แก่นเกษตร KHON KAEN AGRICULTURE
JOURNAL KAJ

การคัดเลือกแบคทีเรียจากดอกเห็ดเพื่อเพิ่มผลผลิตของเห็ดฟางที่เพาะในตะกร้า

Screening bacteria from mushroom fruiting body for yield increasing of straw mushroom grown in basket

พราวมาส เจริญรักษ์[1]*, เจตนิพัทธ์ มีบุญ[1], อุไรรัตน์ กองอรรถ[1], จุฑาทิพย์ ชาวไว[1], ณัฐพร เกตุสุวรรณ์[1] และ ดาวรุ่ง วัชรินทร์รัตน์[1]

Phraomas Charoenrak[1]*, Jatnipat Meeboon[1], Urairat Kongoat[1], Jutatip Chawwai[1], Nuttaporn Ketsuwan[1] and Dowrong Watcharinrat[1]

[1] สาขาการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

[1] Division of Crop Production, Faculty of Agricultural Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi

* Corresponding author: phraomas_c@rmutt.ac.th

บทคัดย่อ: คัดเลือกแบคทีเรียจากดอกเห็ดชนิดต่าง ๆ ได้แก่ เห็ดฟาง เห็ดนางฟ้าภูฏาน และเห็ดนางรมฮังการี ที่ไม่ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเห็ดฟางได้ 4 ไอโซเลต คือ *Bacillus* sp. ไอโซเลต STP2-3, STP3-2, STP5-1 และ STP5-3 นำมาทดสอบการเพิ่มผลผลิตของเห็ดฟางที่เพาะในตะกร้าพลาสติก โดยพ่นเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียแต่ละไอโซเลต ความเข้มข้น 10^6 CFU/ml รอบตะกร้า ๆ ละ 100 มล. พบว่าการพ่นด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลต STP2-3 มีน้ำหนักผลผลิตระยะดอกตูมรูปทรงไข่และน้ำหนักรวมทั้งหมดต่อตะกร้าสูงที่สุด (33.83 ก./ตะกร้า และ 113 ก./ตะกร้า ตามลำดับ) นอกจากนี้การพ่นเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ทั้ง 4 ไอโซเลต มีแนวโน้มทำให้จำนวนดอกต่อตะกร้า ความกว้างระยะดอกตูมรูปทรงกระดุมและรูปทรงไข่เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่พ่นด้วยน้ำเปล่า

คำสำคัญ: แบคทีเรีย; เพิ่มผลผลิต; ส่งเสริมการเจริญ; เห็ด

ABSTRACT: Selected bacteria from straw mushroom, oyster mushroom-Bhutan and oyster mushroom Hungary fruiting bodies. Four isolates of bacteria which not inhibit the growth of straw mushroom mycelium were selected, *Bacillus* sp. isolate STP2-3, STP3-2, STP5-1, and STP5-3. The effects of these bacteria on increasing yield of straw mushrooms grown in plastic baskets were testing by spraying 100 ml of bacterial suspensions per basket. The results of *Bacillus* sp. STP2-3 had the highest weight of button shape and egg-shaped stages (33. 83 and 113 grams per basket, respectively.) Moreover, the spraying 4 isolates of *Bacillus* sp. were tends to increase number of fruiting body per basket, width of button shape and egg-shaped stages of straw mushroom when compared with the control treatment, spraying with water.

Keywords: bacteria; increase yield; growth promotion; mushroom

บทนำ

เห็ดฟาง (*Volvariella volvacea* ; ชื่อสามัญ Straw mushroom หรือ Paddy mushroom) เป็นเห็ดเศรษฐกิจที่สำคัญและนิยมบริโภคชนิดหนึ่งของไทย มีรสชาติอร่อย นำมาปรุงอาหารได้หลายชนิด คุณค่าทางอาหารสูง ได้แก่โปรตีน วิตามิน เกลือแร่ พลังงานสูง และไขมันต่ำ เมื่อเทียบกับผักหรือเนื้อสัตว์ต่าง ๆ นอกจากนี้ภายในประเทศยังมีความต้องการบริโภคเห็ดฟางสูงถึงร้อยละ 90 แต่ปริมาณผลผลิตไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด (ภานุพงศ์, 2556) ถึงแม้ว่าการเพาะเห็ดฟางในปัจจุบัน จะมีการพัฒนาจนสามารถทำได้ง่าย ไม่ยุ่งยาก ให้ผลการตอบแทนสูงและใช้ระยะเวลาในการเพาะสั้นเพียง 7-10 วัน ทำให้มีการเพาะเห็ดฟางกันค่อนข้างมาก แต่ในบางฤดู ผลผลิตเห็ดฟางยังไม่เพียงพอกับความต้องการของตลาด และยังมีแนวโน้มความต้องการเพิ่มสูงขึ้นเรื่อย ๆ ทำให้มีการนำเอาจุลินทรีย์ หรือน้ำหมักชีวภาพมาใช้เพื่อช่วยในการเร่งการเจริญเติบโต และเพิ่มขนาดดอกของเห็ดฟางร่วมด้วย

มีรายงานว่า เชื้อแบคทีเรียสกุลต่าง ๆ เช่น *Bacillus* sp. และ *Pseudomonas* sp. สามารถเพิ่มผลผลิตของเห็ดเศรษฐกิจในสกุลต่าง ๆ ได้ เช่น เห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*) เห็ดนางฟ้าภูฏาน (*Pleurotus pulmonarius*) (ปัณณวิชญ์ และวาริน, 2559; Cho et al., 2003; Dong et al. 2010) พรศิลป์ (2546) รายงานว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus*

sp. ที่แยกได้จากก้อนเห็ดที่เป็นโรคราเขียว สามารถกระตุ้นให้เส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฏานสร้างตุ่มดอกได้เร็วขึ้น มีจำนวนดอกเพิ่มขึ้น เพิ่มผลผลิตของเห็ดนางฟ้าภูฏาน และสามารถควบคุมโรคราเขียวได้ นอกจากนี้ สุนีย์ (2557) พบว่าการพ่นวัสดุเพาะเห็ดฟางที่เพาะในโรงเรือนด้วยแบคทีเรียสร้างสปอร์ *B. subtilis* BC05 ที่แยกได้จากสภาพแวดล้อมในการเพาะเห็ดฟางและวัสดุเพาะเห็ดฟาง ให้ผลผลิตเห็ดฟางมากกว่ากรรมวิธีอื่น ในขณะที่เชื้อแข่งขันของเห็ดฟางลดลง และมีแนวโน้มในการเพิ่มผลผลิตของเห็ดฟางได้ การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกแบคทีเรียจากดอกเห็ดชนิดต่าง ๆ ได้แก่ เห็ดฟาง เห็ดนางฟ้าภูฏาน และเห็ดนางรมฮังการีที่ไม่ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเห็ดฟาง เพื่อเพิ่มผลผลิตของเห็ดฟางที่เพาะในตะกร้า ตลอดจนอาจขยายผลไปสู่การศึกษาในการเพาะเห็ดฟางแบบอื่น ๆ เช่น แบบกองเตี้ย แบบโรงเรือน และเห็ดเศรษฐกิจชนิดอื่น ๆ ต่อไปในอนาคต

วิธีการศึกษา

การแยกแบคทีเรียจากดอกเห็ด

สุ่มเก็บตัวอย่างดอกเห็ดชนิดต่าง ๆ ที่มีลักษณะสมบูรณ์ ได้แก่ เห็ดฟาง เห็ดนางฟ้าภูฏาน และเห็ดนางรมฮังการี มาทำการแยกแบคทีเรียจากดอกเห็ด ด้วยวิธีการใช้เทคนิคพิมพ์ดอกเห็ด โดยกดดอกเห็ดลงบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar (NA) โดยตรง และวิธีการแยกจากผิวดอกเห็ด โดยตัดดอกเห็ดเป็นชิ้นขนาดประมาณ 0.5 x 0.5 ซม. ใส่ใน flask ที่บรรจุน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ เขย่าด้วย vortex ให้จุลินทรีย์จากผิวหลุดออกมาในน้ำ จากนั้นดูดน้ำที่ได้จากการล้างชิ้นดอกเห็ดมา 0.1 มล. นำไปหยดและเกลี่ยบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ (ดัดแปลงจากวิธีการของจุฑารัตน์ และคณะ, 2552) จากนั้นแยกแบคทีเรียแต่ละไอโซเลตให้บริสุทธิ์ และเก็บไว้ในอาหารเอียงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาใช้ทดลองในขั้นตอนต่อไป

การทดสอบอิทธิพลของแบคทีเรียที่แยกได้ต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดฟางในห้องปฏิบัติการ

นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้มาทดสอบอิทธิพลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดฟาง โดยดัดแปลงจากวิธี dual culture ของพัชรพร (2556) โดยแยกเชื้อเห็ดฟางสายพันธุ์กุลนทีให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี tissue transplanting technique บนอาหาร potato dextrose agar (PDA) นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ มาขีดเป็นเส้นตรงห่างจากขอบจานเลี้ยงเชื้อ PDA 1.5 ซม. บันทึกรูปแบบของเชื้อแบคทีเรียต่อลักษณะการเจริญของเส้นใยเห็ดฟาง

การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่แยกได้จากดอกเห็ดต่อผลผลิตของเห็ดฟางที่เพาะในตะกร้า

เตรียมเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียทดสอบ จากตัวแทนกลุ่มแบคทีเรียที่ไม่ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเห็ดฟาง 4 ไอโซเลต โดยคัดเลือกจากลักษณะโคโลนี การทดสอบปฏิกิริยากับ 3%KOH การย้อมสีแบบแกรม และการย้อมสี endospore ได้แก่ *Bacillus* sp. STP 2-3 STP 3-2 STP 5-1 และ STP 5-3 มาขยายเชื้อโดยนำแบคทีเรียดังกล่าวมาเลี้ยงเพิ่มปริมาณโดยวิธี cross streak ในอาหาร NA บ่มเชื้อไว้ 2 วันที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาปรับให้มีความเข้มข้น 10^6 CFU/ml โดยวัดค่าความดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้มีค่าเท่ากับ 0.2 ($O.D_{600}$ = 0.2)

การเพาะเห็ดฟางในตะกร้า

นำฟางข้าวอัดก้อน ขนาดความยาว 1 เมตร สูง 30 ซม. น้ำหนัก 20 กก. จำนวน 1 ก้อนมาแช่น้ำเป็นเวลา 2 ชั่วโมง เตรียมเชื้อเห็ดฟางสายพันธุ์กุลนที ฉีกให้ละเอียดโดยใช้เชื้อเห็ดฟาง 1 ถุงต่อการทำเห็ดฟาง 3 ตะกร้า จากนั้นใส่แป้งข้าวเหนียว 55 ก. ผสมให้เข้ากันแล้วแบ่งเป็น 3 ส่วน ทำการเพาะเห็ดฟางในตะกร้าตามกรรมวิธีของพราวมาสและคณะ (2563) พ่นเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียทดสอบตะกร้าละ 100 มล. โดยมีกรรมวิธีทดลอง 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 กรรมวิธีควบคุม (Control) พ่นด้วยน้ำเปล่า

กรรมวิธีที่ 2 พ่นด้วยเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียทดสอบ ไอโซเลต STP2-3

กรรมวิธีที่ 3 พ่นด้วยเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียทดสอบ ไอโซเลต STP3-2

กรรมวิธีที่ 4 พ่นด้วยเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียทดสอบ ไอโซเลต STP5-1

กรรมวิธีที่ 5 พ่นด้วยเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียทดสอบ ไอโซเลต STP5-3

การบันทึกผลการทดลอง

หลังจากเพาะ 10 วัน เก็บข้อมูลดอกเห็ดฟางในแต่ละระยะ ทำการบันทึกและเก็บข้อมูลดอกเห็ดฟาง ได้แก่ ขนาดดอก (ความสูงและความกว้างของดอกเห็ด) โดยใช้เวอร์เนียคาลิปเปอร์ บันทึกน้ำหนักผลผลิต (น้ำหนักต่อดอกและน้ำหนักผลผลิตต่อตะกร้า) ด้วยเครื่องชั่งดิจิตอล เป็นเวลา 10 วันหลังเพาะ

การวางแผนและวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบบล็อกสุ่มสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design : RCBD) ทำการทดลองทั้งหมด 5 กรรมวิธี ๆ 5 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ตะกร้า วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยจากกรรมวิธีต่าง ๆ ด้วยวิธี Duncan’s Multiple Range Test (DMRT) ($P \le 0.05$)

ระยะเวลาและสถานที่ทำการทดลอง

ทำการทดลองในช่วงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2563 ณ แผนกเพาะเห็ด สาขาการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

ผลการศึกษา

การแยกแบคทีเรียจากดอกเห็ด

ได้แบคทีเรียจากการพิมพ์ดอกเห็ดทั้งหมด 3 ไอโซเลต และการแยกเชื้อแบคทีเรียบนผิวดอกเห็ด ได้แบคทีเรียจากวิธีนี้ทั้งหมด 47 ไอโซเลต (**Table 1**)

Table 1 Number of bacterial isolated from mushroom fruiting bodies by different methods

Mushroom	Number of bacterial isolated from mushroom	
	Printing technique	Epiphyte
Volvariella vovacea	3	36
Pleurotus sajor-caju (Fr.) Sing	ND[1/]	7
Pleurotus ostreatus (Fr.)Kummer.	ND	4

[1/] ND = No experiment

การทดสอบอิทธิพลของแบคทีเรียที่แยกได้ต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดฟางในห้องปฏิบัติการ

พบว่าแบคทีเรียที่แยกได้จากดอกเห็ดมีอิทธิพลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดฟางในห้องปฏิบัติการ เมื่อทดสอบด้วยวิธี dual culture ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเห็ดฟางโดยสร้าง clear zone ทั้งหมด 19 ไอโซเลต และกลุ่มที่ไม่ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเห็ดฟาง ทั้งหมด 22 ไอโซเลต **(Figure 1)**

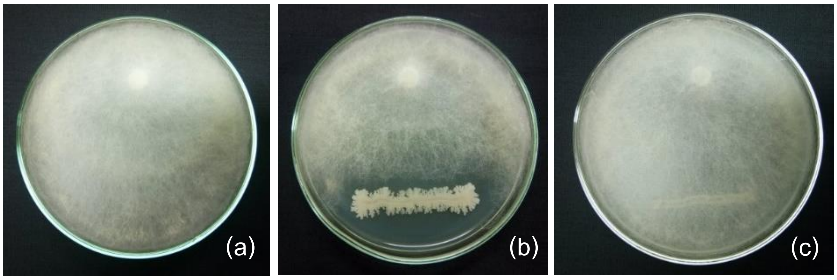

Figure 1 Effect of bacteria isolate from mushroom fruiting bodies on mycelial growth of *Volvariella volvacea*:(a) Control; (b) Inhibition of mycelial growth (isolate NRH2) and (c) Without inhibition of mycelial growth (isolate STP 5-3) of straw mushroom

จากนั้นคัดเลือกตัวแทนแบคทีเรียทดสอบจากกลุ่มแบคทีเรียที่ไม่พบการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเห็ดฟางในห้องปฏิบัติการได้ 4 ไอโซเลต โดยคัดเลือกจากลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกัน และลักษณะของเส้นใยเห็ดฟางที่ทดสอบเจริญได้ดี นำมาทดสอบปฏิกิริยาเบื้องต้นกับ 3%KOH ทำการย้อมสีแบบแกรม และย้อมสี endospore พบว่าแบคทีเรียที่คัดเลือกได้มีรูปร่างเป็นท่อน ติดสีแกรมบวก (สีม่วง) สร้างเอนโดสปอร์ภายในเซลล์ และเอนโดสปอร์ย้อมติดสีเขียว จึงจัดจำแนกเบื้องต้นว่าแบคทีเรียที่คัดเลือกทั้งหมด 4 ไอโซเลต อยู่ในสกุล *Bacillus* sp.

น้ำหนักของดอกเห็ดฟางแต่ละระยะ

กรรมวิธีที่พ่นด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลต STP5-3 ในระยะดอกตูมรูปทรงกระดุมมีน้ำหนัก 18.42 ก./ตะกร้า ซึ่งสูงกว่ากรรมวิธีควบคุม ในขณะที่การพ่นด้วยแบคทีเรียไอโซเลต STP2-3 มีน้ำหนักของระยะดอกตูมรูปทรงไข่ 33.83 ก./ตะกร้า ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 2)

น้ำหนักต่อตะกร้า

กรรมวิธีที่พ่นด้วยแบคทีเรีย *Bacillus sp.* ไอโซเลต STP2-3, STP5-3 และ STP5-1 มีน้ำหนัก 113.00, 105.12 และ 82.00 กรัมต่อตะกร้า ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่มีน้ำหนัก 81.40 ก./ตะกร้า ในขณะที่กรรมวิธีที่พ่นด้วยแบคทีเรีย STP3-2 มีน้ำหนักต่อตะกร้าน้อยที่สุด 39.00 ก./ตะกร้า ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ **(Table 2)**

Table 2 Weight per stages and weight per basket of straw mushroom

Treatment	Weight per stage (g)		Weight per basket (g)
	Button stage	Egg-shaped stage	
Control	12.89	33.47 a	81.40 b
Bacillus sp. isolate STP2-3	14.69	33.83 a	113.00 a
Bacillus sp. isolate STP3-2	12.89	17.34 ab	39.00 b
Bacillus sp. isolate STP5-1	15.69	21.75 ab	82.00 b
Bacillus sp. isolate STP5-3	18.42	12.63 b	105.12 a
F test	ns	*	**
C.V. (%)	43.43	34.81	24.44

ns = Non significant (P<0.05)

* = Significant Difference (P<0.05)

** = Highly Significant Difference

เปอร์เซ็นต์ดอกเห็ดฟางต่อตะกร้า

จากการทดลองพบว่ากรรมวิธีที่พ่นด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลต STP2-3 และ STP5-3 มีแนวโน้มพบดอกเห็ดฟางได้ 56.5 และ 92.4 เปอร์เซ็นต์ต่อตะกร้า ซึ่งสูงกว่ากรรมวิธีควบคุม ในขณะที่การพ่นด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลต STP3-2 มีเปอร์เซ็นต์ดอกเห็ดฟางน้อยกว่ากรรมวิธีควบคุม (22.2 เปอร์เซ็นต์ต่อตะกร้า) และการพ่นด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลต STP5-1 มีเปอร์เซ็นต์ดอกเห็ดเทียบเท่ากับกรรมวิธีควบคุม (65.3 เปอร์เซ็นต์ต่อตะกร้า) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (**Table 3**)

ความกว้างของดอกเห็ดฟางในระยะต่าง ๆ

จากการทดลองพบว่าความกว้างของดอกเห็ดฟางในทุกระยะของทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งการพ่นด้วยแบคทีเรียทดสอบทุกกรรมวิธีมีแนวโน้มช่วยเพิ่มความกว้างของดอกเห็ดฟางระยะกระดุม ในขณะที่การพ่นด้วยแบคทีเรียไอโซเลต STP2-3 มีแนวโน้มช่วยเพิ่มความกว้างของดอกเห็ดฟางในระยะรูปไข่ (**Table 3**)

Table 3 Percentage and width of the straw mushroom grown in basket in button shape and egg-shape stages after sprayed with cell suspension of *Bacillus* sp.

Treatment	Mushroom percentage per basket (%)	Width (mm.)	
		Button stage	Egg-shaped stage
Control	65.3	31.97	36.09
Bacillus sp. isolate STP2-3	56.5	33.70	40.32
Bacillus sp. isolate STP3-2	22.2	01.32	30.64
Bacillus sp. isolate STP5-1	65.3	18.39	34.78
Bacillus sp. isolate STP5-3	92.4	20.36	34.67
F test	ns	ns	ns
C.V. (%)	52.57	8.11	16.56

ns = Non significant (P<0.05)

* = Significant Difference (P<0.05)

วิจารณ์

การคัดเลือกแบคทีเรียจากดอกเห็ดเพื่อนำมาทดสอบในครั้งนี้จากวิธีการพิมพ์ดอกเห็ด และการแยกเชื้อจากผิวดอกเห็ด คัดเลือกได้ไอโซเลตที่ไม่ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเห็ดฟาง 4 ไอโซเลต โดยคัดเลือกจากลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกัน และลักษณะของเส้นใยเห็ดฟางที่ทดสอบเจริญได้ดี และหนากว่าปกติ พบว่าแบคทีเรียที่คัดเลือกได้มีรูปร่างเป็นท่อน ติดสีแกรมบวก (สีม่วง) สร้างเอนโดสปอร์ภายในเซลล์ และเอนโดสปอร์ย้อมติดสีเขียว ซึ่งสามารถจัดเข้าในสกุล *Bacillus* ตามเกณฑ์เดิมของ Claus and Berkley *(1986)* จึงได้จำแนกเบื้องต้นว่าแบคทีเรียที่คัดเลือกทั้งหมด 4 ไอโซเลต อยู่ในสกุล *Bacillus* sp. ซึ่งควรมีการทดสอบและจำแนกแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ด้วยวิธีอื่น ๆ เพิ่มเติมต่อไป

เมื่อนำแบคทีเรียทดสอบที่คัดเลือกได้ 4 ไอโซเลต ได้แก่ *Bacillus* sp. STP2-3, STP3-2, STP5-1 และ STP5-3 มาทดสอบโดยพ่นรอบ ๆ ตะกร้า พบว่าเปอร์เซ็นต์ดอกเห็ดฟางต่อตะกร้าไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม เช่นเดียวกับความกว้าง น้ำหนักระยะดอกตูมรูปทรงกระดุมและรูปทรงไข่ สอดคล้องกับผลการทดลองของสุนีย์ (2557) ที่พบว่าการพ่นแบคทีเรียสร้างเอนโดสปอร์ที่แยกได้จากดอกเห็ดฟางลงบนวัสดุเพาะเห็ดฟางในสภาพโรงเรือนได้ผลผลิตไม่แตกต่างกันกับกรรมวิธีควบคุมที่ใช้น้ำเปล่า ในขณะที่เยาวภา และคณะ (2562) รายงานว่า การใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BC05 ที่คัดแยกมาจากวัสดุเพาะเห็ดฟาง และเลี้ยงบนอาหาร nutrient broth แล้วนำมาพ่นบนวัสดุเพาะเห็ดฟางในโรงเรือน ปริมาตร 250 มิลลิลิตรต่อพื้นที่เพาะเห็ด 1 ตารางเมตร มีผลผลิตเห็ดฟางมากกว่ากรรมวิธีควบคุม โดยมีรายงานว่าแบคทีเรียที่อาศัยร่วมกับเส้นใยเห็ดสามารถผลิตสารพวกเซลลูโลส และวิตามินบางชนิดที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดได้ (Stanek, 1974) แต่ในการทดลองครั้งนี้พบว่าการใช้แบคทีเรีย *Bacillus* sp. STP2-3, STP5-1 และ STP5-3 มีน้ำหนักผลผลิตเห็ดฟางต่อตะกร้ามากกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเป็นที่น่าสังเกตว่ากรรมวิธีที่พ่นด้วย *Bacillus* sp. ไอโซเลต STP2-3 มีแนวโน้มในการช่วยเพิ่มน้ำหนักของเห็ดฟางในระยะดอกตูมรูปทรงไข่และน้ำหนักต่อตะกร้าได้ ซึ่งอาจส่งผลดีต่อเกษตรกรในการนำไปใช้เพื่อเพิ่มผลผลิตในกรณีที่ผลิตเห็ดฟางเป็นจำนวนมาก เช่น การเพาะเห็ดฟางในโรงเรือน เป็นต้น จึงควรมีการทดสอบกับการเพาะเห็ดฟางแบบอื่น ๆ เช่น แบบกองเตี้ย หรือแบบโรงเรือน ซึ่งให้ผลผลิตสูงกว่าเห็ดฟางตะกร้า เพื่อความแม่นยำของข้อมูลต่อไป

นอกจากนี้ในการทดลองยังพบเชื้อราสาเหตุโรคของเห็ดฟาง ได้แก่ เชื้อรา *Trichoderma* spp. และ *Sclerotium* spp. ขึ้นปะปนซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อผลผลิตเห็ดฟางในครั้งนี้ สุนีย์ (2557) พบว่าการพ่นแบคทีเรียสร้างเอนโดสปอร์ที่แยกได้บนวัสดุเพาะเห็ดฟาง *B. subtilis* สายพันธุ์ BC05 ส่งผลให้ปริมาณเชื้อราแข่งขันในโรงเพาะเห็ด เช่น เห็ดน้ำหมึก

(*Coprinus* sp.) หรือเห็ดถั่วงอกหัวโต (*Bolditius fissus*) ลดลง จึงอาจมีการศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อราแข่งขันของเห็ดฟางของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. STP2-3 และ STP5-3 ต่อไปในอนาคตด้วย

สรุป

ได้แบคทีเรียจากการพิมพ์ดอกเห็ด และการแยกเชื้อแบคทีเรียบนผิวดอกเห็ด มาศึกษาอิทธิพลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดฟางในห้องปฏิบัติการ พบว่าแบคทีเรียทดสอบสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเห็ดฟางโดยสร้าง clear zone และกลุ่มที่ไม่ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเห็ดฟาง คัดเลือกตัวแทนไอโซเลตที่ไม่ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเห็ดฟาง 4 ไอโซเลต ได้แก่ STP2-3 STP3-2 STP5-1 และ STP5-3 นำมาทดสอบปฏิกิริยาเบื้องต้นกับ 3%KOH ทำการย้อมสีแบบแกรม และย้อมสี endospore พบว่าแบคทีเรียที่คัดเลือกได้มีรูปร่างเป็นท่อน ติดสีแกรมบวก (สีม่วง) สร้างเอนโดสปอร์ที่ย้อมติดสีเขียวภายในเซลล์ทั้ง 4 ไอโซเลต จึงจัดจำแนกเบื้องต้นว่าแบคทีเรียที่คัดเลือกได้อยู่ในสกุล *Bacillus* sp. จากการทดสอบประสิทธิภาพต่อผลผลิตของเห็ดฟางด้วยการพ่นรอบ ๆ ตะกร้า พบว่ากรรมวิธีที่พ่นด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลต STP2-3 และ STP5-3 มีน้ำหนักผลผลิตต่อตะกร้าสูงที่สุด และมีแนวโน้มช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์ดอกเห็ดฟางต่อตะกร้าได้ ในขณะที่การพ่นด้วยแบคทีเรียทดสอบไอโซเลต STP2-3 มีแนวโน้มช่วยเพิ่มน้ำหนักเห็ดฟางทั้งในระยะดอกตูมรูปทรงกระดุมและรูปทรงไข่ได้สูงที่สุด

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากกองทุนส่งเสริมงานวิจัย “ทุนนักวิจัยรุ่นใหม่” มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ประจำปีงบประมาณ 2562

เอกสารอ้างอิง

จุฑารัตน์ เพชรแก้ว, จิระเดช แจ่มสว่าง, วรรณวิไล อินทนู, พราวมาส เจริญรักษ์ และกิตติพงศ์ ตรีตรุยานนท์. 2552. ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการยับยั้งโรคแอนแทรคโนสบนผลองุ่น. น.545-557. ใน: ประชุมอารักขาพืชแห่งชาติครั้งที่ 9 อารักขาพืชไทย เทิดไท้องค์ภูมีตามวิถีเศรษฐกิจพอเพียง 24-26 พฤศจิกายน 2552. โรงแรมสุนีย์ แกรนด์, อุบลราชธานี.

ปัณณวิชญ์ เย็นจิต และ วาริน อินทนา. 2559. การศึกษาประสิทธิภาพของผงเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัสและการประยุกต์ใช้ ในการควบคุมโรคราดำของเห็ดนางฟ้าภูฐาน. วิทยาศาสตร์เกษตร 47(3): 405-416.

พรศิลป์ มณีฉาย. 2546. การคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อการควบคุมโรคราเขียว *Trichoderma* spp. ของเห็ด. วิทยานิพนธ์ ปริญญาวิทยาศาสตร มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา.

พราวมาส เจริญรักษ์, เจตนิพัทธ์ มีบุญ, อุไรรัตน์ กองอรรถ และดาวรุ่ง วัชรินทร์รัตน์. 2563. การใช้ก้อนเห็ดเก่าผสมฟางข้าวต่อผลผลิตของเห็ดฟางที่เพาะในตะกร้าพลาสติก. วิทยาศาสตร์เกษตร 51(พิเศษ 1): 255-260.

พัชรพร ธรรมภิบาลอุดม. 2556. การใช้แบคทีเรียเอื้อประโยชน์เพื่อลดโรคกาบใบแห้งของข้าว เพิ่มผลผลิตและย่อยสลายฟางข้าว. วิทยานิพนธ์ ปริญญาวิทยาศาสตร มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ไพโรจน์ ตันศิริศิลป์. 2553. การเพาะเห็ดฟางแบบกองเตี้ย. เกษตรสยามบุ๊ค, กรุงเทพ.

ภานุพงศ์ เลิศลีลาภูษิต. 2556. คู่มือเห็ดฟาง. เกษตรสยาม, กรุงเทพ ฯ.

เยาวภา อร่ามศิริรุจิเวทย์ พีรพัฒน์ ดวงสร้อยทอง สุรางค์ สุธิราวุธ และ อัจฉรา พยัพพานนท์. 2562. *Bacillus subtilis* BC05 กับการเพิ่มผลผลิตเห็ดฟาง. น. 99-106. ใน เห็ดไทย 2562 ฉบับพิเศษ. สมาคมนักวิจัยและเพาะเห็ดแห่งประเทศไทย, กรุงเทพ ฯ.

สุนีย์ คำพันธ์. 2557. การคัดเลือกแบคทีเรียสร้างเอนโดสปอร์ที่มีศักยภาพในการเพิ่มผลผลิตเห็ดฟาง. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ ฯ.

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, Williuams and Wilkins, eds. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2. Springer, London.

Cho, Y.-S., J.-S. Kim, D.E. Crowley, and B.-G Cho. 2003. Growth promotion of the edible fungus *Plurotus ostreatus* by fluorescent pseudomonads. FEMS Microbiology Letters 218: 271-276.

Dong, X., W. Zhou, J. Zhang, Y. Qi, Y. Gao, J. Shen, and L. Qiu. 2010. The effect of growth promotion and its mechanism on edible fungi by fluorescent Pseudomonas. Shengtai Xuebao/ Acta Ecologica Sinica. 30(17): 4685-4690.

Stanek, M. 1974. Bacteria associated with mushroom mycelium Agaricus bisporus (Lg) Sing. In hyphosphere. Mushroom Science 8: 197-207.