

บทที่ 4

การเพาะเห็ด *Coprinus comatus* (O. F. Müll.) Gray (Cultivation of *Coprinus comatus*. (O. F. Müll.) Gray)

บทนำ

เห็ดป่าสกุล *Coprinus* มีประมาณ 100 ชนิด (species) (Hawksworth *et al.*, 1995) ลักษณะสำคัญของเห็ดในสกุลนี้ คือ ดอกเห็ดเมื่อแก่จะสลายตัวเองกลายเป็นของเหลวคล้ายหยดหมึกสีดำ (Arora, 1986) เห็ดในสกุลนี้พบขึ้นทั่วไปบนมูลสัตว์ กองฟาง ใสนุ่น ทะลายปาล์ม น้ำมัน ต้นพืชที่เน่าเปื่อย กองปุ๋ยหมัก และทุ่งหญ้า ส่วนใหญ่เป็นเห็ดขนาดเล็กไม่สามารถรับประทานได้ อย่างไรก็ตามมีบางชนิดที่มีขนาดใหญ่ และนิยมรับประทานกันอย่างแพร่หลาย เช่น เห็ดถั่ว (*C. fimentarius* Fr.) และเห็ด shaggy mane (*C. comatus* (O.F. Müll.) Gray) เป็นต้น (วสันต์ เพชรรัตน์, 2540, Stamets, 1993)

เห็ดสกุล *Coprinus* ที่สามารถเพาะในประเทศไทย คือ เห็ดถั่ว โดย อานนท์ เอื้อตระกูล (2518 - 19, 2541) รายงานว่า การเพาะเห็ดถั่วทำกันมานานแล้วในจังหวัดทางภาคเหนือของประเทศไทย เช่น จังหวัดแพร่ โดยอาศัยเชื้อที่มีอยู่ตามธรรมชาติ ซึ่งอยู่ในรูปของสปอร์ หรือเส้นใยที่ติดมากับวัสดุเพาะ วัสดุที่ใช้เพาะได้แก่ ต้นถั่วชนิดต่าง ๆ โดยนำมากองสุ่มกันสูงประมาณ 30 - 45 ซม. และรดน้ำนาน 7 - 8 วัน ก็สามารถเก็บผลผลิตเห็ดได้ วสันต์ เพชรรัตน์ (2540) ศึกษาการเพาะเห็ดถั่วในตะกร้าพลาสติกโดยใช้วัสดุที่ไม่ได้เน่ามาเชื้อ พบว่าใสนุ่นเป็นวัสดุเพาะที่ดีที่สุด ได้ผลผลิต 37.3 กรัม/ตะกร้า ในช่วงเวลา 12 วัน ปัจจุบันเห็ดถั่ว มีการเพาะเป็นการค้าบริเวณจังหวัดในภาคเหนือโดยใช้ชื่อว่า เห็ดโคนน้อย เห็ดถั่ว เห็ดถั่วดิน เป็นต้น ในต่างประเทศก็มีการเพาะเห็ดถั่ว (*C. fimentarius* หรือ *C. cinereus*) เช่นกันโดย Kurtzman (1978) รายงานว่า การเพาะเห็ดถั่วสามารถทำได้โดยใช้ฟางข้าว แคลเซียมไนเตรด และน้ำ โดยไม่จำเป็นต้องเติมแร่ธาตุชนิดอื่น ๆ ลงไปอีก เห็ดถั่วเป็นเห็ดขนาดเล็ก แต่ให้ผลผลิตค่อนข้างสูง โดยพบว่าการเพาะเห็ดถั่วบนฟางข้าว 50 กก. สามารถเก็บผลผลิตเห็ดได้ 30 กก. ในช่วงระยะเวลา 30 วัน

เห็ดสกุล *Coprinus* ที่มีขนาดใหญ่ที่สุด และเป็นเห็ดป่าที่ในบริเวณทวีปนิวยอร์ก ปรเทศอเมริกาเหนือ และยุโรป คือ *C. comatus* เห็ดชนิดนี้มีชื่อสามัญว่า shaggy mane หรือ lawyer's wig ในประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีนเรียกว่า Maotou - Guisan (Stamets, 1993)

ปัจจุบันมีการเพาะปลูกเห็ด *C. comatus* อย่างแพร่หลายในต่างประเทศ (Dijkstra, 1976, Mueller *et al.*, 1985, Stamets, 1993, Volk, 2004) ส่วนในประเทศไทยยังไม่มีมีการเพาะปลูกเห็ด *C. comatus* จึงเห็นสมควรที่จะศึกษารายละเอียด และปัจจัยต่าง ๆ ที่มีอิทธิพลต่อการเจริญของเห็ดชนิดนี้ ไว้เป็นข้อมูลใช้ประโยชน์ในการเพาะเห็ด *C. comatus* เป็นการค้าในประเทศไทยต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อทราบถึงลักษณะทางสัณฐานวิทยา และสรีรวิทยาของเห็ด *Coprinus comatus*
2. เพื่อพัฒนาการเพาะเลี้ยงเห็ด *Coprinus comatus* เป็นการค้าในประเทศไทยต่อไป

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

วัสดุ

1. เห็ด *Coprinus comatus*
2. อาหารเลี้ยงเชื้อรา (ภาคผนวก)

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานเลี้ยงเชื้อ พลาสติก
2. เข็มเขี่ย
3. มีดผ่าตัด
4. ตะเกียงแอลกอฮอล์
5. ที่เจาะจุกคออร์ก
6. หม้อนึ่งความดันไอ
7. ตู้บ่มเชื้อ
8. ตู้เขี่ยเชื้อ
9. กล้องจุลทรรศน์
10. กล้องสเตอริโอ
11. กล้องถ่ายรูป

12. ตู้เย็น
13. ไมโครเวฟ

วิธีการ

เห็ด *C. comatus* ที่ใช้ทดลองเป็นสายพันธุ์ที่เพาะปลูกเป็นการค้าในกรุงปักกิ่ง ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน นำเนื้อเชื้อดอกเห็ดมาแยกเชื้อโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหาร PDA ในหลอดทดลอง และปล่อยให้เจริญกระทั่งเชื้อเห็ดเจริญเต็มผิวหน้าอาหารวุ้น จึงเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 10°C เมื่อจะทำการทดลองจึงย้ายเส้นใยจากหลอดเลี้ยงในอาหารวุ้น PDA ในจานเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (28 - 30°C) เมื่อเชื้อเห็ดอายุได้ 7 วัน จึงใช้ที่เจาะจุกคอรัศขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม. ตัดส่วนของเส้นใยพร้อมทั้งอาหารวุ้นบริเวณขอบโคโลนีออกเป็นชิ้นกลม แต่ละชิ้นที่ได้ก็คือเชื้อที่ใช้สำหรับปลูกเชื้อ ย้ายลงบนอาหารวุ้นต่าง ๆ ที่ทดลอง

1. การเจริญของเส้นใยบนอาหารวุ้น

การศึกษาการเจริญของเส้นใย ทำบนอาหารวุ้นในจานเลี้ยงเชื้อ อาหารทุกสูตรที่ทำการทดลองใช้จำนวน 15 - 20 มม. ต่อจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 90 มม. หลังจากปลูกเชื้อแล้วประมาณ 7 วัน จึงทำการวัดความกว้างของโคโลนี และประเมินความหนาแน่นของเส้นใยโดยสายตา ทุกการทดลองวางแผนแบบสุ่มตลอด (CRD, completely randomized design) ประกอบด้วย 5 ซ้ำ (ซ้ำละ 3 จานเลี้ยงเชื้อ) โดยศึกษาในหัวข้อต่อไปนี้

1.1 อาหารวุ้น

ทำการทดลองเลี้ยงเส้นใยของเห็ด *C. comatus* บนอาหารวุ้น 6 ชนิด ในจานเลี้ยงเชื้อเพื่อเปรียบเทียบการเจริญของเส้นใยเชื้อเห็ดในแนวระดับ (linear growth rate) ซึ่งอาหารที่ใช้ทดสอบมีดังนี้ 1) CMA (corn meal 20 กรัม) 2) GPA (glucose 10 กรัม, peptone 2.0 กรัม, KH_2PO_4 0.5 กรัม, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 กรัม) 3) MEA (malt extract 3 กรัม, yeast extract 2 กรัม, KH_2PO_4 0.5 กรัม, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 กรัม) 4) PDA (มันฝรั่ง 200 กรัม, dextrose 20 กรัม) 5) PDPYA (มันฝรั่ง 100 กรัม, dextrose 20 กรัม, peptone 2 กรัม, yeast extract 0.5 กรัม) 6) V_8 (V_8 juice 150 มล., CaCO_3 0.2 กรัม) อาหารทุกชนิดมีส่วนประกอบของผงวุ้น 12 กรัม ต่ออาหาร ซึ่งเติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร

1.2 แหล่งคาร์บอน

เลี้ยงเส้นใยเห็ด *C. comatus* บนอาหารพื้นฐานที่มีแหล่งคาร์บอนต่างๆ จำนวน 7 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 2% ในจานเลี้ยงเชื้อ ที่ดัดแปลงจากสูตร MFM (Danell, 1994) โดยตัดแหล่งคาร์บอนออก คือ D (+) glucose, D (-) fructose และ meso - inositol เมื่อทำการทดลองจึงใส่แหล่งคาร์บอนแต่ละชนิดลงไปปริมาณ 2% ที่ระดับ pH 5.5 แหล่งคาร์บอนที่ทดลองคือ กลูโคส เซลลูโลส ซูโครส แป้ง ฟรุคโตส แมนโนส และมัลโตส

1.3 แหล่งไนโตรเจน

เลี้ยงเส้นใยเห็ด *C. comatus* บนอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนต่าง ๆ จำนวน 7 ชนิดที่ระดับความเข้มข้น 0.1% ในจานเลี้ยงเชื้ออาหารพื้นฐาน (basal medium) ดัดแปลงจากสูตร MFM (Danell, 1994) โดยตัดแหล่งไนโตรเจนออก คือ NH_4Cl เมื่อทำการทดลองจึงใส่แหล่งไนโตรเจนแต่ละชนิดลงไปปริมาณ 0.1% ที่ระดับ พี เอช 5.5 โดยใช้ D (+) glucose, D (-) fructose และ meso - inositol เป็นแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจนที่ใช้ คือ เปปโตน โปรแตสเซียมไนเตรต ยูเรีย แอมโมเนียมคลอไรด์ แอมโมเนียมซัลเฟต และแอมโมเนียมไนเตรต

1.4 ความเป็นกรด - ด่าง (pH)

ทดสอบหาระดับ พี เอช ที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด *C. comatus* โดยเลี้ยงในอาหาร MEA ซึ่งปรับระดับ พี เอช ด้วย 1N NaOH และ 1N HCl ให้อาหารมีระดับ พี เอช ที่ระดับ 5, 6, 7, 8 และ 9 ตามลำดับ จากนั้นนำไปบ่มเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิห้อง

1.5 แสงสว่าง

เลี้ยงเส้นใยเห็ด *C. comatus* บนอาหาร MEA แล้วเป็น 2 ชุด ชุดแรกห่อด้วยกระดาษอลูมิเนียมฟรอย เพื่อป้องกันแสงสว่าง ส่วนชุดที่สองห่อด้วยถุงพลาสติกใส นำจานเลี้ยงเชื้อทั้ง 2 ชุดวางเลี้ยงริมหน้าต่างให้ได้รับแสงสว่าง จานเลี้ยงเชื้อชุดที่ห่อด้วยพลาสติกจะได้รับแสงสว่างวันละ 12 ชั่วโมง ส่วนชุดที่ห่อด้วยกระดาษอลูมิเนียมฟรอยจะไม่ได้รับแสงสว่างตลอดระยะเวลาการทดลอง

1.6 อุณหภูมิ

ทำการทดสอบหาอุณหภูมิที่มีเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อเห็ด *C. comatus* โดยได้ทดลองเลี้ยงเส้นใยเห็ดในอาหาร MEA จากนั้นนำไปบ่มเลี้ยงไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 10, 15, 20, 25, 30 และ 35 °C

2. การเพาะ

ทดลองเพาะเห็ด *C. comatus* ได้ทดลองทำในถุงพลาสติก เชื้อที่ใช้เพาะ (spawn) เป็นเชื้อที่เตรียมเลี้ยงไว้บนเมล็ดข้าวฟ่าง วิธีการเตรียมทำโดยคัมเมล็ดข้าวฟ่างให้สุกประมาณ 10 นาที เทน้ำทิ้ง ผึ่งลมให้หมาด บรรจุเมล็ดข้าวฟ่างลงในพลาสติกขนาด 250 มล. จนได้ระดับประมาณครึ่งพลาสติก อุดปากพลาสติกด้วยจุกสำลีก่อนนำไปนึ่งที่ความดัน 15 ปอนด์/ตร.นิ้ว เป็นเวลา 30 นาที เมื่ออาหารเย็นจึงเขี่ยเชื้อเห็ด *C. comatus* ซึ่งเลี้ยงไว้บนอาหารวัน PDA ลงไป บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28 - 30°C) จนกระทั่งเชื้อเห็ดเจริญเต็มเมล็ดข้าวฟ่างจึงนำไปเป็นเชื้อเพาะต่อไป วัสดุที่ใช้เพาะมี 3 สูตร แต่ละสูตรมี 50 ถุง ซึ่งมีส่วนประกอบดังนี้

สูตรที่ 1 ฟางข้าวสับ : จี๋เลื่อย : รำละเอียด (10 : 9 : 1 โดยปริมาตร)

สูตรที่ 2 ใสนุ่น : ฟางข้าวสับ : ข้าวฟ่างคัม (2 : 2 : 1 โดยปริมาตร)

สูตรที่ 3 จี๋เลื่อย : ใสนุ่น : ข้าวฟ่างคัม (3 : 3 : 1 โดยปริมาตร)

นำวัสดุแต่ละสูตรผสมให้เข้ากัน ใสนุ่นทำให้มีความชื้นประมาณ 65% บรรจุถุงพลาสติกทนร้อนขนาด 7 x 12 นิ้ว ถุงละ 500 กรัม อัดวัสดุให้แน่นพอสมควร ใส่คอพลาสติกและอุดด้วยจุกสำลี นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์/ตร.นิ้ว อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 1 ชม. ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นจึงเขี่ยเชื้อที่เลี้ยงไว้ในเมล็ดข้าวฟ่างลงไป 1 ซ้อนต่อถุง ตั้งทิ้งไว้เปรียบเทียบระยะเวลาที่เชื้อเห็ดเจริญเต็มถุง ทิ้งไว้ให้เส้นใยแก่ (1-2 เดือน) จึงนำไปเปิดถุงให้ออกดอก

การเปิดถุงทำโดยดึงจุกสำลีออก พับปากถุงลงมาให้อยู่เหนือวัสดุเพาะประมาณ 2 - 3 ซม. ใช้ใบมีดกรีดกันถุง 2 - 3 รอยเพื่อเป็นการระบายน้ำ ทำการปิดผิวหนัง้าก่อนเชื้อด้วยดินผสม (ดินร่วน : แกลบ : มูลวัว อัตรา 2 : 2 : 1 โดยปริมาตร) ให้หนาประมาณ 1-1.5 ซม. แล้วนำเข้าโรงเรือน (อุณหภูมิห้อง 26 - 32°C) บางส่วนนำเข้าตู้ควบคุมอุณหภูมิ (growth chamber) ที่ 20°C และความชื้นสัมพัทธ์ 65% ทำการรักษาความชื้นของถุงโดย ฉีดพ่นน้ำบนผิวดินที่คลุมผิวหนัง้าก่อนเชื้อทุกวัน รอจนกระทั่งเห็ดออกดอก คำนวณหา B.E. (Biological efficiency) โดยใช้สูตร

$$\% \text{ B.E.} = \frac{\text{น้ำหนักเห็ดสดที่ได้} \times 100}{\text{น้ำหนักวัสดุแห้งที่ใช้เพาะ}}$$

3. ลักษณะสัณฐานวิทยา และการพัฒนาของดอกเห็ด *C. comatus*

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการพัฒนาของดอกเห็ด *C. comatus* ดำเนินการโดยศึกษาดอกเห็ดที่เกิดจากการเพาะในถุงพลาสติกด้วยวัสดุเพาะของสูตรที่ 3 คือ จี๋เลื่อย : ไม้ฉุน : ข้าวฟ่างต้ม (3 : 3 : 1 โดยปริมาตร) และคลุมผิวหน้าวัสดุเพาะด้วยดินผสม และบ่มเชื้อไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ (20⁰C) และความชื้นสัมพัทธ์ 65% ทำการบันทึกภาพ วัดขนาด และสังเกตลักษณะดอกเห็ดทุกวัน เมื่อดอกเห็ดเจริญเต็มที่ จึงทำการเก็บดอกเห็ดมาวัดขนาดและศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอก (macroscopic feature) และจุลสัณฐานวิทยา (microscopic feature) ตามวิธีการของ Largent และ Theirs (1977) และ Largent และคณะ (1977)

ผลการทดลอง

1. การเจริญของเส้นใย

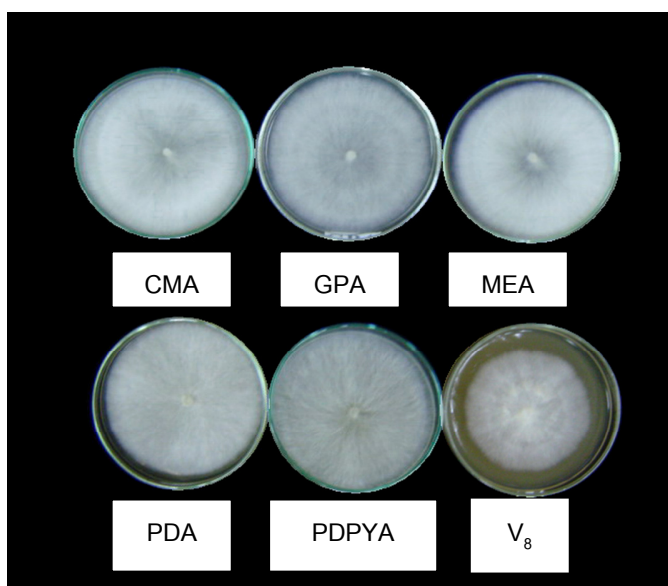
1.1 อาหารวุ้น

ผลเปรียบเทียบการเจริญของเส้นใยเห็ด *C. comatus* บนอาหารวุ้น 6 ชนิด พบว่าหลังปลูกเชื้อ 7 วัน เชื้อเห็ดเจริญได้ดีที่สุดบนอาหาร MEA โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 85.2 มม. (ตารางที่ 9) อาหารที่เชื้อเห็ดเจริญได้ดีรองลงมาคือ CMA, PDPYA, PDA โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 81.8, 73.2, 64.2 มม. ตามลำดับ ส่วนการเจริญของเส้นใยบนอาหาร GPA และ V₈ เชื้อเห็ดเจริญได้ไม่ดี มีโคโลนิขนาดเล็กที่สุด (ภาพที่ 27) และลักษณะของเส้นใยบางกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารชนิดอื่น ๆ

ตารางที่ 9 การเจริญของเห็ด *Coprinus comatus* บนอาหารวุ้น 6 ชนิด บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28 - 30°C) นาน 7 วัน

อาหารวุ้น	ความกว้างโคโลนี (มม.)	ความหนาแน่นของเส้นใย
Corn meal agar (CMA)	81.8b	+++
Glucose peptone agar (GPA)	64.2d	++
Malt extract agar (MEA)	85.2a	+++
Potato dextrose agar (PDA)	64.2d	+++
Potato dextrose peptone - yeast extract agar (PDPYA)	73.2c	+++
V ₈ juice agar (V ₈)	55.2e	++

- +++ เส้นใยมีความความหนาแน่นดี ++ เส้นใยมีความความหนาแน่นปานกลาง
+ เส้นใยมีความหนาแน่นน้อย
- ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวคอลัมน์นี้ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 27 การเจริญของเส้นใยของเห็ด *Coprinus comatus* บนอาหารวุ้น 6 ชนิด (หลังปลูกเชื้อ 7 วัน) CMA= corn meal agar, GPA= glucose peptone agar MEA= malt extract agar, PDA= potato dextrose agar, PDPYA= potato dextrose peptone yeast extract agar, V₈= V₈ juice agar

1.2 แหล่งคาร์บอน

เชื้อเห็ด *C. comatus* สามารถเจริญบนอาหารวุ้นที่มีน้ำตาลแมนโนส และมัลโตส เป็นแหล่งคาร์บอนได้ดีที่สุด โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 90.0 และ 88.4 มม. ตามลำดับ (ตารางที่ 10) ขนาดโคโลนีดังกล่าวไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนแหล่งคาร์บอนที่เจริญได้ดีรองลงมา คือ ฟรุคโตส โดยมีความกว้างของโคโลนีเฉลี่ย 74.4 มม. ในอาหารที่มีซูโครส เซลลูโลส และแป้ง เชื้อเห็ดเจริญได้ไม่ดีเท่าอาหาร 3 ชนิดข้างต้น เนื่องจากขนาดโคโลนี และความหนาแน่นของเส้นใยบนอาหารต่ำกว่า (ภาพที่ 28)

ตารางที่ 10 การเจริญของเห็ด *Coprinus comatus* บนแหล่งคาร์บอนต่าง ๆ 7 ชนิด บ่มเชื้อไว้ที่ อุณหภูมิห้อง (28 - 30°C) นาน 7 วัน

แหล่งคาร์บอน	ความกว้างโคโลนี (มม.)	ความหนาแน่นของเส้นใย
ชุดควบคุม	86.4b	+
กลูโคส	68.8e	++
เซลลูโลส	73.0d	+++
ซูโครส	78.4c	++
แป้ง	57.0f	+
ฟรุคโตส	74.4d	++++
แมนโนส	90.0a	++++
มัลโตส	88.4ab	++++

- 1) ++++ เส้นใยมีความหนาแน่นดีมาก +++ เส้นใยมีความหนาแน่นดี
 ++ เส้นใยมีความหนาแน่นปานกลาง + เส้นใยมีความหนาแน่นน้อย
- 2) ตัวอักษรที่เหมือนกัน ในแนวคอลัมน์นี้ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 28 การเจริญของเส้นใยของเห็ด *Coprinus comatus* บนอาหารวุ้นที่มีแหล่งคาร์บอนต่าง ๆ 7 ชนิด บ่ม ไว้ที่ อุณหภูมิห้อง (28-30°C) บ่มเชื่อนาน 7 วัน

1.3 แหล่งไนโตรเจน

เชื้อเห็ด *C. comatus* สามารถใช้เปปโตน และแอมโมเนียมไนเตรต เป็นแหล่งไนโตรเจนได้ดีกว่าสารชนิดอื่น ๆ ที่ทดลอง โดยมีขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 90.0 และ 89.2 มม. ตามลำดับ (ตารางที่ 11) หลังจากบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 7 วัน แหล่งไนโตรเจนที่ีตรงลงมา คือแอมโมเนียมซัลเฟต และแอมโมเนียมคลอไรด์ โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 87.0 และ 77.4 มม. ตามลำดับ ส่วนอาหารที่มี โปแตสเซียมไนเตรต และยูเรีย เชื้อเห็ดเจริญได้ดีและไม่มีความหนาแน่นของเส้นใยบางมาก (ภาพที่ 29)

ตารางที่ 11 การเจริญของเห็ด *Coprinus comatus* บนแหล่งไนโตรเจนต่าง ๆ 7 ชนิด บ่มเชื้อไว้ อุณหภูมิห้อง (28 - 30°C) นาน 7 วัน

แหล่งไนโตรเจน	ความกว้างโคโลนี (มม.)	ความหนาแน่นของเส้นใย
ซูดควบคุม	85.4c	+
เปปโตน	90.0a	++++
ยูเรีย	58.6f	++
โปแตสเซียมไนเตรต	65.8e	++
แอมโมเนียมคลอไรด์	77.4d	+++
แอมโมเนียมซัลเฟต	87.0bc	+++
แอมโมเนียมไนเตรต	89.2ab	++++

1) ++++ เส้นใยมีความหนาแน่นดีมาก +++ เส้นใยมีความหนาแน่นดี
 ++ เส้นใยมีความหนาแน่นปานกลาง + เส้นใยมีความหนาแน่นน้อย

2) ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวคอลัมน์นี้ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 29 การเจริญของเส้นใยของเห็ด *Coprinus comatus* บนอาหารวุ้นที่มีแหล่งไนโตรเจนต่าง ๆ กัน 7 ชนิด บ่มไว้ที่ อุณหภูมิห้อง (28-30 °C) บ่มเขื่อนาน 7 วัน

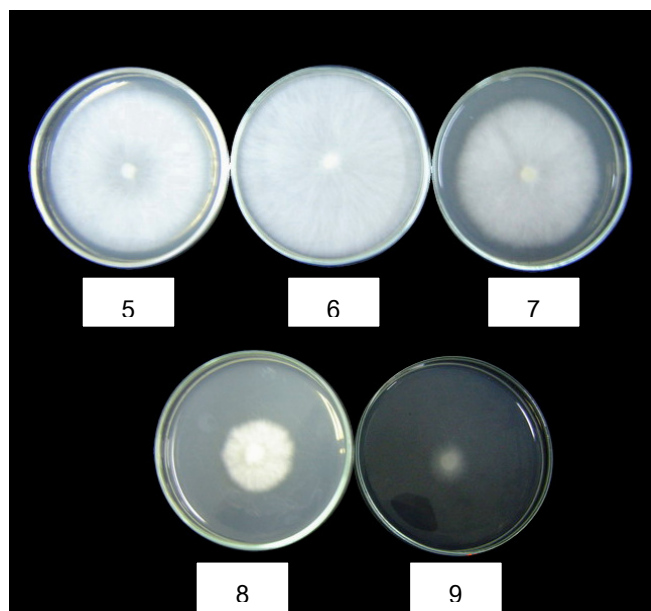
1.4 ความเป็นกรด – ด่าง (pH)

จากการทดลองเลี้ยงเชื้อเห็ด *C. comatus* บนอาหารวุ้น MEA ที่มีระดับ พี เอช ต่างกัน 5 ระดับ พบว่าเชื้อเห็ดสามารถเจริญได้ดีที่สุดบนอาหารที่มี พี เอช ระดับ 6 โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย คือ 89.6 มม. (ตารางที่ 12) ส่วนบนอาหารที่มีระดับ พี เอช 5, 7 และ 8 เชื้อเห็ดสามารถเจริญได้ดีรองลงมา โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย คือ 86.6, 80.6 และ 38.2 มม. ตามลำดับ แต่เชื้อเห็ดจะมีการเจริญของเส้นใยช้าลงเมื่อระดับ พี เอช ที่สูงขึ้น จนที่ระดับ พี เอช 9 พบว่าเส้นใยเห็ดเจริญได้น้อยที่สุด และมีความหนาแน่นของเส้นใยน้อยที่สุดด้วยเช่นกัน (ภาพที่ 30)

ตารางที่ 12 การเจริญเติบโตของเห็ด *Coprinus comatus* บนอาหาร MEA ที่มีระดับ พี เอช ต่างกัน 5 ระดับ บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28 - 30°C) นาน 7 วัน

pH	ความกว้างโคโลนี (มม.)	ความหนาแน่นของเส้นใย
5	86.6b	+++
6	89.6a	+++
7	80.6c	+++
8	38.2d	+++
9	17.0e	+

- 1) +++ เส้นใยมีความหนาแน่นดี ++ เส้นใยมีความหนาแน่นปานกลาง
+ เส้นใยมีความหนาแน่นน้อย
- 2) ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวคอลัมน์นี้ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 30 การเจริญของเส้นใยเห็ด *Coprinus comatus* บนอาหาร MEA ที่ระดับ พี เอช ต่างกัน 5 ระดับ บ่มเชื้อนาน 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (28-30°C)

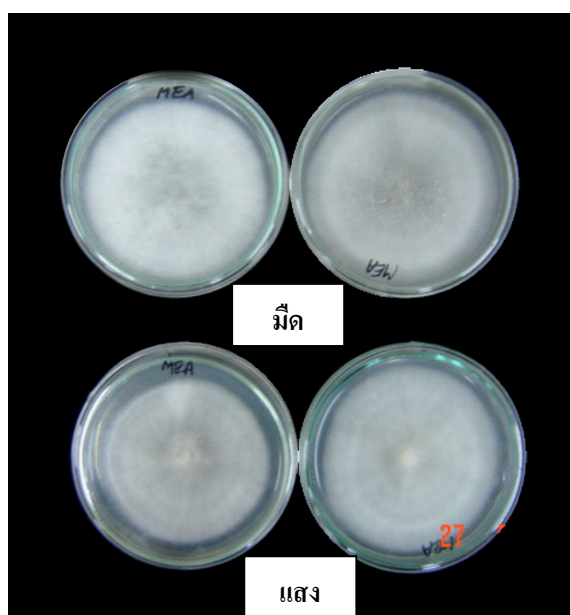
1.5 แสงสว่าง

จากการทดลองเลี้ยงเชื้อเห็ด *C. comatus* บนอาหารวุ้น MEA และนำไปเก็บไว้ในที่
ได้รับแสงสว่างปกติในห้องปฏิบัติการวันละ 12 ชั่วโมง และในที่มืดสนิทเป็นเวลา 7 วัน พบว่าเชื้อ
เห็ดที่เลี้ยงไว้ในที่มีตลอดสามารถเจริญได้ดีกว่าเชื้อเห็ดที่เลี้ยงไว้ในที่มีแสงสว่าง โดยวัดความ
กว้างโคโลนีเฉลี่ยได้ 81.2 และ 73.0 มม. ตามลำดับ (ตารางที่ 13, ภาพที่ 31)

ตารางที่ 13 การเจริญเติบโตของเห็ด *Coprinus comatus* บนอาหาร MEA และนำไปเก็บไว้ในที่
รับแสงสว่างปกติ และในที่มืดสนิทนาน 7 วัน

สภาวะ	ความกว้างโคโลนี (มม.)	ความหนาแน่นของเส้นใย
มืด	81.2**	+++
แสง	73.0	+++

- 1) ++++ เส้นใยมีความหนาแน่นดีมาก +++ เส้นใยมีความหนาแน่นดี
++ เส้นใยมีความหนาแน่นปานกลาง + เส้นใยมีความหนาแน่นน้อย
- 2) ** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ในการเปรียบเทียบด้วยวิธี TTEST



ภาพที่ 31 การเจริญของเส้นใยเห็ด *Coprinus comatus* บนอาหารวุ้น MEA และ นำไปเก็บไว้ในที่ ได้รับแสงสว่างปกติในห้องปฏิบัติการ วันละ 12 ชม. และในที่มืดสนิทนาน 7 วัน

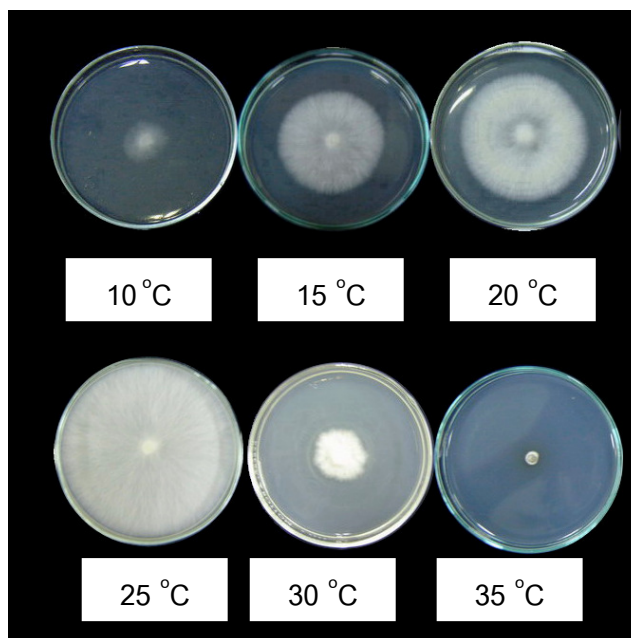
1.6 อุณหภูมิ

จากการทดลองเลี้ยงเชื้อเห็ด *C. comatus* บนอาหาร MEA ที่อุณหภูมิต่างกัน 6 ระดับ พบว่า เชื้อเห็ดเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 25°C โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 89.4 มม. (ตารางที่ 14) หลังจากบ่มเชื้อไว้เป็นเวลานาน 7 วัน เชื้อเห็ดก็สามารถเจริญได้เต็มจานเลี้ยงเชื้อ และอุณหภูมิที่เชื้อเห็ดสามารถเจริญได้ดีรองลงมาคือ 20°C และ 15°C ตามลำดับ โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 83.4, 76.4 มม. ตามลำดับ ส่วนการเจริญบนอาหารที่อุณหภูมิ 10°C พบว่า เชื้อเห็ดสามารถเจริญได้น้อยมาก (ภาพที่ 32) และมีความหนาแน่นของเส้นใยน้อยกว่าอุณหภูมิอื่น ๆ ที่ทดลอง และที่อุณหภูมิ 35°C พบว่าเชื้อเห็ดไม่สามารถเจริญได้เลย แสดงว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด *C. comatus* คือ 15 - 25°C

ตารางที่ 14 การเจริญของเส้นใยเห็ด *Coprinus comatus* บนอาหารวุ้น MEA ที่ระดับอุณหภูมิต่างกัน 6 ระดับ หลังบ่มเชื้อนาน 7 วัน

อุณหภูมิ	ความกว้างโคโลนี (มม.)	ความหนาแน่นของเส้นใย
10	22.2e	+
15	76.4c	++++
20	83.4b	++++
25	89.4a	++++
30	28.4d	+++
35	0	-

- 1) +++++ เส้นใยมีความหนาแน่นดีมาก +++ เส้นใยมีความหนาแน่นดี
 ++ เส้นใยมีความหนาแน่นปานกลาง + เส้นใยมีความหนาแน่นน้อย
- 2) ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 32 การเจริญของเส้นใยเห็ด *Coprinus comatus* บนอาหารวุ้น MEA ที่อุณหภูมิต่างกัน 6 ระดับ และบ่มเขื่อนาน 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (28-30°C)

2. การเพาะเห็ด

จากการทดลองเพาะเห็ด *C. comatus* ในถุงพลาสติกโดยใช้วัสดุเพาะ 3 สูตร พบว่า หลังจากใส่เชื้อเห็ดลงไปวัสดุเพาะ เชื้อเห็ดสามารถเจริญได้ดีที่สุดในวัสดุสูตรที่ 3 ซึ่งประกอบด้วยขี้เถ้า : ไม้สับ : ข้าวฟ่างต้ม (3 : 3 : 1 โดยปริมาตร) โดยเชื้อเห็ดสามารถเจริญเต็มถุงในระยะเวลา 20.3 วัน (ตารางที่ 15) ส่วนสูตรที่ 1 และสูตรที่ 2 เชื้อเห็ดเจริญเต็มถุงในระยะเวลา 33.9 และ 34.8 วัน ตามลำดับ และมีเส้นใยหนาแน่นน้อยกว่า สำหรับสูตรที่ 3 ทิ้งไว้ให้เส้นใยแก่อีก 30 วัน จึงทำการเปิดถุง โดยปิดฝิด้านด้วยดินผสม (ดินร่วน : แกลบ : มูลวัว อัตราส่วน 2 : 2 : 1 โดยปริมาตร) ที่อุณหภูมิห้องโรงเรือน ผลปรากฏว่าในช่วงเดือน มีนาคม – สิงหาคม (28 - 32°C) ไม่พบการออกดอก แต่ในช่วงเดือน กันยายน – ธันวาคม (26 - 28°C) สามารถพบเห็ดได้ในระยะเริ่มสร้างตุ่มดอกเท่านั้น ต่อมาตุ่มดอกจะฝ่อ เป็นสีน้ำตาลแห้ง และสลายไปไม่สามารถเจริญเป็นดอกเห็ดที่สมบูรณ์ได้

เห็ดบางส่วนนำไปเปิดถุงในตู้ควบคุมอุณหภูมิ (20°C) และความชื้นสัมพัทธ์ 65% พบว่า ระยะเวลาจากเปิดถุงรดน้ำจนกระทั่งเก็บผลผลิตได้ครั้งที่ 1 ในสูตรที่ 3 ใช้เวลาเพียง 20.6 วัน ส่วนในสูตรที่ 1 และสูตรที่ 2 สามารถเก็บผลผลิตได้ภายในระยะเวลา 22.4 และ 22.6 วัน ตามลำดับ โดยในสูตรที่ 3 ให้ผลผลิตเฉลี่ยสูงสุด คือ 165.6 กรัม/ถุง ส่วนสูตรที่ 2 และ 1 ให้ผลผลิตเฉลี่ยได้ดีรองลงมา คือ 68.8 และ 50.8 กรัม/ถุง ตามลำดับ

ดอกเห็ดมีการเจริญและพัฒนาเข้าสู่ระยะที่เจริญเต็มที่ จนเมื่อดอกเห็ดมีอายุได้ 12 วัน (นับตั้งแต่เกิดตุ่มดอก) ดอกเห็ดเริ่มย่อยสลายตัวกลายเป็นหยดหมึกสีดำ ไม่สามารถนำมารับประทานได้ (ภาพที่ 33ก และข)

ตารางที่ 15 ผลผลิตเฉลี่ยเห็ด *Coprinus comatus* ในวัสดุเพาะต่าง ๆ ที่ทำการเปิดถุงในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 20°C

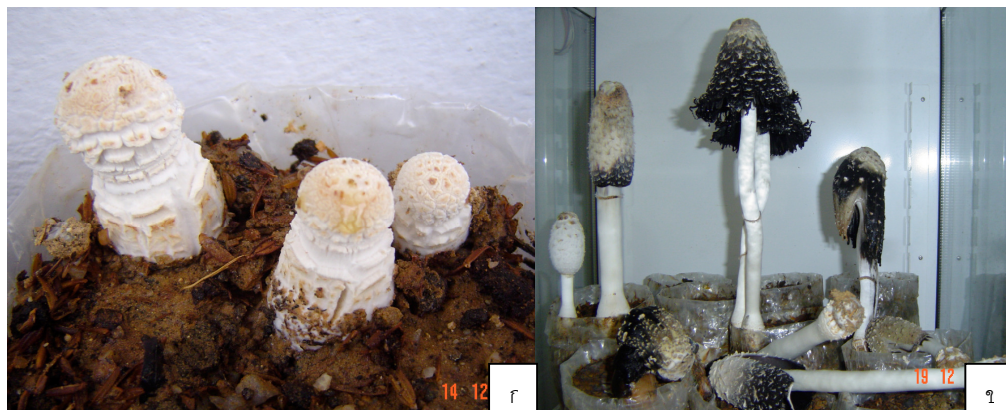
วัสดุเพาะ	จำนวนวัน เส้นใยเดิน เต็มถุง	จำนวนวันที่ สามารถเก็บ ผลผลิตครั้งแรก	จำนวนดอกเห็ด ต่อถุง	น้ำหนักดอกเห็ด (กรัม)	ผลผลิต (กรัม/ถุง)	B.E.(%)
1. ฟางข้าวสับ + ขี้เลื่อย + รำละเอียด (10 : 9 : 1)	33.9a**	22.4a *	0.8b*	56 – 71c*	50.8c*	15.3*
2. ใส่มูน + ฟางข้าวสับ + ข้าวฟ่างต้ม (2 : 2 : 1)	34.8a**	22.6a*	1.0b*	59 – 75b*	68.8b*	21.2*
3. ขี้เลื่อย + ใส่มูน + ข้าวฟ่างต้ม (3 : 3 : 1)	20.3b**	20.6a *	2.2a*	60 – 85a*	165.6a*	50.8*

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวคอลัมน์นี้ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ด้วยวิธี DMRT

** เฉลี่ยจาก 50 ถุง

* เฉลี่ยจาก 5 ถุง



ภาพที่ 33 การเจริญของเห็ด *Coprinus comatus* ในวัสดุเพาะสูตร 3 (ขี้เลื่อย : ไม้สน : ข้าวฟ่างต้ม 3 : 3 : 1 โดยปริมาตร)

ก) อายุ 2 วัน

ข) อายุ 12 วัน

3. ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการพัฒนาของดอกเห็ด *C. comatus*

3.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ก. เส้นใย

บนอาหาร PDA เมื่อเส้นใยเห็ด *C. comatus* มีอายุ 6 - 7 วัน พบว่าเส้นใยมีสีขาว เส้นใยมีความหนาแน่นดีมาก โดยเส้นใยจะเจริญแผ่ออกไปตามผิวหน้าของอาหาร จากการนำ ส่วนของเส้นใยมา mount ทำสไลด์ และวัดขนาดของเส้นใย พบว่าเส้นใยของเห็ด *C. comatus* ไม่มีสี ลักษณะใส (hyaline) เป็นท่อยาวมีการแตกแขนง ภายในเส้นใยมีผนังกั้น (septum) เป็น ช่วง ๆ แบ่งเส้นใยออกเป็นส่วน ๆ แต่ละส่วนเรียก hyphal segment ซึ่งมีขนาดตั้งแต่ 30.0 - 48.0 x 1.2 - 2.5 ไมครอน บนเส้นใยยังพบ clamp connection อีกด้วย (ภาพที่ 34ข)

ข. ดอกเห็ด

ลักษณะของดอกเห็ด *C. comatus* มีลักษณะทางสัณฐานวิทยา ดังนี้ ดอกเห็ด ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ หมวกเห็ด และก้านดอก ส่วนบนมีวงแหวน 1 ชั้น ไม่มีเปลือกหุ้มโคน ก้าน (ภาพที่ 34ก)

หมวกเห็ด เห็ด *C. comatus* เป็นเห็ดที่มีขนาดดอกใหญ่มีขนาดความกว้าง 2.3 - 5.0 ซม.

สูง 3.0 - 30.0 ซม. หมวกเห็ดมีสีขาว ถึงสีขาวครีม ด้านบนของผิวหมวกเห็ด

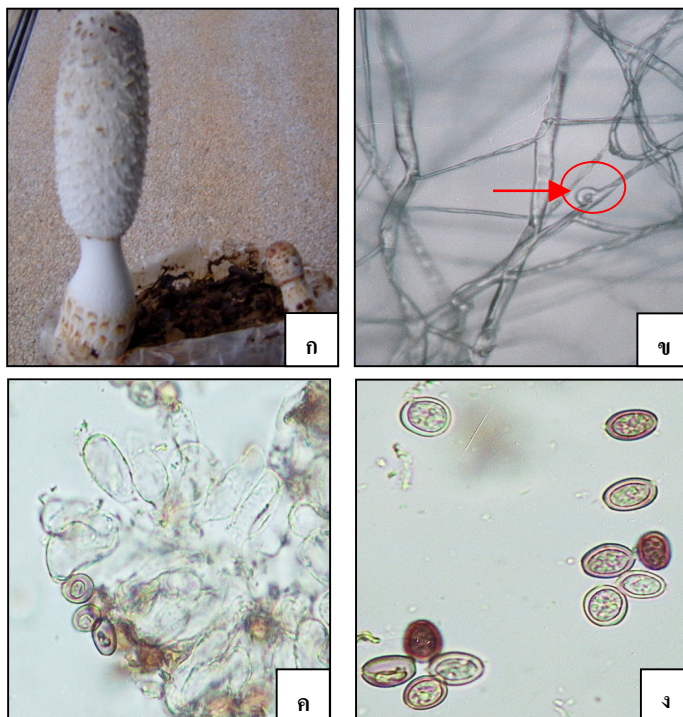
จะมีขนเล็กๆ คลุมผิวบนหมวก มีแผ่นเป็นเกล็ดสีน้ำตาลอ่อน ปกคลุมอยู่ด้วย เช่นกัน หมวกเห็ดเมื่อแก่จะกลายเป็นสีดำ และสลายกลายเป็นของเหลวสีดำ ครีบดอก ไม่ยึดติดกับก้าน ครีบมีสีขาวเมื่อยังอ่อน ต่อมาสีเข้มขึ้นจนกลายเป็นสีดำเมื่อแก่ ครีบดอกมีลักษณะบาง และเรียงชิดกันมาก ก้านดอก มีลักษณะเรียว ขาวเป็นรูปทรงกระบอก เชื่อมกับหมวกดอกตรงกลางหมวก มีสีขาวนวล ผิวเรียบเป็นมันวาว มีวงแหวนสีน้ำตาล 1 วง หุ้มล้อมรอบก้านดอก ส่วนบน ส่วนโคนโป่งบวมมีลักษณะเป็นกระเปาะ

ลักษณะทางจุลทรรศน์วิทยา

เบสิดิโอสปอร์ มีขนาด $11.0 - 13.8 \times 8.8 - 10.0$ ไมครอน ลักษณะคล้ายรูปไข่ ผนังหนา ผิวเรียบ มี germ pore ตรงกลาง 1 รู มีสีน้ำตาล – น้ำตาลดำ (ภาพที่ 34ง)

cheilocystidia มีขนาด $20.0 - 37.5 \times 14.0 - 25.0$ ไมครอน ลักษณะบวมโป่งคล้ายกระบอง – ครึ่งวงกลม

เบสิดิเยส มีขนาด $15.0 - 30.0 \times 10.0 - 12.5$ ไมครอน ลักษณะคล้ายกระบอง มี 4 sterigma ไม่มี basal clamp (ภาพที่ 34ค)



ภาพที่ 34 จุลทรรศน์วิทยาของเห็ด *Coprinus comatus*

ก) ดอกเห็ด

ข) เส้นใย และ clamp connection

ค) เบสิดีเทียม (100x)

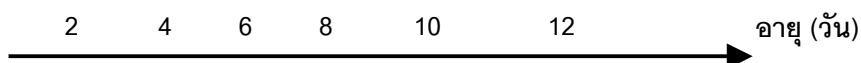
ง) เบสิดิโอสปอร์ (100x)

3.2 การพัฒนาของดอกเห็ด

หลังจากเส้นใยเห็ดเดินเต็มถุงในสูตรอาหารที่ 3 ซึ่งเส้นใยเจริญดีที่สุด ใช้เวลาในการเดินเต็มถุง 20.3 วัน จากนั้นจึงให้เส้นใยเจริญต่อไปอีก 30 วัน แล้วนำไปกระตุ้นให้เกิดดอก โดยนำไปเปิดถุงในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 20 °C พบว่าหลังทำการรดน้ำเพื่อให้ความชื้น เช้า – เย็น ภายในระยะเวลา 15 วัน เส้นใยเห็ดเริ่มสร้างดอก โดยในระยะแรกจะพบเห็ดในระยะตุ่มเห็ด ต่อมาเห็ดเจริญจนมีก้านดอก หมวกดอก และโตเต็มที่จนสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ และสามารถนำไปรับประทานได้ เมื่อเห็ดมีอายุได้ 6 - 8 วัน และหลังจากนั้นดอกเห็ดจะเริ่มสลายตัวกลายเป็นหยดหมึกสีดำ (ภาพที่ 35) ไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ เมื่อเห็ดมีอายุได้มากกว่า 8 วัน (อายุเก็บเกี่ยวรวม 8 วัน นับตั้งแต่เกิดตุ่มเห็ด)



ความสูง (ซม.)



ภาพที่ 35 การพัฒนาของดอกเห็ด *Coprinus comatus* ในระยะต่าง ๆ

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองเลี้ยงเชื้อเห็ด *C. comatus* บนอาหารวุ้น 6 ชนิด พบว่าเชื้อเห็ด *C. comatus* เจริญได้ดีที่สุดบนอาหารวุ้น MEA โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 85.2 มม. หลังจากเพาะเชื้อเป็นเวลา 7 วัน นับว่าเป็นเห็ดที่มีการเจริญเติบโตรวดเร็วดีมาก เมื่อเปรียบเทียบกับอัตราการเจริญของเส้นใย *C. comatus* กับเห็ดเพาะปลูกเศรษฐกิจชนิดอื่น ๆ พบว่าที่อุณหภูมิห้องเห็ด *C. comatus* สามารถเจริญได้รวดเร็วเท่ากับ เห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*) เห็ดนางฟ้า (*Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer) เห็ดกระด้าง (*Lentinus polychrous* Lev.) และเห็ดขอนขาว (*Lentinus aquarrosulus* Mont.) โดยเจริญเต็มงานเลี้ยงเชื้อภายในระยะเวลา 6 – 7 วัน นอกจากนี้ยังเจริญได้เร็วกว่าเห็ดกระดุม หนูหนู เป้าฮ้อ และตีนแรด เป็นต้น (วสันต์ เพชรรัตน์, 2538) อย่างไรก็ตาม เห็ด *C. comatus* เจริญช้ากว่าเห็ดโคนน้อย (*C. fimentarius* Fr.) โดย วสันต์ เพชรรัตน์ (2540) รายงานว่าเห็ดโคนน้อยเจริญเต็มงานเลี้ยงเชื้อภายใน 4 วัน และสามารถออกดอกได้ภายใน 7 วัน

สำหรับผลการศึกษาแหล่งคาร์บอนที่ดีที่สุดสำหรับเห็ด *C. comatus* คือ น้ำตาลแมนโนส และมัลโตส ตามลำดับ รองลงมาคือ ฟรุคโตส ซูโครส เซลลูโลส และแป้ง ตามลำดับ แต่จากการศึกษาของ วสันต์ เพชรรัตน์ (2540) พบว่า แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมที่สุดต่อการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดถั่ว (*C. fimentarius* Fr.) คือ อาหารที่มีแป้ง (soluble starch) เป็นแหล่งคาร์บอน อย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่าแหล่งคาร์บอนที่เห็ด *C. comatus* นำไปใช้ได้ดีส่วนใหญ่จะเป็นแหล่งคาร์บอนที่มีโครงสร้างไม่ซับซ้อนคือเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosacharide) ซึ่งอยู่ในรูปที่เห็ดสามารถนำ

ไปใช้ได้ง่ายที่สุดเพื่อสร้างเส้นใย แต่ถึงแม้ว่าน้ำตาลจะอยู่ในรูปที่เชื้อเห็ดสามารถนำไปใช้ได้ง่าย น้ำตาลก็ไม่ได้เป็นแหล่งคาร์บอนที่นิยมใช้ในการเพาะเห็ด *C. comatus* เนื่องจากหากใส่น้ำตาลลงไปมากก็จะเกิดปัญหา เช่น ความร้อนอาจไม่เหมาะสม หรือบูยหมักบูดเน่าเร็วเกินไป ดังนั้นในการเลือกวัสดุที่ใช้เพาะเห็ดจึงเน้นไปในวัสดุที่มีเซลลูโลสสูงแทน (Lin and Cang, 2528 อ้างโดย อานนท์ เอื้อตระกูล, 2541) เช่น ฟางข้าว ต้นข้าวโพด ต้นข้าวฟ่าง ชานอ้อย ต้นกล้วย ขี้เถ้า ใสนุ่น และหญ้า เป็นต้น

ผลศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด พบว่าเชื้อเห็ด *C. comatus* สามารถใช้เปปโตน และแอมโมเนียมไนเตรต เป็นแหล่งไนโตรเจนได้ดีกว่าสารชนิดอื่น ๆ หลังจากบ่มเชื้อภายใต้อุณหภูมิห้อง (28 - 30°C) เป็นเวลา 7 วัน เชื้อเห็ดสามารถเจริญได้เต็มจานเลี้ยงเชื้อ ซึ่งผลการทดลองนี้มีความขัดแย้งกับ Dijkstra (1976) ที่ได้ทดสอบพบว่าเห็ด *C. comatus* สามารถนำ แอมโมเนียมคลอไรด์ ไปใช้เป็นแหล่งพลังงานได้ดีกว่าสารอื่น ๆ ที่ทดสอบ แต่จากการศึกษาการเพาะเห็ดถั่วของ วสันต์ เพชรรัตน์ (2540) พบว่า แหล่งไนโตรเจนที่ดีที่สุดคือ ยูเรีย และแคลเซียมไนเตรต แต่ถึงอย่างไรก็สามารถสรุปได้ว่าแหล่งไนโตรเจนที่เห็ด *C. comatus* สามารถนำไปใช้ได้ดีและเหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยส่วนใหญ่จะอยู่ในรูป ammonium ต่าง ๆ ซึ่งในสภาพธรรมชาติแหล่งไนโตรเจนที่เห็ดต้องการก็จะได้มาจากมูลสัตว์ เช่น มูลม้า มูลวัวควาย หรือมูลไก่ ฉะนั้นในการเพาะเห็ดสกุลนี้จึงจำเป็นต้องมีส่วนประกอบของแหล่งไนโตรเจนคือมูลสัตว์ด้วยจะช่วยให้เห็ด *C. comatus* พัฒนาและสร้างเป็นดอกเห็ดได้ดีกว่าไม่ใส่มูลสัตว์ในวัสดุกลบผิวหน้าถุงก่อนเชื้อเห็ด

ส่วนการทดสอบหา พี เอช ที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อเห็ด *C. comatus* บนอาหาร MEA พบว่าเชื้อเห็ด *C. comatus* เจริญได้เจริญได้ดีที่สุดบนอาหารที่มี พี เอช 6 และพบว่าเส้นใยเห็ดเจริญได้ช้าลงเมื่อมีระดับ พี เอช ที่สูงขึ้น เช่นเดียวกับการทดลองในเห็ดโคนน้อยของ อานนท์ เอื้อตระกูล (2541) พบว่าเห็ดโคนน้อยสามารถเจริญได้ในอาหารที่มีระดับ พี เอช ตั้งแต่ 4.5 - 8.5 แต่ระดับที่เหมาะสมที่สุดต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดโคนน้อยคือระดับ พี เอช 7.0

สำหรับการศึกษาผลของแสงต่อการเจริญของเห็ด *C. comatus* พบว่าในสภาพที่มีแสงสว่างเชื้อเห็ดที่เลี้ยงไว้ในอาหาร MEA เจริญช้ากว่าเชื้อเห็ดที่เลี้ยงไว้ในที่มืดตลอด แสดงให้เห็นว่า แสงไม่จำเป็นต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด *C. comatus* แต่แสงยับยั้งการเจริญของเส้นใยเห็ด *C. comatus* ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของวสันต์ที่รายงานว่า แสงยับยั้งการเจริญของเส้นใยเห็ดถั่ว (*C. fimentarius* Fr.) (วสันต์ เพชรรัตน์, 2540) เห็ดหูหนู (*Auricularia auricular* (Hook.) Underw) (วสันต์ เพชรรัตน์, 2539ก) และเห็ดตีนแรด (*Tricholoma crassum* (Berk.) Sacc) (วสันต์ เพชรรัตน์, 2539ข) เป็นต้น และจากการศึกษาผลของแสงต่อการผลิตเห็ดโคนน้อยของ วรพล สุรพัฒน์ (2545)

โดยทำการทดสอบระยะเวลาในการให้แสง พบว่าการให้แสงในระยะเวลาที่แตกต่างกันในแต่ละวัน ไม่มีผลต่ออัตราการเจริญของเส้นใย แต่จะมีผลต่อการพัฒนาการของตุ่มดอกเห็ดไปเป็นดอกเห็ด เช่นเดียวกับ นิคมถลิมปิโชติพงษ์ (2543) กล่าวว่า เห็ด *Coprinus* sp. ต้องการแสงช่วยกระตุ้นให้เส้นใยชั้นที่ 2 รวมตัวกัน เพื่อเกิดเป็นดอกเห็ด ดังนั้นจะเห็นได้ว่าแสงมีอิทธิพลต่อการพัฒนาเป็นดอกเห็ดเป็นอย่างมากดังนั้นจึงจำเป็นต้องให้เห็ด *C. comatus* ได้รับแสงที่พอเหมาะไม่มากเกินไป ดอกเห็ดจึงจะสมบูรณ์ ผลผลิตสูงอีกด้วย

ในการทดสอบอุณหภูมิที่เหมาะสม พบว่าเชื้อเห็ด *C. comatus* เจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 25°C และอุณหภูมิที่เชื้อเห็ดสามารถเจริญได้ดีรองลงมาคือ 20°C และ 15°C ตามลำดับ แสดงว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด *C. comatus* คือ 15 - 25°C แต่ในอุณหภูมิที่ต่ำกว่า 10°C หรือสูงกว่า 30°C จะเป็นอันตรายต่อเส้นใยเห็ด หรือหยุดการเจริญเติบโตของเส้นใย โดยปกติแล้วอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใย การงอกของสปอร์ และการพัฒนาเป็นดอกเห็ดจะต้องการช่วงอุณหภูมิที่แตกต่างกัน โดยอุณหภูมิระหว่าง 20 - 35°C เหมาะต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด (Griffin, 1994) อุณหภูมิระหว่าง 25 - 32°C เหมาะสำหรับการงอกของสปอร์ (Cochrane, 1958) ส่วนอุณหภูมิระหว่าง 18 - 28°C เหมาะสำหรับการรวมตัวของเส้นใยเพื่อสร้างเป็นดอกเห็ด (Stamets, 1993) และอุณหภูมิระหว่าง 6 - 8°C เป็นช่วงที่เหมาะสมสำหรับการรักษาเชื้อ (Stamets and Chilton, 1983) เป็นต้น

จากการทดลองเพาะเห็ด *C. comatus* ในถุงพลาสติกโดยใช้วัสดุเพาะ 3 สูตร พบว่าหลังจากใส่เชื้อเห็ดลงไปวัสดุเพาะ เชื้อเห็ดสามารถเจริญได้ดีที่สุดในวัสดุสูตรที่ 3 ซึ่งประกอบด้วยขี้เลื่อย : ไม้สน : ข้าวฟ่างต้ม (3 : 3 : 1 โดยปริมาตร) โดยเชื้อเห็ดสามารถเจริญเต็มถุงในระยะเวลา 20.3 วัน ส่วนสูตรที่ 1 และสูตรที่ 2 เชื้อเห็ดเจริญเต็มถุงในระยะเวลา 33.9 และ 34.8 วัน ตามลำดับ ซึ่งมีเส้นใยหนาแน่นน้อยกว่าสูตรที่ 3 และเมื่อวางวัสดุเพาะสูตร 3 ทิ้งไว้ให้เส้นใยแก่อีก 30 วัน จึงทำการเปิดถุง โดยปิดผิวหน้าด้วยดินผสม (ดินร่วน : แกลบ : มูลวัว อัตราส่วน 2 : 2 : 1 โดยปริมาตร) ที่อุณหภูมิห้องโรงเรือน ผลปรากฏว่าในช่วงเดือน มีนาคม - สิงหาคม (28 - 32°C) ไม่พบการออกดอก แต่ในช่วงเดือน กันยายน - ธันวาคม (26 - 28°C) สามารถพบเห็ดได้ในระยะสร้างตุ่มดอกเท่านั้น ต่อมาจะฝ่อ เป็นสีน้ำตาล แห้ง และสลายไปไม่สามารถเจริญเป็นดอกที่สมบูรณ์ได้ ซึ่งอาจเกิดจากสภาวะแวดล้อมไม่เหมาะสม เช่น อุณหภูมิสูงเกินไป ความชื้นไม่เหมาะสม เป็นต้น (Stamets and Chilton, 1983; Stamets, 1993; Griffin, 1994)

เห็ดบางส่วนนำไปเปิดถุงในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 20°C และความชื้น 65% พบว่าระยะเวลาจากเปิดถุงรดน้ำจนกระทั่งเก็บผลผลิตได้ครั้งที่ 1 ในสูตรที่ 3 ใช้เวลาเพียง 20.6 วัน ส่วนในสูตรที่ 1 และสูตรที่ 2 สามารถเก็บผลผลิตได้ภายในระยะเวลา 22.4 และ 22.6 วัน ตามลำดับ โดย

ในสูตรที่ 3 ให้ผลผลิตเฉลี่ยสูงสุด คือ 165.6 กรัม/ถุง ส่วนสูตรที่ 2 และ 1 ให้ผลผลิตเฉลี่ยได้ต่ำรองลงมา คือ 68.8 และ 50.8 กรัม/ถุง ตามลำดับ

การพัฒนาของดอกเห็ด *C. comatus* นี้เป็นแบบ Hemiangiocarpic type (Consigny, 2003) ซึ่งการศึกษาลักษณะภายนอก เห็ด *C. comatus* นั้นเป็นเห็ดที่มีขนาดดอกใหญ่มาก เมื่อเปรียบเทียบกับเห็ดถั่ว (*C. fimentarius*) คือ มีน้ำหนักของดอกประมาณ 56 – 85 กรัม/ดอก ส่วนเห็ดถั่วมีขนาดเพียง 0.8 – 1.2 กรัม/ดอก (วสันต์ เพชรรัตน์, 2540) ในส่วนของดอกเห็ด พบว่าหมวกเห็ดมีสีขาว ถึงสีขาวครีม ด้านบนของผิวหมวกเห็ด จะมีขนเล็ก ๆ คลุมผิวบนหมวก มีแผ่นเป็นเกล็ดสีน้ำตาลอ่อน ปกคลุมอยู่ด้วยเช่นกัน หมวกเห็ดเมื่อแก่จะกลายเป็นสีดำ และสลายกลายเป็นของเหลวสีดำ ครีบอกบาง และเรียงชิดกันมาก ก้านดอกมีลักษณะเรียวยาวเชื่อมกับหมวกดอกตรงกลางหมวก มีสีขาวนวล ผิวเรียบเป็นมันวาว ส่วนบนก้านดอกมีวงแหวนสีน้ำตาล 1 วง หุ้มล้อมรอบ เนื่องจากเห็ดชนิดนี้มีลักษณะของครีบอกที่บาง และเรียงชิดกันมาก ทำให้ไม่สามารถปล่อยสปอร์ได้เหมือนกับเห็ดมีครีบอกชนิดอื่นซึ่งจะปล่อยสปอร์โดยการยิง (shut-off) ฉะนั้นเมื่อดอกเห็ดแก่จะเกิดการสลายตัวเองกลายเป็นของเหลวสีดำเป็นกระบวนการปลดปล่อยสปอร์ กระบวนการนี้เรียกว่า การย่อยสลายตัวเอง (autolysis หรือ auto - digestion) (Arora, 1986, Kues, 2000)

เนื่องจากเห็ด *C. comatus* เป็นเห็ดที่มีขนาดใหญ่ มีรสชาติอร่อย มีอัตราการเจริญของเส้นใยรวดเร็วในที่มีอุณหภูมิสูง (25 - 28°C) ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 18 - 24°C เห็ดสามารถเพาะออกดอกได้ (Stamets, 1993, Stamets และ Chilton, 1983) และยังสามารถเพาะออกดอกได้ด้วยวัสดุที่ใช้เพาะที่หาง่าย ราคาถูก เช่น ฟางข้าว จี้เลื่อย ใสนุ่น เป็นต้น ดังนั้นเห็ด *C. comatus* จึงเป็นเห็ดอีกชนิดหนึ่งที่น่าสนใจพัฒนาเป็นเห็ดเพาะปลูกเศรษฐกิจ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแถบภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยที่มีอากาศหนาวเย็น โดยอาจทำถุงก้อนเชื้อในช่วงฤดูร้อน และเปิดให้ดอกออกในช่วงฤดูหนาว