การเปรียบเทียบส่วนผสมของอาหารเลี้ยงเชื้อเห็ดฟาง *Volvariella volvacea* เพื่อทดแทนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar

Comparison of ingredients for cultured media of Chinese mushroom *Volvariella volvacea* to substitute Potato Dextrose Agar

อรุณ วงศ์จิรัฐิติ[1] และ สุวภา ยศตะโคตร[1*]

Aroon Wongjiratthiti[1] and Suvapa Yottakot[1*]

บทคัดย่อ: อาหารสำเร็จรูป Potato Dextrose Agar (PDA) เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่สำคัญชนิดหนึ่งสำหรับเพาะเลี้ยงฟังไจ แต่มีราคาแพงและต้องนำเข้าจากต่างประเทศ ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม ดังนั้นจึงมีการเพาะปลูกพืชผลทางการเกษตรอย่างกว้างขวาง นำพืชผลทางการเกษตร 5 ชนิด ประกอบด้วย มันสำปะหลัง มันฝรั่ง ฟักทอง มันเทศ และเผือก มาใช้เป็นแหล่งอาหารในการผลิตอาหารแข็งเพื่อเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดฟาง โดยใช้อาหารสำเร็จรูป PDA เป็นชุดควบคุม จากนั้นนำพืชผลทางการเกษตรที่ส่งเสริมการเจริญเส้นใยเห็ดฟางได้ดีมาศึกษาความเข้มข้นของพืชผลทางการเกษตรที่เหมาะสม โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง และศึกษาความหนาแน่นของเส้นใยเห็ดฟางบนอาหารแข็งที่ความเข้มข้นของพืชผลทางการเกษตรต่างๆ หลังบ่ม 5 วัน พบว่าอาหารแข็งเผือกให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเห็ดฟางสูงที่สุดเท่ากับ 73.50 มม. และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเห็ดฟางบนอาหารแข็งมันฝรั่ง (68.03 มม.) ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเห็ดฟางบนอาหารสำเร็จรูป PDA (66.87 มม.) ความเข้มข้นของพืชผลทางการเกษตรของทั้งเผือกและมันฝรั่งที่ 30 % (w/v) ให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเห็ดฟางเท่ากับ 76.13 และ 69.98 มม. ตามลำดับ ซึ่งให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเห็ดฟางมากกว่าที่ความเข้มข้นอื่นๆ และชุดควบคุม รวมถึงเส้นใยมีความหนาแน่นมากบนอาหารทั้งสองนี้ ดังนั้นอาหารแข็งเผือกและอาหารแข็งมันฝรั่งที่ความเข้มข้นของพืชผลทางการเกษตรเท่ากับ 30% (w/v) สามารถนำมาใช้เพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดฟางแทนอาหารสำเร็จรูป PDA ได้

คำสำคัญ: พืชผลทางการเกษตร, อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง, เห็ดฟาง

ABSTRACT: Commercial Potato Dextrose Agar (PDA) is one of principal media for cultivation of fungi, but is expensive and needs to be imported. Thailand is an essentially agricultural country, so local agricultural crops are extensively cultivated. Five local agricultural crops consist of cassava, potato, pumpkin, sweet potato and taro were used as the nutrient source in agar media while Commercial PDA was used as the control. The growth of *Volvariella volvacea* on various crops agar media was explored. Agricultural crops which promote good growth were chosen for study optimal concentrations of selected crop. Colony diameter and mycelial density of *Volvariella volvacea* on different concentrations of selected crop agar media after 5 days of incubation were investigated. Taro Dextrose Agar gave significantly the highest colony diameter of *Volvariella volvacea* (73.50 mm). Colony diameter of *Volvariella volvacea* on Potato Dextrose Agar (68.03 mm) was not significant difference with colony diameter of *Volvariella volvacea* on Commercial PDA (66.87 mm). The concentration of both taro and potato at 30 % (w/v) showed higher colony diameter of *Volvariella volvacea* than other concentrations and control. The colony diameter of *Volvariella volvacea* on Taro Dextrose Agar and PDA at crop concentration of 30 % (w/v) was 76.13 and 69.98 mm, respectively, and the mycelial density of *Volvariella volvacea* on both agar media was very thick. Therefore, Taro Dextrose Agar and PDA at crop concentration of 30 % (w/v) can replace Commercial Potato Dextrose Agar for the cultivation of mycelia of *Volvariella volvacea*.

Keywords: Agricultural crops, Solid medium and *Volvariella volvacea*

[1] สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร สกลนคร 47000
Program in Biology, Faculty of Science and Technology, Sakonnakhon Rajabhat University, Sakonnakhon 47000

* Corresponding author: ssuvapa@hotmail.com

บทนำ

เห็ดฟาง (*Volvariella volvacea*) เป็นเห็ดที่ได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก โดยผลิตมากเป็นอันดับ 5 ของโลก ประมาณ 270,000 ตัน รองจากเห็ดแชมปิญอง เห็ดสกุลนางรม และเห็ดหอม การผลิตเห็ดฟางของประเทศไทยในแต่ละปีมีประมาณ 120,000 ตัน คิดเป็นมูลค่ารวมมากกว่า 12,000 ล้านบาท โดยราคาขายสูงสุดประมาณ 90 - 100 บาทต่อกก. (การเพาะเห็ดฟาง, 2558) เห็ดฟางเป็นเห็ดที่เพาะง่ายและใช้เวลาเพาะน้อยเมื่อเทียบกับเห็ดชนิดอื่นๆ ซึ่งเกษตรกรจะเพาะเห็ดเพื่อหารายได้เสริม โดยเฉพาะช่วงหลังจากการทำนา หรือเก็บเกี่ยวข้าวแล้ว (ปัญญา, 2532) การเตรียมเส้นใยเห็ดฟางจะใช้อาหารสำเร็จรูป Potato Dextrose Agar (PDA) ซึ่งเป็นอาหารที่มีราคาค่อนข้างสูง ดังนั้นการวิจัยและพัฒนาเพื่อให้ได้อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเตรียมเส้นใยเห็ดฟางจะทำให้เกษตรกรมีต้นทุนการผลิตลดลง ประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตพืชผลทางการเกษตรหลายชนิด เช่น มันเทศ มันสำปะหลัง มันแกว เผือก ฟักทอง ซึ่งพืชผลทางเกษตรดังกล่าว มีปริมาณมาก และราคาถูก อีกทั้งจากการศึกษาข้อมูล พบว่าพืชผลทางการเกษตรต่างๆ นั้นมีคุณค่าของสารอาหารที่เหมาะสมที่จะนำมาเป็นส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อฟังไจ (Huang, Chen and Wang, 2007; Amadi and Moneke, 2012; Wongjiratthiti and Yottakot, 2017) ดังนั้นการวิจัยนี้จึงคัดเลือกพืชผลทางการเกษตรชนิดต่างๆ มาผลิตเป็นอาหารเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดฟาง เพื่อเป็นข้อมูลอันเป็นการนำไปสู่การลดต้นทุนการผลิตเห็ดฟาง

วิธีการศึกษา

การเตรียมเส้นใยเห็ดฟาง

ทำโดยเลี้ยงเส้นใยเห็ดฟางบนอาหารสำเร็จรูป PDA (Himedia) บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

การเตรียมอาหารพืชผลทางการเกษตร

ชนิดของพืชผลทางการเกษตรที่นำมาเป็นส่วนประกอบของอาหาร คือ มันเทศ เผือก มันฝรั่ง ฟักทอง และมันสำปะหลัง โดยใช้ พืชผลทางการเกษตร 20 % (w/v) น้ำตาลเด็กซ์โตรส 2 % (w/v) (Himedia) และวุ้น 2 % (w/v) (Himedia) นำพืชผลทางการเกษตรมาปอกเปลือก ล้างให้สะอาด และหั่นเป็นรูปสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ขนาดประมาณ 1 ลบ.ซม. ชั่งให้ได้ตัวอย่างละ 200 กรัม ใส่ลงในน้ำกลั่นปริมาตร 500 มล. ต้มจนกระทั่งวัตถุดิบมีลักษณะอ่อนนุ่มแต่ไม่เละ จากนั้นกรองเอาแต่น้ำด้วยผ้าขาวบาง แล้วผสมกับน้ำตาลเด็กซ์โตรส วุ้น และน้ำกลั่นปริมาตร 500 มล. ทำให้ปราศจากเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำอาหารเทลงในจานเพาะเชื้อ

การศึกษาชนิดของพืชผลทางการเกษตร 5 ชนิดต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดฟาง

วางเส้นใยเห็ดฟางบนอาหารพืชผลทางการเกษตรชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้น 20 % (w/v) โดยวางเชื้อแบบจุด (point inoculation method) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 5 วัน และใช้อาหารสำเร็จรูป PDA เป็นอาหารชุดควบคุม

การศึกษาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของพืชผลทางการเกษตรต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดฟาง

ความเข้มข้นที่เหมาะสมของพืชผลทางการเกษตร คือ 5, 10, 15, 20, 25, 30 และ 35 % (w/v) ใช้วุ้น 2 % (w/v) และน้ำตาลเด็กซ์โตรส 2 % (w/v) จากนั้นวางเส้นใยเห็ดฟางลงบนอาหารโดยวางเชื้อแบบจุด ทำการทดลอง 3 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 5 วัน ใช้อาหารสำเร็จรูป PDA เป็นอาหารชุดควบคุม

การวิเคราะห์ข้อมูล

วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี โดยใช้เวอร์เนียคาลิปเปอร์ นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียว (One - way ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Tukey HSD test ที่ช่วงความเชื่อมั่น 95 % และสังเกตความหนาแน่นของเส้นใย โดยใช้

เกณฑ์ 4 ระดับ คือ ++++ (หนามาก), +++ (หนา), ++ (บาง) และ + (บางมาก)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การเจริญของเส้นใยเห็ดฟางบนอาหารแข็งมันเทศ มันฝรั่ง มันสำปะหลัง ฟักทองและเผือก ที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 5 วัน ด้วยวิธีวางเชื้อแบบจุดและวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี โดยใช้เวอร์เนียคาลิปเปอร์ เปรียบเทียบกับอาหารสำเร็จรูป PDA ซึ่งเป็นอาหารชุดควบคุม ผลการศึกษาพบว่า เส้นใยเห็ดฟางสามารถเจริญบนอาหารแข็งพืชผลทางการเกษตรได้ทุกชนิด และเจริญได้ดีที่สุดในอาหารแข็งเผือกมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี เท่ากับ 73.50 มม. รองลงมาคืออาหารแข็งมันฝรั่ง อาหารสำเร็จรูป PDA อาหารแข็งมันเทศ อาหารแข็งฟักทอง และอาหารแข็งมันสำปะหลัง มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี เท่ากับ 68.03, 66.87, 55.67, 43.33 และ 26.56 มม. ตามลำดับ และเมื่อนำข้อมูลวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าเส้นใยเห็ดฟางเจริญบนอาหารแข็งเผือกและมันฝรั่งดีที่สุด มีการเจริญไม่แตกต่างกันกับอาหารสำเร็จรูป PDA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ช่วงความเชื่อมั่น 95 % ($P<0.05$) **(Figure 1)** ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของมาลี และ เจือจันทน์ (2530) ที่รายงานว่าอาหารเผือกทำให้การเจริญของเส้นใยเห็ดหูหนู และเห็ดนางรมดีที่สุด การที่อาหารแข็งเผือกทำให้เส้นใยเห็ดฟางเจริญได้ดีเนื่องจากเผือกมีสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดฟางสูงกว่าพืชผลทางการเกษตรชนิดอื่นๆ คือ คาร์โบไฮเดรต แร่ธาตุ และวิตามิน (Huang, Chen and Wang, 2007) และนอกจากนี้ผลการศึกษายังพบอีกว่าอาหารแข็งมันสำปะหลังเป็นอาหารที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดฟางน้อยที่สุด ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเพียงแค่ 26.56 มม. ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษา นิภาพร และ นิวัฒิ (2548) ที่รายงานว่า อาหารที่มีมันสำปะหลังเป็นองค์ประกอบทำให้เส้นใยเห็ดหิ้งเจริญได้น้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารที่มีรำข้าว มันเทศ มันฝรั่ง และอาหารสำเร็จรูป PDA

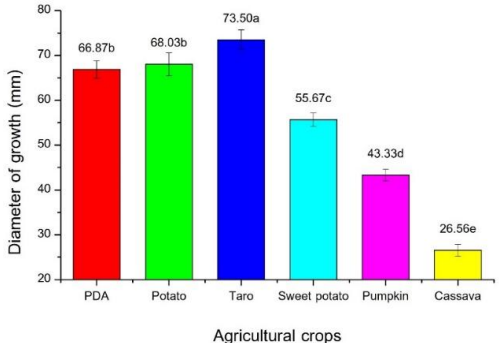

Figure 1 Mycelial growth diameter of *Volvariella volvacea* on solid media with different agricultural crops consist of Commercial PDA (control), Potato, Taro, *S*weet potato, Pumpkin and Cassava for 5 days.
Not. A pair of averages with different letters is considered significantly different at $P<0.05$

การเจริญของเส้นใยเห็ดฟางบนอาหารแข็งเผือกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ 5, 10, 15, 20 25 30 และ 35% (w/v) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 วัน โดยใช้วิธีการวางเชื้อแบบจุด พบว่าเส้นใยเห็ดฟางสามารถเจริญได้ดีที่สุดบนอาหารแข็งเผือกความเข้มข้น 30 และ 35% (w/v) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ช่วงความเชื่อมั่น 95 % ($P<0.05$) **(Table 1)** และเมื่อสังเกตลักษณะความหนาแน่นของเส้นใยเห็ดฟางบนอาหารแข็ง พบว่า เส้นใยเห็ดฟางที่เจริญบนอาหารแข็งเผือกความเข้มข้น 30 และ 35% (w/v) และอาหารสำเร็จรูป PDA มีความหนาแน่นมากกว่าเส้นใยเห็ดฟางที่เจริญบนอาหารแข็งเผือกความเข้มข้นอื่นๆ **(Figure 2)**

Table 1 Mycelial growth diameter and density of *Volvariella volvacea* on solid media with different concentrations of Talo in 5 days.

Taro (% w/v)	Mycelial Growth Diameter[1] (mm)	Standard error of mean	Mycelia density[2]
Commercial PDA (control)	69.04^{C}± 0.72	0.29	++++
5	38.65^{f}± 0.77	0.31	+
10	43.80^{e}± 1.30	0.53	+
15	52.51^{d}± 1.37	0.56	+
20	72.51^{b}± 0.77	0.31	++
25	70.08^{C}± 0.50	0.20	+++
30	76.13^{a}± 0.83	0.34	++++
35	76.10^{a}± 0.80	0.33	++++

[1] A pair of averages with different letters is considered significantly different at P<0.05.

[2] ++++ very thick, +++ thick, ++ thin, + very thin

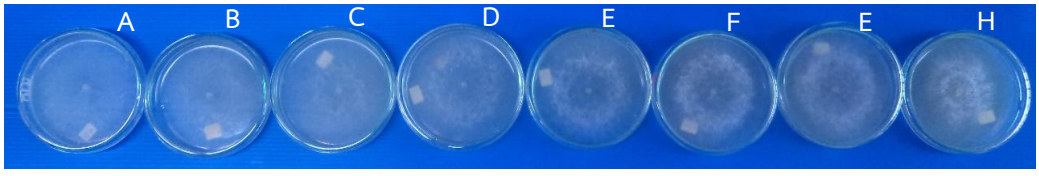

Figure 2 Mycelial growth diameter of *Volvariella volvacea* on solid media with different concentrations of Talo from left to right; 5%(A), 10%(B), 15%(C), 20%(D), 25%(E), 30%(F), 35%(G) and Commercial PDA (control) (H) for 5 days.

การเจริญของเส้นใยเห็ดฟางบนอาหารแข็งมันฝรั่งที่ความเข้มข้น 5, 10, 15, 20, 25, 30 และ 35% (w/v) บ่มอุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 5 วัน ด้วยวิธีวางเชื้อแบบจุด พบว่า เส้นใยเห็ดฟางสามารถเจริญได้ดีที่สุดบนอาหารแข็งมันฝรั่งความเข้มข้น 30 %, 20 %, อาหารสำเร็จรูป PDA และ 15 % (w/v) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ช่วงความเชื่อมั่น 95 % (P<0.05) (Table 2) และเมื่อสังเกตลักษณะความหนาแน่นเส้นใยเห็ดฟาง พบว่า เส้นใยเห็ดฟางที่เจริญบนอาหารแข็งมันฝรั่งความเข้มข้น 30 % (w/v) มีความหนาแน่นมากกว่าเส้นใยเห็ดฟางที่เจริญบนอาหารสำเร็จรูป PDA และอาหารแข็งมันฝรั่งความเข้มข้นอื่นๆ (Figure 3)

Table 2 Mycelial growth diameter and density of *Volvariella volvacea* on solid media with different Potato for 5 days.

Potato (% w/v)	Mycelial Growth Diameter[1] (mm)	Standard error of mean	Mycelial density[2]
PDA (control)	69.04 ^{abc}± 0.72	0.29	+++
5	65.46 ^{e}± 1.37	0.56	+
10	68.29 ^{bc}± 0.67	0.27	+
15	68.99 ^{abc}± 0.72	0.30	++
20	69.70 ^{ab}± 0.56	0.23	++
25	66.08 ^{de}± 1.36	0.55	+++
30	69.98^{a}± 0.61	0.25	++++
35	67.68 ^{cd}± 0.84	0.34	+++

[1] A pair of averages with different letters is considered significantly different at P<0.05.

[2] ++++ very thick, +++ thick, ++ thin, + very thin

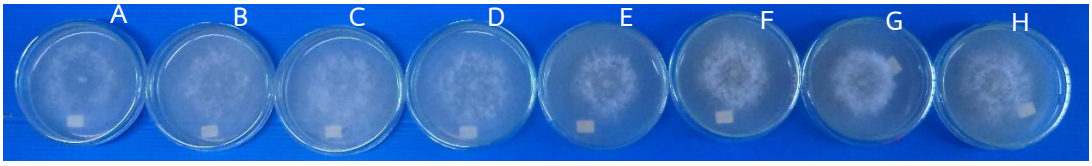

Figure 3 Mycelial growth diameter of *Volvariella volvacea* on solid media with different concentrations of potato from left to right; 5%(A), 10%(B), 15%(C), 20%(D), 25%(E), 30%(F), 35%(G) and Commercial PDA (control) (H) for 5 days.

จากผลการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของพืชผลทางการเกษตรต่อการเจริญเติบโตเส้นใยเห็ดฟาง แสดงให้เห็นว่า มันฝรั่งและเผือกความเข้มข้นต่างๆ มีผลต่อการเจริญเติบโตแตกต่างกัน ในที่นี้ความเข้มข้น 30 % (w/v) ส่งผลต่อการเจริญเติบโตเส้นใยเห็ดฟางได้ดีที่สุด

สรุป

พืชผลทางการเกษตรทุกชนิดสามารถทำให้เส้นใยเห็ดฟางเจริญเติบโตได้ เส้นใยเห็ดฟางสามารถเจริญได้ดีเมื่อใช้มันฝรั่งและเผือกเป็นองค์ประกอบของอาหาร จากการศึกษาผู้วิจัยได้คัดเลือกมันฝรั่งและเผือกเพื่อนำไปศึกษาระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดฟาง พบว่า มันฝรั่งและเผือกที่ความเข้มข้น 30 % (w/v) ทำให้เส้นใยเห็ดฟางเจริญเติบโตได้ดี และมีความหนาแน่นของเส้นใยอยู่ในระดับหนามาก ดังนั้นจึงสามารถนำมันฝรั่งและเผือกมาใช้ทดแทนอาหารสำเร็จรูป PDA ที่มีราคาแพง อย่างไรก็ตาม การเลือกมันฝรั่งและเผือกมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดฟางอาจต้องมีการศึกษาในรายละเอียดมากขึ้นโดยเฉพาะสภาพของอาหาร ความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนครที่สนับสนุนทุนวิจัย ห้องปฏิบัติการ และเครื่องมือในการดำเนินงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

การเพาะเห็ดฟาง. 2558. การผลิตและการตลาดเห็ดฟาง. แหล่งข้อมูล: https://goo.gl/DVjRGu. ค้นเมื่อ 29 เมษายน 2558.

นิภาพร อามัสสา และ นิวัฒ เสนาะเมือง. 2548. ลักษณะการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดหิ้งบนอาหารสังเคราะห์ชนิดต่างๆ .วารสารวิจัย มข. 10: 311-320.

ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์. 2532. เทคโนโลยีการผลิตเห็ด. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

มาลี พรทวีทรัพย์ และเจือจันทน์ จันทสุบรรณ. 2530. การใช้วัสดุท้องถิ่นในการเลี้ยงเส้นใยและการเพาะเห็ด. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 2: 11-27.

Amadi, O. C., and A. N. Moneke. 2012. Use of starch containing tubers for the formulation of culture media for fungal cultivation. African Journal of Microbiology Research. 6: 4527-4532.

Huang, C.C., C.W. Chen, and C.R.C. Wang. 2007. Comparison of Taiwan paddy - and upland-cultivated taro *Colocasia esculenta* L. cultivars for nutritive values. Food Chemistry. 102: 250-256.

Wongjiratthiti, A., and S. Yottakot. 2017. Utilisation of local crops as alternative media for fungal growth. Pertanika J. Trop. Agric. Sci. 40: 295-304.