รายงานโครงการวิจัย

การพัฒนาพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทอง เพื่อให้ได้คอร์เดเซปินสูง

Varietal Improvement and Cultivation Technology of *Cordyceps militaris* for Higher Production of Cordycepin

นางสาวนันทินี ศรีจุมปา
(Miss Nantinee Srijumpa)

กรมวิชาการเกษตร

ปี พ.ศ. 2565

รายงานโครงการวิจัย

การพัฒนาพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทอง เพื่อให้ได้คอร์เดเซปินสูง

Varietal Improvement and Cultivation Technology of *Cordyceps militaris* for Higher Production of Cordycepin

นางสาวนันทินี ศรีจุมปา
(Miss Nantinee Srijumpa)

ปี พ.ศ. 2565

กรมวิชาการเกษตร

คำปรารภ

การผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองในประเทศไทยที่ผลิตโดยภาคเอกชนมีความหลากหลายในวิธีการผลิต และสายพันธุ์ยังมีความแปรปรวนสูง ส่งผลต่อผลผลิตและปริมาณสารสำคัญในผลิตภัณฑ์ ขอบเขตของโครงการวิจัยนี้ครอบคลุมการจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดและฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดของเห็ดถั่งเช่าสีทอง การผสมพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อให้ได้สายพันธุ์ใหม่ที่มีสารคอร์เดเซปินสูง ตลอดจนพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อให้ได้ผลผลิตคุณภาพและมีปริมาณสารคอร์เดเซปินสูง โดยประโยชน์ที่ได้จากการจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดและทำฐานดีเอ็นเอบาร์โค้ดของเห็ดถั่งเช่าสีทองคือจะทำให้มีการระบุสายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็วและแม่นยำ การปรับปรุงพันธุ์ด้วยวิธีผสมพันธุ์จะมีโอกาสได้สายพันธุ์ใหม่ที่มีสารคอร์เดเซปินสูง ส่วนการศึกษาวัสดุเพาะและปัจจัยอื่นๆ ที่เหมาะสมให้ได้ผลผลิตและคอร์เดเซปินสูง ตลอดจนการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองในสภาพไม่ควบคุมอุณหภูมิล้วนแล้วแต่ช่วยลดต้นทุนการผลิต จะทำให้ได้องค์ความรู้เทคโนโลยีที่เหมาะสมในการผลิตถั่งเช่าสีทองคุณภาพ สำหรับเผยแพร่แก่กลุ่มเกษตรกรและผู้สนใจต้องการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองเป็นการค้า

กรมวิชาการเกษตร

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	5
ผู้วิจัย	6
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	7
บทนำ	8
บทคัดย่อ	11
กิจกรรมที่ 1 การพัฒนาสายพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทอง	
1. การทดลองที่ 1.1 การรวบรวมและประเมินผลผลิตและลักษณะเห็ดถั่งเช่าสีทองสายพันธุ์ต่างๆ	13
2. การทดลองที่ 1.2 การจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดของเห็ดถั่งเช่าสีทอง	26
3. การทดลองที่ 1.3 การปรับปรุงพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทองที่ให้ผลผลิตและคอร์เดเซปินสูง	41
กิจกรรมที่ 2 เทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อให้ได้คอร์เดเซปินสูง	
4. การทดลองที่ 2.1 ชนิดของธัญพืชเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ให้ผลผลิตและสารคอร์เดเซปินสูง	54
5. การทดลองที่ 2.2 สูตรอาหารชนิดต่าง ๆ ต่อผลผลิตและสารคอร์เดเซปินในเห็ดถั่งเช่าสีทอง	62
6. การทดลองที่ 2.3 อิทธิพลของไฟแอลอีดีสีต่างๆต่อผลผลิตและปริมาณสารคอร์เดเซปินในเห็ดถั่งเช่าสีทอง	72
7. การทดลองที่ 2.4 เปรียบเทียบการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองในสภาพที่ควบคุมและไม่ควบคุมอุณหภูมิ	84
กิจกรรมที่ 3 การขยายผล เทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อให้ได้คอร์เดเซปินสูง	
8. กิจกรรมงานวิจัย 3.1 การฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ หลักสูตร เทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทอง	95
บทสรุปและข้อเสนอแนะ	102
บรรณานุกรม	105
ภาคผนวก	112

กรมวิชาการเกษตร

กิตติกรรมประกาศ

ขอบพระคุณหน่วยงานสนับสนุนทุนวิจัย และหน่วยงานต้นสังกัด ที่กรุณาอำนวยความสะดวกในทุกด้าน ขอบพระคุณผู้อำนวยการแผนงานวิจัย นางขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์ ผู้อำนวยการแผนงานวิจัยย่อย ดร. มัลลิกา แก้ววิเศษ และทีมงาน ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ การปรับปรุงแก้ไขวิธีดำเนินงานของโครงการให้สามารถบรรลุตัวชี้วัดตามที่กำหนด ขอบคุณผู้ร่วมงานวิจัยทุกท่านที่ช่วยปฏิบัติงานในกิจกรรมต่างๆ ร่วมทั้งผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้อง ได้แก่ คุณนิภาภรณ์ นันตา คุณธนากร แก้วแก่น เจ้าหน้าที่จากมหาวิทยาลัยราชมงคลล้านนา นางสาวทิพวรรณ ปัญญาสีห์ นางสาวพัชรินทร์ ยศปินตา นักวิชาการเกษตร คุณพวงเพชร เหลืองสุวรรณ คุณนิยม พันธุรัตน์ คุณเกตุชญา พรมเมืองดี คุณสรพงษ์ คำพร นางอุรา เนตรสุวรรณ นางฉวีวรรณ สุริยนต์ พนักงานราชการของศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ที่ช่วยปฏิบัติงานทดลองและรวบรวมข้อมูลในระหว่างปฏิบัติงานทดลอง

กรมวิชาการเกษตร

คณะผู้วิจัย

1	นางสาว	นันทินี ศรีจุมปา	ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย
	Miss	Nantinee Srijumpa	
2	นาง	สุธามาศ ณ น่าน	ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย
	Mrs.	Suthamas Na-nan	
3	นางสาว	สุปัน ไม้ดัดจันทร์	ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย
	Miss	Supun Maidatchan	
4	นางสาว	บุญปิยะธิดา คล่องแคล่ว	ศูนย์วิจัยพัฒนาการเกษตรที่สูง
	Miss	Boonpiyathida Klongkleaw	เชียงราย
5	นางสาว	อรุโณทัย ซาววา	สำนักวิจัยและพัฒนา
	Miss	Arunothai Soawa	เทคโนโลยีชีวภาพ
6	นางสาว	รัชฎาภรณ์ ทองเหม	สำนักวิจัยและพัฒนา
	Miss	Rachadaporn Thonghem	เทคโนโลยีชีวภาพ
7	นาย	อนุสรณ์ วัฒนกุล	สำนักวิจัยและพัฒนา
	Mr.	Anusorn Wattanakul	เทคโนโลยีชีวภาพ
8	นางสาว	รัตนาพร นรรัตน์	มหาวิทยาลัยราชมงคลล้านนา
	Miss	Ratanaporn Norarat	วิทยาเขตเชียงราย
9	นาย	ธรากร มณีรัตน์	มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
	Mr.	Tharakorn Maneerat	
10	นางสาว	พรพนัช มีกุล	ศูนย์วิจัยพัฒนาการเกษตรที่สูง
		Pornpanach Meekul	เชียงราย

กรมวิชาการเกษตร

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

BE (%) = Biological Efficiency คือ ค่าประสิทธิภาพการผลิต คำนวณจาก

$$\text{ค่าประสิทธิภาพการผลิต (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักสดดอกเห็ด}}{\text{น้ำหนักแห้งวัสดุเพาะ}} \times 100$$

กรมวิชาการเกษตร

บทนำ

เห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) นิยมเพาะเลี้ยงเป็นการค้ามานานในประเทศจีน เกาหลี ญี่ปุ่น ไต้หวัน มาเลเซีย สหรัฐอเมริกา และสิงคโปร์ ใช้สำหรับประกอบอาหารและแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสุขภาพ เนื่องจากมีสรรพคุณใกล้เคียงกับเห็ดถั่งเช่าทิเบต (*Ophiocordyceps sinensis*) ซึ่งขึ้นในตัวหนอนดักแด้ผีเสื้อ Lepidoptera และด้วง Coleoptera เห็ดถั่งเช่าสีทองมีสารออกฤทธิ์ที่สำคัญคือ คอร์เดเซปิน (cordycepin) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของนิวคลีโอไซด์ adenosine มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาได้แก่ ยับยั้งการเกิดเนื้องอกและเซลล์มะเร็ง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และมีสารยับยั้งการเหนี่ยวนำให้เม็ดเลือดแดงแตก และการย่อยสลายไขมัน และยังพบอีกว่าสารโพลีแซคคาไรด์ที่แยกได้จากถั่งเช่าที่เพาะเลี้ยง มีประสิทธิภาพเป็น anti-oxidant เพิ่มขึ้น 10-30 เท่า และจากผลการค้นคว้าวิจัยทางเภสัชวิทยาพบว่าเห็ดถั่งเช่า มีสารสำคัญหลายชนิดที่มีผลทางชีวภาพ ได้แก่ โมโนแซคคาไรด์ ไดแซคคาไรด์ โพลีแซคคาไรด์ (เบต้า-กลูแคน) แมนิทอล กาแลคโทส อะดีโนซีน คอร์เดเซปิน กรดคอร์เซปิก กรดอะมิโนโปรตีน สเตอรอล วิตามิน และแร่ธาตุหลายชนิด เช่น โพแทสเซียม โซเดียม แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก คอปเปอร์ แมงกานิส สังกะสี ฟอสฟอรัส และซีลีเนียม (Bhandari et al., 2010) เห็ดถั่งเช่ามีโพลีแซคคาไรด์ 3-8% ของน้ำหนักแห้ง (Li *et al*., 2006) สารนี้จะเพิ่มภูมิคุ้มกัน ต้านการเกิดเนื้องอกและเซลล์มะเร็ง (Wasser, 2002) สารคอร์เดเซปิน และกรดคอร์เซปิกในเห็ดถั่งเช่าช่วยเพิ่มพลังงานภายในร่างกาย (Dai *et al*., 2001) ในประเทศจีนมีการทดลองใช้ถั่งเช่าในคนไข้ที่เป็นมะเร็งปอดที่มีการรักษาด้วยเคมี โดยให้คนไข้รับประทานถั่งเช่าวันละ 6 กรัม พบว่า 46% ของคนไข้ที่เข้าร่วมการทดลองมีขนาดเนื้องอกลดลง มีปริมาณเม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้น (Zhu *et al*., 1998)

ในประเทศไทยเริ่มมีการทดลองเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองมานานเกือบ 10 ปี โดยทีมวิจัยของคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ และได้เผยแพร่วิธีการเพาะเลี้ยงผ่านการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการตั้งแต่ปี 2553 (ธัญญา, 2555) ทำให้มีผู้ผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริมเพื่อสุขภาพกันหลายราย จากผลตอบรับของผู้บริโภคที่ต้องการผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพจากเห็ดเพิ่มขึ้นทำให้มูลค่าของเห็ดถั่งเช่าสีทองราคาพุ่งสูงขึ้น มีผลิตภัณฑ์จำหน่ายหลายรูปแบบ เช่น ดอกเห็ดอบแห้งกิโลกรัมละ 30,000 – 70,000 บาท หรือบางรายขายกิโลกรัมละ 150,000 บาท ขายเป็นดอกสดในขวดเพาะเลี้ยง(น้ำหนัก 2.5 กรัม) ราคาขวดละ 700 - 800 บาท และขายในระยะเส้นใยนำไปบรรจุแคปซูล (วรรณภา, 2555) อย่างไรก็ตามการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองยังพบปัญหาสำคัญ ได้แก่ ความแปรปรวนทางด้านสายพันธุ์และวิธีการผลิตที่แตกต่างกันซึ่งส่งผลต่อผลผลิต ลักษณะรูปร่างของดอกเห็ดตลอดจนปริมาณคอร์เดเซปินสารสำคัญในถั่งเช่าสีทอง นอกจากนี้ผู้ประกอบการเองยังขาดความเข้าใจในการพัฒนาสายพันธุ์ ปริมาณสารออกฤทธิ์ในเห็ดถั่งเช่านั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ สายพันธุ์ วิธีการเพาะเลี้ยง สูตรอาหาร สภาพแวดล้อม อุณหภูมิ แสง และปัจจัยอื่นๆ การศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดของเห็ดถั่งเช่าสีทอง สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการระบุชนิดหรือสายพันธุ์ได้ในระยะเวลาอันสั้น การพัฒนาพันธุ์ทำได้โดยการผสมและคัดเลือกพันธุ์ การศึกษาเทคโนโลยีที่เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง ซึ่งได้แก่ วัสดุเพาะเช่นแหล่งคาร์บอนจากข้าวชนิดต่างๆและธัญพืชบางชนิด โปรตีนจากแหล่งต่างๆ รวมทั้งผลของความยาวคลื่นแสงที่ต่างๆกันต่อผลผลิตและสารสำคัญในถั่งเช่าสีทอง และความเป็นไปได้ในการผลิตถั่งเช่าในสภาพไม่ควบคุมอุณหภูมิ จะทำให้ได้เทคโนโลยีที่เหมาะสมในการผลิตถั่งเช่าคุณภาพสำหรับเผยแพร่แก่ผู้สนใจต่อไป ซึ่งการพัฒนากระบวนการผลิตถั่งเช่าสีทองเชิงพาณิชย์ สามารถต่อยอดและถ่ายทอดองค์ความรู้ให้แก่กลุ่มเกษตรกร หรือผู้ที่สนใจต้องการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อการค้า

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อพัฒนาสายพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทองโดยการผสมพันธุ์ให้ได้เห็ดถั่งเช่าสีทองสายพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตรวดเร็ว ให้ผลผลิตคุณภาพดีและมีคอร์เดเซปินสูง เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงในประเทศไทย และจัดทำดีเอ็นเอ

บาร์โค้ดและฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดของเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทอง

2. เพื่อพัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีประสิทธิภาพ ให้ผลผลิตและคอร์เดเซปินสูง

3. เพื่อขยายผลเทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ให้ผลผลิตและสารสำคัญสูง โดยถ่ายทอดองค์ความรู้ให้แก่เกษตรกรและผู้ที่สนใจ

วิธีการวิจัย

กรมวิชาการเกษตร

วิธีการวิจัยและความเชื่อมโยงภายใต้โครงการวิจัย

ประเด็นปัญหา 1. สายพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทองมีความแปรปรวนได้ง่าย
2. เกษตรกรขาดความเข้าใจในการพัฒนาสายพันธุ์ที่ดี
3. มีความแปรปรวนในเรื่องสารสำคัญของเห็ดถั่งเช่าสีทองเนื่องมาจากเทคโนโลยีการผลิต
4. ลดต้นทุนการผลิต โดยการผลิตในสภาพไม่ควบคุมอุณหภูมิ

กิจกรรมที่ 1
การพัฒนาสายพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทอง
(2 ปี 2563-2564)

การทดลองที่ 1.1 การรวบรวมและประเมินผลผลิตและลักษณะเห็ดถั่งเช่าสีทองสายพันธุ์ต่างๆ
(1 ปี 2563) ศวส.ชร.และ มฟล.

การทดลองที่ 1.2 การจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดของเห็ดถั่งเช่าสีทอง
(1 ปี 2563) ศวส.ชร. และ สทช.

การทดลองที่ 1.3 การปรับปรุงพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทองที่ให้ผลผลิตและคอร์เดเซปินสูง
(2 ปี 2563-2564) ศวส.ชร., สทช. และ มฟล.

กิจกรรมที่ 2
เทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อให้ได้คอร์เดเซปินสูง (2 ปี 2563-2564)

การทดลองที่ 2.1 ชนิดของธัญพืชเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองที่ให้ผลผลิตและสารคอร์เดเซปินสูง

การทดลองที่ 2.2 สูตรอาหารชนิดต่างๆ ต่อผลผลิตและสารคอร์เดเซปินในเห็ดถั่งเช่าสีทอง
(1 ปี 2563) ศวส.ชร. และ มฟล.

การทดลองที่ 2.3 อิทธิพลของไฟแอลอีดีสีต่างๆ ต่อผลผลิตและสารคอร์เดเซปินในเห็ดถั่งเช่าสีทอง (1 ปี 2563) ศวส.เชียงราย, มทร.ล้านนา(เชียงราย) และ มฟล.

การทดลองที่ 2.4 เปรียบการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองในสภาพที่ควบคุมและไม่ควบคุมอุณหภูมิ
(2 ปี 2563-2564) ศวส.ชร., ศวส.ชร.(ดอยตุง), ศวพ.ชร.(วาวี) และ มฟล.

กิจกรรมที่ 3
การขยายผล เทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อให้ได้คอร์เดเซปินสูง

3.1 การฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ (2564) ศวส.ชร. เกษตรกร ชุมชน ภาครัฐ เอกชน

ผลลัพธ์ 1. ได้สายพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีผลผลิตสูง สารคอร์เดเซปินสูง อย่างน้อย 1 สายพันธุ์
2. ข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดของเห็ดถั่งเช่าสีทอง เพื่อใช้ในการตรวจสอบสายพันธุ์ที่รวดเร็ว และแม่นยำ
3. ได้เทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เหมาะสม ให้ผลผลิตสูง และสารคอร์เดเซปินสูง

กรมวิชาการเกษตร

งานที่กรมวิชาการเกษตรทำ

บูรณาการร่วมกับหน่วยงานภายนอก คือ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา เกษตรกร ชุมชน หน่วยงานภาครัฐ และเอกชนที่ผลิตเห็ดถั่งเช่า

บทคัดย่อ

ผลผลิตและปริมาณสารออกฤทธิ์ในเห็ดถั่งเช่าสีทองนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ สายพันธุ์ วิธีการเพาะเลี้ยง สูตรอาหาร แสง และปัจจัยอื่นๆ โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดของเห็ดถั่งเช่าสีทอง การพัฒนาพันธุ์โดยการผสมและคัดเลือกพันธุ์ พัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีประสิทธิภาพ และขยายผลเทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ให้ผลผลิตและสารสำคัญสูง มีผลการทดลองดังนี้ DNA ของเห็ดถั่งเช่าสีทองจากแหล่งต่างๆ 7 ไอโซเลท ทดสอบกับไพรเมอร์สากลจำนวน 4 คู่ พบว่า คู่ไพร์เมอร์ ITS1-UM2+ITS2-UM2 และ V9U+V9R สามารถให้แถบดีเอ็นเอเพียง 1 แถบ มีประสิทธิภาพในการจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ด เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม พบความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไดท์ในยีน *ITS-UM* ตำแหน่งที่ 43 ในเห็ดถั่งเช่าตัวอย่างรหัส O จากเบส A เป็นเบส G สำหรับยีน *V9* ไม่พบความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ ในการจัดทำแผนผังพันธุกรรมทั้งสองยีนไม่แสดงค่าระยะห่างทางพันธุกรรม จากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่รวบรวมได้ 11 สายพันธุ์ เมื่อนำมาเพาะทดสอบผลผลิตและวิเคราะห์สารคอร์เดเซปินสามารถคัดเลือก 5 สายพันธุ์ใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์และผสมพันธุ์โดยใช้เส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว ได้ลูกผสมที่ผ่านการประเมินผลผลิตและสารคอร์เดเซปินจำนวน 2 สายพันธุ์ เทคโนโลยีการผลิตเพื่อให้ได้ผลผลิตและสารคอร์เดเซปินสูงประกอบไปด้วย การใช้ลูกเดือยเป็นวัสดุเพาะ โดยเติมอาหารสูตร MMN (Melin Norkans medium) การให้แสงไฟจากหลอดแอลอีดีสีเขียวในช่วงกระตุ้นการเกิดดอกเห็ด นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทองในสภาพไม่ควบคุมอุณหภูมิได้บนพื้นที่สูงตั้งแต่ 900 เมตรจากระดับน้ำทะเล พบว่าถ้าเพาะในช่วงตุลาคม-กุมภาพันธ์จะให้ผลผลิตใกล้เคียงกับการเพาะในห้องควบคุมอุณหภูมิ มีการขยายผลงานวิจัย ด้านเทคโนโลยีการผลิตถั่งเช่าสีทองเพื่อให้ได้คอร์เดเซปินสูงผ่านการการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการและการฝึกอบรมออนไลน์

กรมวิชาการเกษตร

Abstract

Yield and active compound in *Cordyceps militaris* depend on many factors including varieties, media and growing condition. This project aimed to study on DNA barcoding of *C. militaris*, varietal improvement, cultivation technology and technology transferring. The results of the study were as follow; DNA of seven isolates of *Cordyceps militaris* were tested with four pairs of universal primers. ITS1-UM2+ITS2-UM2 and V9U+V9R gave better single DNA strand. Genetic relationship was analyzed and it was found that in isolate O there was a substitution of A by G at 43 position of *ITS-UM* gene. There was no difference of nucleotide sequence from V9 gene. The phylogenetic analysis indicated that there is no genetic distance within seven isolates of *C. militaris*. Varietal improvement program was done by collecting 11 isolates from different places and grew on media to evaluate yield and cordycepin content. Five isolates were selected as parents and mono-mono crossing technique was applied. Two hybrids which high yield and high content of cordycepin were selected. Cultivation technology for high yield and high content of cordycepin consist of using millet as substrate, adding MMN (Melin & Norkans medium) in millet and during stroma development apply green LED light. Moreover, *C. militaris* cultivation can be grown at above 900 MASL in uncontrolled condition during October - February. Cultivation technology was transferred through a workshop training course and online training course.

กรมวิชาการเกษตร

กิจกรรมที่ 1
การพัฒนาสายพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทอง
Varietal Improvement of *Cordyceps militaris*

การทดลองที่ 1.1 การรวบรวมและประเมินผลผลิตและลักษณะเห็ดถั่งเช่าสีทองสายพันธุ์ต่างๆ
Collection and Productivity Evaluation of *Cordyceps militaris*

สุธามาศ ณ น่าน นันทินี ศรีจุมปา อนุสรณ์ วัฒนกุล
ธรากร มณีรัตน์
Suthamas Na-nan Nantinee Srijumpa Anusorn Wattanakul
Tharakorn Maneerata

คำสำคัญ (Keywords)
การรวบรวม การประเมิน เห็ดถั่งเช่าสีทอง
Collection Evaluation *Cordyceps militaris*

บทคัดย่อ

การรวบรวม เปรียบเทียบลักษณะและประเมินผลผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทอง ที่รวบรวมจากแหล่งผลิตในประเทศจำนวน 11 สายพันธุ์ ได้แก่ CR1, CR2, CR3, CR4, CR5, CM1, CM2, B, O, NT และ SP ดำเนินงานที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงรายระหว่างเดือนตุลาคม 2562 ถึง กันยายน 2563 มีวัตถุประสงค์เพื่อรวบรวม ประเมินผลผลิตและลักษณะของเห็ดถั่งเช่าสีทอง คัดเลือกเห็ดที่มีลักษณะให้ผลผลิตสูง และมีปริมาณสารคอร์เดเซปินและอะดีโนซีนสูง สำหรับใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ โดยศึกษาลักษณะการเจริญเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองบนอาหาร PDA บ่มเชื้อ 21 วัน ที่อุณหภูมิ 20-22 องศาเซลเซียส พบว่าสายพันธุ์ CR4 มีการเจริญของเส้นใยรวดเร็วที่สุด ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 8.93 เซนติเมตร รองลงไปได้แก่ B ขนาดโคโลนี 8.83 เซนติเมตร เห็ดที่มีอัตราการเจริญของเส้นใยอันดับ 3 คือ CR1 และ CR5 ขนาดโคโลนี 8.27 เซนติเมตร เท่ากัน การเจริญของเส้นใยและดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองซึ่งเพาะเลี้ยงด้วยข้าวเติมสารละลาย MMN พบว่า CR5 มีน้ำหนักผลผลิตดอกสดเฉลี่ยสูงสุด 20.40 กรัม/ขวด รองลงไปได้แก่ CM2 และ NT ผลผลิตดอกสดเฉลี่ย 20.03 และ 19.77 กรัม/ขวด ตามลำดับ ในขณะที่ NT ให้น้ำหนักดอกแห้งเฉลี่ยสูงสุด 4.48 กรัม/ขวด รองลงไปได้แก่ CR5 และ CR3 ดอกแห้งเฉลี่ย 3.60 กรัม/ขวด และ 3.17 กรัม/ขวด ตามลำดับ เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพการผลิตปรากฏว่า CM2 ให้ค่า % BE สูงสุด รองลงไปได้แก่ CR5 และ NT ผลวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในดอกเห็ดอบแห้ง ใช้วิธี HPLC สายพันธุ์ให้สารคอร์เดเซปินสูงที่สุด 3 อันดับแรกได้แก่ CR1, CR3 และ CM2 สำหรับอะดิโนซีน พบใน CM1 สูงสุด รองลงไปได้แก่ CR 1 และ CM2

กรมวิชาการเกษตร

Abstract

Characteristic and Productivity Evaluation of *Cordyceps militaris* was done by collecting 11 isolates from different places in Thailand. The experiment was carried out at Chiangrai Horticulture Research Center during October 2019 – September 2020. The mycelium growth of 11 isolates are CR1, CR2, CR3, CR4, CR5, CM1, CM2, B, O, NT and SP were studied on PDA medium at 20-22 ℃ for 21 days. It was found that isolate CR4 had the fastest growth with 8.93 cm of colony diameter, followed by isolate B which had 8.83 cm of colony size was 8.27 cm. The third highest mycelium growths were CR1 and CR5. Both of the colony size was 8.27 cm. To evaluation yield and cordycepin content by grown on jasmine rice added with MMN media. The results showed that CR5 had the highest fresh yield with 20.40 g/bottle, followed by CM2 and NT had 20.03 and 19.77 g/bottle, respectively. While the highest dried weight of yield is 4.48 g/bottle was isolate NT, followed by CR5 and CR3, with 3.60 g/bottle and 3.17 g/bottle, respectively. The percentage of Biological Efficiency (%BE) was found that isolate CM2 gave the highest %BE, followed by CR5 and NT. Quantities of cordycepin content were analyzed using HPLC method. CR1 was the highest cordycepin content in dried yield, followed by CR3 and CM2. Isolate CM1 was found the highest adenosine content, followed by CR 1 and CM2. Five isolates are CR1 CR3 CR5 CM1 and CM2 which high yield and high content of cordycepin were selected as parents for varietal improvement program in next experiment on this project.

กรมวิชาการเกษตร

บทนำ

เห็ดถั่งเช่า เป็นเชื้อรากินแมลง (entomofungus) อยู่ในกลุ่ม Ascomycetes ในประเทศจีนใช้เป็นสมุนไพรรักษาโรคและเป็นอาหารเสริมสุขภาพที่มีราคาแพงมาก โดยเฉพาะเห็ดถั่งเช่าธิเบต หรือ ถั่งเช่าแท้ (*Ophiocordyceps sinensis* ชื่อเดิม *Cordyceps sinensis* ภาษาจีนเรียกว่า ตงฉงเซี่ยเฉ่า (Dong chong xia cao) เชื้อราในสกุล Cordyceps นี้มีรายงานว่ามีมากกว่า 680 species โดยพบใน 6 ทวีป ที่มีลักษณะภูมิประเทศและภูมิอากาศแตกต่างกัน Cordyceps หลายชนิดนำมาเพาะเลี้ยงเพื่อใช้เป็นยาและอาหารเสริมได้แก่ *C. sinensis, C. militaris, C. sobolifera*, *C. subsessilus, C. ophiogglossoides* เนื่องจากถั่งเช่าในธรรมชาติหายาก และมีราคาสูง (Holiday et al. 2004) สำหรับเห็ดถั่งเช่าสีทอง หรือ Chinese golden grass (*Cordyceps militaris*) เป็นเห็ดตระกูลเดียวกับถั่งเช่าทิเบต เกิดจากการเพาะเลี้ยงดอกและเส้นใยเห็ด ซึ่งปกติเจริญได้ที่อุณหภูมิ 10-28 องศาเซลเซียส ผลวิจัยทางเภสัชวิทยาพบว่าเห็ดถั่งเช่ามีสารสำคัญหลายชนิด ได้แก่ โมโนแซคคาไรด์ ไดแซคคาไรด์ โพลีแซคคาไรด์ (เบต้า-กลูแคน) แมนิทอล กาแลคโทส อะดีโนซีน คอร์เดเซปิน กรดคอร์เซปิก กรดอะมิโนโปรตีน สเตอรอล วิตามิน และแร่ธาตุหลายชนิด เช่น โพแทสเซียม โซเดียม แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก คอปเปอร์ แมงกานิส สังกะสี ฟอสฟอรัส และซีลีเนียม (Bhandari et al., 2010) ถั่งเช่ามีโพลีแซคคาไรด์ 3-8% ของน้ำหนักแห้ง (Li et al., 2006) สารนี้จะเพิ่มภูมิคุ้มกัน ต้านการเกิดเนื้องอกและเซลล์มะเร็ง (Wasser, 2002) สารคอร์เดเซปินและกรดคอร์เซปิกช่วยเพิ่มพลังงานภายในร่างกาย (Dai et al., 2001)

การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง แบ่งเป็น 2 ระบบคือเลี้ยงในอาหารเหลว (liquid fermentation) ใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงไม่นานสามารถเก็บเกี่ยวเส้นใยของถั่งเช่าได้ แต่สารสำคัญหลายชนิดจะถูกทิ้งไปพร้อมกับอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง และระบบเลี้ยงในอาหารแข็ง (solid-medium) ใช้เมล็ดธัญพืชต่างๆ เป็นวัสดุเพาะเลี้ยง ได้แก่ ข้าว ข้าวสาลี ข้าวไรน์ ข้าวฟ่าง สารสำคัญจะอยู่ในวัสดุเพาะที่เก็บเกี่ยวไปพร้อมกับเห็ดถั่งเช่า ในประเทศไทยได้มีการศึกษาวิธีเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าและได้เผยแพร่วิธีการเพาะเลี้ยงผ่านการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการโดยทีมวิจัยของคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ มานานกว่า 10 ปี (ธัญญา, 2553) เนื่องจากเห็ดถั่งเช่าสีทองมีราคาสูงและเป็นเห็ดสมุนไพรค่อนข้างใหม่สำหรับประเทศไทย การผลิตมักประสบปัญหาสายพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทองมีความแปรปรวนสูง และให้ผลผลิตที่ไม่สม่ำเสมอ จึงควรรวบรวม เปรียบเทียบ ประเมินผลผลิตและลักษณะเห็ดถั่งเช่าสีทองสายพันธุ์ต่างๆจากแหล่งผลิตภายในประเทศเพื่อของเห็ดถั่งเช่าสีทอง ดังนั้นการทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อรวบรวมประเมินผลผลิตและลักษณะของเห็ดถั่งเช่าสีทอง ประเมินศักยภาพคัดเลือกเห็ดที่มีคุณภาพให้ผลผลิตและมีสารสำคัญสูง ใช้ประโยชน์ต่อยอดในด้านการปรับปรุงพันธุ์และเผยแพร่แก่กลุ่มเกษตรกรหรือผู้ที่สนใจ

ระเบียบวิธีการวิจัย

- อุปกรณ์

1. สายพันธุ์เชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทองที่รวบรวมจากแหล่งผลิตต่างๆ ภายในประเทศ
2. จานแก้วเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ด, หลอดทดลอง, ขวดแก้วเพาะเลี้ยงขนาด 16 ออนซ์พร้อมฝา
3. ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar Flow) และอุปกรณ์แยกเลี้ยงเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทองในห้องปฏิบัติการ
4. อาหารแยกเชื้อบริสุทธิ์ เพิ่มปริมาณ และเพาะเลี้ยงเห็ดได้แก่ อาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) Potato Dextrose Broth (PDB) และอาหาร Modified Melin Norkans Medium (MMN) และอาหารแข็งใช้เพาะเลี้ยงเห็ดคือข้าวหอมมะลิ
5. ตู้อบฆ่าเชื้ออุปกรณ์เครื่องแก้ว ตู้อบแห้งชนิดเป่าลมร้อน และหม้อนึ่งความดันไอน้ำ
6. สารเคมีที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเห็ด และสารเคมีที่ใช้วิเคราะห์สารสำคัญ

กรมวิชาการเกษตร

7. อุปกรณ์บันทึกข้อมูล เช่น กล้องถ่ายภาพ เครื่องวัดความเข้มของสีดอกเห็ด เวอร์เนีย

- วิธีการทดลอง

1) รวบรวมเห็ดถั่งเช่าสีทองสายพันธุ์ต่างๆ จากแหล่งผลิตภายในประเทศ ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเห็ดแต่ละสายพันธุ์ด้วยกล้องถ่ายภาพ
2) นำดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีลักษณะดี ไปแยกเชื้อให้บริสุทธิ์บนอาหารวุ้น PDA หรือ MMN บ่มเชื้อไว้ในห้องมืด อุณหภูมิ 20 - 22 องศาเซลเซียส นาน 7-10 วัน ให้เส้นใยของเห็ดเจริญบนอาหารวุ้น จึงเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ไว้ในหลอดอาหารเอียง PDA
3) เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองบนอาหารวุ้น PDA และการให้ผลผลิตของเห็ดแต่ละสายพันธุ์ โดยการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารแข็งคือ ข้าวหอมมะลิ 40 กรัมเติมสารละลาย MMN 40 มิลลิลิตรในขวดแก้วขนาด 16 ออนซ์
4) นึ่งฆ่าเชื้ออาหารแข็งด้วยหม้อนึ่งไอน้ำความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 40 นาที รอให้อาหารเย็นลงใช้เลี้ยงเส้นใยเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทอง จากนั้นบ่มเชื้อไว้ในที่มืดเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ภายในห้องควบคุมอุณหภูมิ 20 - 22 องศาเซลเซียส เมื่อเส้นใยเจริญเต็มอาหาร นำไปวางใต้แสงไฟความเข้ม 600 - 1000 ลักซ์ 12 ชั่วโมง/วันเพื่อกระตุ้นการสร้างดอกเห็ดเป็นเวลา 6 สัปดาห์
5) คัดเลือกเห็ดสายพันธุ์ที่มีศักยภาพอย่างน้อย 3 สายพันธุ์ ใช้เกณฑ์การคัดเลือกดังนี้ เส้นใยเห็ดมีการเจริญเติบโตรวดเร็ว มีเส้นใยหนาแน่น ให้ผลผลิตดอกเห็ดสูง ให้ดอกหรือสโตรมาที่มีสีส้มทองสดใส ขนาดสม่ำเสมอ ไม่มีการแตกแขนงที่ส่วนปลายของหมวกดอก และสารสำคัญสูงได้จากการประเมินปริมาณสารคอร์เดเซปิน และอะดีโนซีนซึ่งวิเคราะห์จากดอกเห็ดอบแห้งบดผงละเอียด
6) เก็บรักษาเชื้อเห็ดสายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกไว้ด้วยวิธีการที่เหมาะสม สำหรับใช้ในการปรับปรุงพันธุ์เพื่อสร้างลูกผสมในขั้นตอนต่อไป

- การบันทึกข้อมูล ได้แก่ ข้อมูลการเจริญเติบโตของเส้นใยบนอาหารวุ้น PDA ลักษณะของดอกเห็ด ขนาดดอกเห็ดหรือสโตรมา (ความกว้างและความยาว) น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งของผลผลิต และอาหารเพาะเลี้ยง ปริมาณสารคอร์เดเซปิน อะดีโนซีน ข้อมูลสภาพแวดล้อมที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง

- เวลาและสถานที่ เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด กันยายน 2563

สถานที่ทำการทดลอง ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ต.ป่าอ้อดอนชัย อ.เมือง จ.เชียงราย

กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและอภิปราย

ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและการเจริญเติบโตเส้นใยของเห็ดถั่งเช่าสีทอง รวบรวมได้จากแหล่งผลิตทั้งหมด 11 สายพันธุ์ได้แก่จังหวัดเชียงราย 5 สายพันธุ์คือ CR1, CR2, CR3, CR4 และ CR5 แหล่งผลิตจังหวัดเชียงใหม่ 4 สายพันธุ์ CM1, CM2, B และ O กรุงเทพฯ 1 สายพันธุ์คือ SP และนนทบุรี จำนวน 1 สายพันธุ์ ได้แก่ NT (ภาพที่ 1.1.1.1) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของดอกเห็ดตัดเป็นชิ้นตามความยาวขนาด 0.5 ซม. บนอาหารวุ้น PDA บ่มในที่มืดอุณหภูมิ 20 - 22 องศาเซลเซียส ผลการทดลองหลังจากบ่มเชื้อได้ 7 วัน เส้นใยของเห็ดถั่งเช่าสีทองสายพันธุ์ B มีการเจริญเติบโตเร็วที่สุด วัดขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 3.37 ซม. รองลงไปได้แก่ CR4 และ CM1 เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 3.27 ซม. เท่ากัน เมื่อบ่มเชื้อ 14 วันปรากฏว่า CR4 มีอัตราการเจริญเร็วกว่าสายพันธุ์อื่น ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยได้เท่ากับ 6.60 ซม. เมื่อบ่มเชื้อครบ 21 วัน ผลการทดลองเป็นไปในทิศทางเดียวกันคือ CR4 ยังคงมีอัตราการเจริญเร็วที่สุดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี 8.93 ซม. รองลงไปได้แก่ B, CR1 และ CR5 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี 8.83 และ 8.27 ซม. ตามลำดับ ในขณะที่ SP มีการเจริญของเส้นใยช้าที่สุดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 7.60 ซม. (ตารางที่ 1.1.1.1) เมื่อพิจารณาลักษณะของ

เส้นใยและโคโลนีของเห็ดที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบว่ามีลักษณะสีที่แตกต่างกันทำให้สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มคือ

กลุ่มที่ 1 โคโลนีสีเหลืองค่อนข้างเข้ม เรียงลำดับตามระดับความเข้มสี ได้แก่ CR2, CM1, CM2, CR1, CR5 และ CR4

กลุ่มที่ 2 โคโลนีสีเหลืองอ่อนถึงขาวครีม ได้แก่ NT, CR3, B, O และ SP ความละเอียดและหนาแน่นของเส้นใย พบว่า O มีเส้นใยที่ละเอียดหนาแน่นมากที่สุด รองลงไปคือ CR3 และ SP (ภาพที่ 1.1.1.2)

เปรียบเทียบการเจริญของเส้นใย และลักษณะการสร้างสโตรมา หรือดอกของเห็ดถั่งเช่าสีทองจำนวน 11 สายพันธุ์ด้วยอาหารแข็งซึ่งเป็นข้าวหอมมะลิเติมสารละลาย MMN พบว่าขนาดของดอกเห็ดแต่ละสายพันธุ์มีความแตกต่างกัน โดย CR2 มีความกว้างดอกมากที่สุด 6.72 ซม. รองลงไปได้แก่ CR1 และ CM2 ความกว้างดอก 5.47 และ 5.30 ซม. ตามลำดับ สายพันธุ์ที่ความกว้างดอกน้อยที่สุดคือ O และ CR4 ด้านความยาวของดอกพบว่า O มีความยาวมากที่สุด 6.32 ซม. มีลักษณะผอม และยาวกว่าสายพันธุ์อื่น รองลงไปคือ NT และ CM1 ความยาวดอก 5.47 และ 4.64 ซม. ตามลำดับ เมื่อนับจำนวนดอกเห็ดที่พัฒนาจากเส้นใย CR4 มีการสร้างดอกเฉลี่ยมากที่สุด 33.2 ดอก/ขวด รองลงไปได้แก่ O มีจำนวนดอกเห็ด 29.6 ดอก/ขวด B และ NT มีดอกเห็ดจำนวน 22.40 ดอก/ขวดเท่ากัน ในขณะที่ SP สร้างเฉพาะเส้นใยสีขาวปนเหลืองบนอาหารแข็งแต่ไม่สามารถพัฒนาเป็นดอกเห็ดที่สมบูรณ์ สำหรับการวัดค่าสีของดอกเห็ดวัดด้วยเครื่อง FRU Model WR-18 ระบบ CIELAB ค่าสี L* a* และ b* ปรากฏว่ามีค่า L* ที่สูงแสดงว่าดอกมีสีจาง ได้แก่ CM2, CR4 และ CR3 เห็ดสายพันธุ์ที่มีค่า a* มากแสดงว่ามีเฉดสีแดงมาก 3 อันดับแรกคือ CR1, O และ CM2 ส่วนค่า b* เป็นเฉดสีเหลืองมากได้แก่ CM1, CR1 และ CR2 (ตารางที่ 1.1.1.2) สำหรับน้ำหนักผลผลิตของเห็ดถั่งเช่าสีทองปรากฏว่า สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตเฉลี่ยสูงสุดคือ CR5 มีน้ำหนักผลผลิตดอกสดเฉลี่ยสูงสุด 20.40 กรัม/ขวด รองลงไปได้แก่ CM2 ผลผลิตดอกสดเฉลี่ย 20.03 กรัม/ขวด และ NT ดอกสดเฉลี่ย 19.77 กรัม/ขวด น้ำหนักผลผลิตดอกแห้งเฉลี่ยสูงสุด ได้แก่ NT มีผลผลิตดอกแห้ง 4.48 กรัม/ขวด รองลงไปได้แก่ CR5 และ CR3 ผลผลิตดอกแห้งเฉลี่ย 3.60 กรัม/ขวด และ 3.17 กรัม/ขวด ตามลำดับ เมื่อพิจารณาน้ำหนักของอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง SP ให้น้ำหนักสดอาหารมากที่สุด 86.72 กรัม/ขวด เนื่องจากระหว่างการบ่มเชื้อเห็ดมีการสร้างเส้นใยเจริญขึ้นปกคลุมอาหารเพาะเลี้ยงอย่างหนาแน่นมากกว่าสายพันธุ์อื่นๆ โดยเส้นใยไม่สามารถพัฒนาเป็นดอกเห็ดที่สมบูรณ์ รองลงไปได้แก่ O และ CR5 ให้น้ำหนักสดอาหาร 86.54 และ 70.14 กรัม ตามลำดับ สำหรับน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของอาหารเพาะเลี้ยง พบว่า 3 อันดับแรกที่มีน้ำหนักมากที่สุดคือ CR4, SP และ CR5 เท่ากับ 26.72, 26.08 และ 25.60 กรัม/ขวด ตามลำดับ (ตารางที่ 1.1.1.3)

เปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิต (Biological Efficiency, BE(%)) ของเห็ดถั่งเช่าสีทองปรากฏว่า CM2 ให้ค่า BE(%) สูงสุด 88.90% รองลงไปได้แก่ CR5 และ NT ให้ค่าประสิทธิภาพการผลิตเท่ากับ 79.69 และ 78.29% ตามลำดับ ในขณะที่ O และ B มีค่าประสิทธิภาพการผลิตต่ำกว่าสายพันธุ์อื่น

การวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญทั้ง 2 ชนิดได้แก่ คอร์ไดเซปิน และอะดิโนซีน จากดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้งบดเป็นผงละเอียด ด้วยวิธี High-Performances Liquid Chromatography (HPLC) วิเคราะห์โดยใช้เครื่อง Agilent Technologies 1260 Infinity II ที่ศูนย์นวัตกรรมสมุนไพรครบวงจร มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง จังหวัดเชียงราย พบปริมาณสารคอร์เดเซปินสูงสุด 31.27 กรัม/กิโลกรัม ในเห็ดสายพันธุ์ CR1 รองลงไปได้แก่ CR3 และ CM2 ซึ่งมีสาร 25.24 และ 23.46 กรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณสารอะดิโนซีนสูงที่สุดเท่ากับ 10.44 กรัม/กิโลกรัม ในสายพันธุ์ CM1 รองลงไปได้แก่ CR1 และCM2 วัดค่าได้ 10.08 และ 9.71 กรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 1.1.1.4) การคัดเลือกเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ใช้เกณฑ์ดังนี้ เส้นใยสามารถเจริญเติบโตรวดเร็ว มีความหนาแน่น ให้ผลผลิตดอกเห็ดสูง ดอกมีสีส้มทองสดใส ขนาดสม่ำเสมอไม่แตกแขนงที่ส่วนปลายของหมวกดอก รวมทั้งมีปริมาณสารคอร์เดเซปิน และอะดิโนซีนสูง ซึ่งจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า

กรมวิชาการเกษตร

เชื้อที่มีอัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยสูงสุดบนอาหารวุ้น 3 อันดับแรกได้แก่ CR4, B และ CR5 ส่วนที่ให้ผลผลิตดอกเห็ดสดและอบแห้งสูงสุด ได้แก่ CR5, NT และ B แต่เมื่อพิจารณาปริมาณสารสำคัญในผลผลิตดอกเห็ดสายพันธุ์ที่ให้สารคอร์เดเซปินสูงที่สุด 3 อันดับแรกได้แก่ CR1 CR3 และ CM2 ส่วนสารอะดิโนซีนพบในสายพันธุ์ CM1 สูงสุด รองลงไปได้แก่ CR 1 และ CM2 ดังนั้นจึงเลือก 5 สายพันธุ์คือ CR1, CR3, CR5, CM1 และ CM2 ไปใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในการปรับปรุงพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทอง

ตารางที่ 1.1.1.1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยและลักษณะการเจริญของโคโลนีเห็ดถั่งเช่าสีทองจำนวน 11 สายพันธุ์ อายุ 7, 14 และ 21 วัน บนอาหารเพาะเลี้ยง PDA

สายพันธุ์	ขนาด Ø โคโลนีเฉลี่ย (ซม.)[1]			ลักษณะเส้นใย/โคโลนี
	7 วัน	14 วัน	21 วัน	
CR 1	2.93 bc[2]	5.83 c-e	8.27 b	เส้นใยละเอียดสีขาวครีมปนเหลืองอ่อน เส้นใยเจริญเป็นวงซ้อนกันรอบโคโลนี
CR 2	2.50 d	5.40 ef	7.93 b-d	เส้นใยละเอียดฟูสีเหลืองอ่อน บริเวณตรงกลางมีสีเข้มกว่าขอบโคโลนี เส้นใยเจริญเป็นวงซ้อนกัน
CR 3	2.73 cd	5.53 de	7.73 cd	เส้นใยละเอียดมากสีขาวครีมกลางโคโลนี ขอบสีเหลืองอ่อน เจริญเป็นวงซ้อนกันอย่างหนาแน่น
CR 4	3.27 ab	**6.60 a**	**8.93 a**	เส้นใยสีขาวปนเหลืองอ่อนค่อนข้างฟู เจริญแผ่ออกเป็นวงซ้อนกันอย่างชัดเจนรอบโคโลนี
CR 5	2.97 bc	5.97 cd	8.27 b	เส้นใยละเอียดสีเหลืองอ่อน เจริญเป็นวงซ้อนกันรอบโคโลนีอย่างชัดเจน ขอบโคโลนีเรียบ
CM 1	3.27 ab	6.00 bc	8.00 b-d	เส้นใยละเอียดสีขาวครีม ขอบโคโลนีมีสีเหลืองอ่อน เส้นใยเจริญเป็นวงซ้อนๆ กันรอบโคโลนี
CM 2	3.23 ab	6.00 bc	8.03 bc	เส้นใยกลางโคโลนี สีขาวค่อนข้างหยาบ ส่วนขอบเส้นใยสีเหลืองอ่อนเจริญเป็นวงซ้อนกันชัดเจน
B	**3.37 a**	6.40 ab	**8.83 a**	เส้นใยค่อนข้างหยาบกว่าไอโซเลทอื่น สีขาวครีม บริเวณขอบโคโลนีเรียบ
O	2.47 d	5.00 f	7.70 cd	เส้นใยละเอียดมากฟูสีขาวครีม ขอบโคโลนีสีขาวอ่อนกว่า เจริญเป็นวงซ้อนกันไม่ชัดเจน
NT	3.20 ab	5.77 c-e	8.10 bc	เส้นใยสีขาวครีม เจริญเป็นวงซ้อนกัน ขอบโคโลนีเป็นสีเหลืองอ่อนขอบค่อนข้างเรียบ
SP	3.00 a-c	5.53 de	7.60 d	เส้นใยมีสีขาวครีมค่อนข้างหยาบ เจริญค่อนข้างช้า โคโลนีแบนราบติดผิวหน้าของอาหาร
F-test	**	**	**	
C.V. (%)	6.7	4.2	2.6	

[1] ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเห็ดถั่งเช่าสีทองเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% โดยวิธี DMRT

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 1.1.1.2 ค่าเฉลี่ยความกว้างดอก ความยาวดอก และจำนวนดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง 11 สายพันธุ์ เพาะเลี้ยงบนข้าวหอมมะลิผสมอาหาร MMN บ่มเชื้อในห้องควบคุมอุณหภูมิ 20 - 22 °C

ไอโซเลท	ความกว้างดอก (ซม.)[1]	ความยาวดอก (ซม.)	จำนวนดอก/ขวด	สีของดอกเห็ด[4] ค่า L*	a*	b*
CR1	5.30b[2]	2.82d	20.8bc	37.5	**55.4**	84.2
CR2	**6.72a**	3.78c	18.0c	42.6	42.2	81.0
CR3	3.54de	4.44bc	17.4c	43.8	36.4	75.2
CR4	2.54f	4.04bc	33.2a	44.4	41.3	69.0
CR5	5.47b	3.84bc	18.0c	37.9	46.5	80.8
CM1	4.13cd	4.64b	17.2c	39.8	49.6	85.7
CM2	4.97bc	2.88d	14.2c	44.8	51.2	72.7
B	3.10ef	4.40bc	22.4bc	36.8	50.6	74.4
O	2.54f	6.32a	29.6ab	40.9	52.9	78.5
NT	2.75ef	5.74a	22.4bc	35.4	44.9	78.0
SP[3]	-	-	-		-	
F-test	**	**	**		-	
C.V. (%)	16.9	13.3	31.2		-	

[1] วัดความกว้าง และความยาวดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญบนอาหารเพาะเลี้ยงทุกดอก จำนวน 5ขวด/ไอโซเลท

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกัน แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ด้วยวิธี DMRT

[3] เห็ดถั่งเช่าสีทองสายพันธุ์ SP สร้างเฉพาะเส้นใยไม่มีการพัฒนาเป็นดอกเห็ดบนอาหารเพาะเลี้ยง

[4] ค่าสีดอกเห็ดเฉลี่ยจาก 20 จุดวัดด้วยเครื่องวัดสี FRU Model WR-18 ระบบ CIELAB ค่าสี L* a* และ b*

โดยค่า L* กำหนดค่าความสว่าง ค่า L* ที่เข้าใกล้ 100 = ตัวอย่างมีความสว่างมากจนเป็นสีขาวหรือสีจาง

ค่า L* ที่เข้าใกล้ 0 = ตัวอย่างมีความสว่างน้อยลงจนเป็นสีคล้ำ

a* ใช้กำหนดสีแดงหรือสีเขียว a= + วัตถุมีสีแดง a= - วัตถุมีสีเขียว

b* ใช้กำหนดสีเหลืองหรือสีน้ำเงิน b= + วัตถุมีสีเหลือง b= - วัตถุมีสีน้ำเงิน

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 1.1.1.3 น้ำหนักผลผลิตของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงด้วยข้าวหอมมะลิผสมอาหาร MMN นาน 60 วัน ในห้องควบคุมอุณหภูมิ 20 - 22 องศาเซลเซียส

สายพันธุ์	น้ำหนักดอกเห็ด (กรัม/ขวด) [1]		น้ำหนักอาหารที่เพาะเลี้ยง (กรัม/ขวด)	
	ดอกสด	ดอกแห้ง	น้ำหนักสด	น้ำหนักแห้ง
CR1	11.45de[2]	1.84f	56.07d	23.69bc
CR2	18.73ab	2.97cd	68.27bc	25.18ab
CR3	15.19c	3.17c	64.38bc	25.07ab
CR4	16.25bc	3.14c	61.44cd	26.72a
CR5	20.40a	3.60b	70.14b	25.60ab
CM1	13.39cd	2.66de	56.49d	24.84abc
CM2	20.03a	2.42e	69.04b	22.53c
B	9.80ef	1.80f	68.19bc	25.65ab
O	7.88f	0.92g	86.54a	25.29ab
NT	19.77a	4.48a	55.04d	25.25ab
SP	-[3]	-	86.72a	26.08ab
F-test	**	**	**	**
C.V. (%)	14.4	12.1	7.6	7.0

[1] น้ำหนักผลผลิตดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง และอาหารเพาะเลี้ยงเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำๆ ละ 1 ขวด (ขวดขนาด 16 ออนซ์)

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกัน แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ด้วยวิธี DMRT

[3] เห็ดถั่งเช่าสีทองสายพันธุ์ SP สร้างเฉพาะเส้นใยไม่มีการพัฒนาเป็นดอกเห็ดบนอาหารเพาะเลี้ยง

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 1.1.1.4 ประสิทธิภาพการผลิตของเห็ดถั่งเช่าสีทอง 11 สายพันธุ์ที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารข้าวหอมมะลิผสมสารละลาย MMN และปริมาณสารสำคัญในผลผลิตดอกเห็ดอบแห้ง

ไอโซเลท	ประสิทธิภาพการผลิต % Biological Efficiency[1]	ปริมาณคอร์เดเซปิน[2] กรัม/กิโลกรัม	ปริมาณอะดีโนซีน[2] กรัม/กิโลกรัม
CR1	48.33	**31.25**	**10.08**
CR2	74.38	20.70	9.33
CR3	60.59	**25.24**	7.61
CR4	60.81	16.22	7.19
CR5	79.69	18.30	8.54
CM1	53.90	19.27	**10.44**
CM2	88.90	**23.46**	**9.71**
B	38.75	20.01	6.63
O	31.16	18.47	6.12
NT	78.29	18.29	5.32
SP	-[3]	-	-

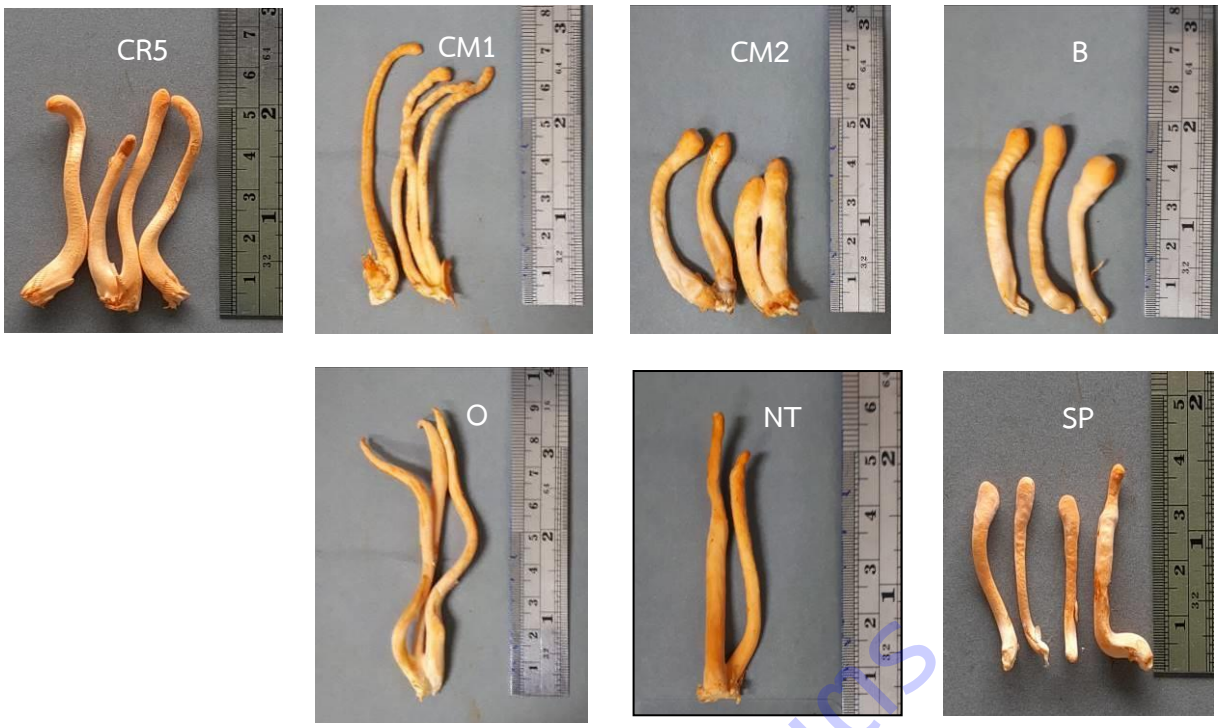
[1] % Biological Efficiency เฉลี่ย 5 ซ้ำคำนวณจากสูตร

น้ำหนักดอกเห็ดสด/น้ำหนักอาหารเพาะเลี้ยงอบแห้ง X 100

[2] ปริมาณสารคอร์เดเซปิน และอะดีโนซีน วิเคราะห์ด้วยวิธี High-Performances Liquid Chromatography (HPLC) เครื่อง Agilent Technologies 1260 Infinity II โดยศูนย์นวัตกรรมสมุนไพรครบวงจร มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ต.ท่าสุด อ.เมือง จ.เชียงราย

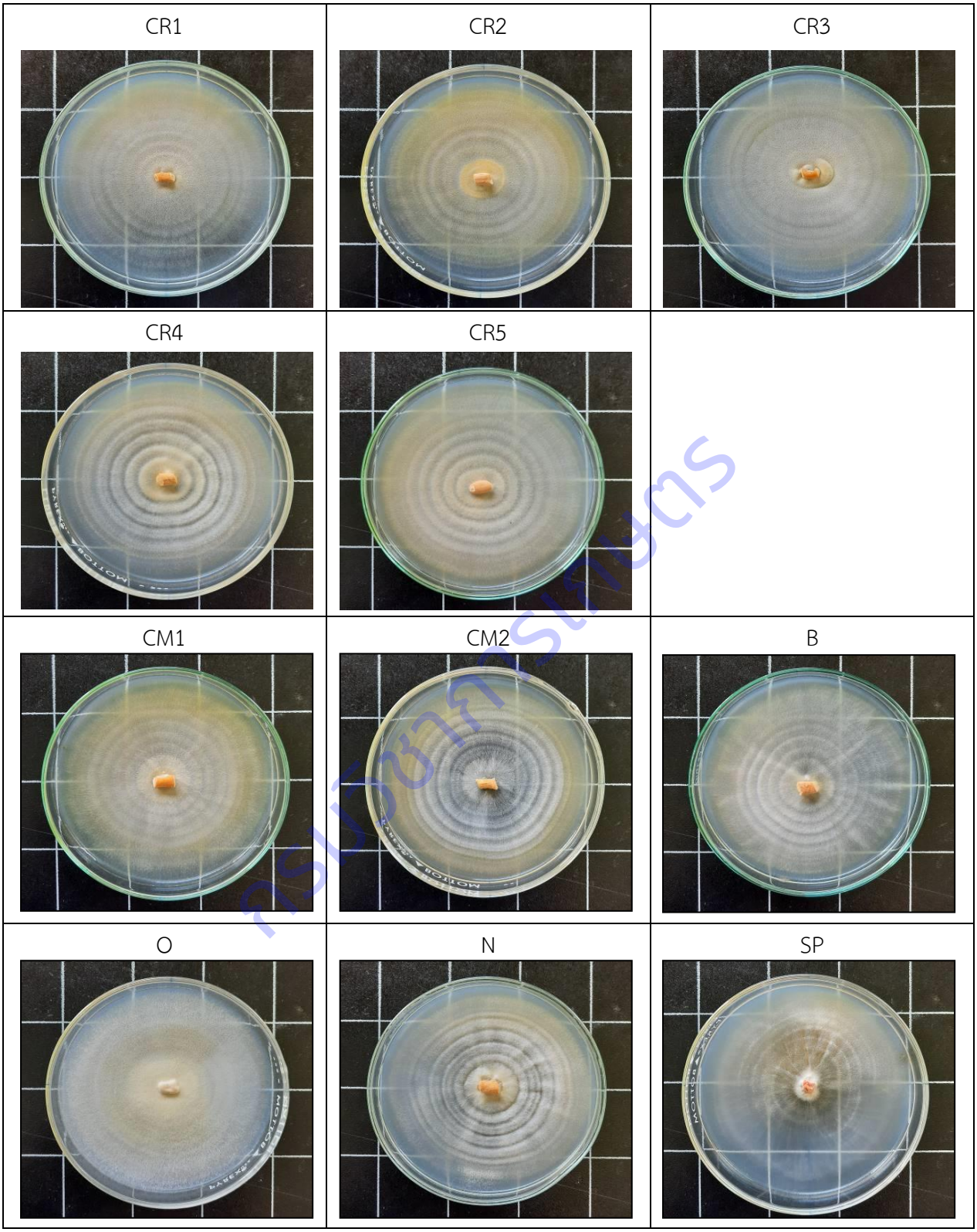
[3] เห็ดถั่งเช่าสีทองสายพันธุ์ SP สร้างเฉพาะเส้นใยไม่มีการพัฒนาเป็นดอกเห็ดบนอาหารเพาะเลี้ยง

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 1.1.1.1 ลักษณะของสโตรมาหรือดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองจำนวน 11 สายพันธุ์ รวบรวมจากแหล่งผลิตในประเทศ

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 1.1.1.2 ลักษณะโคโลนีและเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองอายุ 28 วัน เจริญบนอาหารเพาะเลี้ยง PDA บ่มในที่มืด ภายในห้องควบคุมอุณหภูมิ 20 - 22 องศาเซลเซียส

กรมวิชาการเกษตร

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

- การรวบรวมเห็ดถั่งเช่าสีทองจากแหล่งผลิตในประเทศได้จำนวน 11 สายพันธุ์ ทดสอบการเจริญของเส้นใยบนอาหารวุ้น PAD สายพันธุ์ CR4 มีการเจริญเร็วที่สุด รองลงไปได้แก่ B, และ CR5
- การเจริญเส้นใยและสร้างดอกเห็ดบนอาหารแข็งซึ่งเป็นข้าวหอมมะลิเติมสารละลาย MMN เห็ด CR5 มีผลผลิตดอกสดเฉลี่ยสูงสุด รองลงไปได้แก่ CM2 และ NT น้ำหนักผลผลิตดอกแห้งเฉลี่ยสูงสุด ได้แก่ NT รองลงไปได้แก่ CR5 และ CR3 เมื่อเปรียบเทียบค่าประสิทธิภาพการผลิต CM2 ให้ค่า BE(%) สูงสุด รองลงไปได้แก่ CR5 และ NT
- ปริมาณสารสำคัญในผลผลิตดอกเห็ด สายพันธุ์ที่ให้สารคอร์เดเซปินสูงที่สุด 3 อันดับแรกได้แก่ CR1 CR3 และ CM2 สำหรับสารอะดิโนซีน พบในสายพันธุ์ CM1 สูงสุด รองลงไปได้แก่ CR1 และ CM2 ได้เลือก 5 สายพันธุ์ ได้แก่ CR1, CR3, CR5, CM1 และCM2 สำหรับใช้ในการปรับปรุงพันธุ์

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

เห็ดถั่งเช่าสีทองสายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกโดยให้ผลผลิตสูง มีปริมาณสารคอร์เดเซปิน และอะดีโนซีนสูงสามารถนำไปใช้พัฒนาต่อเพื่อใช้เป็นฐานพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทองให้ได้ผลผลิต และสารสำคัญสูงต่อไป

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 1.2 การจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดของเห็ดถั่งเช่าสีทอง
DNA barcode of *Cordyceps militaris*

นางสาวนันทินี ศรีจุมปา นางสาวอรุโณทัย ซาววา นางสุธามาศ ณ น่าน
Nantinee Srijumpa Arunothai Soawa Suthamas Na-nan

คำสำคัญ (Keywords)
DNA barcode *Cordyceps militaris*

บทคัดย่อ

การจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดของเห็ดถั่งเช่าสีทองดำเนินการทดลองที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงรายและสำนักวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ระหว่างตุลาคม 2562 – กันยายน 2563 รวบรวมเห็ดถั่งเช่าสีทองจากแหล่งต่างๆได้ 7 ไอโซเลท เลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองบนอาหาร potato dextrose agar เพื่อนำเส้นใยไปสกัด DNA ด้วยชุด DNAsecure Plant kit (Tiangen) และเลี้ยงบนข้าวและกระตุ้นให้สร้างสโตรมาและนำสโตรมาไปสกัด DNA ด้วยวิธี CTAB จากการทดสอบไพรเมอร์สากลจำนวน 4 คู่ กับตัวอย่างเห็ดถั่งเช่าสีทองจำนวน 7 ไอโซเลท ได้แก่ CM1 CM2 CR O SP OH และ B โดยมีเห็ดหอมเป็นตัวอย่าง Out of group พบว่า คู่ไพร์เมอร์ ITS1-UM2+ITS2-UM2 และ V9U+V9R สามารถให้แถบดีเอ็นเอเพียง 1 แถบ มีประสิทธิภาพในการจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดมากกว่าคู่ UM4+IGS1-UM5 และ V6U+V6R ซึ่งคู่ไพรเมอร์ของยีน *ITS-UM* ได้ลำดับนิวคลีโอไทด์ขนาด 532 คู่เบส และคู่ไพรเมอร์ของยีน *V9* ได้นิวคลีโอไทด์ขนาด 429 คู่เบส สำหรับการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม พบความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไดท์ในยีน *ITS-UM* ตำแหน่งที่ 43 ในเห็ดถังเช่าตัวอย่างรหัส O จากเบส A เป็นเบส G สำหรับยีน *V9* ไม่พบความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ การจัดทำแผนผังพันธุกรรมทั้งสองยีนไม่แสดงค่าระยะห่างทางพันธุกรรม แต่เมื่อเปรียบเทียบกับลักษณะทางพันธุกรรมของเห็ดหอมที่ใช้เป็นตัวอย่าง Out of group พบให้ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมในยีน *ITS-UM* ที่ค่าดัชนี 1.392 -1.679 และในยีน *V9* ที่ค่าดัชนี 0.421-0.960 แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างเห็ดถั่งเช่าสีทองมีลักษณะทางพันธุกรรมใกล้ชิดและเหมือนกันมาก อย่างไรก็ตามผลความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์จากยีน *ITS-UM* ตำแหน่งที่ 43 ในเห็ดถั่งเช่าสีทองรหัส O ใช้บ่งชี้ลักษณะพันธุกรรมที่เฉพาะเจาะจงสำหรับตัวอย่างรหัส O ได้ สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการจำแนกพันธุกรรมและแหล่งที่มาของเห็ดถังเช่าสีทองได้ต่อไป

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

Abstract

DNA barcode of *Cordyceps militaris* was studied at Chiangrai Horticulture Research Center and Biotechnology Research and Development Office during October 2019 – September 2020. Collect 7 isolates of *C. militaris* from different places and culture on potato dextrose agar. Mycelia was DNA extracted using DNAsecure Plant kit (Tiangen). Fruit bodies of *C. militaris* was produced using rice media. Stroma was DNA extracted using CTAB. Four pairs of universal primers were tested with 7 isolates including CM1 CM2 CR O SP OH and B and *Lentinula edodes* as out of group. It was found that ITS1-UM2+ITS2-UM2 and V9U+V9R gave single DNA strand which were better than UM4 + IGS1 -UM5 and V6U+V6R. The size of amplified product was approximately 532 base pairs (*ITS-UM* primers) and 429 base pairs (V9 primers). Genetic relationship was analysed and it was found that in isolate O there was a substitution of A by G at 43 position of *ITS-UM* gene. There was no difference of nucleotide sequence from V9 gene. The phylogenetic analysis indicated that there is no genetic distance within seven isolates of *C. militaris*. As compared with *Lentinula edodes* (out of group), the genetic distance index was 1.392 -1.679 in *ITS-UM* and 0.421-0.960 in V9. However, the difference of nucleotide at 43 position of *ITS-UM* gene of isolate O can be used for genetic identification and study for source of origin of *C. militaris* in the future.

บทนำ

นักวิทยาศาสตร์ได้พัฒนาเทคโนโลยีทางด้านชีวโมเลกุลเพื่อช่วยระบุชนิดและบอกความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะข้อมูลระดับดีเอ็นเอซึ่งเป็นข้อมูลที่เป็นหลักฐานแสดงถึงสายวิวัฒนาการในสิ่งมีชีวิตที่แตกต่างกันได้ (อรุณรัตน์, 2552) การทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดคือการใช้ลำดับเบสของดีเอ็นเอช่วงสั้น ๆ (short genetic loci) ที่มีความผันแปรสูง มาชี้เฉพาะสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดได้อย่างรวดเร็ว โดยช่วงดีเอ็นเอที่จะใช้เป็นบาร์โค้ดนั้นต้องเป็นช่วงดีเอ็นเอที่ผ่านการตกลงและยอมรับ (standardized genetic loci) ให้เป็นบาร์โค้ดของสิ่งมีชีวิตนั้นๆ กล่าวคือสามารถระบุชนิดของสิ่งมีชีวิต เหมือนกับบาร์โค้ดที่สามารถระบุชนิดสินค้า ซึ่งในทางปฏิบัติอาจมีการกำหนดตำแหน่ง (locus) ดีเอ็นเอมาตรฐานมากกว่า 1 ช่วงสำหรับใช้เป็นบาร์โค้ดเพื่อประสิทธิภาพในการจำแนกสิ่งมีชีวิต ช่วงดีเอ็นเอที่เหมาะจะใช้เป็นบาร์โค้ดของสิ่งมีชีวิตต้องมีลักษณะดังต่อไปนี้คือ มีความผันแปรระหว่างสปีชีส์สูงเพียงพอ มีความยาวเหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค PCR และการวิเคราะห์ลำดับเบส และมี conserved sequence อยู่ที่ปลายทั้งสองด้านที่เหมาะแก่การออกแบบ PCR primer ที่สามารถใช้ได้กับสิ่งมีชีวิตหลากหลายสปีชีส์ (universal) (http://www.pharm.su.ac.th/dna2/dna1.php)

มีการใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดในการระบุชนิดสมุนไพรแปรรูปสกุลขี้เหล็ก โดยศึกษาเปรียบเทียบ 3 region ได้แก่ matK, rbcL และ trnH - psbA พบว่าบริเวณ trnH - psbA intergenic spacer มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการจำแนกสปีชีส์ สามารถใช้จำแนกชนิดได้ถึง 71.43 % (พรรษาและคณะ, 2556) ในกล้วยไม้รองเท้านารีพบว่ายีนมาตรฐาน rbcL และ matK สามารถนำมาพัฒนาเป็น barcoding เพื่อใช้จำแนกพันธุ์ได้ (ปัทมา, 2559)

Xiang *et al*. (2013) ใช้ ITS sequences เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดเพื่อจำแนกความแตกต่างระหว่างตัวอย่างเห็ดถั่งเช่าทิเบต 131 ตัวอย่างกับเชื้อราทำลายแมลงอื่นที่มีลักษณะใกล้เคียงกันได้ ซึ่ง Hien และ Hanh (2018) ก็รายงานว่า ITS1-5.8S-ITS2 region เป็นดีเอ็นเอบาร์โดที่มีประสิทธิภาพในการจำแนกจีนัส Cordyceps

ศูนย์วิทยทรัพยากร

เห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเป็นการค้าของไทยในปัจจุบัน ใช้สายพันธุ์ที่มีการนำเข้าจากต่างประเทศ เช่น จีน เกาหลี ไต้หวัน เป็นต้น มีความแตกต่างในขนาด รูปร่างของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะในแต่ละฟาร์ม ซึ่งอาจจะมีความแตกต่างกันในทางพันธุกรรม การศึกษาเพื่อสร้างเครื่องหมายดีเอ็นเอบาร์โค้ดในเห็ดถั่งเช่าสีทอง สามารถนำมาใช้ตรวจสอบเพื่อจำแนกและวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลสำหรับนักวิชาการ นักวิจัย อาจารย์ นิสิตที่สนใจเพื่อนำไปต่อยอดงานวิจัยต่อไป

ระเบียบวิธีการวิจัย

- อุปกรณ์

1. หม้อนึ่งความดัน
2. ตู้เขี่ยเชื้อ
3. มันฝรั่ง
4. กลูโคส
5. spectrophotometer centrifuge
6. ชุดถ่ายภาพ UV transilluminator
7. สารเคมีในการสกัด DNA

วิธีการ รวบรวมสายพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทองจากแหล่งต่างๆ นำมาสกัด DNA และเพิ่มปริมาณด้วยวิธี PCR ตรวจสอบ DNA และทำลำดับนิวคลิโอไทด์

แบบและวิธีการทดลอง ไม่มีแผนการทดลองทางสถิติ

- วิธีการทดลอง

1. รวบรวมสายพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทองจากแหล่งผลิตต่างๆในประเทศได้จำนวน 7 ไอโซเลท ได้แก่ CM1 CM2 CR O SP OH และ B นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA)
2. เพาะเห็ดถั่งเช่าสีทองแต่ละสายพันธุ์ โดยเลี้ยงบนอาหารแข็ง ได้แก่ข้าวหอมมะลิ 25 กรัม บรรจุในขวดแก้วขนาด 8 ออนซ์ และเติมสารละลาย MMN ขวดละ 25 กรัม นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เลี้ยงโดยใช้เส้นใยเชื้อบริสุทธ์ที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลว PDB นำไปบ่มในที่มืดเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ภายในห้องควบคุมอุณหภูมิ 20 - 22 องศาเซลเซียส เมื่อเส้นใยเจริญเต็มวัสดุ นำไปวางใต้แสงไฟที่ความเข้มแสง 600 - 1,000 ลักซ์ ให้แสง 12 ชั่วโมง/วัน เพื่อกระตุ้นการสร้างดอกเห็ดเป็นเวลา 6 สัปดาห์
3. สกัดดีเอ็นเอด้วย 2 วิธีการ ดังนี้

3.1 การสกัดดีเอ็นเอจาก stroma ของเห็ดถั่งเช่า

นำตัวอย่างดอกเห็ดถั่งเช่ามาสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี CTAB ตามรายงานของอรุโณทัยและคณะ (2552) ดังนี้ เตรียม Extraction buffer [20 mM sodium EDTA and 100 mM Tris-HCl pH 8.0, 1.4 M NaCl, 2%(W/V) CTAB(cetyltrimethylammonium bromide)] เติม 0.2% β-mercaptoethanol ก่อนใช้บ่มที่ 60 องศาเซลเซียส ชั่งดอกเห็ดถั่งเช่า 1 กรัม บดในโกร่งด้วยไนโตรเจนเหลวให้ละเอียดจนเป็นผงแป้ง ใส่หลอด 15 มิลลิลิตร เติม Extraction buffer 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง (นำมาเขย่าทุก 20 นาที) แล้วนำตัวอย่างออกมาวางที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที แล้วเติม Choroform:Isoamyl alcohol(24:1) 5 มิลลิลิตร ผสมกลับหลอดไปมา 10 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 4 องศาเซลเซียส ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ดูดน้ำใส 750 ไมโครลิตร ใส่ในหลอด 1.5 มิลลิลิตร เติม Choroform:Isoamyl alcohol(24:1) 750 ไมโครลิตร ผสมกลับหลอดไปมา 5 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ดูดน้ำใสใส่หลอด 1.5 มิลลิลิตรหลอดใหม่ เติม 3M NaOAC 0.1 เท่า และ Isopropanol 0.6 เท่า แล้วนำไปตกตะกอนดีเอ็นเอที่ -20 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 4 องศาเซลเซียส ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที นาน 10

กรมวิชาการเกษตร

นาที เทน้ำใสทิ้ง ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วย 70% Ethanol 750 ไมโครลิตร สองครั้ง ทิ้งตะกอนดีเอ็นเอให้แห้งแล้วละลายด้วย TE 100 ไมโครลิตร และเติม RNaseA(10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) 4 ไมโครลิตร บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที นำไปวัดค่า (O.D) โดยใช้เครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น A260/A280 ให้อยู่ในช่วง 1.8-2.0 แล้วเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 50 นาโนกรัม/ไมโครลิตร เพื่อนำไปทำปฏิกิริยา PCR เก็บดีเอ็นเอที่ -20 องศาเซลเซียส

3.2 สกัดดีเอ็นเอจากเส้นใยเห็ดถั่งเช่าด้วยชุด DNAsecure Plant Kit (TIANGEN)

3.2.1 ใช้เส้นใย 1/2 เพลท บดด้วยไนโตรเจนเหลวจนเป็นผงแป้ง ตักตัวอย่างใส่ในหลอด Microcentrifuge 1.5 มิลลิลิตร

3.2.2 เติม Buffer LP1 400 ไมโครลิตร และ RNaseA (10mg/ml) 6 ไมโครลิตร Vortex ให้เข้ากัน 1 นาที แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง (15 - 25 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 10 นาที

3.2.3 เติม Buffer LP2 130 ไมโครลิตร Vortex ให้เข้ากัน 1 นาที

3.2.4 นำไป Centrifuge ที่ความเร็ว 12,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นดูดน้ำใสใส่หลอด Microcentrifuge 1.5 มิลลิลิตร หลอดใหม่

3.2.5 เติม Buffer LP3 (เติม Ethanol ก่อนใช้) 1.5 เท่าของน้ำใสที่ได้ Vortex เบาๆ ให้เข้ากัน 15 วินาที

3.2.6 วาง Spin Columns CB3 ลงใน Collection Tube 2 มิลลิลิตร ดูดน้ำใสใส่ลงไปใน Spin Columns CB3

3.2.7 นำไป Centrifuge ที่ความเร็ว 12,000 rpm เป็นเวลา 30 วินาที จากนั้นเทน้ำใสข้างล่างทิ้งและวาง Spin Columns CB3 กลับลงใน Collection Tube

3.2.8 เติม Buffer PW (เติม Ethanol ก่อนใช้) 600 ไมโครลิตร ลงใน Spin Columns CB3 แล้วนำไป Centrifuge ที่ความเร็ว 12,000 rpm เป็นเวลา 30 วินาที เทน้ำใสข้างล่างทิ้ง (ทำซ้ำ 2 รอบ)

3.2.9 Centrifuge ที่ความเร็ว 12,000 rpm เป็นเวลา 2 นาที เพื่อให้ Spin Columns CB3 แห้ง

3.2.10 ย้าย Spin Columns CB3 ลงในหลอด Microcentrifuge 1.5 มิลลิลิตร หลอดใหม่ เติม Buffer TE 50-200 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15-25 นาที

3.2.11 นำไป Centrifuge ที่ความเร็ว 12,000 rpm เป็นเวลา 2 นาที

3.2.12 เก็บ DNA ในตู้เย็น -20 องศาเซลเซียส

4. เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีพีซีอาร์ (PCR: Polymerase Chain Reaction)

เตรียมส่วนผสมปฏิกิริยาพีซีอาร์ ดังนี้ ดีเอ็นเอต้นแบบ (50 นาโนกรัม/ไมโครลิตร) 4 ไมโครลิตร 10x PCR buffer($(NH_4)_2SO_4$) 8 ไมโครลิตร 25 mM $MgCl_2$ 8 ไมโครลิตร 2mM dNTP 8 ไมโครลิตร ไพรเมอร์ (10 uM) ตามตารางที่ 2 (ลำดับที่ 1 - 4) อย่างละ 4 ไมโครลิตร DreamTaq DNA polymerase ยี่ห้อ Thermo (0.5 unit) 0.5 ไมโครลิตร ในปฏิกิริยาทั้งหมด 100 ไมโครลิตร โดยตั้งโปรแกรมการทำงานของเครื่อง themal cycle, Gene Amp 9700 ดังนี้ 95 องศาเซลเซียส 3 นาที จำนวน 1 รอบ ตามด้วย 94 องศาเซลเซียส 1 นาที 55 องศาเซลเซียส 1 นาที และ 72 องศาเซลเซียส 1 นาที จำนวน 35 รอบ จากนั้นตั้งที่ 72 องศาเซลเซียส 7 นาที 1 รอบ

5. การทำชิ้นส่วนพีซีอาร์ให้บริสุทธิ์ (PCR purification)

นำผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้จากข้อ 4 มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยชุด PureLink® PCR Purification Kit ยี่ห้อ Invitrogen ดังนี้ นำพีซีอาร์ 100 ไมโครลิตร มาเติม PureLink® Binding Buffer (B2) จำนวน 1 เท่า คือ 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ดูดของเหลวใส่ลงใน PureLink® Spin Column นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 xg นาน 1 นาที ทิ้งส่วนใส ล้างคอลัมน์ด้วย Wash Buffer ปริมาตร 650 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 xg

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นาน 1 นาที ทิ้งส่วนใส แล้วปั่นคอลัมน์ให้แห้งอีกรอบนาน 2 นาที ย้ายคอลัมน์ใส่หลอด 1.5 มิลลิลิตร หลอดใหม่ จากนั้นชะผลผลิตพีซีอาร์ด้วย Elution Buffer ปริมาตร 50 ไมโครลิตร

6. การตรวจสอบแถบดีเอ็นเอ

ทำการตรวจสอบผล PCR ด้วยวิธีเจลอิเล็คโทรโฟรีซีส (gel electropholesis) โดยหยดผลผลิตพีซีอาร์ 4 ไมโครลิตร ลงในแผ่นวุ้นอะกาโรสเจล 1 เปอร์เซ็นต์ใน 1xTBE buffer ใช้แรงเคลื่อนไฟฟ้า100 โวลต์ เป็นเวลา 60 นาที ย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ บันทึกแถบดีเอ็นเอด้วยชุดถ่ายภาพ UV Transilluminators (BIORAD)

ตารางที่ 1.1.2.1 ไพรเมอร์ที่ใช้ในการทำดีเอ็นเอบาร์โค้ด

ชื่อไพรเมอร์	ลำดับนิวคลีโอไทด์ (5'-3')	เอกสารอ้างอิง
1. ITS1-UM2	TAACAAGGTTTCCGTAGGTG	Avin *et al*., 2014
2. ITS2-UM2	CTTAAGTTCAGCGGGTAGTC	Avin *et al*., 2014
3. IGS1-UM4	AGTAAACTGACTTCAATTTCCGAGC	Avin *et al*., 2014
4. IGS1-UM5	ATCCGCTGAGGTTAAGCCCT	Avin *et al*., 2014
5 .V6U	TTAGTCGGTCTCGGAGCA	Mouhamadou *et al*., 2008
6. V6R	TGACGACAGCCATGCAAC	Mouhamadou *et al*., 2008
7. V9U	CCGTGATGAACTAACCGT	Mouhamadou *et al*., 2008
8. V9R	TTCCAGTACAAGCTACCT	Mouhamadou *et al*., 2008

-การบันทึกข้อมูล

บันทึกแถบดีเอ็นเอด้วยชุดถ่ายภาพ UV Transilluminators (BIORAD) บันทึกข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ ข้อมูลความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

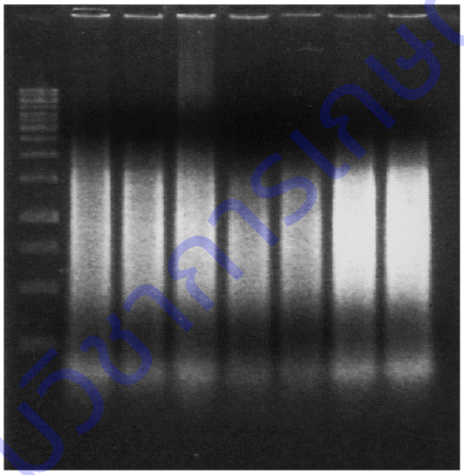
- เวลาและสถานที่ เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด กันยายน 2563

สถานที่ดำเนินการ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย อ.เมือง จ.เชียงราย และ สำนักวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและอภิปราย

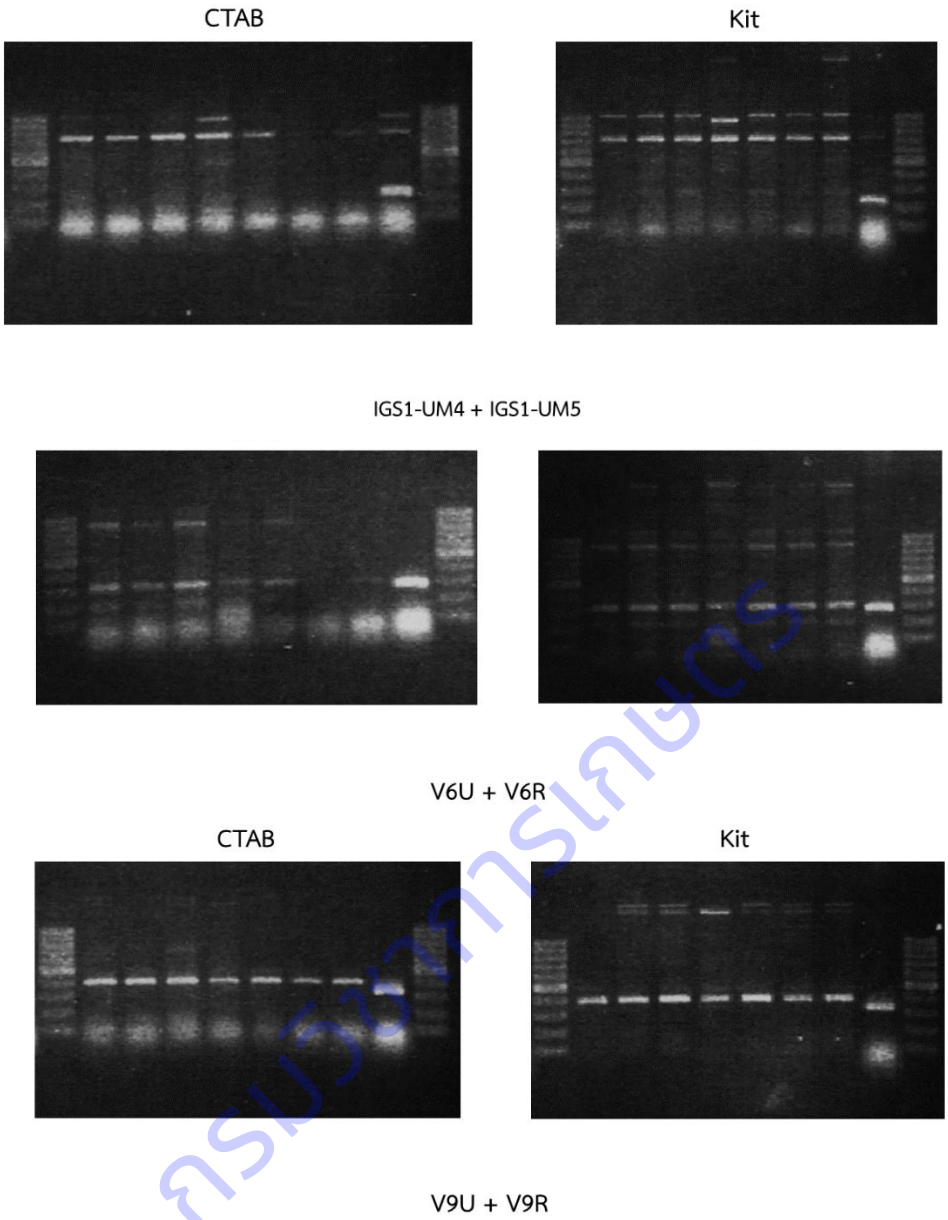
การสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี CTAB ตามรายงานของอรุโณทัยและคณะ (2552) และชุด DNAsecure Plant Kit (TIANGEN) พบว่าการสกัดดีเอ็นเอด้วยชุด DNAsecure Plant Kit (TIANGEN) เมื่อนำไปตรวจสอบดีเอ็นเอปริมาณ 3 ไมโครลิตร ด้วยวิธีเจลอิเล็คโตรโฟรีซีส ไม่สามารถมองเห็นแถบดีเอ็นเอได้จากภาพถ่าย สำหรับการสกัดด้วยวิธี CTAB จะมองเป็นแถบอาร์เอ็นเอจำนวนมาก เนื่องจากในขั้นตอนการสกัดไม่ได้ทำการกำจัดอาร์เอ็นเอด้วย RNase อย่างไรก็ตามไม่สามารถมองเห็นแถบดีเอ็นเอเช่นกัน (ภาพที่ 1.1.2.1) แต่เมื่อนำดีเอ็นเอที่สกัดได้ทั้งสองวิธีไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีพีซีอาร์ โดยใช้ไพรเมอร์ 4 คู่ ได้แก่ ITS1-UM2+ITS2-UM2 IGS1-UM4+IGS1-UM5 V6U+V6R และ V9U+V9R พบสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ดังภาพที่ 1.1.2.2 จากการเพิ่มปริมาณพีซีอาร์พบว่าคู่ไพรเมอร์ ITS1-UM2+ITS2-UM2 และ V9U+V9R เมื่อปรับค่า Tm ในขั้นตอนการทำ annealing สามารถให้แถบดีเอ็นเอเพียง 1 แถบ ซึ่งสะดวกต่อการทำบริสุทธิ์ผลผลิตพีซีอาร์ แต่คู่ไพรเมอร์ IGS1-UM4+IGS1-UM5 และ V6U+V6R แสดงแถบดีเอ็นเอนอกเหนือจากแถบดีเอ็นเอเป้าหมายจำนวนหลายแถบ ไม่สามารถทำบริสุทธิ์ผลผลิตพีซีอาร์ได้โดยตรง ต้องทำการตัดแถบดีเอ็นเอเป้าหมายก่อน ดังนั้น คู่ไพรเมอร์ ITS1-UM2+ITS2-UM2 และ V9U+V9R จึงมีประสิทธิภาพในการจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดมากกว่าคู่ UM4+IGS1-UM5 และ V6U+V6R



Genomic DNA

ภาพที่ 1.1.2.1 การสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี CTAB ตามรายงานของอรุโณทัยและคณะ (2552) ทำการตรวจสอบดีเอ็นเอปริมาณ 3 ไมโครลิตร บนเจลอะกาโรส 1 เปอร์เซ็นต์

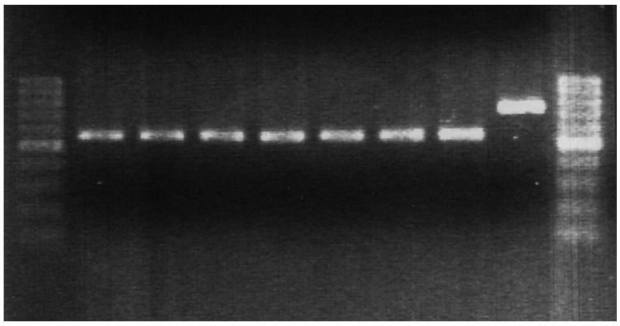
กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 1.1.2.2 ภาพการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์จำนวน 4 คู่ ได้แก่ ITS1-UM2+ITS2-UM2 IGS1-UM4+IGS1-UM5 V6U+V6R และ V9U+V9R

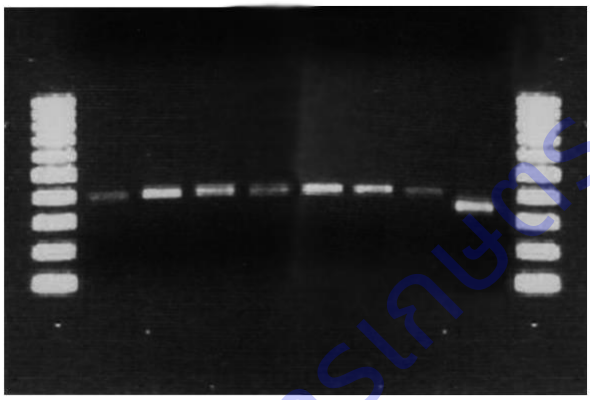
การจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดได้คัดเลือกคู่ไพรเมอร์จำนวน 2 คู่ ได้แก่ ITS1-UM2+ITS2-UM2 และ V9U+V9R ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของตัวอย่างเห็ดถังเช่า 7 ตัวอย่าง ได้แก่ CM1 CM2 CR O SP OH และ B ซึ่งมีเห็ดหอมสำหรับเป็นตัวอย่าง Out of group ผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้เมื่อนำมาทำให้บริสุทธิ์ด้วยชุด PureLink® PCR Purification Kit จะให้แถบดีเอ็นเอเป้าหมายเพียง 1 แถบ ดังภาพที่ 1.1.2.3 และ 1.1.2.4

กรมวิชาการเกษตร



ITS1-UM2 + ITS2-UM2

ภาพที่ 1.1.2.3 ชิ้นส่วนดีเอ็นเอของยีน *ITS-UM* ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์



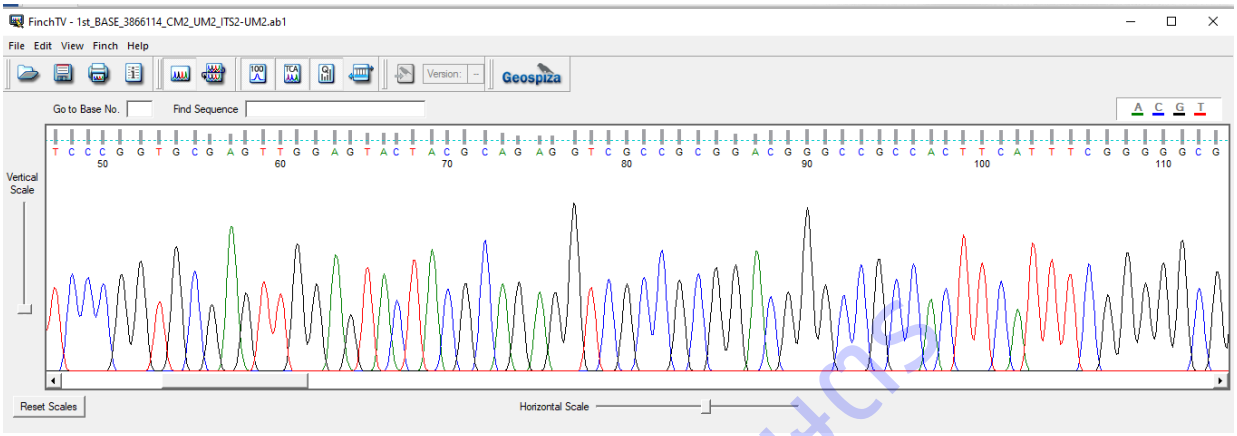
V9U + V9R

ภาพที่ 1.1.2.4 ชิ้นส่วนดีเอ็นเอของยีน *V9* ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์

ชิ้นส่วนดีเอ็นเอของยีน *ITS-UM* และ *V9* ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ถูกนำไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และได้ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ผ่านการตรวจสอบคุณภาพโครมาโตรแกรมด้วยโปรแกรม Finch TV (ภาพที่ 1.1.2.5 และ 1.1.2.6) และเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยโปรแกรม Clustal Omega จากนั้นทำการคัดเลือกลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *ITS-UM* ขนาด 532 คู่เบส (ภาพที่ 1.1.2.7) และยีน *V9* ขนาด 429 คู่เบส (ภาพที่ 1.1.2.8) ซึ่งใช้ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยโปรแกรม MEGA7

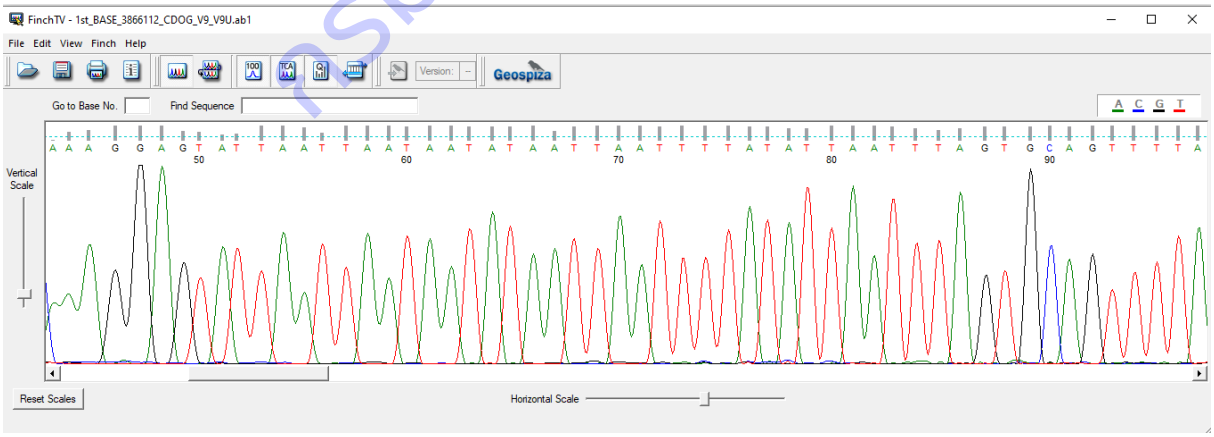
กรมวิชาการเกษตร

>ITS-UM
CCGACAGGTACGTTCAGAGTTGGGCGTTTTACGGCGTGGCCACGTCGGGTTCCCGGTGCGAGTTGGAGTACTACGCA
GAGGTCGCCGCGGACGGGCCGCCACTTCATTTCGGGGGCGGCGGTGTGCTGCCGGTCCCCAACGCCGACATCCCCCA
GGGGACGTCGAGGGTTGAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCGCCAGAATGCTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAG
ATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAGCCAA
GAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGATTCATTTGTTTTGCCTTGCGGCGGATTCAGAAAAACTGGTAGATACAGTGTTT
GGGGCCCCCGACGGCCGCCGCCCAGGCCCGCGTCCAGGCGCTGGGCGAGTCCGCCGAAGCAACGATAGGTATGTTCA
CAAAGGGTTGGGAGTTGGAAAACTCGTTAATGATCCCTCCGCTGGTTCACCTACGGAACCCCTTGTTAAA



ภาพที่ 1.1.2.5 ลำดับนิวคลีโอไทด์และกราฟโคมาโตแกรมของยีน *ITS-UM*

>V9
CATCAGATCGGTAGGGGGATAGCCAAATATTTATAATTTTTCAAAGGAGTATTAATTAATAATATAATTAATTTTAT
ATTAATTTAGTGCAGTTTTAATTATAGATTTATCTTATAGAGATTATAGGGGATAATCTATTGATTTAATTAATTTA
AATCTTTTATCCCACCCTCCATCCTTTAACGGAGGAGGTGGTAACAAAATAAACATCTTTGTTAAACTAATTATTAT
CTTTTAACCCATTTGAGTAACATCTCAAAAGTCATAGCAAGGTAGCTTGTACTGGAAAAAGGAAGGACGGGCCGTTT
GTTTACATCCCTTATTTCTAATGGAGTCTTTGCTGACATTGATGGGGGGGAAAGGGGGTTCATGTTGCTTTTACCTT
GGAAGCTGGCAAGAAGCTGGTTTATTTTGGTTGTTTTAAGAAAA



ภาพที่ 1.1.2.6 ลำดับนิวคลีโอไทด์และกราฟโคมาโตแกรมของยีน *V9*

ศูนย์วิทยทรัพยากร

>CM1_UM2_ITS2-UM2
CGTTTTACGGCGTGGCCACGTCGGGTTCCCGGTGCGAGTTGGAGTACTACGCAGAGGTCGCCGCGGACGGGCCGCCA
CTTCATTTCGGGGGCGGCGGTGTGCTGCCGGTCCCCAACGCCGACATCCCCCAGGGGACGTCGAGGGTTGAAATGAC
GCTCGAACAGGCATGCCCGCCAGAATGCTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGC
AATTCACATTACTTATCGCATTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGA
TTCATTTGTTTTGCCTTGCGGCGGATTCAGAAAAACTGGTAGATACAGTGTTTGGGGCCCCCGACGGCCGCCGCCCA
GGCCCGCGTCCAGGCGCTGGGCGAGTCCGCCGAAGCAACGATAGGTATGTTCACAAAGGGTTGGGAGTTGGAAAACT
CGTTAATGATCCCTCCGCTGGTTCACCT

>CM2_UM2_ITS2-UM2
CGTTTTACGGCGTGGCCACGTCGGGTTCCCGGTGCGAGTTGGAGTACTACGCAGAGGTCGCCGCGGACGGGCCGCCA
CTTCATTTCGGGGGCGGCGGTGTGCTGCCGGTCCCCAACGCCGACATCCCCCAGGGGACGTCGAGGGTTGAAATGAC
GCTCGAACAGGCATGCCCGCCAGAATGCTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGC
AATTCACATTACTTATCGCATTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGA
TTCATTTGTTTTGCCTTGCGGCGGATTCAGAAAAACTGGTAGATACAGTGTTTGGGGCCCCCGACGGCCGCCGCCCA
GGCCCGCGTCCAGGCGCTGGGCGAGTCCGCCGAAGCAACGATAGGTATGTTCACAAAGGGTTGGGAGTTGGAAAACT
CGTTAATGATCCCTCCGCTGGTTCACCT

>CR_UM2_ITS2-UM2
CGTTTTACGGCGTGGCCACGTCGGGTTCCCGGTGCGAGTTGGAGTACTACGCAGAGGTCGCCGCGGACGGGCCGCCA
CTTCATTTCGGGGGCGGCGGTGTGCTGCCGGTCCCCAACGCCGACATCCCCCAGGGGACGTCGAGGGTTGAAATGAC
GCTCGAACAGGCATGCCCGCCAGAATGCTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGC
AATTCACATTACTTATCGCATTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGA
TTCATTTGTTTTGCCTTGCGGCGGATTCAGAAAAACTGGTAGATACAGTGTTTGGGGCCCCCGACGGCCGCCGCCCA
GGCCCGCGTCCAGGCGCTGGGCGAGTCCGCCGAAGCAACGATAGGTATGTTCACAAAGGGTTGGGAGTTGGAAAACT
CGTTAATGATCCCTCCGCTGGTTCACCT

>O_UM2_ITS2-UM2
CGTTTTACGGCGTGGCCACGTCGGGTTCCCGGTGCGAGTTGGGGTACTACGCAGAGGTCGCCGCGGACGGGCCGCCA
CTTCATTTCGGGGGCGGCGGTGTGCTGCCGGTCCCCAACGCCGACATCCCCCAGGGGACGTCGAGGGTTGAAATGAC
GCTCGAACAGGCATGCCCGCCAGAATGCTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGC
AATTCACATTACTTATCGCATTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGA
TTCATTTGTTTTGCCTTGCGGCGGATTCAGAAAAACTGGTAGATACAGTGTTTGGGGCCCCCGACGGCCGCCGCCCA
GGCCCGCGTCCAGGCGCTGGGCGAGTCCGCCGAAGCAACGATAGGTATGTTCACAAAGGGTTGGGAGTTGGAAAACT
CGTTAATGATCCCTCCGCTGGTTCACCT

>SP_UM2_ITS2-UM2
CGTTTTACGGCGTGGCCACGTCGGGTTCCCGGTGCGAGTTGGAGTACTACGCAGAGGTCGCCGCGGACGGGCCGCCA
CTTCATTTCGGGGGCGGCGGTGTGCTGCCGGTCCCCAACGCCGACATCCCCCAGGGGACGTCGAGGGTTGAAATGAC
GCTCGAACAGGCATGCCCGCCAGAATGCTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGC
AATTCACATTACTTATCGCATTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGA
TTCATTTGTTTTGCCTTGCGGCGGATTCAGAAAAACTGGTAGATACAGTGTTTGGGGCCCCCGACGGCCGCCGCCCA
GGCCCGCGTCCAGGCGCTGGGCGAGTCCGCCGAAGCAACGATAGGTATGTTCACAAAGGGTTGGGAGTTGGAAAACT
CGTTAATGATCCCTCCGCTGGTTCACCT

>OH_UM2_ITS2-UM2
CGTTTTACGGCGTGGCCACGTCGGGTTCCCGGTGCGAGTTGGAGTACTACGCAGAGGTCGCCGCGGACGGGCCGCCA
CTTCATTTCGGGGGCGGCGGTGTGCTGCCGGTCCCCAACGCCGACATCCCCCAGGGGACGTCGAGGGTTGAAATGAC
GCTCGAACAGGCATGCCCGCCAGAATGCTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGC
AATTCACATTACTTATCGCATTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGA
TTCATTTGTTTTGCCTTGCGGCGGATTCAGAAAAACTGGTAGATACAGTGTTTGGGGCCCCCGACGGCCGCCGCCCA
GGCCCGCGTCCAGGCGCTGGGCGAGTCCGCCGAAGCAACGATAGGTATGTTCACAAAGGGTTGGGAGTTGGAAAACT
CGTTAATGATCCCTCCGCTGGTTCACCT

>B_UM2_ITS2-UM2
CGTTTTACGGCGTGGCCACGTCGGGTTCCCGGTGCGAGTTGGAGTACTACGCAGAGGTCGCCGCGGACGGGCCGCCA
CTTCATTTCGGGGGCGGCGGTGTGCTGCCGGTCCCCAACGCCGACATCCCCCAGGGGACGTCGAGGGTTGAAATGAC
GCTCGAACAGGCATGCCCGCCAGAATGCTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGC
AATTCACATTACTTATCGCATTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGA
TTCATTTGTTTTGCCTTGCGGCGGATTCAGAAAAACTGGTAGATACAGTGTTTGGGGCCCCCGACGGCCGCCGCCCA

GGCCCGCGTCCAGGCGCTGGGCGAGTCCGCCGAAGCAACGATAGGTATGTTCACAAAGGGTTGGGAGTTGGAAAACT
CGTTAATGATCCCTCCGCTGGTTCACCT

>CDOG_UM2_ITS2-UM2
ATAAGTTATATATAGTCAATCAAGACAGTTAGAAAGCGGAACTTCCCTTTTTCTCCAATGAATAGAACAGATTGAGC
AAACTAAATGCAACAACCCAAACCAATAGAGCTTTATTATTGTAAGGTTCCACCAAAATGTAGATAATTATCACACC
AAGGTTAGAACTAACAAAACAGGGTTCCCACTAATAAATTTAAGAGGAGCTGACAAACGCCTGCAAGCCTCCAACAT
CCAAGCTTTAATAAGTAAAA

ภาพที่ 1.1.2.7 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *ITS-UM* ที่ใช้ในการวิเคราะห์และจัดทำแผนผังพันธุกรรม

>CM1_V9_V9U
CAACTTTATTTAGGGGTAATGTAAATCCTAATATATCATATTCTATAGCTAATAATACACGTCGTGTAGGTTCATTT
GCTATAAAAGGTTGAATATCAGGAAAATAATATTATATTAACTAAAGTTATTGGGCTTTGTTAGCTATATATAGCTA
AATAAGCTATAAATTTTGGAGCTAAAGCTCATCAATATATACATATAAAATGAAGACATAGTCTGAACCATTTTGAA
AGAATTGGAAATTAATAGGCTGCTGCAAAGCACGCCTACTAGCTTCTTACTAGGTA

>CM2_V9_V9U
CAACTTTATTTAGGGGTAATGTAAATCCTAATATATCATATTCTATAGCTAATAATACACGTCGTGTAGGTTCATTT
GCTATAAAAGGTTGAATATCAGGAAAATAATATTATATTAACTAAAGTTATTGGGCTTTGTTAGCTATATATAGCTA
AATAAGCTATAAATTTTGGAGCTAAAGCTCATCAATATATACATATAAAATGAAGACATAGTCTGAACCATTTTGAA
AGAATTGGAAATTAATAGGCTGCTGCAAAGCACGCCTACTAGCTTCTTACTAGGTA

>CR_V9_V9U
CAACTTTATTTAGGGGTAATGTAAATCCTAATATATCATATTCTATAGCTAATAATACACGTCGTGTAGGTTCATTT
GCTATAAAAGGTTGAATATCAGGAAAATAATATTATATTAACTAAAGTTATTGGGCTTTGTTAGCTATATATAGCTA
AATAAGCTATAAATTTTGGAGCTAAAGCTCATCAATATATACATATAAAATGAAGACATAGTCTGAACCATTTTGAA
AGAATTGGAAATTAATAGGCTGCTGCAAAGCACGCCTACTAGCTTCTTACTAGGTA

>O_V9_V9U
CAACTTTATTTAGGGGTAATGTAAATCCTAATATATCATATTCTATAGCTAATAATACACGTCGTGTAGGTTCATTT
GCTATAAAAGGTTGAATATCAGGAAAATAATATTATATTAACTAAAGTTATTGGGCTTTGTTAGCTATATATAGCTA
AATAAGCTATAAATTTTGGAGCTAAAGCTCATCAATATATACATATAAAATGAAGACATAGTCTGAACCATTTTGAA
AGAATTGGAAATTAATAGGCTGCTGCAAAGCACGCCTACTAGCTTCTTACTAGGTA

>SP_V9_V9U
CAACTTTATTTAGGGGTAATGTAAATCCTAATATATCATATTCTATAGCTAATAATACACGTCGTGTAGGTTCATTT
GCTATAAAAGGTTGAATATCAGGAAAATAATATTATATTAACTAAAGTTATTGGGCTTTGTTAGCTATATATAGCTA
AATAAGCTATAAATTTTGGAGCTAAAGCTCATCAATATATACATATAAAATGAAGACATAGTCTGAACCATTTTGAA
AGAATTGGAAATTAATAGGCTGCTGCAAAGCACGCCTACTAGCTTCTTACTAGGTA

>OH_V9_V9U
CAACTTTATTTAGGGGTAATGTAAATCCTAATATATCATATTCTATAGCTAATAATACACGTCGTGTAGGTTCATTT
GCTATAAAAGGTTGAATATCAGGAAAATAATATTATATTAACTAAAGTTATTGGGCTTTGTTAGCTATATATAGCTA
AATAAGCTATAAATTTTGGAGCTAAAGCTCATCAATATATACATATAAAATGAAGACATAGTCTGAACCATTTTGAA
AGAATTGGAAATTAATAGGCTGCTGCAAAGCACGCCTACTAGCTTCTTACTAGGTA

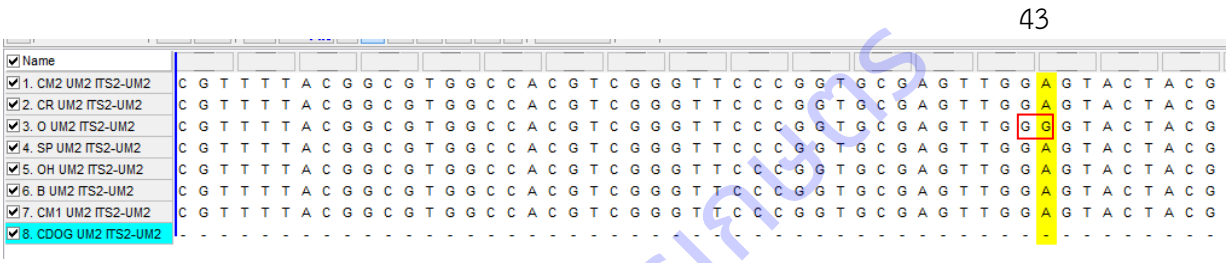
>B_V9_V9U
CAACTTTATTTAGGGGTAATGTAAATCCTAATATATCATATTCTATAGCTAATAATACACGTCGTGTAGGTTCATTT
GCTATAAAAGGTTGAATATCAGGAAAATAATATTATATTAACTAAAGTTATTGGGCTTTGTTAGCTATATATAGCTA
AATAAGCTATAAATTTTGGAGCTAAAGCTCATCAATATATACATATAAAATGAAGACATAGTCTGAACCATTTTGAA
AGAATTGGAAATTAATAGGCTGCTGCAAAGCACGCCTACTAGCTTCTTACTAGGTA

>CDOG_V9_V9U
AGTATTAATTAATAATATAATTAATTTTATATTAATTTAGTGCAGTTTTAATTATAGATTTATCTTATAGAGATTAT
AGGGGATAATCTATTGATTTAATTAATTTAAATCTTTTATCCCACCCTCCATCCTTTAACGGAGGAGGTGGTAACAA
AATAAACATCTTTGTTAAACTAATTATTATCTTTTAACCCATTTGAGTAACATCTCAAAAGTCATAGCAAGGTAGCT
TGTACTGGAA

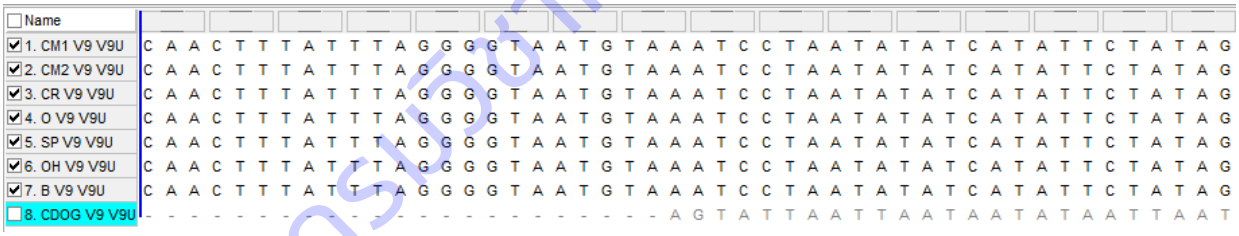
ภาพที่ 1.1.2.8 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *V9* ที่ใช้ในการวิเคราะห์และจัดทำแผนผังพันธุกรรม

กรมวิชาการเกษตร

ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *ITS-UM* พบความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไดท์ตำแหน่งที่ 43 ในเห็ดถังเช่าตัวอย่างรหัส O จากเบส A เป็นเบส G (ภาพที่ 1.1.2.9) ซึ่งเป็นตัวอย่างจากศูนย์พัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อชนบท จังหวัดเชียงใหม่ สำหรับยีน *V9* ไม่พบความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ (ภาพที่ 1.1.2.10) เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *ITS-UM* มาจัดทำแผนผังพันธุกรรมได้ผลดังภาพที่ 11 และยีน *V9* ได้ผลดังภาพที่ 12 ซึ่งทั้งสองยีนไม่แสดงค่าระยะห่างทางพันธุกรรม แต่เมื่อเปรียบเทียบกับลักษณะทางพันธุกรรมของเห็ดหอมที่ใช้เป็นตัวอย่าง Out of group พบให้ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมในยีน *ITS-UM* ที่ค่าดัชนี 1.392 -1.679 และในยีน *V9* ที่ค่าดัชนี 0.421-0.960 แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างเห็ดถังเช่ามีลักษณะทางพันธุกรรมใกล้ชิดและเหมือนกันมาก จึงไม่แสดงค่าระยะห่างทางพันธุกรรม อย่างไรก็ตามผลความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์จากยีน *ITS-UM* ตำแหน่งที่ 43 ในเห็ดถังเช่ารหัส O ใช้บ่งชี้ลักษณะพันธุกรรมที่เฉพาะเจาะจงสำหรับตัวอย่างรหัส O ได้ สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการจำแนกพันธุกรรมและแหล่งที่มาของเห็ดถังเช่าได้ต่อไป

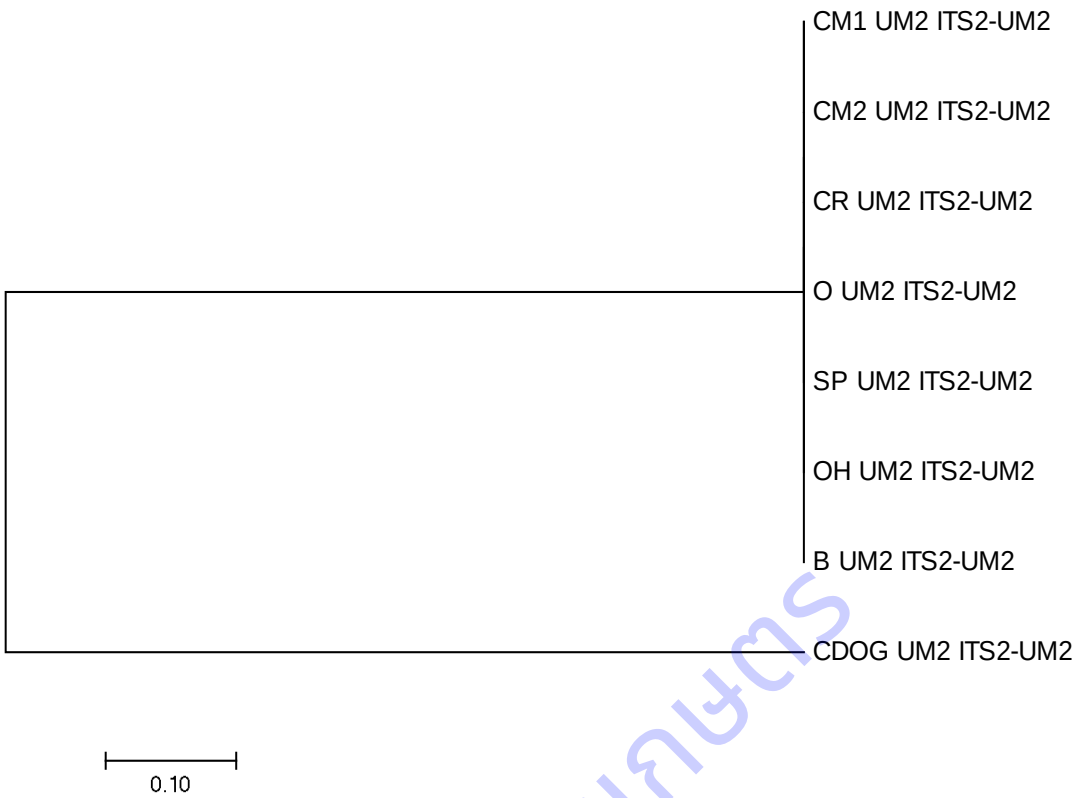


ภาพที่ 1.1.2.9 การ alignment ของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *ITS-UM*



ภาพที่ 1.1.2.10 การ alignment ของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *V9*

กรมวิชาการเกษตร

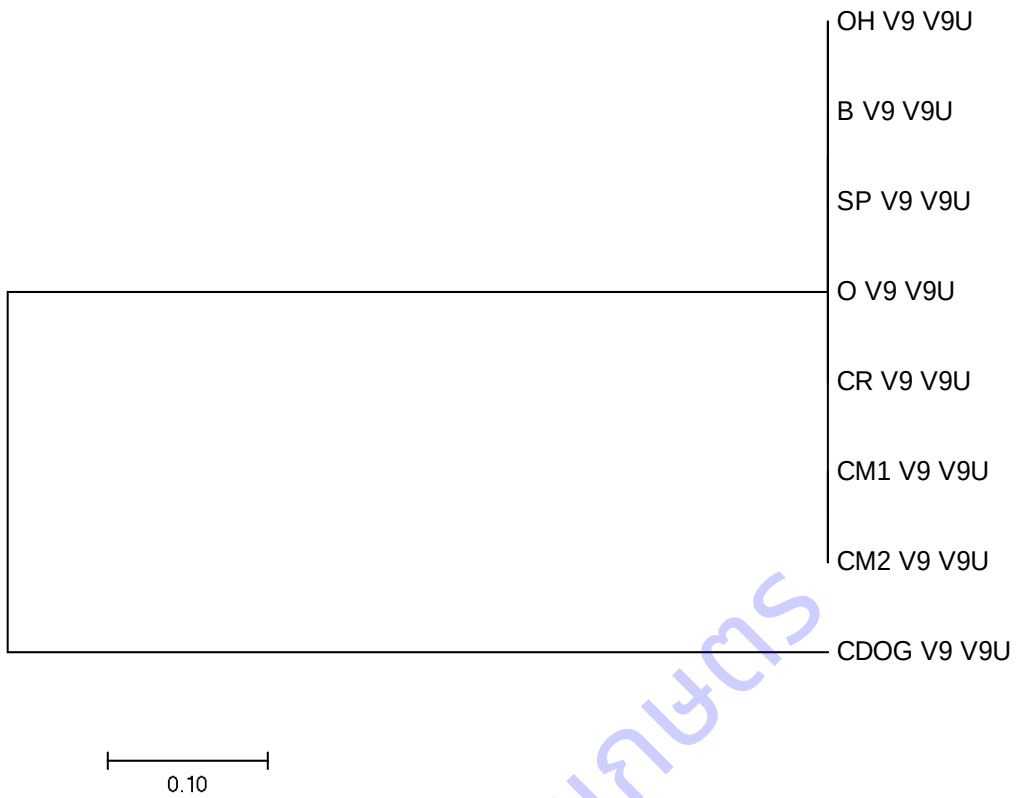


ภาพที่ 1.1.2.11 แผนผังพันธุกรรมจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *ITS-UM* ประเมินด้วยโปรแกรม MEGA7 ที่ค่า Bootstrap 1000 ซ้ำ

	1	2	3	4	5	6	7	8
1. CM1 UM2 ITS2-UM2		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.679
2. CM2 UM2 ITS2-UM2	0.000		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.679
3. CR UM2 ITS2-UM2	0.000	0.000		0.000	0.000	0.000	0.000	1.679
4. O UM2 ITS2-UM2	0.000	0.000	0.000		0.000	0.000	0.000	1.679
5. SP UM2 ITS2-UM2	0.000	0.000	0.000	0.000		0.000	0.000	1.679
6. OH UM2 ITS2-UM2	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000		0.000	1.679
7. B UM2 ITS2-UM2	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000		1.679
8. CDOG UM2 ITS2-UM2	1.392	1.392	1.392	1.392	1.392	1.392	1.392	

ภาพที่ 1.1.2.12 ค่าดัชนีระยะห่างทางพันธุกรรมของยีน *ITS-UM* ด้วยโปรแกรม MEGA7

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 1.1.2.13 แผนผังพันธุกรรมจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *V9* ประเมินด้วยโปรแกรม MEGA7 ที่ค่า Bootstrap 1000 ซ้ำ

	1	2	3	4	5	6	7	8
1. CM1 V9 V9U		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.960
2. CM2 V9 V9U	0.000		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.960
3. CR V9 V9U	0.000	0.000		0.000	0.000	0.000	0.000	0.960
4. O V9 V9U	0.000	0.000	0.000		0.000	0.000	0.000	0.960
5. SP V9 V9U	0.000	0.000	0.000	0.000		0.000	0.000	0.960
6. OH V9 V9U	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000		0.000	0.960
7. B V9 V9U	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000		0.960
8. CDOG V9 V9U	0.421	0.421	0.421	0.421	0.421	0.421	0.421	

ภาพที่ 1.1.2.14 ค่าดัชนีระยะห่างทางพันธุกรรมของยีน *V9* ด้วยโปรแกรม MEGA7

จากการประเมินระยะห่างทางพันธุกรรมของยีน V9 และ ITS-UM ด้วยโปรแกรม MEGA7 พบว่าในเห็ดถั่งเช่าสีทองทั้ง 7 ไอโซเลทที่รวบรวมมาไม่มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรม

กรมวิชาการเกษตร

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดในเห็ดถั่งเช่าสีทอง พบว่า การทดสอบไพรเมอร์สากลจำนวน 4 คู่ กับตัวอย่างเห็ดถั่งเช่าสีทองจำนวน 7 ไอโซเลท ได้แก่ CM1 CM2 CR O SP OH และ B โดยมีเห็ดหอมเป็นตัวอย่าง Out of group พบว่า คู่ไพร์เมอร์ ITS1-UM2+ITS2-UM2 และ V9U+V9R สามารถให้แถบดีเอ็นเอเพียง 1 แถบ มีประสิทธิภาพในการจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดมากกว่าคู่ UM4+IGS1-UM5 และ V6U+V6R ซึ่งคู่ไพรเมอร์ของยีน *ITS-UM* ได้ลำดับนิวคลีโอไทด์ขนาด 532 คู่เบส และคู่ไพรเมอร์ของยีน *V9* ได้นิวคลีโอไทด์ขนาด 429 คู่เบส สำหรับการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม พบความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไดท์ในยีน *ITS-UM* ตำแหน่งที่ 43 ในเห็ดถังเช่าตัวอย่างรหัส O จากเบส A เป็นเบส G สำหรับยีน *V9* ไม่พบความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ การจัดทำแผนผังพันธุกรรมทั้งสองยีนไม่แสดงค่าระยะห่างทางพันธุกรรม แต่เมื่อเปรียบเทียบกับลักษณะทางพันธุกรรมของเห็ดหอมที่ใช้เป็นตัวอย่าง Out of group พบให้ค่าระห่างทางพันธุกรรมในยีน *ITS-UM* ที่ค่าดัชนี 1.392 -1.679 และในยีน *V9* ที่ค่าดัชนี 0.421-0.960 แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างเห็ดถังเช่าสีทองมีลักษณะทางพันธุกรรมใกล้ชิดและเหมือนกันมาก อย่างไรก็ตามผลความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์จากยีน *ITS-UM* ตำแหน่งที่ 43 ในเห็ดถั่งเช่ารหัส O ใช้บ่งชี้ลักษณะพันธุกรรมที่เฉพาะเจาะจงสำหรับตัวอย่างรหัส O ได้ สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการจำแนกพันธุกรรมและแหล่งที่มาของเห็ดถังเช่าสีทองได้ต่อไป

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

มีความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์จากยีน *ITS-UM* ตำแหน่งที่ 43 ในเห็ดถั่งเช่ารหัส O ใช้บ่งชี้ลักษณะพันธุกรรมที่เฉพาะเจาะจงสำหรับตัวอย่างรหัส O ได้ สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการจำแนกพันธุกรรมและแหล่งที่มาของเห็ดถังเช่าสีทองได้ต่อไป

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 1.3 การปรับปรุงพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทองที่ให้ผลผลิตและคอร์เดเซปินสูง

Varietal improvement of *Cordyceps militaris* for high yield and high content of Cordycepin

สุธามาศ ณ น่าน นันทินี ศรีจุมปา รัชฎาภรณ์ ทองเหม อนุสรณ์ วัฒนกุล ธรากร มณีรัตน์

Suthamas Na-nan Nantinee Srijumpa Ratchadapron Thongham

Anusorn Wattanakul Tharakorn Maneerata

คำสำคัญ (Keywords)

การปรับปรุงพันธุ์ เห็ดถั่งเช่าสีทอง คอร์เดเซปิน

Breeding *Cordyceps militaris* Cordycepin

บทคัดย่อ

การปรับปรุงพันธุ์ถั่งเช่าสีทองด้วยวิธีผสมพันธุ์ระหว่างเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวของเห็ดถั่งเช่าสีทองคัดเลือก 5 สายพันธุ์ ได้แก่ CR1 CR3 CR5 CM1 และ CM2 โดยวิธี Mono-mono crossing ดำเนินงานที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ระหว่างเดือนตุลาคม 2562 ถึง ธันวาคม 2564 มีวัตถุประสงค์ เพื่อพัฒนาสายพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทองให้ได้ลูกผสมลักษณะดีที่มีการเจริญเติบโตรวดเร็ว ให้ผลผลิตและคอร์เดเซปินปริมาณที่สูง ผลจากการผสมพันธุ์มี 41 คู่ผสมที่เส้นใยผสมกันได้ เมื่อทดสอบการเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะข้าวหอมมะลิผสมอาหาร MMN มีลูกผสมเพียง 22 คู่ผสมที่ให้ผลผลิต โดยพบว่า ลูกผสมที่มีค่าประสิทธิภาพการผลิตสูงสุดคือ CM1-10 x CR3-4 มีประสิทธิภาพการผลิตเท่ากับ 88.98 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ปริมาณคอร์เดเซปินในดอกเห็ดอบแห้ง โดยวิธี HPLC พบว่าเห็ดถั่งเช่าสีทองลูกผสมจากการปรับปรุงพันธุ์ที่มีสารคอร์เดเซปินสูงกว่าลูกผสมคู่ผสมอื่นจำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ CR1-9 x CR3-9 และ CM1-10 x CR 3-4 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ใหม่ที่สามารถแนะนำให้กลุ่มเกษตรกรและผู้ประกอบการใช้ประโยชน์ในเชิงการค้า

กรมวิชาการเกษตร

Abstract

Varietal improvement of *Cordyceps militaris* was done by using mono-mono crossing technique of five selected varieties. Five varieties include CR1 CR3 CR5 CM1 and CM2. The experiment was carried out at Chiangrai Horticulture Research Center during October 2019 – December 2021. Hybrids which are rapid growth, high yield and high content of cordycepin were objectives of the study. 41 hybrids of compatible mycelia were cultivated on rice media added with MMN to evaluate yield. Only 22 hybrids presented stroma. CM1-10 x CR3-4 gave 88.98% of biological efficiency. Cordycepin content in dried stroma was analysed using HPLC. CR1-9 x CR3-9 and CM1-10 x CR 3-4 were 2 hybrids which presented high content of cordycepin compared to others. These two hybrids can be recommended for growers or entrepreneurs to use as commercial.

บทนำ

เห็ดถั่งเช่าสีทอง หรือ Chinese golden grass (*Cordyceps militaris*) เป็นเห็ดตระกูลเดียวกับถั่งเช่าทิเบต เกิดจากการเพาะเลี้ยงดอกและเส้นใยเห็ด ซึ่งปกติเจริญได้ที่อุณหภูมิ 10-28 องศาเซลเซียส ผลวิจัยทางเภสัชวิทยาพบว่าเห็ดถั่งเช่ามีสารสำคัญหลายชนิด ได้แก่ โมโนแซคคาไรด์ ไดแซคคาไรด์ โพลีแซคคาไรด์ (เบต้า-กลูแคน) แมนิทอล กาแลคโทส อะดีโนซีน คอร์ไดเซปิน กรดคอร์เซปิก กรดอะมิโนโปรตีน สเตอรอล วิตามิน และแร่ธาตุหลายชนิด เช่น โพแทสเซียม โซเดียม แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก คอปเปอร์ แมงกานิส สังกะสี ฟอสฟอรัส และซีลีเนียม (Bhandari et al., 2010) ถั่งเช่ามีโพลีแซคคาไรด์ 3-8% ของน้ำหนักแห้ง (Li et al., 2006) สารนี้จะเพิ่มภูมิคุ้มกัน ต้านการเกิดเนื้องอกและเซลล์มะเร็ง (Wasser, 2002) สารคอร์เดเซปิน และกรดคอร์เซปิกช่วยเพิ่มพลังงานภายในร่างกาย (Dai et al., 2001) สำหรับในประเทศไทยมีการศึกษาวิธีเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่า และได้เผยแพร่วิธีการเพาะเลี้ยงผ่านการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการโดยทีมวิจัยของคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ มานานกว่า 10 ปี (ธัญญา, 2553) เนื่องจากเห็ดถั่งเช่าสีทองมีราคาสูงและเป็นเห็ดสมุนไพรค่อนข้างใหม่สำหรับประเทศไทย ผู้ประกอบการยังขาดความเข้าใจในการพัฒนาสายพันธุ์ การผลิตจึงมักประสบปัญหาสายพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทองมีความแปรปรวนทางพันธุกรรมสูง ให้ผลผลิตไม่สม่ำเสมอ รวมทั้งปริมาณสารสำคัญคอร์เดเซปินในผลผลิต และผลิตภัณฑ์ไม่คงที่ ดังนั้นการสร้างลูกผสมสายพันธุ์ใหม่ มีลักษณะดีตรงตามเกณฑ์การคัดเลือกและมีปริมาณสารคอร์เดเซปินสูง พัฒนาพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทองให้ผลผลิตสูงมีคุณภาพดี เป็นทางเลือกเพื่อสร้างรายได้ให้แก่เกษตรกรผู้เพาะเลี้ยง การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อพัฒนาสายพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทองโดยการผสมพันธุ์ให้ได้ลูกผสมที่มีการเจริญเติบโตรวดเร็ว มีผลผลิตและสารคอร์เดเซปินสูง เหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยงในประเทศไทย ซึ่งสามารถต่อยอดงานวิจัยโดยการเผยแพร่สายพันธุ์ใหม่ให้แก่กลุ่มเกษตรกร และผู้ประกอบการที่สนใจนำไปใช้พัฒนาเพื่อประโยชน์เชิงการค้า

ระเบียบวิธีการวิจัย

- อุปกรณ์

1. สายพันธุ์เชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทองผ่านการคัดเลือกและมีประสิทธิภาพการผลิตและสารสำคัญสูง จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ CR1 CR3 CR5 CM1 CM2
2. จานแก้วเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ด, หลอดทดลอง, ขวดแก้วเพาะเลี้ยงขนาด 16 ออนซ์พร้อมฝา

3. ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar Flow) และอุปกรณ์แยกเลี้ยงเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทองในห้องปฏิบัติการ
4. อาหารแยกเชื้อบริสุทธิ์ เพิ่มปริมาณ และเพาะเลี้ยงเห็ดได้แก่ อาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) Potato Dextrose Broth (PDB) และอาหาร Modified Melin Norkans Medium (MMN) และอาหารแข็งใช้เพาะเลี้ยงเห็ดคือข้าวหอมมะลิ
5. ตู้อบฆ่าเชื้ออุปกรณ์เครื่องแก้ว ตู้อบแห้งชนิดเป่าลมร้อน และหม้อนึ่งความดันไอน้ำ
6. สารเคมีที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเห็ด และสารเคมีที่ใช้วิเคราะห์สารสำคัญ
7. อุปกรณ์บันทึกข้อมูล เช่น กล้องถ่ายภาพ เครื่องวัดความเข้มของสีดอกเห็ด และเวอร์เนีย

- วิธีการทดลอง

- แบบและวิธีการทดลอง ไม่มีแผนการทดลองทางสถิติ

วิธีปฏิบัติการทดลอง

(1) รวบรวมสายพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทองจากแหล่งต่างๆ อย่างน้อย 7 สายพันธุ์ นำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารข้าวหอมมะลิผสมอาหาร MMN และกระตุ้นการสร้างสโตรมา คัดเลือกสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิต และคอร์เดเซปินสูง เพื่อใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์สร้างลูกผสม

(2) คัดแยกเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว สายพันธุ์ละ 10 เส้นใยนิวเคลียส ผสมพันธุ์แบบสปอร์เดี่ยว (Mono-mono crossing) โดยจับทีละคู่ผสมแบบพบกันหมด

(3) นำลูกผสมเห็ดถั่งเช่าสีทองมาเลี้ยงบนข้าวหอมมะลิผสมอาหาร MMN โดยเลี้ยงในที่มืดนาน 2 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส เมื่อเส้นใยเจริญเต็มอาหารเพาะเลี้ยง นำไปวางใต้แสงไฟที่ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ นาน 12 ชั่วโมง/วัน เพื่อกระตุ้นการสร้างดอกเห็ดเป็นเวลา 6 สัปดาห์

(4) ประเมินผลผลิตและปริมาณคอร์เดเซปินของลูกผสมที่ได้ เพื่อคัดเลือกลูกผสมที่ให้สารคอร์เดเซปินสูง สำหรับใช้เป็นสายพันธุ์ใหม่แนะนำแก่เกษตรกรต่อไป

-การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูล ได้แก่ ข้อมูลการเจริญเติบโตของเส้นใยบนอาหารวุ้น PDA ลักษณะของดอกเห็ด ขนาดดอกเห็ด (ความกว้างและความยาว) น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งของผลผลิต และอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง ปริมาณสารคอร์เดเซปิน ข้อมูลสภาพแวดล้อมที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง

เกณฑ์การคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ ดังนี้ สายพันธุ์ที่เส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองมีการเจริญเติบโตรวดเร็ว มีเส้นใยหนาแน่น ให้ผลผลิตดอกเห็ดสูง ให้ดอกหรือสโตรมารูปทรงกระบอง (Club shape) ที่มีสีส้มทองสดใส ขนาดสม่ำเสมอ ไม่มีการแตกแขนงที่ส่วนปลายของหมวกดอก และมีสารสำคัญสูงจากการประเมินปริมาณสารคอร์เดเซปิน /อะดีโนซีน ซึ่งวิเคราะห์จากดอกเห็ดอบแห้งบดผงละเอียด

- เวลาและสถานที่ เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด ธันวาคม 2564
- สถานที่ทำการทดลอง ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ต.ป่าอ้อดอนชัย อ.เมือง จ.เชียงราย

กรมวิชาการเกษตร

ขั้นตอนการคัดเลือกพันธุ์และผสมพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทอง

ขั้นตอน	ระยะเวลา
รวบรวมสายพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทองจากแหล่งผลิตในประเทศ 11 สายพันธุ์	ปี 2563
เพาะบนวัสดุเพาะ เพื่อคัดเลือกเป็นพ่อแม่พันธุ์จำนวน 5 สายพันธุ์ ที่ให้ผลผลิตและให้สารคอร์เดเซปินสูง	
คัดแยกเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวจาก single spore isolation อย่างน้อยสายพันธุ์ละ 10 เส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว	
ปรับปรุงพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทองโดยการผสมพันธุ์แบบสปอร์เดี่ยว (Mono-mono crossing) ตรวจสอบการเกิดลูกผสมโดยดูการสร้าง dikaryotic hyphae ของคู่ผสม	ปี 2564
นำลูกผสมที่ได้มาเพาะบนวัสดุเพาะ คัดเลือกลูกผสมที่สร้างสโตรมาแบบ club shape และแยกเชื้อบริสุทธิ์ไว้	
เพาะเห็ดถั่งเช่าสีทองลูกผสมที่คัดเลือกไว้บนวัสดุเพาะ ประเมินลักษณะของการสร้างสโตรมา ผลผลิตและสารคอร์เดเซปิน คัดเลือกไว้อย่างน้อย 5 สายพันธุ์	
เพาะเห็ดถั่งเช่าสีทอง 5 สายพันธุ์ ประเมินผลผลิตและสารคอร์เดเซปิน คัดเลือกสายพันธุ์ที่ดีที่สุดไว้ 1 สายพันธุ์ เป็นสายพันธุ์แนะนำต่อไป	

กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและอภิปราย

- จากการรวบรวมสายพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทองจากแหล่งผลิตภายในประเทศได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ 4 สายพันธุ์ เชียงราย 5 สายพันธุ์ กรุงเทพฯ และนนทบุรีแห่งละ 1 สายพันธุ์ รวมทั้งหมดจำนวน 11 สายพันธุ์ ทำการแยกเชื้อบริสุทธิ์จากดอกเห็ดด้วยวิธี Tissue transplanting บนอาหาร MMN เก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ไว้ในอาหาร MMN เพื่อใช้ในขั้นตอนต่อไป

- ทดสอบการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองจำนวน 11 สายพันธุ์ บนอาหารแข็งโดยใช้ข้าวหอมมะลิ 40 กรัม ผสมอาหาร MMN 40 มิลลิลิตรบรรจุขวดแก้วขนาด 16 ออนซ์นึ่งฆ่าเชื้อ เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตและสารคอร์ไดเซปินสูงสำหรับใช้เป็นเป็นพ่อแม่ในการปรับปรุงพันธุ์ ผลการทดลองพบว่าเห็ดที่ให้ผลผลิตเฉลี่ยสูงสุดคือ CR5 ให้น้ำหนักผลผลิตดอกสดเฉลี่ยสูงสุด 20.57 กรัม/ขวด รองลงไปได้แก่ NT ผลผลิตดอกสดเฉลี่ย 20.08 กรัม/ขวด และ B ผลผลิตดอกสดเฉลี่ย 18.13 กรัม/ขวด ส่วนน้ำหนักผลผลิตดอกแห้งเฉลี่ยสูงสุด ได้แก่ NT 4.15 กรัม/ขวด รองลงไปได้แก่ CR5 3.61 กรัม/ขวด และ B ผลผลิตดอกแห้งเฉลี่ย 3.56 กรัม/ขวด อย่างไรก็ตามพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างน้ำหนักแห้งของดอกเห็ดทั้ง 3 สายพันธุ์ (ตารางที่ 1.1.3.1)

- เมื่อพิจารณาน้ำหนักของอาหารเพาะเลี้ยงพบสายพันธุ์ NT น้ำหนักสดมากที่สุด 68.69 กรัม/ขวด เนื่องจากระหว่างเชื้อเห็ดสร้างเส้นใยเจริญขึ้นปกคลุมอาหารเพาะเลี้ยงอย่างหนาแน่นมากที่สุด รองลงไปได้แก่ SP และ CM1 ให้น้ำหนักสดอาหาร 68.47 และ 66.17 กรัม ตามลำดับ โดยพบว่า SP มีการสร้างเฉพาะเส้นใยปกคลุมอาหารเพาะเลี้ยง แต่ไม่มีการพัฒนาเป็นดอกเห็ดที่สมบูรณ์ (ภาพที่ 1.1.3.1) สำหรับน้ำหนักแห้งของอาหารเพาะเลี้ยง พบว่า 3 อันดับแรกที่มีน้ำหนักมากที่สุดคือ CM1, O, และ CR3 เท่ากับ 26.83, 26.45, และ 26.42 กรัม/ขวดตามลำดับ (ตารางที่ 1.1.3.1) เปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิต (Biological Efficiency, BE(%)) ของเห็ดถั่งเช่าสีทองปรากฏว่า CM2 ให้ค่าประสิทธิภาพการผลิตสูงสุด 88.90% รองลงไปได้แก่ CR5 และ NT ให้ค่าประสิทธิภาพการผลิตเท่ากับ 79.69 และ 78.29% ตามลำดับ ในขณะที่ O และ B มีค่า BE% ค่อนข้างต่ำ

- ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารคอร์ไดเซปิน และอะดิโนซีน จากดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้งบดเป็นผงละเอียด ด้วยวิธี High-Performances Liquid Chromatography (HPLC) วิเคราะห์โดยใช้เครื่อง Agilent Technologies 1260 Infinity II ที่ศูนย์นวัตกรรมสมุนไพรครบวงจร มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง จังหวัดเชียงราย พบปริมาณสารคอร์เดเซปินสูงสุด 31.27 กรัม/กิโลกรัม ในสายพันธุ์ CR1 รองลงไปได้แก่ CR3 และ CM2 มีสาร 25.24 และ 23.46 กรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ ส่วนปริมาณอะดิโนซีนสายพันธุ์ CM1 มีปริมาณสูงที่สุด 10.44 กรัม/กิโลกรัม รองลงไปได้แก่ CR1 และ CM2 วัดค่าได้ 10.08 และ 9.71 กรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ โดยเกณฑ์การคัดเลือกเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ ได้แก่ เส้นใยเจริญได้รวดเร็ว มีความหนาแน่น สร้างดอกสีส้มทองสดใส ขนาดสม่ำเสมอไม่แตกแขนงที่ส่วนปลายของหมวกดอก ให้ผลผลิตสูง รวมทั้งมีปริมาณสารคอร์เดเซปินและอะดิโนซีนสูง ซึ่งจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า สายพันธุ์ที่มีอัตราการเจริญของเส้นใยสูงสุดบนอาหาร PDA 3 อันดับแรกได้แก่ CR4 B และ CR5 ส่วนที่ให้ผลผลิตดอกเห็ดสดและอบแห้งสูงสุด ได้แก่ CR5 NT และ B แต่เมื่อพิจารณาปริมาณสารสำคัญ เห็ดสายพันธุ์ที่ให้สารคอร์เดเซปินสูงสุด 3 อันดับแรกได้แก่ CR1 CR3 และ CM2 ส่วนอะดิโนซีนพบใน CM1 สูงสุด รองลงไปได้แก่ CR 1 และ CM2 ในขณะที่สายพันธุ์ NT ซึ่งให้น้ำหนักผลผลิตเฉลี่ยและค่าประสิทธิภาพการผลิตสูง แต่กลับพบว่ามีปริมาณสารสำคัญต่ำกว่าสายพันธุ์อื่น (ตารางที่ 1.1.3.2) ดังนั้นจึงได้เลือก CR1 CR3 CR5 CM1 และ CM2 ใช้ในการผสมพันธุ์ขั้นตอนต่อไป

- การผสมพันธุ์แบบสปอร์เดี่ยว (Mono-mono crossing) โดยนำเห็ดที่ได้จากการคัดเลือก 5 สายพันธุ์จับคู่ผสมแบบพบกันหมดได้จำนวน 41 คู่ผสม และเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งข้าวหอมมะลิผสมสารละลาย MMN บ่มเชื้อในห้องควบคุมอุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส 2 สัปดาห์ และให้แสงที่ความเข้ม 1,000 ลักซ์ เพื่อกระตุ้นการเกิดดอกเห็ด 12 ชั่วโมง/วัน นาน 6 สัปดาห์ ผลการทดลองเห็ดถั่งเช่าสีทองทั้ง 41 คู่ผสมสร้างเส้นใยขึ้นปกคลุมอาหาร

กรมวิชาการเกษตร

เพาะเลี้ยงได้ แต่มีเพียง 22 คู่ผสมเท่านั้นที่เส้นใยพัฒนาเกิดเป็นดอกเห็ดที่มีลักษณะดีตรงตามเกณฑ์การคัดเลือก ทำการเก็บเกี่ยวและประเมินผลผลิตของลูกผสมพบว่า คู่ผสมที่ให้ผลผลิตดอกเห็ดสดเฉลี่ยสูงสุดคือ CM1-1 x CR1-2 เท่ากับ 23.42 กรัม/ขวด รองลงไปได้แก่ CR1-6 x CR3-6 และ CR1-10 x CR3-10 ผลผลิตดอกสดเฉลี่ย 22.04 กรัม/ขวด และ 21.80 กรัม/ขวด สำหรับน้ำหนักดอกแห้งเฉลี่ยสูงสุดคือ CM1-1 x CR3-1 เท่ากับ 3.55 กรัม/ขวด รองลงไปได้แก่ CM1-9 x CR3-1 และ CM1-1 x CR1-2 ได้น้ำหนักดอกแห้งเฉลี่ย 3.52 และ 3.49 กรัม/ขวด ในส่วนของอาหารเพาะเลี้ยงพบคู่ผสม CR1-6 x CR3-6 ให้น้ำหนักสดมากที่สุด 74.76 กรัม/ขวด เกิดจากเชื้อเห็ดสร้างเส้นใยเจริญขึ้นปกคลุมอาหารเพาะเลี้ยงหนาแน่นมากที่สุด รองลงไปได้แก่ CM1-1 x CR1-2 และ CR1-4 x CR3-4 ให้น้ำหนักสดอาหาร 72.54 และ 70.10 กรัม/ขวด ตามลำดับ เมื่ออบแห้งอาหารเพาะเลี้ยงพบว่า 3 อันดับแรกที่มีน้ำหนักมากที่สุดคือ CR3-9 x CR5-14, CM1-4 x CR1-4, และ CM1-1 x CR3-1 เท่ากับ 27.98, 27.78, และ 27.23 กรัม/ขวดตามลำดับ (ตารางที่ 1.1.3.3, ภาพที่ 1.1.3.2)

- เปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิต (Biological Efficiency, BE%) ของลูกผสมเห็ดถั่งเช่าสีทองจำนวน 22 สายพันธุ์กับพ่อแม่พันธุ์ปรากฏว่าลูกผสม CM1-10 x CR3-4 มีค่า BE สูงสุด 88.98% รองลงไปได้แก่ CM1-1 x CR1-2 และ CM1-9 x CM2-9 ค่า BE 86.63 และ 80.97% ตามลำดับ ในขณะที่ CM2 มีค่าประสิทธิภาพการผลิต 84.04% (ตารางที่ 1.1.3.4 และ ภาพที่ 1.1.3.3)

- ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารคอร์ไดเซปิน ในลูกผสมถั่งเช่าสีทอง ซึ่งใช้ส่วนของดอกเห็ดอบแห้งบดเป็นผงละเอียด ด้วยวิธี HPLC ที่ศูนย์นวัตกรรมสมุนไพรครบวงจร มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง จังหวัดเชียงราย พบว่าลูกผสม CR1-9 x CR3-9 มีปริมาณคอร์เดเซปินสูงสุด 44.52 กรัม/กิโลกรัม รองลงไปได้แก่ CM1-10 x CR3-4 และ CR3-5 x CR 5-6 มีคอร์เดเซปินเท่ากับ 42.48 และ 39.30 กรัม/กิโลกรัมตามลำดับ (ตารางที่ 1.1.3.4)

สรุปผลการทดลอง

- คัดเลือกเห็ดถั่งเช่าสีทองได้ 5 สายพันธุ์ที่ให้ให้ผลผลิตและสารสำคัญสูง ได้แก่ CR1, CR3, CR5, CM1 และ CM2 สำหรับใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ใหม่

- สร้างลูกผสมโดยนำพ่อแม่พันธุ์ไปคัดแยกเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว และจับคู่ผสมแบบสปอร์เดี่ยว ได้ลูกผสมทั้งหมดจำนวน 41 คู่ผสม ผ่านการประเมินลักษณะและการให้ผลผลิต จำนวน 22 คู่ผสม

- ลูกผสมของเห็ดถั่งเช่าสีทองสายพันธุ์ CR1-9 x CR3-9 และ CM1-10 x CR 3-4 เป็นสายพันธุ์ได้จากการปรับปรุงพันธุ์ที่ให้ค่าประสิทธิภาพการผลิตสูงสุด และมีปริมาณสารคอร์เดเซปินสูง สำหรับใช้เป็นสายพันธุ์แนะนำให้แก่กลุ่มเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองในจังหวัดเชียงราย และพื้นที่ใกล้เคียง

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

- ลูกผสมเห็ดถั่งเช่าสีทองสายพันธุ์ใหม่ CR1-9 x CR3-9 และ CM1-10 x CR 3-4 ที่ให้ผลผลิต และปริมาณคอร์เดเซปินสูง สามารถขยายผลให้กลุ่มเกษตรกร อ.แม่ลาว อ.พาน และ อ.เมือง จ.เชียงราย หรือแหล่งผลิตอื่นที่สนใจนำไปใช้ประโยชน์ เพื่อพัฒนาการผลิตเห็ดสมุนไพรถั่งเช่าสีทองให้มีปริมาณและคุณภาพมากขึ้น

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 1.3.1 น้ำหนักผลผลิตของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงด้วยข้าวหอมมะลิผสมอาหาร MMN นาน 60 วัน ในห้องควบคุมอุณหภูมิ 20-22 องศาเซลเซียส

สายพันธุ์	น้ำหนักดอกเห็ด (กรัม/ขวด) [1]		น้ำหนักอาหารที่เพาะเลี้ยง (กรัม/ขวด)	
	ดอกสด	ดอกแห้ง	น้ำหนักสด	น้ำหนักแห้ง
CR1	11.95e[2]	2.04d	66.06	24.87
CR2	17.59bc	2.92bc	59.90	23.96
CR3	17.40bc	2.95bc	64.52	26.42
CR4	13.59de	2.78c	59.53	24.83
CR5	**20.57a**	**3.61ab**	63.10	26.12
CM1	16.31cd	2.82c	66.17	26.83
CM2	15.32cd	3.02bc	55.48	23.71
B	18.13a-c	**3.56ab**	62.59	24.45
O	16.17cd	3.43bc	60.93	26.45
NT	20.08ab	**4.15a**	68.69	24.57
SP	-[3]	-	68.47	24.67
F-test	**	**	ns	ns
C.V. (%)	12.6	16.0	12.5	7.6

[1] น้ำหนักผลผลิตดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง และอาหารเพาะเลี้ยงเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำๆ ละ 1 ขวด (ขวดขนาด 16 ออนซ์)

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกัน แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ด้วยวิธี DMRT

[3] สายพันธุ์ SP ที่เส้นใยไม่พัฒนาเป็นดอกเห็ดที่สมบูรณ์

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 1.3.2 ประสิทธิภาพการผลิตของเห็ดถั่งเช่าสีลูกผสมที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารข้าวหอมมะลิผสมสารละลาย MMN และปริมาณคอร์เดเซปิน และอะดีโนซีนในดอกเห็ดอบแห้ง

ไอโซเลท	ประสิทธิภาพการผลิต % Biological Efficiency[1]	ปริมาณคอร์เดเซปิน[2] กรัม/กิโลกรัม	ปริมาณอะดีโนซีน[2] กรัม/กิโลกรัม
CR1	48.33	**31.25**	**10.08**
CR2	74.38	20.70	9.33
CR3	60.59	**25.24**	7.61
CR4	60.81	16.22	7.19
CR5	79.69	18.30	8.54
CM1	53.90	19.27	**10.44**
CM2	88.90	**23.46**	**9.71**
B	38.75	20.01	6.63
O	31.16	18.47	6.12
NT	78.29	18.29	5.32
SP	-[3]	-	-

[1] Biological Efficiency % เฉลี่ย 5 ซ้ำคำนวณจากสูตร
น้ำหนักดอกเห็ดสด/น้ำหนักอาหารเพาะเลี้ยงอบแห้ง X 100

[2] ปริมาณสารคอร์เดเซปิน และอะดีโนซีน วิเคราะห์วิธี High-Performances Liquid Chromatography (HPLC) เครื่อง Agilent Technologies 1260 Infinity II โดยศูนย์นวัตกรรมสมุนไพรครบวงจร มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ตำบลท่าสุด อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย

[3] เห็ดถั่งเช่าไอโซเลท SP สร้างเฉพาะเส้นใยไม่มีการพัฒนาเป็นดอกเห็ดบนอาหารเพาะเลี้ยง

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 1.3.3 ปริมาณผลผลิตของลูกผสมเห็ดถั่งเช่าสีทอง และอาหารที่เพาะเลี้ยง เปรียบเทียบกับพ่อแม่พันธุ์

คู่ผสม เห็ดถั่งเช่าสีทอง	จำนวน ดอกเห็ด/ขวด	น้ำหนักดอกเห็ด (กรัม/ขวด) [1]		น้ำหนักอาหารที่เพาะเลี้ยง (กรัม/ขวด)	
		ดอกสด	ดอกแห้ง	น้ำหนักสด	น้ำหนักแห้ง
CR1-4 x CR3-4	19.2 d-h	18.46 a-f	2.74 abc	**70.10 abc**	26.62 a
CR1-6 x CR3-6	24.0 a-f	**22.04 ab**	2.86 abc	**74.76 a**	26.76 a
CR1-7 x CR3-7	**31.8 ab**	17.62 b-f	2.86 abc	62.32 a-d	23.94 ab
CR1-9 x CR3-9	30.2 abc	17.56 b-f	2.84 abc	60.58 a-d	24.52 ab
CR1-10 x CR3-10	29.0 abc	**21.80 abc**	2.78 abc	66.90 a-d	25.94 ab
CR1-14 x CR3-10	**32.2 a**	20.40 a-e	2.69 abc	65.78 a-d	25.16 ab
CR3-1 x CR5-2	13.8 gh	15.64 ef	2.77 abc	59.84 a-d	25.13 ab
CR3-4 x CR5-4	10.4 h	19.44 a-f	2.90 abc	62.86 a-d	24.74 ab
CR3-5 x CR5-5	22.0 c-g	16.38 def	3.06 abc	62.36 a-d	23.16 ab
CR3-5 x CR5-6	17.8 e-h	16.62 c-f	2.80 abc	64.76 a-d	26.54 a
CR3-7 x CR5-10	9.8 h	17.66 b-f	2.92 abc	64.72 a-d	27.22 a
CR3-9 x CR5-14	13.6 gh	14.48 f	2.32 c	68.83 abc	**27.98 a**
CM1-1 x CR1-2	22.6 b-g	**23.42 a**	**3.49 a**	**72.54 ab**	27.22 a
CM1-3 x CR1-3	18.4 e-h	17.46 b-f	2.89 abc	67.40 a-d	27.06 a
CM1-4 x CR1-4	19.0 d-h	19.94 a-e	3.48 a	67.26 a-d	**27.78 a**
CM1-7 x CR1-7	28.2 a-d	17.88 b-f	2.92 abc	66.78 a-d	26.78 a
CM1-1 x CR3-1	15.8 fgh	20.08 a-e	**3.55 a**	65.55 a-d	27.23 a
CM1-7 x CR3-9	29.6 abc	18.34 b-f	3.22 ab	60.24 a-d	25.80 ab
CM1-8 x CR3-10	25.8 a-e	18.10 b-f	3.10 abc	62.80 a-d	25.26 ab
CM1-9 x CR3-1	16.4 e-h	20.66 a-e	**3.52 a**	62.70 a-d	26.48 a
CM1-10 x CR3-4	16.0 fgh	19.80 a-e	3.13 abc	62.60 a-d	22.25 ab
CM1-9 x CM2-9	24.4 a-f	21.44 a-d	3.48 a	68.82 abc	26.48 a
CR1	27.5 a-d	18.45 b-f	2.92 abc	62.62 a-d	23.32 ab
CR3	10.2 h	16.07 def	2.75 abc	62.22 a-d	22.25 ab
CR5	25.5 a-e	17.20 b-f	3.32 ab	52.44 cd	24.80 ab
CM1	22.5 b-g	16.27 def	2.97 abc	60.35 a-d	24.77 ab
CM2	22.2 b-g	16.37 def	2.87 abc	50.08 d	19.40 b
CV (%)	30.1	18.5	14.8	8.9	7.3

[1] น้ำหนักผลผลิตดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง และอาหารเพาะเลี้ยงเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำๆ ละ 1 ขวด (ขวดขนาด 16 ออนซ์)

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกัน แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ด้วยวิธี DMRT

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 1.3.4 ค่าประสิทธิภาพการผลิตและปริมาณคอร์เดเซปินในดอกอบแห้งของลูกผสมเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงด้วยข้าวหอมมะลิผสมอาหาร MMN

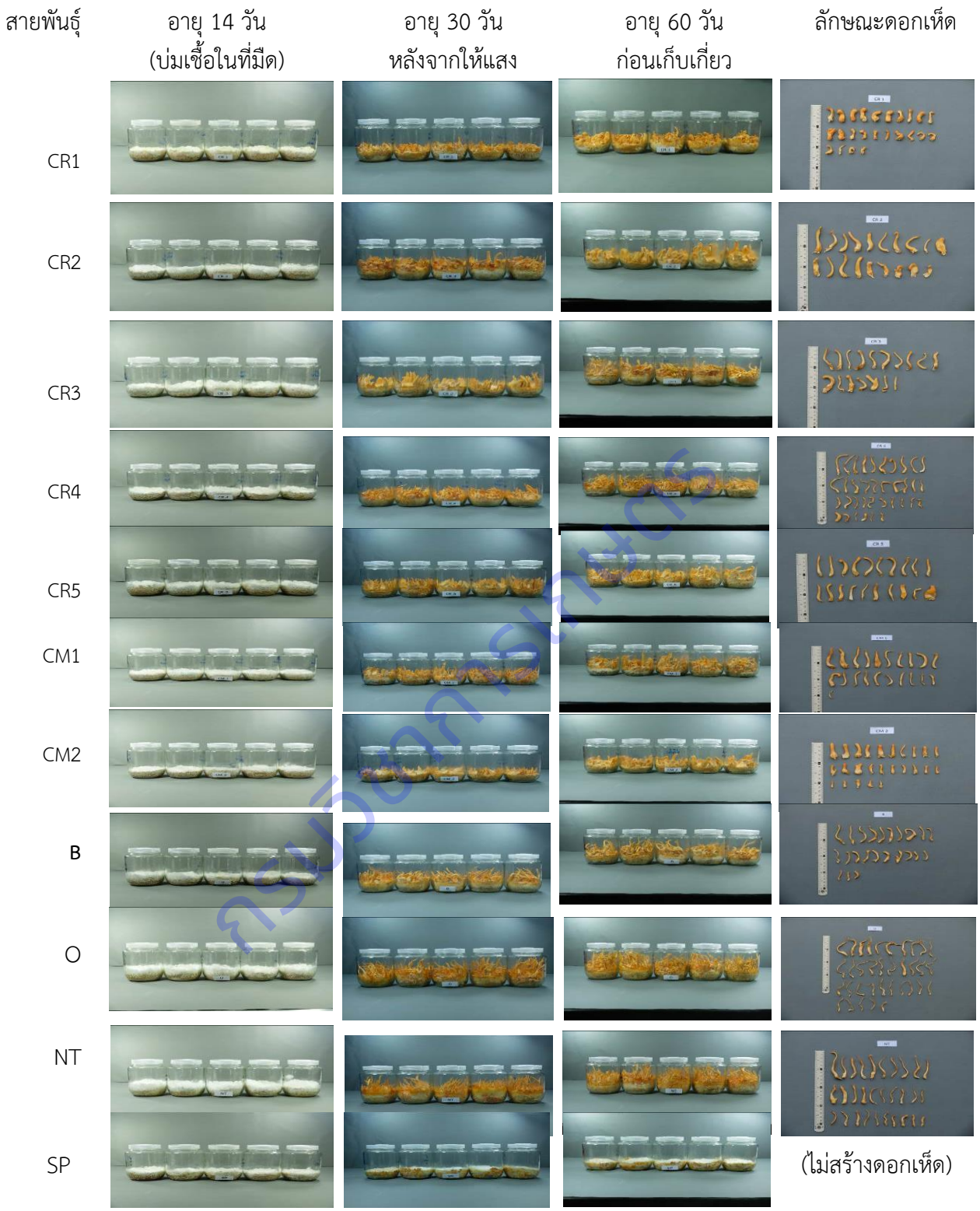
สายพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทอง	ประสิทธิภาพการผลิต Biological Efficiency %[1]	ปริมาณคอร์เดเซปิน[2] กรัม/กิโลกรัม
CR1-4 x CR3-4	69.35	30.97
CR1-6 x CR3-6	82.36	26.13
CR1-7 x CR3-7	73.60	24.14
CR1-9 x CR3-9	71.62	**44.52**
CR1-10 x CR3-10	84.04	27.50
CR1-14 x CR3-10	81.10	31.00
CR3-1 x CR5-2	62.22	22.62
CR3-4 x CR5-4	78.57	17.16
CR3-5 x CR5-5	70.07	17.53
CR3-5 x CR5-6	62.26	**39.30**
CR3-7 x CR5-10	64.49	30.35
CR3-9 x CR5-14	51.75	26.14
CM1-1 x CR1-2	**86.03**	28.40
CM1-3 x CR1-3	64.52	36.94
CM1-4 x CR1-4	71.77	26.42
CM1-7 x CR1-7	66.70	33.60
CM1-1 x CR3-1	73.74	23.80
CM1-7 x CR3-9	71.08	24.84
CM1-8 x CR3-10	71.65	19.50
CM1-9 x CR3-1	78.02	37.42
CM1-10 x CR3-4	**88.98**	**42.48**
CM1-9 x CM2-9	80.97	28.20
CR1	79.12	32.90
CR3	72.20	27.50
CR5	69.35	23.06
CM1	65.68	31.10
CM2	**84.38**	25.60

[1] Biological Efficiency % เฉลี่ย 5 ซ้ำคำนวณจากสูตร

BE % = น้ำหนักดอกเห็ดสด/น้ำหนักอาหารเพาะเลี้ยงอบแห้ง X 100

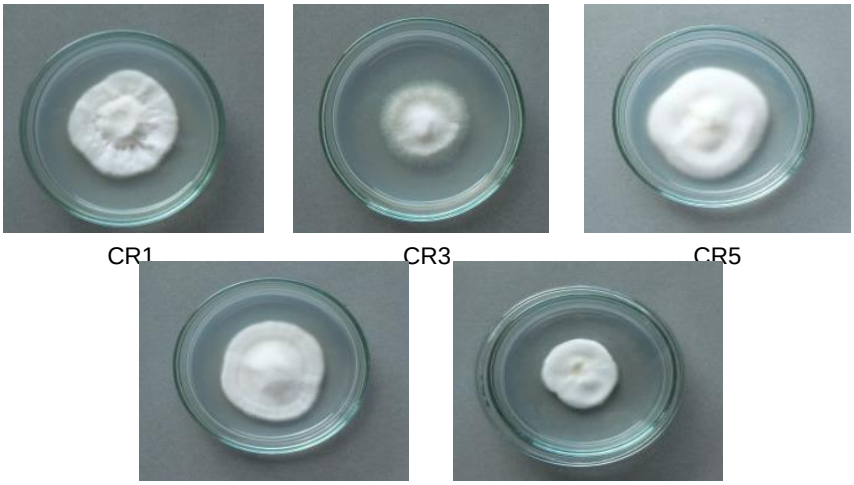
[2] ปริมาณสารคอร์เดเซปิน และอะดีโนซีน วิเคราะห์วิธี High-Performances Liquid Chromatography (HPLC) เครื่อง Agilent Technologies 1260 Infinity II (ศูนย์นวัตกรรมสมุนไพรครบวงจร มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง)

กรมวิชาการเกษตร

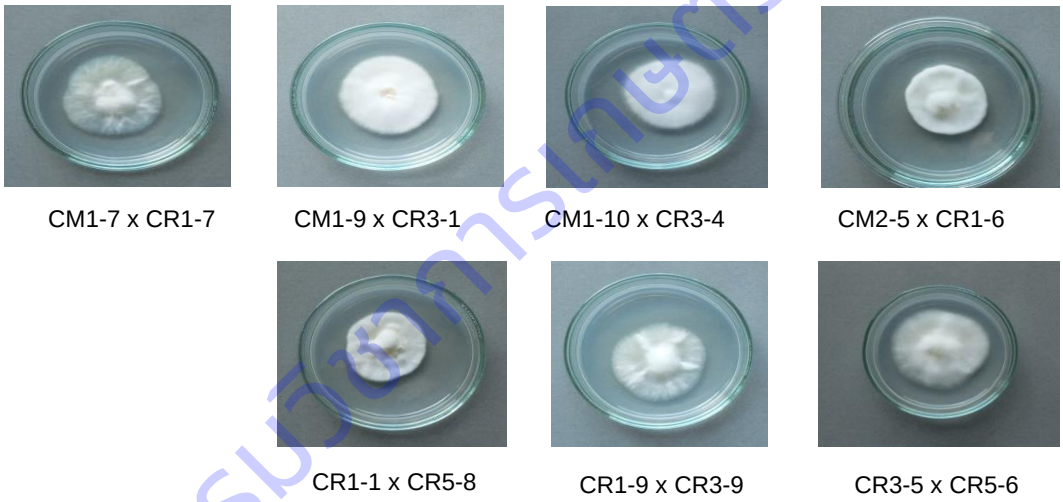


ภาพที่ 1.1.3.1 ลักษณะเส้นใยและดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง 11 สายพันธุ์ เพาะบนอาหารแข็งข้าวหอมมะลิผสมอาหาร MMN ที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส

กรมวิชาการเกษตร



(ก) โคโลนีและเส้นใยของเห็ดถั่งเช่าสีทองสายพันธุ์คัดเลือกใช้เป็นพ่อแม่สร้างลูกผสม



(ข) โคโลนีและเส้นใยของลูกผสมเห็ดถั่งเช่าสีทองสายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกและประเมินลักษณะ

ภาพที่ 1.1.3.2 ลักษณะโคโลนีและเส้นใยของพ่อแม่พันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทอง (ก) และลูกผสมสายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือก อายุ 7 วันเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

กรมวิชาการเกษตร

(ก) ลูกผสม CR1-9 x CR3-9

(ข) ลูกผสม CM1-10 x CR3-4

ภาพที่ 1.1.3.3 ลักษณะเส้นใยและผลผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองลูกผสม 2 สายพันธุ์คัดเลือก

กรมวิชาการเกษตร

กิจกรรมที่ 2
เทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อให้ได้คอร์เดเซปินสูง
Cultivation Technology of *Cordyceps militaris* for higter production of cordycepin

การทดลองที่ 2.1 ชนิดของธัญพืชเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ให้ผลผลิตและสารคอร์เดเซปินสูง

Types of grains for *Cordyceps militaris* cultivation to obtain high yield and high content of cordycepin

บุญปิยธิดา คล่องแคล่ว สุปัน ไม้ดัดจันทร์
นันทินี ศรีจุมปา สุธามาศ ณ น่าน ธรากร มณีรัตน์
Boonpiyathida Klongklaew Supan Maidatchan
Nantinee Srijumpa Suthamas Na-Nan Tarakorn Maneerat

คำสำคัญ (Keywords)
Cordyceps militaris, cultivation, cordycepin
เห็ดถั่งเช่าสีทอง, การเพาะ, คอร์เดเซปิน

บทคัดย่อ

จากการศึกษาชนิดของธัญพืชเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ให้ผลผลิตและสารคอร์เดเซปินสูง ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ระหว่างเดือนตุลาคม 2562 ถึงเดือนกันยายน 2563 โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB 7 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ ประกอบด้วย ข้าวกล้องหอมมะลิ ข้าวขาวหอมมะลิ ข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวขาวเสาไห้ ข้าวญี่ปุ่น ข้าว กข. 43 และลูกเดือย พบว่า ลูกเดือย เป็นวัสดุเพาะที่ให้ปริมาณผลผลิตและสารสำคัญ คือ คอร์เดเซปินและอะดีโนซีนมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับธัญพืชอื่น ส่วนข้าว กข. 43 ให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งของดอกเห็ดและปริมาณสารสำคัญน้อยที่สุด

กรมวิชาการเกษตร

Abstract

The study of grains' types to cultivate *Cordyceps militaris* for high yield and high content of cordycepin was conducted at Chiangrai Horticulture Research Center during October 2019 - September 2020. Randomized complete block design with 7 treatments and 4 replications was applied. Seven grains were Jasmine brown rice, Jasmine white Rice, Riceberry Rice, Sao Hai, Japanese rice, Kor Ko. 43 and millet. It was found that millet gave the highest yield as well as highest cordycepin and adenosine content. Rice var. Kor Ko 43 gave the lowest fresh and dried weight of fruit bodies and lowest both corycepin and adenosine.

บทนำ

เห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) มีความแตกต่างจากเห็ดถั่งเช่าสีทองทิเบต (*Ophiocordyceps sinensis*) หลายด้าน ได้แก่ การเพาะเลี้ยงที่ง่ายกว่า มีการเจริญเติบโตที่เร็วกว่าและมีสารคอร์เดเซปินที่สูงกว่า ซึ่งสารนี้ช่วยให้ร่างกายสามารถใช้ออกซิเจนได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงขึ้น ซึ่งในอาหารเลี้ยงเชื้อหากมีการเติมสารบางชนิดลงไปจะช่วยเพิ่มปริมาณสารออกฤทธิ์ทางยาสูงขึ้น การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยอาหารเพาะเลี้ยงสามารถแบ่งตามลักษณะของอาหารได้ 2 แบบ คือ อาหารเหลวและอาหารแข็ง (ธัญญา, 2555) ข้าวที่เป็นวัสดุหลักในการเพาะเลี้ยงเห็ดถังเช่าสีทอง ประกอบด้วยสารอาหารต่าง ๆ มากมาย ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต 70 - 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นแป้งเกือบทั้งหมด มีน้ำตาลซูโครส (sucrose) และน้ำตาลเดกซ์ทริน (dextrin) เล็กน้อย ในข้าวเจ้า มีโปรตีน 7 - 8 เปอร์เซ็นต์ ในข้าวกล้อง มีปริมาณไขมันสูงกว่าข้าวชนิดอื่น เพราะข้าวกล้องยังมีส่วนของรำข้าวอยู่ มีใยอาหาร ไขมันและวิตามินบี 1 มากกว่าข้าวชนิดอื่น และมีวิตามินและแร่ธาตุสูงกว่าข้าวขาว โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ธาตุฟอสฟอรัส ธาตุแมกนีเซียม ไนอาซิน และวิตามินบี 1 (สุนทร, 2561) เห็ดถั่งเช่าสีทองได้รับความนิยมแพร่หลายและเริ่มมีการเพาะเลี้ยงมากในประเทศไทยหลากหลายรูปแบบ เช่น การเพาะแบบใช้ตัวหนอน การเพาะด้วยอาหารเหลว และการเพาะโดยใช้อาหารธัญพืช

วิธีการเพาะด้วยอาหารและธัญพืชเป็นวิธีการที่นิยมในการเพาะเลี้ยงอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีข้อดีที่สามารถชักนำให้เกิดดอกเห็ดและสามารถควบคุมสูตรอาหารให้ได้ผลผลิตและปริมาณสารสำคัญตามที่ต้องการได้ รวมถึงเมล็ดธัญพืชสามารถหาได้ง่าย อย่างไรก็ตามการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองยังพบปัญหาสำคัญ ได้แก่ ความแปรปรวนของสายพันธุ์และวิธีการผลิตที่แตกต่างกัน ส่งผลต่อปริมาณผลผลิต รูปร่างลักษณะของดอกเห็ดและปริมาณสารสำคัญ การศึกษาในครั้งนี้จะทดลองใช้ธัญพืชชนิดต่าง ๆ ในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองให้มีปริมาณผลผลิตและสารคอร์เดเซปินสูง จะช่วยให้เกษตรกรผู้ที่สนใจสามารถนำเทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองไปปรับใช้ได้ในอนาคตต่อไป

กรมวิชาการเกษตร

ระเบียบวิธีการวิจัย

วางแผนการทดลองแบบ RCB 7 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ (จำนวน 10 ขวด/ซ้ำ) โดยกรรมวิธี คือ ชนิดธัญพืช ได้แก่

1. ข้าวกล้องหอมมะลิ
2. ข้าวขาวหอมมะลิ
3. ข้าวไรซ์เบอร์รี่
4. ข้าวขาวเสาไห้
5. ข้าวญี่ปุ่น
6. ข้าว กข 43
7. ลูกเดือย

- นำเมล็ดธัญพืชใส่ในขวดแก้วขนาด 8 ออนซ์ ขวดละ 25 กรัม แล้วเติมสารละลาย MMN (ภาคผนวก) ขวดละ 25 กรัม สำหรับลูกเดือยจะต้องแช่น้ำทิ้งไว้ 1 คืน ก่อนนำไปล้างทำความสะอาดแล้วจึงบรรจุขวด เติมสารละลาย MMN นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 40 นาที

- เตรียมหัวเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยเลี้ยงเส้นใยในอาหาร Potato dextrose broth (PDB) บนเครื่องเขย่าความเร็ว 7,800 - 8,400 รอบ/ชั่วโมง โดยเขย่า 2 ชั่วโมง และหยุด 1 ชั่วโมง นาน 6 วัน นำเชื้อเหลวเทลงบนวัสดุเพาะขวดละ 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มเชื้อในที่มืดเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ภายในห้องควบคุมอุณหภูมิ 20 - 22 องศาเซลเซียส เมื่อเส้นใยของเห็ดถั่งเช่าเจริญเติบโตเต็มอาหาร นำไปวางไว้ใต้แสงไฟที่ความเข้มแสง 600 - 1,000 ลักซ์ วันละ 12 ชั่วโมง เพื่อกระตุ้นการสร้างดอกเห็ด (stroma) เป็นเวลา 6 สัปดาห์

- บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโต ได้แก่ วัดความยาว ชั่งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของดอกเห็ด รวมทั้งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งวัสดุที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง นำข้อมูลที่ได้ไปเปรียบเทียบและวิเคราะห์ผลทางสถิติ

- วิเคราะห์ปริมาณคอร์เดเซปินและอะดีโนซีนในผลผลิตโดยวิธี High Performances Liquid Chromatography (HPLC) ที่ห้องปฏิบัติการของศูนย์ความเลิศด้านสมุนไพรและการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ผลการทดลองและอภิปราย

จากการทดลองชนิดของธัญพืชที่ใช้เพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองทั้ง 7 ชนิด ได้แก่ ข้าวกล้องหอมมะลิ ข้าวขาวหอมมะลิ ข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวขาวเสาไห้ ข้าวญี่ปุ่น ข้าว กข. 43 และลูกเดือย พบว่า ข้าวไรซ์เบอร์รี่ ให้จำนวนดอกเห็ดมากที่สุด เท่ากับ 20 - 35 ดอกต่อขวด รองลงมา ได้แก่ ข้าวขาวหอมมะลิ ข้าว กข. 43 และลูกเดือย เท่ากับ 18 - 30 16 - 35 และ 14 - 35 ดอกต่อขวด ตามลำดับ ส่วนข้าวกล้องหอมมะลิให้จำนวนดอกเห็ดน้อยที่สุด เท่ากับ 14 - 25 ดอกต่อขวด แต่ข้าวกล้องหอมมะลิให้ขนาดความกว้างของดอกเห็ดมากที่สุด เท่ากับ 0.47 เซนติเมตร ส่วนกรรมวิธีอื่นให้ขนาดความกว้างของดอกเห็ดไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนความสูงของดอกเห็ดมีความแตกต่างกันในแต่ละกรรมวิธี โดยลูกเดือยให้ขนาดความสูงของดอกเห็ดมากที่สุด เท่ากับ 4.27 เซนติเมตร รองลงมา ได้แก่ ข้าวกล้องหอมมะลิ ข้าวไรซ์เบอร์รี่ และข้าวขาวหอมมะลิ เท่ากับ 3.84 3.42 และ 2.94 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนข้าวขาวเสาไห้ให้ความสูงดอกเห็ดน้อยที่สุด เท่ากับ 2.70 เซนติเมตร (ตารางที่ 2.2.1.1 และภาพที่ 2.2.1.1)

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 2.2.1.1 จำนวนดอกเห็ด ความกว้างและความสูงของดอกเห็ดในแต่ละกรรมวิธี

ชนิดธัญพืช	จำนวนดอกเห็ด	ความกว้างดอกเห็ด (ซม.)	ความสูงดอกเห็ด (ซม.)
ข้าวกล้องหอมมะลิ	14-25	0.47 a [1/]	3.84 b
ข้าวขาวหอมมะลิ	18-30	0.35 b	2.94 d
ข้าวไรซ์เบอร์รี่	20-35	0.35 b	3.42 c
ข้าวขาวเสาไห้	13-30	0.35 b	2.70 d
ข้าวญี่ปุ่น	15-32	0.37 b	2.75 d
ข้าว กข. 43	16-35	0.33 b	2.80 d
ลูกเดือย	14-35	0.36 b	4.27 a
CV.%	-	18.6	16.9

หมายเหตุ [1/] ค่าเฉลี่ยที่ใช้ตัวอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

ภาพที่ 2.2.1.1 ลักษณะดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองหลังเพาะเลี้ยงในธัญพืชชนิดต่าง ๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์
T1 = ข้าวกล้องหอมมะลิ T2 = ข้าวขาวหอมมะลิ T3 = ข้าวไรซ์เบอรี่ T4 = ข้าวขาวเสาไห้
T5 = ข้าวญี่ปุ่น T6 = ข้าว กข. 43 และ T7 = ลูกเดือย

กองวิชาการเกษตร

สำหรับน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของดอกเห็ด ชนิดของธัญพืชที่ให้ผลผลิตของเห็ดถั่งเช่าสีทองมากที่สุด คือ ลูกเดือย เท่ากับ 16.27 และ 2.69 กรัม/ขวด ตามลำดับ น้ำหนักสดรองลงมา ได้แก่ ข้าวกล้องหอมมะลิ ข้าวญี่ปุ่น และข้าวไรซ์เบอร์รี่ เท่ากับ 11.66 11.59 และ 11.17 กรัม/ขวด ตามลำดับ ส่วนน้ำหนักแห้งรองลงมา ได้แก่ ข้าวญี่ปุ่น ข้าวกล้องหอมมะลิ และข้าวไรซ์เบอร์รี่ เท่ากับ 2.63 2.62 และ 2.38 กรัม/ขวด ตามลำดับ ส่วนข้าว กข. 43 ให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งน้อยที่สุด เท่ากับ 8.43 และ 1.75 กรัม/ขวด ตามลำดับ ส่วนวัสดุเพาะที่ให้น้ำหนักสดมากที่สุด คือ ข้าวขาวหอมมะลิ เท่ากับ 43.28 กรัม/ขวด รองลงมา ได้แก่ ข้าว กข. 43 ข้าวขาวเสาไห้ และข้าวไรซ์เบอร์รี่ เท่ากับ 41.51 40.08 และ 38.56 กรัม/ขวด ตามลำดับ และวัสดุเพาะที่ให้น้ำหนักแห้งมากที่สุด คือ ข้าวขาวเสาไห้ เท่ากับ 18.82 กรัม/ขวด รองลงมา ได้แก่ ข้าว กข. 43 ข้าวขาวหอมมะลิ และข้าวไรซ์เบอร์รี่ เท่ากับ 17.65 17.58 และ 15.94 กรัม/ขวด ตามลำดับ ส่วนวัสดุเพาะที่ให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งน้อยที่สุด คือ ลูกเดือย เท่ากับ 28.28 และ 8.06 กรัม/ขวด ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการผลิต พบว่า ลูกเดือย มีค่าประสิทธิภาพการผลิตสูงสุดถึง 201.86 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา ได้แก่ ข้าวกล้องหอมมะลิและข้าวไรซ์

เบอรี่ เท่ากับ 73.89 และ 70.08 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และข้าว กข. 43 มีประสิทธิภาพการผลิตต่ำสุด คือ 47.76 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2.2.1.2)

การที่ลูกเดือยมีประสิทธิภาพการผลิตสูง อาจจะเนื่องมาจากเมล็ดลูกเดือยประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนสูง โดยลูกเดือยต้มมีปริมาณโปรตีน ไขมัน ความชื้น เถ้า เส้นใย และคาร์โบไฮเดรต เท่ากับ 18.20 7.63 67.80 0.82 0.93 และ 4.63 กรัม/100 กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ (ศิริวรรณและคณะ, 2560) ในขณะที่การเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยข้าว กข. 43 ซึ่งมีค่าดัชนีน้ำตาลต่ำกว่าข้าวชนิดอื่นทั่วไป เช่น ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่มีค่าดัชนีน้ำตาลมากกว่า 69.0 แต่ข้าว กข. 43 จะมีค่าดัชนีน้ำตาลอยู่ที่ 57.5 เท่านั้น ส่งผลให้ค่าประสิทธิภาพการผลิตต่ำไปด้วย เนื่องจากน้ำตาลกลูโคสซึ่งเป็นอาหารที่เส้นใยเห็ดถั่งเช่าสามารถนำไปใช้นั้นมีต่ำกว่าข้าวชนิดอื่น ธัญพืชแต่ละชนิดมีผลต่อการเจริญทางเส้นใย ผลผลิตและคุณภาพของเห็ดถั่งเช่าสีทอง ปวีณา(2561) พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติของเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญบนอาหารเพาะเลี้ยงที่มีส่วนผสมของธัญพืช 8 ชนิด โดยอาหารเพาะเลี้ยงที่ใช้ข้าวไรซ์เบอรี่เป็นส่วนผสมมีการเจริญของเส้นใยได้ดีที่สุด รองลงมา ได้แก่ ข้าวกล้องหอมมะลิ ถั่วเขียว ข้าวขาวหอมมะลิ ข้าวเหนียว ลูกเดือย มันฝรั่ง (control) ข้าวโพด และถั่วเหลือง

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 2.2.1.2 น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งของดอกเห็ดและวัสดุเพาะ (ธัญพืช) และค่าประสิทธิภาพการผลิต (biological efficiency) หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ชนิดธัญพืช	น้ำหนักสด (กรัม)		น้ำหนักแห้ง (กรัม)		[2/]B.E. (%)
	วัสดุเพาะ	ดอกเห็ด	วัสดุเพาะ	ดอกเห็ด	
ข้าวกล้องหอมมะลิ	36.20 c [1/]	11.66 b	15.78 c	2.62 ab	73.89
ข้าวขาวหอมมะลิ	43.28 a	10.76 b	17.58 b	2.25 cd	61.21
ข้าวไรซ์เบอร์รี่	38.56 bc	11.17 b	15.94 c	2.38 bc	70.08
ข้าวขาวเสาไห้	40.08 ab	9.14 c	18.82 a	2.08 d	48.57
ข้าวญี่ปุ่น	35.87 c	11.59 b	15.27c	2.63 ab	75.90
ข้าว กข. 43	41.51 ab	8.43 c	17.65 b	1.75 e	47.76
ลูกเดือย	28.28 d	16.27 a	8.06 d	2.69 a	201.86
C.V. (%)	8.3	11.1	4.3	9.5	

หมายเหตุ [1/] ค่าเฉลี่ยที่ใช้ตัวอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

$$[2/]\ \text{ค่าประสิทธิภาพการผลิต (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักสดดอกเห็ด}}{\text{น้ำหนักแห้งวัสดุเพาะ}} \times 100$$

จากการวิเคราะห์สารสำคัญคอร์เดเซปินและอะดีโนซีนในดอกเห็ดและวัสดุเพาะ พบว่า ชนิดของธัญพืชที่ให้คอร์เดเซปินในดอกเห็ดมากที่สุด คือ ลูกเดือย ไรซ์เบอร์รี่ ข้าวกล้องหอมมะลิ และข้าวญี่ปุ่น เท่ากับ 37.51 23.34 22.31 และ 21.46 กรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ น้อยที่สุดจากข้าว กข. 43 เท่ากับ 16.85 กรัม/กิโลกรัม ซึ่งจะเห็นว่าคอร์เดเซปินที่พบในดอกเห็ดที่เพาะจากลูกเดือยมีค่าสูงกว่าที่เพาะจากธัญพืชชนิดอื่นเกือบสองเท่า และมากกว่าสองเท่าเมื่อเทียบกับข้าว กข.43

สำหรับสารอะดีโนซีนจากดอกเห็ดที่เพาะจากธัญพืชชนิดต่างๆพบว่าไม่มีความแตกต่างกันมากนักแต่ก็พบอะดีโนซีนมากที่สุดจากดอกเห็ดที่เพาะด้วยลูกเดือย คือ 14.22 กรัม/กิโลกรัม และพบน้อยที่สุดจากดอกเห็ดที่เพาะด้วยข้าวเสาไห้ เท่ากับ 10.17 กรัม/กิโลกรัม และวัสดุเพาะที่พบสารสำคัญมากที่สุด คือ ลูกเดือยเท่ากับ 11.94 และ น้อยที่สุด คือ ข้าวขาวเสาไห้ เท่ากับ3.15 กรัม/กิโลกรัม สำหรับสารอะดีโนซีนในลูกเดือยพบมากที่สุด คือ 2.83 กรัม/กิโลกรัม และพบในข้าวเสาไห้ต่ำที่สุด (ตารางที่ 2.2.1.3) ซึ่งพบว่าในการศึกษาแต่ละครั้งจะพบความแตกต่างของผลผลิตและสารสำคัญตัวอย่างเช่น งานวิจัยของรัตนะและณัฐพงษ์ (2561) ที่ศึกษาผลของอาหารแข็งธัญพืชต่อผลผลิตและการผลิตสารออกฤทธิ์ชีวภาพของเห็ดถั่งเช่าสีทองบนอาหารแข็งจำนวน 16 สูตรที่แตกต่างกัน โดยแต่ละสูตรประกอบด้วยเมล็ดธัญพืชที่แตกต่างกัน 4 ชนิดและแมลงที่แตกต่างกัน 4 ชนิด ผสมกับอาหารเหลว PDB (potato dextrose broth) ผลการศึกษาพบว่า สูตรอาหาร NSRU 1 (ข้าวเสาไห้ : แมลงกระชอน : PDB; 50:20:50; g/g/mL) เป็นสูตรอาหารที่ให้ผลผลิตและปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้สูงสุด ในขณะที่ Tapingkae et al. (2014) พบว่าการเลี้ยงถั่งเช่าสีทองด้วยข้าวขาว ข้าวซ้อมมือ ข้าวหอมมะลิ ข้าวบาร์เลย์ และลูกเดือย ให้ผลผลิตดีกว่าการเพาะเลี้ยงโดยใช้ข้าวโพด ถั่วเหลือง ถั่วเขียว ถั่วแดง และข้าวสาลี

กรมวิชาการเกษตร

จากการวิเคราะห์ต้นทุนการผลิต พบว่า ข้าวกล้องหอมมะลิ ข้าวญี่ปุ่นและลูกเดือย มีต้นทุนการผลิตสูงที่สุด เท่ากับ 6.218 บาท/ขวด รองลงมา ได้แก่ ข้าวไรซ์เบอรี่และข้าว กข. 43 คือ 5.968 บาท/ขวด เท่ากัน ส่วนข้าวเสาไห้ มีต้นทุนการผลิตต่ำสุด เท่ากับ 5.468 บาท/ขวด (ตารางที่ 2.2.1.4)

ตารางที่ 2.2.1.3 ปริมาณสารสำคัญที่วิเคราะห์ได้จากดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองและวัสดุเพาะ (ธัญพืช) ชนิดต่าง ๆ

ชนิดธัญพืช	ดอกเห็ด		วัสดุเพาะ	
	Cordycepin (กรัม/กิโลกรัม)	Adenosine (กรัม/กิโลกรัม)	Cordycepin (กรัม/กิโลกรัม)	Adenosine (กรัม/กิโลกรัม)
ข้าวกล้องหอมมะลิ	22.31 (3)	12.30 (3)	4.15 (4)	1.07 (3)
ข้าวขาวหอมมะลิ	19.21 (6)	11.11 (4)	3.55 (6)	0.87 (4)
ข้าวไรซ์เบอร์รี่	23.34 (2)	10.53 (6)	5.59 (2)	1.29 (2)
ข้าวขาวเสาไห้	21.33 (5)	10.17 (7)	3.15 (7)	0.47 (6)
ข้าวญี่ปุ่น	21.46 (4)	12.61 (2)	4.29 (3)	0.46 (7)
ข้าว กข. 43	16.85 (7)	10.85 (5)	3.68 (5)	0.74 (5)
ลูกเดือย	37.51 (1)	14.22 (1)	11.94 (1)	2.83 (1)

ตารางที่ 2.2.1.4 ต้นทุนการผลิตของวัสดุเพาะตามชนิดของธัญพืช (ต้นทุนต่อ 1 ขวด 25 กรัม)

ชนิดธัญพืช	ค่า วัสดุเพาะ	ค่าอาหารเลี้ยงเชื้อ	ค่าอาหาร MMN	ค่าแรง	ค่าไฟฟ้า	ค่าเชื้อเพลิง	ต้นทุน/ขวด (บาท)
ข้าวกล้องหอมมะลิ	1.50	0.051	0.51	2	1.967	0.19	6.218
ข้าวขาวหอมมะลิ	1.07	0.051	0.51	2	1.967	0.19	5.788
ข้าวไรซ์เบอร์รี่	1.25	0.051	0.51	2	1.967	0.19	5.968
ข้าวขาวเสาไห้	0.75	0.051	0.51	2	1.967	0.19	5.468
ข้าวญี่ปุ่น	1.50	0.051	0.51	2	1.967	0.19	6.218
ข้าว กข. 43	1.25	0.051	0.51	2	1.967	0.19	5.968
ลูกเดือย	1.50	0.051	0.51	2	1.967	0.19	6.218

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการทดสอบชนิดของธัญพืชที่ใช้เป็นวัสดุเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ ข้าวกล้องหอมมะลิ ข้าวขาวหอมมะลิ ข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวขาวเสาไห้ ข้าวญี่ปุ่น ข้าว กข. 43 และลูกเดือย พบว่า ลูกเดือยเป็นวัสดุเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ให้ผลผลิตและสารสำคัญ คือ คอร์เดเซปินและอะดีโนซีนมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับธัญพืชชนิดอื่น รองลงมา ได้แก่ ข้าวไรซ์เบอร์รี่และข้าวกล้องหอมมะลิ โดยข้าว กข. 43 ให้น้ำหนักดอกเห็ดสดและน้ำหนักแห้งน้อยที่สุด

กรมวิชาการเกษตร

สำหรับต้นทุนการผลิตต่อขวด พบว่า ข้าวกล้องหอมมะลิ ข้าวญี่ปุ่นและลูกเดือย มีราคาต้นทุนต่อขวดมากที่สุด คือ 6.218 บาท/ขวด โดยลูกเดือยให้ปริมาณผลผลิตและสารสำคัญมากกว่า ส่วนข้าวขาวเสาไห้ มีราคาต้นทุนต่อขวดน้อยที่สุด เท่ากับ 5.468 บาท/ขวด แต่ให้ผลผลิตและสารสำคัญน้อยเช่นกัน

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 2.2 สูตรอาหารชนิดต่างๆต่อผลผลิตและสารคอร์เดเซปินในเห็ดถั่งเช่าสีทอง
Different Media to Yield and Cordycepin Content in *Cordyceps militaris*

นางสาวสุปัน ไม้ดัดจันทร์ นางสาวบุญปิยธิดา คล่องแคล่ว นางสาวนันทินี ศรีจุมปา
นางสุธามาศ ณ น่าน นายธรากร มณีรัตน์
Supan Maidatchan Boonpiyathida Klongklaew Nantinee Srijumpa
Suthamas Na-Nan Tarakorn Maneerat

คำสำคัญ (Keywords)
Cordyceps militaris media cordycepin

บทคัดย่อ

การศึกษาสูตรอาหารชนิดต่าง ๆ ต่อผลผลิตและสารคอร์เดเซปินในเห็ดถั่งเช่าสีทอง ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ระหว่างเดือนตุลาคม 2562 ถึงเดือนกันยายน 2563 โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB 5 กรรมวิธี จำนวน 5 ซ้ำ พบว่า สูตรอาหารที่ 1 ให้สารสำคัญคอร์เดเซปินและอะดีโนซีนมากที่สุด เท่ากับ 17.25 และ 7.88 กรัม/กิโลกรัม แต่ให้ผลผลิตที่เป็นน้ำหนักแห้งในดอกเห็ดและวัสดุเพาะน้อยที่สุด เท่ากับ 2.39 และ 15.27 กรัม/ขวด รองลงมา ได้แก่ สูตรอาหารที่ 4 ที่ให้ผลผลผลิตเป็นน้ำหนักแห้งของดอกเห็ดมากที่สุด เท่ากับ 2.87 กรัม/ขวด แต่ให้สารคอร์เดเซปินน้อยที่สุด เท่ากับ 9.46 กรัม/กิโลกรัม สำหรับน้ำหนักสดในแต่ละกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

Abstract

Study on different media to yield and cordycepin content in *Cordyceps militaris* was conducted at Chiang Rai Horticultural Research Center between October 2019 to September 2020. Randomized complete block design with 5 treatments and 5 replications was applied. It was found that formula 1 gave the highest cordycepin and adenosine content which were 17.25 and 7.88 g/kg, respectively. However, formula 1 gave the lowest dry weight of mushroom and substrate was 2.39 and 15.27 g/bottle. Formula 4 gave the highest dry weight of mushroom which was 2.87 g/bottle, but cordycepin content 9.46 g/kg which was the lowest. There was no significant difference in fresh weight of fruit body.

กรมวิชาการเกษตร

บทนำ

ราสกุล Cordyceps เป็นราแมลงที่มีมากกว่า 300 ชนิด ที่รู้จักกันดี คือ *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. เจริญได้ในพื้นที่จำกัดแถบเทือกเขาหิมาลัยและเขาสูงในประเทศจีน มีราคาจำหน่ายสูง แพทย์แผนจีนใช้เป็นยาอายุวัฒนะ แก้อาการผิดปกติของไต มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ คือ คอร์เดเซปินและอะดีโนซีน แม้ว่า C. *sinensis* เป็นชนิดที่ได้รับความนิยม แต่มีอีกชนิดที่พบว่ามีสรรพคุณทางเภสัชมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเช่นเดียวกันและไม่มีพิษต่อผู้บริโภค คือ C. *militaris* (L.) Link ความต้องการเห็ดถั่งเช่าสีทองในตลาดนานาชาติอยู่ที่ 1,000 ตันต่อปี เฉพาะตลาดในประเทศจีนอยู่ที่ 500 ตันต่อปี อัตราการเจริญเติบโตของตลาด 13 เปอร์เซ็นต์ แต่กำลังการผลิตเพียง 250 ตันต่อปี ทำให้ไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาดเนื่องจากเทคนิคและวิธีการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองยังมีข้อจำกัดและไม่เป็นที่เปิดเผยในทางการค้า โดยเฉพาะในประเทศไทยจึงทำให้เห็ดถั่งเช่าสีทองมีราคาสูงถึง 10,000 - 15,000 บาทต่อกิโลกรัมสด

เห็ดถั่งเช่าสีทอง จะผลิตสารออกฤทธิ์ทางยามากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ สายพันธุ์ วิธีการเพาะเลี้ยง ส่วนประกอบของอาหารเพาะเลี้ยง pH ของอาหาร สภาพแวดล้อม อุณหภูมิและแสง การเพาะเลี้ยงสามารถทำได้ 2 แบบ คือ การเพาะด้วยหนอนหรือดักแด้ และการเพาะด้วยอาหารสังเคราะห์ มีการใช้ดักแด้ไหมหรือเมล็ดธัญพืชเป็นวัสดุเพาะ ได้แก่ ข้าวฟ่าง ข้าวโอ๊ต ข้าวโพด ลูกเดือย และข้าวชนิดต่าง ๆ โดยส่วนประกอบหลักในอาหารเพาะเลี้ยงโดยทั่วไป ประกอบด้วย 1) แหล่งคาร์บอน ได้แก่ เมล็ดธัญพืช แป้งและน้ำตาล 2) แหล่งไนโตรเจน ได้แก่ ยีสต์สกัด เปบโตน ไข่ ผงดักแด้ไหม และมันฝรั่งสกัด 3) วิตามินและแร่ธาตุอื่น ได้แก่ ดีเกลือและวิตามินบี 1 ดังนั้นการเลือกใช้วัตถุดิบที่จะเป็นแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน จึงน่าจะมีผลต่อการให้ผลผลิตของเห็ดถั่งเช่าสีทอง ปัจจุบันปัญหาของการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับผู้ประกอบการ คือ ผลผลิตและปริมาณสารสำคัญทางยาน้อย อาจเนื่องมาจากสายพันธุ์ สภาวะการเพาะเลี้ยง และสูตรอาหาร ซึ่งสูตรอาหารที่มีคุณภาพบางสูตรมีขั้นตอนการเตรียมหรือจัดหาวัตถุดิบที่ค่อนข้างยุ่งยากซับซ้อน เนื่องจากเห็ดถั่งเช่าสีทองสามารถเจริญได้ในแมลงหลายชนิด และสามารถเพาะเลี้ยงได้ในอาหารที่เป็นเมล็ดธัญพืช

ระเบียบวิธีการวิจัย

- อุปกรณ์

1. หม้อนึ่งความดัน
2. ตู้เขี่ยเชื้อ
3. เชื้อพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทอง
4. สารเคมี
5. ขวดเลี้ยงเชื้อ
6. เครื่องชั่ง
7. เวอร์เนียคาลิปเปอร์
8. ข้าวขาวหอมมะลิ
9. ผงวุ้น
10. มันฝรั่ง

- วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB 5 กรรมวิธี จำนวน 5 ซ้ำ (จำนวน 10 ขวด/ซ้ำ) ประกอบด้วย

สูตรที่ 1 น้ำตาลทรายแดง 10 กรัม เปบโตน 10 กรัม ดีเกลือ 0.5 กรัม วิตามินบี 1 จำนวน 4 เม็ด / น้ำ 1 ลิตร

สูตรที่ 2 กลูโคส 7.5 กรัม เปบโตน 3.75 กรัม ผงดักแด้ 7.5 กรัม ปุ๋ยสูตร 0-52-34 0.75 กรัม ดีเกลือ 0.38 กรัม / น้ำ 1 ลิตร

กรมวิชาการเกษตร

สูตรที่ 3 น้ำตาลทรายแดง 30 กรัม ยีสต์ 7.5 กรัม ไข่ไก่ 7.5 กรัม นมสด 75 กรัม นมผง 11.25 กรัม วิตามินบี 1 จำนวน 15 เม็ด / น้ำ 1 ลิตร

สูตรที่ 4 เปบโตน 10.2 กรัม ผงดักแด้ 25.5 กรัม ปุ๋ยสูตร 0-52-34 1.125 กรัม ดีเกลือ 0.9 กรัม / น้ำ 1 ลิตร

สูตรที่ 5 control สูตรอาหาร MMN (Modified Melin Norkran medium) (ภาคผนวก)

- นำเมล็ดข้าวขาวหอมมะลิใส่ในขวดแก้วขนาด 8 ออนซ์ ขวดละ 25 กรัม และเติมด้วยสูตรอาหารทั้ง 5 กรรมวิธี จำนวน 25 มิลลิลิตรต่อขวด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 40 นาที

- เตรียมหัวเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยเลี้ยงเส้นใยในอาหาร Potato dextrose broth (PDB) บนเครื่องเขย่าความเร็ว 7,800 - 8,400 รอบ/ชั่วโมง โดยเขย่า 2 ชั่วโมง และหยุด 1 ชั่วโมง นาน 6 วัน นำเชื้อเหลวเทลงบนวัสดุเพาะขวดละ 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มเชื้อในที่มืดเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ภายในห้องควบคุมอุณหภูมิ 20 - 22 องศาเซลเซียส เมื่อเส้นใยของเห็ดถั่งเช่าเจริญเติบโตเต็มอาหาร นำไปวางไว้ใต้แสงไฟที่ความเข้มแสง 600 - 1,000 ลักซ์ วันละ 12 ชั่วโมง เพื่อกระตุ้นการสร้างดอกเห็ด (stroma) เป็นเวลา 6 สัปดาห์

- บันทึกลักษณะการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทองบนสูตรอาหารแต่ละชนิดทุกสองสัปดาห์ ตั้งแต่เริ่มให้แสง ปกติจนถึงเวลาเก็บเกี่ยวดอกเห็ด

- บันทึกข้อมูลความยาวดอกเห็ด ชั่งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของดอกเห็ด รวมทั้งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งวัสดุที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง วิเคราะห์สารคอร์เดเซปินในผลผลิตของแต่ละกรรมวิธี นำข้อมูลที่ได้ไปเปรียบเทียบและวิเคราะห์ผลทางสถิติ

- เวลาและสถานที่

ระยะเวลาที่ดำเนินการ เริ่มต้น ตุลาคม 2562 - สิ้นสุด กันยายน 2563

สถานที่ทำการทดลอง ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย

ผลการทดลองและอภิปราย

จากการทดสอบสูตรอาหารชนิดต่าง ๆ ต่อผลผลิตและสารคอร์เดเซปินในเห็ดถั่งเช่าสีทองทั้ง 5 กรรมวิธี พบว่า สูตรอาหารที่ 4 และ 5 ให้จำนวนดอกเห็ดมากที่สุด เท่ากับ 17 - 35 ดอกต่อขวด รองลงมา ได้แก่ สูตรที่ 3 และ 2 เท่ากับ 15 - 35 และ 13 - 35 ดอกต่อขวด ตามลำดับ ส่วนสูตรอาหารที่ 1 ให้จำนวนดอกเห็ดน้อยที่สุด เท่ากับ 13 - 27 ดอกต่อขวด และให้ขนาดความกว้างของดอกเห็ดน้อยที่สุดด้วยเช่นกัน เท่ากับ 0.26 เซนติเมตร ส่วนสูตรอาหารอื่นให้ขนาดความกว้างของดอกเห็ดไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนความสูงของดอกเห็ดมีความแตกต่างกันในแต่ละกรรมวิธี โดยสูตรอาหารที่ 1 มีขนาดความสูงของดอกเห็ดมากที่สุด เท่ากับ 3.48 เซนติเมตร รองลงมา ได้แก่ สูตรที่ 2 5 และ 3 เท่ากับ 3.13 2.63 และ 2.57 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนสูตรอาหารที่ 4 ให้ความสูงดอกเห็ดน้อยที่สุด เท่ากับ 2.27 เซนติเมตร (ตารางที่ 2.2.2.1 และภาพที่ 2.2.2.1) อนุสรณ์และคณะ (2559) ศึกษาเห็ดถั่งเช่าสีทองสายพันธุ์ PS และ JR พบว่า อาหารที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง คือ อาหาร PYPDA และ PDA โดยพบว่าบนอาหาร PYPDA เส้นใยของเห็ดถั่งเช่าสีทองทั้งสองสายพันธุ์มี ลักษณะของโคโลนีหนาแน่นกว่าบนอาหารชนิดอื่น การศึกษาแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนพบว่าเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองสายพันธุ์ PS และ JR เจริญได้ดีและเส้นใยมีความหนาแน่นบนอาหารที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอนและเจริญได้ดี รวมทั้งมีเส้นใยหนาแน่นบนอาหารที่มี Peptone เป็นแหล่งไนโตรเจน การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยสูตรเมล็ดข้าวหอมนิลและสูตรกระชอนผสมอาหารเสริม (glucose 15.0 yeast extract 10.0 dihydrogen potassium phosphate 1.0 magnesium sulfate 0.5 และ thiamine 0.5 กรัม ผสมในน้ำต้มมันฝรั่ง 1 ลิตร) พบว่าเส้นใย

กรมวิชาการเกษตร

เห็ดถั่งเช่าสีทองสามารถเจริญได้ดีและพัฒนาเป็น stroma ที่มีสีส้ม รูปกระบอง (รัฐพลและคณะ, 2559) จากการศึกษาของณัฐพงษ์และคณะ (2559) รายงานว่า สูตรอาหารเทียมที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง สูตรอาหาร M10 ที่ประกอบด้วย เมล็ดธัญพืชข้าว 50 กรัม อาหารน้ำ MPDB 40 มิลลิลิตร ดักแด้ไหม 30 กรัม และไข่ไก่ดิบ 10 มิลลิลิตร จะทำให้ได้ผลผลิตในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองและสารสำคัญทางชีวภาพสูงที่สุด ถึงแม้ผลผลิตและสารสำคัญทางชีวภาพที่วิเคราะห์ได้ จะมีค่าใกล้เคียงกับสูตรอาหารควบคุม C2 ซึ่งเป็นสูตรอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงกันอยู่ทั่วไป แต่การเจริญของดอกเห็ดที่เพาะเลี้ยงได้ในสูตรอาหาร M10 ตั้งแต่การเจริญของเส้นใย การพัฒนาของเส้นใย เป็นตุ่มดอกจะใช้ระยะเวลาน้อยกว่า ดังนั้นสูตรอาหาร M10 ในงานวิจัยนี้จึงเป็นสูตรอาหารที่มีความเหมาะสมและมีประสิทธิภาพที่จะสามารถช่วยย่นระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง และช่วยลดต้นทุนการผลิตการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองในทางการค้าได้เป็นอย่างดี

จากการตรวจวัดสีของดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง พบว่า สูตรอาหารที่ 1 มีค่าความสว่าง (L*) มากที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 60.05 รองลงมา ได้แก่ สูตรอาหารที่ 4 เท่ากับ 57.29 ส่วนสูตรอาหารที่ 3 มีค่าความสว่างน้อยที่สุด คือ 44.54 สำหรับค่าสีเหลือง (b*) สูตรอาหารที่ 3 มีค่าเฉลี่ยมากที่สุด คือ 105.87 รองลงมา ได้แก่ สูตรอาหารที่ 2 เท่ากับ 95.89 ส่วนสูตรอาหารที่ 4 ให้ค่าสีเหลืองน้อยที่สุด คือ 81.43 สำหรับค่าสีแดง (a*) สูตรอาหารที่ 3 มีค่าเฉลี่ยมากที่สุด คือ 67.44 รองลงมา ได้แก่ สูตรอาหารที่ 2 เท่ากับ 44.93 ส่วนสูตรอาหารที่ 4 ให้ค่าสีแดงน้อยที่สุด คือ 35.10 (ตารางที่ 2.2.2.2) ณัฐพงษ์และคณะ (2559) ศึกษาผลของสูตรอาหารเทียมต่อการเกิดดอกและการผลิตสารสำคัญทางยาของเห็ดถั่งเช่าสีทอง พบว่า ดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร M10 ดอกเห็ดมีค่าความสว่าง (L*) ค่าสีเหลือง (b*) ค่าสีแดง (a*) และค่า Hue angle เฉลี่ยเท่ากับ 37.43 22.03 50.6 และ 66.38 ตามลำดับ ค่าความแน่นเนื้อมีค่าเฉลี่ย 0.39 kg/cm2 ค่า Water activity (Aw) มีค่าเฉลี่ย 0.93 และค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ทั้งหมด (Total soluble solid ; TSS) มีค่าเฉลี่ย 13.16 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 2.2.2.1 จำนวนดอกเห็ด ความกว้างและความสูงของดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองในแต่ละสูตรอาหาร

สูตรอาหาร	จำนวนดอกเห็ด	ความกว้างดอกเห็ด (ซม.)	ความสูงดอกเห็ด (ซม.)
1.	13-27	0.26 b [1/]	3.48 a
2.	13-35	0.35 ab	3.13 ab
3.	15-35	0.32 ab	2.57 bc
4.	17-35	0.32 ab	2.27 c
5.	17-35	0.36 ab	2.63 bc
C.V. (%)	-	18.6	16.9

หมายเหตุ [1/] ค่าเฉลี่ยที่ใช้ตัวอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

กรมวิชาการเกษตร

ภาพที่ 2.2.2.1 ลักษณะดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองหลังเพาะเลี้ยงในอาหารแต่ละสูตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์

1 = สูตรที่ 1 น้ำตาลทรายแดง 10 กรัม เปบโตน 10 กรัม ดีเกลือ 0.5 กรัม วิตามินบี 1 จำนวน 4 เม็ด

2 = สูตรที่ 2 กลูโคส 7.5 กรัม เปบโตน 3.75 กรัม ผงดักแด้ 7.5 กรัม ปุ๋ยสูตร 0-52-34 0.75 กรัม ดีเกลือ 0.38 กรัม

3 = สูตรที่ 3 น้ำตาลทรายแดง 30 กรัม ยีสต์ 7.5 กรัม ไข่ไก่ 7.5 กรัม นมสด 75 กรัม นมผง 11.25 กรัม วิตามินบี 1 จำนวน 15 เม็ด

4 = สูตรที่ 4 เปบโตน 10.2 กรัม ผงดักแด้ 25.5 กรัม ปุ๋ยสูตร 0-52-34 1.125 กรัม ดีเกลือ 0.9 กรัม

5 = สูตรที่ 5 control สูตรอาหาร MMN (Modified Melin Norkran medium)

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 2.2.2.2 ค่าเฉลี่ยความสว่าง (L*) ค่าสีเหลือง (b*) และค่าสีแดง (a*) ของดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร 5 สูตร

สูตรอาหาร	ค่าความสว่าง (L*)	ค่าสีเหลือง (b*)	ค่าสีแดง (a*)
1.	60.05	88.52	39.12
2.	56.13	95.89	44.93
3.	44.54	105.87	67.44
4.	57.29	81.43	35.10
5.	55.63	86.49	40.24

สำหรับน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของดอกเห็ด พบว่า สูตรอาหารทั้ง 5 กรรมวิธี ให้น้ำหนักสดที่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติทั้งในดอกเห็ดและวัสดุเพาะ ส่วนน้ำหนักแห้งของดอกเห็ด สูตรอาหารที่ 4 ให้น้ำหนักแห้งมากที่สุด เท่ากับ 2.87 กรัม/ขวด รองลงมา ได้แก่ สูตรที่ 3 2 และ 5 เท่ากับ 2.67 2.62 และ 2.59 กรัม/ขวด ตามลำดับ ส่วนสูตรอาหารที่ 1 ให้น้ำหนักแห้งน้อยที่สุด เท่ากับ 2.39 กรัม/ขวด สำหรับน้ำหนักแห้งของวัสดุเพาะอาหารสูตรที่ 2 ให้น้ำหนักแห้งมากที่สุด เท่ากับ 16.29 กรัม/ขวด รองลงมา ได้แก่ สูตรที่ 4 3 และ 1 เท่ากับ 15.77 15.63 และ 15.27 กรัม/ขวด ตามลำดับ ส่วนอาหารสูตรที่ 5 ให้น้ำหนักแห้งน้อยที่สุด เท่ากับ 14.89 กรัม/ขวด แต่จากการวิเคราะห์ค่าประสิทธิภาพการผลิต (biological efficiency) พบว่าสูตรอาหารที่ 5 มีค่า

ประสิทธิภาพการผลิตมากที่สุด เท่ากับ 82.87 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ สูตรอาหารที่ 4 เท่ากับ 79.58 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้เนื่องจากสูตรอาหารที่ 5 มีแหล่งคาร์บอนที่สำคัญซึ่งได้จากกูลโคส ประกอบกับมีแร่ธาตุและวิตามินช่วยส่งเสริมการเจริญของเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง ส่วนสูตรอาหารที่ 4 นั้นมีแหล่งไนโตรเจนที่ได้จากเปปโตนและมีแหล่งโปรตีนที่ได้จากผงดักแด้ สำหรับสูตรอาหารที่ 2 มีค่าประสิทธิภาพการผลิตน้อยที่สุด เท่ากับ 72.01 เปอร์เซ็นต์ อาจมาจากปริมาณสารอาหารจากแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่น้อยเกินไปหรือไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง (ตารางที่ 2.2.2.3) ณัฐพงษ์และคณะ (2559) รายงานว่า สูตรอาหาร M12 (MPDB (modified of potato dextrose) : ข้าวสาร : ดักแด้ไหม : ไข่ ; 20:50:30:30 ; ml/g/g/ml) เป็นสูตรอาหารที่เส้นใยเจริญเต็มผิวหน้าอาหารและเกิดตุ่มดอกเร็วที่สุดเฉลี่ย 6.5 วัน และ 10.5 วันตามลำดับ ลักษณะของดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงได้บนสูตรอาหาร M10 (MPDB : ข้าวสาร : ดักแด้ไหม : ไข่ ; 40:50:30:10 ; ml/g/g/ml) มีลักษณะของดอกเห็ดยาวและก้านดอกใหญ่กว่าสูตรอาหารอื่น รวมทั้งมีจำนวนดอกและมีน้ำหนักสดมากที่สุด เท่ากับ 101 ดอกต่อขวด และ 40.98 กรัมต่อขวด ผลของแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่ความเข้มข้นต่างกัน พบว่า ข้าวมันปู มีความเหมาะสมในการใช้เป็นอาหารเพาะหลัก สูตรอาหารเสริมที่ให้ผลผลิตดอกดีที่สุด ได้แก่ ซูโครส 5 กรัม/ลิตร และนมผง 30 กรัม/ลิตร ให้ผลผลิต เท่ากับ 2.04 ± 0.1 - 2.77 ± 0.9 กรัม และสูตรอาหารเสริมที่ให้ผลผลิตดีที่สุด ได้แก่ ซูโครส 30 กรัม/ลิตร และนมผง 5 กรัม/ลิตร ให้ผลผลิต เท่ากับ 8.23 ± 0.9 - 8.66 ± 1.2 กรัม ผลผลิตจากสูตรอาหารดังกล่าวมีปริมาณใกล้เคียงหรือดีกว่าการใช้สูตรอาหารพื้นฐาน แต่มีราคาถูกลงถึง 87 - 94 เปอร์เซ็นต์ และหาซื้อได้ง่ายกว่า จึงเป็นสูตรอาหารทางเลือกใหม่สำหรับหรับเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง (จารุวรรณและคณะ, 2558)

ตารางที่ 2.2.2.3 น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งของดอกเห็ดและวัสดุเพาะ และค่าประสิทธิภาพการผลิต (biological efficiency) ของเห็ดถั่งเช่าสีทอง

สูตรอาหาร	น้ำหนักสด (กรัม)		น้ำหนักแห้ง (กรัม)		B.E. (%)
	วัสดุเพาะ	ดอกเห็ด	วัสดุเพาะ	ดอกเห็ด	
1.	36.43	11.42	15.27 b[1/]	2.39 b	74.79
2.	36.16	11.73	16.29 a	2.62 ab	72.01
3.	36.23	11.74	15.63 ab	2.67 ab	75.11
4.	35.18	12.55	15.77 ab	2.87 a	79.58
5.	34.42	12.34	14.89 b	2.59 ab	82.87
C.V. (%)	5.6	11.8	4.5	12.5	

หมายเหตุ [1/] ค่าเฉลี่ยที่ใช้ตัวอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

จากการวิเคราะห์สารสำคัญคอร์เดเซปินและอะดีโนซีนของดอกเห็ดและวัสดุเพาะ พบว่าสูตรอาหารที่ให้สารคอร์เดเซปินในดอกเห็ดมากที่สุด คือ สูตรอาหารที่ 1 เท่ากับ 17.25 กรัม/กิโลกรัม รองลงมา ได้แก่ สูตรอาหารที่ 3 5 และ 2 เท่ากับ 12.78 11.32 และ 11.07 กรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ น้อยที่สุด คือ สูตรอาหารที่ 4 เท่ากับ 9.46 กรัม/กิโลกรัม ส่วนสารอะดีโนซีน สูตรอาหารที่ 1 ให้ค่าสูงที่สุด คือ 7.88 กรัม/กิโลกรัม รองลงมา ได้แก่ สูตรที่ 5 4 และ 2 เท่ากับ 7.45 7.28 และ 6.92 กรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ น้อยที่สุด คือ สูตรอาหารที่ 3 เท่ากับ 6.61 กรัม/กิโลกรัม ในวัสดุเพาะที่พบสารคอร์เดเซปินมากที่สุด คือ สูตรอาหารที่ 4 เท่ากับ 3.99 กรัม/กิโลกรัม รองลงมา ได้แก่ สูตรอาหารที่ 3 2 และ 5 เท่ากับ 3.32 2.40 และ 2.32 กรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ น้อยที่สุด คือ

กรมวิชาการเกษตร

สูตรอาหารที่ 1 เท่ากับ 1.26 กรัม/กิโลกรัม ส่วนสารอะดีโนซีน สูตรอาหารที่ 3 ให้สารดังกล่าวมากที่สุด เท่ากับ 0.95 กรัม/กิโลกรัม รองลงมา ได้แก่ สูตรอาหารที่ 4 2 และ 5 เท่ากับ 0.83 0.73 และ 0.41 กรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ น้อยที่สุด คือ สูตรอาหารที่ 1 เท่ากับ 0.22 กรัม/กิโลกรัม (ตารางที่ 2.2.2.4) Y.-X. Gu et al. (2006) ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างนิวคลีโอไซด์และเบสในเห็ดถั่งเช่าสีทอง พบว่าการใช้อาหาร PDB กลูโคส 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งคาร์บอน ผสมยีสต์สกัดและเปปโตน 0.3 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งไนโตรเจนและแมงกานีส 0.1 มิลลิโมล/ลิตร กระตุ้นการสร้างนิวคลีโอไซด์และเบสมากที่สุด ระยะเวลาการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมที่สุด คือ 6 วัน เนื่องจากมีการสร้าง 3′-deoxyadenosine adenosine และ uridine มากที่สุดหลังจากการเจริญเติบโต 6 วัน ดังนั้นสูตรอาหารดังกล่าวจึงเหมาะสมที่สุดเพราะทำให้ 3′-deoxyadenosine adenosine guanosine cytidine uridine adenine และ uracil เพิ่มมากขึ้น เท่ากับ 0.212 ± 0.014 mg/g 5.05 ± 0.31 mg/g 4.03 ± 0.30 mg/g 0.556 ± 0.029 mg/g 6.39 ± 0.33 mg/g 0.208 ± 0.016 mg/g และ 0.437 ± 0.027 mg/g ตามลำดับ สอดคล้องกับการรายงานของ X.-B. Mao et al. (2005) ศึกษาแหล่งคาร์บอนและอัตราส่วนของคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการสร้างสารคอร์เดเซปิน (3′-deoxyadenosine) โดยใช้แหล่งคาร์บอนจาก lactose sucrose glucose fructose galactose maltose และ xylose พบว่า ความเข็มข้นของ glucose 25 - 70 g/L ดีที่สุดสำหรับผลิตสารคอร์เดเซปินและให้น้ำหนักแห้งเพิ่มมากขึ้นแต่เจริญได้ดีใน galactose ในวันที่ 18 ของการเพาะเลี้ยงมีการสร้างสารคอร์เดเซปินมากที่สุด เท่ากับ 245.7 ± 4.4 mg/L ในอาหารเพาะเลี้ยงที่มี glucose 40 g/L สำหรับอัตราส่วนของคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสม คือ glucose 40 g/L และ peptone 15.8 g/L สามารถสร้างสารคอร์เดเซปินมากที่สุด เท่ากับ 245.4 ± 8.5 และ 19.2 ± 0.5 mg/L ต่อวัน

และเมื่อวิเคราะห์ต้นทุนการผลิต พบว่า สูตรอาหารที่ 4 มีต้นทุนการผลิตสูงที่สุด เท่ากับ 6.248 บาท/ขวด รองลงมา ได้แก่ สูตรอหารที่ 1 และ 3 เท่ากับ 5.658 และ 5.238 บาท/ขวด ตามลำดับ ส่วนสูตรอาหารที่ 5 มีต้นทุนการผลิตต่ำสุด เท่ากับ 4.718 บาท/ขวด (ตารางที่ 2.2.2.5) จารุวรรณและคณะ (2558) รายงานว่า จากการทดสอบผลของแหล่งคาร์บอน พบว่า แหล่งคาร์บอนมีผลต่อน้ำหนักดอกแห้งและน้ำหนักฐานแห้ง แต่ไม่มีอิทธิพลร่วมระหว่างแหล่งคาร์บอนและความเข้มข้น โดยซูโครสให้น้ำหนักดอกแห้งมากกว่ากลูโคส และกลูโคสให้น้ำหนักฐานแห้งมากกว่าซูโครส และจากการทดสอบผลของแหล่งไนโตรเจน พบว่า มีอิทธิพลร่วมระหว่างแหล่งไนโตรเจนและความเข้มข้น โดยอาหารเสริมที่ให้น้ำหนักดอกแห้งดีที่สุด คือ นมผงที่ 10 กรัม/ลิตร ให้ผลผลิตเท่ากับ 2.57 ± 1.1 กรัม และอาหารเสริมที่ให้น้ำหนักฐานแห้งดีที่สุด คือ ยีสต์สกัด ที่ 30 กรัม/ลิตร ให้ผลผลิตเท่ากับ 9.27 ± 2.9 กรัม เมื่อพิจารณาถึงต้นทุนการผลิตร่วมกับน้ำหนักผลผลิตที่ได้จะ พบว่า อาหารเสริมสูตรที่ให้ผลผลิตดอกดีที่สุด คือ ซูโครสที่ 5 กรัม/ลิตร และนมผงที่ 10 กรัม/ลิตร ให้ผลผลิต เท่ากับ 2.04 ± 0.1 - 2.57 ± 1.1 กรัม และสูตรอาหารที่เหมาะสมในการผลิตฐานแห้งเพื่อทดแทนสูตรพื้นฐาน คือ ซูโครสที่ 30 กรัม/ลิตร และนมผงที่ 5 กรัม/ลิตร โดยให้ผลผลิตฐานแห้ง เท่ากับ 8.66 ± 1.2 - 8.23 ± 0.9 กรัม อาหารเสริมทั้ง 2 สูตร มีต้นทุนในการผลิตเพียง 5 - 10 บาท/ลิตร โดยมีราคาถูกกว่าต้นทุนอาหารเสริมสูตรพื้นฐาน 87 - 94 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีต้นทุนสูงถึง 80 บาท/ลิตร รัฐพลและคณะ (2559) รายงานว่า การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองบนเมล็ดข้าวหอมนิล มีปริมาณสารอะดีโนซีนและคอร์เดเซปิน เท่ากับ 103.47 และ 209.42 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง และเมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง ในสูตรกระชอนผสมอาหารเสริม มีปริมาณสารอะดีโนซีนและคอร์เดเซปิน เท่ากับ 156.73 และ 208.17 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง ในการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางยาโดยวิเคราะห์หาสารอะดีโนซีนและคอร์เดเซปิน พบว่าดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงได้บนสูตรอาหาร M4 (MPDB : ข้าวสาร : น้ำนม; 40:50:10; ml/g/ml) มีปริมาณสารอะดีโนซีนสูงที่สุด 125.98 มิลลิกรัม/100 กรัม และดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงได้บนสูตรอาหาร M10 มีปริมาณของสารคอร์เดเซปินสูงที่สุด 479.93 มิลลิกรัม/100 กรัม (ณัฐพงษ์และคณะ, 2559) จากการวิเคราะห์หาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ 2 ชนิด ได้แก่ คอร์เดเซปินและอะดีโนซีน พบว่า

กรมวิทยาศาสตร์

ดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง ที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร NSRU 1 มีปริมาณสารอะดีโนซีนสูงถึง 1,857.26 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และสารคอร์เดเซปินมีปริมาณสูงที่สุด คือ 9,350.13 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เนื่องจากสูตรอาหารดังกล่าวอุดมไปด้วยแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน ซึ่งเป็นสารประกอบทางเคมีที่สำคัญในกระบวนการเมทาบอลิซึมในระดับเซลล์ที่ใช้ในการสร้างพลังงานและเป็นสารตั้งต้นในกระบวนการสังเคราะห์สารคอร์เดเซปินและอะดีโนซีน (รัตนะและณัฐพงษ์, 2561) และเมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองในครั้งนี้ พบว่าสูตรอาหารที่ 1 ให้ปริมาณสารคอร์เดเซปิน เท่ากับ 17.25 กรัม/กิโลกรัม ซึ่งมากกว่าหลายเท่า 209.42 มิลลิกรัม/100 กรัม (รัฐพลและคณะ, 2559) และ 9,350.13 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (รัตนะและณัฐพงษ์, 2561)

ตารางที่ 2.2.2.4 ปริมาณสารสำคัญที่วิเคราะห์ได้จากดอกเห็ดและวัสดุเพาะจากสูตรอาหารต่าง ๆ

สูตรอาหาร	ดอกเห็ด		วัสดุเพาะ	
	Cordycepin (กรัม/กิโลกรัม)	Adenosine (กรัม/กิโลกรัม)	Cordycepin (กรัม/กิโลกรัม)	Adenosine (กรัม/กิโลกรัม)
1.	17.25 (1)	7.88 (1)	1.26 (5)	0.22 (5)
2.	11.07 (4)	6.92 (4)	2.40 (3)	0.73 (3)
3.	12.78 (2)	6.61 (5)	3.32 (2)	0.95 (1)
4.	9.46 (5)	7.28 (3)	3.99 (1)	0.83 (2)
5.	11.32 (3)	7.45 (2)	2.32 (4)	0.41 (4)

ตารางที่ 2.2.2.5 ต้นทุนการผลิตของสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง จำนวน 5 สูตร (ต้นทุนต่อ 1 ขวด 25 กรัม)

สูตรอาหาร	ค่าอาหาร	ค่าอาหารเลี้ยงเชื้อ	ค่าแรง	ค่าไฟฟ้า	ค่าเชื้อเพลิง	ต้นทุน/ขวด (บาท)
สูตรที่ 1	1.45	0.051	2	1.967	0.19	5.658
สูตรที่ 2	0.75	0.051	2	1.967	0.19	4.958
สูตรที่ 3	1.03	0.051	2	1.967	0.19	5.238
สูตรที่ 4	2.04	0.051	2	1.967	0.19	6.248
สูตรที่ 5	0.51	0.051	2	1.967	0.19	4.718

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการทดสอบสูตรอาหารชนิดต่าง ๆ ต่อผลผลิตและสารคอร์เดเซปินในเห็ดถั่งเช่าสีทองทั้ง 5 กรรมวิธี พบว่า สูตรอาหารที่ 1 ให้สารสำคัญคอร์เดเซปินและอะดีโนซีนมากที่สุด เท่ากับ 17.25 และ 7.88 กรัม/กิโลกรัม แต่ให้ผลผลิตที่เป็นน้ำหนักแห้งของดอกเห็ดและวัสดุเพาะน้อยที่สุด เท่ากับ 2.39 และ 15.27 กรัม/ขวด รองลงมาได้แก่ สูตรอาหารที่ 4 ที่ให้ผลผลิตเป็นน้ำหนักแห้งของดอกเห็ดมากที่สุด เท่ากับ 2.87 กรัม/ขวด แต่ให้สารคอร์เดเซปินน้อยที่สุด เท่ากับ 9.46 กรัม/กิโลกรัม สำหรับน้ำหนักสดในแต่ละกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 2.2.2.2 และ 2.2.2.3) จากการศึกษาต้นทุนการผลิตต่อขวด พบว่า สูตรอาหารที่ 5 มีราคาต้นทุนต่อขวดน้อยที่สุด คือ 4.718 บาท/ขวด ส่วนสูตรอาหารที่ 4 มีราคาต้นทุนต่อขวดมากที่สุด คือ 6.248 บาท/ขวด ให้ผลผลิตที่เป็นน้ำหนักแห้งของดอกเห็ดมากที่สุด แต่ให้สารคอร์เดเซปินน้อยที่สุด (ตารางที่ 2.2.2.5) แต่จากการ

กรมวิชาการเกษตร

วิเคราะห์ค่าประสิทธิภาพการผลิต (biological efficiency) พบว่า สูตรอาหารที่ 5 มีค่าประสิทธิภาพการผลิตมากที่สุด เท่ากับ 82.87 เปอร์เซ็นต์ และสูตรอาหารที่ 2 มีค่าประสิทธิภาพการผลิตน้อยที่สุด เท่ากับ 72.01 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2.2.2.3) ดังนั้นสูตรอาหารที่ 5 จึงเหมาะสำหรับการนำไปใช้เนื่องจากมีต้นการผลิตที่ต่ำประกอบกับมีค่าประสิทธิภาพการผลิตมากที่สุด อย่างไรก็ตามควรประยุกต์ใช้สูตรอาหารที่ 5 ร่วมกับสูตรอาหารที่ 1 เนื่องด้วยสูตรอาหารที่ 1 ให้สารสำคัญคอร์เดเซปินและอะดีโนซีนสูง

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ ใช้เป็นข้อมูลสูตรอาหารที่หาง่าย ราคาไม่แพง และเหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทอง อีกทั้งให้ปริมาณผลผลิตและสารสำคัญสูง เพื่อนำเทคโนโลยีที่ได้ไปเผยแพร่ให้กับเกษตรกรและผู้ที่สนใจ

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 2.3 อิทธิพลของไฟแอลอีดีสีต่างๆต่อผลผลิตและปริมาณสารคอร์เดเซปินในเห็ดถั่งเช่าสีทอง

Effect of different LED colour on yield and cordycepin production of *Cordyceps militaris*

นันทินี ศรีจุมปา รัตนาพร นรรัตน์ สุธามาศ ณ น่าน
ธรากร มณีรัตน์
Nantinee Srijumpa Rattanaporn Norarat Suthamas Na-Nan
Tarakorn Maneerat

คำสำคัญ (Keywords)

Cordyceps militaris, cultivation, cordycepin, LED colour
เห็ดถั่งเช่าสีทอง, การเพาะ, คอร์เดเซปิน, ไฟแอลอีดี

บทคัดย่อ

อิทธิพลของไฟแอลอีดีสีต่างๆต่อผลผลิตและปริมาณสารคอร์เดเซปินในเห็ดถั่งเช่าสีทอง ดำเนินการทดลองที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย โดยการใช้แสงจากหลอดไฟแอลอีดีแบบstrip และปรับด้วย RGB controller ให้มีแสงสีต่างๆกันได้แก่ แสงสีน้ำเงิน แสงสีชมพู แสงสีแดง แสงสีเขียว แสงสีเหลือง และแสงสีขาว ในช่วงกระตุ้นการเกิดดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง พบว่าภายใต้แสงสีเหลืองและแสงสีแดง เห็ดถั่งเช่าสีทองไม่สามารถพัฒนาเป็นดอกเห็ดได้ จึงได้ทดลองใช้แสงสีเทอร์คอยส์และแสงสีม่วงทดแทนแสงสีแดงและแสงสีเหลือง พบว่าภายใต้แสงสีเขียวเห็ดถั่งเช่าสีทองให้น้ำหนักสดของดอกเห็ดต่อขวดสูงที่สุดโดยมีประสิทธิภาพการผลิตสูงสุดถึง 68% แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับแสงสีขาว แต่แตกต่างจากแสงสีอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ดอกเห็ดภายใต้แสงสีชมพู มีน้ำหนักสดต่อขวดน้อยที่สุด ดอกเห็ดที่เจริญภายใต้แสงสีน้ำเงิน แสงสีเขียวและแสงสีขาวจะมีความยาวของดอกเห็ดมากกว่าแสงสีชมพู แสงสีม่วงและแสงสีเทอร์คอยส์ แต่ดอกเห็ดที่เจริญภายใต้แสงสีชมพู แสงสีม่วง แสงสีเขียวและแสงสีทอร์คอยส์ มีเส้นผ่าศูนย์กลางของดอกเห็ดมากกว่าดอกเห็ดที่เจริญภายใต้แสงสีน้ำเงินและแสงสีขาว แต่พบว่าไม่มีความแตกต่างของสีของดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะภายใต้แสงสีต่างๆ จากการวัดค่าสีโดยใช้ระบบสี CIE L*a*b* เห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะภายใต้แสงสีเทอร์คอยส์มีปริมาณคอร์เดเซปินสูงที่สุด รองลงมาคือดอกเห็ดที่เจริญภายใต้แสงสีชมพู แสงสีน้ำเงิน แสงสีเขียว แสงสีม่วง และ แสงสีขาวตามลำดับ การผลิตอะดีโนซีนสูงที่สุดได้จากดอกเห็ดที่เจริญภายใต้แสงสีเทอร์คอยส์ รองลงมาคือ แสงสีเขียว แสงสีน้ำเงิน แสงสีม่วง และแสงสีขาวตามลำดับ และภายใต้แสงสีชมพูจะผลิตอะดีโนซีนน้อยที่สุด ในภาพรวมพบว่าการให้แสงสีเขียวในการกระตุ้นดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองจะให้ทั้งผลผลิตและสารคอร์เดเซปินและอะดีโนซีนในระดับดีกว่าแสงสีอื่น

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

ABSTRACT

Effect of different LED colour on yield and cordycepin production of *Cordyceps militaris* was studied at Chiangrai Horticulture Research Center. LED strip adjusted with RGB controller to obtain light with different colour including blue light, pink light, red light, green light, yellow light and white light were applied to cultured grain to induce fruit bodies. It was found that under yellow light and red light, *C. militaris* were not be able to produce fruit bodies. Therefore, turquoise light and violet light were replaced red light and yellow light. The results showed that under green light, highest fresh yield was obtained at 68% of biological efficiency which was significant different compared with other light except white light. Under the pink light, the least of fresh weight of fruit bodies was obtained. The longer stroma were found from bottles grew under blue, green and white light compared with other light. The diameter of stroma was wider under pink, violet, green and turquoise light. However, there is no difference in stroma colour according to CIE L*a*b* colour measurement. The highest cordycepin content was obtained by using turquoise light followed by pink light, blue light, green light, violet light and white light, respectively. Adenosine content was highest under turquoise light followed by green light, blue light, violet light and white light, respectively and the least was found under pink light. Overall, the green light was the most suitable to apply during fruiting period to get good yield with high amount of cordycepin and adenosine content.

กรมวิชาการเกษตร

บทนำ

เห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps millitaris*) เป็นเชื้อราที่พบเจริญบนตัวแมลงหลายชนิด ได้แก่ พบบนตัวหนอนและดักแด้ของไหมป่า พบบนหนอนนก ในต่อฟันเลื่อย เป็นต้น (ธัญญา, 2555) ถูกใช้เป็นสมุนไพรในหลายประเทศ ได้แก่ จีน ญี่ปุ่น และเกาหลี มีรายงานว่าเห็ดถั่งเช่าสีทองมีสรรพคุณทางยา เช่น ต้านการอักเสบ (Das *et al*., 2010) และต้านการเกิดเนื้องอก (Zhang *et al*., 2010) สารคอร์เดเซปิน (cordycepin) และกรดคอร์เดเซปิน (cordycepic acid) ในเห็ดถั่งเช่าช่วยเพิ่มพลังงานภายในร่างกาย (*Dai et al*., 2001) เพิ่มการหลั่งอินซูลิน ช่วยลดอาการเบาหวาน (Choi *et al*., 2004) อะดีโนซีน (adenosine) ก็เป็นสารสำคัญอีกตัวหนึ่งที่พบในถั่งเช่า มีสรรพคุณในการบำรุงปอดและไต รวมถึงการต่อต้านมะเร็ง (Wong et al., 2010)

เห็ดถั่งเช่าสีทองเป็นเห็ดที่เพาะเลี้ยงได้ง่าย มีการเติบโตที่เร็วกว่าเมื่อเทียบกับเห็ดถั่งเช่าทิเบต (*Ophiocordyceps sinensis*) มีสารออกฤทธิ์สำคัญ ได้แก่ คอร์เดเซปิน โพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) กรดอมิโน (amino acid) และอะดีโนซีนที่สูงกว่า (Dong et al., 2012) ปัจจุบันมีการใช้ถั่งเช่าสีทองมากกว่าถั่งเช่าทิเบตเนื่องจากปริมาณของถั่งเช่าทิเบตที่พบในสภาพธรรมชาติมีน้อยลง

แสงมีผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ดชนิดต่างๆในแต่ละระยะของการเจริญเติบโต Jang et. al (2013) เปรียบเทียบการให้แสง LED สีต่างๆแก่เห็ด *Hypsizygus marmoreus* พบว่าการให้แสง LED สีน้ำเงิน จะทำให้ดอกเห็ดมีคุณภาพดีขึ้นและมีปริมาณ ergostrol และ polyphenol ที่สูงขึ้น Do-Hee Kim *et. al.* (2012) ศึกษาการใช้แสงจากหลอด LED ที่ความยาวคลื่นแสงต่างๆ พบว่าภายใต้แสง UV-A, น้ำเงิน และ mixed light (B*R, B*G, B*R*G*U) ทำให้เห็ดเอริงกิ (*Pluerotus eringii*) มีสีของหมวกดอกที่คล้ำขึ้น มีก้านสั้นเมื่อเทียบกับแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ และโดยภาพรวมพบว่าแสงสีแดงให้ดอกเห็ดที่มีคุณภาพดีที่สุด

การเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารแข็ง มีการให้แสงสว่างเพื่อกระตุ้นการเกิดดอกเห็ด แสงที่ใช้กันทั่วไปคือแสง day light แต่ Dong, *et al*. (2013) รายงานว่าแสงสีชมพูกระตุ้นให้มีการสร้างดอกเห็ดสูงสุด แสงสีแดงทำให้มีการสะสมของอะดีโนซีนสูงสุด งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของแสงไฟสีต่างกันจากหลอด LED ต่อผลผลิตและปริมาณสารสำคัญในเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เลี้ยงบนอาหารแข็ง

ระเบียบวิธีการวิจัย

- วิธีดำเนินงาน/ขั้นตอนการวิจัย

วางแผนการทดลองแบบ RCB 6 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ (20 ขวดทดลอง/กรรมวิธี) โดยกรรมวิธีคือ แสงจากหลอด LED ที่มีสีต่างๆกัน ทำการทดลองทั้งหมด 3 ครั้ง

1. เตรียมชั้นสำหรับวางขวดเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง และติดตั้งไฟ LED (LED strip 220v 5050 14w 60led (IP67) RGB เหนือชั้นวางขวดทดลอง ให้ได้สีของไฟตามกรรมวิธีที่กำหนด สีของไฟ กำหนดโค้ด ตาม RGB Color Codes Chart โดยอ้างอิง https://www.rapidtables.com/web/color/RGB_Color.html

กรมวิชาการเกษตร

กรรมวิธีมีดังนี้

กรรมวิธีที่	การทดลองครั้งที่1	การทดลองครั้งที่ 3
1.	แสงสีน้ำเงิน (Hex #3333FF) (R G B ; 51 51 255)	แสงสีน้ำเงิน (Hex #3333FF) (R G B ; 51 51 255)
2.	แสงสีชมพู (Hex #FF33FF) (R G B ; 255 51 255)	แสงสีชมพู (Hex #FF33FF) (R G B ; 255 51 255)
3.	แสงสีเขียว (Hex #00990C) (R G B ; 0 153 0)	แสงสีเขียว (Hex #00990C) (R G B ; 0 153 0)
4.	แสงสีเหลือง (Hex #FFFF66) (R G B ; 255 255 102)	แสงสีเทอร์คอยส์ (Hex # 00FFFF) (R G B ; 0 255 255)
5.	แสงสีแดง (Hex #CC000) (R G B ; 204 0 0)	แสงสีม่วง (Hex #B266FF) (R G B ; 178 102 255)
6.	แสงสีขาว (Hex #FFFFF) (R G B ; 255 255 255)	แสงสีขาว (Hex #FFFFF) (R G B ; 255 255 255)

โดยกรรมวิธีของการทดลองครั้งที่ 2 เหมือนการทดลองครั้งที่ 1 แต่ปรับความเข้มของแสงให้ค่าความร้อนลดลง

2. การเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองบนอาหารแข็ง Potato dextrose agar (PDA)

นำเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทอง ที่ได้รับจากฟาร์มเพาะเลี้ยงจังหวัดเชียงใหม่ มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA ซึ่งประกอบด้วย มันฝรั่ง 200 กรัม กลูโคส 20 กรัม และผงวุ้น 18 กรัม ต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เทใส่จานเพาะเชื้อทิ้งให้เย็น แล้วใช้เข็มเขี่ยที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว เขี่ยเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง วางลงบนจานอาหารด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ นำไปบ่มในที่มืด อุณภูมิ 22 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน

3. การเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลว Potato dextrose broth (PDB)

ส่วนประกอบที่ใช้ทำอาหารเหลว PDB คือ มันฝรั่ง 200 กรัม น้ำตาลกลูโคส 20 กรัม และน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร เตรียมโดยต้มมันฝรั่งที่หั่นเป็นลูกเต๋าขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ในน้ำกลั่นจนกระทั่งสุกและกรองเอาเฉพาะน้ำต้มมันฝรั่ง และปรับปริมาตรโดยเติมน้ำให้เท่ากับ 1 ลิตร เติมน้ำตาลกลูโคส คนให้ส่วนผสมละลายเข้ากัน ตวงอาหารที่เตรียมเสร็จใส่ขวดแก้วขนาด 250 มิลลิลิตร บรรจุอาหารขวดละ 100 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ด้วยแรงดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เมื่ออาหาร PDB เย็นลง ใช้ Cork Borer เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตรเจาะบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทองให้ได้ชิ้นวุ้นที่มีเส้นใย ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อและใส่ลงในขวดอาหารเหลว ขวดละประมาณ 3 ชิ้น แล้วนำขวดไปวางบนเครื่องเขย่าความเร็ว 7,800 - 8,400 รอบ/ชั่วโมง โดยเขย่า 2 ชั่วโมง และหยุด 1 ชั่วโมง นาน 6 วัน ในห้องมืดที่มีอุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส

4. การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารแข็ง

ใช้ข้าวหอมมะลิที่เติมด้วยอาหาร Modified Melin Norkans medium (MMN) เป็นวัสดุเพาะ อาหาร MMN 1 ลิตร มีส่วนประกอบดังนี้

4.1 $(NH_4)_2HPO_4$ 250 มก. 4.6 FeEDTA 20 มก.

4.2	KH_2PO_4	500	มก.	4.7 Glucose	10	กรัม
4.3	$MgSO_4.7H_2O$	150	มก.	4.8 Malt extract	3	กรัม
4.4	$CaCl_2.2H_2O$	50	มก.	4.9 Thiamine HCl	0.1	ไมโครกรัม
4.5	NaCl	25	มก.	4.10 น้ำกลั่น	1	ลิตร

เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงโดยใช้ข้าวหอมมะลิ 25 กรัม บรรจุในขวดแก้วขนาด 8 ออนซ์ และเติมสารละลาย MMN ขวดละ 25 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 40 นาที

5. การปลูกเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทองบนอาหารแข็ง

นำเชื้อบริสุทธิ์เห็ดถั่งเช่าสีทองที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลว PDB มาเทลงในขวดเพาะเลี้ยง ขวดละประมาณ 5 มล. โดยทำในตู้เขี่ยเชื้อ ใช้เทคนิคปลอดเชื้อ

6. ระยะบ่มเส้นใย นำขวดเพาะเลี้ยงไปวางในที่มืดเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ภายในห้องควบคุมอุณหภูมิ 20 - 22 องศาเซลเซียส จนเส้นใยเจริญเต็มวัสดุ

7. กระตุ้นการสร้าง stroma (ดอกเห็ด) โดยนำขวดเพาะเลี้ยงไปวางใต้แสงไฟ LED สีต่างๆตามกรรมวิธีที่กำหนด ให้แสง 12 ชั่วโมง/วัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์

8. เก็บเกี่ยวผลผลิตเมื่อเลี้ยงเชื้อครบ 8 สัปดาห์ โดยการนำทั้งวัสดุเพาะและดอกเห็ดออกจากขวด บันทึกจำนวนดอกเห็ด/ขวด ขนาดของดอกเห็ดโดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลาง (วัดตรงกึ่งกลางดอกเห็ด) และความยาวของดอกเห็ด บันทึกน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของดอกเห็ดและวัสดุเพาะเลี้ยงของแต่ละกรรมวิธี

9. วัดสีของดอกเห็ดด้วยเครื่องวัดสียี่ห้อ FRU Model WR-18 ซึ่งใช้ระบบสี CIE L*a*b* (CIEAB) โดยระบบสี CIEAB เป็นระบบการวัดสีที่คำนึงถึงองค์ประกอบ 3 ประการ คือ Light source คือแหล่งกำเนิดแสง ; Color object คือ วัตถุมีสี และ Observer คือ ผู้สังเกตการณ์ โดย L* ใช้กำหนดค่าความสว่าง (Lightness) L = 0 สีที่ได้จะมืดเป็นสีดำ L = 100 สีที่ได้จะสว่างเป็นสีขาว

a* ใช้กำหนดสีแดงหรือสีเขียว; a เป็น + วัตถุมีสีออกแดง a เป็น – วัตถุมีสีออกเขียว;

b* ใช้กำหนดสีเหลืองหรือสีน้ำเงิน b เป็น + วัตถุมีสีออกเหลือง b เป็น – วัตถุมีสีออกน้ำเงิน

10. อบแห้งดอกเห็ดและวัสดุเพาะด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 16 ชั่วโมง

11. วิเคราะห์ปริมาณคอร์เดเซปินและอะดีโนซีนในดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้ง โดยบดตัวอย่างเป็นผงแล้วส่งวิเคราะห์โดยวิธี High Performances Liquid Chromatography (HPLC) ที่ห้องปฏิบัติการของศูนย์ความเลิศด้านสมุนไพรและการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ผลการทดลองและอภิปราย

ในการกระตุ้นดอกเห็ดถั่งเช่าโดยการให้แสงสีน้ำเงิน แสงสีชมพู แสงสีแดง แสงสีเขียว แสงสีเหลือง และแสงสีขาว นาน 3 สัปดาห์ (การทดลองครั้งที่ 1) พบว่ามีความแตกต่างของการเกิดดอกเห็ด (stroma) โดยขวดเพาะเลี้ยงที่อยู่ภายใต้แสงสีเหลืองและแสงสีแดง ไม่มีดอกเห็ดเกิดขึ้นเมื่อเทียบกับแสงสีอื่น (ภาพที่ 2.2.3.1) ซึ่งอาจจะเกิดจากที่ภายใต้แสงสีแดงและแสงสีเหลืองมีอุณหภูมิสูงกว่าแสงสีอื่น โดยอุณหภูมิสูงถึง 32.4 และ 31.8 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (ตารางที่ 2.2.3.1) ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่สูงเกินไปไม่เหมาะสมต่อการเกิดดอกเห็ด (stroma) สอดคล้องกับการทดลองของ Hung *et.al.* (2009) ที่รายงานว่าเห็ดถั่งเช่าสีทองจะหยุดการเจริญทางเส้นใยและ

กรมวิชาการเกษตร

การผลิตคอร์เดเซปินที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และธัญญาและคณะ (2561) ที่รายงานว่าเห็ดถั่งเช่าสีทองจะตายเมื่อเพาะที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามเมื่อให้แสงครบ 6 สัปดาห์ ทำการเก็บเกี่ยวแต่ไม่ได้เปรียบเทียบผลผลิตเนื่องจากขวดเลี้ยงที่อยู่ภายใต้แสงสีแดงและแสงสีเหลืองเส้นใยไม่มีการพัฒนาเป็นดอกเห็ด

สีเหลือง **สีชมพู** **สีขาว** **สีแดง** **สีเขียว** **สีน้ำเงิน**

ภาพที่ 2.2.3.1 พัฒนาการของดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองหลังจากให้แสงแอลอีดี 3 สัปดาห์

ตารางที่ 2.2.3.1 ความเข้มแสงและอุณหภูมิบนชั้นภายใต้ไฟแอลอีดีสีต่างๆ (การทดลองที่ 1)

ไฟแอลอีดี	ความเข้มแสง (ลักซ์)	อุณหภูมิต่ำสุด (°C)	อุณหภูมิสูงสุด (°C)
น้ำเงิน	198	18.2	21.1
ชมพู	192	18.7	24.9
แดง	660	18.4	32.4
เขียว	652	18.8	25.0
เหลือง	497	18.7	31.8
ขาว	691	18.3	23.5

* ค่าเฉลี่ยจาก 8 จุด ** ค่าเฉลี่ยจาก 7 วัน

การทดลองครั้งที่ 2 ได้ปรับความเข้มแสงของไฟแสงสีเหลืองและแสงสีแดงที่ให้ค่าความร้อนลดลง พบว่าอุณหภูมิภายใต้แสงสีเหลืองและแสงสีแดงลดลงจากเดิม 3.9 และ 5.7 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ซึ่งก็ทำให้ค่าความเข้มของแสงลดลงด้วย (ตารางที่ 2.2.3.2) ให้แสงตามกรรมวิธีที่กำหนด 6 สัปดาห์ และเก็บเกี่ยวผลผลิต พบว่าถึงแม้จะลดความเข้มของแสงสีแดงและแสงสีเหลืองลงเพื่อให้อุณหภูมิลดลงในระดับที่เห็ดเจริญได้ แต่ขวดเลี้ยงที่อยู่ภายใต้แสงสีแดงและแสงสีเหลืองก็ไม่สามารถพัฒนาเป็นดอกเห็ดที่สมบูรณ์ได้ และไม่มีการเปลี่ยนสีของเส้นใยจากสีขาวเป็นสีเหลือง (ภาพที่ 2.2.3.2) แสดงว่าแสงสีแดงและแสงสีเหลือง ไม่สามารถกระตุ้นการเกิดดอกเห็ดได้ ซึ่งให้ผลตรงกันข้ามกับงานวิจัยของ Chao *et. al*. (2019) ที่พบว่าแสงสีแดงกระตุ้นให้เกิดตุ่มดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองมากและให้ค่าประสิทธิภาพการผลิต (biological efficiency) สูงเมื่อเทียบกับแสงสีเขียว แสงสีน้ำเงิน และแสงสีขาว

สถาบันวิทยบริการ

ตารางที่ 2.2.3.2 ความเข้มแสงและอุณหภูมิบนชั้นภายใต้ไฟแอลอีดีสีต่างๆ (การทดลองที่ 2)

ไฟแอลอีดี	ความเข้มแสง (ลักซ์)	อุณหภูมิต่ำสุด (°C)	อุณหภูมิสูงสุด (°C)
น้ำเงิน	180	15.7	25
ชมพู	133	18.6	23.9
แดง	151	17.6	26.7
เขียว	600	18.1	24.8
เหลือง	110	18.4	27.9
ขาว	600	18.3	20.6

* ค่าเฉลี่ยจาก 20 จุด ** ให้แสง 6 สัปดาห์

yellow pink white red green blue

ภาพที่ 2.2.3.2 เห็ดถั่งเช่าสีทองอายุ 8 สัปดาห์ภายใต้ไฟแอลอีดีสีต่างๆ (การทดลองที่ 2)

สำหรับผลผลิตพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติของน้ำหนักแห้งของวัสดุเพาะแต่มีความแตกต่างทางสถิติของน้ำหนักสดวัสดุเพาะและน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของดอกเห็ด โดยผลผลิตของดอกเห็ดที่เจริญภายใต้แสงสีเหลืองและแสงสีแดง ไม่มีพัฒนาการเป็นดอกเห็ดที่สมบูรณ์ (ภาพที่ 2.2.3.2) มีน้ำหนักน้อยกว่าดอกเห็ดที่เจริญภายใต้แสงสีอื่นอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่าประสิทธิภาพการผลิตเพียง 38.9 % และ 41.9% ตามลำดับ ในขณะที่ภายใต้แสงสีน้ำเงินมีค่าประสิทธิภาพการผลิตมากถึง 79.1% (ตารางที่ 2.2.3.3) มีความแตกต่างของจำนวนดอกเห็ดต่อขวดที่เจริญภายใต้แสงสีต่าง ๆ จากค่าเฉลี่ยพบว่าภายใต้แสงสีเขียวมีจำนวนดอกเห็ดต่อขวดน้อยกว่าแสงสีอื่น ภายใต้แสงสีน้ำเงินและแสงสีชมพูมีจำนวนดอกเห็ดต่อขวดมากที่สุดถึง 25 ดอก/ขวด (ตารางที่ 2.2.3.4)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2.2.3.3 ผลผลิต/ขวดและค่าประสิทธิภาพการผลิต(B.E.) ของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญภายใต้ไฟแอลอีดีสีต่างๆ (การทดลองที่ 2)

ไฟแอลอีดี	วัสดุเพาะ (กรัม/ขวด)		ดอกเห็ด (กรัม/ขวด)		B.E.** (%)
	น้ำหนักสด	น้ำหนักแห้ง	น้ำหนักสด	น้ำหนักแห้ง	
น้ำเงิน	35.7^{abc}	11.7^{b}	12.38^{a}	2.03^{a}	79.1^{a}
ชมพู	33.1^{c}	13.4^{ab}	10.18^{a}	1.58^{ab}	76.6^{ab}
แดง	37.3^{ab}	15.7^{ab}	6.6^{b}	1.45^{bc}	41.9^{c}
เขียว	35.2^{bc}	16.7^{a}	10.25^{a}	1.65^{ab}	61.5^{b}
เหลือง	38.9^{a}	14.5^{ab}	5.63^{b}	1.07^{c}	38.9^{c}
ขาว	37.3^{ab}	16.9^{a}	11.7^{a}	1.99^{a}	69.6^{ab}
c.v. (%)	5.5	20.0	15.0	17.2	16.8

หมายเหตุ $^{1/}$ ค่าเฉลี่ยที่ใช้ตัวอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

$$^{2/}\ \textit{ค่าประสิทธิภาพการผลิต (\%)} = \frac{\textit{น้ำหนักสดดอกเห็ด}}{\textit{น้ำหนักแห้งวัสดุเพาะ}}\ X\ 100$$

ตารางที่ 2.2.3.4 จำนวนดอกเห็ด/ขวด ขนาดของดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญภายใต้ไฟแอลอีดีสีต่างๆ

ไฟแอลอีดี	จำนวนดอกเห็ด/ขวด	ความยาวดอกเห็ด (ซ.ม.)	เส้นผ่าศูนย์กลางดอกเห็ด (ซ.ม.)
น้ำเงิน	18-25	4.88	4.27
ชมพู	14-25	4.2	5.52
แดง**	-	-	-
เขียว	11-16	4.16	6.11
เหลือง**	-	-	-
ขาว	12-20	4.72	5.51

*ค่าเฉลี่ยจาก 5 ขวด **ดอกเห็ดมีรูปร่างผิดปกติ ไม่สามารถวัดได้

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 2.2.3.5 สีของดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญภายใต้ไฟแอลอีดีสีต่างๆ (วัดโดยเครื่องวัดสีรุ่น Model WR-18 (การทดลองที่ 2)

ไฟแอลอีดี	CIE L*a*b* (CIELAB)		
	L	a	b
น้ำเงิน	55.60[b]	27.64[a]	56.55[ab]
ชมพู	53.20[b]	26.54[a]	60.53[a]
แดง	87.80[a]	1.86[c]	15.62[c]
เขียว	65.70[b]	15.77[b]	48.61[b]
เหลือง	79.20[a]	1.76[c]	13.95[c]
ขาว	60.80[b]	19.01[ab]	54.56[ab]
c.v. (%)	12.20	38.50	13.60

หมายเหตุ [1/] ค่าเฉลี่ยที่ใช้ตัวอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

Note: L = Lightness value 0-100, where 0 = black, 100 = white

a = relative to green (-a*) towards red (+a*)

b = relative to blue (-b*) towards yellow (+b*)

มีความแตกต่างของสีของเห็ดถั่งเช่าที่เพาะภายใต้แสงสีต่าง ๆตามค่าในระบบ CIE L*a*b* และที่ชัดเจนที่สุดคือค่า L ของเห็ดที่เพาะภายใต้แสงสีแดงและแสงสีเหลืองที่มีค่าสูงซึ่งหมายความว่าเห็ดมีสีใกล้เคียงกับสีขาว (ตารางที่ 2.2.3.5 และ ภาพที่ 2.2.3.2)

จากการทดลองครั้งที่ 1 และ 2 ทำให้พบว่าแสงสีเหลืองและแสงสีแดง ไม่เหมาะสมสำหรับกระตุ้นการเกิดดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง ดังนั้นจึงได้ทำการทดลองครั้งที่ 3 โดยใช้แสงสีม่วงและแสงสีเทอร์คอยส์แทนแสงสีแดงและแสงสีเหลือง และวัดค่าความเข้มของแสงได้ค่าดัง ตารางที่ 2.2.3.6

ตารางที่ 2.2.3.6 ความเข้มแสง อุณหภูมิต่ำสุด-สูงสุด บนชั้นภายใต้ไฟแอลอีดีสีต่างๆ (การทดลองที่3)

ไฟแอลอีดี	ความเข้มแสง (ลักซ์)	อุณหภูมิต่ำสุด (°C)	อุณหภูมิสูงสุด (°C)
น้ำเงิน	156.0	17.4	22.7
ชมพู	80.0	17.2	24.1
ม่วง	123.0	17.2	24.1
เขียว	523.0	17.9	24.6
เทอร์คอยส์	201.0	17.6	26.7
ขาว	496.0	17.4	22.1

* ค่าเฉลี่ยจาก 20 จุด ** ให้แสง 6 สัปดาห์

ศูนย์วิทยทรัพยากร

ม่วง ชมพู ขาว เทอร์คอยส์ เขียว น้ำเงิน ม่วง ชมพู ขาว เทอร์คอยส์ เขียว น้ำเงิน

2 สัปดาห์ 4 สัปดาห์

ภาพที่ 2.2.3.3 พัฒนาการของดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง ที่ 2 และ 4 สัปดาห์ หลังการให้ไฟแอลอีดีสีต่างๆ

ตารางที่ 2.2.3.7 ผลผลิต/ขวดและค่าประสิทธิภาพการผลิต (B.E.) ของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญภายใต้ไฟแอลอีดีสีต่างๆ (การทดลองที่ 3)

ไฟแอลอีดี	วัสดุเพาะ (กรัม/ขวด)		ดอกเห็ด (กรัม/ขวด)		B.E.* (%)
	น้ำหนักสด	น้ำหนักแห้ง	น้ำหนักสด	น้ำหนักแห้ง	
น้ำเงิน	35.16	15.76	9.72^{c}	1.59^{bc}	61.70^{b}
ชมพู	33.00	15.91	8.45^{e}	1.57^{c}	53.20^{c}
ม่วง	35.34	15.87	10.22^{b}	1.77^{ab}	64.40^{ab}
เขียว	36.48	16.09	10.95^{a}	1.76^{ab}	68.10^{a}
เทอร์คอยส์	35.48	16.23	9.05^{d}	1.54^{c}	55.90^{c}
ขาว	35.47	16.13	10.70^{a}	1.88^{a}	66.40^{ab}
c.v. (%)	7.4	3.9	3.1	7.1	

หมายเหตุ $^{1/}$ ค่าเฉลี่ยที่ใช้ตัวอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

ในการทดลองครั้งที่ 3 ดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญภายใต้แสงสีเขียวมีน้ำหนักผลผลิตดอกเห็ดต่อขวดสูงที่สุดและมีประสิทธิภาพการผลิตสูงสุดถึง 68% แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับแสงสีขาว แต่แตกต่างจากแสงสีอื่นอย่างมีนัยสำคัญ โดยดอกเห็ดภายใต้แสงสีชมพู มีน้ำหนักผลผลิตต่อขวดน้อยที่สุด (ตารางที่ 2.2.3.7) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Huang *et al*. (2020) ที่รายงานว่าแสงสีเขียวจะกระตุ้นให้เห็ดถั่งเช่าสีทองมีผลผลิตสูงสุด แสงที่ให้ผลรองลงมา คือแสงสีขาวและแสงสีน้ำเงิน แต่ให้ผลตรงกันข้ามกับผลวิจัยของ Dong *et al*. (2013) ที่พบว่าเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญภายใต้แสงสีชมพูจะให้น้ำหนักแห้งของผลผลิตดอกเห็ดสูงที่สุดมากกว่าแสงสีอื่น นอกจากผลผลิตของดอกเห็ดจะต่างกันแล้ว คุณลักษณะของดอกเห็ดเช่น ความยาวและเส้นผ่าศูนย์กลางของดอกเห็ดของแต่ละกรรมวิธีก็มีความแตกต่างกัน ดอกเห็ดที่เจริญภายใต้แสงสีน้ำเงิน แสงสีเขียวและแสงสีขาวจะมีความยาวของดอกเห็ดมากกว่าแสงสีชมพู แสงสีม่วงและแสงสีเทอร์คอยส์ แต่ดอกเห็ดที่เจริญภายใต้แสงสีชมพู แสงสีม่วง แสงสีเขียวและแสงสีทอร์คอยส์ มีเส้นผ่าศูนย์กลางของดอกเห็ดมากกว่าเห็ดที่เจริญภายใต้แสงสีน้ำเงินและแสงสีขาว

กรมวิชาการเกษตร

(ตารางที่ 2.2.3.8) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Huang *et. al*. (2020) ที่พบว่าดอกเห็ดที่เจริญภายใต้แสงสีเขียวจะมีความยาวของดอกเห็ดมากกว่าแสงสีอื่น

สำหรับสีของดอกเห็ดพบว่าค่าสีในระบบ CIE L*a*b* ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 2.2.3.9) นั่นหมายความว่าสีของดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญภายใต้แสงสีต่างๆนั้นมีสีใกล้เคียงกันถึงแม้ว่าจากการประเมินด้วยสายตาจะพบว่าสีของดอกเห็ดมีความแตกต่างกันก็ตาม

ตารางที่ 2.2.3.8 จำนวนดอกเห็ด/ขวด ขนาดดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง ที่เจริญภายใต้ไฟแอลอีดีสีต่างๆ (การทดลองที่ 3)

ไฟแอลอีดี	จำนวนดอกเห็ด/ขวด	ความยาวดอกเห็ด (ซ.ม.)	เส้นผ่าศูนย์กลางดอกเห็ด (ซ.ม.)
น้ำเงิน	18-26	4.62^{a}	3.99^{b}
ชมพู	12-23	3.82^{bc}	5.09^{ab}
ม่วง	9-14	3.44^{c}	6.31^{a}
เขียว	11-16	4.04^{abc}	5.79^{a}
เทอร์คอยส์	9-21	3.66^{c}	5.58^{a}
ขาว	17-30	4.32^{ab}	4.22^{b}
c.v. (%)		11.10	17.50

หมายเหตุ $^{1/}$ ค่าเฉลี่ยที่ใช้ตัวอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 2.2.3.9 สีของดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญภายใต้ไฟแอลอีดีสีต่างๆ (วัดโดยเครื่องวัดสีรุ่น Model WR-18 (การทดลองที่ 3)

ไฟแอลอีดี	CIE L*a*b* (CIELAB)		
	L	a	b
น้ำเงิน	57.34 ^{ab}	23.69 ^{ab}	59.52 ^{ab}
ชมพู	55.78 ^{ab}	30.09 ^{ab}	56.07 ^{ab}
ม่วง	48.74 ^{ab}	25.43 ^{ab}	55.47 ^{ab}
เขียว	50.98 ^{ab}	36.21 ^{a}	67.64 ^{a}
เทอร์คอยส์	44.19 ^{b}	33.4 ^{a}	61.95 ^{ab}
ขาว	62.06 ^{a}	19.22 ^{b}	53.12 ^{b}
c.v. (%)	18.80	29.30	14.00

Note: L = Lightness value 0-100, where 0 = black, 100 = white

a = relative to green (-a*) towards red (+a*)

b = relative to blue (-b*) towards yellow (+b*)

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 2.2.3.10 ปริมาณคอร์เดเซปินและอะดีโนซีนในดอกเห็ดถั่งเช่าที่เจริญภายใต้ไฟแอลอีดีสีต่างๆ

ไฟแอลอีดี	คอร์เดเซปิน (ก./ก.ก.)	อะดีโนซีน (ก./ก.ก.)
น้ำเงิน	23.61	11.94
ชมพู	25.59	8.70
ม่วง	21.16	10.18
เขียว	23.40	12.19
เทอร์คอยส์	26.05	12.68
ขาว	19.00	10.06

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะภายใต้แสงสีต่างๆพบว่า เห็ดที่เพาะภายใต้แสงสีเทอร์คอยส์มีปริมาณคอร์เดเซปินสูงที่สุด รองลงมาคือดอกเห็ดที่เจริญภายใต้แสงสีชมพู แสงสีน้ำเงิน แสงสีเขียว แสงสีม่วง และ แสงสีขาวตามลำดับ (ตารางที่ 2.2.3.10) สอดคล้องกับผลการทดลองของ Dong *et al.* (2013) ที่ผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลวพบว่าการผลิตคอร์เดเซปินจะสูงภายใต้แสงสีน้ำเงิน แสงสีชมพู แสงสีขาว ที่มืดและแสงสีแดงตามลำดับ สำหรับปริมาณอะดีโนซีนพบว่าดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองภายใต้แสงสีเทอร์คอยส์มีปริมาณอะดีโนซีนสูงที่สุด รองลงมาคือ ดอกเห็ดที่เจริญภายใต้แสงสีเขียว แสงสีน้ำเงิน แสงสีม่วง และแสงสีขาวตามลำดับ แต่ปริมาณอะดีโนซีนของดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญภายใต้แสงสีชมพูมีค่าน้อยที่สุด ซึ่งผลที่ได้แตกต่างจากรายงานของ Dong *et al.* (2013) ที่พบว่าสารอะดีโนซีน จะผลิตมากภายใต้แสงสีแดง แสงสีชมพู ที่มืด แสงสีขาวและแสงสีน้ำเงินตามลำดับ

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

แสงจากหลอดแอลอีดีสีต่างๆมีผลต่อผลผลิตและปริมาณสาระสำคัญในดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง พบว่าแสงสีแดงและสีเหลือง ไม่เหมาะสมต่อการกระตุ้นการเกิดดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง ดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญภายใต้แสงสีเขียวมีน้ำหนักผลผลิตดอกเห็ดต่อขวดสูงที่สุดโดยมีประสิทธิภาพการผลิตสูงสุดถึง 68% แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับแสงสีขาว แต่แตกต่างจากแสงสีอื่นอย่างมีนัยสำคัญ โดยดอกเห็ดภายใต้แสงสีชมพู มีน้ำหนักผลผลิตต่อขวดน้อยที่สุด ดอกเห็ดที่เจริญภายใต้แสงสีน้ำเงิน แสงสีเขียวและแสงสีขาวจะมีความยาวของดอกเห็ดมากกว่าแสงสีชมพู แสงสีม่วงและแสงสีเทอร์คอยส์ แต่ดอกเห็ดที่เจริญภายใต้แสงสีชมพู แสงสีม่วง แสงสีเขียวและแสงสีทอร์คอยส์ มีเส้นผ่าศูนย์กลางของดอกเห็ดมากกว่าดอกเห็ดที่เจริญภายใต้แสงสีน้ำเงินและแสงสีขาว แต่พบว่าไม่มีความแตกต่างของสีของดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะภายใต้แสงสีต่างๆจากการวัดค่าสีโดยใช้ระบบสี CIE L*a*b* เห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะภายใต้แสงสีเทอร์คอยส์มีปริมาณคอร์เดเซปินสูงที่สุด รองลงมาคือดอกเห็ดที่เจริญภายใต้แสงสีชมพู แสงสีน้ำเงิน แสงสีเขียว แสงสีม่วง และ แสงสีขาวตามลำดับ การผลิตอะดีโนซีนสูงที่สุดได้จากดอกเห็ดที่เจริญภายใต้แสงสีเทอร์คอยส์ รองลงมาคือ แสงสีเขียว แสงสีน้ำเงิน แสงสีม่วง และแสงสีขาวตามลำดับ แต่ภายใต้แสงสีชมพูจะผลิตอะดีโนซีนน้อยที่สุด ในภาพรวมพบว่าการให้แสงสีเขียวในช่วงการกระตุ้นดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองจะให้ทั้งผลผลิตและสารคอร์เดเซปินและอะดีโนซีนสูงกว่าแสงสีอื่น

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 2.4 เปรียบเทียบการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองในสภาพที่ควบคุมและไม่ควบคุมอุณหภูมิ

Comparison of *Cordyceps militaris* production in controlled room temperature and uncontrolled condition

นันทินี ศรีจุมปา บุญปิยะธิดา คล่องแคล่ว พรพนัส มีกุล
สุปัน ไม้ดัดจันทร์ สุธามาศ ณ น่าน
Nantinee Srijumpa Boonpiyathida Klongkleaw Pornpanus Meekul
Supan Maidatchan Suthamas Na-Nan

คำสำคัญ (Key words)
เห็ดถั่งเช่าสีทอง, การเพาะ, สภาพควบคุมอุณหภูมิ, สภาพไม่ควบคุมอุณหภูมิ
Cordyceps militaris, cultivation, Controlled room temperature, uncontrolled condition

บทคัดย่อ

จากเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทองเดือนละครั้งตั้งแต่ธันวาคม 2563 - กันยายน 2564 ในสภาพควบคุมอุณหภูมิที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย เปรียบเทียบกับสภาพไม่ควบคุมอุณหภูมิที่ศวพ.กส.เชียงราย (วาวี 1,200 เมตร จากระดับน้ำทะเล) และที่โครงการพัฒนาดอยตุง (920 เมตร จากระดับน้ำทะเล) พบว่าในสภาพไม่ควบคุมอุณหภูมิเห็ดถั่งเช่าสีทองไม่สามารถพัฒนาเป็นดอกเห็ดได้หรือให้ผลผลิตน้อย คือช่วงมีนาคมถึงกันยายน เนื่องจากช่วงเวลาดังกล่าวทั้งสองสถานที่มีอุณหภูมิที่สูงเกินค่าเหมาะสมสำหรับการเจริญของเห็ดถั่งเช่าสีทอง คือสูงเกิน 25 องศาเซลเซียส ดังนั้นในที่สูงเกิน 900 เมตรจากระดับน้ำทะเลสามารถเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทองในสภาพไม่ควบคุมอุณหภูมิได้ตั้งแต่เดือนตุลาคมถึงกุมภาพันธ์ ซึ่งสามารถประหยัดค่าพลังงานไฟฟ้าได้ 2,533 บาท/รอบการผลิต

Abstracts

Cordyceps militaris was cultivated monthly and were placed in controlled room at Chiangrai Horticulture Research Center and placed in uncontrolled condition at Chiangrai Highland Agricultural Research and Development Center (1,200 MASL) and Doi Tung Development Project (920 MASL). It was found that during March – September, no yield or less yield were obtained in uncontrolled condition due to high temperature which over 25 °C. Therefore, at altitude 900 MASL or above, *C. militaris* can be cultivated in uncontrolled condition during October – February. Electricity cost was saved up 2,533 Baht / crop.

กรมวิชาการเกษตร

บทนำ

เห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps millitaris*) เป็นเชื้อราที่พบเจริญบนตัวแมลง ถูกใช้เป็นสมุนไพรในหลายประเทศในเอเชีย ได้แก่ จีน ญี่ปุ่น เกาหลี เป็นต้น มีการรายงานว่าเห็ดถั่งเช่าสีทองมีสรรพคุณทางยา เช่น ต้านการอักเสบ (Das *et al*., 2010) ต้านการเกิดเนื้องอก (Zhang *et al*., 2010) สารคอร์เดเซปินและกรดคอร์เดเซปิกในเห็ดถั่งเช่าช่วยเพิ่มพลังงานภายในร่างกาย (*Dai et al*., 2001) เพิ่มการหลั่งอินซูลินช่วยลดอาการเบาหวาน (Choi *et al*., 2004) อะดีโนซีนเป็นสารสำคัญที่พบในถั่งเช่าทิเบตและถั่งเช่าสีทอง มีสรรพคุณในการบำรุงปอดและไต คอร์เดเซปินมีสรรพคุณในการต่อต้านมะเร็ง (Wong et al., 2010)

เห็ดถั่งเช่าสีทองมีความแตกต่างจากเห็ดถั่งเช่าสีทองทิเบต (*Ophiocordyceps sinensis*) หลายด้าน ได้แก่ การเพาะเลี้ยงที่ง่ายกว่า มีการเจริญเติบโตที่เร็วกว่าและมีสารออกฤทธิ์สำคัญได้แก่ คอร์เดเซปิน โพลีแซคคาไรด์ กรดอะมิโนเอซิด อะดีโนซีน ที่สูงกว่า (Dong et al., 2012) และในปัจจุบันมีการใช้ถั่งเช่าสีทองมากกว่าถั่งเช่าทิเบตเนื่องจากปริมาณของถั่งเช่าทิเบตที่พบในสภาพธรรมชาติมีน้อยลง

ขั้นตอนหลักๆในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง ประกอบด้วย 3 ขั้นตอนคือ การเลี้ยงหัวเชื้อในอาหารเหลว อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 22 - 25 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 65 - 70% ในที่มืด การกระตุ้นให้เกิดดอกเห็ด (stroma) อุณหภูมิ 18 - 22 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 80% ความเข้มแสง 400 - 500 ลักซ์ วันละ 18 ชั่วโมง ช่วงการพัฒนาดอกเห็ดอุณหภูมิที่เหมาะสม 10 - 25 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 90% ความเข้มแสง 800 - 1,000 ลักซ์ 12 - 16 ชั่วโมง/วัน (Kim *et.al*. 2010 Hong *et al*., 2010)

บนที่สูงในเขตภาคเหนือตอนบนช่วงฤดูหนาวมีอากาศหนาวเย็น จึงมีความเป็นไปได้ที่จะเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทองในห้องที่ไม่ควบคุมอุณหภูมิ จึงได้ทำการเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทองบนที่สูงคือที่โครงการพัฒนาดอยตุง และที่สถานีพัฒนาการเกษตรที่สูงเชียงราย (วาวี) เปรียบเทียบกับการเพาะในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงรายเพื่อเปรียบเทียบผลผลิตของการเพาะในแต่ละช่วงเวลา

ระเบียบวิธีการวิจัย

เพาะเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารแข็ง โดยพาะเลี้ยงในสภาพไม่ควบคุมอุณหภูมิที่ความสูงสองระดับได้แก่ที่โครงการพัฒนาดอยตุง (920 เมตรจากระดับน้ำทะเล) และ ที่ ศวพ.กส. เชียงราย (วาวี 1,200 เมตร) เปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงในสภาพควบคุมอุณหภูมิที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ทำการทดสอบทั้งหมด 20 ครั้ง ดังนี้

ครั้งที่ 1 ระหว่าง 6 ธ.ค. 62 – 4 ก.พ. 63
ครั้งที่ 2 ระหว่าง 3 ม.ค. 63 – 3 มี.ค. 63
ครั้งที่ 3 ระหว่าง 6 ก.พ. 63 – 7 เม.ย. 63
ครั้งที่ 4 ระหว่าง 5 มี.ค. 63 – 5 พ.ค. 63
ครั้งที่ 5 ระหว่าง 16 เม.ย. 63 – 15 มิ.ย. 63
ครั้งที่ 6 ระหว่าง 28 พ.ค. 63 – 29 ก.ค. 63
ครั้งที่ 7 ระหว่าง 26 มิ.ย. 63 – 24 ส.ค. 63
ครั้งที่ 8 ระหว่าง 23 ก.ค. 63 – 21 ก.ย. 63
ครั้งที่ 9 ระหว่าง 21 ส.ค. 63 – 19 ธ.ค. 63
ครั้งที่ 10 ระหว่าง 23 ก.ย. 63 – 24 พ.ย. 63
ครั้งที่ 11 ระหว่าง 15 ต.ค. 63 – 15 ธ.ค. 63
ครั้งที่ 12 ระหว่าง 18 พ.ย. 63 – 18 ม.ค. 64
ครั้งที่ 13 ระหว่าง 25 ธ.ค. 63 – 23 ก.พ. 64
ครั้งที่ 14 ระหว่าง 22 ม.ค. 64 – 22 มี.ค. 64
ครั้งที่ 15 ระหว่าง 18 ก.พ. 64 – 20 เม.ย. 64
ครั้งที่ 16 ระหว่าง 19 มี.ค. 64 – 15 พ.ค. 64
ครั้งที่ 17 ระหว่าง 30 เม.ย. 64 – 29 มิ.ย. 64
ครั้งที่ 18 ระหว่าง 21 พ.ค. 64 – 19 ก.ค. 64
ครั้งที่ 19 ระหว่าง 18 มิ.ย. 64 – 18 ส.ค. 64
ครั้งที่ 20 ระหว่าง 16 ก.ค. 64 – 14 ก.ย. 64

วิธีปฏิบัติการทดลองมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. การเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองบนอาหารแข็ง Potato dextrose agar (PDA)

กรมวิชาการเกษตร

นำเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทอง ที่ได้รับจากฟาร์มเพาะเลี้ยงจังหวัดเชียงใหม่ มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA ซึ่งประกอบด้วย มันฝรั่ง 200 กรัม กลูโคส 20 กรัม และผงวุ้น 18 กรัม ต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เทใส่จานเพาะเชื้อทิ้งให้เย็น ใช้เข็มเขี่ยที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว เขี่ยเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง วางลงบนจานอาหารด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ นำไปบ่มในที่มืด อุณภูมิ 22 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน

2. การเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลว Potato dextrose broth (PDB)

ส่วนประกอบที่ใช้ทำอาหารเหลว PDB คือ มันฝรั่ง 200 กรัม น้ำตาลกลูโคส 20 กรัม และน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร เตรียมโดยต้มมันฝรั่งที่หั่นเป็นลูกเต๋าขนาด 1 ลูกบากศ์เซนติเมตร ในน้ำกลั่นจนกระทั่งสุกและกรองเอาเฉพาะน้ำต้มมันฝรั่ง และปรับปริมาตรโดยเติมน้ำให้เท่ากับ 1 ลิตร เติมน้ำตาลกลูโคส คนให้ส่วนผสมละลายเข้ากัน ตวงอาหารที่เตรียมเสร็จใส่ขวดแก้วขนาด 250 มิลิลิตร บรรจุอาหารขวดละ 100 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ด้วยแรงดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เมื่ออาหาร PDB เย็นลง ใช้ Cork Borer เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตรเจาะบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทองให้ได้ชิ้นวุ้นที่มีเส้นใย ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อและใส่ลงในขวดอาหารเหลว ขวดละประมาณ 3 ชิ้น แล้วนำขวดไปวางบนเครื่องเขย่าความเร็ว 7,800 - 8,400 รอบ/ชั่วโมง โดยเขย่า 2 ชั่วโมง และหยุด 1 ชั่วโมง นาน 6 วัน ในห้องมืดที่มีอุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส

3. การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารแข็ง

ใช้ข้าวหอมมะลิที่เติมด้วยอาหาร Modified Melin Norkans medium (MMN) เป็นวัสดุเพาะอาหาร MMN 1 ลิตร มีส่วนประกอบดังนี้

4.1 $(NH_4)_2HPO_4$	250	มก.	4.6 FeEDTA	20	มก.
4.2 KH_2PO_4	500	มก.	4.7 Glucose	10	กรัม
4.3 $MgSO_4.7H_2O$	150	มก.	4.8 Malt extract	3	กรัม
4.4 $CaCl_2.2H_2O$	50	มก.	4.9 Thiamine HCl	0.1	ไมโครกรัม
4.5 NaCl	25	มก.	4.10 น้ำกลั่น	1	ลิตร

เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงโดยใช้ข้าวหอมมะลิ 25 กรัม บรรจุในขวดแก้วขนาด 8 ออนซ์ และเติมสารละลาย MMN ขวดละ 25 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 40 นาที

4. การปลูกเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทองบนอาหารแข็ง นำเชื้อบริสุทธ์เห็ดถั่งเช่าสีทองที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลว PDB มาเทลงในขวดเพาะเลี้ยง ขวดละประมาณ 5 มล. โดยทำในตู้เขี่ยเชื้อ ใช้เทคนิคปลอดเชื้อ

5. ระยะบ่มเส้นใย นำขวดเพาะเลี้ยงไปวางในที่มืดเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ภายในห้องควบคุมอุณหภูมิ 20 - 22 องศาเซลเซียส จนเส้นใยเจริญเต็มวัสดุ

6. กระตุ้นการสร้าง stroma (ดอกเห็ด) โดยนำขวดเพาะเลี้ยงไปวางใต้แสงไฟ LED ให้แสงไม่น้อยกว่า 700 ลักซ์ 12 ชั่วโมง/วัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์ ที่ศวพ.กส.เชียงราย โครงการพัฒนาดอยตุงและสภาพควบคุมอุณหภูมิที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย

7. เก็บเกี่ยวผลผลิตเมื่อเลี้ยงเชื้อครบ 8 สัปดาห์ โดยการนำทั้งวัสดุเพาะและดอกเห็ดออกจากขวด บันทึกจำนวนดอกเห็ด/ขวด ขนาดของดอกเห็ดโดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลาง (วัดตรงกึ่งกลางดอกเห็ด) และความยาวของดอกเห็ด บันทึกน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของดอกเห็ดและวัสดุเพาะเลี้ยงของแต่ละกรรมวิธี

- นำข้อมูลที่ได้ไปเปรียบเทียบ และวิเคราะห์ผลทางสถิติ

กรมวิชาการเกษตร

- เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด กันยายน 2564

ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย อ.เมือง จ.เชียงราย โครงการพัฒนาดอยตุง อ.แม่ฟ้าหลวง และศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรที่สูงเชียงราย (วาวี) อ.แม่สรวย จ.เชียงราย

ผลการทดลองและอภิปราย

จากการเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทองในแต่ละเดือนของปีงบประมาณ 2563 - 2564 พบว่าในสภาพไม่ควบคุมอุณหภูมิที่ศวพ.กส.เชียงราย (วาวี) ที่ความสูง 1,200 เมตร จากระดับน้ำทะเลและที่โครงการพัฒนาดอยตุง (920 เมตร จากระดับน้ำทะเล) สามารถเพาะได้ยกเว้นบางช่วงที่เห็ดถั่งเช่าสีทองไม่สามารถพัฒนาเป็นดอกเห็ดได้ (ภาพที่ 2.2.4.1) ตัวอย่างเช่น การทดสอบครั้งที่ 4 ระหว่างวันที่ 5 มีนาคม - 5 พฤษภาคม 2563 โดยพบว่าเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงในสภาพไม่ควบคุมอุณหภูมิที่โครงการพัฒนาดอยตุงและศวพ.กส.วาวี ไม่สามารถพัฒนาเป็นดอกเห็ดได้ ในขณะที่เห็ดที่เพาะเลี้ยงที่ศวส.เชียงราย (ในสภาพควบคุมอุณหภูมิ) สามารถพัฒนาเป็นดอกเห็ดได้ปกติ ซึ่งจะเห็นได้ชัดเจนในวันที่เก็บเกี่ยว (ภาพที่ 2.2.4.2) แสดงว่าอุณหภูมิมีผลต่อการพัฒนาเป็นดอกเห็ดเป็นอย่างยิ่ง โดยดูจากภาพที่ 2.2.4.3 แสดงกราฟของอุณหภูมิต่ำสุดและสูงสุดเฉลี่ยของห้องเพาะเลี้ยงถั่งเช่าที่ คพต. และ ศวพ.กส. วาวี จะเห็นว่าค่าเฉลี่ยอุณหภูมิต่ำสุดของทั้งที่ คพต. และ ศวพ.กส. (วาวี) มีค่าสูงกว่า 22 องศาเซลเซียส และบางสัปดาห์สูงกว่า 25 องศาเซลเซียส สำหรับค่าเฉลี่ยอุณหภูมิสูงสุด ทั้งสองสถานที่มีอุณหภูมิที่สูงเกินค่าเหมาะสมสำหรับการเจริญของเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยที่วาวีอุณหภูมิสูงกว่า 26 องศาเซลเซียส ที่ดอยตุงอุณหภูมิเฉลี่ยสูงเกิน 28 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่สูงเกินไปไม่เหมาะสมต่อการเกิดดอกเห็ด (stroma) สอดคล้องกับการทดลองของ Hung *et.al.* (2009) ที่รายงานว่าเห็ดถั่งเช่าสีทองจะหยุดการเจริญทางเส้นใยและการผลิตคอร์เดเซปินที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และธัญญาและคณะ (2561) ที่รายงานว่าเห็ดถั่งเช่าสีทองจะตายเมื่อเพาะที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

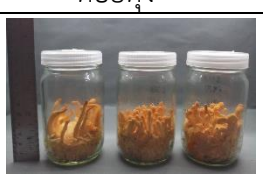
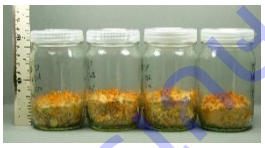
กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 2.2.4.1 น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองของการเพาะต่างสถานที่ในแต่ละครั้ง

ครั้งที่	ช่วงที่เพาะ	น้ำหนักสดดอกเห็ด (กรัม)			น้ำหนักแห้งดอกเห็ด (กรัม)		
		ศวส.ชร.	วาวี	ดอยตุง	ศวส.ชร.	วาวี	ดอยตุง
1	6/12/62 - 4/2/63	12.01b	13.36a	12.18b	2.25b	2.95a	2.5b
2	3/1/63 - 3/3/63	11.95a	11.03b	9.99c	2.17a	2.12a	1.82b
3	6/2/63 - 7/4/63	9.04b	9.81a	7.55c	1.85b	2.21a	1.77b
4	5/3/63 - 5/5/63	7.90	-	-	1.65	-	-
5	16/4/63 - 15/6/63	7.06	-	-	1.55	-	-
6	28/5/63 - 29/7/63	8.98a	3.78c	4.72b	1.67a	0.96b	0.93b
7	26/6/63 - 24/8/63	9.75a	7.16c	7.7b	1.75	1.66	1.62
8	23/7/63 - 21/9/63	7.71a	3.58	3.94b	1.17a	0.79b	6.7c
9	21/8/63 - 19/10/63	9.36b	10.03a	9.02b	2.07b	2.32a	2.09b
10	23/9/63 - 24/11/63	10.48a	7.45c	7.8b	1.56a	1.25b	1.31b
11	15/10/63 - 5/12/63	8.23	8.37	8.27	1.47b	1.58a	1.6a
12	18/11/63 - 18/1/64	9.02a	8.34b	8.9a	1.47	1.51	1.57
13	25/12/63 - 23/2/64	8.9ab	8.8b	9.2a	1.39b	1.55a	1.6a
14	22/1/64 - 22/3/64	8.5a	5.7b	5.9b	1.19a	0.83b	0.86b
15	18/2/64 - 20/4/64	8.36a	6.53b	5.97c	1.68a	1.52b	1.35c
16	19/3/64 - 15/5/64	8.2a	4.9b	5.4b	1.69a	1.27b	1.29b
17	30/4/64 - 29/6/64	7.1a	6.1b	5.9b	1.4a	1.3b	1.1c
18	21/5/64 - 19/7/64	6.52a	2.73c	4.59b	1.76a	1.04c	1.26b
19	18/6/64 - 18/8/64	4.83	4.83	4.94	0.71b	0.88a	0.75b
20	16/7/64-14/9/64	5.58	5.99c	4.52c	1.06b	1.43a	1.15b

กรมวิชาการเกษตร

ภาพที่ 2.2.4.1 ดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะในแต่ละสถานที่ในวันเก็บเกี่ยว

ชุดที่	ศูนย์วิจัยสวนเชียงราย	วาวี	ดอยตุง
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			

ตัวอย่างเอกสาร

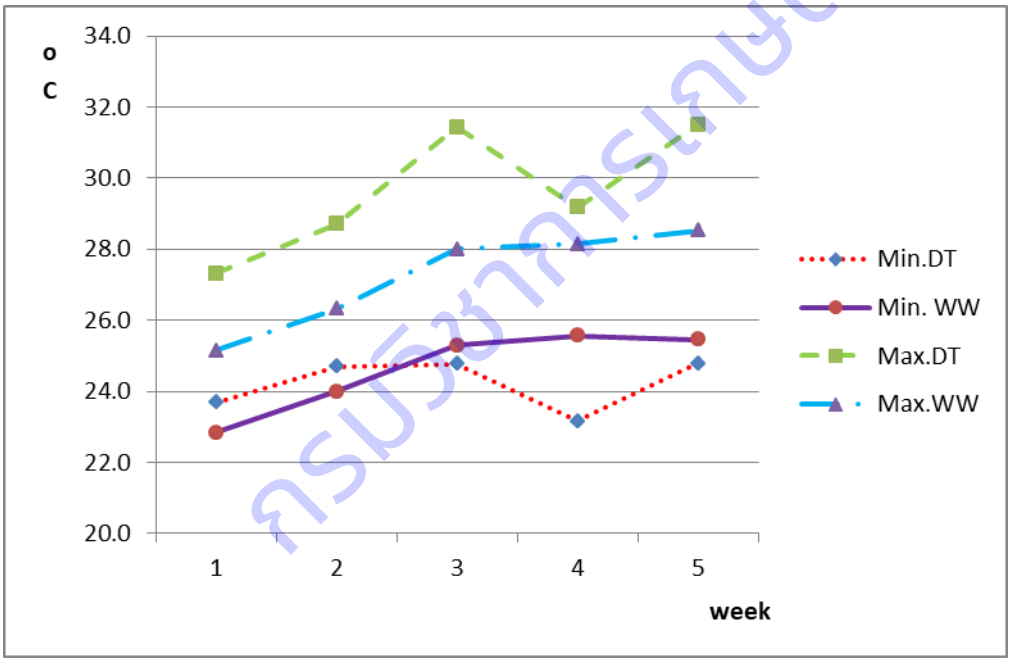
ภาพที่ 2.2.4.1 (ต่อ) ดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะในแต่ละสถานที่ในวันเก็บเกี่ยว

ชุดที่	ศูนย์วิจัยฯ	วาวี	ดอยตุง
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			
18			
19			
20			

ลิขสิทธิ์ กรมการ

ศวส.ชร. คพต. ศวพ.กส. วาวี

ภาพที่ 2.2.4.2 ถั่งเช่าสีทอง ที่เพาะเลี้ยงจากสถานที่ต่างๆ ในวันเก็บเกี่ยว (เพาะครั้งที่ 4)
(เพาะครั้งที่ 4 กระตุ้นดอกเห็ด 19 มี.ค. – 5 พ.ค. 63)



ภาพที่ 2.2.4.3 แสดงอุณหภูมิที่ คพต. และศวพ.กส.วาวี ในการเพาะเห็ด
ถั่งเช่าสีทองครั้งที่ 4 (กระตุ้นดอกเห็ด 19 มี.ค. – 5 พ.ค. 63)

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 2.2.4.2 ค่าประสิทธิภาพการผลิต (Biological efficiency) ของการเพาะต่างสถานที่ในแต่ละครั้ง

ครั้งที่	ช่วงที่เพาะ	Biological efficiency (%)		
		ศวส.ชร.	วาวี	ดอยตุง
1	6/12/62 - 4/2/63	78.09	90.39	81.69
2	3/1/63 - 3/3/63	79.40	75.19	66.87
3	6/2/63 - 7/4/63	65.79	71.71	55.64
4	5/3/63 - 5/5/63	-	-	-
5	16/4/63 - 15/6/63	-	-	-
6	28/5/63 - 29/7/63	62.71a	29.28c	35.33b
7	26/6/63 - 24/8/63	62.70	47.39	51.89
8	23/7/63 - 21/9/63	61.19	30.73	33.65
9	21/8/63 - 19/10/63	64.29	70.93	65.13
10	23/9/63 - 24/11/63	74.70	53.71	56.52
11	15/10/63 - 5/12/63	59.55	60.96	59.03
12	18/11/63 - 18/1/64	64.25	59.53	63.48
13	25/12/63 - 23/2/64	65.49	64.05	68.25
14	22/1/64 - 22/3/64	61.59	44.19	45.04
15	18/2/64 - 20/4/64	57.42	45.63	42.89
16	19/3/64 - 15/5/64	47.95	38.58	41.86
17	30/4/64 - 29/6/64	52.21	48.41	44.36
18	21/5/64 - 19/7/64	39.30	17.80	28.89
19	18/6/64 - 18/8/64	32.81	33.87	34.62
20	16/7/64-14/9/64	35.77	39.93	31.48

$$\%\ B.E.\ \equiv \frac{fresh\ wt.mushroom}{dried\ wt.substrates}\ x\ 100$$

สำหรับค่าประสิทธิภาพการผลิตพบว่ามีค่าแตกต่างกันไปในการเพาะแต่ละครั้งของแต่ละสถานที่(ตารางที่ 2.2.4.2) โดยมีค่าตั้งแต่ 0 - 90 4% สำหรับประสิทธิภาพการผลิตที่ต่ำกว่า 40% ของการเพาะในสภาพไม่ควบคุมอุณหภูมิ พบในช่วงมีนาคม - กรกฎาคม 2563 (ครั้งที่ 4 - 8) และช่วงมีนาคม-กันยายน 2564 (ครั้งที่ 16-20) อย่างไรก็ตามช่วงพฤษภาคม - กันยายน 2564 (ครั้งที่ 18 - 20) ของการเพาะในสภาพควบคุมอุณหภูมิก็พบว่ามีประสิทธิภาพค่อนข้างต่ำคือต่ำกว่า 40% อาจจะเนื่องจากความแปรปรวนทางพันธุกรรมของเชื้อเห็ด

ศรีบัวการเกษตร

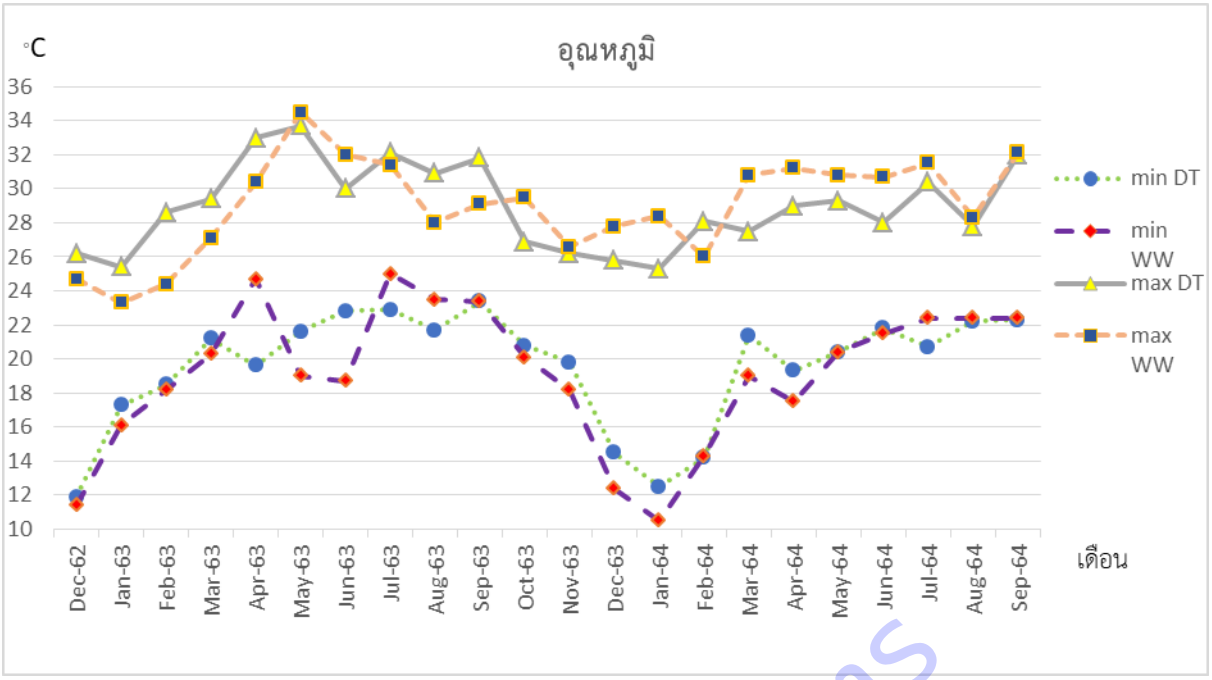
ตารางที่ 2.2.4.3 คุณลักษณะของดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองของการเพาะต่างสถานที่ในแต่ละครั้ง

ครั้งที่	ช่วงที่เพาะ	ความยาวดอกเห็ด (ซ..ม.)			เส้นผ่าศูนย์กลางดอกเห็ด (ม.ม.)		
		ศวส.ชร.	วาวี	ดอยตุง	ศวส.ชร.	วาวี	ดอยตุง
1	6/12/62 - 4/2/63	4.84a	3.68b	3.92b	3.34	2.96	2.68
2	3/1/63 - 3/3/63	5.71a	3.69c	4.4b	2.13b	2.81a	3.08a
3	6/2/63 - 7/4/63	3.61b	3.0c	4.21a	3.78a	3.24b	2.27c
4	5/3/63 - 5/5/63	-	-	-	-	-	-
5	16/4/63 - 15/6/63	-	-	-	-	-	-
6	28/5/63 - 29/7/63	5.0a	1.82c	2.5b	3.94b	3.26b	5.2a
7	26/6/63 - 24/8/63	4.67a	2.51b	2.24b	3.31	3.78	3.89
8	23/7/63 - 21/9/63	4.48a	2.26b	2.35b	3.99a	2.25b	2.51b
9	21/8/63 - 19/10/63	3.79a	3.05b	2.83b	4.3a	3.7b	3.54b
10	23/9/63 - 24/11/63	4.87a	3.68b	3.63b	3.98a	3.09b	3.34b
11	15/10/63 - 5/12/63	4.3a	3.66b	3.98b	3.04a	2.64b	2.64b
12	18/11/63 - 18/1/64	4.95a	4.42b	4.53ab	3.69	3.42	3.27
13	25/12/63 - 23/2/64	4.93a	4.51ab	4.23b	2.84	3.26	3.36
14	22/1/64 - 22/3/64	3.86a	3.24b	3.09b	4.36a	2.29b	2.32b
15	18/2/64 - 20/4/64	4.24a	2.27b	2.59b	2.33	2.35	2.45
16	19/3/64 - 15/5/64	4.8a	2.0b	2.1b	3.1	3.02	2.75
17	30/4/64 - 29/6/64	3.63a	2.48b	3.23a	3.28a	2.87b	2.79b
18	21/5/64 - 19/7/64	-	-	- *	-*	-*	-*
19	18/6/64 - 18/8/64	2.89	2.83	3.14	4.91a	2.45b	3.86a
20	16/7/64-14/9/64	4.04a	3.26b	2.56c	3.46a	3.51a	2.5b

หมายเหตุ -* ไม่ได้บันทึกข้อมูลคุณลักษณะของดอกเห็ดถั่งเช่าที่เพาะในสภาพไม่ควบคุม เนื่องจากมีลักษณะที่ไม่สมบูรณ์

ในภาพรวมเรื่องคุณลักษณะของดอกเห็ดพบว่าดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญในสภาพควบคุมอุณหภูมิจะมีความสมบูรณ์ของดอกเห็ดดีกว่ากล่าวคือ มีความยาวและเส้นผ่าศูนย์กลางของดอกเห็ดมากกว่าดอกเห็ดที่เพาะในสภาพไม่ควบคุมอุณหภูมิ (ตารางที่ 2.2.4.3) เนื่องจากอุณหภูมิในห้องควบคุมอุณหภูมิมีความสม่ำเสมอซึ่งต่างจากอุณหภูมิในสภาพที่ไม่ควบคุมที่มีความต่างกันระหว่างอุณหภูมิต่ำสุดและสูงสุดค่อนข้างมาก (ภาพที่ 2.2.4.4) ซึ่งส่งผลต่อการพัฒนาของดอกเห็ด

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 2.2.4.4 แสดงค่าเฉลี่ยอุณหภูมิสูงสุดและต่ำสุดของแต่ละเดือนของดอยตุงและวาวี

จากการคำนวณปริมาณการใช้ไฟฟ้าของห้องเลี้ยงถั่งเช่าขนาด เมตร ใช้ไฟฟ้าวันละ 13 หน่วย และเมื่อนำมาคำนวณค่าใช้จ่ายโดยคิดในอัตราต่ำสุดคือหน่วยละ 3.2484 บาท พบว่าในการเพาะแต่ละรอบการผลิต (60 วัน) ถ้าเพาะในห้องควบคุมอุณหภูมิ จะมีค่าใช้จ่ายต่อรอบการผลิตที่ 2,533 บาท ดังนั้นการเพาะบนพื้นที่สูงในสภาพที่ไม่ควบคุมอุณหภูมิระหว่าง ตุลาคม - กุมภาพันธ์ สามารถทำได้โดยให้ผลผลิตใกล้เคียงกับการเพาะในสภาพควบคุมอุณหภูมิ ก็จะสามารถลดต้นทุนการผลิตไป 2,533 บาทต่อรอบการผลิต

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

บนที่สูงในระดับตั้งแต่ 900 เมตร จากระดับน้ำทะเล สามารถเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทองในห้องที่ไม่ควบคุมอุณหภูมิได้ ช่วงที่สามารถเพาะได้คือตั้งแต่ตุลาคม - กุมภาพันธ์ โดยจะให้ผลผลิตใกล้เคียงกับการเพาะในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ สามารถลดต้นทุนเรื่องพลังงานไฟฟ้าไปได้ 2,533 บาทต่อรอบการผลิต (60 วัน)

กรมวิชาการเกษตร

กิจกรรมที่ 3 การขยายผลเทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อให้ได้คอร์เดเซปินสูง
Technology Transferrig of Cordyceps militaris production for high content of cordycepin

3.1 การฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ หลักสูตร เทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทอง
Training workshop on cultivation of *Cordyceps militaris*

นันทินี ศรีจุมปา สุธามาศ ณ น่าน บุญปิยะธิดา คล่องแคล่ว
สุปัน ไม้ดัดจันทร์
Nantinee Srijumpa Suthamas Na-Nan Boonpiyathida Klongkleaw
Supan Maidatchan

คำสำคัญ (Key words)
เห็ดถั่งเช่าสีทอง, การเพาะ, การฝึกอบรม : *Cordyceps militaris*, cultivation, training course

บทคัดย่อ

กิจกรรมการขยายผลเทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทอง เป็นกิจกรรมภายใต้โครงการเทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อให้ได้คอร์เดเซปินสูง มีวัตถุประสงค์เพื่อเผยแพร่องค์ความรู้ที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทอง ซึ่งประกอบไปด้วยชนิดธัญพืช ชนิดอาหารเพาะเลี้ยง ชนิดของแสงในระหว่างการกระตุ้นดอกเห็ด ตลอดจนการเพาะในสภาพไม่ควบคุมอุณหภูมิบนพื้นที่สูง ซึ่งองค์ความรู้ดังกล่าวได้ถ่ายทอดผ่านการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ 1 รุ่น เมื่อวันที่ 11 มีนาคม 2564 ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย มีผู้เข้ารับการฝึกอบรม 30 คน และเนื่องจากสถานการณ์การระบาดของโรคโควิด 19 จึงได้ฝึกอบรมออนไลน์ 1 รุ่น เมื่อวันที่ 3 ธันวาคม 2564 มีผู้เข้ารับการอบรม 27 คน

กรมวิชาการเกษตร

Abstracts

Technology transferring of **c**ultivation techniques of *Cordyceps militaris* for higher production of cordycepin was an activity to extend research results through the training course. Course outline include types of grains, types of media, types of light during fruting development as well as growing *C. militaris* in uncontrolled room temperature at high altitude. Workshop with 30 participants was carried out at Chiangrai Horticulture Research Center on March, 11, 2021. As the pandemic of Covid 19, online training course with 27 participants was taken instead on December, 3, 2021.

บทนำ

ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงรายได้ทดลองเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองภายใต้โครงการวิจัยพัฒนาพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อให้ได้คอร์เดเซปินสูง และได้เทคโนโลยีในการผลิตเห็ดถั่งเช่าที่มีสารสำคัญสูง ดังนั้นเพื่อเผยแพร่องค์ความรู้เรื่องการผลิตเห็ดสมุนไพรถั่งเช่าสีทอง ให้แก่เกษตรกรและผู้สนใจ จึงได้จัดฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการเพื่อถ่ายทอดองค์ความรู้และเทคโนโลยีการผลิตเห็ดสมุนไพรถั่งเช่าสีทองให้ได้มาตรฐาน เกษตรดีที่เหมาะสม แก่เกษตรกรและผู้สนใจ เพื่อส่งเสริมให้มีมาตรฐานในการผลิต ยกระดับคุณภาพสมุนไพรถั่งเช่า และส่งผลดีต่อภาคอุตสาหกรรมสมุนไพร ยา อาหารเสริม เครื่องสำอางฯลฯ และ ก่อให้เกิดรายได้ให้เกษตรกร และสร้างความเข้มแข็งให้ชุมชนต่อไป

ระเบียบวิธีการวิจัย

1. จัดฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ (on site) หลักสูตร เทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทอง ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย อ.เมือง จ. เชียงราย เมื่อวันที่ 11 มีนาคม 2564
2. จัดฝึกอบรม หลักสูตร เทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยฝึกอบรมออนไลน์ผ่านระบบ zoom cloud meeting ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย เมื่อวันที่ 3 ธันวาคม 2564

ผลการทดลองและอภิปราย

1. การจัดฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ (on site) หลักสูตร เทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทอง ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย อ.เมือง จ. เชียงราย เมื่อวันที่ 11 มีนาคม 2564 มีผู้เข้ารับการฝึกอบรมจำนวน 30 คน (ตามรายชื่อในตารางที่ 1) โดยภาคเช้า เป็นการบรรยายภาคทฤษฎี เรื่อง เทคโนโลยีการผลิตถั่งเช่าสีทอง และผลการวิจัยของศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงรายเรื่องพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อให้ได้สารคอร์เดเซปินสูง ภาคบ่ายฝึกปฏิบัติ การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar, potato dextrose broth, การเตรียมอาหารแข็งสำหรับเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง การใช้หม้อนึ่งความดันเพื่อฆ่าเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง วิธีการเก็บเกี่ยว

2. การฝึกอบรมออนไลน์ หลักสูตร เทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทอง จัดโดยศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย เมื่อวันที่ 3 ธันวาคม 2564 มีผู้เข้ารับการฝึกอบรมจำนวน 27 คน (ตามรายชื่อในตารางที่ 2) เป็นการบรรยายความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับเห็ดถั่งเช่าและการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง ชมคลิปวิดีโอเรื่อง การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB PDA MMN การแยกเชื้อจากดอกเห็ด ขั้นตอน การขยายเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลวPDB และการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทอง บรรยายผลการทดสอบเทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทอง และ ถาม-ตอบปัญหา

กรมวิชาการเกษตร

วันที่ 11 มีนาคม 2564

ตารางที่ 3.3.1.1 รายชื่อผู้เข้าอบรมเชิงปฏิบัติการ หลักสูตร เทคโนโลยีการผลิตถั่งเช่าสีทอง
วันที่ 11 มีนาคม 2564 ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย เวลา 8.00 – 16.30 น.

ลำดับที่	ชื่อ – สกุล	ที่อยู่	เบอร์โทร
1	นายอภิชัย สุทธะ	245 ม.16 ต.สถาน อ.เชียงของ จ.เชียงราย	093-2657989
2	น.ส.ธัญญาภร กิตติชัยวัฒนกุล	172 ม.18 ต.ป่าอ้อดอนชัย อ.เมือง จ.เชียงราย	099-1137888
3	นายถนอม มาชื่น	104 ม.1 ต.รอบเวียง อ.เมือง จ.เชียงราย	086-1589802
4	นางประดับ ดวงเก้า	141 ม.1 ต.ท่าก๊อ อ.แม่สรวย จ.เชียงราย	080-8651981
5	น.ส.สุภณิต กุลโคตร	115 ม.23 ต.ริมบ่อ อ.ท่าแซะ จ.ชุมพร	085-4017752
6	นายประวัติ จันทร์ศรีรักษา	1 ม.8 ต.นางแล อ.เมือง จ.เชียงราย	081-4681197
7	นางจินตนา สมประสงค์	111 ม.3 ต.ป่าอ้อดอนชัย อ.เมือง จ.เชียงราย	089-6367416
8	นางวิราพร ฮุวรรรณดารักษ์	204/1 ม.2 ต.โป่งแพร่ อ.แม่ลาว จ.เชียงราย	086-1828099

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 3.3.1.1 รายชื่อผู้เข้าอบรมเชิงปฏิบัติการ หลักสูตร เทคโนโลยีการผลิตถั่งเช่าสีทอง
วันที่ 11 มีนาคม 2564 ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย เวลา 8.00 – 16.30 น. (ต่อ)

ลำดับที่	ชื่อ – สกุล	ที่อยู่	เบอร์โทร
9	นายนนทพัทธ์ ต๋านา	348 ม.11 ต.จอมหมอกแก้ว อ.แม่ลาว จ.เชียงราย	064-9912681
10	นางแสงหล้า จันทร์ทิมา	217 ม.11 ต.จอมหมอกแก้ว อ.แม่ลาว จ.เชียงราย	080-8063073
11	นางสุกัญญา คำโอภาส	321 ม.15 ต.บ้านดกู่ อ.เมือง จ.เชียงราย	088-2611152
12	นางปารดา ศรีเลาว์	375 ม.3 ต.แม่กรณ์ อ.เมือง จ.เชียงราย	086-4286245
13	นายณัฐวัฒน์ ประเสริฐสังข์	9 ม.18 ต.ปอ อ.เวียงแก่น จ.เชียงราย	080-8072552
14	นายจักรกฤช รัตนยง	62 ม.1 ต.สันทราย อ.เมือง จ.เชียงราย	081-8443306
15	นางจิตราภรณ์ บุญยงค์	98/2 ม.21 ต.รอบเวียง อ.เมือง จ.เชียงราย	061-7987563
16	นายเรืองเดช นิลเนตร	9/4 ม.4 ต.ห่ายงาว อ.เวียงแก่น จ.เชียงราย	091-8548853
17	นางวาสนา บำเพ็ญอยู่	643/1 ม.24 ต.รอบเวียง อ.เมือง จ.เชียงราย	089-4345739
18	นายอชิรสิทธิ์ ปัญญาวาส	151 ม.1 ต.ดอยลาน อ.เมือง จ.เชียงราย	093-6864279
19	นายนิยม อ่อนโภส	1 ม.12 ต.เจดีย์หลวง อ.แม่สรวย อ.เมือง จ.เชียงราย	089-9569740
20	นายมุสลีมัน แวหามะ	122/1 ม.9 ต.ปะแตะ อ.ยะหา จ.ยะลา	098-7421202
21	น.ส.วิชุดา พานาที	715 ม.6 ต.แม่แตง อ.แม่แตง จ.เชียงใหม่	0613652717
22	นายเกรียงศักดิ์ ทนทาน	206 ม.13 ต.ดงมะดะ อ.แม่ลาว จงเชียงราย	089-9514686
23	น.ส.นิราภรณ์ วงศ์แก้ว	127/1 ม.8 ต.รอบเวียง อ.เมือง จ.เชียงราย	089-4351117
24	นายขิณรัตน์ สินสิทธิพร	25/15 ม.3 ต.ท่าสาย อ.เมือง จ.เชียงราย	081-9602143
25	น.ส.จันทร์จิรา ตาจุมปา	702 หมู่1 ต.ริมกก อ.เมือง จ.เชียงราย	089-9524791
26	นางอุษา มะโนวัง	38 ม.11 ต.จอมหมอกแก้ว อ.แม่ลาว จ.เชียงราย	064-4191981
27	นางสิริรัตน์ ปงรังษี	96 ม.11 ต.จอมหมอกแก้ว อ.แม่ลาว จ.เชียงราย	083-0394233
28	นายประสิทธิ์ สายสวาท	42 ม.11 ต.จอมหมอกแก้ว อ.แม่ลาว จ.เชียงราย	082-6806588
29	นางกะรัตเพชร ชัยโชค	67/5 ม.2 ต.เวียง อ.เชียงแสน จ.เชียงราย	093-2416982
30	นายฐิรวัฒน์ ชัยโชค	3 ม.8 ต.เวียง อ.เชียงแสน จ.เชียงราย	093-2416982

กรมวิชาการเกษตร

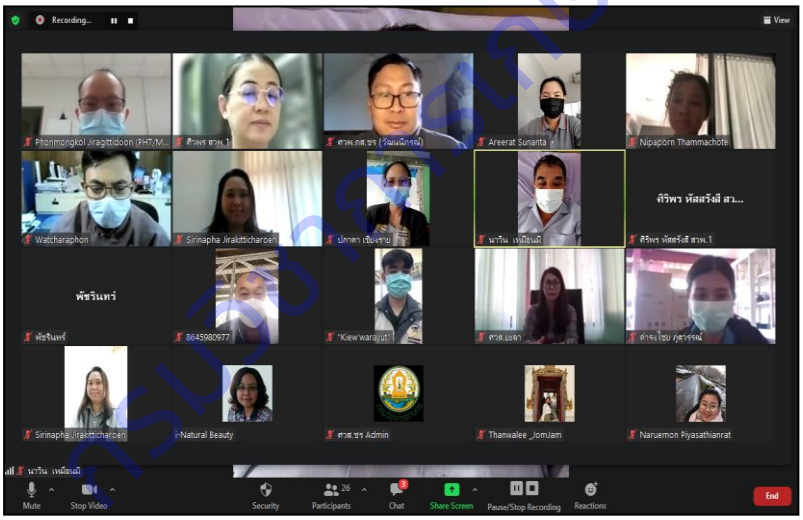
ตารางที่ 3.3.1.2 รายชื่อผู้เข้ารับการฝึกอบรมออนไลน์ หลักสูตร เทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทอง
วันที่ 3 ธันวาคม 2564

ลำดับ	ชื่อ-สกุล	ที่อยู่	เบอร์โทรศัพท์
1	น.ส.อารีรัตน์ สุนันต๊ะ	234 หมู่ 8 ต.แม่ไร่ อ.แม่จัน จ.เชียงราย 57240	086-4301936
2	น.ส.รวินันธร แสงศรี	161/3 หมู่1 ต.บ้านพร้าว อ.ป่าพะยอม จ.พัทลุง 93210	096-6195642
3	น.ส.นิภาพร ธรรมโชติ	79/5 หมู่2 ต.ตลิ่งชัน อ.ท่าศาลา จ.นครศรีธรรมราช 80160	092-7607570
4	น.ส.สิรินภา จิระกิตติเจริญ	วิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จ.พิษณุโลก 653 ม.8 ต.วังทอง อ.วังทอง จ.พิษณุโลก 74000	099-1593265
5	นายพรมงคล จิรกิตติดุลย์	49 ซ.เทียนทะเล 25 แขวงท่าข้าม เขตบางขุนเทียน กทม. 10150 (ม.เทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี)	086-4937285
6	น.ส.นฤมล ปิยะเสถียรรัตน์	49 ซ.เทียนทะเล 25 แขวงท่าข้าม เขตบางขุนเทียน กทม. (ม.เทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี)	086-1419786
7	น.ส.ทันวลี ศรีนนท์	49 ซ.เทียนทะเล 25 แขวงท่าข้าม เขตบางขุนเทียน กทม. (ม.เทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี)	087-9819798
8	นายวัฒนนิกรณ์ เทพโพธา	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรที่สูงเชียงราย	086-7301394
9	นายประสาท สุนเลี้ยง	18/1 หมู่1 อ้อมใหญ่ สามพราน นครปฐม 73110	081-8047390
10	น.ส.ปภาดา อินต๊ะยศ	28 หมู่8 ต.ป่าก่อดำ อ.แม่ลาว จ.เชียงราย 57250	063-8382930
11	น.ส.กันยารัตน์ พุ่มพฤกษ์	2 ม.7 ต.ธารโต อ.ธารโต จ.ยะลา 50290	084-9357502
12	นายธนเดช โพธิ์เงิน	54ม.5 ต.จอมหมอกแก้ว อ.แม่ลาว จ.เชียงราย 57250	081-6884122
13	นายจงเจริญ สวยจันทร์	2 ซ.ธีระวิทยา ต.เบตง อ.เบตง จ.ยะลา 95110	083-4928548
14	นางสายอรุณ ใต้ฟ้าพูล	35/1 หมู่10 ต.ป่าก่อดำ อ.แม่ลาว จ.เชียงราย 57250	089-6348659
15	น.ส.รวิภา ไชยสิทธิ์	นครราชสีมา	086-5145123
16	นายอิ่นคำ สุนะยงค์	126หมู่17ต.ดงมะดะ อ.แม่ลาว จ.เชียงราย 57250	093-2841334
17	นายสังวาล ภาวดี	154 ม.13 ต.ดงมะดะ อ.แม่ลาว จ.เชียงราย 57250	084-3738677
18	นายดำรงไชย ภู่สุวรรณ์	31 หมู่ 3 ตำบลศาลาแดง อำเภอเมือง จังหวัดอ่างทอง 14000	061-4268111
19	นายนาวิน เหมือนมี	285/1 ม.5 ต.หัวรอ อ.เมือง จ.พิษณุโลก 65000	081-6807327
20	น.ส.ศิริพร หัสสรังสี	สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1 เลขที่ 225 หมู่ 3 ต.แม่เหียะ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50100	086-9111215
21	นายสุเมธ เทพนิล	331/5 ต.เมืองพาน อ.พาน จ.เชียงราย 57120	096-8181899

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 3.3.1.2 รายชื่อผู้เข้ารับการฝึกอบรมออนไลน์ หลักสูตร เทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทอง
วันที่ 3 ธันวาคม 2564 (ต่อ)

ลำดับ	ชื่อ-สกุล	ที่อยู่	เบอร์โทรศัพท์
22	นายพีระพล มุงเมือง	114 หมู่1 ต.เวียง อ.เชียงแสน จ.เชียงราย 57150	093-3161332
23	นายวราวุธ เหล็กแปง	นักศึกษา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร	061-8098177
24	น.ส.กัลยากร วัฒนศิริ	นักศึกษา คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้	090-6947167
25	น.ส.พุธิตา โพธิ์ยี่	นักศึกษา คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้	080-3272439
26	น.ส.วริศรา วงศ์เวียน	นักศึกษา คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้	062-3084601
27	น.ส.อริสรา ชินดวงงาม	นักศึกษา คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้	065-0945641



ภาพที่ 3.3.1.2 ผู้เข้าร่วมฝึกอบรมออนไลน์หลักสูตร เทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทอง
จัดโดยศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย วันที่ 3 ธันวาคม 2564

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การขยายผลเทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อให้ได้คอร์เดเซปินสูง ตามแผนปฏิบัติงานจะดำเนินการโดยการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการจำนวน 2 รุ่นๆละ 25 คน เพื่อให้ผู้เข้ารับการอบรมมีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับถั่งเช่าสีทอง มีทั้งภาคทฤษฎีโดยการบรรยายและฝึกปฏิบัติเพื่อให้ทราบถึงขั้นตอน วิธีการต่างๆในการเพาะเลี้ยง แต่เนื่องจากสถานการณ์การระบาดอย่างต่อเนื่องของโรคโควิด 19 ทำให้สามารถจัดฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการได้เพียง 1 รุ่น แต่รุ่นที่ 2 ต้องฝึกอบรมในระบบออนไลน์ผ่านระบบ zoom cloud meeting แทน อย่างไรก็ตามขั้นตอนวิธีการต่างๆ ผู้จัดได้ทำเป็นคลิปวีดีโออย่างละเอียดทุกขั้นตอนและอัพโหลดบนยูทูป ซึ่งผู้เข้ารับการอบรมสามารถศึกษาทบทวนได้ในภายหลัง มีการตั้งกลุ่มไลน์ของผู้เข้ารับการฝึกอบรมออนไลน์เพื่อติดตามหรือสอบถามปัญหาได้

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ ผลการวิจัยในประเด็นต่างๆในการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อให้ได้ผลผลิตและสารคอร์เดเซปินสูง ได้แก่ ถั่งเช่าสายพันธุ์ใหม่จากการปรับปรุงพันธุ์ ชนิดธัญพืชที่ใช้เพาะเลี้ยง ชนิดสูตรอาหาร ตลอดจนชนิดของแสงที่มีผลต่อผลผลิตและสารคอร์เดเซปิน รวมทั้งการเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทองในสภาพไม่ควบคุมอุณหภูมิบนพื้นที่สูง ได้ถูกเผยแพร่ผ่านการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการและการฝึกอบรมออนไลน์ ซึ่งเป็นข้อมูลที่ผู้เข้ารับการฝึกอบรมสามารถนำไปใช้เมื่อต้องการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง

กรมวิชาการเกษตร

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

โครงการวิจัย การพัฒนาพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อให้ได้คอร์เดเซปินสูง ได้ดำเนินกิจกรรมต่างๆ ภายใต้โครงการวิจัยนี้ จนกระทั่งบรรลุตามวัตถุประสงค์ที่กำหนดไว้ ได้แก่

1. การพัฒนาสายพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยการผสมพันธุ์ให้ได้ลูกผสมเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีการเจริญเติบโตรวดเร็ว ให้ผลผลิตคุณภาพดีและมีคอร์เดเซปินสูงกว่าพันธุ์พ่อแม่ จำนวน 2 สายพันธุ์ ซึ่งเหมาะสม สำหรับการเพาะเลี้ยงในประเทศไทย และการจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดและฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดของเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทอง สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการระบุชนิดหรือสายพันธุ์ได้ในระยะเวลาอันสั้น

2. พัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีประสิทธิภาพ ให้ผลผลิตและคอร์เดเซปินสูง โดยการศึกษาเทคโนโลยีที่เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง ซึ่งได้แก่ วัสดุเพาะเช่นแหล่งคาร์บอนจากข้าวชนิดต่างๆ และธัญพืชบางชนิด โปรตีนจากแหล่งต่างๆ รวมทั้งผลของแสงไฟแอลอีดีสีต่างๆ ต่อผลผลิต และสารสำคัญในถั่งเช่าสีทอง และความเป็นไปได้ในการผลิตถั่งเช่าสีทองในสภาพไม่ควบคุมอุณหภูมิ ทำให้ได้เทคโนโลยีที่เหมาะสมในการผลิตถั่งเช่าสีทองคุณภาพ สำหรับเผยแพร่แก่ผู้สนใจต่อไป

3. ขยายผลเทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ให้ผลผลิตและสารสำคัญสูง โดยถ่ายทอดองค์ความรู้ผ่านทางการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ ให้แก่กลุ่มเกษตรกร หรือผู้ที่สนใจต้องการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทอง ให้สามารถต่อยอดพัฒนากระบวนการผลิตถั่งเช่าสีทองเชิงพาณิชย์ได้

สรุปผลการวิจัย

1.จากการรวบรวม เปรียบเทียบลักษณะและประเมินผลผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทอง ที่รวบรวมจากแหล่งผลิตในประเทศจำนวน 11 สายพันธุ์ คัดเลือกเห็ดถั่งเช่าสีทองได้ 5 สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงและสารสำคัญสูง ได้แก่ CR1, CR3, CR5, CM1 และ CM2 ใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในการปรับปรุงพันธุ์ใหม่

2.การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเห็ดถั่งเช่าสีทองจำนวน 7 ไอโซเลท พบความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไดท์ในยีน *ITS-UM* ตำแหน่งที่ 43 ในเห็ดถังเช่าตัวอย่างรหัส O จากเบส A เป็นเบส G สำหรับยีน *V9* ไม่พบความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ ในการจัดทำแผนผังพันธุกรรมทั้งสองยีนไม่แสดงค่าระยะห่างทางพันธุกรรม

3.สร้างลูกผสมโดยนำพ่อแม่พันธุ์ไปคัดแยกเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว และจับคู่ผสมแบบสปอร์เดี่ยว ลูกผสมสายพันธุ์คัดเลือกที่ผ่านการประเมินผลผลิตจำนวน 22 คู่ผสม นำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญพบว่าเห็ดถั่งเช่าสีทองลูกผสมจากการปรับปรุงพันธุ์ที่ให้ผลผลิตและที่มีสารคอร์เดเซปินสูง จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ CR1-9 x CR3-9 และ CM1-10 x CR 3-4 ซึ่งทั้ง 2 สายพันธุ์ให้ลักษณะผลผลิตที่มีคุณภาพตามเกณฑ์การคัดเลือก โดยมีค่าประสิทธิภาพการผลิต (BE) และสารสำคัญสูงกว่าสายพันธุ์พ่อแม่

4. เปรียบเทียบการใช้ธัญพืช 7 ชนิด ได้แก่ ข้าวกล้องหอมมะลิ ข้าวขาวหอมมะลิ ข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวขาวเสาไห้ ข้าวญี่ปุ่น ข้าวขาว กข. 43 และลูกเดือย พบว่าลูกเดือยเป็นธัญพืชเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ให้ผลผลิตและสารคอร์เดเซปินสูงที่สุด

5. การเปรียบเทียบสูตรอาหาร 5 สูตร พบว่า สูตรที่ 5 คืออาหาร MMN (Modified Melin Norkran medium) ให้ค่าประสิทธิภาพการผลิตมากที่สุด เท่ากับ 82.87 เปอร์เซ็นต์ จึงเหมาะสำหรับการนำไปใช้เนื่องจากมีต้นทุนการผลิตที่ต่ำ อย่างไรก็ตามควรประยุกต์ใช้สูตรอาหารที่ 5 ร่วมกับสูตรอาหารที่ 1 (น้ำตาลทรายแดง 10 กรัม เปบโตน 10 กรัม ดีเกลือ 0.5 กรัม วิตามินบี 1 จำนวน 4 เม็ด / น้ำ 1 ลิตร) เนื่องจากสูตรอาหารที่ 1 ให้สารคอร์เดเซปินและอะดีโนซีนสูง

กรมวิชาการเกษตร

6. การให้แสงไฟแอลอีดี สีเขียวในช่วงการกระตุ้นดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองจะให้ทั้งผลผลิต และสารคอร์เดเซปิน และอะดีโนซีนในระดับดีกว่าแสงสีอื่น

7. เปรียบเทียบการผลิตถั่งเช่าสีทองในสภาพที่ควบคุมและไม่ควบคุมอุณหภูมิ พบว่าบนพื้นที่ที่สูงจากระดับน้ำทะเลตั้งแต่ 900 เมตรขึ้นไป สามารถเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทองในห้องที่ไม่ควบคุมอุณหภูมิได้ตั้งแต่เดือนตุลาคมถึงกุมภาพันธ์

8. ได้ขยายผล เทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองให้เกษตรกรและผู้สนใจโดยการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ 1 ครั้ง มีผู้เข้ารับการฝึกอบรมจำนวน 30 คน และจัดฝึกอบรมออนไลน์ผ่านระบบ zoom cloud meeting จำนวน 1 ครั้ง มีผู้เข้ารับการฝึกอบรม 27 คน

ข้อมูลใหม่ที่ค้นพบจากงานวิจัย

1.การให้แสง LED สีเขียวในช่วงการกระตุ้นดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองจะให้ทั้งผลผลิต และสารคอร์เดเซปินและอะดีโนซีนในระดับดีกว่าแสงสีอื่น

2. ลูกผสมของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ให้ผลผลิต และสารคอร์เดเซปินสูง จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ CR1-9 x CR3-9 และ CM1-10 x CR 3-4

3. บนพื้นที่ที่สูงจากระดับน้ำทะเลตั้งแต่ 900 เมตรขึ้นไป สามารถเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทองในห้องที่ไม่ควบคุมอุณหภูมิได้ตั้งแต่เดือนตุลาคมถึงกุมภาพันธ์

ประโยชน์ที่ได้รับจากผลงานวิจัย

1.ได้เทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ให้ผลผลิตและสารคอร์เดเซปินสูง

2.ได้ลูกผสมเห็ดถั่งเช่าสีทอง 2 สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตและสารคอร์เดเซปินสูง

3.เกษตรกรและผู้สนใจได้รับการถ่ายทอดองค์ความรู้เรื่องการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทอง

กลุ่มเป้าหมายที่นำผลงานไปใช้ประโยชน์ กลุ่มเกษตรกรเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทอง อ.แม่ลาว จ.เชียงรายและพื้นที่ใกล้เคียง และผู้ประกอบการธุรกิจผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

กรมวิชาการเกษตร

ข้อเสนอแนะที่ได้จากการวิจัย

ควรมีการวิจัยต่อไปดังนี้

1. ศึกษาผลการวิจัยเชิงทดลองทางคลินิค (clinical trials) เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของถั่งเช่าสีทองในการป้องกันรักษาโรคต่างๆ เพื่อเพิ่มมูลค่าและคุณค่าของเห็ดถั่งเช่าสีทอง
2. ควรศึกษาวิธีการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์เห็ดถั่งเช่าเพื่อไม่ให้มีการกลายพันธุ์
3. ควรทดสอบการผลิตลูกผสมเห็ดถั่งเช่าสีทองสายพันธุ์ใหม่ที่ได้ 2 สายพันธุ์ ในฟาร์มเกษตรกร

กรมวิชาการเกษตร

บรรณานุกรม

เอกสารอ้างอิง

การทดลองที่ 1.1 การรวบรวมและประเมินผลผลิตและลักษณะเห็ดถั่งเช่าสีทองสายพันธุ์ต่างๆ

ธัญญา ทะพิงค์แก. 2553. เอกสารประกอบการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง การเพาะเห็ดถั่งเช่ารุ่นที่ 3 วันเสาร์ที่ 26 กุมภาพันธ์ 2553. สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่. 43 หน้า.

Bhandari, A.K., Negi, J.S. Bisht, V.K., Rana, C.S., Bharti, M.K. and Singh, N. 2010. Chemical constituent, inorganic elements and properties of *Cordyceps sinensis*-a review. *Nature Sci.* 8(9) : 253-256.

Dai, G.W., Bao, T.T., Xu, G.F., Cooper, R. and Zhu, G.X. 2001. CordyMax^{TM} Cs-4 improves steady-state bioenergy status in mouse liver. *J Altern Complement Med*. 7 : 231-240

Holliday, J., Cleaver, P., Loomis-Powers, M., and Patel, D. 2004. Analysis of quality and techniques for Hybridization of Medicinal Fungus *Cordyceps sinensis*. *International Journal of Medicinal mushrooms*. Vol. 6 : 147-160.

Li, C., Li, Z., Fan, M., Cheng, W., Long, Y., Ding, T. and Ming L. 2006. The composition of *Hirsutella sinensis*, anamorph of *Cordyceps sinensis*. *J. Food Compos Anal*. : 19(8): 800-805.

Wasser, S.P. 2002. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Appl Microbiol Biot*. 60(3) : 258-274.

การทดลองที่ 1.2 การจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดของเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ปัทมา ศรีน้ำเงิน. 2559. *การพัฒนาดีเอ็นเอบาร์โค้ดของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี*. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. คณะวิทยาศาสตร์และศิลปะศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี.

พรรษา มนต์แข็ง อรุณรัตน์ ฉวีราช ธวัดชัย ธานี และรุ่งลาวัลย์ สุดมูล. 2556. ดีเอ็นเอบาร์โค้ดเพื่อการระบุชนิดสมุนไพรแปรรูปสกุลขี้เหล็ก. *วารสาร มข.* 13(2) : 18 - 30.

สรวง รุ่งประกายพรรณ บุษบา เผ่าทองจีน พีรยศ ภมรศิลปะธรรม วีรยุทธ์ เลิศนที และ สินธพ โฉมยา. 2554. ดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืชสมุนไพรไทย. แหล่งข้อมูล : http://www.pharm.su.ac.th/dna2/dna1.php ค้นเมื่อ 12 มกราคม 2564.

อรุณรัตน์ ฉวีราช. 2552. *อนุกรมวิธานระดับโมเลกุลของพืช*. โครงการผลิตตำรา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 172 หน้า.

อรุโณทัย ซาววา, สุภาวดี ง้อเหรียญ, อัญชลี ศรีสุวรรณ, ประพิศ วองเทียม และหทัยรัตน์ อุไรรงค์. 2552. การศึกษาความหลากหลายของพันธุ์มันสำปะหลังในประเทศไทยโดยใช้เทคนิค SCAR (Sequence Characterized Amplified Region). *รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2551-2552 สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร.* หน้า 96-118

Avin, F.A., S. Bhassu, Y.S. Tan, P. Shahbazi and S. Vikineswary. 2014. Molecular Divergence

กรมวิชาการเกษตร

and Species Delimitation of the Cultivated Oyster Mushrooms: Integration of Igs1 and Its. *The Scientific World Journal*. 10 page.

Hien, L.T.T. and H.H. Hanh. 2018. Efficiency of ITS1-5.8S-ITS2 region in identifying *Cordyceps* species. *J. of Biotechnology* 16(4) : 705-712.

Mouhamadou, B., F. Carriconde, H. Gryta, P. Jargeat, S. Manzi and M. Gardes. 2008. Molecular Evolution of Mitochondrial Ribosomal DNA in the Fungal Genus Tricholoma: Barcoding Implications. *Fungal Genetics and Biology*. 45(9): 1219-1226.

Xiang, L., J. Song, T. Xin, Y. Zhu, L. Shi, X. Xu, X. Pang, H. Yao, W. Li and S. Chen. 2013. DNA barcoding the commercial hinese caterpillar fungus. *FEMS Microbiology Letters* Vol. 347 Issue 2 : 156-162.

การทดลองที่ 1.3 การปรับปรุงพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทองที่ให้ผลผลิตและคอร์เดเซปินสูง

ธัญญา ทะพิงค์แก. 2553. เอกสารประกอบการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง การเพาะเห็ดถั่งเช่ารุ่นที่ 3 วันเสาร์ที่ 26 กุมภาพันธ์ 2553. สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่. 43 หน้า.

รัชฎาภรณ์ ทองเหม และสุวลักษณ์ ชัยชูโชติ. 2558. การปรับปรุงสายพันธุ์เห็ดภูฏานโดยการผสมพันธุ์ระหว่างเส้นใยนิวเคลียสคู่กับเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว. *ใน* รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุดปี 2558 สำนักวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ. 27 หน้า.

Bhandari, A.K., Negi, J.S. Bisht, V.K., Rana, C.S., Bharti, M.K. and Singh, N. 2010. Chemical constituent, inorganic elements and properties of *Cordyceps sinensis*-a review. *Nature Sci.* 8(9) : 253-256.

Dai, G.W., Bao, T.T., Xu, G.F., Cooper, R. and Zhu, G.X. 2001. CordyMax^{TM} Cs-4 improves steady-state bioenergy status in mouse liver. *J Altern Complement Med*. 7 : 231-240.

Holliday, J., Cleaver, P., Loomis-Powers, M., and Patel, D. 2004. Analysis of quality and techniques for Hybridization of Medicinal Fungus *Cordyceps sinensis*. *International Journal of Medicinal mushrooms*. Vol. 6 : 147-160.

Li, C., Li, Z., Fan, M., Cheng, W., Long, Y., Ding, T. and Ming L. 2006. The composition of *Hirsutella sinensis*, anamorph of *Cordyceps sinensis*. *J. Food Compos Anal*. : 19(8): 800-805.

Wasser, S.P. 2002. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Appl Microbiol Biot*. 60(3) : 258-274.

การทดลองที่ 2.1

ธัญญา ทะพิงค์แก. 2555. *การเพาะเห็ดถั่งเช่าเป็นอาชีพ.* คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่. วารสารเคหการเกษตร. หจก.มิตรเกษตรการตลาดและโฆษณา. 94 หน้า

ปวีนา น้อยทัพ เพชรรุ้ง เสนานุช และ จตุรพร รักษ์งาร. 2561. การเจริญของเส้นใยถั่งเช่าสีทองบน

กรมวิชาการเกษตร

อาหารแข็งธัญพืชต่างชนิด. *ว. วิทย. กษ.* 49 : 1 (พิเศษ) : 168 - 171 หน้า

รัตนะ ยศเมธากุล และ ณัฐพงษ์ สิงห์ภูงา. 2561. การผลิตสารคอร์ไดเซปินในเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งธัญพืช. *ว. วิทย. กษ.* 49 : 3 (พิเศษ) : 112 - 117 หน้า

ศิริวรรณ ศรีสัจจะเลิศวาจา ปวีณา เตจ๊ะยา และรัตนพร วิจิตรประชา. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของลูกเดือยพันธุ์เดือยข้าวเหนียวและการประยุกต์ใช้เพื่อ ทดแทนแป้งสาลีในขนมอบ. *การประชุมวิชาการระดับชาติ วิทยาลัยนครราชสีมา ครั้งที่ 4* ประจำปี 2560, 1 เมษายน 2560 : 751 - 759 หน้า

สุนทร ตรีนันทวัน. 2561. คุณค่าทางโภชนาการของข้าว. แหล่งที่มา: http://www.scimath.org/article- biology/item/517-nutritional 11 มีนาคม 2561.

Tapingkae, T., M. Yachai, S. Sritiwong, K. Uponsril, A. Pornpannawich, A. Thongtub and W. Tapingkae. 2014. *Study on cultivation and utilization of medicinal mushroom Cordyceps militaris*. Research report, Chang Mai Rajabhat Univ., 157 pp.

การทดลองที่ 2.2 สูตรอาหารชนิดต่างๆต่อผลผลิตและสารคอร์เดเซปินในเห็ดถั่งเช่าสีทอง

จารุวรรณ ฤทธิ์เดช ไอยรดา จันทร์โสม ถาวร วินิจสานันท์ หนึ่งฤทัย ธาราวัชรศาสตร์ และ ประภาพรรณ ชอหะซัน. 2558. การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง. ว. วิทย์. กษ. 46(3) (พิเศษ) : 701 - 704 หน้า

ณัฐพงษ์ สิงห์ภูงา พีระศักดิ์ ฉายประสาท และ บุญส่ง แสงอ่อน . 2559. ผลของสูตรอาหารเทียมต่อการเกิดดอกและการผลิตสารสำคัญทางยาของเห็ดถั่งเช่ามีทอง. ว. พืชศาสตร์สงขลานครินทร์, ปีที่ 3, (ฉบับพิเศษ III) : M02 34 - 64 หน้า

รัฐพล ศรประเสริฐ สยาม อรุณศรีมรกต และ อนงคณ์ หัมพานนท์. 2559. การเพาะเลี้ยง *Cordyceps militaris* ด้วยเมล็ดธัญพืชและแมลงในท้องถิ่นและประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Trichiphyton rubrum* และ *Staphylococcus aureus*. วาราสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ, ปีที่ 26, ฉบับที่ 2 พ.ค. - ส.ค. : 239 - 251 หน้า

รัตนะ ยศเมธากุล และ ณัฐพงษ์ สิงห์ภูงา. 2561. การผลิตสารคอร์ไดเซปินในเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งธัญพืช. ว. วิทย. กษ. 49 : 3 (พิเศษ) : 112 - 117 หน้า

วรรณภา เสนาดี. 2555. เพาะเห็ดอะไรขายได้กิโลกรัมละเป็นแสน. วารสารเคหการเกษตร ปีที่ 36 (3 มีค.) 128 - 132 หน้า

ศิริวรรณ ศรีสัจจะเลิศวาจา ปวีณา เตจ๊ะยา และรัตนพร วิจิตรประชา. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของลูกเดือยพันธุ์เดือยข้าวเหนียวและการประยุกต์ใช้เพื่อ ทดแทนแป้งสาลีในขนมอบ. การประชุมวิชาการระดับชาติ วิทยาลัยนครราชสีมา ครั้งที่ 4 ประจำปี 2560, 1 เมษายน 2560 : 751 - 759 หน้า

สุภาพร อวรัญ. 2562. สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อและวิธีการที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง. วารสารวิชาการสถาบันการอาชีวศึกษาเกษตร. ปีที่ 3 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม - ธันวาคา 2562 ; 15 – 23 หน้า

ศรีวิชาการเกษตร

อนุสรณ์ วัฒนกุล กรกรช จันทร และวราพร ไชยมา. 2559. ลักษณะทางสรีรวิทยาและสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*). รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด, สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ, กรมวิชาการเกษตร. 17 หน้า

X.-B. Maoa, T. Eksriwongb, S. Chauvatcharinb and J.-J. Zhonga**.** 2005. Optimization of carbon source and carbon/nitrogen ratio for cordycepin production by submerged cultivation of medicinal mushroom *Cordyceps militaris***.** Process Biochemistry 40 : 1667 - 1672 p.

Y.-X. Gu, Z.-S. Wang, S.-X. Li and Q.-S. Yuan. 2007. Effect of multiple factors on accumulation
of nucleosides and bases in *Cordyceps militaris***.** Food Chemistry 102 (4) : 1304 – 1309 p.

การทดลองที่ 2.3 อิทธิพลของไฟแอลอีดีสีต่างๆต่อผลผลิตและปริมาณสารคอร์เดเซปินในเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ธัญญา ทะพิงค์แก. 2555. *การเพาะเห็ดถั่งเช่าเป็นอาชีพ.* บริษัททูโฟร์ พริ้นติ้ง จำกัด. 94 หน้า.

ธัญญา ทะพิงค์แก มงคล ยะไชย และวรรณพร ทะพิงค์แก. 2561. ผลของอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยงต่อผลผลิตและปริมาณสารคอร์เดเซปินในเห็ดถั่งเช่าสีทอง. *ว. วิทย. กษ.* 49 : 1 (พิเศษ) : 172-174.

นิรนาม. 2564**.** RGB Color Codes Chart**.** สืบค้นเมื่อ 5 สิงหาคม 2564. จาก *https://www.rapidtables.com/web/color/RGB_Color.html*

Choi, S.B.; C.H. Park; M.K. Choi; D.W. Jun and S. Park. 2004. Improvement of insulin resistance and insulin secretion by water extracts of *Cordyceps militaris*, *Phellinus linteus*, and *Paecilomyces tenuipes* in 90% pancreatectomized rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem*. 68 : 2257-2264.

Chao, S.C.; S.L. Chang; H.C. Lo; W.K. Hsu; Y.T. Lin and T.H. Hsu. 2019. Enhanced production of fruiting body and bioactive ingredients of *Cordyceps militaris* with LED light illumination optimization. *J. Agr. Sci. Tech*. 21 (2) : 451-462.

Dai, G.W.; T.T.Bao; G.F. Xu; R. Cooper and G.X. Zhu. 2001. CordyMax^{TM} Cs-4 improves steady- state bioenergy status in mouse liver. *J. Altern Complement Med*. 7 : 231-240.

Das, S.K.; M. Masuda and A. Sakuri. 2010. Medicinal uses of the mushroom *Cordyceps militaris* : Current stat and prospects. *Fitoterapia* 81: 961-968.

Do-Hee Kim , Hye-Jin Choi , Woo-Sik Jo and Kwang-Deog Moon.2012. Quality Characteristics of *Pleurotus eryngii* Cultivated with Different Wavelength of LED Lights. *Korean J Food Preserv* : 19(3), 354-360.

Dong, J.Z.; M.R. Liu; C. Lei; X.J. Zheng; and Y. Wang. 2012. Effects of selenium and light wavelengths on liquid culture of *Cordyceps militaris* link. *Appl. Biochem. Biotechnol*. : 166: 2030-2036.

Dong, J.Z.; C. Lei; X.J. Zheng; X.R. Ai; Y. Wang; and Q. Wang. 2013. Light wavelengths regulate growth and active components of *Cordyceps militaris* fruitbodies. *J. of*

กรมวิชาการเกษตร

Food Biochemistry 37 : 578-584.

Huang, W.; N. Cheng, H. He; D. Wang; X. Chen and X. Huang. 2020. Effects of light time, light intensity and light color on the growth and quality of *Cordyceps militaris*. *Asian Agriculture Research* 12(02) : 62-64.

Hung, L.T., S. Keawsompong, V.T. Hanh, S. Sivichai and N.L. Hywel-Jones. 2009. Effect of temperature on Cordycepin production in *Cordyceps militaris*. *Thai J. of Agricultural Science* : 42(4) : 219 – 225.

Jang, Myoung-Jun., Yun-Hae Lee, Young-Cheol Ju, Seong-Min Kim and Han-Mo Koo. 2013. Effect of Color of Light Emitting Diode on Development of Fruit Body in *Hypsizygus marmoreus*. *Mycobiology 2013 March : 41(1): 63-66.* http://dx.doi.org/10.5941/MYCO.2013.41.1.63

Wong, Y.Y.; A. Moon; R. Duffin; A. Barthet-Barateig; H.A. Meijer; M.J. Clemens and C.H. de Moor. 2010. Cordycepin inhibits protein synthesis and cell adhesion through effects on signal transduction. *J. Biol. Chem*. 285 : 2610-2621.

Zhang, A., J, Lu., N. Zhang, D. Zheng, G.R. Zhang, L.R. Teng. 2010. Extraction, purification and anti-tumor activity of polysaccharide from mycelium of mutant *Cordyceps militaris*. *Chem. Res. Chin. Univ*. 26 : 796-802.

การทดลองที่ 2.4 เปรียบเทียบการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองในสภาพที่ควบคุมและไม่ควบคุมอุณหภูมิ

ธัญญา ทะพิงค์แก มงคล ยะไชย และวรรณพร ทะพิงค์แก. 2561. ผลของอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยงต่อผลผลิตและปริมาณสารคอร์เดเซปินในเห็ดถั่งเช่าสีทอง. *ว. วิทย. กษ.* 49 : 1 (พิเศษ) : 172-174.

Hung, L.T., S. Keawsompong, V.T. Hanh, S. Sivichai and N.L. Hywel-Jones. 2009. Effect of temperature on Cordycepin production in *Cordyceps militaris*. *Thai J. of Agricultural Science* : 42(4) : 219 – 225.

Choi, S.B.; C.H. Park; M.K. Choi; D.W. Jun and S. Park. 2004. Improvement of insulin resistance and insulin secretion by water extracts of *Cordyceps militaris*, *Phellinus linteus*, and *Paecilomyces tenuipes* in 90% pancreatectomized rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem*. 68 : 2257-2264.

Chao, S.C.; S.L. Chang; H.C. Lo; W.K. Hsu; Y.T. Lin and T.H. Hsu. 2019. Enhanced production of fruiting body and bioactive ingredients of Cordyceps militaris with LED light illumination optimization. *J. Agr. Sci. Tech*. 21 (2) : 451-462.

Dai, G.W.; T.T.Bao; G.F. Xu; R. Cooper and G.X. Zhu. 2001. CordyMax^{TM} Cs-4 improves steady- state bioenergy status in mouse liver. *J. Altern Complement Med*. 7 : 231-240.

Das, S.K.; M. Masuda and A. Sakuri. 2010. Medicinal uses of the mushroom *Cordyceps militaris* : Current stat and prospects. Fitoterapia 81: 961-968.

Dong, J.Z.; M.R. Liu; C. Lei; X.J. Zheng; and Y. Wang. 2012. Effects of selenium and light avelengths on liquid culture of *Cordyceps militaris* link. *Appl. Biochem.*

ศูนย์วิทยทรัพยากร

Biotechnol. : 166: 2030-2036.

Dong, J.Z.; C. Lei; X.J. Zheng; X.R. Ai; Y. Wang; and Q. Wang. 2013. Light wavelengths regulate growth and active components of *Cordyceps militaris* fruitbodies. *J. of Food Biochemistry* 37 : 578-584.

Huang, W.; N. Cheng, H. He; D. Wang; X. Chen and X. Huang. 2020. Effects of light time, light intensity and light color on the growth and quality of *Cordyceps militaris*. *Asian Agriculture Research* 12(02) : 62-64.

Zhang, A., J, Lu., N. Zhang, D. Zheng, G.R. Zhang, L.R. Teng. 2010. Extraction, purification and anti-tumor activity of polysaccharide from mycelium of mutant *Cordyceps militaris*. Chem. Res. Chin. Univ. 26 : 796-802.

กรมวิชาการเกษตร

ภาคผนวก

การทดลองที่ 1.2 การจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดของเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ผนวก ก

สายพันธุ์เห็ดถั่งเช่าที่นำมาทำดีเอ็นเอบาร์โค้ด

Code	แหล่งที่มา	ลักษณะของสโตรมา
CM1	ฟาร์ม จ.เชียงใหม่	ยาว ตรง สีส้มเข้ม
CM2	ฟาร์ม จ.เชียงใหม่	ยาว ปลายเรียวแหลม สีส้มอ่อน
CR	ฟาร์ม จ.ลำพูน	ยาว โคนสีเหลือง ตรงปลายเป็นclub shape สีเหลืองเข้ม
O	ศูนย์พัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อชนบท เชียงใหม่	เส้นเล็ก ยาว สีเหลืองอ่อน
OH	ศูนย์พัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อชนบท เชียงใหม่	อ้วน สั้น ตรงปลายเป็นclub shape สีเหลืองส้ม ตรงปลายสีเข้ม
SP	ฟาร์ม จ.กรุงเทพ	โคนสโตรมาใหญ่ ปลายแหลม สีเหลืองส้ม
B	ฟาร์ม จ.เชียงใหม่	รูปทรงกระบอง ไม่ยาวมาก สีเหลืองส้ม

CM1

CM2

CR

O

กรมวิชาการเกษตร

OH

SP

B

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 2.1 ชนิดของธัญพืชเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ให้ผลผลิตและสารคอร์เดเซปินสูง

ผนวก ข

Appedix 1 Grain price

Grain types	price/kg (Baht)	price/25 gram (Baht)
Jasmine brown rice	60	1.50
Jusmine white rice	43	1.07
Riceberry rice	50	1.25
Sao Hai	30	0.75
Japanese rice	60	1.50
Kor Ko43	50	1.25
millet	60	1.50

ผนวก ค

Appendix 2 MMN media components (Modified Melin Norkran medium) and chemical price

Component	Amount	Price	Cost
$(NH_4)_2$ HPO_4	250 mg/L	940 Baht/500 gm	0.47 Baht/250 mg
KH_2PO_4	500 mg/L	1,120 Baht/kg	0.56 Baht/500 mg
$MgSo_4$. $7H_2O$	150 mg/L	1,000 Baht/kg	0.15 Baht/150 mg
$Cacl_2$. $2H_2O$	50 mg/L	1,200 Baht/kg	0.06 Baht/50 mg
NaCl	25 mg/L	280 Baht/kg	0.007 Baht/25 mg
FeEDTA	20 mg/L	650 Baht/kg	0.013 Baht/20 mg
Glucose	10 g/L	60 Baht/454 gm	1.32 Baht/10 gm
Malt extract	3 g/L	3,000 Baht/500 gm	18 Baht/3 gm
Thiamine HCl	0.1 µg/L	890 Baht/100 gm	0.00089 Baht/100 gm
Adjusted pH to 5.8			

Note : Cost 20.58 Baht/litre ; 0.51 Baht/bottle

ผนวก ง

Appendix 3 PDA (Potato Dextose Agar) ingredients and price

Component	Amount	Price	Cost(Baht)
Potato	400 g/2L	30 Baht/Kg	12
Agar powder	40 g/2L	45 Baht/25 gm	72
Glucose	40 g/2L	60 Baht/454 gm	5.28

กรมวิชาการเกษตร

ผนวก จ

Appendix 4 PDB (Potato Dextose Broth) ingredients and price

Component	Amount	Price	Cost(Baht)
Potato	800 g/4L	30 Baht/Kg	24
Glucose	80 g/4L	60 Baht/454 gm	10.56

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 2.2 สูตรอาหารชนิดต่างๆต่อผลผลิตและสารคอร์เดเซปินในเห็ดถั่งเช่าสีทอง ผนวก ฉ

1. ราคาสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง จำนวน 5 สูตร

ชนิดสาร	ราคา	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	สูตรที่ 3	สูตรที่ 4	สูตรที่ 5
น้ำตาลทรายแดง	20 บาท/กิโลกรัม	10 กรัม		30 กรัม		
เปปโตน	2,670 บาท/500 กรัม	10 กรัม	3.75 กรัม		10.2 กรัม	
ดีเกลือ ($MgSO_4.7H_2O$)	1,000 บาท/กิโลกรัม	0.5 กรัม	0.38 กรัม		0.9 กรัม	0.15 กรัม
วิตามิน บี 1	1 บาท/เม็ด	4 เม็ด		15 เม็ด		
กลูโคส	60 บาท/454 กรัม		7.5 กรัม			10 กรัม
ผงดักแด้	100 บาท/100 กรัม		7.8 กรัม		25.2 กรัม	
ปุ๋ยสูตร 0-52-34 (KH_2PO_4)	1,120 บาท/กิโลกรัม		0.75 กรัม		1.125 กรัม	0.5 กรัม
ยีสต์	27 บาท/15กรัม			7.5 กรัม		
ไข่ไก่	3 บาท/ฟอง			7.5 กรัม		
นมสด	50 บาท/ลิตร			7.5 กรัม		
นมผง	400 บาท/400 กรัม			11.25 กรัม		
$(NH_4)_2$ HPO_4	940 บาท/500 กรัม					0.25 กรัม
$Cacl_2$. $2H_2O$	1,200 บาท/กิโลกรัม					0.05 กรัม
NaCl	280 บาท/กิโลกรัม					0.025 กรัม
FeEDTA	650 บาท/กิโลกรัม					0.02 กรัม
Malt extract	3,000 บาท/500 กรัม					3 กรัม
Thiamine HCl	890 บาท/100 กรัม					0.1 ไมโครกรัม
ต้นทุน/ลิตร (บาท)		**58.10**	**30.03**	**41.05**	**81.83**	**20.58**
ต้นทุน/ขวด (บาท)		**1.45**	**0.75**	**1.03**	**2.04**	**0.51**

หมายเหตุ : สูตรอาหาร 1 ลิตร ต่อ จำนวน 40 ขวด

กรมวิชาการเกษตร