.2	0.1	0.2	-	1.4			
		3	0.1	0.3	0.1	-	0.2	0.1	-	0.8			
		4	0.3	0.1	0.1	0.3	0.2	-	-	1.0			
ผลผลิตรวมการด้วยพันธุ์ด้วย BF02 (กิโลกรัม)										13.6	3.4		

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่มีผลผลิต

ตารางผนวกที่ 15 (ต่อ)

การทดสอบ			ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์อยุธยา โรงเรือนที่ 2 (กิโลกรัม)									
วิธีทดสอบ	แถวที่	ซ้ำที่	18-3-56	19-3-56	20-3-56	21-3-56	22-3-56	23-3-56	24-3-56	น้ำหนักรวม	น้ำหนักรวม 7 วัน	น้ำหนักเฉลี่ย/ตร.ม.
B. subtilis พลายแก้ว	1	1	0.4	0.4	0.1	-	0.1	-	0.5	1.5	6.3	1.58
		2	0.6	0.3	0.2	-	0.2	0.1	0.2	1.6		
		3	0.3	0.2	0.1	0.8	0.2	0.2	0.5	2.3		
		4	0.4	0.1	0.1	0.2	0.1	-	-	0.9		
	2	1	0.2	0.3	0.2	0.3	-	0.1	0.1	1.2	4.1	1.03
		2	0.5	0.1	0.1	0.1	-	-	0.6	1.4		
		3	0.3	0.2	0.1	0.1	-	0.1	-	0.8		
		4	0.2	0.3	0.2	-	-	-	-	0.7		
	3	1	0.2	0.1	0.2	-	-	-	-	0.5	2.7	0.68
		2	0.3	0.3	-	0.1	-	-	-	0.7		
		3	0.2	0.1	-	0.2	-	-	-	0.5		
		4	0.3	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	-	1.0		
	ผลผลิตรวมการฉีดพ่นด้วย B. subtilis พลายแก้ว (กิโลกรัม)											13.1
ไม่ฉีดพ่น (control)	1	1	0.3	0.2	0.2	0.1	0.1	-	1.0	1.9	6.4	1.60
		2	0.6	0.2	0.1	0.2	0.3	0.3	-	1.7		
		3	0.4	0.4	0.1	0.3	0.1	-	0.2	1.5		
		4	0.6	0.1	0.1	0.2	0.1	0.2	-	1.3		
	2	1	0.4	0.3	0.1	0.1	-	-	0.1	1.0	4.3	1.08
		2	0.4	0.2	0.2	0.2	-	0.2	0.4	1.6		
		3	0.4	0.1	-	0.1	0.1	0.1	-	0.8		
		4	0.2	0.2	0.1	0.1	0.2	0.1	-	0.9		
	3	1	0.4	0.1	-	0.1	-	0.2	-	0.8	3.5	0.88
		2	0.5	0.1	0.1	0.1	0.1	-	-	0.9		
		3	0.1	0.3	0.1	0.1	0.2	-	-	0.8		
		4	0.1	0.3	0.2	0.2	0.1	0.1	-	1.0		
ผลผลิตรวมการไม่ฉีดพ่น (control) (กิโลกรัม)											14.2	3.6

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่มีผลผลิต

ตารางผนวกที่ 16 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์ Vvol-009 โดยวางแผนการทดลองแบบ
Randomized Complete Block Design; RCBD วิธีที่ 1 ครั้งที่ 2
โรงเรือนที่ 1 (ระหว่างวันที่ 10-22 เมษายน 56)

การทดสอบ			ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-009 โรงเรือนที่ 1 (กิโลกรัม)						
วิธีทดสอบ	แถวที่	ซ้ำที่	20-3-56	21-3-56	22-3-56	น้ำหนักรวม	น้ำหนักรวม 3 วัน	น้ำหนักเฉลี่ย/ตร.ม.	
BC02	1	1	0.3	0.6	0.2	1.1	4.4	1.10	
		2	0.4	0.65	0.75	1.8			
		3	0.2	0.8	0.3	1.3			
		4	-	0.1	0.2	0.3			
	2	1	0.3	0.6	0.3	1.2	4.7	1.17	
		2	0.2	0.6	0.2	1.0			
		3	0.3	0.7	0.43	1.4			
		4	-	0.4	0.75	1.2			
	3	1	0.3	0.9	0.02	1.2	5.1	1.28	
		2	0.2	0.6	-	0.8			
		3	0.4	1.3	0.45	2.2			
		4	-	0.5	0.55	1.0			
	ผลผลิตรวมการฉีดพ่นด้วย BC02 (กิโลกรัม)							14.2	3.6
	BC03	1	1	0.2	0.9	0.3	1.4	4.9	1.21
			2	0.3	0.95	0.3	1.55		
			3	0.4	0.6	0.4	1.4		
4			-	-	0.5	0.5			
2		1	0.3	0.8	0.05	1.15	5.2	1.30	
		2	0.3	1.35	0.2	1.85			
		3	0.4	0.6	0.4	1.4			
		4	-	0.3	0.55	0.8			
3		1	0.2	0.2	-	0.4	3.9	0.98	
		2	0.2	0.9	0.02	1.07			
		3	0.3	1.3	-	1.6			
		4	-	0.5	0.38	0.83			
ผลผลิตรวมการฉีดพ่นด้วย BC03 (กิโลกรัม)							14.0	3.5	

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่มีผลผลิต

ตารางผนวกที่ ง16 (ต่อ)

การทดสอบ		ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-009 โรงเรือนที่ 1 (กิโลกรัม)						
วิธีทดสอบ	แถวที่	ซ้ำที่	20-3-56	21-3-56	22-3-56	น้ำหนักรวม	น้ำหนักรวม 3 วัน	น้ำหนักเฉลี่ย/ตร.ม.
B. subtilis B2	1	1	0.3	0.7	0.05	1.05	3.9	0.98
		2	0.3	0.6	0.13	1.03		
		3	0.2	0.8	0.35	1.35		
		4	-	0.1	0.4	0.47		
	2	1	0.4	0.9	0.2	1.5	5.0	1.25
		2	0.3	0.5	0.04	0.79		
		3	0.2	0.9	0.04	1.09		
		4	0.2	0.5	0.9	1.6		
	3	1	0.3	0.6	0.02	0.92	5.0	1.24
		2	0.3	0.9	-	1.15		
		3	0.3	0.95	0.45	1.7		
		4	-	0.6	0.65	1.2		
	ผลผลิตรวมการฉีดพ่นด้วย B. subtilis B2 (กิโลกรัม)						13.9	3.5
ไม่ฉีดพ่น (control)	1	1	0.3	0.9	0.2	1.4	4.7	1.17
		2	0.3	0.7	0.2	1.2		
		3	0.3	0.9	0.04	1.19		
		4	-	0.1	0.8	0.9		
	2	1	0.2	0.7	0.45	1.35	5.4	1.34
		2	0.4	0.8	0.6	1.8		
		3	0.3	0.4	0.35	1.05		
		4	-	0.6	0.55	1.15		
	3	1	0.3	1.3	-	1.6	5.7	1.41
		2	0.3	0.8	-	1.1		
		3	0.4	0.9	0.45	1.75		
		4	-	0.5	0.7	1.2		
	ผลผลิตรวมการไม่ฉีดพ่น (control) (กิโลกรัม)						15.7	3.9

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่มีผลผลิต

ตารางผนวกที่ 17 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์ Vvol-009 โดยวางแผนการทดลองแบบ
Randomized Complete Block Design; RCBD วิธีที่ 1 ครั้งที่ 2 โรงเรือนที่ 2
(ระหว่างวันที่ 10-22 เมษายน 56)

การทดสอบ		ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-009 โรงเรือนที่ 2 (กิโลกรัม)						
วิธีทดสอบ	แถวที่	ซ้ำที่	20-3-56	21-3-56	22-3-56	น้ำหนักรวม	น้ำหนักรวม 3 วัน	น้ำหนักเฉลี่ย/ตร.ม.
BC05	1	1	0.4	0.65	0.2	1.2	4.6	1.15
		2	0.4	0.45	0.03	0.9		
		3	0.2	0.9	0.05	1.1		
		4	0.2	0.6	0.63	1.4		
	2	1	0.3	1.2	0.1	1.6	4.7	1.17
		2	0.3	0.6	-	0.9		
		3	0.3	1.0	0.37	1.7		
		4	0.2	0.4	-	0.6		
	3	1	0.3	0.3	-	0.6	2.9	0.72
		2	0.4	0.3	0.02	0.8		
		3	0.2	0.3	0.07	0.6		
		4	0.3	0.2	0.5	1.0		
	ผลผลิตรวมการฉีดพ่นด้วย BC05 (กิโลกรัม)						12.2	3.0
BF02	1	1	0.3	0.75	0.37	1.42	4.7	1.18
		2	0.3	0.9	0.11	1.31		
		3	0.2	0.7	0.02	0.87		
		4	0.4	0.2	0.52	1.12		
	2	1	0.3	0.4	0.07	0.77	4.0	1.00
		2	0.4	0.6	0.25	1.25		
		3	0.3	0.6	-	0.85		
		4	0.3	0.4	0.42	1.12		
	3	1	0.4	0.4	-	0.8	2.9	0.72
		2	0.3	0.4	0.02	0.67		
		3	0.3	0.1	0.38	0.78		
		4	0.2	0.43	-	0.63		
	ผลผลิตรวมการฉีดพ่นด้วย BF02 (กิโลกรัม)						11.6	2.9

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่มีผลผลิต

ตารางผนวกที่ 17 (ต่อ)

การทดสอบ		ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-009 โรงเรือนที่ 2 (กิโลกรัม)						
วิธีทดสอบ	แถวที่	ซ้ำที่	20-3-56	21-3-56	22-3-56	น้ำหนักรวม	น้ำหนักรวม 3 วัน	น้ำหนักเฉลี่ย/ตร.ม.
B. subtilis พลายแก้ว	1	1	0.4	0.2	0.03	0.63	4.2	1.05
		2	0.3	1.2	0.05	1.55		
		3	0.3	0.6	0.06	0.91		
		4	0.2	0.5	0.45	1.1		
	2	1	0.4	0.5	0.21	1.11	4.4	1.10
		2	0.3	0.2	-	0.45		
		3	0.2	0.4	0.64	1.24		
		4	0.3	0.8	0.55	1.6		
	3	1	0.3	0.7	0.03	1.03	3.5	0.87
		2	0.2	0.2	-	0.35		
		3	0.2	0.8	0.05	1.05		
		4	0.2	0.6	0.25	1.05		
	ผลผลิตรวมการฉีดพ่นด้วย B. subtilis พลายแก้ว (กิโลกรัม)						12.1	3.0
ไม่ฉีดพ่น (control)	1	1	0.3	0.5	0.04	0.84	3.6	0.89
		2	0.2	0.4	0.06	0.61		
		3	0.3	0.6	0.05	0.9		
		4	0.3	0.6	0.3	1.2		
	2	1	0.3	0.65	0.05	1	4.0	1.01
		2	0.2	0.25	0.01	0.46		
		3	0.3	0.5	0.9	1.65		
		4	0.2	0.3	0.42	0.92		
	3	1	0.3	0.35	-	0.65	3.3	0.82
		2	0.3	0.27	0.07	0.64		
		3	0.4	0.7	0.05	1.1		
		4	0.3	0.1	0.52	0.89		
	ผลผลิตรวมการไม่ฉีดพ่น (control) (กิโลกรัม)						10.9	2.7

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่มีผลผลิต

ตารางผนวกที่ 18 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์ยูริยา โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD วิธีที่ 1 ครั้งที่ 3 โรงเรือนที่ 1 (ระหว่างวันที่ 29 พฤษภาคม-19 มิถุนายน 56)

การทดสอบ		ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์ยูริยา โรงเรือนที่ 1 (กิโลกรัม)										น้ำหนักรวม 8 วัน	น้ำหนักเฉลี่ย/ตร.ม.
วิธีทดสอบ	แถวที่	ซ้ำที่	6-6-56	7-6-56	8-6-56	9-6-56	10-6-56	11-6-56	18-6-56	19-6-56	น้ำหนักรวม		
BC02	1	1	0.3	0.8	0.5	0.3	0.2	-	0.2	0.2	2.5	11.2	2.80
		2	0.5	0.7	0.6	0.2	0.4	-	0.4	0.1	2.9		
		3	0.3	0.4	0.8	0.2	0.5	-	0.2	0.1	2.5		
		4	0.1	0.6	0.9	0.2	0.5	0.5	0.4	0.1	3.3		
	2	1	0.4	0.5	0.8	0.2	0.4	-	0.2	0.3	2.8	11.0	2.75
		2	0.2	0.7	0.6	0.2	0.6	-	-	0.1	2.4		
		3	0.2	0.5	0.7	0.4	0.3	-	0.2	0.1	2.4		
		4	0.5	0.6	0.6	0.4	0.3	0.3	0.4	0.3	3.4		
	3	1	0.5	0.7	0.6	0.3	0.4	0.1	0.1	0.2	2.9	10.3	2.58
		2	0.5	0.4	0.6	0.3	0.5	0.1	0.3	0.1	2.8		
		3	0.5	0.5	0.7	0.3	0.4	-	-	0.3	2.7		
		4	0.1	0.1	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1	0.2	1.9		
	ผลผลิตรวมการฉีดพ่นด้วย BC02 (กิโลกรัม)											32.5	8.1
BC03	1	1	0.6	0.6	0.6	0.2	0.2	-	0.4	0.2	2.8	12.0	3.00
		2	0.3	0.8	0.7	0.4	0.1	-	0.3	0.3	2.9		
		3	0.4	0.5	0.9	0.4	0.5	-	0.1	0.2	3.0		
		4	0.1	0.7	0.7	0.5	0.6	0.4	0.2	0.1	3.3		
	2	1	0.5	0.7	0.7	0.2	0.2	-	-	-	2.3	10.8	2.70
		2	0.6	0.6	0.5	0.3	0.4	-	0.1	0.4	2.9		
		3	0.4	0.8	0.8	0.5	0.3	-	0.1	0.1	3.0		
		4	0.2	0.4	0.5	0.3	0.6	0.2	0.2	0.2	2.6		
	3	1	0.6	0.4	0.7	0.5	0.3	-	0.1	0.4	3.0	10.0	2.50
		2	0.4	0.6	0.8	0.2	0.7	-	0.1	0.1	2.9		
		3	0.4	0.4	0.5	0.3	0.3	-	0.2	0.2	2.3		
		4	0.1	0.6	0.4	0.4	0.2	0.1	-	-	1.8		
	ผลผลิตรวมการฉีดพ่นด้วย BC03 (กิโลกรัม)											32.8	8.2

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่มีเก็บผลผลิต

ตารางผนวกที่ 18 (ต่อ)

การทดสอบ			ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์ยูริยา โรงเรือนที่ 1 (กิโลกรัม)											
วิธีทดสอบ	แถวที่	ซ้ำที่	6-6-56	7-6-56	8-6-56	9-6-56	10-6-56	11-6-56	18-6-56	19-6-56	น้ำหนักรวม	น้ำหนักรวม 8 วัน	น้ำหนักเฉลี่ย/ตร.ม.	
B. subtilis B2	1	1	0.5	0.8	0.8	0.3	0.3	-	0.5	0.1	3.3	11.5	2.88	
		2	0.4	0.6	0.7	0.2	0.4	-	0.2	0.1	2.6			
		3	0.5	0.5	0.6	0.2	0.3	-	0.1	0.1	2.3			
		4	0.2	0.7	0.8	0.5	0.3	0.2	0.3	0.3	3.3			
	2	1	0.7	0.6	0.6	0.1	0.5	-	0.3	0.2	3.0	11.0	2.75	
		2	0.3	0.7	0.7	0.4	0.3	-	0.3	0.3	3.0			
		3	0.3	0.6	-	0.3	0.2	-	0.3	0.2	1.9			
		4	0.3	0.5	0.7	0.2	0.4	0.4	0.3	0.3	3.1			
	3	1	0.5	0.5	0.8	0.4	0.5	-	0.2	0.2	3.1	10.9	2.73	
		2	0.6	0.5	0.8	0.4	0.3	-	0.2	0.1	2.9			
		3	0.3	0.40	0.9	0.2	0.6	-	0.1	0.1	2.6			
		4	0.1	0.6	0.4	0.5	0.3	0.3	0.1	-	2.3			
	ผลผลิตรวมการฉีดพ่นด้วย B. subtilis B2 (กิโลกรัม)											33.4	8.4	
	ไม่ฉีดพ่น (control)	1	1	0.4	0.7	0.7	0.3	0.2	-	0.1	0.3	2.7	10.8	2.70
			2	0.4	0.7	0.5	0.3	0.2	-	0.1	0.3	2.5		
			3	0.3	0.5	0.7	0.4	0.6	-	0.3	0.1	2.9		
4			0.3	0.8	0.5	0.4	0.4	0.3	-	-	2.7			
2		1	0.6	0.8	0.7	0.1	0.9	-	0.2	0.4	3.7	12.3	3.08	
		2	0.3	0.5	0.8	0.2	0.4	-	0.4	0.2	2.8			
		3	0.4	0.7	0.8	0.2	0.2	-	0.2	0.2	2.7			
		4	0.2	0.7	0.5	0.5	0.5	0.2	0.1	0.4	3.1			
3		1	0.3	0.7	0.8	0.2	0.5	-	0.3	0.4	3.2	11.3	2.83	
		2	0.3	0.5	0.7	0.2	0.6	-	-	0.2	2.5			
		3	0.6	0.5	0.8	0.4	0.4	-	0.1	0.2	3.0			
		4	0.2	0.3	0.7	0.6	0.4	0.4	-	-	2.6			
ผลผลิตรวมการไม่ฉีดพ่น (control) (กิโลกรัม)											34.4	8.6		

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่มีผลผลิต

ตารางผนวกที่ 19 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์ยูธยา โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD วิธีที่ 1 ครั้งที่ 3 โรงเรือนที่ 2 (ระหว่างวันที่ 29 พฤษภาคม-19 มิถุนายน 56)

การทดสอบ		ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์ยูธยา โรงเรือนที่ 2 (กิโลกรัม)										น้ำหนักรวม 8 วัน	น้ำหนักเฉลี่ย/ตร.ม.
วิธีทดสอบ	แถวที่	ซ้ำที่	6-6-56	7-6-56	8-6-56	9-6-56	10-6-56	11-6-56	18-6-56	19-6-56	น้ำหนักรวม		
BC05	1	1	0.3	0.30	0.7	0.4	0.1	0.2	0.3	0.1	2.4	11.0	2.75
		2	0.2	0.6	0.8	0.5	0.5	-	0.2	0.4	3.2		
		3	0.2	0.3	0.7	0.5	0.4	0.4	0.3	0.3	3.1		
		4	0.3	0.4	0.7	0.4	0.2	0.3	-	-	2.3		
	2	1	0.5	0.4	0.7	0.6	0.3	0.3	-	-	2.8	11.4	2.85
		2	0.3	0.7	0.5	0.5	0.3	0.1	-	0.1	2.5		
		3	0.4	0.2	0.6	0.6	0.4	0.2	0.2	0.2	2.8		
		4	0.4	0.7	0.7	0.3	0.4	-	0.4	0.4	3.3		
	3	1	0.3	0.5	0.8	0.2	0.2	-	0.2	0.5	2.7	9.0	2.25
		2	0.2	0.5	0.5	0.6	0.4	-	-	-	2.2		
		3	0.3	0.7	0.6	0.4	0.6	-	0.2	0.1	2.9		
		4	-	0.3	0.2	0.3	0.3	0.1	-	-	1.2		
	ผลผลิตรวมการฉีดพ่นด้วย BC05 (กิโลกรัม)											31.4	7.9
BF02	1	1	0.3	0.7	0.6	0.4	0.3	0.2	0.1	0.4	3.0	12.3	3.08
		2	0.6	0.7	0.5	0.6	0.4	0.2	0.3	0.3	3.6		
		3	0.4	0.5	0.5	0.3	0.5	0.2	0.1	0.2	2.7		
		4	0.5	0.7	0.4	0.5	0.3	0.2	0.2	0.2	3.0		
	2	1	0.4	0.5	0.6	0.5	0.2	0.4	-	-	2.6	10.4	2.60
		2	0.4	0.3	0.6	0.7	0.1	-	0.3	0.3	2.7		
		3	0.3	0.3	0.5	0.6	0.5	0.4	-	0.3	2.9		
		4	0.1	0.5	0.4	0.5	0.1	0.3	0.1	0.2	2.2		
	3	1	0.4	0.7	0.5	0.4	0.5	0.1	-	0.1	2.7	10.2	2.55
		2	0.4	0.4	0.6	0.3	0.5	0.2	-	0.1	2.5		
		3	0.3	0.7	0.5	0.3	0.7	-	0.1	0.3	2.9		
		4	-	0.60	0.5	0.2	0.5	0.2	-	0.1	2.1		
	ผลผลิตรวมการฉีดพ่นด้วย BF02 (กิโลกรัม)											32.9	8.2

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่มีผลผลิต

ตารางผนวกที่ ง19 (ต่อ)

การทดสอบ			ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์ยูธยา โรงเรียนที่ 2 (กิโลกรัม)										
วิธีทดสอบ	แถวที่	ซ้ำที่	6-6-56	7-6-56	8-6-56	9-6-56	10-6-56	11-6-56	18-6-56	19-6-56	น้ำหนักรวม	น้ำหนักรวม 8 วัน	น้ำหนักเฉลี่ย/ตร.ม.
B. subtilis พลายแก้ว	1	1	0.4	0.5	0.6	0.5	0.2	0.1	0.2	0.2	2.7	10.8	2.70
		2	0.3	0.4	0.4	0.4	0.4	-	0.2	0.1	2.2		
		3	0.4	0.2	0.8	0.4	0.5	0.1	0.1	0.3	2.8		
		4	0.6	0.5	0.4	0.6	0.4	0.1	0.1	0.4	3.1		
	2	1	0.6	0.7	0.8	0.3	0.2	0.1	0.2	0.2	3.1	12.0	3.00
		2	0.5	0.6	0.5	0.4	0.4	0.2	0.1	0.2	2.9		
		3	0.5	0.6	0.4	0.5	0.6	0.1	-	0.1	2.8		
		4	0.5	0.4	0.5	0.5	0.7	-	0.2	0.4	3.2		
	3	1	0.3	0.5	0.6	0.3	0.3	0.2	-	0.1	2.3	9.3	2.33
		2	0.5	0.5	0.7	0.7	0.3	0.1	-	-	2.8		
		3	0.4	0.6	0.6	0.4	0.3	-	0.2	0.2	2.7		
		4	-	0.2	0.2	0.2	0.2	0.3	0.2	0.2	1.5		
	ผลผลิตรวมการฉีดพ่นด้วย B. subtilis พลายแก้ว (กิโลกรัม)												32.1
ไม่ฉีดพ่น (control)	1	1	0.5	0.4	0.5	0.5	0.3	-	0.2	0.1	2.5	10.6	2.65
		2	0.4	0.6	0.6	0.4	0.3	0.3	0.2	0.5	3.3		
		3	0.2	0.3	0.6	0.3	0.3	0.3	0.1	0.1	2.2		
		4	0.3	0.7	0.5	0.4	0.5	-	0.1	0.1	2.6		
	2	1	0.2	0.5	0.6	0.4	0.3	-	-	0.1	2.1	10.5	2.63
		2	0.3	0.4	0.4	0.3	0.3	0.1	0.2	0.4	2.3		
		3	0.5	0.4	0.7	0.4	0.6	0.3	0.3	0.2	3.4		
		4	0.1	0.8	0.5	0.4	0.3	-	0.2	0.4	2.7		
	3	1	0.2	0.6	0.4	0.5	0.4	-	0.4	0.3	2.8	10.4	2.60
		2	0.5	0.7	0.7	0.4	0.2	-	0.2	0.2	2.9		
		3	0.2	0.8	0.4	0.5	0.4	-	-	0.4	2.7		
		4	-	0.2	0.6	0.3	0.2	0.2	0.2	0.3	2.0		
	ผลผลิตรวมการไม่ฉีดพ่น (control) (กิโลกรัม)												31.5

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่มีผลผลิต

ตารางผนวกที่ ง20 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์อูยูธยา โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD วิธีที่ 1 ครั้งที่ 4 โรงเรือนที่ 1 (ระหว่างวันที่ 11-27 มิถุนายน 56)

การทดสอบ			ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์อูยูธยา โรงเรือนที่ 1 (กิโลกรัม)							
วิธีทดสอบ	แถวที่	ซ้ำที่	21-6-56	22-6-56	23-6-56	26-6-56	27-6-56	น้ำหนักรวม	น้ำหนักรวม 5 วัน	น้ำหนักเฉลี่ย/ตร.ม.
BC02	1	1	1.0	1.1	0.9	0.3	0.4	3.7	15.0	3.75
		2	1.4	1.3	0.9	0.3	0.4	4.3		
		3	1.1	1.0	0.9	0.4	0.4	3.8		
		4	0.9	1.0	0.6	0.3	0.4	3.2		
	2	1	1.3	1.1	0.9	0.5	0.5	4.3	14.2	3.55
		2	1	1.1	0.7	0.3	0.4	3.5		
		3	0.9	0.9	0.8	0.4	0.5	3.5		
		4	0.4	0.8	1	0.4	0.3	2.9		
	3	1	1.0	1.0	0.7	0.4	0.6	3.7	14.1	3.53
		2	1.2	1.3	0.6	0.2	0.3	3.6		
		3	1.0	1.1	1	0.3	0.2	3.6		
		4	0.5	1.2	1.1	0.1	0.3	3.2		
	ผลผลิตรวมการฉีดพ่นด้วย BC02 (กิโลกรัม)								43.3	10.8
BC05	1	1	1.1	1.2	0.8	0.2	0.6	3.9	15.1	3.78
		2	1.2	1.2	0.8	0.6	0.6	4.4		
		3	0.7	1.1	0.7	0.4	0.6	3.5		
		4	0.7	1.0	0.9	0.2	0.5	3.3		
	2	1	1.2	1.4	1	0.2	0.6	4.4	14.7	3.68
		2	1	1	0.7	0.1	0.4	3.2		
		3	0.7	1.0	0.7	0.5	0.6	3.5		
		4	0.5	1.0	1.2	0.6	0.3	3.6		
	3	1	1.1	1.2	0.7	0.3	0.4	3.7	14.2	3.55
		2	1.0	0.8	0.9	0.4	0.5	3.6		
		3	0.8	1.2	1.1	0.6	0.5	4.2		
		4	0.7	0.8	0.8	0.1	0.3	2.7		
	ผลผลิตรวมการฉีดพ่นด้วย BC05 (กิโลกรัม)								44.0	11.0

ตารางผนวกที่ 20 (ต่อ)

การทดสอบ			ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์ยูริยา โรงเรือนที่ 1 (กิโลกรัม)							
วิธีทดสอบ	แถวที่	ซ้ำที่	21-6-56	22-6-56	23-6-56	26-6-56	27-6-56	น้ำหนักรวม	น้ำหนักรวม 5 วัน	น้ำหนักเฉลี่ย/ตร.ม.
B. subtilis B2	1	1	1.2	1.4	1	0.3	0.6	4.5	15.1	3.78
		2	1.2	1.0	1	0.4	0.5	4.1		
		3	0.9	1.2	0.7	0.2	0.7	3.7		
		4	0.5	0.8	0.9	0.1	0.5	2.8		
	2	1	1.1	1.2	1.1	0.2	0.4	4.0	14.9	3.73
		2	1.1	1.2	0.8	0.3	0.3	3.7		
		3	0.8	0.9	0.8	0.5	0.5	3.5		
		4	0.6	0.9	1.1	0.6	0.5	3.7		
	3	1	1.3	1	0.8	0.3	0.5	3.9	13.6	3.40
		2	1.0	0.9	0.5	0.2	0.3	2.9		
		3	1.1	1.00	0.8	0.6	0.5	4.0		
		4	0.4	1.0	0.9	0.1	0.4	2.8		
	ผลผลิตรวมการฉีดพ่นด้วย B. subtilis B2 (กิโลกรัม)								43.6	10.9
ไม่ฉีดพ่น (control)	1	1	1.2	1.4	0.7	0.5	0.5	4.3	14.7	3.68
		2	1.1	1.1	1	0.2	0.5	3.9		
		3	0.8	1.0	0.7	0.5	0.6	3.6		
		4	0.5	0.9	0.8	0.2	0.5	2.9		
	2	1	1.4	1.3	0.8	0.4	0.5	4.4	14.9	3.73
		2	1	1	0.7	0.3	0.6	3.6		
		3	0.7	1.4	1	0.3	0.3	3.7		
		4	0.5	1.0	1.1	0.2	0.4	3.2		
	3	1	1.2	1.1	1	0.5	0.4	4.2	15.7	3.93
		2	0.9	1.1	1	0.5	0.4	3.9		
		3	1.1	1.4	1.2	0.4	0.2	4.3		
		4	0.7	1.0	1	0.2	0.4	3.3		
		ผลผลิตรวมการไม่ฉีดพ่น (control) (กิโลกรัม)								45.3

ตารางผนวกที่ ง21 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์อุยธยา โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD วิธีที่ 1 ครั้งที่ 4 โรงเรือนที่ 2 (ระหว่างวันที่ 11-27 มิถุนายน 56)

การทดสอบ			ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์อุยธยา โรงเรือนที่ 2 (กิโลกรัม)							
วิธีทดสอบ	แถวที่	ซ้ำที่	21-6-56	22-6-56	23-6-56	26-6-56	27-6-56	น้ำหนักรวม	น้ำหนักรวม 5 วัน	น้ำหนักเฉลี่ย/ตร.ม.
BC02	1	1	0.8	1.2	0.6	0.1	0.4	3.1	13.9	3.48
		2	1	1.4	0.8	0.4	0.3	3.9		
		3	1.1	1.0	1.1	0.6	0.5	4.3		
		4	0.4	0.7	0.9	0.3	0.3	2.6		
	2	1	1.2	1.2	0.7	0.5	0.4	4.0	14.6	3.65
		2	0.9	1.1	0.7	0.4	0.6	3.7		
		3	1.0	1.0	0.9	0.2	0.4	3.5		
		4	0.9	1.0	0.6	0.4	0.5	3.4		
	3	1	1.0	1.3	0.5	0.3	0.3	3.4	13.4	3.35
		2	1.2	1.1	0.5	0.1	0.4	3.3		
		3	1.0	1.0	0.8	0.5	0.4	3.7		
		4	0.6	0.7	0.8	0.4	0.5	3.0		
	ผลผลิตรวมการฉีดพ่นด้วย BC02 (กิโลกรัม)								41.9	10.5
BC05	1	1	0.9	1.4	0.9	0.1	0.3	3.6	14.3	3.58
		2	1.2	1.2	0.8	0.2	0.2	3.6		
		3	0.9	1.0	1	0.4	0.5	3.8		
		4	0.6	0.8	1	0.5	0.4	3.3		
	2	1	1	1.1	0.5	0.2	0.5	3.3	13.9	3.48
		2	1.1	1.1	0.5	0.3	0.4	3.4		
		3	1.2	1.2	1	0.2	0.4	4		
		4	1.1	1.0	0.6	0.2	0.3	3.2		
	3	1	1.2	0.9	0.5	0.5	0.4	3.5	13.8	3.45
		2	1.0	1.2	1	0.6	0.5	4.3		
		3	0.6	0.8	1	0.3	0.3	3		
		4	0.4	0.9	0.8	0.4	0.5	3		
	ผลผลิตรวมการฉีดพ่นด้วย BC05 (กิโลกรัม)								42.0	10.5

ตารางผนวกที่ 21 (ต่อ)

การทดสอบ			ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์ยูธยา โรงเรือนที่ 2 (กิโลกรัม)							
วิธีทดสอบ	แถวที่	ซุ่มที่	21-6-56	22-6-56	23-6-56	26-6-56	27-6-56	น้ำหนักรวม	น้ำหนักรวม 5 วัน	น้ำหนักเฉลี่ย/ตร.ม.
B. subtilis B2	1	1	0.8	1.2	0.6	0.3	0.5	3.4	12.9	3.23
		2	1.0	1.0	0.8	0.3	0.4	3.5		
		3	0.8	1.1	0.7	0.4	0.4	3.4		
		4	0.4	0.6	0.8	0.3	0.5	2.6		
	2	1	1.0	1.2	0.5	0.4	0.3	3.4	15.3	3.83
		2	1.1	1.0	0.8	0.5	0.5	3.9		
		3	1.4	1.3	0.8	0.2	0.5	4.2		
		4	1.3	1.1	0.7	0.3	0.4	3.8		
	3	1	1.4	1.0	0.9	0.4	0.5	4.2	14.0	3.50
		2	1.1	1.2	0.6	0.3	0.5	3.7		
		3	0.8	0.90	1.0	0.4	0.4	3.5		
		4	0.5	0.8	0.7	0.3	0.3	2.6		
	ผลผลิตรวมการฉีดพ่นด้วย B. subtilis B2 (กิโลกรัม)									42.2
ไม่ฉีดพ่น (control)	1	1	1	1.1	0.9	0.2	0.3	3.5	14.7	3.68
		2	1.0	1.2	0.7	0.3	0.5	3.7		
		3	1.1	1.1	1	0.2	0.5	3.9		
		4	0.5	1.0	1.1	0.4	0.6	3.6		
	2	1	1.2	1.3	0.5	0.5	0.6	4.1	15.0	3.75
		2	1	1.1	0.6	0.4	0.5	3.6		
		3	1.1	1.1	1.1	0.1	0.3	3.7		
		4	1.0	1.1	0.8	0.2	0.5	3.6		
	3	1	1.4	1.1	0.7	0.2	0.3	3.7	15.0	3.75
		2	1	1	0.9	0.4	0.6	3.9		
		3	1.3	1.3	0.6	0.5	0.5	4.2		
		4	0.8	0.8	0.5	0.5	0.6	3.2		
		ผลผลิตรวมการไม่ฉีดพ่น (control) (กิโลกรัม)								

ตารางผนวกที่ ง22 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์อูยูรยา โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD วิธีที่ 2 ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 1 (ระหว่างวันที่ 13-26 พฤศจิกายน 56)

การทดสอบ		ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์อูยูรยา โรงเรือนที่ 1 (กิโลกรัม)									
วิธีทดสอบ	ซ้ำที่	21-11-56	22-11-56	23-11-56	24-11-56	25-11-56	26-11-56	น้ำหนักรวม	น้ำหนักรวม 6 วัน	น้ำหนักเฉลี่ย	น้ำหนักเฉลี่ย/ตร.ม.
B2	1	0.5	0.5	0.7	0.3	0.3	0.3	2.6			
	2	0.4	1.4	1.6	1.1	0.8	1.0	6.3			
	3	0.8	1.2	1.4	0.8	0.6	0.5	5.3	20.9	5.23	2.61
	4	0.6	1.4	1.6	1.2	0.9	1.0	6.7			
BC02	1	0.5	0.2	0.6	0.4	0.2	0.2	2.1			
	2	1.2	0.9	0.8	0.4	0.5	0.6	4.4			
	3	0.9	1.7	1.4	1.5	1.5	1.2	8.2	19.8	4.95	2.48
	4	0.7	1.0	0.5	1.1	1	0.8	5.1			
BC03	1	0.4	0.4	0.5	0.3	0.5	0.5	2.6			
	2	0.9	1.1	1.1	1.1	1	0.8	6			
	3	1.5	0.9	0.8	0.5	0.6	0.3	4.6	17.8	4.45	2.23
	4	1.5	0.5	1.2	0.4	0.8	0.2	4.6			
BC05	1	0.5	0.8	0.5	0.8	1	0.8	4.4			
	2	0.3	1.7	1.7	1.5	1.2	0.8	7.2			
	3	0.5	1.5	1.5	1.4	1	0.8	6.7	23.7	5.93	2.96
	4	1.5	0.8	0.8	1	0.8	0.5	5.4			
BF02	1	0.4	1	1	0.8	0.7	0.5	4.4			
	2	0.7	1.2	1.4	1.4	1.1	1.1	6.9			
	3	0.8	1.2	1.2	1	1	0.5	5.7	20.2	5.05	2.53
	4	0.5	0.8	1	0.4	0.3	0.2	3.2			
ไม่ฉีดพ่น (control)	1	0.6	0.8	0.5	0.7	0.8	0.4	3.8			
	2	0.6	0.3	0.4	0.5	0.6	0.6	3			
	3	0.6	1.2	1.8	1	1.2	1	6.8	17.3	4.33	2.16
	4	0.5	0.8	1	0.5	0.5	0.4	3.7			
ผลผลิตรวมทั้งโรงเรือน (กิโลกรัม)									119.7	29.9	15.0

ตารางผนวกที่ ง23 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์ยูธยา โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD วิธีที่ 2 ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 2 (ระหว่างวันที่ 13-26 พฤศจิกายน 56)

การทดสอบ		ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์ยูธยา โรงเรือนที่ 2 (กิโลกรัม)									
วิธีทดสอบ	ซ้ำที่	21-11-56	22-11-56	23-11-56	24-11-56	25-11-56	26-11-56	น้ำหนักรวม	น้ำหนักรวม 6 วัน	น้ำหนักเฉลี่ย	น้ำหนักเฉลี่ย/ตร.ม.
B2	1	1.6	1.1	1.2	1.3	1.2	0.7	7.1	24.5	6.13	3.06
	2	1.0	1.4	1.3	1.6	1.2	1.3	7.8			
	3	0.7	1.1	0.9	1.3	1.1	1.0	6.1			
	4	0.6	0.8	0.4	0.5	0.4	0.8	3.5			
BC02	1	0.9	1.3	1.0	1.3	1.1	1.3	6.9	23.5	5.88	2.94
	2	1.1	1.5	1.3	1.4	1.2	1.0	7.5			
	3	0.6	1.1	0.5	1.1	0.9	0.8	5			
	4	0.7	0.8	0.5	0.8	0.5	0.8	4.1			
BC03	1	1.0	1.4	1.5	1.2	1.0	0.6	6.7	24.6	6.15	3.08
	2	0.8	0.9	0.6	0.7	0.6	1.1	4.7			
	3	1.3	1.1	1.2	1.3	1.0	1.0	6.9			
	4	0.2	1.4	0.5	1.5	1.4	1.3	6.3			
BC05	1	1.1	1.3	1.1	1.5	1.5	1.2	7.7	24.2	6.05	3.03
	2	1.1	1.5	1.0	1.3	1.0	1.1	7			
	3	0.6	1.1	1.0	1.1	1.0	1.3	6.1			
	4	0.2	0.5	0.5	0.6	0.8	0.8	3.4			
BF02	1	1.6	1.6	1.1	1.4	1.0	1.2	7.9	23.7	5.93	2.96
	2	0.5	1.6	1.0	1.5	1.2	0.7	6.5			
	3	0.7	1.3	0.7	1.0	0.9	0.9	5.5			
	4	0.2	0.5	0.7	0.7	0.7	1.0	3.8			
ไม่ฉีดพ่น (control)	1	0.6	1.2	0.8	0.4	1.0	1.0	5	22.1	5.53	2.76
	2	1.5	1.0	1.1	1.0	0.8	1.0	6.4			
	3	0.9	1.4	1.1	1.6	1.1	1.3	7.4			
	4	0.6	0.7	0.8	0.5	0.3	0.4	3.3			
ผลผลิตรวมทั้งโรงเรือน (กิโลกรัม)									142.6	35.7	17.8

ตารางผนวกที่ ง24 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์ยูธยา โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD วิธีที่ 2 ครั้งที่ 3 โรงเรือนที่ 1 (ระหว่างวันที่ 26 กุมภาพันธ์-15 มีนาคม 57)

การทดสอบ		ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์ยูธยา โรงเรือนที่ 1 (กิโลกรัม)										
วิธีทดสอบ	ซ้ำที่	8-3-57	9-3-57	10-3-57	11-3-57	12-3-58	13-3-57	14-3-58	น้ำหนักรวม	น้ำหนักรวม 7 วัน	น้ำหนักเฉลี่ย	น้ำหนักเฉลี่ย/ตร.ม.
B. subtilis B2	1	0.5	0.8	0.8	0.5	0.5	0.2	0.4	3.7			
	2	0.5	1.1	1	1.5	1.3	0.2	0.5	6.1			
	3	1.2	1.4	1.3	0.7	0.3	0.5	0.5	5.9			
	4	1.3	1.1	0.8	1	0.6	0.3	0.1	5.2			
	5	0.5	1.3	1.4	1.2	0.4	0.7	0.5	6	42.1	5.26	2.63
	6	1.4	1.4	1.4	0.5	0.3	0.3	0.3	5.6			
	7	1.2	1.4	1	0.4	0.2	0.4	0.1	4.7			
	8	1.1	1.2	1.1	0.5	0.4	0.2	0.4	4.9			
BC05	1	0.8	1.0	1.0	1.2	1.0	1.0	0.8	6.8			
	2	0.7	1.0	1.3	1.3	1.1	1.1	0.3	6.8			
	3	1.0	1.0	1.0	0.8	0.2	0.2	-	4.2			
	4	1.3	1.3	1.0	0.8	0.6	0.2	0.3	5.5			
	5	1.1	1.2	1.1	0.5	0.3	0.3	0.3	4.8	42.6	5.33	2.66
	6	1.1	1.1	1.1	0.6	0.4	0.4	0.1	4.8			
	7	1.2	1.4	1.0	0.8	0.2	0.1	-	4.7			
	8	1.0	1.2	1.3	0.6	0.2	0.5	0.2	5			
ไม่ฉีดพ่น (control)	1	0.6	0.8	1.2	1.2	1.0	0.8	0.4	6			
	2	0.6	1.2	1.0	1.0	0.7	1.0	0.5	6			
	3	1.3	1.3	1.2	0.4	0.5	0.3	0.5	5.5			
	4	1.2	1.3	1.1	1.0	0.5	0.4	0.2	5.7			
	5	1.4	1.4	1.2	0.3	0.3	0.1	0.5	5.2	43.2	5.40	2.70
	6	1.0	1.1	1.2	0.3	1.0	-	0.1	4.7			
	7	0.8	1.1	1.2	0.8	0.5	0.5	-	4.9			
	8	1.3	1.5	1.1	0.4	0.2	0.4	0.3	5.2			
ผลผลิตรวมทั้งโรงเรือน										127.9	16.0	7.99

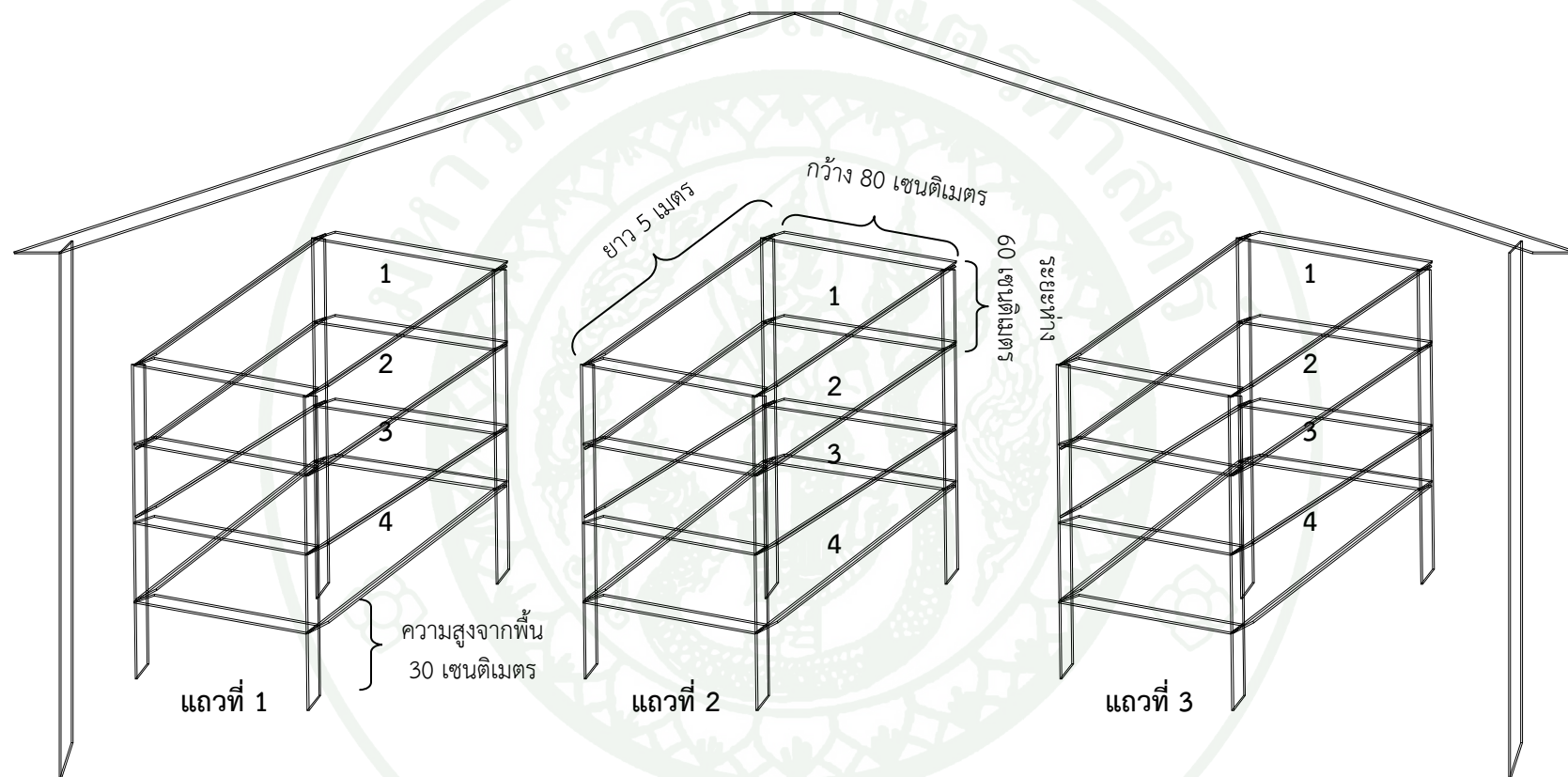
ตารางผนวกที่ ง25 ผลผลิตเห็ดฟาง สายพันธุ์ยูริยา โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD วิธีที่ 2 ครั้งที่ 3 โรงเรือนที่ 2 (ระหว่างวันที่ 26 กุมภาพันธ์-15 มีนาคม 57)

การทดสอบ		ผลผลิตเห็ดฟางสายพันธุ์ยูริยา โรงเรือนที่ 2 (กิโลกรัม)											
วิธีทดสอบ	ซ้ำที่	8-3-57	9-3-57	10-3-57	11-3-57	12-3-58	13-3-57	14-3-58	15-3-57	น้ำหนักรวม	น้ำหนักรวม 8 วัน	น้ำหนักเฉลี่ย	น้ำหนักเฉลี่ย/ตร.ม.
B. subtilis B2	1	1.1	0.5	0.5	0.6	0.3	0.2	0.4	0.7	4.3			
	2	0.5	0.9	0.5	0.4	0.4	0.6	0.1	0.1	3.5			
	3	1.4	1.0	1.0	0.6	0.3	0.5	0.5	0.6	5.9			
	4	1.0	1.0	1.0	1.0	0.8	0.2	0.2	0.1	5.3			
	5	1.0	1.5	1.5	0.6	0.2	-	0.6	0.4	5.8	37.8	4.73	2.36
	6	1.3	1.0	1.0	0.3	-	-	-	-	3.6			
	7	0.7	1.0	1.0	0.8	0.1	0.3	0.2	0.1	4.2			
	8	1.4	1.3	1.1	0.4	0.1	-	0.5	0.4	5.2			
BC05	1	1.0	0.5	0.8	0.3	-	-	0.3	0.3	3.2			
	2	0.5	1.1	1.0	1.2	1.0	0.3	0.5	0.3	5.9			
	3	0.5	1.3	1.1	0.8	0.7	0.4	0.7	0.3	5.8			
	4	0.8	1.1	1.0	1.0	1.0	0.4	0.4	0.3	6.0			
	5	1.1	1.0	1.0	0.4	0.5	0.4	0.3	0.5	5.2	43.40	5.43	2.71
	6	1.0	1.0	1.0	0.8	0.7	0.2	0.1	0.2	5.0			
	7	1.4	1.5	1.2	1.0	0.2	-	0.3	0.3	5.9			
	8	1.3	1.3	1.2	1.3	0.3	0.3	0.5	0.2	6.4			
ไม่ฉีดพ่น (control)	1	1.2	1.2	1.2	0.7	0.4	-	0.1	0.1	4.9			
	2	0.3	0.5	0.4	1.0	0.5	0.5	0.2	-	3.4			
	3	1.2	1.2	1.3	0.5	0.1	-	0.2	0.4	4.9			
	4	1.0	1.3	1.3	0.5	0.3	-	0.1	-	4.5			
	5	1.5	1.5	1.4	0.6	0.2	0.4	-	0.1	5.7	41.3	5.16	2.58
	6	0.8	1.0	1.2	0.5	0.5	0.5	0.5	0.2	5.2			
	7	1.2	1.5	1.3	1.0	0.6	0.2	0.1	0.3	6.2			
	8	1.2	1.2	1.0	1.0	1.0	0.5	0.3	0.3	6.5			
ผลผลิตรวมทั้งโรงเรือน (กิโลกรัม)											122.5	15.3	7.66

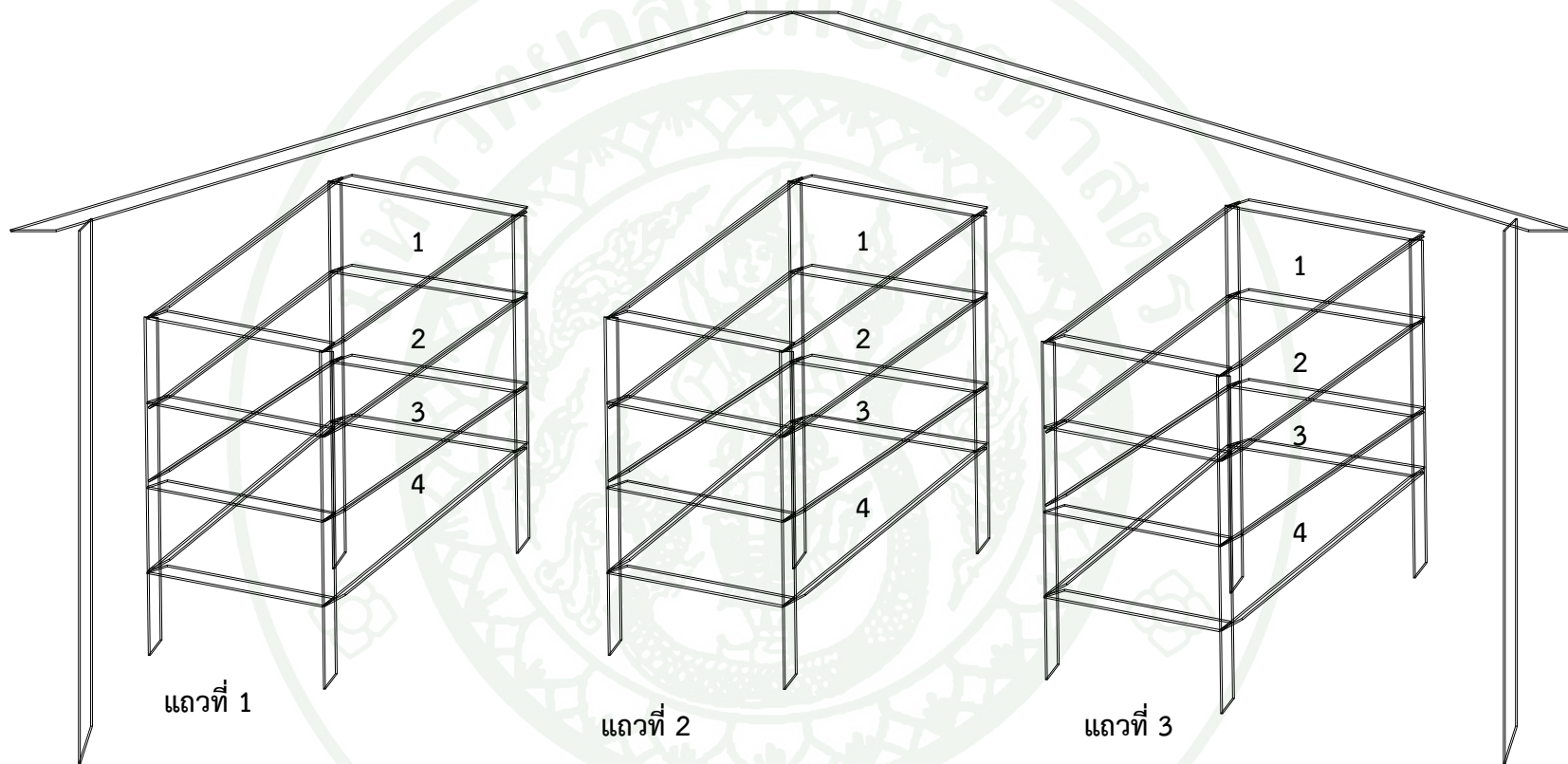
หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่มีผลผลิต



ภาคผนวก จ
แผนผังโรงเรียนทดลอง



ภาพผนวกที่ จ1 แสดงลักษณะแผนผังภายในโรงเรือนที่ใช้ในการทดลอง มีขนาด กว้าง x ยาว x สูง 5.8 x 6.8 x 3.5 เมตร
ใน 1 โรงเรือน มีจำนวน 3 แถว แต่ละแถวมี 4 ชั้นเพาะ (1) คือ ชั้นเพาะที่ 1 (2) คือ ชั้นเพาะที่ 2 (3) คือ ชั้นเพาะที่ 3 และ (4) คือชั้นเพาะที่ 4

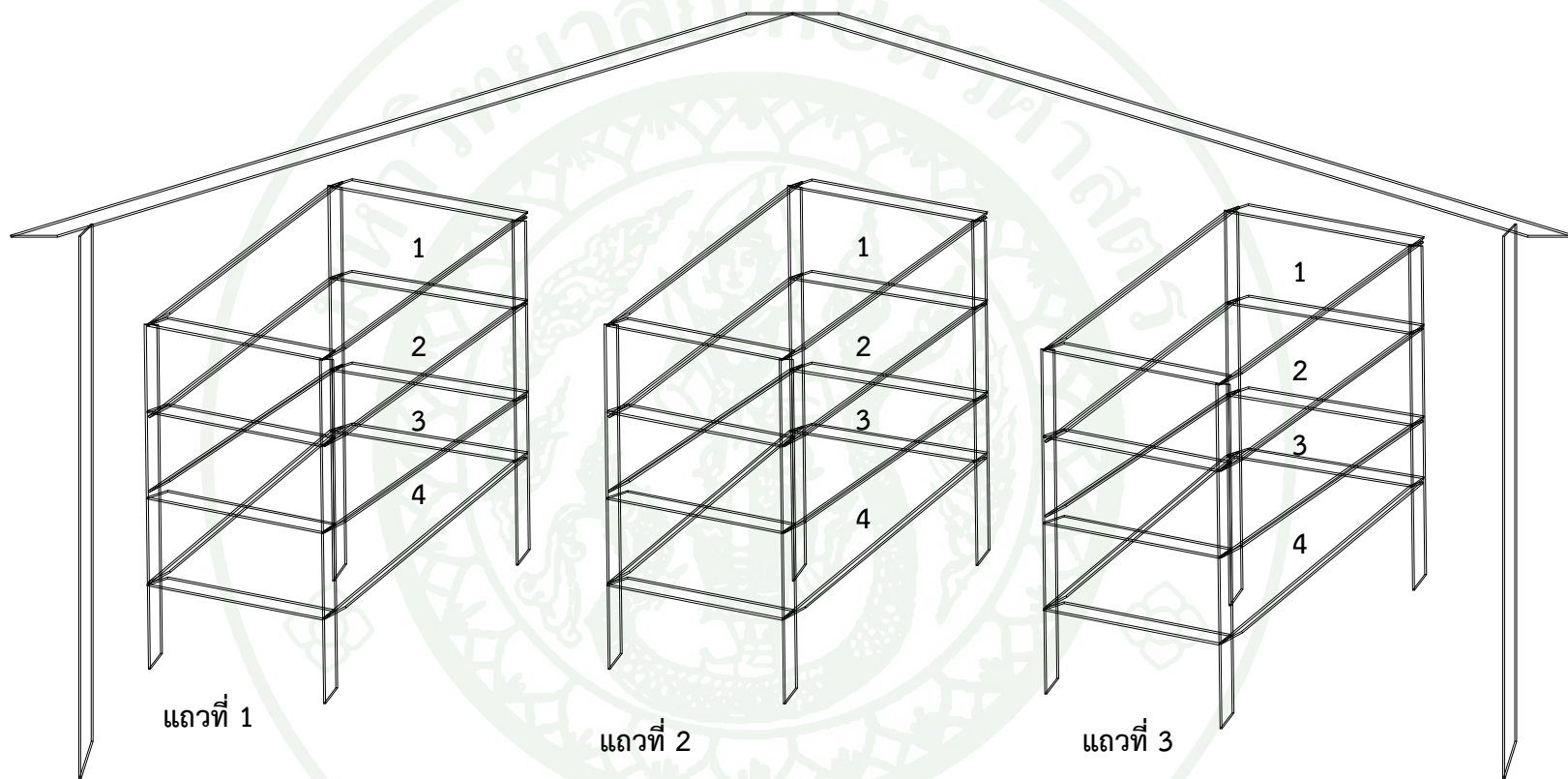


ภาพผนวกที่ จ2 แผนผังการทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมในการนำเชื้อแบคทีเรียไปใช้ในโรงเรือนเพาะเห็ดฟาง (สายพันธุ์อูยธยา) ด้วย *B. subtilis* B2 ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 1 โดยวิธีการสู่ม

แถวที่ 1 (1) ฉีดพ่นด้วย NB (control) (2) ฉีดพ่นด้วย Suspension (3) ฉีดพ่นด้วย Supernatant และ (4) ฉีดพ่นด้วย Pellet

แถวที่ 2 (1) ฉีดพ่นด้วย Suspension (2) ฉีดพ่นด้วย Pellet (3) ฉีดพ่นด้วย Supernatant และ (4) ฉีดพ่นด้วย NB (control)

แถวที่ 3 (1) ฉีดพ่นด้วย Supernatant (2) ฉีดพ่นด้วย NB (control) (3) ฉีดพ่นด้วย Pellet และ (4) ฉีดพ่นด้วย Suspension

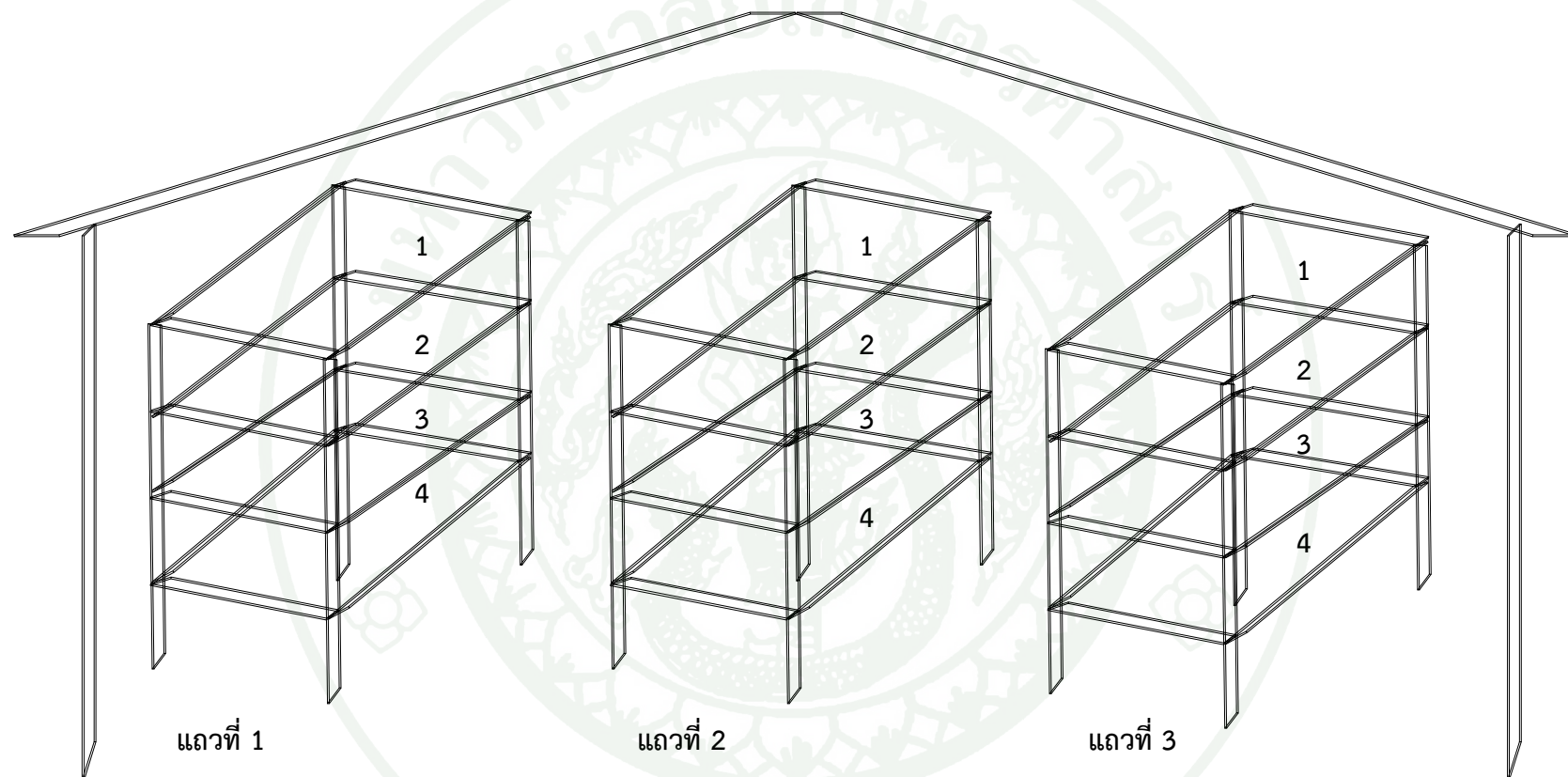


ภาพผนวกที่ จ3 แผนผังการทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมในการนำเชื้อแบคทีเรียไปใช้ในโรงเรือนเพาะเห็ดฟาง (สายพันธุ์อุยธยา) ด้วย *B. subtilis* B2 ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 2 โดยวิธีการสุ่ม

แถวที่ 1 (1) ฉีดพ่นด้วย Pellet (2) ฉีดพ่นด้วย NB (control) (3) ฉีดพ่นด้วย Supernatant และ (4) ฉีดพ่นด้วย Suspension

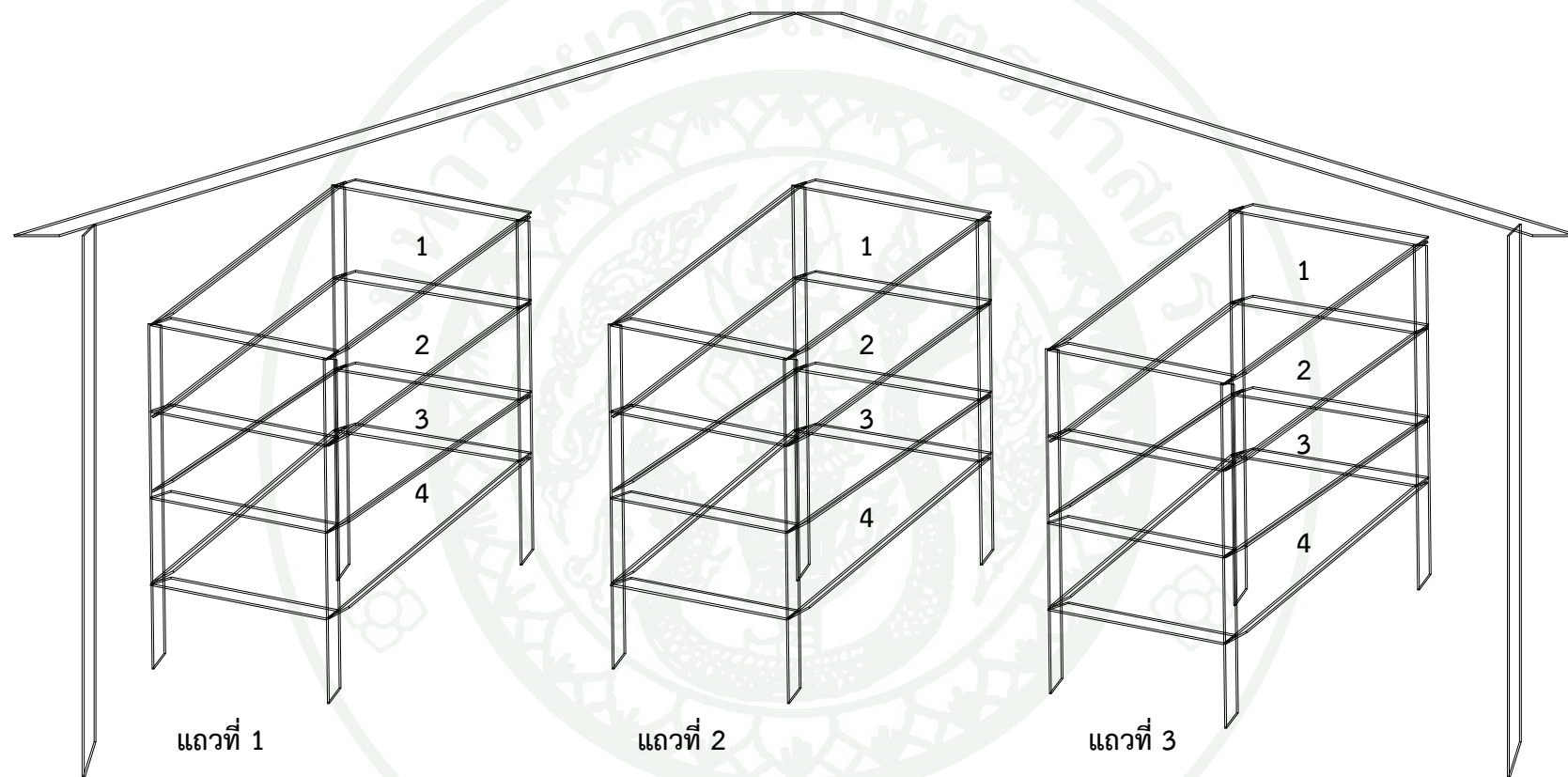
แถวที่ 2 (1) ฉีดพ่นด้วย Supernatant (2) ฉีดพ่นด้วย NB (control) (3) ฉีดพ่นด้วย Suspension และ (4) ฉีดพ่นด้วย Pellet

แถวที่ 3 (1) ฉีดพ่นด้วย NB (control) (2) ฉีดพ่นด้วย Pellet (3) ฉีดพ่นด้วย Supernatant และ (4) ฉีดพ่นด้วย Suspension

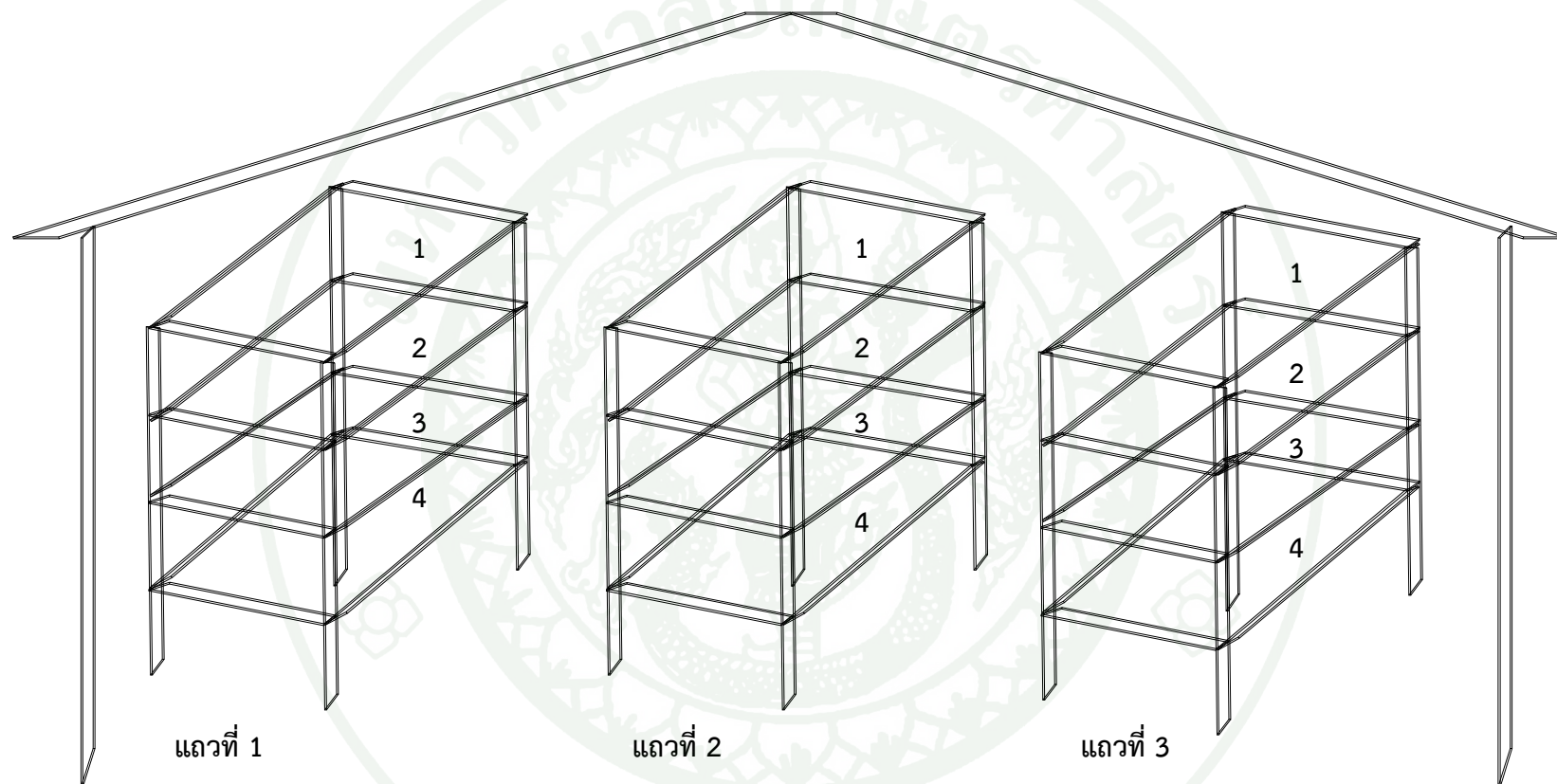


ภาพผนวกที่ จ4 แผนผังการทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมในการนำเชื้อแบคทีเรียไปใช้ในโรงเรือนเพาะเห็ดฟาง (สายพันธุ์อูยูธยา) ด้วย *B. subtilis* B2 ครั้งที่ 2 โรงเรือนที่ 1 และ 2

การฉีดพ่นเชื้อแบคทีเรียทดสอบทำโดยวิธีการจำเพาะเจาะจงเหมือนกันทั้ง 2 โรงเรือน ซึ่งทุกชั้นในแต่ละแถว ทำการฉีดพ่นดังนี้ คือ (1) ฉีดพ่นด้วย NB (control) (2) ฉีดพ่นด้วย Supernatant (3) ฉีดพ่นด้วย Pellet และ (4) ฉีดพ่นด้วย Suspension



ภาพผนวกที่ จ5 แผนผังการทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมในการนำเชื้อแบคทีเรียไปใช้ในโรงเรือนเพาะเห็ดฟาง (สายพันธุ์อูยธยา) ด้วย *B. subtilis* B2 ครั้งที่ 2 โรงเรือนที่เพาะปกติ (Control)
ทุกแถวและทุกชั้นเพาะไม่มีการฉีดยาใดๆ เพาะด้วยวิธีปกติตามที่เกษตรกรเคยเพาะ ใช้โรงเรือนนี้เป็นกรรมวิธีควบคุม (control) ทั้งโรงเรือน

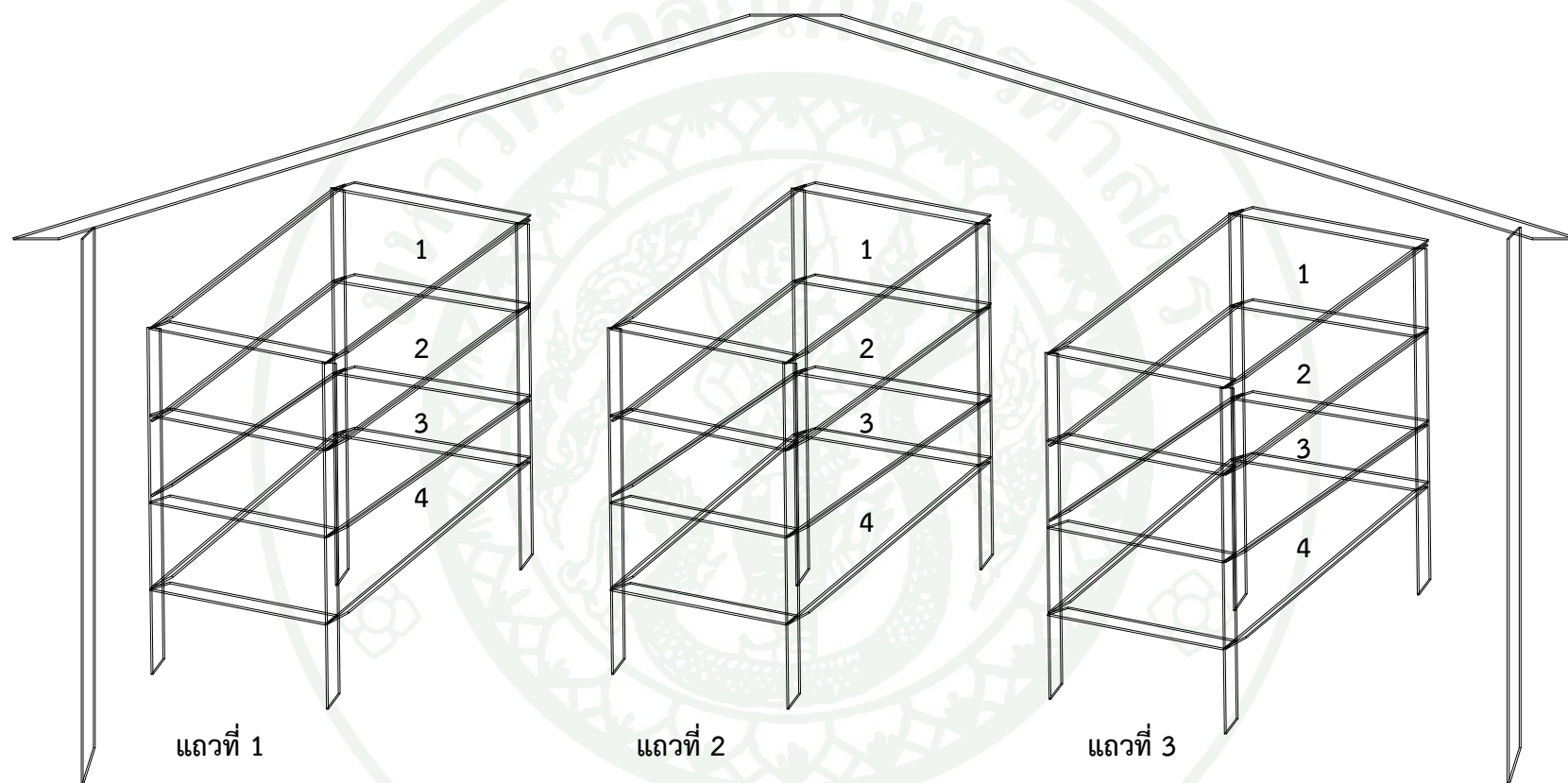


ภาพผนวกที่ จ6 แผนผังการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมกับเชื้อเห็ดฟางสายพันธุ์อยุธยา ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 1 โดยวิธีการสุ่ม

แถวที่ 1 (1) ฉีดพ่นด้วย MK02 (2) ฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า (control) (3) ฉีดพ่นด้วย BC05 และ (4) ฉีดพ่นด้วย BC05

แถวที่ 2 (1) ฉีดพ่นด้วย BC05 (2) ฉีดพ่นด้วย MA02 (3) ฉีดพ่นด้วย MA02 และ (4) ฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า (control)

แถวที่ 3 (1) ฉีดพ่นด้วย MK02 (2) ฉีดพ่นด้วย MK02 (3) ฉีดพ่นด้วย MA02 และ (4) ฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า (control)

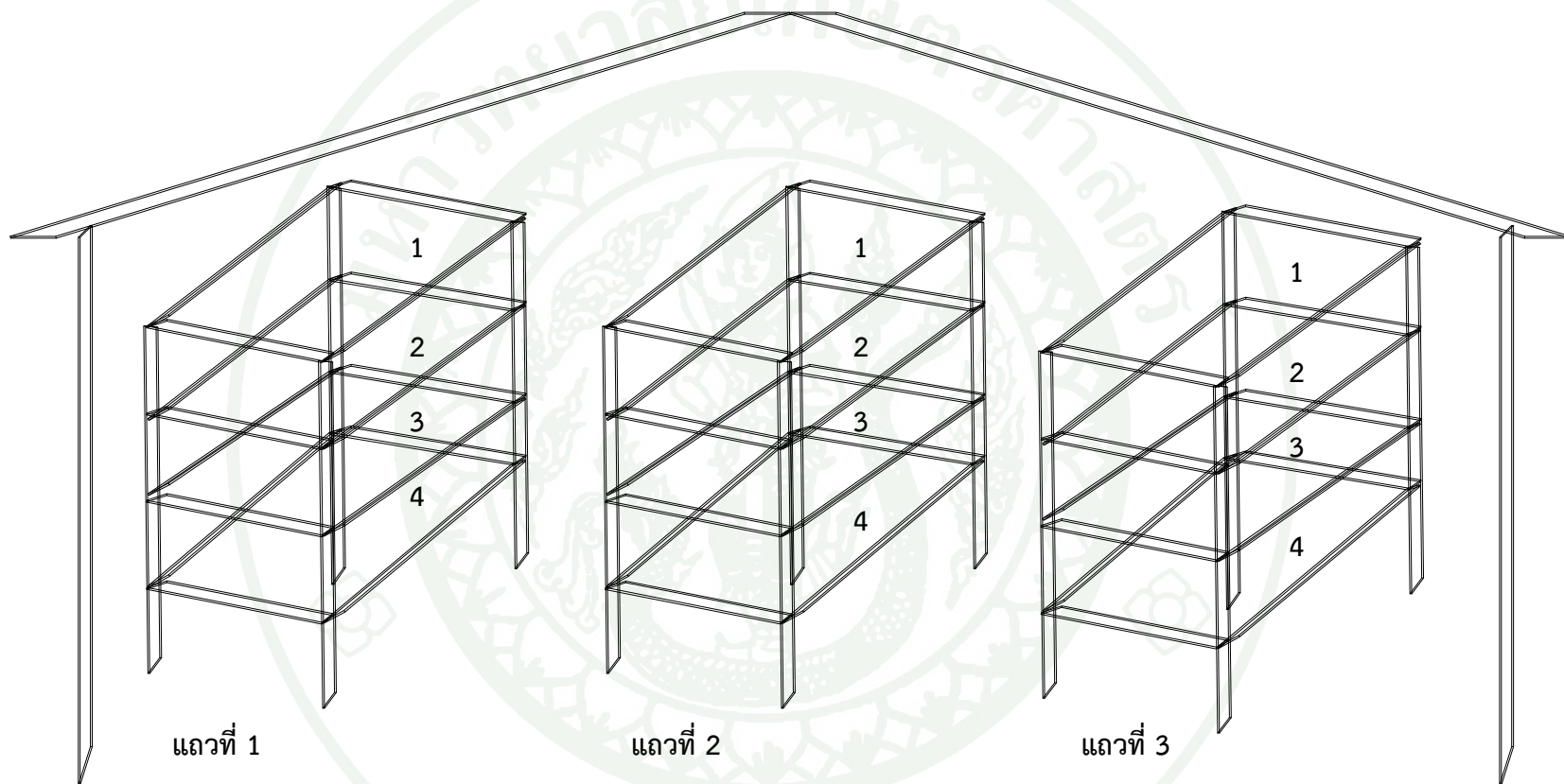


ภาพผนวกที่ จ7 แผนผังการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมกับเชื้อเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-019 ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 2 โดยวิธีการสุ่ม

แถวที่ 1 (1) ฉีดพ่นด้วย BC02 (2) ฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า (control) (3) ฉีดพ่นด้วย MK05 และ (4) ฉีดพ่นด้วย BF04

แถวที่ 2 (1) ฉีดพ่นด้วย MK05 (2) ฉีดพ่นด้วย BF04 (3) ฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า (control) และ (4) ฉีดพ่นด้วย BC02 (control)

แถวที่ 3 (1) ฉีดพ่นด้วย MK05 (2) ฉีดพ่นด้วย BC02 (3) ฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า (control) และ (4) ฉีดพ่นด้วย BF04

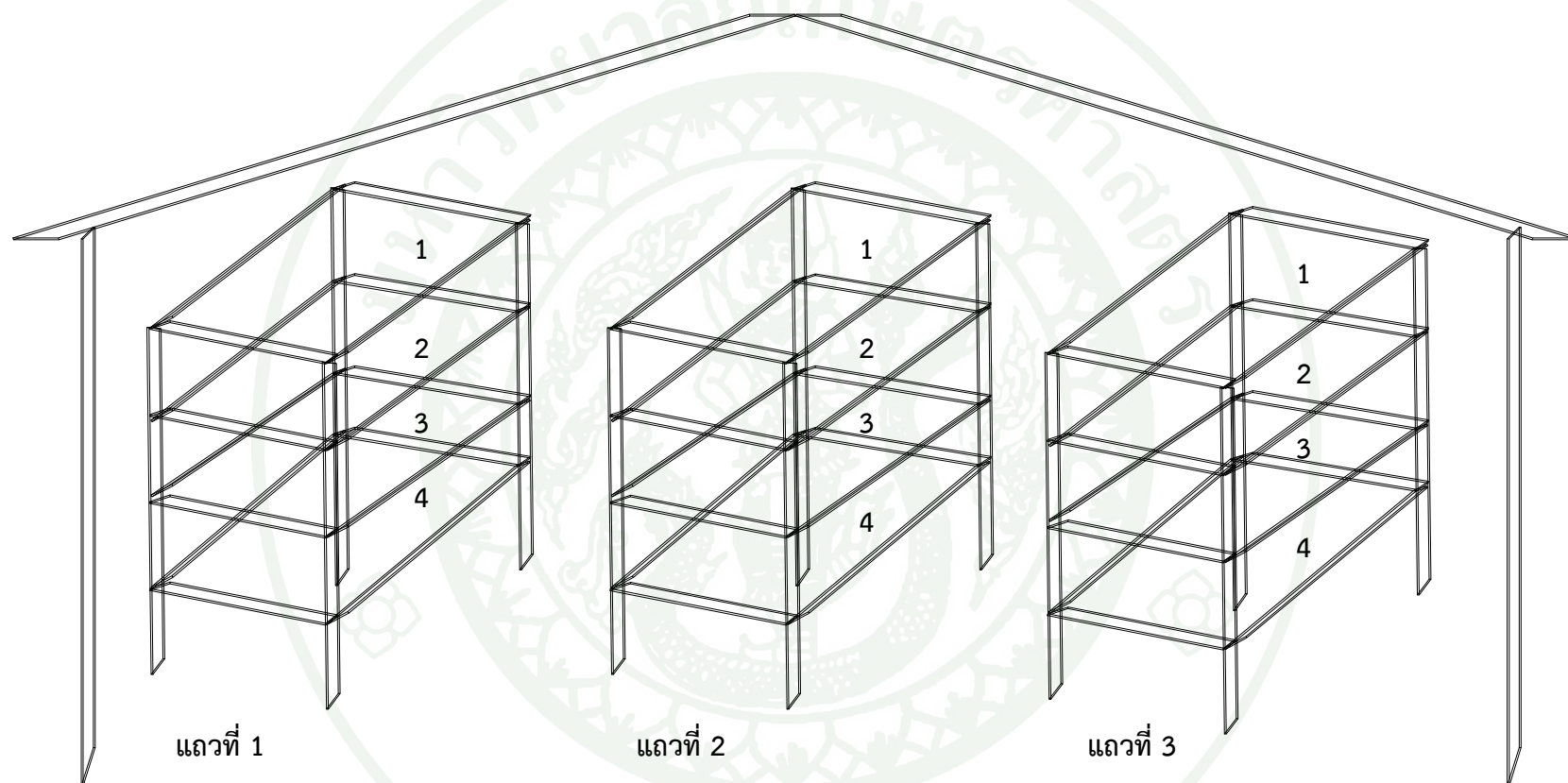


ภาพผนวกที่ จ8 แผนผังการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมกับเชื้อเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-009 ครั้งที่ 2 โรงเรือนที่ 1 โดยวิธีการสุ่ม

แถวที่ 1 (1) ฉีดพ่นด้วย BC03 (2) ฉีดพ่นด้วย BC05 (3) ฉีดพ่นด้วย NB (control) และ (4) ฉีดพ่นด้วย BF02

แถวที่ 2 (1) ฉีดพ่นด้วย BC05 (2) ฉีดพ่นด้วย BF02 (3) ฉีดพ่นด้วย NB (control) และ (4) ฉีดพ่นด้วย BC03

แถวที่ 3 (1) ฉีดพ่นด้วย BF02 (2) ฉีดพ่นด้วย NB (control) (3) ฉีดพ่นด้วย BC03 และ (4) ฉีดพ่นด้วย BC05

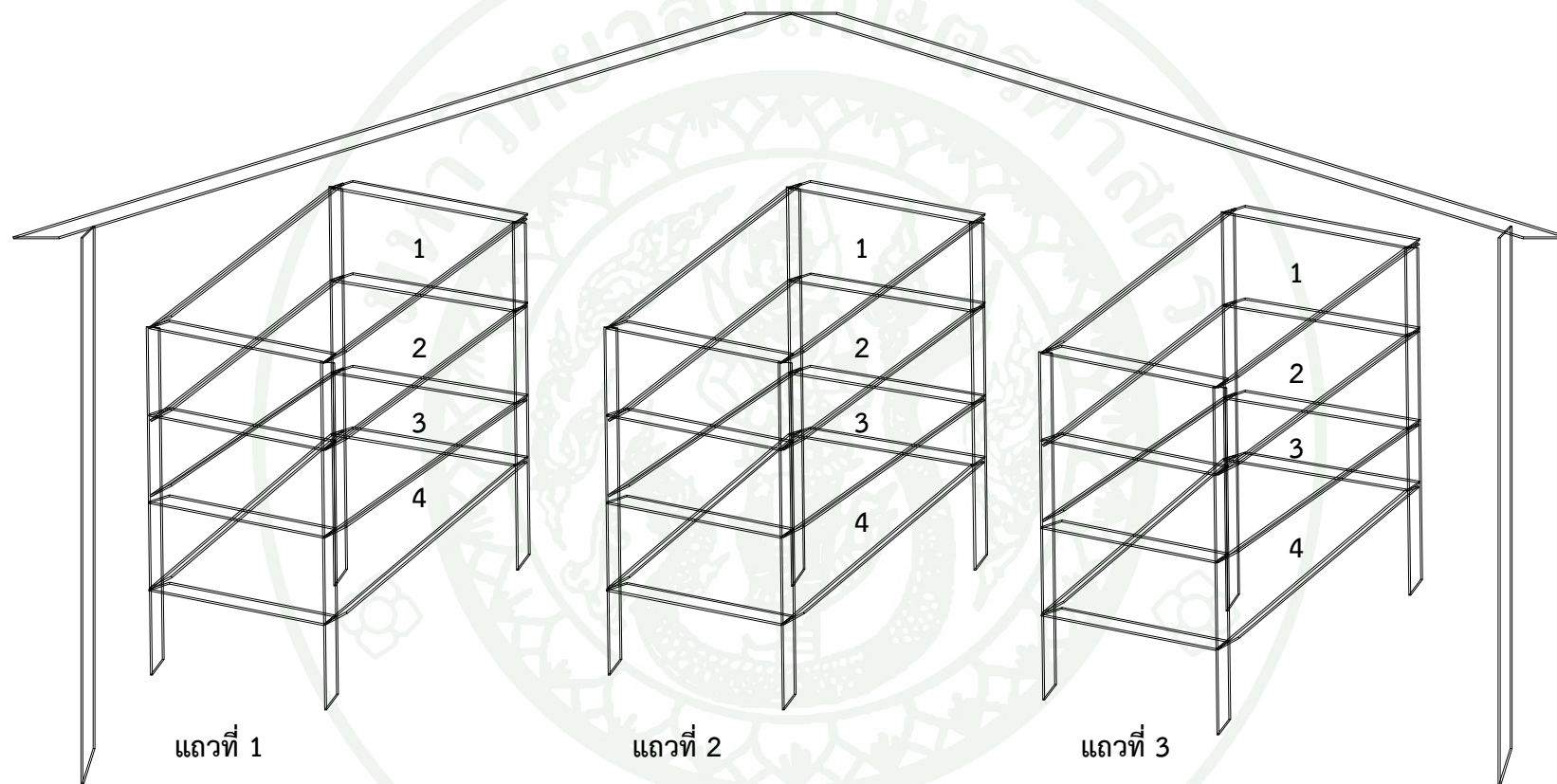


ภาพผนวกที่ จ9 แผนผังการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมกับเชื้อเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-037 ครั้งที่ 2 โรงเรือนที่ 2 โดยวิธีการสุ่ม

แถวที่ 1 (1) ฉีดพ่นด้วย BC05 (2) ฉีดพ่นด้วย BF02 (3) ฉีดพ่นด้วย BC03 และ (4) ฉีดพ่นด้วย NB (control)

แถวที่ 2 (1) ฉีดพ่นด้วย BC05 (2) ฉีดพ่นด้วย NB (control) (3) ฉีดพ่นด้วย BC03 และ (4) ฉีดพ่นด้วย BF02

แถวที่ 3 (1) ฉีดพ่นด้วย BF02 (2) ฉีดพ่นด้วย BC03 (3) ฉีดพ่นด้วย NB (control) และ (4) ฉีดพ่นด้วย BC05

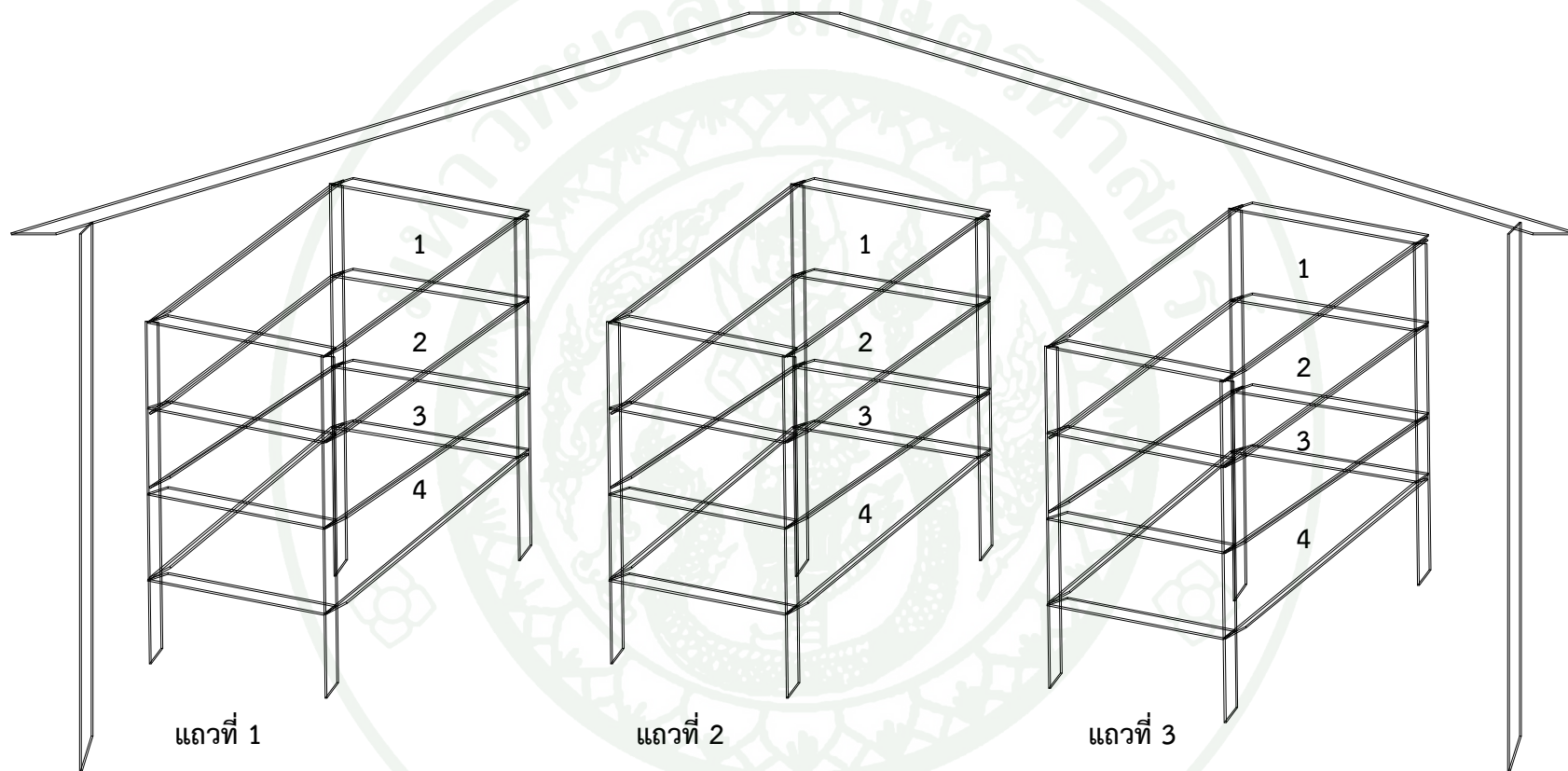


ภาพผนวกที่ จ10 แผนผังการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมกับเชื้อเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-045 ครั้งที่ 3 โรงเรือนที่ 1 โดยวิธีการสุ่ม

แถวที่ 1 (1) ฉีดพ่นด้วย 7A/2(1) (2) ฉีดพ่นด้วย NB (control) (3) ฉีดพ่นด้วย MK07 และ (4) ฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า (control)

แถวที่ 2 (1) ฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า (control) (2) ฉีดพ่นด้วย NB (control) (3) ฉีดพ่นด้วย 7A/2(1) และ (4) ฉีดพ่นด้วย MK07

แถวที่ 3 (1) ฉีดพ่นด้วย MK07 (2) ฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า (control) (3) ฉีดพ่นด้วย 7A/2(1) และ (4) ฉีดพ่นด้วย NB (control)

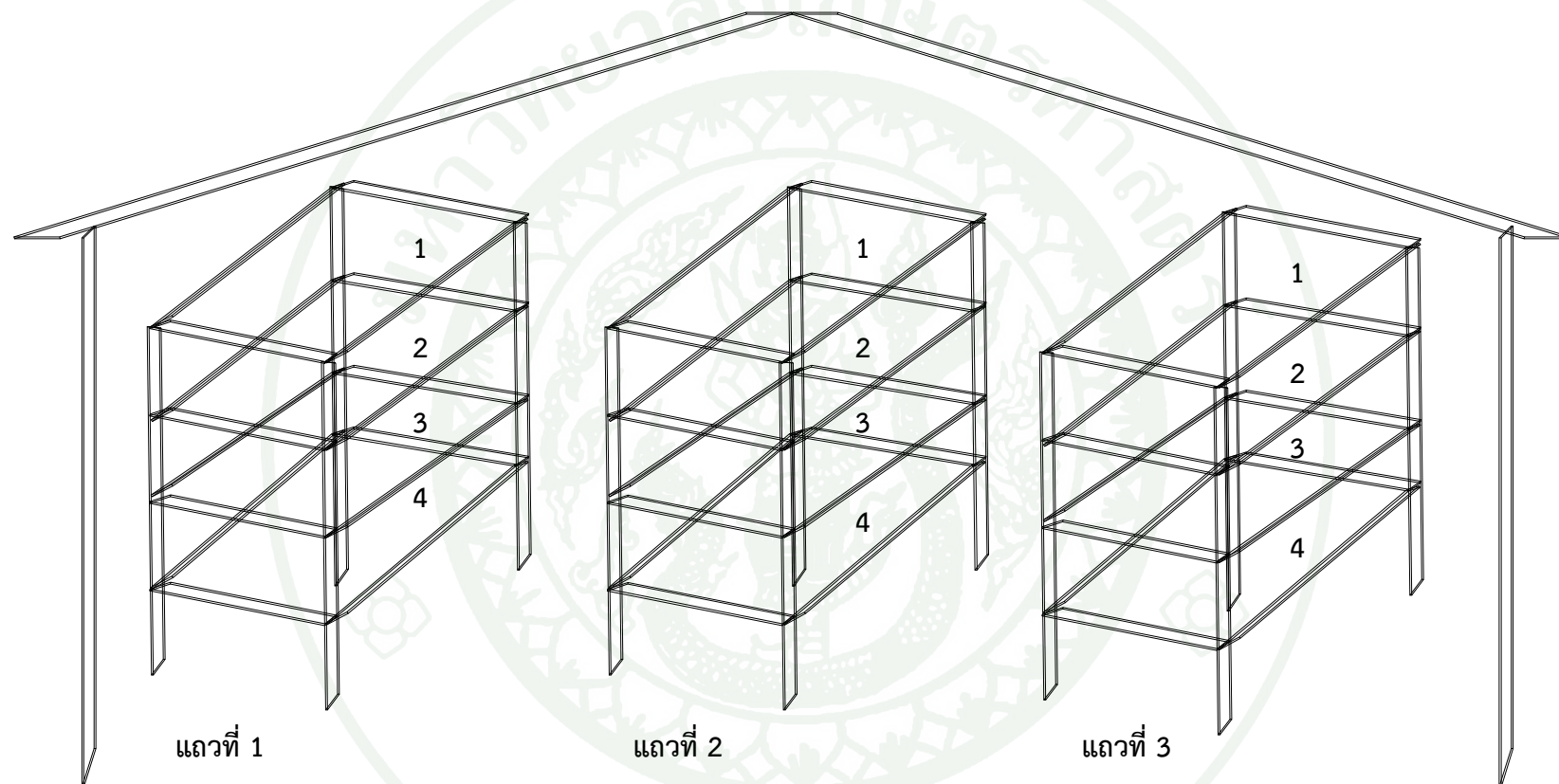


ภาพผนวกที่ จ11 แผนผังการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมกับเชื้อเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-071 ครั้งที่ 3 โรงเรือนที่ 2 โดยวิธีการสุ่ม

แถวที่ 1 (1) ฉีดพ่นด้วย NB (control) (2) ฉีดพ่นด้วย MK07 (3) ฉีดพ่นด้วย 7A/2(1) และ (4) ฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า (control)

แถวที่ 2 (1) ฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า (control) (2) ฉีดพ่นด้วย NB (control) (3) ฉีดพ่นด้วย 7A/2(1) และ (4) ฉีดพ่นด้วย MK07

แถวที่ 3 (1) ฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า (control) (2) ฉีดพ่นด้วย NB (control) (3) ฉีดพ่นด้วย MK07 และ (4) ฉีดพ่นด้วย 7A/2(1)

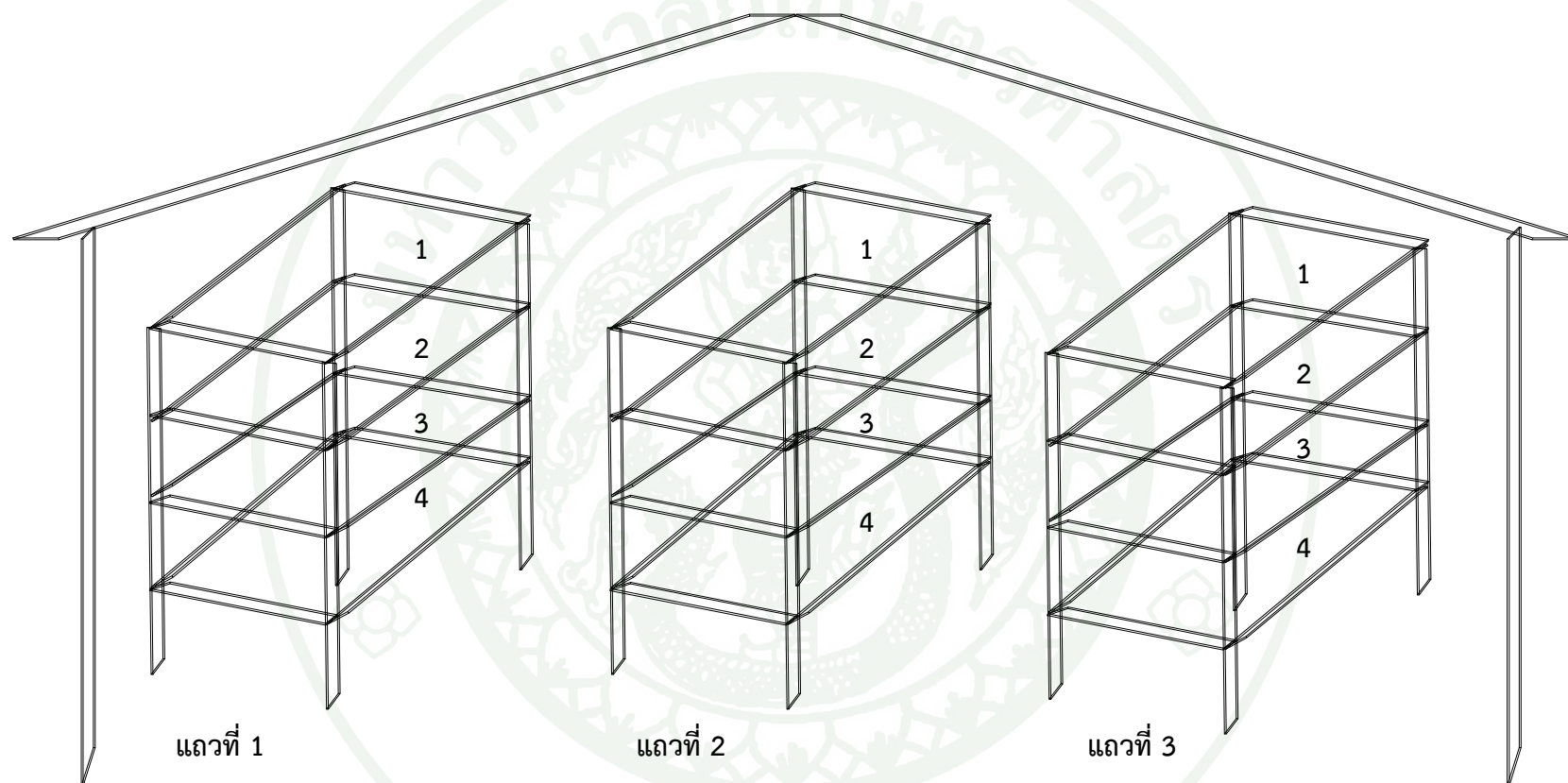


ภาพผนวกที่ จ12 แผนผังการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมกับเชื้อเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-024 ครั้งที่ 4 โรงเรือนที่ 1 โดยวิธีการสุ่ม

แถวที่ 1 (1) ฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า (control) (2) ฉีดพ่นด้วย 7A/2(1) (3) ฉีดพ่นด้วย MK07 และ (4) ฉีดพ่นด้วย NB (control)

แถวที่ 2 (1) ฉีดพ่นด้วย MK07 (2) ฉีดพ่นด้วย 7A/2(1) (3) ฉีดพ่นด้วย NB (control) และ (4) ฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า (control)

แถวที่ 3 (1) ฉีดพ่นด้วย NB (control) (2) ฉีดพ่นด้วย MK07 (3) ฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า (control) และ (4) ฉีดพ่นด้วย 7A/2(1)

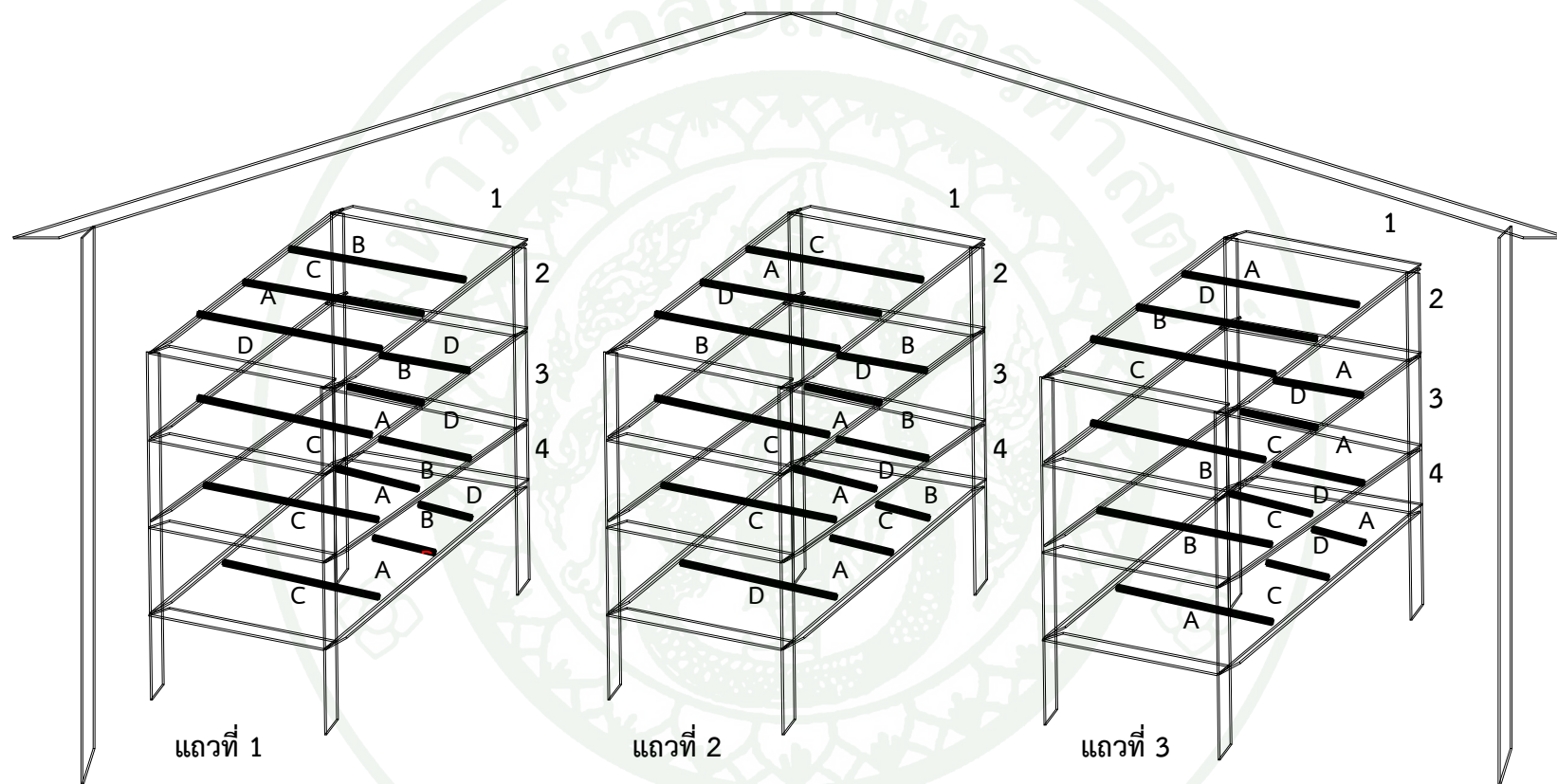


ภาพผนวกที่ จ13 แผนผังการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมกับเชื้อเห็ดฟางสายพันธุ์ Vvol-029 ครั้งที่ 4 โรงเรือนที่ 2 โดยวิธีการสุ่ม

แถวที่ 1 (1) ฉีดพ่นด้วย MK07 (2) ฉีดพ่นด้วย 7A/2(1) (3) ฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า (control) และ (4) ฉีดพ่นด้วย NB (control)

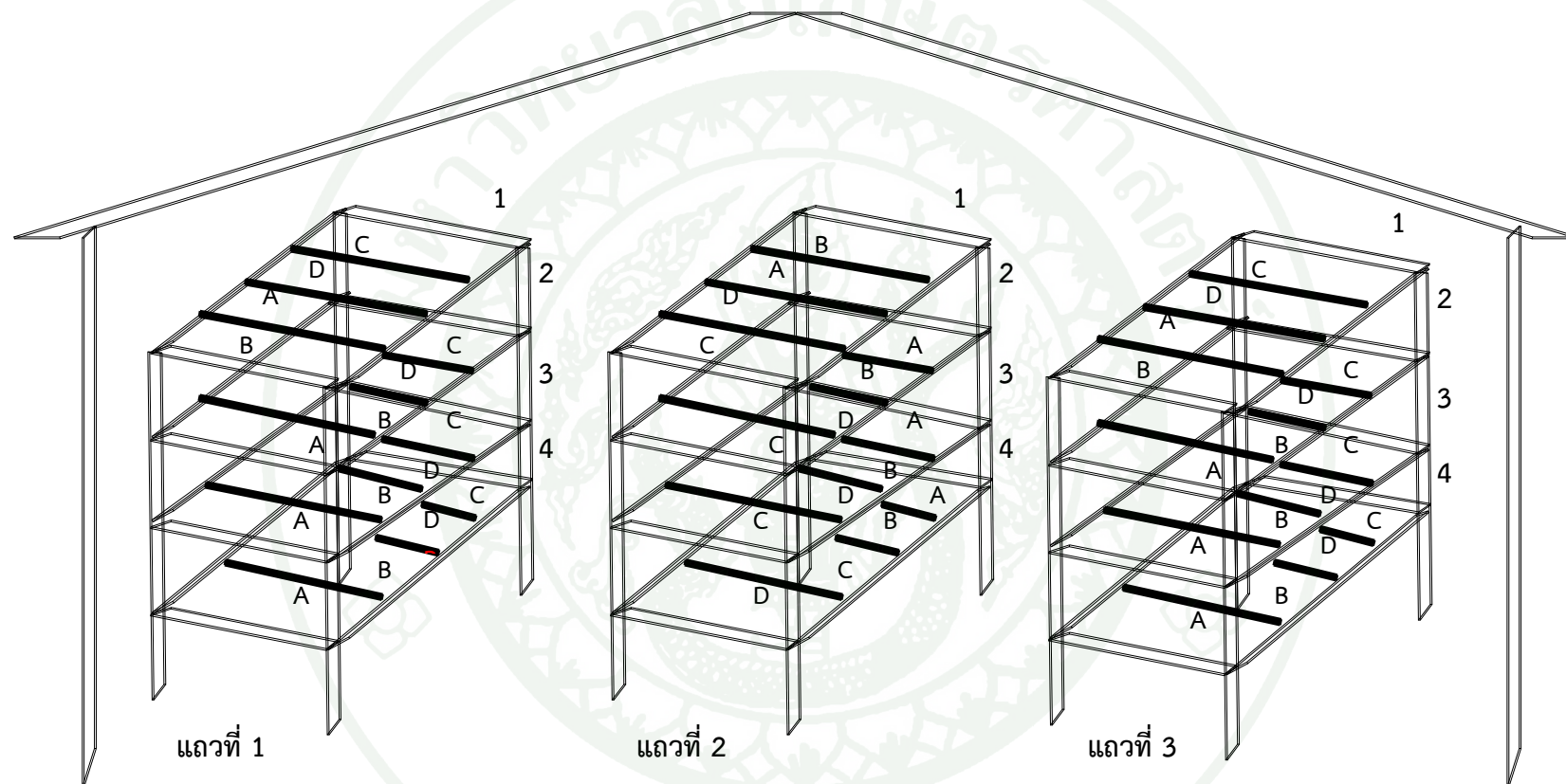
แถวที่ 2 (1) ฉีดพ่นด้วย 7A/2(1) (2) ฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า (control) (3) ฉีดพ่นด้วย NB (control) และ (4) ฉีดพ่นด้วย MK07

แถวที่ 3 (1) ฉีดพ่นด้วย MK07 (2) ฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า (control) (3) ฉีดพ่นด้วย NB (control) และ (4) ฉีดพ่นด้วย 7A/2(1)



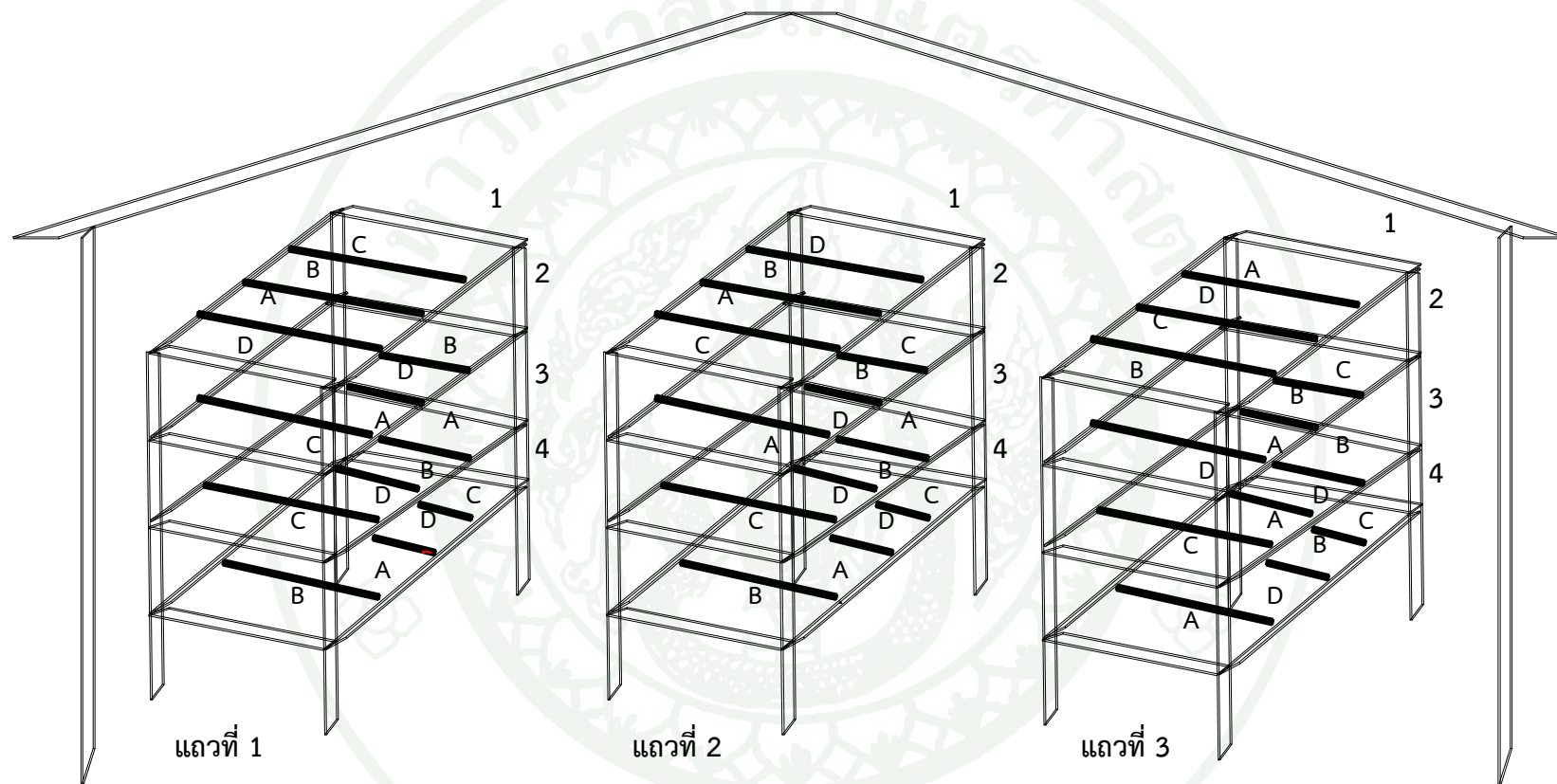
ภาพผนวกที่ จ14 แผนผังการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD เชื้อเห็ดฟางทดสอบสายพันธุ์ยูธยา วิธีที่ 1 ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 1 โดยวิธีการสุ่ม

ในแต่ละแถวมี 4 ชั้นเพาะ แบ่งออกเป็น 4 ส่วนเท่าๆกัน ซึ่ง (A) คือ ฉีดพ่นด้วย BC02 (B) คือ ฉีดพ่นด้วย BC03 (C) คือ ฉีดพ่นด้วย *B. subtilis* B2 และ (D) คือ ไม่ฉีดพ่น (control)

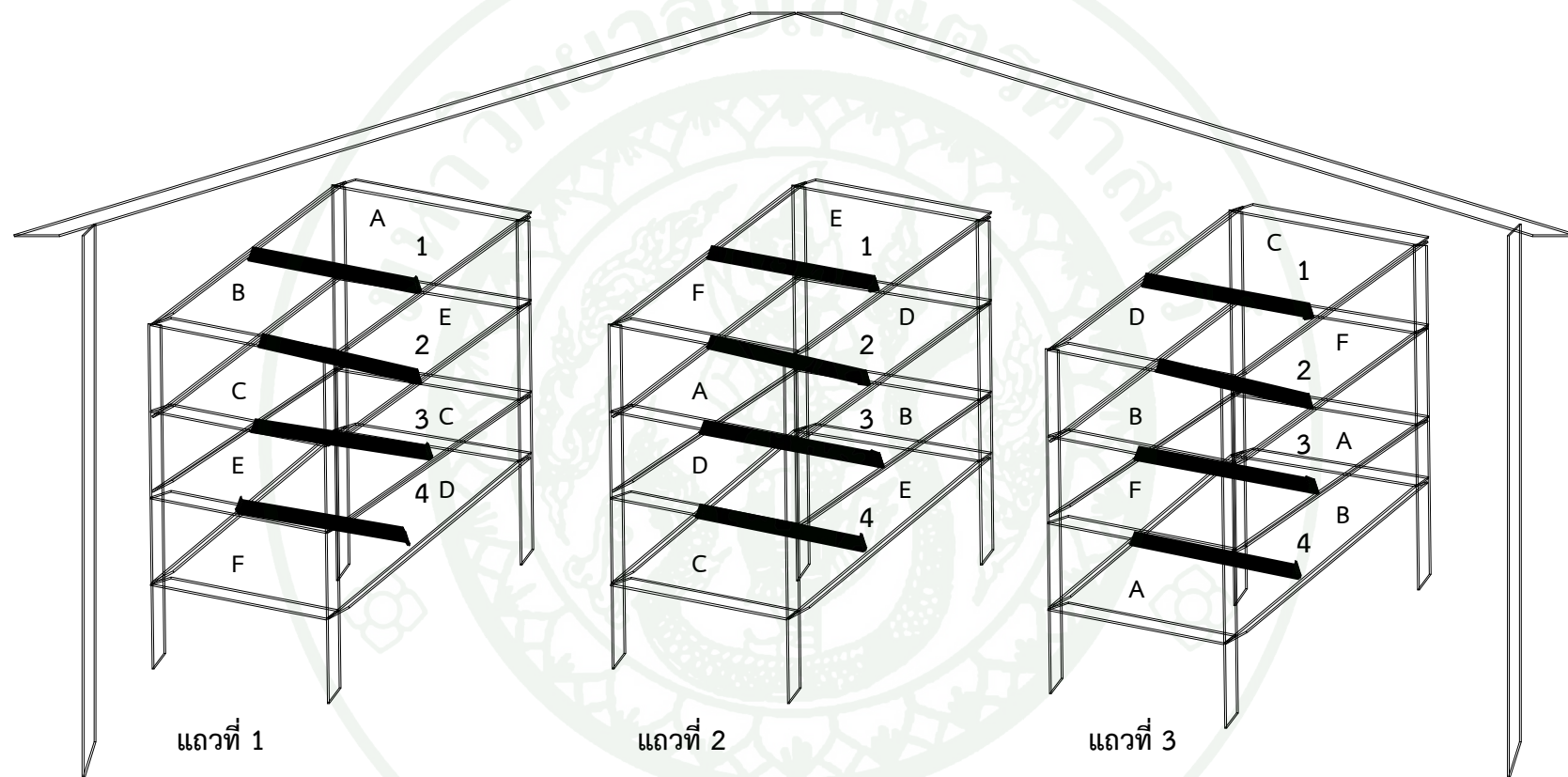


ภาพผนวกที่ จ15 แผนผังการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD เชื้อเห็ดฟางทดสอบสายพันธุ์อูยธยา วิธีที่ 1 ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 2 โดยวิธีการสุ่ม

ในแต่ละแถวมี 4 ชั้นเพาะ แบ่งออกเป็น 4 ส่วนเท่าๆกัน ซึ่ง (A) คือ ฉีดพ่นด้วย BC05 (B) คือ ฉีดพ่นด้วย BF02 (C) คือ ฉีดพ่นด้วย *B. subtilis* พลายแก้ว และ (D) คือ ไม่ฉีดพ่น (control)

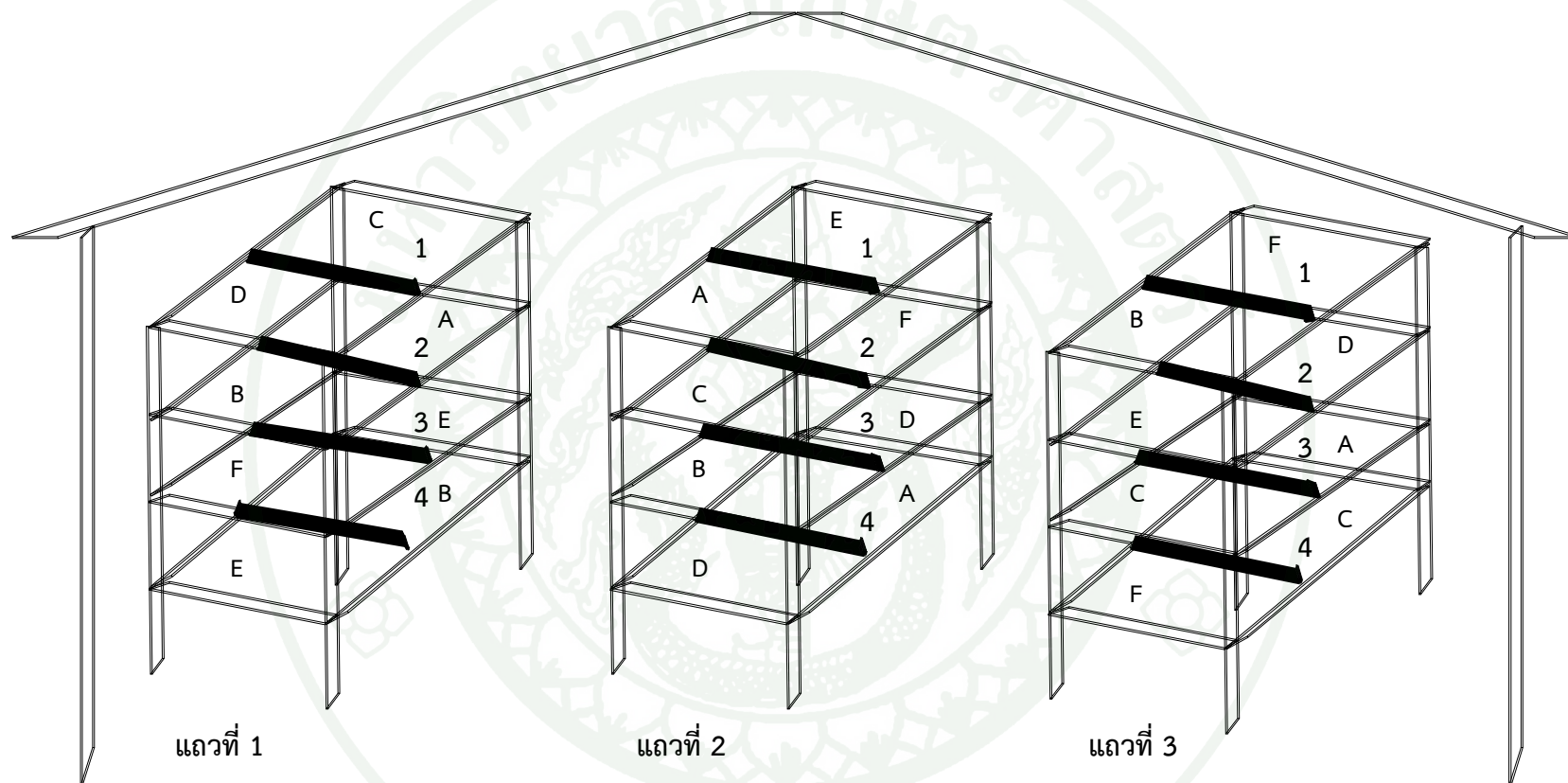


ภาพผนวกที่ จ16 แผนผังการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD เชื้อเห็ดฟางทดสอบสายพันธุ์ Vvol-009 วิธีที่ 1 ครั้งที่ 2 โรงเรือนที่ 1 โดยวิธีการสุ่ม
ในแต่ละแถวมี 4 ชั้นเพาะ แบ่งแต่ละชั้นออกเป็น 4 ส่วน เท่าๆกัน ซึ่ง (A) คือ ฉีดพ่นด้วย BC02 (B) คือ ฉีดพ่นด้วย BC03 (C) คือ ฉีดพ่นด้วย *B. subtilis* B2 และ (D) คือ ไม่ฉีดพ่น (control)



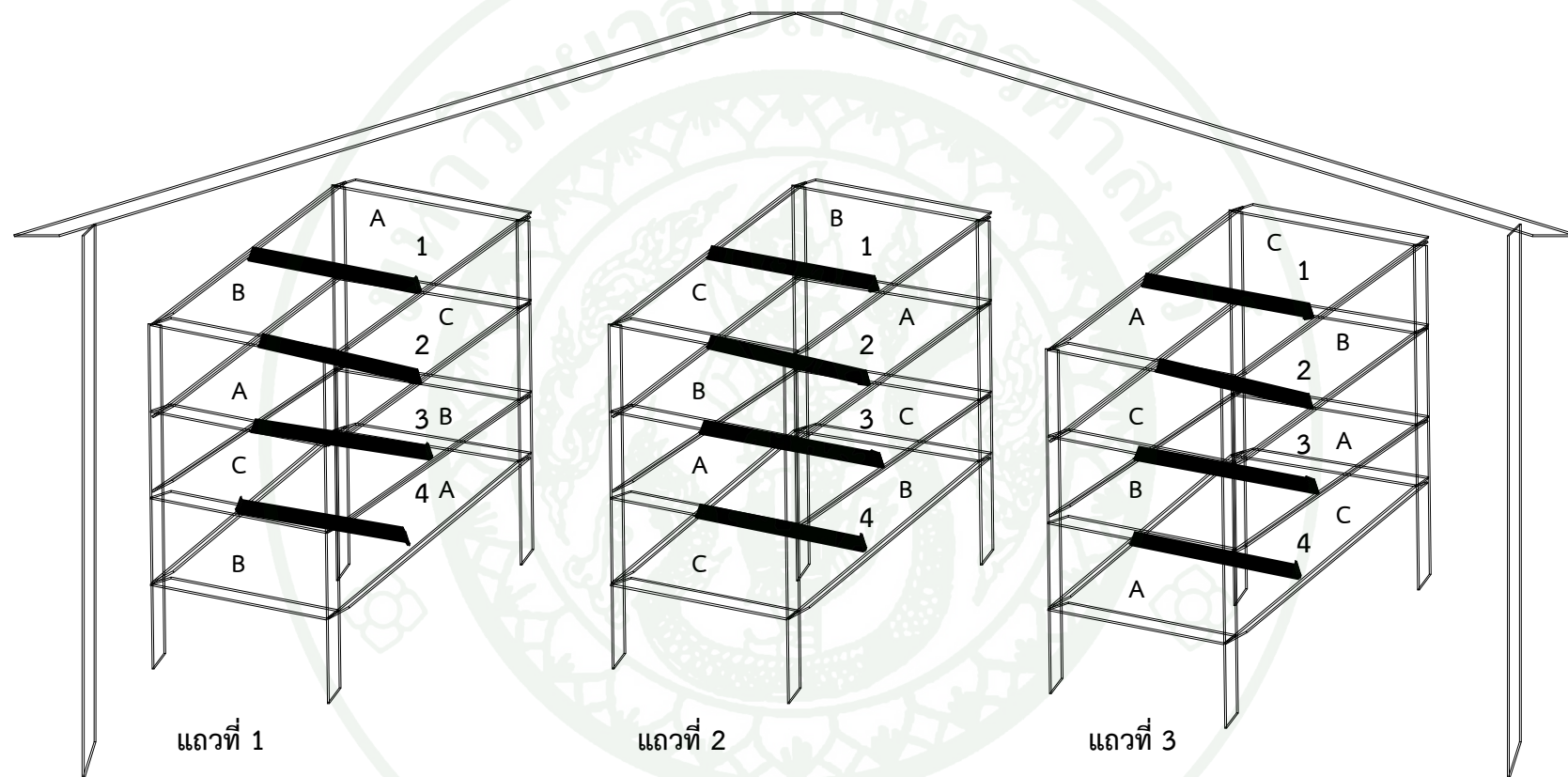
ภาพผนวกที่ จ17 แผนผังการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD เชื้อเห็ดฟางทดสอบสายพันธุ์ยูธยา วิธีที่ 2 ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 1 โดยวิธีการสุ่ม

ในแต่ละแถวมี 4 ชั้นเพาะ แบ่งแต่ละชั้นออกเป็น 2 ส่วน เท่าๆกัน ซึ่ง (A) คือ ฉีดพ่นด้วย BC02 (B) คือ ฉีดพ่นด้วย BC03 (C) คือ ฉีดพ่นด้วย BC05 (D) ฉีดพ่นด้วย BF02 (E) ฉีดพ่นด้วย *B. subtilis* B2 และ (F) คือ ไม่ฉีดพ่น (control)



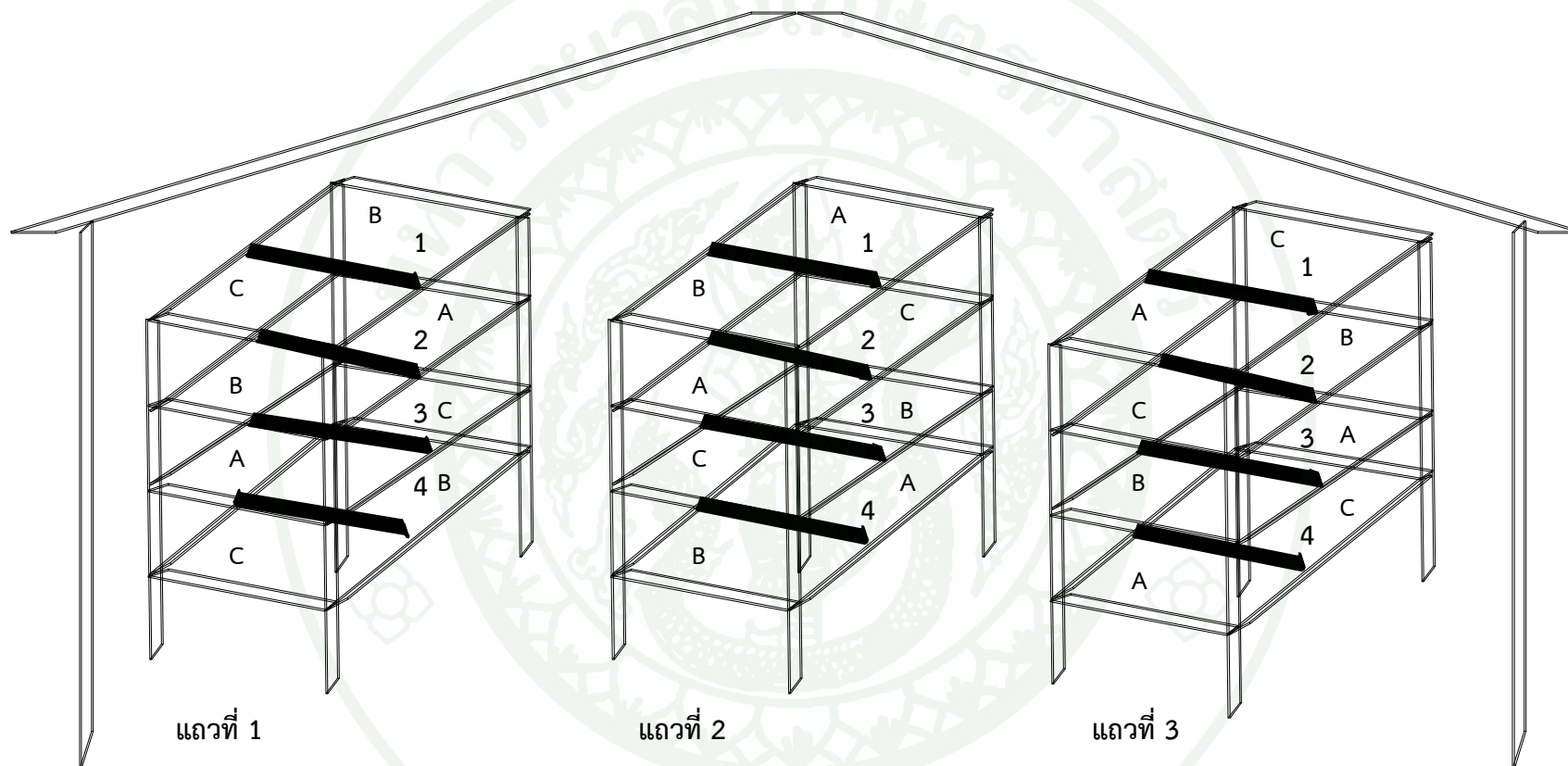
ภาพผนวกที่ จ18 แผนผังการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD เชื้อเห็ดฟางทดสอบสายพันธุ์ยูธยา วิธีที่ 2 ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่ 2 โดยวิธีการสุ่ม

ในแต่ละแถวมี 4 ชั้นเพาะ แบ่งแต่ละชั้นออกเป็น 2 ส่วน เท่าๆกัน ซึ่ง (A) คือ ฉีดพ่นด้วย BC02 (B) คือ ฉีดพ่นด้วย BC03 (C) คือ ฉีดพ่นด้วย BC05 (D) ฉีดพ่นด้วย BF02 (E) ฉีดพ่นด้วย *B. subtilis* B2 และ (F) คือ ไม่ฉีดพ่น (control)

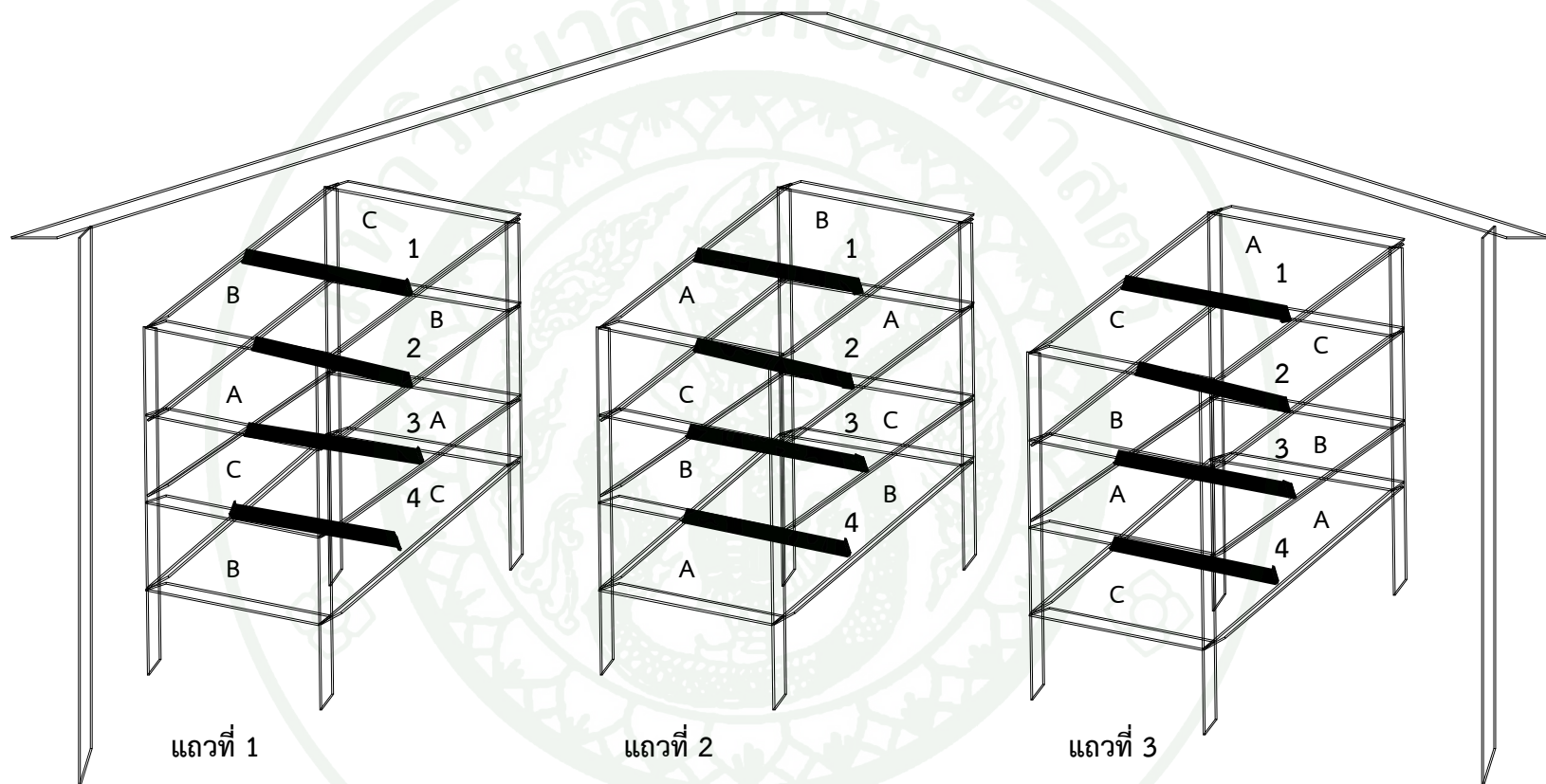


ภาพผนวกที่ จ19 แผนผังการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD เชื้อเห็ดฟางทดสอบสายพันธุ์ยุงยุง วิธีที่ 2 ครั้งที่ 2 โรงเรือนที่ 1 โดยวิธีการสุ่ม

ในแต่ละแถวมี 4 ชั้นเพาะ แบ่งแต่ละชั้นออกเป็น 2 ส่วน เท่าๆกัน ซึ่ง (A) คือ ฉีดพ่นด้วย BC02 (B) คือ ฉีดพ่นด้วย BC05 และ(C) คือ ไม่ฉีดพ่น (control)

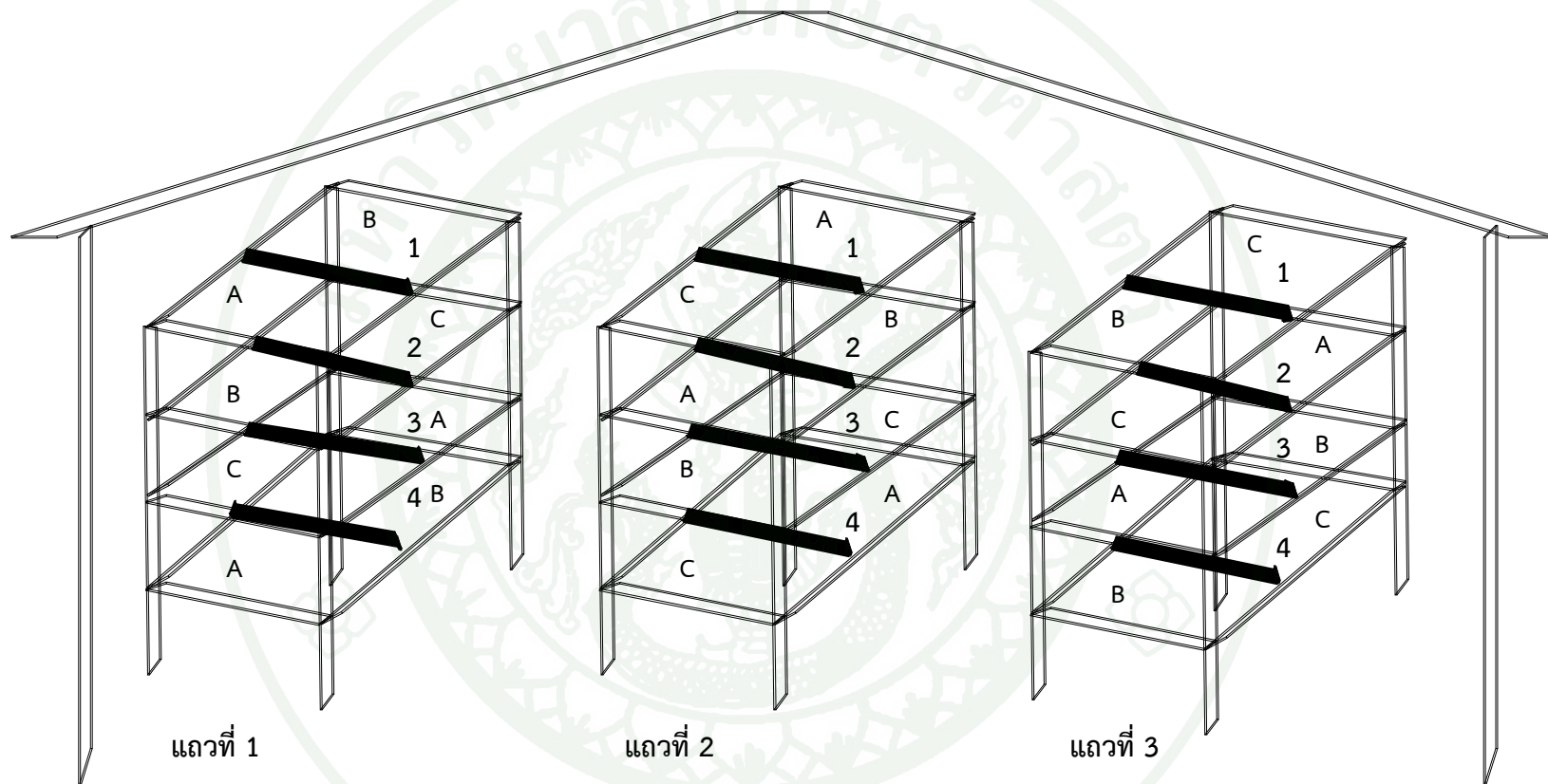


ภาพผนวกที่ จ20 แผนผังการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD เชื้อเห็ดฟางทดสอบสายพันธุ์ยุงยุง วิธีที่ 2 ครั้งที่ 2 โรงเรือนที่ 2 โดยวิธีการสุ่ม
ในแต่ละแถวมี 4 ชั้นเพาะ แบ่งแต่ละชั้นออกเป็น 2 ส่วน เท่าๆกัน ซึ่ง (A) คือ ฉีดพ่นด้วย BC02 (B) คือ ฉีดพ่นด้วย BC05 และ (C) คือ ไม่ฉีดพ่น (control)



ภาพผนวกที่ จ21 แผนผังการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD เชื้อเห็ดฟางทดสอบสายพันธุ์อูรยา วิธีที่ 2 ครั้งที่ 3 โรงเรือนที่ 1 โดยวิธีการสุ่ม

ในแต่ละแถวมี 4 ชั้นเพาะ แบ่งแต่ละชั้นออกเป็น 2 ส่วน เท่าๆกัน ซึ่ง (A) คือ ฉีดพ่นด้วย BC05 (B) คือ ฉีดพ่นด้วย *B. subtilis* B2 และ (C) คือ ไม่ฉีดพ่น (control)



ภาพผนวกที่ จ22 แผนผังการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD เชื้อเห็ดฟางทดสอบสายพันธุ์อูยธยา วิธีที่ 2 ครั้งที่ 3 โรงเรือนที่ 2 โดยวิธีการสุ่ม

ในแต่ละแถวมี 4 ชั้นเพาะ แบ่งแต่ละชั้นออกเป็น 2 ส่วน เท่าๆกัน ซึ่ง (A) คือ ฉีดพ่นด้วย BC05 (B) คือ ฉีดพ่นด้วย *B. subtilis* B2 และ (C) คือ ไม่ฉีดพ่น (control)



เห็ดไทย

๒๕๕๖

กรกฎาคม - ธันวาคม ๒๕๕๖



สมาคมนักวิจัยและเพาะเห็ดแห่งประเทศไทย

ISSN 0125-8311

เกิดไทย ๒๕๕๖

กรกฎาคม - ธันวาคม ๒๕๕๖

สารบัญ

	หน้า
➤ การเพาะเห็ดการบูร Camphor Mushroom (<i>Antrodia Cinnamomea</i>) Cultivation	1
➤ การเปรียบเทียบสายพันธุ์เห็ดกระดุมบราซิล (<i>Agaricus blazei</i>) Varietal comparison of <i>Agaricus blazei</i>	5
➤ การพัฒนาเห็ดเศรษฐกิจสายพันธุ์ใหม่ <i>Coprinus comatus</i> (O.F.Müll.) Gray ที่เหมาะสมกับการเพาะในประเทศไทย Development of a New Economic Mushroom <i>Coprinus comatus</i> (O.F.Müll.) for Cultivation in Thailand	10
➤ ดำรวจและรวบรวมเห็ดลิ้นกวาง (<i>Fistulina hepatica</i> (Schaeff.) With.) เพื่อการนำมาใช้ประโยชน์ Investigation and Collection Hed Lin-Kwang (<i>Fistulina hepatica</i> (Schaeff.) With.) for Utilization	27
➤ ความหลากหลายชนิดของเห็ดราในสถานีพัฒนาและส่งเสริมการอนุรักษ์สัตว์ป่าราชบุรี Diversity of Mushrooms in Ratchaburi Wildlife Conservation Development and Extension Station	32
➤ การคัดเลือกแบคทีเรียสร้างสปอร์และประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา แข่งขันในฟาร์มเห็ดและเชื้อราสาเหตุโรคพืชบางชนิดในระดับห้องปฏิบัติการ Screening for Endospore Forming Bacteria and Their Efficiency to Inhibited The Competitive Fungi in The Mushroom Farm and Some Plant Pathogenic Fungi in Laboratory Scale	44
➤ การจัดทำแผนธุรกิจสำหรับการเพาะเห็ด2 การวางแผนทางการเงิน ตอนที่ 1	56

การคัดเลือกแบคทีเรียสร้างสปอร์และประสิทธิภาพในการ
ยับยั้งการเจริญของเชื้อราแข่งขันในฟาร์มเห็ดและเชื้อรา
สาเหตุโรคพืชบางชนิดในระดับห้องปฏิบัติการ
Screening for Endospore Forming Bacteria and
Their Efficiency to Inhibited The Competitive
Fungi in The Mushroom Farm and Some
Plant Pathogenic Fungi in Laboratory Scale

เยาวภา อร่ามศิริจุใจเวทย์¹ สุนีย์ คำพันธ์¹ สุรางค์ สุธิราวุธ¹ กรกษ จันทร² อภิรัชต์ สมฤทธิ์³
และ อัจฉรา พยัพพานนท์²

¹ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

² กลุ่มวิจัยและพัฒนาเห็ด สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร

³ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

บทคัดย่อ

ได้ คัดแยกเชื้อแบคทีเรีย จากวัสดุเพาะเห็ดฟางและสภาพแวดล้อมบริเวณเพาะเห็ดฟาง
จาก 3 แหล่ง ได้แก่ ฟาร์มผลิตเชื้อเห็ดฟาง โรงเรือนทดลองเพาะเห็ด และแปลงสาธิต
การเพาะเห็ดฟางกองเดี่ยว ภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน
แยกเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งหมด 38 ไอโซเลท คัดเลือกเฉพาะเชื้อแบคทีเรียสร้างเอนโดสปอร์
จำนวน 22 ไอโซเลท นำมาศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชและ
เชื้อราแข่งขันของเห็ด ในห้องปฏิบัติการ จำนวน 23 สายพันธุ์ ด้วยวิธี Dual culture บนอาหาร
เลี้ยงเชื้อ PDA (Potato dextrose agar) พบว่าแบคทีเรียที่สร้างเอนโดสปอร์ จำนวน 8 ไอโซ
เลท ได้แก่ BC01, BC02, BC03, BC05, BC06, BF02, BF04 และ MK07 มีความสามารถ

ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ผลดี และไอโซเลทที่มีเปอร์เซ็นต์การถูกยับยั้งสูงที่สุด และสามารถยับยั้งเชื้อราได้ทุกสายพันธุ์ คือ BC05

คำสำคัญ: แบคทีเรียสร้างเอนโดสปอร์ เชื้อราแข่งขัน เห็ดฟาง เชื้อราสาเหตุโรคพืช

คำนำ

ใ บปัจจุบันเห็ดฟาง เป็นเห็ดที่นิยมบริโภคกันเป็น อย่างมาก จึงทำให้ความมีต้องการของตลาด สูง ราคาดีตลอดทั้งปี ทำให้เกษตรกรหันมาให้ความสนใจเพาะกันมากขึ้น แต่ในขณะเดียวกันก็กลับพบว่า เกษตรกรผู้เพาะเห็ดฟางจำนวนมากยังประสบปัญหา จากศัตรูเห็ด โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อราแข่งขันของเห็ด ชนิดต่างๆ ซึ่งยังไม่สามารถหาวิธีในการแก้ไขปัญหาที่ ได้ผลดีเท่าที่ควร ส่งผลให้ผลผลิตเห็ดฟางของเกษตรกร ตกต่ำลง และต้องใช้ต้นทุนในการเพาะเห็ดสูงขึ้น เพราะต้องใช้สารเคมีเข้ามาช่วยในการกำจัดศัตรูต่างๆ ของเห็ด ซึ่งส่งผลเสียทั้งต่อตัวเกษตรกรและสิ่งแวดล้อม ดังนั้น การศึกษาหาแนวทางในการป้องกันและแก้ไขปัญหาโดยใช้วิธีการควบคุมทางชีวภาพ เช่นการใช้ เชื้อแบคทีเรียกลุ่มที่สร้างสปอร์ มาใช้ในการควบคุม เชื้อราแข่งขันของเห็ดฟาง จึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่ น่าสนใจ เนื่องจาก นอกจากจะช่วยแก้ไขปัญหาศัตรู ของเห็ดให้แก่เกษตรกรผู้เพาะเห็ดฟางได้แล้ว ยังทำให้ ผลผลิตเห็ดฟางของเกษตรกรสูงขึ้นโดยไม่ต้องพึ่งสาร เคมีที่เป็นอันตราย และถ้าหากเชื้อในกลุ่มนี้มีความ สามารถในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชจะสามารถ นำไปใช้ประโยชน์ในด้านการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืช ต่อไปได้อีกด้วย

ในขณะที่ นักวิชาการเกษตรและเกษตรกรผู้ เพาะเห็ดได้มีความพยายามพัฒนาคิดค้นวิธีการเพิ่ม ผลผลิตเห็ดฟางเพื่อเป็นการเพิ่มรายได้ให้กับเกษตรกร ซึ่ง แต่ปัญหาต่างๆที่พบในโรงเรือนเพาะเห็ด โดยเฉพาะ ปัญหาจากศัตรูเห็ด เช่น เชื้อราที่เจริญบนวัสดุเพาะไป จะยับยั้งการเจริญของเส้นใยเห็ด ส่วน และไร หนอน แมลงต่างๆ เข้าไปทำลายเส้นใยหรือดอกเห็ด ทำให้ เกิดการเน่าเสีย ผลผลิตต่ำไม่คุ้มทุน จนบางรายต้อง เลิกกิจการไปเพราะประสบปัญหาการขาดทุน บุบบา (2542) กล่าวว่า เชื้อราแข่งขัน เช่น *Sclerotium rolfsii* ก่อโรคราเม็ดผักกาด ทำให้เห็ดไม่เป็นดอกหรือดอก นิ่มกว่าปกติ นอกจากนี้ยังมีโรคราเหี่ยวที่เกิดจากรา เหี่ยว ได้แก่ *Trichoderma* และ *Gliocladium* ซึ่งจะมี สีเหี่ยวอ่อนหรือเหี่ยวเข้ม ราเหี่ยว *Penicillium* มีสีเหี่ยว อมเทา ที่เจริญจากขี้เถ้าหรือฟางข้าวจะเจริญแข่งขัน กับเชื้อเห็ดฟาง ทำลายดอกเห็ดอ่อน ทำให้ผลผลิตของ เห็ดต่ำ จึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจค้นหาวิธีในการป้องกัน กำจัดศัตรูของเห็ด เพื่อเพิ่มผลผลิตให้มากขึ้น โดย ไม่ต้องใช้สารเคมี มีรายงานจาก Payapanon *et al.* (2011) พบว่าการนำน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอน ดอสปอร์ของ *Bacillus subtilis* B2 ที่แยกได้จากพื้นที่ที่

ใช้เพาะเห็ดฟาง และ *Paenibacillus polymyxa* N10 แยกได้จากเปลือกปอสา (mulberry) มาฉีดพ่นบนวัสดุเพาะ ในอัตราส่วน 1 ลิตรต่อพื้นที่ 4 ตารางเมตร พบว่าแบคทีเรียมีผลในการควบคุมเชื้อราแข่งขันและช่วยทำให้ผลผลิตเห็ดฟางเพิ่มขึ้นได้

ในงานวิจัยนี้จึงได้มุ่งเน้นให้มีการศึกษา เพื่อคัดแยกเชื้อแบคทีเรียสร้างสปอร์ที่สามารถควบคุมเชื้อราแข่งขันในโรงเพาะเห็ดฟาง รวมทั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชบางชนิดซึ่งอาจสามารถพัฒนาให้เกษตรกรนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

1. สถานที่และวิธีการเก็บตัวอย่าง

การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียสร้างสปอร์เพื่อใช้ในการทดลอง ทำการเก็บตัวอย่างจาก 3 แหล่ง คือ

- โรงเรือนทดลองเพาะเห็ด ภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน
 - แปลงสาธิตการเพาะเห็ดฟางกองเตี้ย ในการฝึกอบรมการเพาะเห็ดฟาง ภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน
 - ฟาร์มผลิตเชื้อเห็ดฟางบางบัว-บัวขาว ตำบลบางบัวทอง อำเภอบางบัวทอง จังหวัดนนทบุรี
- การแยกเชื้อแบคทีเรียจากทั้ง 3 แหล่ง มีวิธีการเก็บตัวอย่าง 2 วิธี คือ

1.1 แยกเชื้อแบคทีเรียจากสภาพสิ่งแวดล้อมบริเวณที่เพาะเห็ดฟาง โดยการนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar เปิดฝาไปวางไว้บริเวณที่เพาะเห็ดฟางเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วเก็บจานอาหารเพื่อนำมาบ่มต่อในห้องปฏิบัติการ

1.2 การแยกเชื้อแบคทีเรียจากวัสดุเพาะเห็ดฟาง โดยเก็บตัวอย่างวัสดุเพาะเห็ดฟางจากสถานที่ต่างๆ โดยการเก็บตัวอย่างใส่ถุงพลาสติกที่ปราศจากเชื้อ พร้อมบันทึกรายละเอียดของตัวอย่าง

2. วิธีการคัดแยกเชื้อแบคทีเรีย

2.1 การแยกเชื้อแบคทีเรียจากสภาพแวดล้อมบริเวณที่เพาะเห็ดฟาง

นำตัวอย่างจานอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar ที่วางเปิดฝาในแต่ละจุดทดสอบมาบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1-2 วัน จนโคโลนีปรากฏ คัดแยกเอาเชื้อที่มีลักษณะคล้ายกับเชื้อแบคทีเรีย นำไป cross streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar plate ใหม่จนสามารถแยกได้โคโลนีเดียว นำมาเก็บในอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar slant เพื่อทำการย้อมสีแบบแกรม ทดสอบลักษณะเบื้องต้น และเก็บตัวอย่างไว้เพื่อนำไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราแข่งขันในโรงเพาะเห็ดและเชื้อราสาเหตุโรคพืชต่อไป

2.2 การแยกเชื้อแบคทีเรียจากวัสดุเพาะเห็ดฟาง

นำตัวอย่างที่เก็บตามข้อ 1.2 มาชั่ง 1 กรัม ใส่ในน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 9 มล. บรจุในขวดฝาเกลียว ทำจนได้ความเจือจางที่ 10^{-5} เลือกความเจือจางที่ 10^{-3} , 10^{-4} และ 10^{-5} ปิเปตมา 0.1 มล. spread บนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar plate นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1-2 วัน จนโคโลนีปรากฏ คัดแยกเอาเชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะ

โคโลนีที่แตกต่างกันนำไป cross streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar plate ใหม่จนได้เชื้อที่บริสุทธิ์ แล้วนำมาเลี้ยงในอาหาร nutrient agar slant เพื่อทดสอบลักษณะเบื้องต้น และเก็บตัวอย่างไว้เพื่อนำไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราแข่งขันในโรงเพาะเห็ดและเชื้อราสาเหตุโรคพืชต่อไป

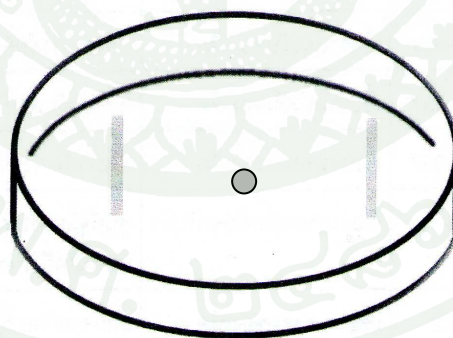
3. การศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อราแข่งขันของเห็ด และเชื้อราสาเหตุโรคพืช ในระดับห้องปฏิบัติการ

นำเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราแข่งขันของเห็ดและเชื้อราสาเหตุโรคพืช จำนวน 23 สายพันธุ์ (ตารางที่ 1) โดยวิธี dual culture โดยเลี้ยงเชื้อราทดสอบบนอาหาร potato dextrose agar จนเชื้อราเจริญ

เกือบเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ นำ cork borer เบอร์ 2 ตัดบริเวณปลายเส้นใยของเชื้อรา นำไปวางบริเวณกลางจานอาหาร PDA (potato dextrose agar) ใหม่ ใช้ loop เชี่ยเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้ที่เจริญบนอาหาร nutrient agar อายุ 24 ชั่วโมง ชีดลากขนาดสองข้างของชิ้นวันเชื้อราทดสอบ โดยลากแนวให้ขนานกัน ให้มีความยาว และระยะห่างจากชิ้นวันเท่ากัน (ดังภาพที่ 1) แต่ละการทดสอบทำ 3 ซ้ำ ทำหาคะควบคุมของเชื้อราโดยการตัดเส้นใยบริเวณปลายโคโลนีของเชื้อรา ไปวางบนบริเวณตรงกลางของจานอาหาร potato dextrose agar ใหม่โดยไม่ลากเชื้อแบคทีเรียทดสอบ นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อเชื้อราในชุดควบคุมเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ วัดรัศมีการเจริญของเชื้อราทดสอบเปรียบเทียบกับชุดควบคุม บันทึกผล และนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การถูกยับยั้งการเจริญ (Prince *et al.*, 2011) ตามสมการ

$$\frac{A - B \times 100}{A}$$

โดยที่ A คือ รัศมีการเจริญของเชื้อราชุดควบคุม
B คือ รัศมีการเจริญของเชื้อราทดสอบ



ภาพที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราแข่งขันของเห็ด และเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยวิธี dual culture

ตารางที่ 1 แสดงชนิด สาเหตุการก่อโรค และแหล่งที่มาของเชื้อราทดสอบที่ใช้ในการทดลองนี้

ลำดับ	เชื้อรา	การก่อโรค	แหล่งที่มา
1	<i>Alternaria brassicola</i>	เชื้อราสาเหตุโรคใบจุดในพืช	กลุ่มวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร**
2	<i>Aspergillus niger</i>	เชื้อราสาเหตุโรคโคนเน่า และเชื้อราแข่งขันของเห็ด	กลุ่มวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร**
3	<i>Bolbitius fissus</i>	เชื้อราแข่งขันของเห็ด	โรงเรียนของเกษตรกร จังหวัดพระนครศรีอยุธยา
4	<i>Coprinus</i> sp.	เชื้อราแข่งขันของเห็ด	แยกจากโรงเรียนเพาะเห็ดฟางทดลอง ภาค วิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน
5	<i>Coprinus</i> sp. cin-003	เชื้อราแข่งขันของเห็ด	ฟางข้าว จังหวัดสระบุรี*
6	<i>Coprinus</i> sp. cin-004	เชื้อราแข่งขันของเห็ด	การหมักฟางข้าว กรุงเทพฯ*
7	<i>Coprinus</i> sp. cin-006	เชื้อราแข่งขันของเห็ด	การหมักฟางข้าว จังหวัดเชียงใหม่*
8	<i>Coprinus</i> sp. cin-009	เชื้อราแข่งขันของเห็ด	ทะลายปาล์ม จังหวัดสุราษฎร์ธานี*
9	<i>Coprinus</i> sp. cin-011	เชื้อราแข่งขันของเห็ด	การหมักฟางข้าว จังหวัดพระนครศรีอยุธยา*
10	<i>Coprinus</i> sp. cin-016	เชื้อราแข่งขันของเห็ด	กากเมล็ดกาแฟ กรุงเทพฯ*
11	<i>Coprinus</i> sp. cin-026	เชื้อราแข่งขันของเห็ด	เปลือกถั่ว กรุงเทพฯ*
12	<i>Coprinus</i> sp. cin-031	เชื้อราแข่งขันของเห็ด	ทะลายปาล์มจังหวัดชุมพร*
13	<i>Coprinus</i> sp. cin-037	เชื้อราแข่งขันของเห็ด	เปลือกมันสำปะหลัง จังหวัดนครราชสีมา*
14	<i>Coprinus</i> sp. cin-057	เชื้อราแข่งขันของเห็ด	ต้นปาล์ม จังหวัดเพชรบุรี*
15	<i>Curvularia lunata</i> TISTR 3282	เชื้อราสาเหตุโรคใบจุดในพืช	ศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และ เทคโนโลยี แห่งประเทศไทย
16	<i>Gliocladium</i> sp. T2	เชื้อราแข่งขันของเห็ด	แยกจากก้อนเชื้อเห็ดถุง ภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตบางเขน

ลำดับ	เชื้อรา	การก่อโรค	แหล่งที่มา
17	<i>Monilia</i> sp.	เชื้อราสาเหตุโรคสมอเน่าในฝ้าย และเชื้อราแข่งขันของเห็ด	กลุ่มวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร**
18	<i>Fusarium</i> sp.	เชื้อราสาเหตุโรคพืชในดิน	ภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน
19	<i>Fusarium oxysporum</i>	เชื้อราสาเหตุโรคต้นเหี่ยวในมะเขือเทศ	กลุ่มวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร**
20	<i>Rhizoctonia solani</i>	เชื้อราสาเหตุโรคกาบใบแห้งในข้าว	ภาควิชาโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน
21	<i>Pythium</i> sp.	เชื้อราสาเหตุโรคพืชในดิน	แยกจากผักกวางตุ้ง ภาควิชาโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน
22	<i>Sclerotium rolfsii</i>	เชื้อราสาเหตุโรคพืชในดิน และเชื้อราแข่งขันของเห็ด	กลุ่มวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร**
23	<i>Trichoderma harzianum</i>	เชื้อราสาเหตุโรคพืชในดิน และเชื้อราแข่งขันของเห็ด	กลุ่มวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร**

* ได้รับความอนุเคราะห์จากกลุ่มวิจัยและพัฒนาเห็ด สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร

** กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

4. การจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียโดย Conventional method

เชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้บางสายพันธุ์ที่เป็นตัวแทนของแบคทีเรียทั้งหมด จำนวน 11 ไอโซเลตได้แก่ BC01, BC02, BC03, BC05, BC06, BF02, BF04, MA02, MK02, MK05 และ MK07 นำมาจัดจำแนกชนิดโดยตรวจสอบคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยาชีวเคมี และสรีรวิทยาของเชื้อ ตามวิธีการของ Gordon (1989)

รวมทั้ง Claus and Berkeley (1986) ที่ใช้วิธีแบ่งกลุ่มแบคทีเรียสร้างสปอร์ออกเป็น 4 กลุ่มตามสัณฐานวิทยาของเซลล์และสปอร์ และตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี และสรีรวิทยาดังต่อไปนี้ ทดสอบความต้องการอากาศเพื่อระบุว่าเป็น aerobe หรือ facultative anaerobe โดยใช้ อาหาร anaerobic agar ทำ VP test, nitrate reduction test, motility, การเจริญในอาหาร nutrient broth pH 5.7, การเจริญในอาหาร nutrient broth ที่อุณหภูมิ 55 °C การเจริญใน nutrient

broth ที่ผสมเกลือ NaCl 5, 7 และ 10% ตามลำดับ การสร้างกรดจากน้ำตาล D-glucose, L-arabinose, D-xylose, D-mannitol และ lactose ตามลำดับ การเจริญโดยใช้ citrate และ propionate เป็นแหล่ง carbon ความสามารถในการสร้างเอนไซม์ catalase,

oxidase, phenylalanine deaminase, esculinase, amylase, caseinase, gelatinase, lipase, urease และ lecithinase โดยผลการทดสอบที่ได้จะนำไปเทียบเคียงเพื่อระบุชนิดกับข้อมูลของ Gordon (1989) และ Claus and Berkeley (1986)

ผลการทดลอง

1. การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากสภาพแวดล้อมบริเวณที่เพาะเห็ดฟางและจากวัสดุเพาะเห็ดฟาง

การแยกเชื้อแบคทีเรียจากสภาพสิ่งแวดล้อมบริเวณที่เพาะเห็ดฟางและจากวัสดุเพาะเห็ดฟางสามารถแยกแบคทีเรียได้ทั้งหมด 38 ไอโซเลท ดังนี้

1.1) เชื้อที่แยกได้จากโรงเรือนทดลองภาควิชาจุลชีววิทยา 10 ไอโซเลท ได้แก่ เชื้อที่แยกจากสภาพแวดล้อมภายในโรงเรือน 3 ไอโซเลท เชื้อแยกจากวัสดุเพาะเห็ดฟาง 7 ไอโซเลท

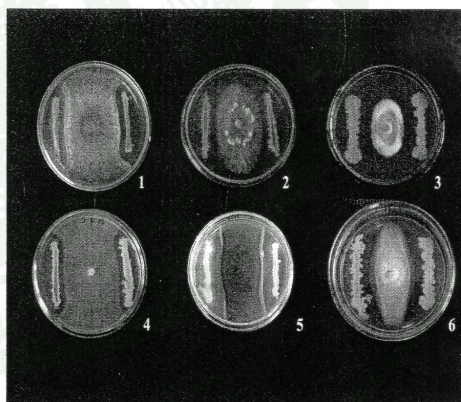
1.2) เชื้อที่แยกได้จากแปลงสาธิตการเพาะเห็ดฟางกองเดี่ยว 6 ไอโซเลท ได้แก่ เชื้อที่แยกจากสภาพแวดล้อมภายในโรงเรือน 2 ไอโซเลท เชื้อแยกจากวัสดุเพาะเห็ดฟาง 4 ไอโซเลท

1.3) เชื้อที่แยกได้จากฟาร์มผลิตเชื้อเห็ดฟางบางบัว-บัวขาว 22 ไอโซเลท ได้แก่ เชื้อที่แยกจากสภาพแวดล้อมภายในโรงเรือน 12 ไอโซเลท เชื้อแยกจากวัสดุเพาะเห็ดฟาง 10 ไอโซเลท

2. การศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อราแข่งขันของเห็ดและเชื้อราสาเหตุโรคพืชในระดับห้องปฏิบัติการ

ผลการตรวจสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราแข่งขัน

ของเห็ดและเชื้อราสาเหตุโรคพืชจำนวน 23 สายพันธุ์ในระดับห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี Dual culture บนอาหาร PDA (potato dextrose agar) ตรวจสอบการเจริญและมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง พบเชื้อแบคทีเรียไอโซเลทที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราทดสอบได้ดีจำนวน 8 ไอโซเลท ได้แก่ BC01, BC02, BC03, BC05, BC06, BF02, BF04 และ MK07 ไอโซเลทที่สามารถยับยั้งเชื้อราทดสอบได้ทุกสายพันธุ์ คือ BC05 รองลงมา คือ BC02 (ผลแสดงดังตารางที่ 2)



ภาพที่ 2. แสดงการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท BC05 ต่อเชื้อราแข่งขันของเห็ดและเชื้อราสาเหตุโรคพืช 1. *Trichoderma harzianum*, 2. *Sclerotium rolfsii*, 3. *Coprinus* sp., 4. *Rhizoctonia solani*, 5. *Aspergillus niger*, 6. *Fusarium* sp.

3. การจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียโดย Conventional method

จากผลการทดสอบคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา ชีวเคมีและสรีรวิทยาของเชื้อแบคทีเรีย สามารถแบ่งแบคทีเรียทั้ง 11 ไอโซเลทเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ ได้แก่ กลุ่ม IA และ IB (ดังตารางที่ 3) กลุ่ม IA มีจำนวน 3 ไอโซเลทได้แก่ MA02, MK02 และ MK05 เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับข้อมูลใน Claus and Berkeley (1986) และ Logan and Vos (2009) พบว่ามีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับ *Bacillus thuringiensis* เนื่องจากอยู่ในกลุ่ม IA ที่เป็น facultative anaerobe, สร้าง crystal protein ใน cytoplasm ให้ผลบวกกับการทดสอบ VP และ nitrate reduction เจริญได้ใน nutrient broth (NB) pH 5.7 NB ที่มีผลเกลือ NaCl 5% และ 7% แต่ไม่เจริญใน NB ที่มีผลเกลือ NaCl 10% สามารถสร้างเอนไซม์ catalase, amylase, caseinase, gelatinase, lipase (จาก Tween 20, Tween 40 และ Tween 80), lecithinase และ esculinase ไม่สร้างเอนไซม์ phenylalanine deaminase และ urease สร้างกรดจาก D-glucose แต่ไม่สร้างกรดจาก L-arabinose, D-xylose, D-mannitol และ lactose สามารถใช้ citrate และ propionate เป็นแหล่งคาร์บอนได้ แต่ MA02 ให้ผลลบกับ VP test รวมทั้งการใช้ propionate เป็นแหล่งคาร์บอนได้ ซึ่ง

โดยปกติแล้ว *Bacillus thuringiensis* ควรให้ผล VP เป็นบวก และไม่สามารถใช้ propionate เป็นแหล่งคาร์บอน

กลุ่ม IB มีจำนวน 8 ไอโซเลท ได้แก่ BC01, BC02, BC03, BC05, BC06, BF02, BF04 และ MK07 เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับข้อมูลจาก Claus and Berkeley (1986) พบว่ามีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับ *B. subtilis* เนื่องจากเป็น *Bacillus* ในกลุ่ม IB ที่ให้ผลบวกกับเกือบทุกคุณสมบัติที่ทำการทดสอบ (ดังตารางที่ 3) การทดสอบที่ให้ผลลบคือ การสร้างเอนไซม์ oxidase และ phenylalanine deaminase การทดสอบที่ให้ผลแตกต่างกันในกลุ่มคือมีทั้งที่ให้ผลบวกและลบได้แก่ การเจริญในอาหาร NB ที่มีเกลือ NaCl 10% ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลของ *B. subtilis* ของ Logan and Vos (2009) พบว่า *B. subtilis* ต้องให้ผลการทดสอบ urease เป็นลบ ทำให้การระบุชนิดยังไม่สามารถสรุปได้ นอกจากนี้ Logan and Vos (2009) ได้รายงานว่า มีแบคทีเรียชนิดใหม่ที่แตกออกมาจาก *B. subtilis* และใกล้เคียงกับ *B. subtilis* หลายสปีชีส์เช่น *B. amyloliquefaciens*, *B. mojavensis*, *B. atrophaeus*, *B. vallismortis* ดังนั้นการทดสอบทางสัณฐานวิทยา ชีวเคมีและสรีรวิทยาที่ทำในการทดลองนี้ ข้อมูลจึงยังไม่เพียงพอต่อการระบุชนิดที่แน่นอนของแบคทีเรีย ซึ่งควรทำการทดสอบเพิ่มเติมด้วยวิธีอื่นต่อไป

ตารางที่ 2 แสดงเปอร์เซ็นต์การถูกยับยั้งการเจริญของเชื้อรา 23 สายพันธุ์ โดยเชื้อแบคทีเรียที่ระบุชื่อไว้

ลำดับ	เชื้อราทดสอบ	อายุ รา (วัน)	% การถูกยับยั้งโดยเชื้อแบคทีเรียชื่อไว้เซลล์ต่างๆ																					
		BC01	BC02	BC03	BC05	BC06	BC07	BF01	BF02	BF03	BF04	BF06	BF07	BF10	MA01	MA02	MK01	MK02	MK05	MK07	MT01	MTC04	MTC05	
1	<i>Alternaria brassicola</i>	13	57	70	72	74	63	0	0	65	0	66	0	0	0	0	0	0	0	68	0	0	0	
2	<i>Aspergillus niger</i>	10	0	45	0	55	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3	<i>Bolbitius fssus</i>	4	64	61	63	63	62	0	0	62	0	60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
4	<i>Coprinus sp.</i>	4	51	52	53	58	50	1	0	48	0	47	1	1	1	1	1	1	0	24	0	0	0	
5	<i>Coprinus sp. cin-003</i>	8	51	58	54	59	55	39	38	35	0	54	38	0	29	0	36	20	42	0	51	0	41	38
6	<i>Coprinus sp. cin-004</i>	9	50	50	35	39	52	51	46	55	0	51	48	51	40	23	0	52	40	0	0	0	34	46
7	<i>Coprinus sp. cin-006</i>	8	43	47	50	50	50	44	32	43	0	37	35	0	34	33	30	42	37	0	48	4	33	34
8	<i>Coprinus sp. cin-009</i>	8	55	53	56	55	56	47	38	57	43	57	39	43	41	36	35	46	18	0	56	0	47	43
9	<i>Coprinus sp. cin-011</i>	9	50	59	55	59	56	33	0	48	0	43	0	0	0	0	0	0	14	0	50	13	0	0
10	<i>Coprinus sp. cin-016</i>	8	54	57	53	53	49	44	33	54	0	43	34	0	25	0	33	37	23	0	51	36	32	37
11	<i>Coprinus sp. cin-026</i>	8	73	76	65	70	59	59	70	74	0	61	50	64	63	41	31	37	40	0	27	37	48	39
12	<i>Coprinus sp. cin-031</i>	12	63	68	72	72	66	39	37	69	0	79	38	0	26	0	60	0	59	60	66	62	43	25
13	<i>Coprinus sp. cin-037</i>	10	67	66	67	65	70	19	19	66	0	59	21	0	0	0	24	0	41	0	67	38	14	25
14	<i>Coprinus sp. cin-057</i>	8	38	44	33	49	33	22	0	29	0	29	21	0	0	0	0	23	22	0	0	0	31	0
15	<i>Curvularia lunata TISTR 3282</i>	6	24	63	63	62	59	0	24	61	0	27	26	0	24	24	34	24	27	24	62	24	24	24
16	<i>Gliocladium sp. T2</i>	4	30	51	41	56	44	0	0	43	0	28	0	0	0	0	0	0	0	43	0	0	0	0
17	<i>Monilia sp.</i>	1	0	0	0	45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	<i>Fusarium sp.</i>	7	42	45	47	55	46	0	0	49	0	31	0	46	0	0	0	30	29	22	49	0	16	44
19	<i>Fusarium oxysporum</i>	8	33	33	33	44	41	29	29	44	0	33	29	0	29	0	0	29	29	29	33	0	29	29
20	<i>Rhizoctonia solani</i>	2	37	40	44	46	37	13	21	37	16	39	13	20	18	12	35	25	35	10	38	21	14	22
21	<i>Pythium sp.</i>	2	0	0	39	34	0	0	0	41	0	43	0	0	0	0	0	0	0	42	0	0	0	0
22	<i>Sclerotium rolfsii</i>	3	49	53	50	53	51	0	0	54	0	50	0	49	0	0	0	0	0	51	0	0	0	0
23	<i>Trichoderma harzianum</i>	3	33	41	31	45	35	4	8	34	8	34	5	21	9	11	18	13	19	5	34	12	4	9

ตารางที่ 3 แสดงผลการทดสอบเพื่อจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียโดย Conventional method

Character	แบคทีเรียทดสอบ										
	BC01	BC02	B03	BC05	BC06	BF02	BF04	MK07	MA02	MK02	MK05
Bacillus group	IB	IB	IB	IB	IB	IB	IB	IB	IA	IA	IA
Aerobe	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Facul. Anaerobe	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Oxidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
VP test	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
pH in 7days VP	5.8	6	6	6.1	6.1	6	5.9	6	4.8	5.2	4.9
Nitrate reduction	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Growth in											
NB pH 5.7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NB+NaCl 5%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NB+NaCl 17%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NB+NaCl 10%	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-
Acid form											
D-glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-arabinose	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-
D-xylose	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-
D-mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Lactose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ตารางที่ 3 แสดงผลการทดสอบเพื่อจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียโดย Conventional method (ต่อ)

Character	แบคทีเรียทดสอบ										
	BC01	BC02	B03	BC05	BC06	BF02	BF04	MK07	MA02	MK02	MK05
Utilization of											
Citrate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Propionate	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Enzyme production											
Amylase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Caseinase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gelatinase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Urease	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Esculinase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Phenylalanine deaminase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lecithinase	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Lipase (Tween 80 agar)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
(Tween 40 agar)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
(Tween 20 agar)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

สามารถแยกแบคทีเรียสร้างเอนโดสปอร์ได้ทั้งสิ้น 22 ไอโซเลท เมื่อนำแบคทีเรียจำนวน 11 ไอโซเลท มาจัดจำแนกชนิด พบว่าสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ใกล้เคียงเชื้อ *Bacillus subtilis*

8 ไอโซเลท ได้แก่ BC01, BC02, BC03, BC05, BC06, BF02, BF04 และ MK07 และกลุ่มที่คล้าย *Bacillus thuringiensis* 3 ไอโซเลท ได้แก่ MA02, MK02 และ MK05

จากการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราแข่งขันในโรงเพาะเห็ดและเชื้อราสาเหตุโรคพืชในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่ามี 8 ไอโซเลทที่ให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อราทดสอบได้ดี โดยไอโซเลทที่ให้ผลการยับยั้งได้ดีที่สุด สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราทดสอบได้ทุกสายพันธุ์คือไอโซเลท BC05 จากผลการทดลองที่ได้ ทำให้เห็นว่าแบคทีเรียที่คัดแยกได้น่าจะมีประสิทธิภาพในการนำไปใช้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราแข่งขันในโรงเพาะเห็ด และอาจรวมถึงยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชด้วย ซึ่งการทดลองนี้เป็นเพียงการทดลองเบื้องต้นในระดับห้องปฏิบัติการ การจะนำเชื้อแบคทีเรียไปใช้ในระดับโรงเรือนเพาะเห็ดจึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจทำการทดลองหาข้อมูลเพิ่มเติมต่อไป ซึ่งการช่วยลดการปนเปื้อนของเชื้อราแข่งขันในระดับโรงเรือน จะช่วยเพิ่มผลผลิตเห็ดฟางให้กับเกษตรกรได้ และสามารถแทนที่การใช้สารเคมีที่เป็นอันตราย

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ(วช.) ประจำปี 2554 และทุนสนับสนุนการวิจัยของคณะวิทยาศาสตร์(ScRF) ประจำปี 2554 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

ขอขอบคุณฟาร์มเห็ดฟางบางบัวทอง-บัวขาว อำเภอบางบัวทอง จังหวัดนนทบุรี ที่เอื้อเฟื้อสถานที่วัสดุเพาะเห็ดฟางเพื่อนำมาคัดแยกเชื้อแบคทีเรีย

เอกสารอ้างอิง

- บุษบา ล้อประเสริฐ.2542. เห็ดฟาง. ชมรมนักเพาะเห็ดแห่งประเทศไทย. เพื่อนเกษตร. กรุงเทพฯ.
- Claus, D. and R. C. W. Berkeley.1986. Endospore forming Gram positive Rods and Cocci. In "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology", Vol. 2, ed. by Sneath, P. H. A., N. S. Mair, M. E. Sharpe, J. G. Holt, M. D. Baltimore, Williams and Wilkins.1105-1139.
- Gordon, R. E.1989. The genus Bacillus. In "Practical Handbook of Microbiology", ed. by W. M. O'Leary. CNC press, Florida.109-126.
- Logan, N. A and P. De Vos. 2009. Genus1 Bacillus. In "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology", 2nded. Vol.3. The Firmicutes". Springer. 20-122.
- Payapanon, A. Suthirawat, S., Roongrawee, P., Kulpiyawat. T. and A. Somrith. 2011. Increase in Yield of the Straw Mushroom (*Vovariella volvacea*) by Supplement with Paenibacillus and Bacillus to the Compost. Faculty of Agriculture Kyushu University. 56 (2): 249-254.
- Prince, L. Raja, A. and Prabakaran P. 2011. Antagonistic Potentiality of some soil Mycoflora Against *Colletotrichum falcatum*. Science and Technology 1(4

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวสุนีย์ คำพันธ์
รหัสประจำตัว	5214402716
สถานะภาพ	นิติปริญญาโท
วัน เดือน ปี ที่เกิด	9 พฤษภาคม 2524
สถานที่เกิด	จังหวัดมหาสารคาม
ที่อยู่	7 หมู่ 11 บ้านหนองโน ตำบล ดงใหญ่ อำเภอกวาปีปทุม จังหวัด มหาสารคาม 44120
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ.2543-2547	ปริญญาตรี คณะวิทยาศาสตร์ วิชาเอกชีววิทยา มหาวิทยาลัย มหาสารคาม
ประวัติการทำงาน	
พ.ศ.2547-2549	สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ จังหวัดปทุมธานี
พ.ศ.2549-2552	บริษัท ยูโทเปียน จำกัด จังหวัดสมุทรปราการ