รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. **แผนงานวิจัย** แผนบูรณาการ การอนุรักษ์และการใช้ประโยชน์จากความหลากหายทางชีวภาพของพืชและจุลินทรีย์เพื่อเพิ่มมูลค่าและพัฒนานวัตกรรม
2. **โครงการวิจัย** การพัฒนาพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อให้ได้คอร์เดเซปินสูง

   กิจกรรมที่ 1 การพัฒนาสายพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทอง
3. **ชื่อการทดลองที่ 1.1** การรวบรวมและประเมินผลผลิตและลักษณะเห็ดถั่งเช่าสีทองสายพันธุ์ต่างๆ

   Collection and Productivity Evaluation of *Cordyceps militaris*
4. **คณะผู้ดำเนินงาน**

หัวหน้าการทดลอง นางสุธามาศ ณ น่าน

ผู้ร่วมงาน นางสาวนันทินี ศรีจุมปา ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย

นายธรากร มณีรัตน์ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

นายอนุสรณ์ วัฒนกุล สำนักวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

5. **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 เซนติเมตรเท่ากัน การเจริญของเส้นใย และดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองซึ่งเพาะเลี้ยงด้วยข้าวเติมสารละลาย 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/ขวดตามลำดับ เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพการผลิตปรากฏว่า CM2 ให้ค่า % BE สูงสุด รองลง

กรมวิชาการเกษตร

ไปได้แก่ CR5 และ NT ผลวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในดอกเห็ดอบแห้ง ใช้วิธี HPLC สายพันธุ์ให้สารคอร์เดเซปินสูงที่สุด 3 อันดับแรกได้แก่ CR1, CR3 และ CM2 สำหรับอะดิโนซีน พบใน CM1 สูงสุด รองลงไปได้แก่ CR 1 และ CM2

รหัสการทดลอง :

6. คำนำ

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 คอร์ไดเซปิน กรดคอร์เซปิก กรดอะมิโน โปรตีน 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)

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 และให้ผลผลิตที่ไม่

กรมวิชาการเกษตร

สม่ำเสมอ จึงควรรวบรวม เปรียบเทียบ ประเมินผลผลิตและลักษณะเห็ดถั่งเช่าสีทองสายพันธุ์ต่างๆจากแหล่งผลิตภายในประเทศเพื่อของเห็ดถั่งเช่าสีทอง ดังนั้นการทดลองนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อรวบรวมประเมินผลผลิตและลักษณะของเห็ดถั่งเช่าสีทอง ประเมินศักยภาพคัดเลือกเห็ดที่มีคุณภาพให้ผลผลิตและมีสารสำคัญสูง ใช้ประโยชน์ต่อยอดในด้านการปรับปรุงพันธุ์และเผยแพร่แก่กลุ่มเกษตรกรหรือผู้ที่สนใจ

7. วิธีดำเนินการ

- 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
7. อุปกรณ์บันทึกข้อมูล เช่น กล้องถ่ายภาพ เครื่องวัดความเข้มของสีดอกเห็ด เวอร์เนีย

- วิธีการ

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 ลักส์ 12 ชั่วโมง/วันเพื่อกระตุ้นการสร้างดอกเห็ดเป็นเวลา 6 สัปดาห์

กรมวิชาการเกษตร

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

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

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) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของดอกเห็ดตัดเป็นชิ้นตามความยาวขนาด 0.5 ซ.ม. บนอาหารวุ้น PDA บ่มในที่มืดอุณหภูมิ 20-22 องศาเซลเซียส ผลการทดลองหลังจากบ่มเชื้อได้ 7 วัน เส้นใยของเห็ดถั่งเช่าสีทองสายพันธุ์ B มีการเจริญเติบโตเร็วที่สุด วัดขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 3.37 ซ.ม. รองลงไปได้แก่ CR4 และ CM1 เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 3.27 ซ.ม.เท่ากัน เมื่อบ่มเชื้อ 14 วันปรากฏว่า CR4 มีอัตราการเจริญเร็วกว่าสายพันธุ์อื่น ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยได้เท่ากับ 6.60 ซ.ม. เมื่อบ่มเชื้อครบ 21 วัน ผลการทดลองเป็นไปในทิศทางเดียวกันคือ CR4 ยังคงมีอัตราการเจริญเร็วที่สุดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี 8.93 ซ.ม.รองลงไปได้แก่ B, CR1 และ CR5 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี 8.83 และ 8.27 ซ.ม.ตามลำดับ ในขณะที่ SP มีการเจริญของเส้นใยช้าที่สุดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 7.60 ซม. (ตารางที่ 1) เมื่อพิจารณาลักษณะของเส้นใยและโคโลนีของเห็ดที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบว่ามีลักษณะสีที่แตกต่างกันทำให้สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มคือ

กลุ่มที่ 1 โคโลนีสีเหลืองค่อนข้างเข้ม เรียงลำดับตามระดับความเข้มสี ได้แก่ CR2, CM1, CM2, CR1,

กรมวิชาการเกษตร

CR5 และ CR4

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

เปรียบเทียบการเจริญของเส้นใย และลักษณะการสร้างสโตรมา หรือดอกของเห็ดถั่งเช่าสีทองจำนวน 11 สายพันธุ์ด้วยอาหารแข็งซึ่งเป็นข้าวหอมมะลิเติมสารละลาย MMN พบว่าขนาดของดอกเห็ดแต่ละสายพันธุ์มีความแตกต่างกัน โดย CR2 มีความกว้างดอกมากที่สุด 6.72 ซ.ม. รองลงไปได้แก่ CR1 และ CM2 ความกว้างดอก 5.47 และ 5.30 ซ.ม.ตามลำดับ สายพันธุ์ที่ความกว้างดอกน้อยที่สุดคือ O และ CR4 ด้านความยาวของดอกพบว่า O มีความยาวมากที่สุด 6.32 ซ.ม. มีลักษณะผอม และยาวกว่าสายพันธุ์อื่น รองลงไปคือ NT และ CM1 ความยาวดอก 5.47 และ 4.64 ซ.ม. 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 2) สำหรับน้ำหนักผลผลิตของเห็ดถั่งเช่าสีทองปรากฏว่า สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตเฉลี่ยสูงสุดคือ CR5 มีน้ำหนักผลผลิตดอกสดเฉลี่ยสูงสุด 20.40 กรัม/ขวด รองลงไปได้แก่ CM2 ผลผลิตดอกสดเฉลี่ย 20.03 กรัม/ขวด และ NT ดอกสดเฉลี่ย 19.77 กรัม/ขวด น้ำหนักผลผลิตดอกแห้งเฉลี่ยสูงสุดได้แก่ 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/ขวดตามลำดับ (ตารางที่ 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

กรมวิชาการเกษตร

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/กิโลกรัมตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณสารอะดิโนซีนสูงที่สุดเท่ากับ 10.44 กรัม/กิโลกรัม ในสายพันธุ์ CM1 รองลงไปได้แก่ CR1 และCM2 วัดค่าได้ 10.08 และ 9.71 กรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 4) การคัดเลือกเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ใช้เกณฑ์ดังนี้ เส้นใยสามารถเจริญเติบโตรวดเร็ว มีความหนาแน่น ให้ผลผลิตดอกเห็ดสูง ดอกมีสีส้มทองสดใส ขนาดสม่ำเสมอไม่แตกแขนงที่ส่วนปลายของหมวกดอก รวมทั้งมีปริมาณสารคอร์เดเซปิน และอะดิโนซีนสูง ซึ่งจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า 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

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 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	**	**	**	
% CV	6.7	4.2	2.6	

[1] ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเห็ดถั่งเช่าสีทองเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% โดยวิธี DMRT

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 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	**	**	**		-	
CV (%)	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

กรมวิชาการเกษตร

ค่า L* ที่เข้าใกล้ 0 = ตัวอย่างมีความสว่างน้อยลงจนเป็นสีคล้ำ

a* ใช้กำหนดสีแดงหรือสีเขียว a= + วัตถุมีสีแดง a= - วัตถุมีสีเขียว

b* ใช้กำหนดสีเหลืองหรือสีน้ำเงิน b= + วัตถุมีสีเหลือง b= - วัตถุมีสีน้ำเงิน

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 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	**	**	**	**
CV (%)	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 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]	-	-

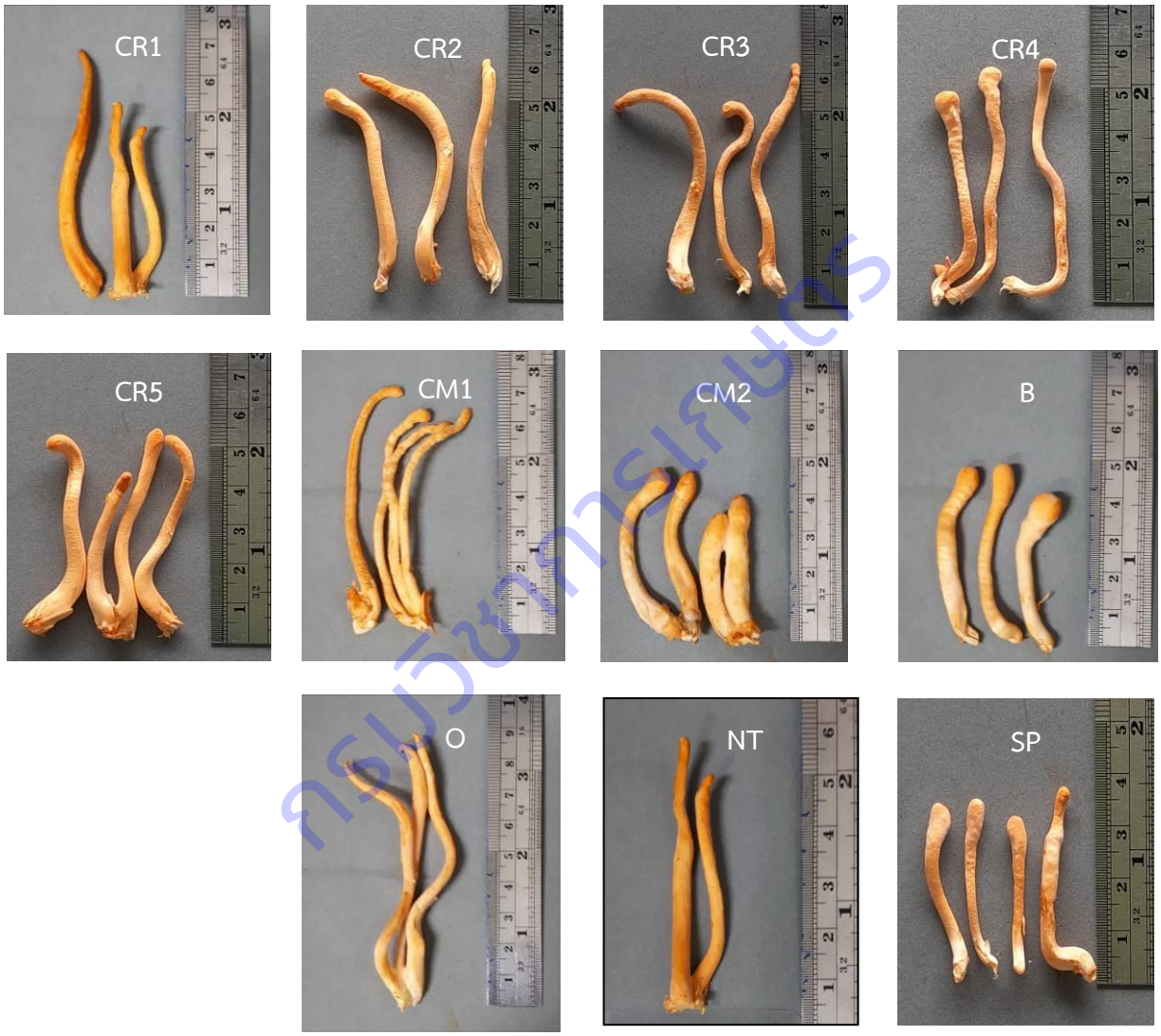
[1] % Biological Efficiency เฉลี่ย 5 ซ้ำคำนวณจากสูตร

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

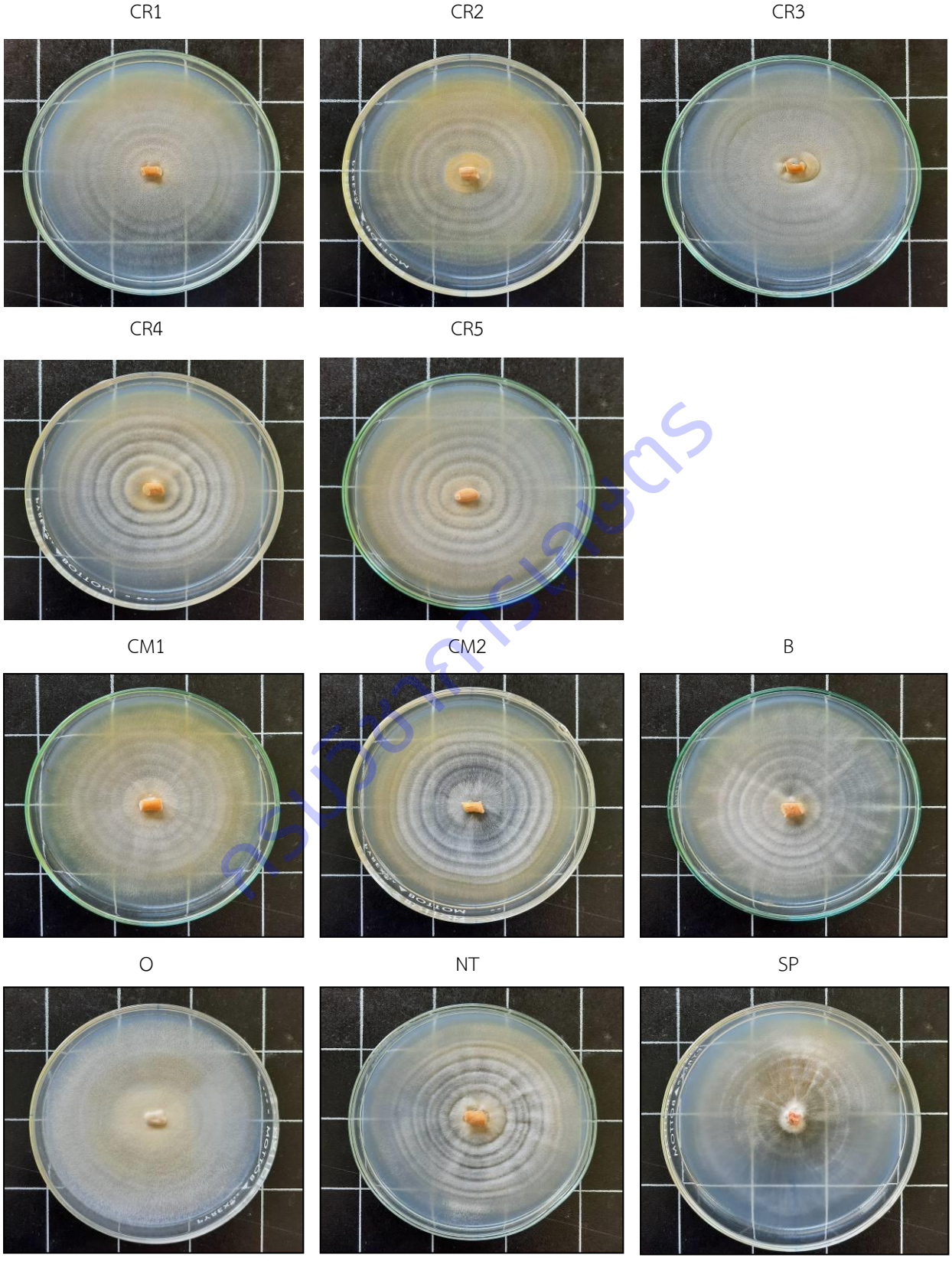
[3] เห็ดถั่งเช่าสีทองสายพันธุ์ SP สร้างเฉพาะเส้นใยไม่มีการพัฒนาเป็นดอกเห็ดบนอาหารเพาะเลี้ยง

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 1 ลักษณะของสโตรมาหรือดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองจำนวน 11 สายพันธุ์ รวบรวมจากแหล่งผลิตในประเทศ

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 2 ลักษณะโคโลนี และเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองอายุ 28 วัน เจริญบนอาหารเพาะเลี้ยง PDA บ่มในที่มืดภายในห้องควบคุมอุณหภูมิ 20-22 องศาเซลเซียส

9. **สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ**

-การรวบรวมเห็ดถั่งเช่าสีทองจากแหล่งผลิตในประเทศได้จำนวน 11 สายพันธุ์ ทดสอบการเจริญของเส้นใยบนอาหารวุ้น PAD สายพันธุ์ CR4 มีการเจริญเร็วที่สุด รองลงไปได้แก่ B, และ CR5

-การเจริญเส้นใยและสร้างดอกเห็ดบนอาหารแข็งซึ่งเป็นข้าวหอมมะลิเติมสารละลาย MMN เห็ด CR5 มีผลผลิตดอกสดเฉลี่ยสูงสุด รองลงไปได้แก่ CM2 และ NT น้ำหนักผลผลิตดอกแห้งเฉลี่ยสูงสุดได้แก่ 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 CR 1 และ CM2 ได้เลือก 5 สายพันธุ์ ได้แก่ CR1, CR3, CR5, CM1 และCM2 สำหรับใช้ในการปรับปรุงพันธุ์

10. **การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์**

-เห็ดถั่งเช่าสีทองสายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกโดยให้ผลผลิตสูง มีปริมาณสารคอร์เดเซปิน และอะดีโนซีนสูง สามารถนำไปใช้พัฒนาต่อเพื่อใช้เป็นฐานพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทองให้ได้ผลผลิตและสารสำคัญสูงต่อไป

กรมวิชาการเกษตร

11. คำขอบคุณ ขอบคุณนางสาวทิพวรรณ ปัญญาสีห์ นางสาวพัชรินทร์ ยศปินตา นักวิชาการเกษตร นางพวงเพชร เหลืองสุวรรณ นางอุรา เนตรสุวรรณ นางฉวีวรรณ สุริยนต์ และเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการ/โรงเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าของศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงรายทุกคน ที่ช่วยเหลือให้งานทดลองนี้ประสบความสำเร็จ ตามวัตถุประสงค์

12. เอกสารอ้างอิง

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.

กรมวิชาการเกษตร