



แบบสรุปย่อการวิจัย

การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเห็ดฟางด้วยแบคทีเรียสร้างสปอร์

Increasing efficiency of straw mushroom production by endospore
forming bacteria

ผู้วิจัย

ผศ.ดร. สุรางค์ สุธีราวุธ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน
ดร.เยาวภา อร่ามศิริรุจิเวทย์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน
นายอภิรัชต์ สมฤทธิ์ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
นายกรกช จันทร สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กลุ่มวิจัยและพัฒนาเห็ด กรมวิชาการเกษตร
นายสุเทพ ญาติ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน
นางอัจฉรา พยัพพานนท์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กลุ่มวิจัยและพัฒนาเห็ด กรมวิชาการเกษตร

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

แบบสรุปย่อการวิจัย

1. รายละเอียดเกี่ยวกับแผนงานวิจัย

1.1 ชื่อเรื่อง

(ภาษาไทย) การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเห็ดฟางด้วยแบคทีเรียสร้างสปอร์

(ภาษาอังกฤษ) Increasing efficiency of straw mushroom production by endospore forming bacteria

1.2 ชื่อคณะผู้วิจัย

1. นางสาวศุภรางค์ สุธิราวุธ

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

โทรศัพท์ 02-5625444, 02-5625555 ต่อ 4009 โทรสาร 02-5792081

2. นางสาวเยาวภา อร่ามศิริรุจิเวทย์

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

โทรศัพท์ 02-5625444, 02-5625555 ต่อ 4012 โทรสาร 02-5792081

3. นายอภิรัชต์ สมฤทธิ

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

โทรศัพท์: 0-2579-5581 โทรสาร: 0-2940-6371

4. นายสุเทพ ญาติ

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โทรศัพท์ 02-562-5555 ต่อ 4028 โทรสาร 02-579-2081

5. นายกรกช จันท

สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กลุ่มวิจัยและพัฒนาเห็ด

กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

โทรศัพท์ 02-5798558

6. นางอัจฉรา พยัพพานนท์

กลุ่มวิจัยและพัฒนาเห็ด สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

1.3 งบประมาณและระยะทำวิจัย

ได้รับงบประมาณ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2554 งบประมาณที่ได้รับ 753,000 บาท

ระยะเวลาทำวิจัย ตั้งแต่ 27 กรกฎาคม พ.ศ. 2554 ถึง 27 มีนาคม พ.ศ. 2557

2. ความสำคัญและที่มาของปัญหา

เห็ดฟางเป็นผลิตผลทางเศรษฐกิจที่มีผลผลิตปีละกว่า 84,000 ตัน หรือประมาณ 70% ของผลผลิตเห็ดทั้งประเทศ โดยทั่วไปการเพิ่มผลผลิตเห็ดจะทำได้โดยการเพิ่มประสิทธิภาพของปุ๋ยหมัก วัสดุเพาะ และการลดปริมาณเชื้อราแข่งขันที่จะไปแย่งอาหารเชื้อเห็ดฟาง มีรายงานว่า การนำน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนโดสปอร์มาฉีดพ่นบนวัสดุเพาะเห็ดฟางสามารถเพิ่มผลผลิตเห็ดฟางได้ถึง 5-10% และมีปริมาณเชื้อราแข่งขันน้อยลง ดังนั้นการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียชนิดใหม่ๆ เพื่อนำมาใช้เพิ่มผลผลิตเห็ดฟาง จึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจศึกษา ตลอดจนการตรวจสอบประสิทธิภาพการสร้างตุ่มดอกเห็ดในระดับห้องปฏิบัติการอาจทำให้น่าเชื่อถือถึงประสิทธิภาพการเกิดดอกเห็ดในโรงเพาะได้

3. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

การวิจัยนี้มุ่งเน้นการคัดแยกแบคทีเรียเพื่อนำมาทดสอบการเพิ่มผลผลิตเห็ดฟาง และพัฒนาวิธีการตรวจสอบคุณภาพสายพันธุ์เชื้อเห็ดฟางที่สะดวกและประหยัดต้นทุน

4. ระเบียบวิธีการวิจัย

เพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์ การวิจัยจะถูกแบ่งเป็นขั้นตอนต่าง ๆ ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 การตรวจสอบการให้ผลผลิตของสายพันธุ์เชื้อเห็ดฟางโดยดูการสร้างตุ่มดอก

วิธีการวิจัย ใช้แบคทีเรียสร้างสปอร์ 2 ชนิดคือ *Paenibacillus polymyxa* N10 และ *Bacillus subtilis* B2 เลี้ยงร่วมเชื้อเห็ดฟางหลายสายพันธุ์ และตรวจสอบการสร้างตุ่มดอก (pinhead) บนอาหารวุ้น หากพบว่าเห็ดฟางสายใดเกิดตุ่มดอกมาก หลังจากเลี้ยงร่วมกับแบคทีเรียชนิดดังกล่าว จะได้นำไปทดสอบในโรงเรือนต่อไปว่าสามารถให้ผลผลิตสูงสอดคล้องกันหรือไม่

ขั้นตอนที่ 2 การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากวัสดุเพาะเห็ดฟาง สภาพแวดล้อมบริเวณที่เพาะเห็ดฟาง และการทดสอบในห้องปฏิบัติการ

วิธีการวิจัย ทำการคัดแยกแบคทีเรียสร้างสปอร์จากแหล่งเพาะเห็ดและวัสดุเพาะเห็ด จากนั้นนำแบคทีเรียที่คัดแยกได้มาตรวจสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของราแข่งขันของเห็ดฟาง เชื้อราสาเหตุโรคพืชบางชนิด และเชื้อเห็ดฟาง โดยมีเชื้อราที่นำมาใช้ในการตรวจสอบจำนวน 23 สายพันธุ์ และเชื้อเห็ดฟาง จำนวน 13 สายพันธุ์ ทำการทดสอบโดยวิธี dual culture

สูตรการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราทดสอบ ดังสมการ

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

โดยที่ A คือ รัศมีการเจริญของเชื้อราชุดควบคุม

B คือ รัศมีการเจริญเฉลี่ยของเชื้อราทดสอบ

ขั้นตอนที่ 3 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการนำเชื้อแบคทีเรียไปใช้ในการส่งเสริมผลผลิตของเห็ดฟางในฟาร์มเพาะเห็ดฟางของเกษตรกร

วิธีการวิจัย ได้แบ่งการทดลองออกเป็น 5 กรรมวิธี ได้แก่

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

โดยเตรียมเชื้อทดสอบตามกรรมวิธีต่างๆ แล้วนำไปฉีดพ่นบนวัสดุเพาะเห็ดฟางในโรงเรือนก่อนการใส่เชื้อเห็ดฟาง ทำการชั่งน้ำหนักผลผลิตเห็ดที่ได้เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (กรรมวิธีที่ 1 และ 2) เพื่อทดสอบว่าการเตรียมเชื้อแบบใดสามารถเพิ่มผลผลิตของเห็ดฟางในฟาร์มเพาะเห็ดฟางของเกษตรกรได้อย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุด

ขั้นตอนที่ 4 การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมต่อแต่ละสายพันธุ์ของเชื้อเห็ดฟาง

วิธีการวิจัย จากขั้นตอนที่ 3 ทำให้ทราบว่า การเตรียมเชื้อแบคทีเรียในรูปสารละลายเชื้อ (suspension) สามารถเพิ่มผลผลิตเห็ดได้ดี จึงทำการทดสอบในขั้นต่อไปในการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมต่อแต่ละสายพันธุ์ของเชื้อเห็ดฟางโดยเตรียมเชื้อแบคทีเรียในรูปสารละลายเชื้อ (suspension) แล้วนำไปฉีดพ่นบนวัสดุเพาะเห็ดฟางในโรงเรือนก่อนการใส่เชื้อเห็ดฟาง ตรวจสอบผลโดยการชั่งน้ำหนักผลผลิตเห็ดฟางที่ได้เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

5. ผลการวิจัย

ผลการวิจัยพบว่า การเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสร้างสปอร์ *Paenibacillus polymyxa* N10 และ *Bacillus subtilis* B2 ร่วมกับเชื้อเห็ดฟาง 8 สายพันธุ์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar ที่ปรับปริมาณน้ำให้เป็น 1.5% และปรับ pH ให้อยู่ในระดับ 6, 6.5, 7 และ 7.5 หรือปรับ pH ให้เป็น 6 แต่ใส่วัน 2% หรือ ใช้น้ำประปาเปรียบเทียบกับน้ำกรองในการเตรียมอาหาร ก็ไม่สามารถทำให้เกิดตุ่มดอกได้ ส่วนการ

ทดลองการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากวัสดุเพาะเห็ดฟางและสภาพแวดล้อมบริเวณที่เพาะเห็ดฟาง สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียสร้างสปอร์ได้จำนวน 25 ไอโซเลต และเมื่อนำแบคทีเรียที่คัดแยกได้มาทดสอบการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืชและราแข่งขันเชื้อเห็ดฟาง โดยวิธี dual culture พบว่าผลไม่เป็นไปตามที่คณะผู้วิจัยตั้งไว้ คือแบคทีเรียที่ให้ผลการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชและราแข่งขันได้ดีจะสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเห็ดฟางด้วย แต่ไม่ได้ช่วยในการกระตุ้นการสร้างตุ่มดอกของเห็ด ซึ่งถ้าแบคทีเรียมีผลชะลอการเจริญของเส้นใยเห็ดฟางและส่งผลให้เห็ดฟางสร้างตุ่มดอกได้ น่าจะสามารถกระตุ้นให้เห็ดฟางออกดอกได้มากขึ้นเมื่อนำไปใช้ในระดับโรงเรือน ดังนั้น ผู้วิจัยจึงได้ทดลองนำแบคทีเรียทั้งชนิดที่ยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชและราแข่งขันได้ดี และชนิดที่ยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชและราแข่งขันได้ไม่ดี ไปทำการทดสอบในโรงเรือน โดยจากผลการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการนำเชื้อแบคทีเรียไปใช้ในฟาร์มเพาะเห็ดพบว่าการเตรียมเชื้อแบคทีเรียในรูปสารละลายเชื้อสามารถเพิ่มผลผลิตเห็ดได้ดี จึงเลือกการเตรียมเชื้อแบบสารละลายเชื้อในการทดลองขั้นต่อไป ผลพบว่าแบคทีเรียที่สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชและราแข่งขันได้ดีให้ผลผลิตของเห็ดฟางมากกว่าแบคทีเรียที่ยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชและราแข่งขันได้ไม่ดี และมากกว่ากรรมวิธีควบคุมด้วย แต่เมื่อออกแบบการทดลองแบบ RCBD พบว่าผลผลิตเห็ดฟางที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในทุกการทดสอบ (ทั้งที่ฉีดพ่นและไม่ฉีดพ่นแบคทีเรีย) แต่สังเกตพบว่าการปนเปื้อนของราแข่งขันภายในโรงเรือนเพาะเห็ดฟางลดลง ซึ่งให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรียอาจสามารถช่วยลดปัญหาเชื้อราแข่งขันในโรงเพาะเห็ดฟางได้

6. ข้อเสนอแนะที่ได้จากการวิจัย

จากการศึกษาวิจัยครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียสร้างสปอร์โดยเฉพาะอย่างยิ่ง แบคทีเรียไอโซเลต BC05 สามารถเพิ่มผลผลิตของเห็ดฟางได้ แต่เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับแปลงที่ไม่ได้ฉีดพ่นแบคทีเรีย แต่ผลการทดลองที่ได้ในแต่ละครั้งค่อนข้างผันแปร คณะผู้วิจัยคิดว่าสภาวะแวดล้อมน่าจะมีความสำคัญอย่างมากต่อการให้ผลผลิตของเห็ดฟาง ดังนั้นหากเราทำการควบคุมปัจจัยภายนอกโดยการสร้างโรงเรือนที่สามารถควบคุมปัจจัยต่างๆ เช่น อุณหภูมิ ความชื้น ให้เหมาะสมกับความต้องการของเห็ดฟางทั้งในระยะเดินเส้นใยและในระยะสร้างดอก และทำการทดลองซ้ำๆ จะทำให้สามารถได้ผลการทดลองที่คงที่ ชัดเจนและน่าเชื่อถือยิ่งขึ้น จากผลการจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ พบว่ายังไม่สามารถจำแนกชนิดของแบคทีเรียได้ ควรทำการทดสอบเพิ่มเติมทั้งในด้านคุณสมบัติทางชีวเคมีและรวมถึงการนำไปศึกษาด้วยวิธีทางโมเลกุลเพื่อให้สามารถจัดจำแนกชนิดได้อย่างชัดเจนต่อไป ส่วนการทดสอบการสร้างตุ่มดอกเห็ดฟางในระดับห้องปฏิบัติการโดยการเลี้ยงเชื้อเห็ดฟางร่วมกับแบคทีเรียทดสอบนั้นไม่สามารถกระตุ้นให้เห็ดฟางสร้างตุ่มดอกได้ ซึ่งการทดลองนี้ ยังขาดการทดสอบเรื่องอุณหภูมิและความชื้นที่ใช้ในการบ่ม จึงขอเสนอแนะให้ทำการทดลองบ่มเชื้อที่อุณหภูมิและความชื้นต่างๆ กันเพื่อเลียนแบบการเกิด

ตุ่มดอกในสภาพธรรมชาติให้มากที่สุด หรือศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องของสูตรอาหาร เพื่อหา Synthetic media ที่เหมาะสมในการเกิดตุ่มดอกไปพร้อมกัน

7. การนำไปใช้ประโยชน์

1. นำไปสู่การวิจัยต่อยอด เพื่อเป็นข้อมูลในการคิดหาแนวทางในการควบคุมสภาวะแวดล้อมในโรงเพาะเห็ดฟาง เพื่อให้ได้ผลการทดลองที่สม่ำเสมอคงที่และน่าเชื่อถือ ตลอดจนทดลองหาวิธีการเพิ่มจำนวนแบคทีเรียที่ง่ายต่อการนำไปใช้เพื่อส่งต่อไปยังเกษตรกรผู้เพาะเห็ด

2. นำไปสู่การพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์และการใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์ โดยสามารถนำแบคทีเรียที่ผ่านการทดสอบแล้วว่าประสิทธิภาพในการเพิ่มผลผลิตเห็ดฟางไปผลิตออกมาในรูปแบบสปอร์เชื้อที่เกษตรกรสามารถนำไปเพิ่มปริมาณได้เอง และสามารถนำไปใช้เพิ่มผลผลิตเห็ดฟางและลดปริมาณเชื้อราแข่งขันในโรงเรือนเพาะเห็ดฟางได้ ซึ่งจะช่วยให้เกษตรกรลดหรือหยุดใช้สารเคมีป้องกันกำจัดราแข่งขัน ลดต้นทุนการผลิต เป็นการช่วยแก้ปัญหาและพัฒนาประเทศตามประเด็นยุทธศาสตร์การพัฒนาประเทศตามแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 10 (พ.ศ. 2550-2554) และฉบับที่ 11 (พ.ศ. 2555-2559) และสู่การสร้างความร่วมมือทางการวิจัยให้เป็นระบบเครือข่ายระหว่างภาครัฐและเอกชน