ภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเส้นใยเห็ดโคน *Termitomyces* spp. ในอาหารเหลว

นายประกรรษวัต จันทร์ประไพ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพฤกษศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2550
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

OPIMAL CONDITION FOR MYCELIAL CULTIVATION OF TERMITE MUSHROOM *Termitomyces* spp. IN LIQUID MEDIA

Mr. Pragatsawat Chanprapai

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Botany
Department of Botany
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2007

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเส้นใยเห็ดโคน *Termitomyces* spp. ในอาหารเหลว
โดย	นายประกรรษวัต จันทร์ประไพ
สาขาวิชา	พฤกษศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์มุกดา คูหิรัญ

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ หารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.ปรีดา บุญ - หลง)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ มุกดา คูหิรัญ)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(อาจารย์อนิวรรต เฉลิมพงษ์)

..... กรรมการ

(อาจารย์ ดร.ธีรดา หวังสมบูรณ์ดี)

..... กรรมการ

(อาจารย์ ดร.สีหนาท ประสงค์สุข)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประกรรษวัต จันทร์ประไพ : ภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเส้นใยเห็ดโคน *Termitomyces* spp. ในอาหารเหลว. (OPIMAL CONDITION FOR MYCELIAL CULTIVATION OF TERMITE MUSHROOM *Termitomyces* spp. IN LIQUID MEDIA) อ. ที่ปรึกษา: รศ. มุกดา คูหิรัญ, 62 หน้า.

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อต้องการหาภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเส้นใยเห็ดโคน (*Termitomyces* spp.) ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว (liquid media) โดยใช้เห็ดโคน 2 ชนิด ได้แก่เห็ดโคน *Termitomyces striatus* (Beeli) R. Heim และ *Termitomyces globulus* R. Heim & Gooss. – Font ที่เก็บมาจากจังหวัดราชบุรี และนครปฐมตามลำดับ ทำการหาชนิดของอาหาร 8 สูตร ได้แก่ น้ำต้มกล้วยน้ำว้า มันสำปะหลัง ข้าวโพด ถั่วเหลือง มันฝรั่ง มะละกอ หัวไชเท้า และอาหารเลี้ยงเชื้อเห็ดที่สมบูรณ์ (mushroom complete media) ที่ผสมสารเปปโตนในอัตราส่วนต่างๆ คือ 0.0 1.0 1.5 2.0 และ 2.5 กรัม/ลิตร และเลี้ยงในสภาพนิ่ง (stationary) และกึ่งนิ่ง (semi – stationary) วางแผนการทดลองแบบ 8 x 5 x 2 factorial within completely randomized design โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ (replications) ผลปรากฏว่าเส้นใยเห็ดโคนชนิด *T. striatus* เจริญได้ดีที่สุดในอาหารสูตรน้ำต้มหัวไชเท้า ที่เติมเปปโตน 1.0 กรัม/ ลิตร ในสภาพการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งนิ่ง โดยสามารถผลิตเส้นใยได้ 5.78 กรัม/ลิตร ส่วนเห็ดโคนชนิด *T. globulus* เจริญได้ดีที่สุดในอาหารสูตรน้ำต้มข้าวโพด ที่เติมเปปโตนปริมาณ 1.0 กรัม/ลิตร ในสภาพการเพาะเลี้ยงแบบนิ่ง โดยสามารถผลิตเส้นใยได้ 8.40 กรัม/ลิตร เมื่อทำการขยายการเพาะเลี้ยงเส้นใยในภาวะที่เหมาะสมของเห็ดโคนทั้งสองชนิด ในถังหมักขนาดความจุ 5 ลิตร ปรากฏว่าได้น้ำหนักแห้งของเส้นใยที่ผลิตใกล้เคียงกัน ไม่มีผลแตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ส่วนการวิเคราะห์องค์ประกอบของโปรตีนในเส้นใยที่ผลิต และในดอกเห็ด ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ผลที่ได้จากการศึกษานี้จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการเพาะเลี้ยงเห็ดโคนเชิงอุตสาหกรรมต่อไปในอนาคต

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา .....พฤกษศาสตร์..... ลายมือชื่อนิสิต ประกรรษวัต จันทร์ประไพ

สาขาวิชา .....พฤกษศาสตร์.... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา มุกดา คูหิรัญ

ปีการศึกษา 2550

4772373723 : MAJOR BOTANY

KEY WORDS: *Termitomyces* / LIQUID MEDIA / OPTIMAL CONDITION / MYCELIAL CULTIVATION / PROTEIN CONTENT

PRAGATSAWAT CHANPRAPAI : OPIMAL CONDITION FOR MYCELIAL CULTIVATION OF TERMITE MUSHROOM *Termitomyces* spp. IN LIQUID MEDIA. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. MUKDA KUHIRUN, 62 pp.

The objective of present study was to determine the optimal conditions for mycelial biomass cultivation of termite mushroom , *Termitomyces* spp. in liquid media. Two species of termite mushroom; *Termitomyces striatus* (Beeli) R. Heim and *Termitomyces globulus* R. Heim & Gooss. – Font, collected from Ratchaburi and Nakhon Pathom respectively, were identified and cultivated. Liquid media of 8 formulars: 1) banana 2) cassava 3) soybean 4) corn 5) potato 6) papaya 7) white raddish and 8) mushroom complete media (MCM) mixing with peptone at the rate of 0.0, 1.0, 1.5, 2.0 and 2.5 g/l were used in this study. Cultivations were cultured using stationary and semi – stationary conditions. The experiment was designed in 8 x 5 x 2 factorial within completely randomized design with 3 replications. The results showed that the white raddish culture mixed with 1.0 g/l peptone using semi - stationary condition provided the best yield (5.78 g/l) for *T. striatus*. Whereas the corn culture mixed with 1.0 g/l peptone using stationary condition provided the best yield (8.40 g/l) for *T. globulus*. Multiplication or scale - up for 5 L mycelial production in optimal conditions comparing between *T. striatus* and *T. globulus* revealed no significance difference ($P \leq 0.05$). Protein located in mycelia and fruiting bodies were also analyzed and no significant differences depicted. This results obviously suggest a basic guideline for industrial cultivation of termite mushrooms in the future.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Department: .....Botnay..... Student's signature.....P. Chanprapai.....

Field of Study: .....Botany..... Advisor's signature.....Mukda Kuhirun.....

Academic Year .....2007.....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี โดยการอนุเคราะห์จากหลายฝ่าย ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์มุกดา คูหิรัญ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาและคำแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่างๆ ตลอดจนได้กรุณาปรับปรุงวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ปรีดา บุญ – หลง ประธานกรรมการสอบ อาจารย์ ดร.สีหนาท ประสงค์สุข อาจารย์ ดร.ธีรดา หวังสมบูรณ์ดี และอาจารย์อนิวรรต เฉลิมพงษ์ กรรมการสอบ ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำในการแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.เริงชัย เผ่าสัจจะ ผู้เชี่ยวชาญทางด้านสถิติ ที่กรุณาสละเวลามาช่วยขัดเกลาความรู้ทางสถิติ เพื่อให้สามารถใช้สถิติในการตรวจสอบผลการทดลองในครั้งนี้ได้อย่างถูกต้อง

ขอกราบขอบพระคุณ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และหน่วยปฏิบัติการวิจัยเห็ด ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนอุดหนุน ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องที่ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ คณาจารย์ รวมถึงบุคลากร ในภาควิชาพฤกษศาสตร์ทุกท่าน ตลอดจนเพื่อนๆ พี่ และน้อง ทุกคนที่กรุณาเอื้อเฟื้อ และให้ความช่วยเหลือเป็นกำลังใจให้ข้าพเจ้าด้วยดีตลอดมา จนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

ท้ายที่สุด ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา น้องชาย และญาติพี่น้อง ครอบครัวจันทร์ประไพ ครอบครัวนุรักเข ครอบครัวบุญชู รวมถึงเพื่อน พี่ น้องในทุกระดับชั้น ที่ไม่สามารถเอ่ยนามได้หมด ที่ได้สนับสนุนช่วยเหลือและให้กำลังใจตลอดมา จนงานวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง..... ซ

สารบัญภาพ..... ฌ

บทที่

1. บทนำ..... 1

2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 4

3. วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง..... 21

4. ผลการทดลอง..... 28

5. สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ..... 41

รายการอ้างอิง..... 47

ภาคผนวก..... 51

ภาคผนวก ก 52

ภาคผนวก ข 54

ภาคผนวก ค 57

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์..... 62

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

บทที่		หน้า
1.	ชนิดของเห็ดโคน *Termitomyces* ที่มีความสัมพันธ์กับชนิดของปลวก.....	8
2.	ชนิดและช่วงการเกิดเห็ดปลวกในภาคอีสาน.....	10
3.	ส่วนประกอบทางคุณค่าทางอาหารของเห็ดโคน.....	12
4.	องค์ประกอบของสารที่ใช้ในการเพาเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดของ Kim และคณะ ปี 2002	14
5.	การสรุปความเหมาะสมของการเพาะเลี้ยงเห็ดชนิดต่างๆ รวมถึงการศึกษาในงานวิจัยนี้.....	20
6.	ชนิดของเครื่องมือ แบบรุ่น และบริษัทผู้ผลิตของอุปกรณ์ และครุภัณฑ์.....	23
7.	ตัวอย่างที่เก็บรวบรวมได้จาก 2 จังหวัด.....	28
8.	การวิเคราะห์น้ำหนักแห้งเส้นใยเห็ดโคนทั้งสองชนิดในปัจจัยต่างๆ ทางสถิติ.....	37
9.	การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนทั้ง 2 ชนิด ในอาหารเหลว WRD ในสภาพแบบกึ่งนิ่งสำหรับ *T. striatus* (Beeli) heim และ CoD ในสภาพแบบนิ่งสำหรับ *T. globulus* Heim & Gooss. - Font ที่มีการเติม เปปโตนปริมาณ 1 g/ l ในถังเลี้ยงเชื้อขนาด 5 ลิตร.....	38
10.	เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนในเส้นใยเห็ดโคนทั้งสองชนิด.....	40
11.	องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ MCM.....	52
12.	การเตรียมสารเพื่อเป็น BSA standard curve.....	54
13.	การวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 nm ของBSA standard.....	55
14.	การวัดค่าการดูดกลืนแสง และเปอร์เซ็นต์โปรตีนที่มีในตัวอย่างที่ทดลอง.....	56
15.	การวิเคราะห์ผลทางสถิติของน้ำหนักแห้งของเส้นใยชนิด *Termitomyces striatus* (Beeli) R. Heim (TR).....	57
16.	อันดับของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดโคน *Termitomyces striatus* (Beeli) R. Heim เปรียบเทียบที่ LSD = 0.87.....	58
17.	การวิเคราะห์ผลทางสถิติของน้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดโคนชนิด *Termitomyces Globulus* R. Heim & Gooss. – Font.....	59
18.	อันดับของอาหารเลี้ยงเชื้อให้น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดโคน *Termitomyces Globulus* R. Heim & Gooss. – Font เปรียบเทียบที่ LSD = 0.66.....	60
19.	อันดับของเปปโตนที่ให้น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดโคน *Termitomyces Globulus* Heim & Gooss. – Font เปรียบเทียบที่ LSD = 0.66.....	60

สารบัญภาพ

ภาพประกอบ หน้า

1. ส่วนประกอบของเห็ดโคน..... 4
2. วงชีพของเห็ดโคน Termitomyces..... 6
3. การให้อากาศในการเลี้ยงเส้นใย โดยอาศัยเครื่องเขย่า..... 16
4. ถังหมักขนาดความจุต่างๆ กัน ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ..... 16
5. แผนที่จังหวัดนครปฐม..... 21
6. แผนที่จังหวัดราชบุรี..... 21
7. แผนภูมิการสรุปแผนการทดลอง..... 27
8. แสดงเห็ดโคนที่เก็บได้จากสองจังหวัด ภาพ (ก) เห็ดโคน *Termitomyces striatus* (Beeli) R. Heim ที่เก็บได้จากจังหวัดราชบุรี ภาพ (ข) เห็ดโคน *Termitomyces globulus* R. Heim & Gooss. – Font ที่เก็บได้จากจังหวัดนครปฐม..... 28
9. การเปรียบเทียบเห็ดโคนจังหวัดราชบุรีที่ใช้ในการทดลอง (ก) กับภาพวาดของเห็ดโคนชนิด *Termitomyces striatus* (Beeli) R. Heim (ข) เทียบกับภาพถ่ายเห็ดโคนสายพันธุ์เดียวกัน (ค) ที่มีความสัมพันธ์กับปลวก *Macrotermes annandalei* (ง)..... 29
10. การเปรียบเทียบเห็ดโคนจังหวัดราชบุรีที่ใช้ในการทดลอง (ก) กับภาพวาดของเห็ดโคนสายพันธุ์ *Termitomyces globulus* R. Heim & Gooss. – Font (ข) เทียบกับภาพถ่ายเห็ดโคนสายพันธุ์เดียวกัน (ค) ที่มีความสัมพันธ์กับปลวก *Macroterme gilvus* (ง)..... 31
11. เส้นใยเห็ดโคนชนิด *T. globulus* จากจังหวัดนครปฐม หลังจากการเพาะในอาหาร PDA 10 วัน..... 33
12. เส้นใยเห็ดโคนชนิด *T. striatus* จากจังหวัดราชบุรี หลังจากการเพาะในอาหาร PDA 10 วัน..... 33
13. กราฟน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเส้นใยเห็ดโคน *T. striatus* ในชนิดของอาหาร ปริมาณเปปโตน และสภาพที่เหมาะสม..... 36
14. กราฟน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเส้นใยเห็ดโคน *T. globulus* ในชนิดของอาหาร ปริมาณเปปโตน และสภาพที่เหมาะสม..... 36
15. การเจริญของเส้นใยเห็ดโคน ในอาหารเหลวที่ต่างกัน ในสภาพการเลี้ยงที่ต่างกัน (ก) เส้นใยเห็ดโคน *T. striatus* ในอาหารเหลว WRD สภาพแบบกึ่งนิ่ง (ข) เส้นใยเห็ดโคน *T. globulus* ในอาหารเหลว CoD สภาพแบบนิ่ง และในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติม

ภาพประกอบ หน้า

เปปโตน ปริมาณ 1.0 กรัม/ลิตร 39
16. แผนภูมิเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนในเส้นใย และในดอกเห็ดโคนทั้งสองชนิด..... 40
17. protein standard curve 55

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

เห็ดโคน หรือเห็ดปลวกเป็นเห็ดที่รู้จักกันดี เนื่องจากเป็นเห็ดที่ออกดอกในสภาพธรรมชาติในช่วงเดือนกันยายน ถึงตุลาคม ของทุกปี หรือในบางปีเห็ดโคนอาจออกดอกได้จนถึงเดือนพฤศจิกายนเลยทีเดียว ถือว่าเป็นของหายาก เนื่องจากออกดอกตามฤดูกาล (อนงค์ จันทร์ศรีกุล, 2541; อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ, 2545) ซึ่งเห็ดโคนในประเทศไทยจะพบมากในจังหวัดกาญจนบุรี ราชบุรี นครปฐม เพชรบุรี รวมถึงบางจังหวัดในภาคอีสาน เช่น นครราชสีมา บุรีรัมย์ เป็นต้น ทำให้มีนักวิทยาศาสตร์หลายท่านได้ศึกษาทางด้านชีววิทยาของเห็ดโคนว่ามีความเกี่ยวเนื่องกับสิ่งมีชีวิตใดบ้างที่มีส่วนทำให้เห็ดโคนออกดอกพบว่า เห็ดโคนมีความสัมพันธ์เกี่ยวเนื่องกับปลวกสกุล *Macroterminae* แบบ obligate symbiosis (ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์ และกิตติพงษ์ ศิริวานิชกุล, 2538; ดีพร้อม ไชยวงศ์เกียรติ์, 2525)

ทางด้านสัณฐานวิทยานั้น เห็ดโคนมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Termitomyces* sp. มีชื่อสามัญว่า termite mushroom อยู่ใน genus *Termitomyces* family Tricholomataceae order Agaricales subclass Agaricomycetidae class Basidiomycetes phylum Basidiomycota kingdom fungi superkingdom Eukaryota (อนิวรรต เฉลิมพงษ์, 2541; อนุเทพ ภาสุระ, 2542) ที่ดอกเห็ดในขณะที่อ่อนจะมีหมวกดอกสีเทาเข้มเกือบดำ ยอดหมวกแหลมจนสามารถดันแยกดินจอมปลวกขึ้นมาได้ ก้านดอกที่ติดกับโคนดอกพองออกมีเนื้ออัดแน่น และพออายุมากจะยืดยาวเป็นทรงกระบอก ร่มบานออกขนานกับพื้นดิน ครีบ และสปอร์มีสีขาว เมื่อขุดลงไปจะพบรังปลวก ได้มีรายงานว่า *Termitomyces* ทั่วโลกมีอยู่ 53 ชนิดด้วยกัน อยู่ในประเทศจีน 25 ชนิด ส่วนในประเทศไทยก็นับว่าเป็นประเทศหนึ่งที่มีความหลากหลายทางสายพันธุ์เห็ดโคนมากอีกประเทศหนึ่งเช่นกัน (Bels and Pataragetvit, 1982)

เหตุที่เห็ดโคนเป็นที่นิยมรับประทาน เนื่องจากมีการศึกษาถึงคุณค่าทางอาหารในดอกเห็ดโคนพบว่า เห็ดโคนมีคุณค่าทางอาหารสูง โดยเฉพาะโปรตีน กรดอะมิโนที่มีความจำเป็น ไขมันต่ำ นอกจากนี้ เห็ดโคนยังมีเสน่ห์เฉพาะตัวที่ว่าจะมีกลิ่นหอมในขณะที่ดอกกำลังตูม ทำให้การรับประทานเห็ดโคนขยายตัวออกไปอย่างรวดเร็ว ทำให้เมื่อถึงหน้าเห็ดออกดอกจะมีคนให้ความสนใจที่จะซื้อหาตามแหล่งต่างๆ เป็นเหตุทำให้เห็ดโคนมีราคาแพงอยู่ในระดับแถวหน้าของเห็ดที่นิยมรับประทานและหายาก ทำให้มีนักวิทยาศาสตร์พยายามที่จะเพาะเห็ดโคนขึ้นมาเพื่อสนองตามความต้องการของตลาด

แต่การเพาะเห็ดโคนในห้องปฏิบัติการเพื่อทำให้เกิดดอกนั้น ยังไม่มีการรายงานว่ามีการเพาะเห็ดโคนเพื่อการค้าได้สำเร็จ เนื่องมาจากยังไม่มีผู้ใดทราบสภาพการเจริญของเห็ดโคนอย่าง

ลึกซึ้ง ทำให้การศึกษาส่วนมากจะเป็นการจัดจำแนกสายพันธุ์ การแยกเส้นใยเพื่อขยายเส้นใยไปศึกษาในเรื่องอื่นๆ มากกว่าที่จะหาสภาพที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเส้นใยให้ได้ปริมาณมาก หรือศึกษาถึงสิ่งที่ช่วยให้เส้นใยเห็ดโคนสามารถเจริญไปเป็นดอกได้ ซึ่งการศึกษาสภาพที่มีความเหมาะสมต่อการเพาะเส้นใยเห็ดโดยทั่วไปนั้น จะมีการศึกษาถึงแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน ค่าความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้น อุณหภูมิที่มีความเหมาะสม รวมไปถึงสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใย เพื่อให้ได้ปริมาณของเส้นใยสูงสุด โดยเส้นใยเห็ดแต่ละชนิดมีความต้องการสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญที่แตกต่างกันไป นับว่าเป็นคุณสมบัติของความต้องการภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดแต่ละชนิด เส้นใยเห็ดโคนก็เช่นกันที่มีความต้องการภาวะต่างๆ ที่เหมาะสมไม่ต่างไปกับเส้นใยเห็ดชนิดอื่นๆ นับว่าเป็นสิ่งที่น่าศึกษาถึงความเหมาะสมดังกล่าวเพื่อที่จะผลิตเส้นใยเห็ดโคนให้ได้มากที่สุด และมีคุณค่าทางอาหารสูงสุดต่อไป

จากข้อมูลข้างต้นเห็ดโคนนั้นมีคุณสมบัติเฉพาะตัวที่น่าสนใจ และจะเห็นว่าแทบไม่พบการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดโคนในสภาพอาหารเหลว ทำให้มีความสนใจทำการหาภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดโคนในสภาพอาหารเหลว สูตรอาหาร แหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน การให้อากาศ ให้ได้เส้นใยที่มีปริมาณ และคุณค่าทางอาหารมากที่สุด เพื่อผลิตเป็นผลิตภัณฑ์อาหาร (เห็ดโคนแผ่น) ที่มีคุณค่าทางอาหารสูงอีกด้วยนับว่าเป็นการเพิ่มคุณค่าของเห็ดโคนในระดับอุตสาหกรรมมากขึ้น

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเส้นใยเห็ดโคนในอาหารเหลว

1. ศึกษาสูตรอาหารที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนทั้งสองชนิด
2. ศึกษาปริมาณเปปโตนที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนทั้งสองชนิด
3. ศึกษาสภาพการเพาะเลี้ยงทีเหมาะสมต่อการเจริญทั้งสองชนิด
4. ศึกษาการขยายขนาดการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดโคนทั้งสองชนิด ในภาวะที่เหมาะสมที่ได้ทำการคัดเลือกแล้ว ในอาหารเหลวปริมาตร 1 ลิตร ในถังหมักขนาด 5 ลิตร
5. ศึกษาปริมาณโปรตีนที่ได้เส้นใยเห็ดโคนทั้งสองชนิด เทียบกับดอกเห็ดแห้งของแต่ละชนิด

ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา และศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเส้นใยเห็ดโคนในอาหารเหลว จากเห็ดโคนสองชนิด ที่เก็บมาจาก อ. สวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี และจาก อ. สามพราน จังหวัดนครปฐม โดยนำเส้นใยทั้งสองสายพันธุ์มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว 8 สูตร ที่มีการเติม peptone ปริมาณที่แตกต่างกัน ในสภาพแบบนิ่ง และแบบกึ่งนิ่ง แล้วคัดเลือกสูตรอาหาร

และภาวะที่เหมาะสมสำหรับแต่ละชนิด จากนั้นขยายส่วน เพื่อเพาะเลี้ยงในถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่มีอาหารเหลวปริมาตร 1 ลิตร จากนั้นตรวจสอบปริมาณโปรตีนในเส้นใยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเทียบกับในดอกเห็ดแห้ง

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการผลิตเส้นใยเห็ดโคนเพื่อเป็นอาหาร

วิธีดำเนินการวิจัย

1. ตรวจเอกสาร
2. เก็บตัวอย่างเห็ดโคน นำเห็ดโคนมาจัดจำแนกและทำการแยกเพาะเลี้ยงเส้นใย
3. เตรียมเชื้อเห็ดโคนในอาหาร PDA
4. ศึกษาการเติบโตของเส้นใยเห็ดโคนทั้งสองชนิด ในอาหารเหลวชนิดต่างๆ ที่มีการเติม peptone ปริมาณต่างๆ กัน และอยู่ในสภาพแบบนิ่ง และแบบกึ่งนิ่ง
5. ขยายส่วนการเลี้ยงเส้นใยเห็ดโคนทั้งสองชนิดในถังหมักขนาด 5 ลิตร ในอาหารเหลวปริมาตร 1 ลิตร
6. ศึกษาปริมาณโปรตีนของเส้นใยเห็ดโคนทั้งสองชนิด
7. วิเคราะห์ข้อมูล สรุปผล และเขียนวิทยานิพนธ์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

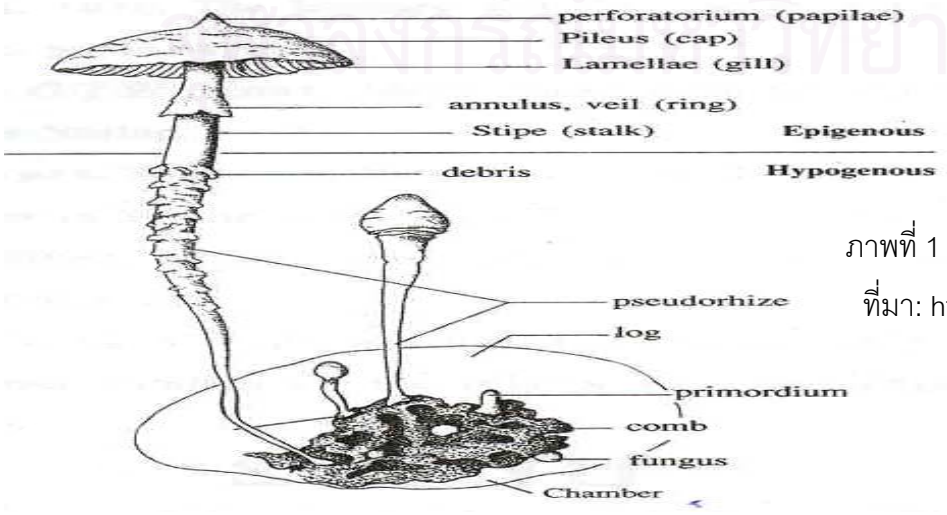
ลักษณะทั่วไปของเห็ดโคน

เห็ดโคนเป็นเห็ดที่เจริญได้ดีในสภาพธรรมชาติ ในทั่วทุกภาคของประเทศไทย โดยจังหวัดที่มีเห็ดโคนมากที่สุดคือจังหวัดนครราชสีมา กาญจนบุรี ราชบุรี และเพชรบุรี เป็นเห็ดที่เกิดภายใต้ผิวดิน และมีรากหยั่งลึกไปจนถึงรังปลวก แม้ว่าบางครั้งจะพบเห็นว่าเห็ดโคนเจริญบนพื้นที่ราบที่ไม่มีจอมปลวกในบริเวณนั้น แต่เมื่อลองขุดดินบริเวณที่เห็ดโคนขึ้นลงไป รากของเห็ดโคนจะไปสิ้นสุดที่รังปลวกทุกครั้ง ซึ่งตรงกับการที่มีการศึกษาว่าเห็ดโคนนั้นมีความเกี่ยวเนื่องกับปลวกอย่างแน่นแฟ้นในประเทศไทยพบว่า ปลวกที่เพาะเลี้ยงเชื้อรามี 5 สกุล 6 ชนิด ด้วยกัน ในสภาพป่าเต็งรัง ป่าเบญจพรรณ และป่าสัก ดินส่วนใหญ่เป็นดินร่วนปนทราย โดยปลวกเพาะเลี้ยงเชื้อราที่เด่นที่สุดคือ *Macrotermes gilvis* เป็นปลวกที่มีขนาดใหญ่กว่าปลวกชนิดอื่นๆ ปลวกชนิดนี้เพาะเห็ดโคนได้หลากหลายชนิด ซึ่งเห็ดโคนที่ได้นั้นจะมีขนาดดอก ก้านดอกใหญ่เนื้อหนา และมีรสชาติดี ส่วนปลวกขนาดเล็กอื่นๆ นั้นจะเพาะเห็ดโคนได้ดอก และก้านขนาดเล็ก เนื้อบาง

ในการศึกษาของ Heim (1977) ได้อธิบายลักษณะของเห็ดโคนว่า เห็ดโคนเป็นเห็ดที่มีหมวกดอกที่แข็งแรง ลักษณะคล้ายหัวลูกศร หรือสมอเรือ จึงสามารถดันผิวดินให้แตกออก และแทรกตัวขึ้นมาเจริญบนผิวหน้าผิวดินที่มีรังปลวกอยู่ด้านใต้ ก้านดอกที่ติดกับโคนดอกจะพองออก เนื้ออัดแน่น และเมื่อมีอายุมากขึ้น ก้านดอกจะมีการยืดสูงขึ้น หมวกดอกกางบานออก ขนานกับผิวดิน และจะแห้งตายภายใน 2 วัน

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเห็ดโคน

ตามปกติ เห็ดโคนจะมีรูปร่างคล้ายเห็ดทั่ว ๆ ไป ซึ่งประกอบด้วยส่วนต่าง ๆ ดังนี้ (อนงค์ จันทร์ศรีกุล, 2520)



ภาพที่ 1 ส่วนประกอบของเห็ดโคน
ที่มา: http://www.tmweb.cjb.net

หมวกดอก (cap, pileus) มีความแตกต่างกันไปตามความสมบูรณ์ของดอก ซึ่งโดยปกติแล้วนั้นหมวกดอกมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 – 30 เซนติเมตร สีของหมวกดอกมีตั้งแต่สีน้ำตาลปนดำ สีน้ำตาลปนแดง สีของยอดหมวกมีสีเข้ม มีทั้งชนิดปลายแหลม และปลายมน (สายรัก กวางแก้ว, 2545) ผิวด้านบนของหมวกดอกจะเรียบหรือมีรอยย่นเล็กน้อย อาจมาจากสภาพของดินที่เห็ดเจริญอยู่ก็เป็นได้ (ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์ และกิตติพงษ์ ศิริวานิชกุล, 2538) เมื่อดอกบานเต็มที่ผิวด้านบนของหมวกดอกจะมีรอยแตก คล้ายรัศมีกระจายไปยังขอบหมวก

ครีบดอก (gills หรือ lamella) มีลักษณะเป็นแผ่นบาง ๆ สีขาว เป็นแหล่งสำคัญในการสร้างสปอร์

สปอร์ (spore) มีสีขาว สีขาวนวลอมชมพู จนถึงสีน้ำตาลอมชมพู ผิวเรียบ ผนังบาง รูปร่างกลมรี มีขนาดตั้งแต่ 3 – 35 ไมโครเมตร เป็นสปอร์ที่สร้างขึ้นจากการสืบพันธุ์แบบมีเพศ (basidiospore) โดยการผสมกันระหว่าง mating type (+) และ mating type (-) เมื่อแก่จะหลุดออกจากครีบดอก

ก้านดอก (stalk หรือ stripe) อยู่ตรงกลางหมวกดอก ยึดติดกับหมวกบริเวณกลางหมวก เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5 – 3 เซนติเมตร ยาวประมาณ 2 – 20 เซนติเมตร ขึ้นกับความลึกระหว่างผิวดิน กับรังปลวก ส่วนบนของก้านมีสีขาวหรือสีน้ำตาลอ่อนอมขาว ส่วนล่างของก้านดอกมีสีขาวหม่น และคล้ำขึ้นคล้ายการเปื้อนสีของดิน อาจมีการพองเป็นกระเปาะ บางชนิดไม่เป็นกระเปาะ (Bels and Pataragevit, 1982)

การจำแนกเห็ดโคน และวงชีพของเห็ดโคน

การจัดจำแนก (classification) มีรายงานว่าเห็ดโคนจัดอยู่ในสกุล *Termitomyces* โดยนักอนุกรมวิธานเห็ดบางท่านจัดไว้ในวงศ์ Tricholomataceae แต่บางท่านจัดไว้ในวงศ์ Pluteaceae เป็นเห็ดที่ต้องเจริญสัมพันธ์อยู่กับปลวกที่อาศัยอยู่ใต้ดิน การจัดจำแนกเห็ดโคนในระดับชนิดใช้ขนาดของดอก (หมวกเห็ด) การมีหรือไม่มี annulus pseudorhiza และ perforaratorium สีของหมวก สีและรูปร่างของ perforatorium และสีของ pseudorhiza รวมทั้งลักษณะของบางอย่างที่ต้องมีการตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ซึ่งเป็นเห็ดที่พบในเขตร้อนแถบเส้นศูนย์สูตร เช่นทวีปอาฟริกากลาง เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ประเทศศรีลังกา และประเทศจีนตอนใต้ (Pegler and Vanhaecke, 1995) และการจัดจำแนกเห็ดโคนตามหลักวิทยาศาสตร์ล่าสุด (Wikipedia, 2007) ดังนี้ คือ

Superkingdom : Eukaryota

Kingdom : Fungi

Phylum : Basidiomycota

Class : Basidiomycetes

Subclass : Agaricomycetidae

Order : Agaricales

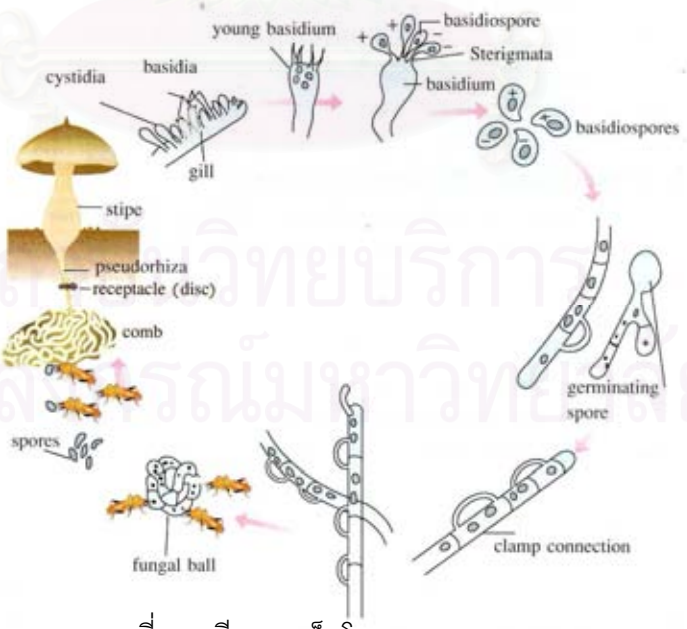
Family : Tricholomataceae

Genus *:Termitomyces*

Species *:Termitomyces striatus* (Beeli.) R. Heim

:Termitomyces globulus R. Heim & Goss. – Font

วงชีพ หรือ life cycle ของเห็ดโคน มีความเหมือนกับเห็ดทั่ว ๆ ไป ในกลุ่ม Basidiomycetes ดังภาพต่อไปนี้



ภาพที่ 2 วงชีพของเห็ดโคน Termitomyces

ที่มา: http://www.tech.purdue.edu/cgt/courses/cgt211/private/images/projects/archive/3-SciVis/F02/Life-Cycle-of-a-Mushroom.jpg

ตามปกติแล้วเห็ดมีระยะการเจริญเติบโต 9 ระยะ (ปัญญา โพธิ์สุติรัตน์ และกิตติพงษ์ ศิริวานิชกุล, 2538, Bels and Pataragetvit, 1982) คือ

1. เมื่อเห็ดมีการเจริญเติบโตพอที่จะมีการสร้างเบซิดิโอสปอร์ บริเวณเบซิเดียมซึ่งอยู่ใต้ครีบดอก สปอร์พวกนี้เป็นพวก haploid เมื่อสปอร์ไปตกบริเวณที่เหมาะสมก็จะงอกเส้นใย (mycelium) ออกมา

2. เส้นใยที่งอกออกมานี้เรียกว่า เส้นใยขั้นที่หนึ่ง (primary mycelium) ซึ่งมีโครโมโซมเป็น haploid (n) จึงเรียกว่า homokaryotic mycelium

3. เส้นใยขั้นที่หนึ่งจะรวมตัวเป็นเส้นใยขั้นที่สอง เรียกระยะนี้ว่า plasmogamy ซึ่งระยะที่เส้นใยขั้นที่หนึ่งของเห็ดเชื่อมต่อกัน และไซโตพลาสซึมของทั้งสองฝ่ายมารวมเข้าด้วยกัน ทำให้นิวเคลียสทั้งสองอัน มารวมอยู่ในเซลล์เดียวกัน จากนั้นก็มีการพัฒนาไปเป็นเส้นใยขั้นที่สอง (secondary mycelium) การรวมตัวของเส้นใยขั้นที่หนึ่ง แบ่งออกได้เป็น 2 กรณี คือ

3.1 Homothallic เป็นลักษณะการรวมตัวของเส้นใยที่เจริญมาจากสปอร์เดียวกันแล้วเจริญไปเป็นเส้นใยขั้นที่สอง โดยไม่ต้องเกิดการรวมตัวของเส้นใยขั้นที่หนึ่งที่งอกจากสปอร์อื่นๆ ลักษณะการรวมตัวของเส้นใยขั้นที่สอง โดยไม่ต้องเกิดการรวมตัวของเส้นใยขั้นที่หนึ่งที่งอกจากสปอร์อื่น ลักษณะการรวมตัวของเส้นใยที่งอกจากสปอร์ของตัวเองนี้เรียกว่า มีวงจรชีวิตแบบ homothallic life cycle

3.2 Heterothallic เห็ดบางชนิดจะเจริญเป็นดอกได้จะต้องผ่านการรวมตัวกันระหว่างเส้นใยที่เจริญมาจากสปอร์ ที่มีลักษณะทางพันธุกรรมต่างกันจึงจะพัฒนาไปเป็นเส้นใยขั้นที่สองและสามารถรวมตัวกันเป็นดอกเห็ดได้เรียกเห็ดที่มีวงจรชีวิตแบบนี้ว่า heterothallic life cycle

4. Karyogamy เป็นระยะที่นิวเคลียสสองอันรวมตัวกัน ถ้าเป็นเชื้อราชั้นต่ำจะเกิดอย่างรวดเร็ว แต่ถ้าเป็นเชื้อราขั้นสูง ระยะการรวมตัวกันจะต้องใช้เวลาพอสมควร จึงทำให้เห็นว่าภายในเซลล์มี 2 นิวเคลียส (binucleus) ซึ่งเรียกระยะนี้ว่า clamp connection เส้นใยขั้นที่สองนี้ สามารถขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้าง chlamydospore หรือสร้าง ออยเดียม (Oidium)

5. เส้นใยขั้นที่สองจะเจริญเพิ่มปริมาณมากขึ้น และมีการรวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อน เรียกเส้นใยในระยะนี้ว่า เส้นใยขั้นที่สาม ซึ่งเป็นพวก tertiary mycelium เส้นใยจะเริ่มพัฒนาไปเป็นตุ่มดอกเล็กๆ และเจริญเติบโตขึ้นเรื่อยๆ

6. ดอกเห็ดในระยะนี้ มีการพัฒนาไปเป็นดอกเห็ดที่มีรูปร่างคล้ายร่ม และมีการสร้างเบซิเดียมคล้ายรูปกระบอง ในเบซิเดียม จะมีนิวเคลียสอยู่สองอัน

7. นิวเคลียสทั้ง 2 อัน (n+n) ในเบซิเดียมจะรวมตัวกัน นิวเคลียสในระยะนี้เรียกว่า diploid nucleus (2n)

8. นิวเคลียสที่รวมตัวกัน จะมีการแบ่งตัวแบบ meiosis ลดจำนวนโครโมโซมเป็น haploid (n) จำนวน 4 อัน

9. เบซิเดียมจะมีการสร้างก้านชูสปอร์ (sterigma) 4 อัน และนิวเคลียสทั้ง 4 อัน จะเคลื่อนที่สู่ปลาย sterigma นิวเคลียสทั้ง 4 อัน จะพัฒนาไปเป็นเบซิดิโอสปอร์

การแพร่กระจายและแหล่งที่พบเห็ดโคน

จากการสำรวจพื้นที่ที่มีการกระจายตัวของเห็ดโคน ซึ่ง Batra and Batra (1977) ได้รายงานการแพร่กระจายตัวเห็ดโคนว่า เริ่มมาจากทวีปอาฟริกา เข้าสู่ทวีปเอเชียใต้ และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยผ่านทางปากีสถาน อินเดีย ศรีลังกา เข้ามาสู่มาเลเซีย ไทย พม่า อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ และทางตอนใต้ของจีน

การสำรวจเห็ดโคนในประเทศไทยในปี 1978 – 1979 โดย Bels และ Pataragetvit (1982) พบว่าช่วงที่มีการพบเห็ดโคนอย่างมากคือ กันยายน ถึงตุลาคม ซึ่งเป็นช่วงปลายฤดูฝน ซึ่งเห็ดโคนที่พบมี 4 สายพันธุ์ คือ *Termitomyces clypeatus T. fuliginosus T. globulus* และ *T. mammiformis* ที่สำรวจได้จากบริเวณแถบแนวภูเขาของจังหวัดกาญจนบุรี ติดต่อขึ้นไปตามลำน้ำแควขึ้นไปทางเหนือ ถึงจังหวัดเชียงใหม่ นอกจากนี้มีรายงานของสุมาลี พิชญางกูร (2547), อุษา กลิ่นหอม, วินัย กลิ่นหอม และวรรณา กาญจนมยูร ในปี 2545 มีรวบรวมไว้ทั้งสิ้น 17 ชนิด ดังตารางต่อไปนี้

ตารางที่ 1 ชนิดของเห็ดโคน *Termitomyces* ที่มีความสัมพันธ์กับชนิดของปลวก (อุษา กลิ่นหอม และคณะ, 2545)

ชนิดเห็ดโคน	ชนิดปลวก	ประเทศ	ชนิดปลวกในประเทศไทย
1. *T. albiceps*	*Odontotermes* sp.		*Odontotermes feae*
2. *T. aurantiacus*	*Pseudocanthotermes militaris*		*Macrotermes gilvus*
3. *T. clypeatus*	*Odontotermes* sp.		*Odontotermes oblongatus*
	Odontotermes malaccensis	มาเลเซีย	*Odontotermes prodivus*
	O. grandiceps		
	O. sarawakensis	ไทย	
	Macrotermes falcifer	แซมเบีย	
	Odentotermes sp.		
4. *T. cylindricus*	*Macrotermes* sp.		

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชนิดเห็ดโคน	ชนิดปลวก	ประเทศ	ชนิดปลวกในประเทศไทย
5. *T. entomoloides* (*Eutermitomyces*)	*Macrotermes gilvus*		
6. *T. eurhizus*	*Macrotermes gilvus*	มาเลเซีย	*Odontotermes proformosanus*
	Odontotermes	จีน	*Macrotermes annandalei*
	Pseudocanthotermes spiniger		*Odontotermes formosanus*
	Ancisfrotermes latinotus		
	Odontotermes gurdaspurensij		
7. *T. globules*	*Macrotermes* sp.		*Hypotermes makhamensis*
8. *T. heimii*	*Odontotermes* sp.		*Odontotermes longignathus*
	O. grandiceps		*Macrotermes gilvus*
	Odontotermes other species		
9. *T. indicus*	-		
10. *T. microcarpus*	*Odontotermes malaccensis*	มาเลเซีย	*Hypotermes makhamensis*
	Ancisfrotermes crucifer		*Odontotermes prodivus*
	Odontotermes redemanni	บางกะลอ อินเดีย	
	Odontotermes sp.	อาฟริกา	
	O. transvaaleunsis		
	O. vulgaris		
	O. badius		
11. *T. radicatus*	ได้เคยขุดแต่ไม่พบรังปลวกมีแต่ช่องเป็นโพลง		
12. *T. striatus*	*Ancisfrotermes crucifer*	มาเลเซีย	
	Odontotermes sp.	มาเลเซีย	
	Odontotermes horni	มาเลเซีย	

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชนิดเห็ดโคน	ชนิดปลวก	ประเทศ	ชนิดปลวกในประเทศไทย
13. *T. albuminosus*	*Odontotermes boesus*	แซมเบีย	
	O. redamanni		
	O. badius		
	O. horni		
	Microtermes sp.		
14. *T. mammiformis*	*Odontotermes feae*	ไทย	
15.*Sinotermitomyces camosus*	*Odontotermes feae*		

นอกจากนี้ได้มีการสำรวจเห็ดปลวกในภาคอีสาน โดยสถาบันวิจัยรุกขเวช มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ซึ่งศึกษาโดยนักวิจัย อุษา กลิ่นหอม วินัย กลิ่นหอม และวรรณา กาญจนมยูร ได้แสดงไว้ในการสัมมนาเห็ดปลวก (เห็ดโคน) ครั้งที่ 1 เมื่อปี 2545 รวบรวมไว้ดังนี้

ตารางที่ 2 ชนิดและช่วงการเกิดเห็ดปลวกในภาคอีสาน (อุษา กลิ่นหอม และคณะ, 2546)

ชื่อท้องถิ่น(อีสาน)	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	ระยะเวลาเกิดเห็ด
เห็ดปลวกใหญ่	เห็ดโคน	*Termitomyces albiceps* S.C.He	พฤษภาคม - กรกฎาคม
เห็ดปลวกขาว	เห็ดโคนขาว	*Termitomyces aurantiacus* R. Heim	กรกฎาคม - สิงหาคม
เห็ดปลวกขาโป้รากสั้น		*Termitomyces cartilageneus*	สิงหาคม - กันยายน
เห็ดปลวกจิก	เห็ดจูน	*Termitomyces clypeatus* R.Heim	กรกฎาคม- กันยายน
เห็ดปลวกตาบขากระบอก		*Termitomyces cylindricus* S.C.He	มิถุนายน - กรกฎาคม
เห็ดปลวกคาม, เห็ดปลวกดำน้อย		*Termitomyces enteromoides* R. Heim	มิถุนายน - สิงหาคม
เห็ดปลวกเลือด, เห็ดปลวกแดงน้อย	-	*Termitomyces enteromoides* R. Heim	มิถุนายน - สิงหาคม
เห็ดปลวกฟานขาขน		*Termitomyces eurhizus* (Berk.) R. Heim	กรกฎาคม - กันยายน

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ชื่อท้องถิ่น(อีสาน)	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	ระยะเวลาเกิดเห็ด
เห็ดปลวกตาบ	เห็ดโคนขาไก่	*Termitomyces fuliginosus* R. Heim	ตลอดฤดูฝน
เห็ดปลวกตาบขาโป้	เห็ดนมหนู	*Termitomyces globulus* R. Heim	ตลอดฤดูฝน
เห็ดปลวกขี้ไก่		*Termitomyces microcarpus* R.Heim	ตลอดฤดูฝน
เห็ดปลวกไก่น้อย	เห็ดข้าวตอก	*Termitomyces perforans* R.Heim	ตลอดฤดูฝน
เห็ดปลวกข้าวดอ, เห็ดปลวกสายฝน,		*Termitomyces raticatus* Natarajan	กรกฎาคม –สิงหาคม
เห็ดปลวกตาบคลื่น		*Termitomyces robustus* (Beeli) R. Heim	กรกฎาคม – กันยายน
เห็ดปลวกฟานเทา		*Termitomyces* sp.1	กรกฎาคม –สิงหาคม
เห็ดปลวกขาวขาโขง		*Termitomyces* sp.2	กรกฎาคม –สิงหาคม
เห็ดปลวกดำ	เห็ดโคนดำ	*Termitomyces striatus* (Beeli) R. Heim	สิงหาคม –กันยายน
เห็ดปลวกแดง, เห็ดปลวกฟาน	เห็ดโคนแดง	*Termitomyces striatus* (Beeli) R. Heim	สิงหาคม –กันยายน
เห็ดปลวกขาวน้อย		*Termitomyces tyleranus* Otieno	กรกฎาคม – สิงหาคม

นอกจากนี้ในปี 2539 คณะกรรมการจัดทำอนุกรมวิธานพืช ราชบัณฑิตยสถาน (สายรัก กวางแก้ว, 2545) ได้สรุปการจำแนกและอธิบายลักษณะของเห็ดโคนในประเทศไทยจำนวน 9 ชนิด โดยชนิด *Termitomyces albuminosus* (Berk.) Heim พบในภาคเหนือและภาคใต้ ชนิด *Termitomyces robustus* (Beeli) Heim พบในภาคตะวันตก ชนิด *Termitomyces schimperi* (Pat.) Heim พบในภาคกลาง ชนิด *Termtomyces microcarpus* (Berk & Broome) Heim และชนิด *Termitomyces tyleranus* Otieno พบในภาคเหนือ ส่วนชนิดของ *Termitomyces crypeatus* Heim, *Termitomyces errhizus* (Berk.) Heim *Termitomyces globulus* Heim & Goossen และ *Termitomyces striatus* (Beeli) Heim พบในทุกภาคของประเทศ

คุณค่าทางอาหารของเห็ดโคน

เนื่องจากว่าเห็ดโคนเป็นเห็ดป่าที่มีผู้คนนิยมบริโภคกันมาก ทำให้มีการศึกษาคุณค่าของสารอาหารในเห็ดโคน โดยเฉพาะอย่างยิ่งโปรตีน และกรดอะมิโน ดังในตารางที่ 3 ต่อมาในปี 1992 Botha และ Eicker อ้างใน สุมาลี พิชญางกูร (2547) ได้ทำการวิเคราะห์คุณค่าของสารอาหารโปรตีนในสายใยเห็ดโคนจากทวีปแอฟริกาใต้ ซึ่งชนิดที่ได้ทำการวิเคราะห์คือ *Termitomyces umkowaani Termitomyces sagittaeformis* และ *Termitomyces recticulatus* ซึ่งจำรูญศรี พุ่มเทียน ได้รวบรวมไว้ในปี พ.ศ. 2537

ตารางที่ 3 ส่วนประกอบทางคุณค่าทางอาหารของเห็ดโคน (จำรูญศรี พุ่มเทียน, 2537)

ส่วนประกอบทางอาหาร	ชนิดของเห็ดโคน *Termitomyces* sp.				
	T. microcarpus	*T. bunakamaka*	*T. butundatunda*	*T. nakyobawa*	*T. indian Var*
ความชื้น %	8.0	10.0	12.0	8.0	91.3
โปรตีน *	27.4	28.0	27.8	27.4	33.0
ไขมัน *	4.3	4.4	3.4	3.3	6.0
เยื่อใย *	2.2	4.4	5.7	6.5	13.1
เถ้า *	14.1	15.6	6.8	8.7	9.3
พลังงาน **	364	349	376	366	345
กรดอะมิโน ***					
Isoleucine	286	268	277	312	580
Leucine	437	437	429	482	580
Lysine	402	357	312	357	357
Methionine	98	80	89	71	625
Phenylalanine	277	277	214	250	281
Tyrosine	223	241	214	170	
Threonine	330	330	339	357	295
Valine	366	348	268	437	411
Argentine	411	348	304	357	714

หมายเหตุ * = % ของน้ำหนักแห้ง

** = Kcal ต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง

*** = มิลลิกรัมต่อกรัมโปรตีน

จากการศึกษาคุณค่าทางอาหารของเห็ดโคนในประเทศไทย พบว่าเห็ดปลวกให้คุณค่าทางอาหารค่อนข้างสูง เมื่อเทียบกับเห็ดทั่วๆไป โดยมีโปรตีนเฉลี่ยประมาณ 25 กรัมต่อน้ำหนักแห้งของตัวอย่าง 100 กรัม เห็ดปลวกที่มีปริมาณโปรตีนสูงสุดคือเห็ดปลวกฟานเทา ที่มีโปรตีนประมาณ 33.9 กรัมต่อน้ำหนักแห้งของตัวอย่าง 100 กรัม และเห็ดปลวกที่มีปริมาณโปรตีนต่ำสุด คือเห็ดปลวกข้าวตอก มีโปรตีนประมาณ 9.6 กรัมต่อน้ำหนักแห้ง 100 กรัม

อาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด

อาหารเลี้ยงเส้นใยเห็ด รา สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทด้วยกัน คือ อาหารธรรมชาติ (natural media) อาหารสังเคราะห์ (synthetic media) หรือ semisynthetic media ซึ่ง Friel และ McLoughlin ได้กล่าวไว้ในปี 2000 ว่าการเลี้ยงเส้นใยในอาหารเหลวนั้นเป็นการเพิ่มผลผลิตเส้นใยได้มากในเวลาอันสั้น โดยมีการปนเปื้อนน้อยที่สุด และนอกจากนี้ยังสามารถแบ่งสภาพอาหารออกได้เป็น

1. อาหารเหลว (liquid media) เป็นอาหารที่ไม่เติมวุ้นในส่วนประกอบของสูตร

2. อาหารกึ่งแข็ง (semisolid media) เป็นอาหารที่มีการเติมวุ้น, gelatin หรือ silica gel เป็นส่วนประกอบของสูตร

อาหารธรรมชาติ (natural media)

เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมได้จากสารอาหารที่มีคุณค่าทางอาหารสูง แต่ไม่ทราบสัดส่วนที่แน่นอนของสารที่เป็นแหล่งอาหาร อาหารเลี้ยงเชื้อประเภทนี้จะมาจากส่วนสกัดของพืชหรือสัตว์ ได้แก่ มาจากน้ำสกัดหัวมันฝรั่ง carrot slices ยีสต์สกัด peptone ซึ่งอาหารธรรมชาติในสภาพอาหารเหลวเลี้ยงเส้นใยเห็ดได้แก่ PD (potato dextrose media) YEM (malt extract – yeast extract media) และ ME (malt extract media)

นอกจากนี้ยังมีอาหารบางชนิดที่เตรียมจากของเหลือจากโรงงานอุตสาหกรรม ได้แก่

1. Cane molasses carrot juice radish juice และ sugarcane juice เพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ด *Pleurotus sajor - caju*

2. Citrus press water orange juice และ corn steep liquor เพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ด *Agaricus campestus*, *A. blazei*

3. Soybean slurry extract เพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ด *Morchella crassipes*, *P. sajor – caju*

4. Asparagus buttjuice หรือ Press juice จาก Pear waste เพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ด *A. campestris*

อาหารสังเคราะห์ (synthetic media)

เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทราบสัดส่วนที่ชัดเจน แน่นอนของสารที่ใช้เป็นแหล่งอาหาร อาหารสังเคราะห์ในสภาพอาหารเหลว ซึ่ง Kim และคณะ (2002) ได้ทำการศึกษาถึงการผลิต exo – biopolymer และการเจริญของเส้นใย กับเห็ดหลากหลายสายพันธุ์ โดยการควบคุมด้วยอาหารสังเคราะห์ 3 ชนิด ดังตารางต่อไปนี้

ตารางที่ 4 องค์ประกอบของสารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดของ Kim และคณะ ปี 2002

องค์ประกอบ	ความเข้มข้น (กรัม/ลิตร)		
	PMP	MCM	YM
Glucose		20	10
KH_2PO_4		0.46	
K_2HPO_4		1	
Malt extract	10		3
$MgSO_4 . 7 H_2O$		0.5	
Peptone	1	2	5
Potato dextrose broth	24		
Yeast extract	0	2	3

หมายเหตุ: PMP = potato malt peptone medium, MCM = Mushroom complete medium, YM = Yeast malt extract medium.

อาหารเลี้ยงเส้นใยเห็ดมีอยู่หลายสูตรด้วยกัน แต่ส่วนประกอบและปริมาณของสารจะแตกต่างกันออกไป ขึ้นอยู่กับชนิดของเห็ด และจุดประสงค์ที่จะนำไปใช้ ซึ่งส่วนใหญ่จะประกอบไปด้วย

1. แหล่งอาหารคาร์บอน จัดเป็นอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก ซึ่งส่วนใหญ่เกือบทุกสูตรดังที่กล่าวไปข้างต้น และแหล่งคาร์บอนที่สำคัญที่สุดคือ กลูโคส และ ฟลุคโตส มีผลทำให้ lag phase สั้น (Wu *et al.*, 2003)

2. แหล่งอาหารไนโตรเจนจากสูตรอาหารสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ

2.1 Inorganic nitrogen ได้แก่ ammonium เป็นแหล่งไนโตรเจนที่เชื้อเห็ด หรือจุลินทรีย์ส่วนใหญ่นำไปใช้ nitrate nitrite และurea ตามลำดับ

2.2 Organic nitrogen เส้นใยบางชนิดต้องการ amino acid ไปเป็นแหล่งไนโตรเจน ได้แก่ glutamic acid asparagines glucuronic acid aspartic acid serine และเปปโตน

แหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมกับเส้นใยเห็ดทั่วไป หลังจากได้ทำการรวบรวมจะเป็น corn steep powder (Park *et al*., 2001) ยีสต์สกัด (Wu *et al.,* 2003; Lee *et al.,* 2004; รัฐพล ศรประเสริฐ, 2536) และเปปโตน (Lee *et al.,* 2004)

3. ธาตุอาหารพวกอนินทรีย์ จากสูตรอาหารส่วนใหญ่แล้วจะมี ธาตุอาหารหลัก ได้แก่ แคลเซียม ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม มังกานิส และซัลเฟอร์ ซึ่งเส้นใยมีความต้องการในปริมาณสูงกว่า เหล็ก สังกะสี มังกานีส ทองแดง และโมลิบดีนัม

4. จำพวกวิตามินที่นิยมใช้กันมากคือ thiamine ลงไปในสูตรอาหารเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งเป็นวิตามินที่ละลายน้ำได้

5. สารประกอบอินทรีย์ ได้แก่ น้ำสกัดหัวมันฝรั่ง ยีสต์สกัด malt extract

ลักษณะสภาพการเลี้ยงเส้นใยเห็ดในอาหารเหลว (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ, 2541, รัฐพล ศรประเสริฐ, 2536)

สภาพการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดสามารถแบ่งได้ 2 ลักษณะ ได้แก่

1. การเลี้ยงเส้นใยบนผิวหน้าอาหารเหลว (surface culture) ในสภาพนิ่ง (static)

การเลี้ยงเส้นใยบนผิวหน้าอาหารเหลว ซึ่งสามารถกระทำได้ในขวดรูปชมพู่ โดยการเพาะเลี้ยงเส้นใยบนอาหารวุ้น และเมื่อเส้นใยมีการเจริญจนเกือบเต็มจานเพาะ แล้วเจาะวุ้นที่มีเส้นใยปกคลุม โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.7 เซนติเมตร จากนั้นนำชิ้นวุ้นไปลอยบนอาหารเหลว ซึ่งมีการบรรจุในขวดรูปชมพู่ ขนาดตามที่ต้องการเพาะเลี้ยงในสภาพนิ่ง (static culture)

2. การเลี้ยงเส้นใยแบบ submerged culture เป็นการเลี้ยงเส้นใยโดยให้จมอยู่ในอาหารเหลว ซึ่งแบ่งได้ 2 สภาพ คือ

2.1 Shaking flask

ในการเลี้ยงเส้นใยในอาหารเหลว จำเป็นที่จะต้องใช้ภาชนะบรรจุ ซึ่งไม่สามารถใส่อาหารได้ตามปริมาณที่ต้องการ ภาชนะดังกล่าวที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ขวดรูปชมพู่ซึ่งทำด้วยแก้ว และมีหลายขนาด ตั้งแต่ 25 – 2,000 มิลลิเมตรขึ้นไป โดยตามปกติแล้วการเลี้ยงเส้นใยในอาหารเหลวจำเป็นต้องมีการให้อากาศ อย่างไรก็ดีขวดรูปชมพู่ ที่ใช้กันอยู่นั้นมักจะใช้แบบธรรมดา แต่การให้อากาศนั้นต้องอาศัยการเขย่าด้วยเครื่องเขย่า (shaker) ซึ่งการ shake นั้น นอกจากจะช่วยเพิ่มการเจริญของเส้นใย เพิ่มพื้นที่ผิว การกระจายสารอาหารดียิ่งขึ้น ทำให้เส้นใยสัมผัสกับสารอาหาร และช่วยเจือจางความเข้มข้นของสารพิษ เป็นต้น

ภาพที่ 3 การให้อากาศในการเลี้ยงเส้นใย โดยอาศัยเครื่องเขย่า

ที่มา: http://www.labnetlink.com/images/Orbit%201900%20full%20load.jpg

2.2 Fermenters

เป็นการเพาะเลี้ยงเส้นใยในถังหมัก (fermenter) ซึ่งเราสามารถที่จะควบคุมปัจจัยต่างๆ เช่น การให้อากาศ การกวน อุณหภูมิ pH เป็นต้น ถังหมักที่ใช้กันโดยทั่วไปจะมีหลายขนาด มีตั้งแต่ขนาดความจุที่ 1 – 2 ลิตร ซึ่งจะนิยมใช้กันมากในห้องปฏิบัติการ จนถึงขนาด 5 10 25 50 และมากกว่า 100 ลิตร ซึ่งใช้ในการศึกษาการเลี้ยงเส้นใยในระดับขยาย (scale – up) จากห้องปฏิบัติการสู่ระดับอุตสาหกรรม สำหรับถังหมักที่ใช้ในระดับอุตสาหกรรมมีขนาดความจุระหว่าง 100 – 150 ตันขึ้นไป

ภาพที่ 4 ถังหมักขนาดความจุต่างๆ กัน ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

ที่มา: http://www.topac.com/fermvessels.gif

การเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดในสภาพควบคุม

การเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดมีผู้ที่สนใจและพยายามที่จะศึกษาการเจริญในอาหารเหลวสูตรต่างๆ เพื่อการหาสภาพที่มีความเหมาะสมของเห็ดแต่ละชนิด ซึ่งก็เป็นแนวทางหนึ่งที่ช่วยในการศึกษาการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนในอาหารหลากหลายชนิดต่อไป

Humfeld และ Sugihara (1952) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลากหลายชนิดในสภาพอาหารเหลว พบว่ามีเห็ดประมาณ 20 ชนิด ที่สามารถเพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวได้สำเร็จ โดยเส้นใยเห็ดที่นำมาใช้มาจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของเห็ด บนอาหาร potato dextrose agar หรือ PDA ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส

Hadar และ Arazi (1986) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ที่ถูกสร้างขึ้นจากการเพาะเลี้ยงในสภาพอาหารเหลวของเส้นใยเห็ด *Pleurotus ostreatus* โดยการนำผลผลิตมวลชีวภาพของเส้นใยที่เจริญในเวลา 3 วัน ในถังหมักปริมาตร 2 ลิตร มาเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีในดอกเห็ดชนิดเดียวกันที่เลี้ยงบน cotton straw พบว่ามีความคล้ายคลึงกันทั้งในส่วนของไนโตรเจน รวมถึงกรดไขมันที่เกิดขึ้นด้วย แต่มากกว่าในเส้นใยที่ได้จากการเพาะเลี้ยง

Fukushima และคณะ (1993) แสดงให้เห็นว่าการนำ liquid spawn ของเห็ดหอม มาทำการเพาะเลี้ยงให้เกิดเส้นใยในอาหารเหลวระบบ continuous ผลผลิตที่ได้มากกว่าการผลิตในระบบ batch culture และการมีลิกนิน มีผลในการเร่งการเจริญของเส้นใยเห็ดหอมในอาหารเหลวได้เร็วขึ้น

รัฐพล ศรประเสริฐ (2536) ศึกษาการเจริญของเส้นใยเห็ดหอม สายพันธุ์ MU2 และเห็ดนางรม สายพันธุ์นางรม 1 ในอาหารเหลวธรรมชาติ 7 ชนิดเทียบกับอาหารสังเคราะห์ 1 ชนิด พบว่า น้ำต้มมันฝรั่งมีความเหมาะสมต่อการเจริญของเห็ดทั้ง 2 ชนิด นอกจากนี้น้ำมะพร้าว และยีสต์สกัด มีความเหมาะสมต่อการเจริญของเห็ดหอม และเห็ดนางรม ตามลำดับ ยังพบอีกว่าค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 5.0 เหมาะสมต่อการเจริญของเห็ดหอม ส่วนความเป็นกรดเป็นด่าง 6.0 เหมาะกับเห็ดนางรม อุณหภูมิที่เหมาะสมกับเห็ดทั้งสองคือ 25 องศาเซลเซียส และสภาพการเลี้ยงเส้นใยแบบกึ่งนิ่งให้การเจริญของเส้นใยที่ดีกว่าแบบนิ่ง

Maziero Cavazzoni และ Bononi (1999) ทำการคัดเลือกเส้นใยของสายพันธุ์เห็ด 56 สายพันธุ์ในกลุ่ม Basidiomycetes ที่มีความสามารถในการผลิต exopolysaccharides และมวลชีวภาพในอาหารเหลว พบว่าเส้นใยเห็ด *Agaricus* sp. (CCB 280) และ *Oudemansiella canarii* (Jungh.) Hohn (CCB 179) ให้ผลผลิตของ exopolysaccharide สูงสุด หลังจากเพาะเลี้ยงไปได้ 7 วัน ส่วน *Schizophyllum commune* Fr. Fr. (CCB 473) ให้ผลผลิตมวลชีวภาพสูงสุดในเวลา 14 วันหลังการเพาะเลี้ยง

Park และคณะ (2001) ตรวจสอบสภาพการเพาะเลี้ยงที่มีความเหมาะสมในการผลิต exo – biopolymer ของเห็ด *Cordyceps militaris* ที่เลี้ยงในขวดรูปชมพู่แบบเขย่า ว่าอุณหภูมิที่เหมาะสม, แหล่งคาร์บอน, แหล่งไนโตรเจน และค่าความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้น ของทั้งการเจริญของเส้นใย และการผลิต exo – biopolymer คือ 20 องศาเซลเซียส ซูโครส 40 กรัม/ลิตร corn steep powder และค่าความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้น 6.0 ตามลำดับ

Bae และคณะ (2001) พบว่าความเข้มข้นของ biopolymer จะมีมากที่สุดเมื่อเลี้ยงเส้นใยเห็ด *Paecilomyces japonica* ในอาหารเหลว เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอน maltose ซึ่งให้ผลผลิตมากกว่าในอาหารที่มี แหล่งคาร์บอนที่เป็นซูโครส

Fang และ Zhong (2002) พบว่า ขนาดของ pellet มีผลมาจากการเติมออกซิเจนเข้าไป และการสะสมของ ganoderic acid (GA) ซึ่งการจำกัดการเติมออกซิเจนนั้นมีผลต่อรูปแบบของ GA ของเส้นใยเห็ด *Ganoderma lucidum* ในกระบวนการเพาะเลี้ยงแบบ two – stage (shake flask fermentation: first stage และ static culture: second stage)

Kim และคณะ (2002) แสดงให้เห็นว่าผลผลิตของ exo – biopolymer นั้นจะพิ่มขึ้นหลังจากเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ด *Ganoderma lucidum* NO. 1 และ *Phellinus linteus* KCTC 6190 ในถังหมักแบบ batch ขนาด 5 ลิตร ซึ่งถูกควบคุมด้วยความแตกต่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ

Wu และคณะ (2003) ทำการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ด *Pleurotus tuber – regium* ในอาหารเหลว มีการแสดงให้เห็นว่าแหล่งคาร์บอน glucose และ fructose มีผลทำให้ lag phase สั้นกว่าในอาหารที่มีการเติม maize starch ส่วนแหล่งไนโตรเจน yeast extract มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดดีกว่า peptone แต่เมื่อมีการขยายขนาดของการ fermentationในอาหาร basal medium ที่มีฟรุคโตส นั้นให้ผลผลิตของเส้นใยสูงกว่ากลูโคส

Lee และคณะ (2004) ศึกษาสภาพที่เหมาะสมสำหรับมวลชีวภาพของเส้นใย และผลผลิตของ exopolysaccharide (EPS) ของเห็ด *Grifola frondosa* พบว่าอุณหภูมิ และค่าความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อผลผลิตทั้งสองในการเลี้ยงในขวดแบบเขย่า คือ 25 องศาเซลซียส และความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้น 5.5 ตามลำดับ ส่วนแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมคือกลูโคส และยีสต์สกัด กับโพลีเปปโตน ตามลำดับ

นอกจากนี้ ในปี 2007 Pokhrel และ Ohga ทำการศึกษาสภาพที่เหมาะสมสำหรับผลผลิตเส้นใย และผลิตภัณฑ์โพลีแซคคาไรด์ ของเห็ด *Lyophyllum decastes* ในขวดรูปชมพู่ที่มีการเขย่า แหล่งคาร์บอน 3 อันดับแรกที่ให้ผลผลิตเส้นใยสูงสุดคือแลคโตส (6.73 กรัม/ลิตร) กลูโคส (6.36 กรัม/ลิตร) และฟรุคโตส (6.10 กรัม/ลิตร) สำหรับกลูโคส นั้นให้ปริมาณ exo – polysaccharides (EPS) และ Inner polysaccharide (IPS) ดีที่สุดคือ 1.65 กรัม/ลิตร และ 317 มิลลิกรัม/กรัม ในเส้นใยแห้ง ตามลำดับ แหล่งไนโตรเจนที่ให้ผลผลิตเส้นใยดีที่สุดคือยีสต์สกัด ให้ปริมาณเส้นใย 7.03 กรัม/ลิตร ให้ IPS 325 มิลลิกรัม/กรัม โดยน้ำหนักแห้ง ส่วนความเข้มข้นของยีสต์สกัด ที่มีส่วนในการเพิ่มขึ้นของปริมาณ EPS คือ 2.46 กรัม/ลิตร ที่ 2 % ค่าความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นที่ดีที่สุดคือ 7 สำหรับการผลิต polysaccharides (EPS 1.73 กรัม/ลิตร และ IPS 320 มิลลิกรัม/กรัม) และ 8 สำหรับการเจริญของเส้นใย (7.10 กรัม/ลิตร) การเจริญการเส้นใยสูงสุดใน 15 วัน ขณะที่ polysaccharides สูงสุดที่ 10 วัน

การเพาะเลี้ยงเห็ดโคนในสภาพควบคุม

ได้มีการรวบรวมข้อมูลการเพาะเลี้ยงเห็ดโคนโดย ชัชฎาพร อินทำมา ในปี 2538 ว่ามีนักวิชาการ และนักวิจัยในหลายประเทศพยายามหาวิธีการเพาะเลี้ยงเห็ดโคนด้วยวิธีต่างๆ มากมายทั้งการเลียนแบบธรรมชาติ และในอาหารสังเคราะห์ต่างๆ แต่ก็ยังไม่มีผู้ใดสามารถทำให้เห็ดโคนออกดอกในสภาพควบคุมได้เลย

Batra และ Batra (1967) พบว่าสูตรอาหารที่มีสารละลายที่กรองจากเส้นใย *Xylaria* ที่อายุ 14 วัน ที่ใช้เลี้ยงเส้นใยเห็ดโคนนั้น ทำให้เส้นใยมีการเจริญมากที่สุด และวิตามินที่มีความจำเป็นต่อการเจริญคือ ไทอะมีน (thiamine) ไบโอติน (biotin) และไพริดอกซิน (pyridoxine)

Thomus (1987) ทดลองเลี้ยงเส้นใยเห็ดโคน *Termitomyces* spp. 8 ชนิด ในอาหารสังเคราะห์ พบว่ามีการเจริญของเส้นใยที่ไม่แตกต่างกัน

ยงยุทธ สายฟ้า และคณะ (2520) เพาะเลี้ยงเห็ดโคนในอาหารวุ้น 11 สูตร แล้วมีการเปรียบเทียบการเจริญของเส้นใย พบว่าสูตรอาหารที่มีการเติมน้ำต้มเห็ดโคน มีผลทำให้เส้นใยมีน้ำหนักแห้งมากที่สุด

ออมสิน สัตยกุล (2540) แสดงให้เห็นว่าการเจริญของเห็ดโคนทั้ง 7 สายพันธุ์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Czapek Dox Agar ที่มีใบตองบดผสมเจริญได้ดีกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอื่นๆ นอกจากนี้ยังศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนทั้ง 7 สายพันธุ์ในอาหาร Czapek Dox Agar เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ช่วงความเป็นกรดเป็นด่างคือ 6.0 – 7.0 โดยใช้กลูโคส 30 กรัม/ลิตร และ peptone 6.0 กรัม/ลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน และไนโตรเจน ตามลำดับ

อาภรณ์ บัวศรี (2544) ได้ทำการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดโคนที่เก็บได้จาก 8 จังหวัดในประเทศไทยเพื่อหาระยะ stationary phase ในอาหารเหลว PDB โดยระยะ stationary phase ของเส้นใยเห็ดโคนทั้ง 8 จังหวัดนั้น อยู่ในช่วงวันที่ 14 – 22 วันของการเพาะเลี้ยงเส้นใย ที่สำคัญยังเป็นช่วงที่เส้นใยเห็ดโคนจะผลิตสาร secondary metabolite อีกด้วย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5 การสรุปความเหมาะสมของการเพาะเลี้ยงเห็ดชนิดต่างๆ รวมถึงการศึกษาในงานวิจัยนี้

Optimal / Type of mushrooms	Various species	Studies in the *Termitomyces* spp.
ชนิดของอาหาร	PDB, PMP, MCM	PD, CaD, SD, CoD, BD, PPD, WRD, MCM
C – sources	Maltose, sucrose, fructose และ glucose	Dextrose
N – sources	Corn steep powder และ peptone	Peptone
Temperature	20 – 31 °C	28 °C
pH	5.0 – 6.66	5.5
Agitation rate	100 – 200 ± 10 rpm	112 rpm
Condition culture	Batch culture และ continuous culture	Batch culture

ขณะนี้การนำเส้นใยของเห็ดมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเป็นที่สนใจในวงการอุตสาหกรรม เพราะนอกจากจะใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงน้อยกว่าการเพาะเลี้ยงดอกเห็ดแล้ว ยังพบว่ามีสารสำคัญบางอย่าง ซึ่งจะพบได้ในเส้นใยเห็ดมากกว่าในดอกเห็ด และการควบคุมให้เส้นใยเห็ดเจริญ เติบโตในถังหมักยังสามารถทำได้ง่ายกว่าด้วย แต่ปัจจัยต่าง ๆ ที่จะมีผลต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดในถังหมัก เช่น ชนิดของเห็ด ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ ความเป็นกรดเป็นด่าง และอุณหภูมิ คงต้องมีการศึกษาใน ระดับห้องปฏิบัติการ ก่อนที่จะมีการขยายขนาดการผลิตต่อไป

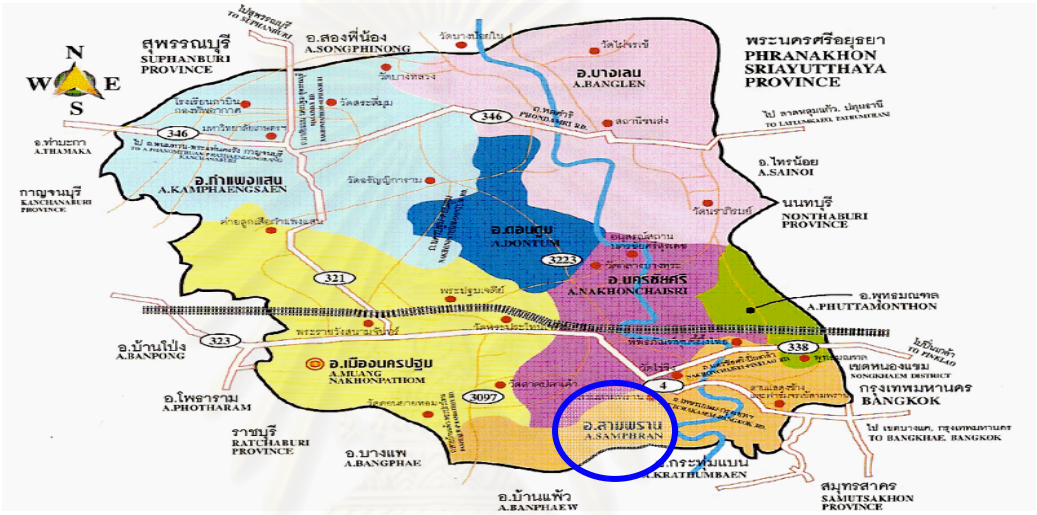
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3
วัสดุอุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

วัสดุอุปกรณ์

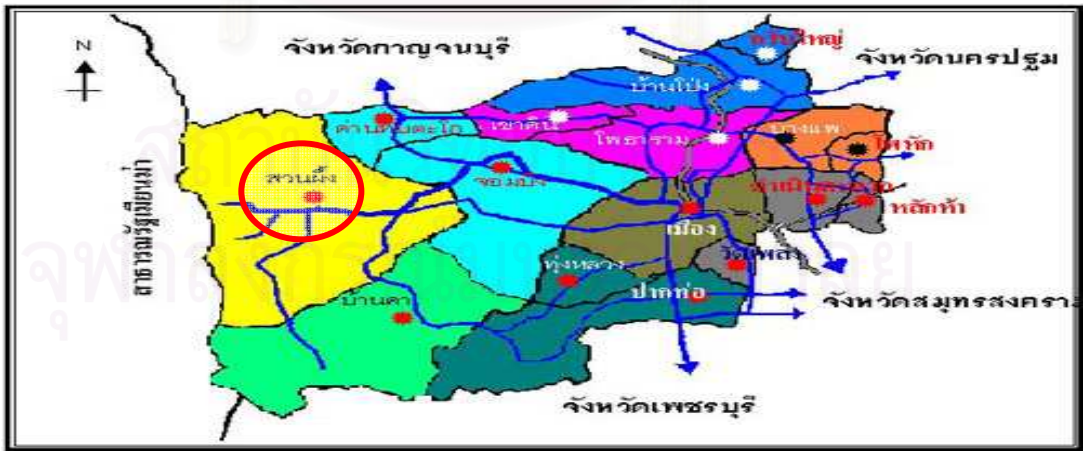
1. **เชื้อเห็ดโคน (*Termitomyces* sp.) สองชนิดที่เก็บมาจาก 2 จังหวัดในประเทศไทย** คือ

1.1 อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม



ภาพที่ 5 แผนที่จังหวัดนครปฐม

1.2 อำเภอสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี



ภาพที่ 6 แผนที่จังหวัดราชบุรี

2. **วัสดุเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว 2 ประเภท** ได้แก่

2.1 อาหารธรรมชาติ (natural media) มีส่วนประกอบ ดังนี้

2.1.1 มันฝรั่ง (potato)

2.1.2 มันสำปะหลัง (cassava)

2.1.3 ถั่วเหลือง (soybean)

2.1.4 ข้าวโพด (corn)

2.1.5 กล้วยน้ำว้า (banana)

2.1.6 มะละกอ (papaya)

2.1.7 หัวไชเท้า (white raddish)

2.2 อาหาร mushroom completes media (MCM) ประกอบด้วย แหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน และสารอื่นๆ (Kim *et al*, 2002) ดังนี้

สารเคมี

glucose

potassium phosphate (KH_2PO_4)

dipotassium hydrogen phosphate (K_2HPO_4)

magnesium sulphate ($MgSO_4.7\ H_2O$)

yeast extract

3. **สารที่ใช้ในการปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่าง** คือ hydrochloric acid (HCl) และ sodium hydroxide (NaOH) (ภาคผนวก ก)

4. **สารที่ใช้ในการวิเคราะห์โปรตีน** Bradford protein assay (Bradford, 1976) (ภาคผนวก ข)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5. อุปกรณ์และครุภัณฑ์

ตารางที่ 6 ชนิดของเครื่องมือแบบรุ่น และบริษัทผู้ผลิตของอุปกรณ์และครุภัณฑ์

ชนิดเครื่องมือ	แบบรุ่น	บริษัทผู้ผลิต
1. ขวดทดลอง (Erlenmeyer flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร	Pyrex (4980)	Bibby, England
2. ขวดทดลอง (Erlenmeyer flask) ขนาด 5 ลิตร	Pyrex (4980)	Bibby, England
3. หม้อนึ่งความดันไอน้ำ	ไฟฟ้า	Ta Chang Medical Instrument Factory Taiching, Taiwan, R. O. C
4. ตู้บ่มเชื้อ (incubator)	Memmert	Memmert, Western Germany
5. ตู้ถ่ายเชื้อ	"ISSCO" Laminar Flow model H – 124	International Scientific Supply Co., Thailand
6. เครื่องชั่งละเอียด	Precisa 80 A – 200 M	Memmert, Western Germany.
7. pH meter (digital)	Meiji Model – 5002	Meiji – Labax, Japan.
8. เครื่องเขย่า	Shaker	ศูนย์เครื่องมือภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
9. micropipette	Finnpipette 2	Labsystems Oy Pulttie 9, Finland

6. วัสดุอื่น ๆ ได้แก่ ที่เจาะจุก (cork borer) เข็มเขี่ยเชื้อ กระดาษกรองเบอร์ 1 กระดาษอลูมีเนียม สำลี ผ้าขาวบาง กล้องถ่ายภาพดิจิตอล Spectophotometer และ เครื่อง votex

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีการทดลอง

1. การจัดจำแนกชนิดเห็ดโคน

นำตัวอย่างเห็ดโคนในจังหวัดนครปฐม และราชบุรีมาจัดจำแนกชนิดของเห็ดโคน โดยใช้หลักการจำแนกตามหลักของ Pegler และ Vanhaecke (1994) โดยพิจารณาจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น รูปร่าง และขนาดของหมวกดอก สีของหมวกดอก ความยาว ขนาดและลักษณะของก้านดอก เป็นต้น

2. การเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดโคนในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง PDA

เลือกเห็ดโคนจากตัวอย่างที่เก็บได้ นำมาตัดเนื้อเยื่อ ขนาดประมาณ 0.5 x 0.5 x 0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร วางชิ้นเนื้อเห็ดบนอาหาร PDA โดยวิธีปลอดเชื้อ (aseptic technique) ในตู้ปลอดเชื้อ (aseptic chamber) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเจริญของเส้นใยจากเนื้อเยื่อเห็ดประมาณ 3 สัปดาห์

3. การเตรียมเชื้อเห็ดโคนในอาหาร PDA

เตรียมหัวเชื้อโดยใช้เชื้อเห็ดโคนจังหวัดราชบุรี และนครปฐม ซึ่งเก็บไว้ในหลอดเชื้ออาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำเชื้อเห็ดไปเพิ่มปริมาณเส้นใยโดยถ่ายเชื้อไปเลี้ยงในจานเลี้ยงเชื้อ PDA จำนวน 20 plates บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 - 10 วัน หรือเมื่อเส้นใยเจริญเกือบชนขอบจานเพาะเชื้อ ตัดวุ้นที่มีเส้นใยเห็ดโคนที่มีการเจริญดีด้วยที่เจาะจุกคอร์ค (cock borer) ใช้เป็นหัวเชื้อใส่ลงในอาหารเหลวสูตรต่างๆ

4. ศึกษาการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดโคนทั้ง 2 ชนิด ในอาหารเหลวชนิดต่างๆ ที่ peptone ปริมาณต่างๆ กัน และอยู่ในสภาพแบบนิ่ง และแบบกึ่งนิ่ง

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเห็ดแบบเหลว ด้วยสูตรอาหารต่างๆ กัน (ภาคผนวก ก)

ชนิดอาหารสูตรที่ 1 PD (potato dextrose)

ชนิดอาหารสูตรที่ 2 CaD (cassava dextrose)

ชนิดอาหารสูตรที่ 3 SD (soybean dextrose)

ชนิดอาหารสูตรที่ 4 CoD (corn dextrose)

ชนิดอาหารสูตรที่ 5 BD (banana dextrose)

ชนิดอาหารสูตรที่ 6 PPD (papaya dextrose)

ชนิดอาหารสูตรที่ 7 WRD (white raddish dextrose)

ชนิดอาหารสูตรที่ 8 MCM (mushroom complete medium)

ที่แต่ละสูตรมีการเติม peptone ปริมาณ 0.0 1.0 1.5 2.0 และ 2.5 กรัม/ลิตร จากนั้นปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างเป็น 5.5 แบ่งอาหารปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร รวมเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ 40 สูตร ทำการทดลองสูตรละ 3 ซ้ำ จากนั้นใส่เชื้อเห็ดโคน วางไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส โดยจัดเป็น 2 ชุดการทดลองเพื่อศึกษาสภาพที่

เหมาะสมในการเลี้ยงเส้นใย ในสภาพแบบนิ่ง (stationary) และแบบกึ่งนิ่ง (semi – stationary) ในอาหารเหลวทั้งหมด

สภาพการเลี้ยงแบบนิ่ง คือเป็นการเลี้ยงเส้นใยไว้ในสภาพ ที่ไม่มีการเขย่า

สภาพการเลี้ยงแบบกึ่งนิ่ง โดยมีการเขย่าวันละ 2 ครั้ง ครั้งละครึ่งชั่วโมงที่ความเร็ว 112 r.p.m. บนเครื่องเขย่า

การเก็บผลการทดลอง

เลี้ยงเส้นใยเป็นเวลา 25 วัน สังเกตการพัฒนาของเส้นใยเห็ดโคนทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ ลักษณะโคโลนี การเปลี่ยนสีของเส้นใย เก็บผลผลิตเห็ดเป็นน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเส้นใยเห็ดโดยการอบแห้งที่ 60 องศาเซลเซียส ด้วย hot air oven จนน้ำหนักคงที่ เพื่อหาสภาพการเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด และเลือกอาหารที่เหมาะสมชนิดละ 1 สูตร

การวางแผนการทดลอง

ใช้แผนการทดลองแบบ 8 x 5 x 2 factorial within CRD (completely randomized design) มี 3 ซ้ำ

ปัจจัยที่ 1 คือ ชนิดของอาหาร มี 8 สูตร ด้วยกัน คือ PD CaD SD CoD BD PPD WRD และ MCM

ปัจจัยที่ 2 คือ ปริมาณของ peptone ที่ทำการเติมลงในสูตรอาหารแต่ละสูตร มี 5 ระดับ คือ 0.0 1.0 1.5 2.0 และ 2.5 กรัม/ลิตร

ปัจจัยที่ 3 คือ สภาพที่ใช้ทำการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ด มี 2 สภาพด้วยกัน คือ สภาพแบบนิ่ง และแบบกึ่งนิ่ง

5. ขยายส่วนการเลี้ยงเส้นใยเห็ดโคนทั้ง 2 ชนิด ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ปริมาตรอาหาร 1 ลิตร

เลี้ยงเส้นใยเห็ดโคนทั้ง 2 ชนิด ในอาหารเหลวที่เหมาะสมจากข้อ 4 ชนิดละ 1 สูตร ปริมาตรอาหารเหลว 1 ลิตร ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ชนิดละ 3 ซ้ำ

การเก็บผลการทดลอง

เก็บผลผลิตเส้นใยเห็ดเป็นน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเส้นใยเห็ดโดยปฏิบัติเช่นเดียวกับข้อ 4

6. ศึกษาปริมาณโปรตีนของเส้นใยเห็ดโคนทั้งสองชนิด

นำเส้นใยเห็ดโคนทั้งสองชนิดจากข้อ 5 ทำการอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ด้วย hot air oven แล้วชั่งน้ำหนักแห้งแล้วนำไปบดเป็นผงใช้ในปริมาณ 1 กรัม เพื่อการวิเคราะห์

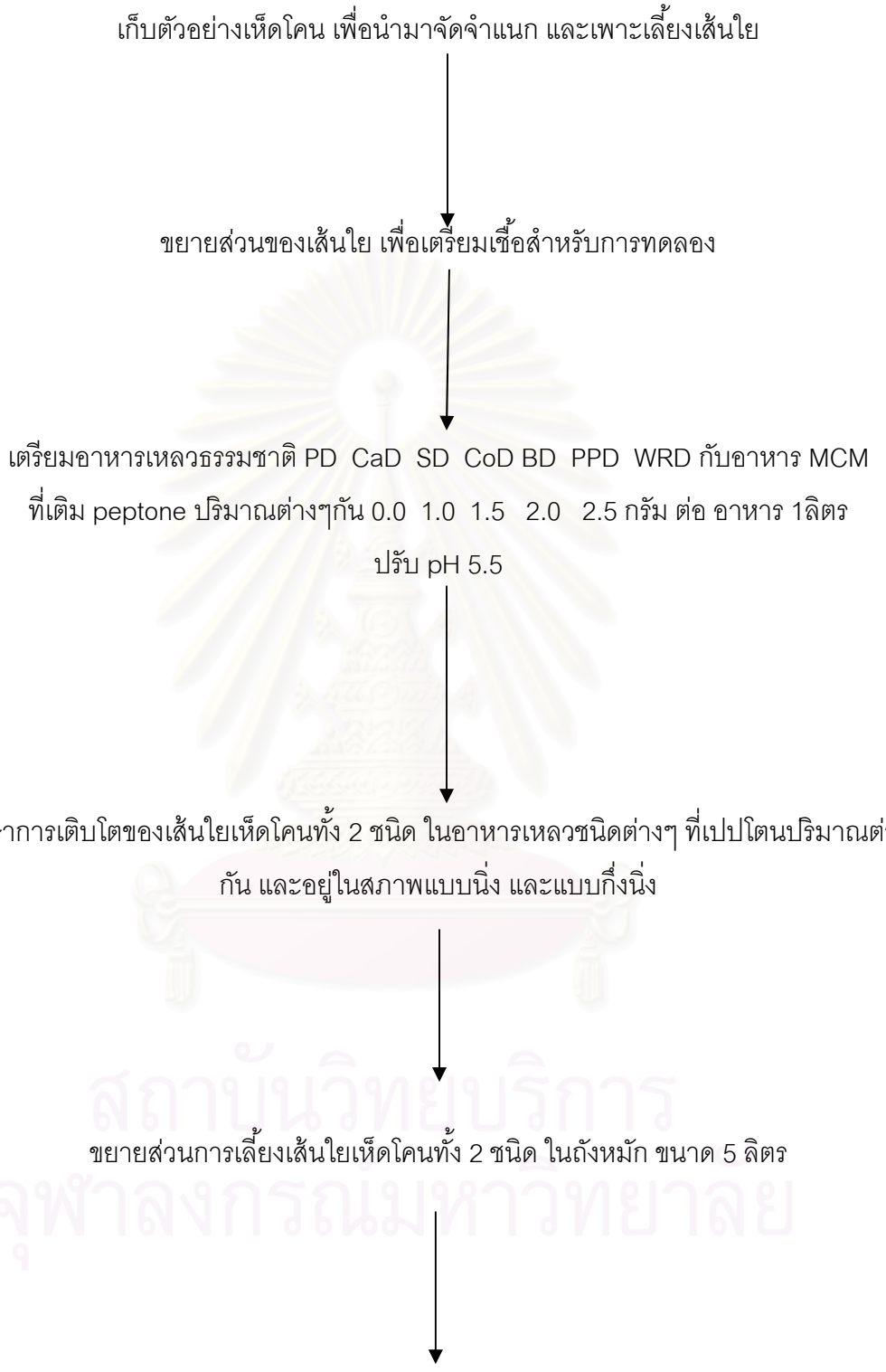
การเก็บผลการทดลอง

หาปริมาณโปรตีนเฉลี่ยในเส้นใยเห็ดโคนทั้ง 2 ชนิด จากการเพาะเลี้ยงเส้นใยด้วยวิธี Bradford protein assay (Bradford, 1976)

7. **วิเคราะห์ข้อมูล สรุปผล และเขียนวิทยานิพนธ์**

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 7 แผนภูมิการสรุปแผนการทดลอง



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4
ผลการทดลอง

1. การรวบรวมชนิดของเห็ดโคน

การเก็บรวบรวมชนิดเห็ดโคนได้เก็บรวบรวมจาก 2 จังหวัดด้วยกัน คือ จังหวัดราชบุรี และจังหวัดนครปฐม โดยใช้ชื่อตัวอย่างดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 แสดงตัวอย่างที่เก็บรวบรวมได้จาก 2 จังหวัด

จังหวัด	สัญลักษณ์แทนชื่อตัวอย่าง	ช่วงเวลาที่เก็บ
ราชบุรี	*Termitomyces striatus* (Beeli) R. Heim (TR)	กันยายน – พฤศจิกายน
นครปฐม	*Termitomyces globulus* R. Heim & Gooss. – Font (TN)	กันยายน – พฤศจิกายน

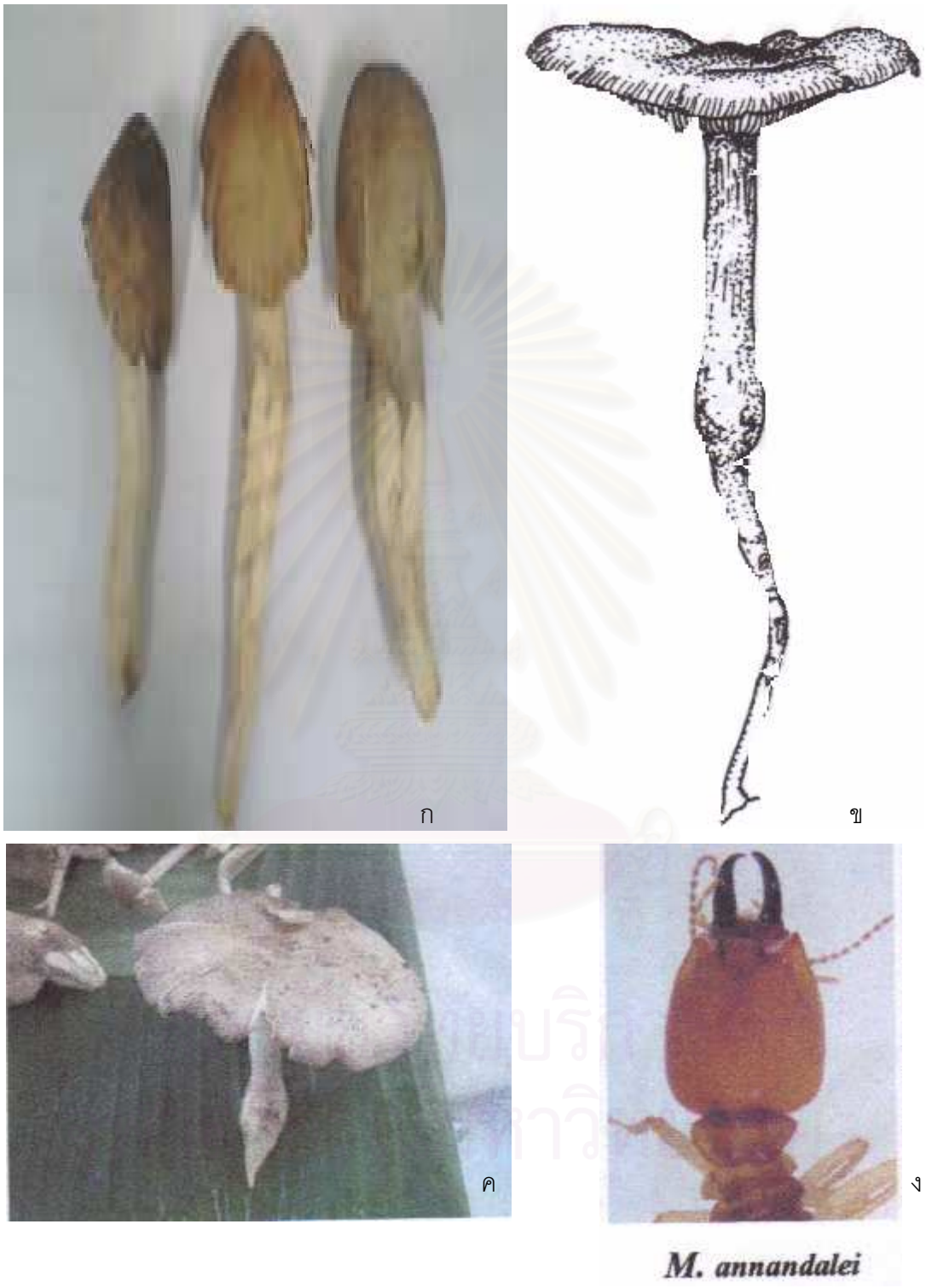
จากการเก็บตัวอย่างเห็ดโคนทั้งสองจังหวัดนั้น เก็บในช่วงเดือนกันยายน จนถึง เดือนพฤศจิกายน ซึ่งเป็นช่วงฤดูฝน ร้อน ชื้น เป็นสภาวะที่เห็ดโคนขึ้นได้ดี ตัวอย่างเห็ดโคนที่เก็บได้แสดงได้ดังภาพที่ 8

ก ข

ภาพที่ 8 แสดงเห็ดโคนที่เก็บได้จากสองจังหวัด ภาพ (ก) เห็ดโคน *Termitomyces striatus* (Beeli) R. Heim ที่เก็บได้จากจังหวัดราชบุรี ภาพ (ข) เห็ดโคน *Termitomyces globulus* R. Heim & Gooss. – Font ที่เก็บได้จากจังหวัดนครปฐม

2. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเห็ดโคน

2.1 เห็ดโคนจังหวัดราชบุรี (TR)



ภาพที่ 9 การเปรียบเทียบเห็ดโคนจังหวัดราชบุรีที่ใช้ในการทดลอง (ก) กับภาพวาดของเห็ดโคนชนิด *Termitomyces striatus* (Beeli) R. Heim (ข) เทียบกับภาพถ่ายเห็ดโคนชนิดเดียวกัน (ค) ที่มีความสัมพันธ์กับปลวก *Macrotermes annandalei* (ง)

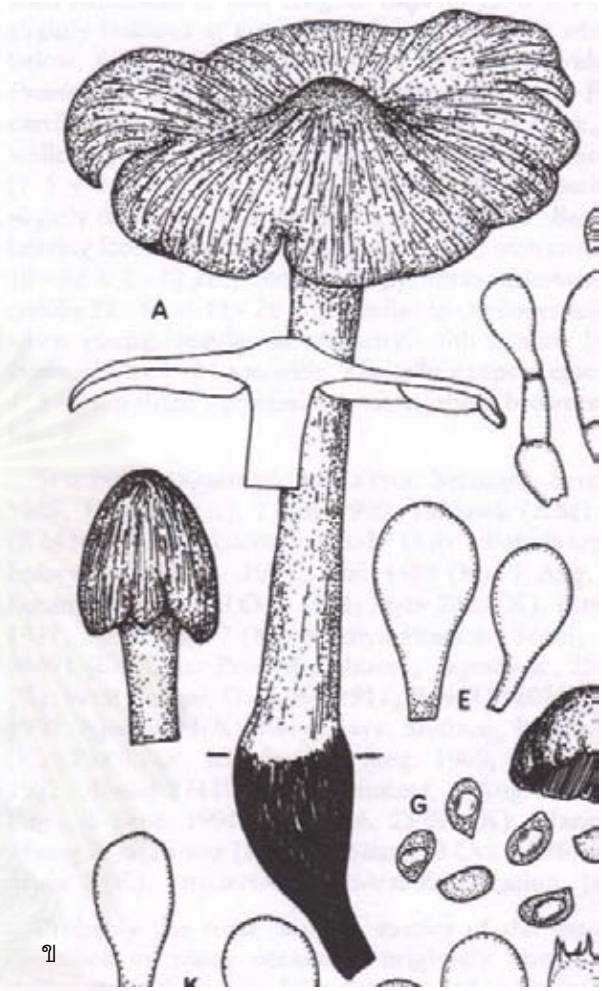
ลักษณะของเห็ดโคนชนิด *Termitomyces striatus* (Beeli) R. Heim ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บมาจากจังหวัดราชบุรี (TR) เทียบกับ key ของ Pegler และ Vanhaecke ปี 1994 ดังนี้

Pileus	มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 – 8 เซนติเมตร บางทีอาจถึง 12 เซนติเมตร รูปกรวยทรงโค้งลงเมื่อบาน มี perforatorium อาจทู่ หรือแหลม ผิวสีน้ำตาลอมเทาตรงกลางเป็นสีน้ำตาลแก่ บางครั้งจะมีเมือกติดอยู่ ทำให้มีความชุ่มชื้น ขอบหมวกเมื่อบานเต็มที่จะม้วนกลับขึ้นข้างบน มีรอยแตก (striate) รอบๆ ดอกเป็นวงกลม ทำให้เห็นเนื้อข้างล่างเป็นสีขาว
Lamellae	เป็นอิสระ ไม่ติดกับก้าน มีสีครีม ไปจนถึงสีชมพูอ่อน กว้าง 3 – 6 มิลลิเมตร จับเป็นกลุ่ม มี lamellulae เป็น 2 ชั้น
Stipe	ยาว 2 – 12 x 0.8 – 2.5 เซนติเมตร แท่งกลม และขยายใหญ่ขึ้นที่โคน เนื้อแข็ง สีขาว ไปจนถึงสีครีม
Pseudorhiza	ยาว 4 – 30 เซนติเมตร สีครีมขาว ที่ปลายจะเรียวยาว และแข็ง
Contex	หนาประมาณ 1.5 มิลลิเมตร หนาทึบที่ perforatorium ประกอบด้วยเส้นใยที่มีขนาด 4 – 10 ไมครอน
Spore	ขนาด 5.5 x 7.5 x 3.7 – 4.5 ไมครอน รูปกลมรี ไม่มีสี ผนังเซลล์บาง
spore deposit	มีสีเนื้ออมชมพู
Basidia	ขนาด 23 – 26 x 6 – 8 ไมครอน รูปร่างคล้ายกระบอง มี 4 สปอร์
Cystidia	cheilocystidia ขนาด 18 – 30 x 10 – 17 ไมครอน และ pleutocystidia มีขนาด 30 – 45 x 14 – 28 ไมครอน รูปไข่ และแหลมทั้งหัวท้าย ทั้งสองชนิดมีจำนวนน้อย กระจายอยู่ทั่วไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.2 เห็ดโคนจังหวัดนครปฐม (TN)

ก



ข

ค

ง

ภาพที่ 10 การเปรียบเทียบเห็ดโคนจังหวัดราชบุรีที่ใช้ในการทดลอง (ก) กับภาพวาดของเห็ดโคนชนิด *Termitomyces globulus* R. Heim & Gooss. – Font (ข) เทียบกับภาพถ่ายเห็ดโคนชนิดเดียวกัน (ค) ที่มีความสัมพันธ์กับปลวก *Macroterme gilvus* (ง)

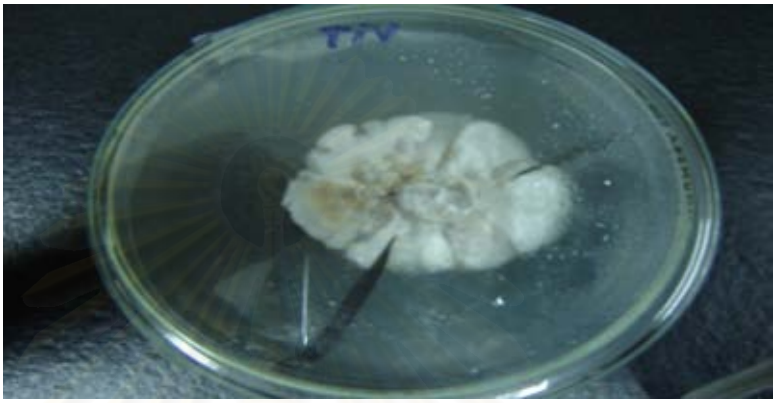
ลักษณะของเห็ดโคนชนิด *Termitomyces globulus* Heim & Gooss. – Font ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บมาจากจังหวัดนครปฐม (TN) เทียบกับ key ของ Pegler และ Vanhaecke ปี 1994 ดังนี้

Pileus	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 – 20 เซนติเมตร ดอกค่อนข้างกลม เมื่อบานจะกว้างออก ปลายโค้ง มี perforatorium เล็กน้อย หรือไม่มี ผิวสีอ่อน จนถึงสีน้ำตาลอ่อน มีรอยแตกรอบๆ ดอก
Lamellae	เป็นอิสระ ไม่ติดกับก้านดอก กว้างประมาณ 8 มิลลิเมตร มีสีขาว จนถึงสีชมพูอ่อน จับกลุ่มกันจนหนาแน่น มี lamellulae เป็น 3 ชั้น
Stipe	ขนาด 6 – 20 x 1.5 – 2 เซนติเมตร เป็นแท่งกลม เนื้อแน่น สีครีม ไม่มี annulus
Pseudorhiza	ยาวถึง 60 เซนติเมตร หรือมากกว่านั้น มีสีน้ำตาลแดง
Contex	หนาประมาณ 5 มิลลิเมตร นุ่ม ประกอบด้วยเส้นใยที่มีขนาด 3 – 25 ไมครอน
Spore	ขนาด 6 – 8.5 x 3.5 – 4.5 ไมครอน ผนังบาง
spore deposit	สีเนื้ออมชมพู
Basidia	ขนาด 25 – 30 x 7 – 8 ไมครอน รูปทรงกระบอก มี 4 สปอร์
Cystidia	cheilocystidia มีขนาด 28 – 60 x 20 – 25 ไมครอน ส่วน pleurocystidia มีลักษณะคล้ายกัน

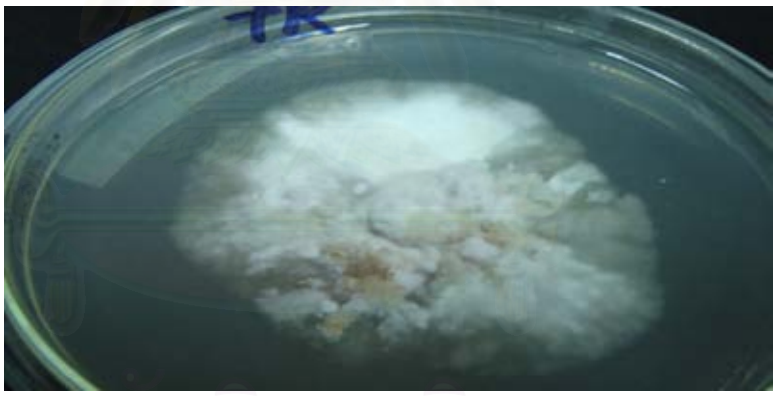
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. การเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดโคนในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง PDA

จากการแยกชิ้นส่วนออกจากส่วนกลางของ stipe ของเห็ดโคนตัวอย่าง ที่เก็บได้จากสองจังหวัด เพาะเลี้ยงบนจานเป็นเวลา 10 วัน เมื่อมีเส้นใยเจริญออกมาจากชิ้นส่วนเห็ดโคน และเจริญเติบโตบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) จากนั้นใช้ที่เจาะจุกคอร์ค เจาะเส้นใยที่เจริญนั้นไปทำการเพิ่มจำนวนเส้นใยสำหรับการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่เตรียมไว้ ได้ดังภาพต่อไปนี้



ภาพที่ 11 เส้นใยเห็ดโคน *T. globulus* จากจังหวัดนครปฐม หลังจากการเพาะในอาหาร PDA 10 วัน



ภาพที่ 12 เส้นใยเห็ดโคน *T. striatus* จากจังหวัดราชบุรี หลังจากการเพาะในอาหาร PDA 10 วัน

จากการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดโคนทั้งสองชนิดพบว่า สายพันธุ์จังหวัดราชบุรี มีการเจริญได้รวดเร็วกว่าชนิดจากจังหวัดนครปฐมเล็กน้อย และเมื่อสังเกตลักษณะของเส้นใยเห็ดโคนทั้งสองชนิดมีลักษณะดังต่อไปนี้

เส้นใยเห็ดโคน *Termitomyces globulus* R. Heim & Gooss. – Font (TN) เส้นใยมีสีขาวขาดง่ายแผ่ออกรอบๆ เป็นแผ่นหนาทั่วทั้งโคโลนี ตั้งแต่จุดศูนย์กลางของโคโลนีมีหลายๆจุดบน

โคโลนีเป็นลักษณะขรุขระคล้ายหัวสมอง บางส่วนมีสีน้ำตาลอ่อน เส้นใยเจาะลงไปในเนื้อวุ้น ทำให้อาหารมีรอยแยก ดังแสดงในรูปที่ 11

ส่วนเส้นใยเห็ดโคน *Termitomyces striatus* (Beeli) R. Heim (TR) เส้นใยมีสีขาวมีความหนาบางไม่เท่ากันทั่วทั้งโคโลนี แผ่ขยายได้กว้างกว่าเส้นใยเห็ดโคนจังหวัดนครปฐมที่เวลาการเพาะเลี้ยงเท่ากัน มีบางส่วนของโคโลนีมีลักษณะคล้ายสมอง บางส่วนมีสีน้ำตาลอ่อน เส้นใยไม่มีการทำให้เกิดการแยกของอาหารเหมือนเส้นใยแรก ดังแสดงในรูปที่ 12

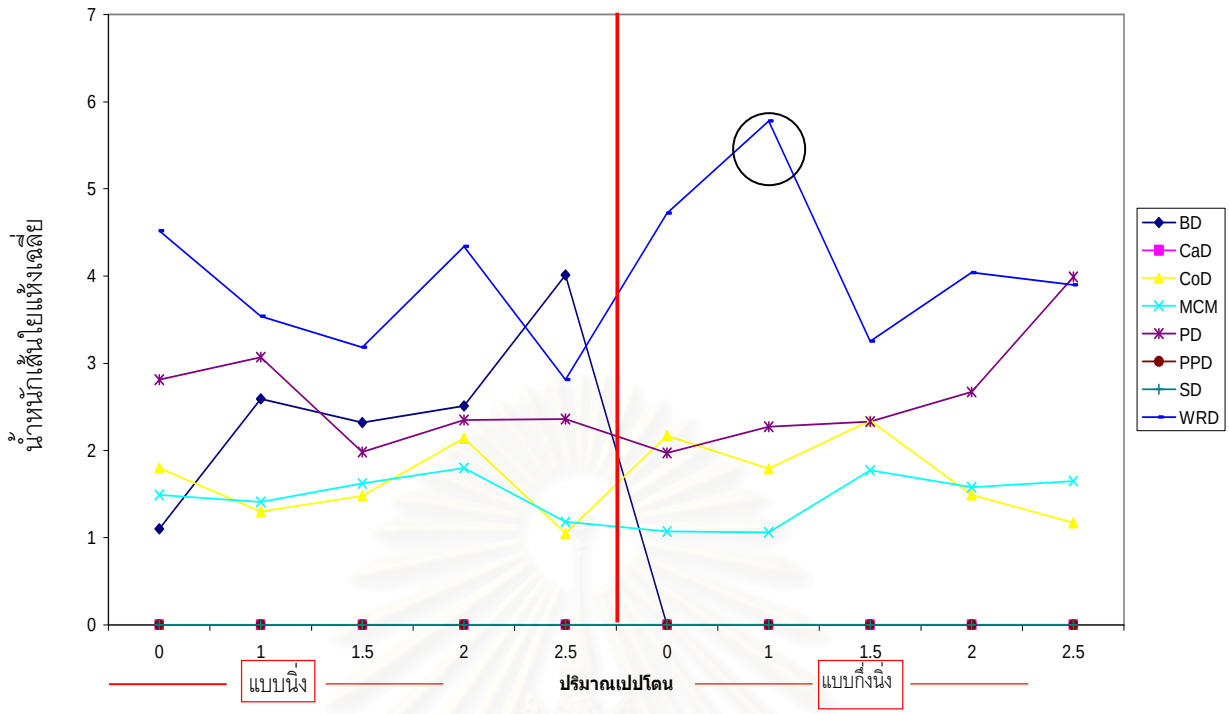
4. ศึกษาการเติบโตของเส้นใยเห็ดโคนทั้ง 2 ชนิด ในอาหารเหลวชนิดต่างๆ ที่เปปโตนปริมาณต่างๆ กัน และอยู่ในสภาพแบบนิ่ง และแบบกึ่งนิ่ง

เมื่อเลี้ยงเส้นใยเห็ดโคน *T. globulus* (TN) และ *T. striatus* (TR) ในอาหารเหลวธรรมชาติ ได้แก่ PD CaD SD CoD BD PPD WRD และ MCM ที่มีการเติมเปปโตนปริมาณต่างๆ กัน ได้แก่ 0.0 1.0 1.5 2.0 และ 2.5 กรัม/ลิตร แบ่งเลี้ยงในสภาพแบบนิ่ง และแบบกึ่งนิ่ง ที่ความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้น 5.5 ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 วัน เก็บผลผลิตเป็นน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเส้นใย เพื่อหา ชนิดของอาหาร ปริมาณเปปโตน และสภาพที่เหมาะสม ต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนแต่ละสายพันธุ์ จากการทดลองพบว่าเส้นใยเห็ดโคน *T. striatus* เจริญได้ดีในอาหารเหลว WRD เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารเหลว PD MCM CoD BD โดยน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของ เส้นใยเห็ด *T. striatus* ต่อลิตร 23.29 กรัม ใน WRD 15.78 กรัม ใน PD 11.08 กรัม ใน MCM 10.38 กรัม ใน CoD และ 7.32 กรัม ใน BD ส่วนในอาหารเหลวอีกสามชนิดเส้นใยไม่มีการเจริญ เมื่อเลี้ยงเส้นใยได้ 25 วัน ส่วนปริมาณเปปโตนที่เหมาะสมกับการเจริญของเส้นใยนี้ คือที่เปปโตนปริมาณ 1.0 กรัม/ลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับเปปโตนปริมาณอื่นๆ 0.0 1.5 2.0 และ 2.5 กรัม/ลิตร โดยน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเส้นใยต่อลิตร 9.52 กรัม ในเปปโตนปริมาณ 1.0 กรัมต่อลิตร 8.59 กรัม ในเปปโตนปริมาณ 2.5 กรัม/ลิตร 8.58 กรัม ในเปปโตนปริมาณ 2.0 กรัม/ลิตร 7.97 กรัม ในเปปโตนปริมาณ 1.5 กรัม/ลิตร และ 7.75 กรัม ในเปปโตนปริมาณ 0.0 กรัม/ลิตร และสภาพการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อเส้นใยคือที่สภาพแบบนิ่ง เนื่องจากให้น้ำหนักแห้งของเส้นใยสูงกว่าในสภาพกึ่งนิ่ง เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่า ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว WRD ให้น้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเส้นใยเห็ด *T. striatus* สูงกว่าอาหารชนิดอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ส่วนของปริมาณเปปโตนที่ใช้ในการทดลอง น้ำหนักแห้งเฉลี่ย ของเส้นใยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเส้นใยเห็ด ในส่วนของสภาพการเพาะเลี้ยงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ภาคผนวก ค) นอกจากนี้เมื่อรวมวิเคราะห์ปัจจัยที่ใช้ทั้งหมดพบว่า มีผลต่อน้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดชนิดนี้อย่างมีนัยสำคัญ ทาง

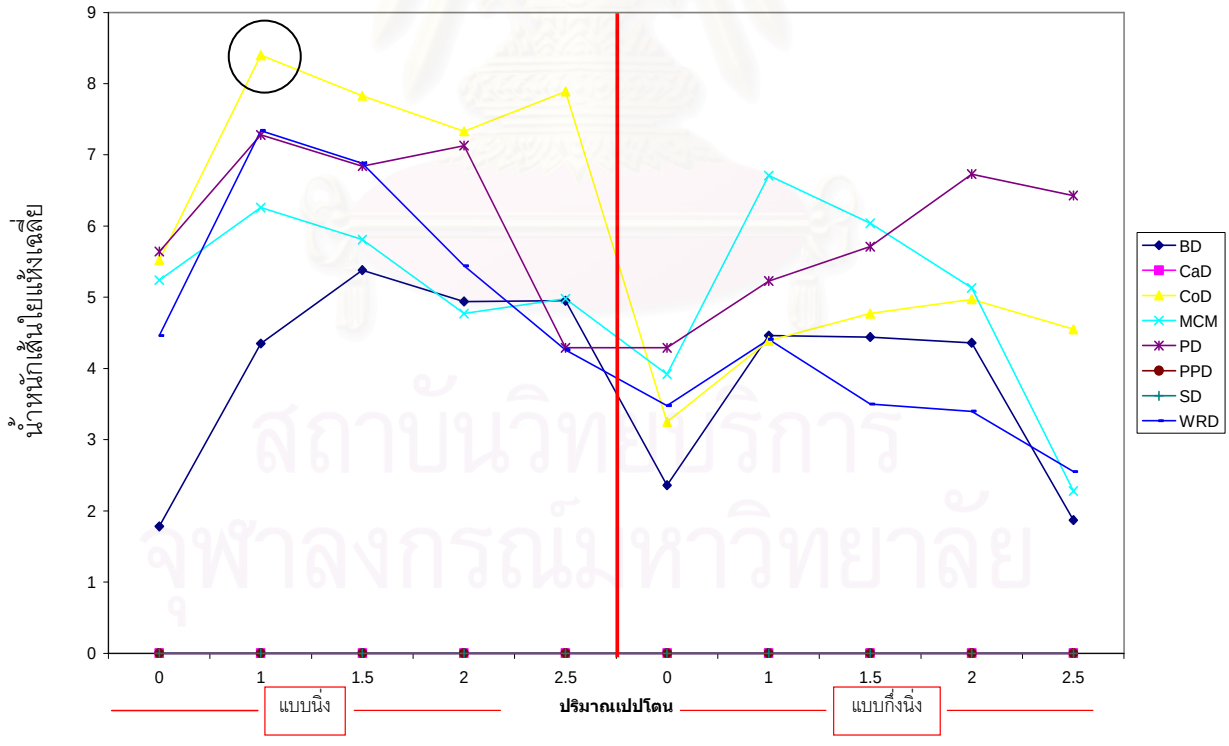
สถิติ (ตารางที่ 8) สำหรับอาหารที่เลือกใช้ในการทดลองต่อไปคือ WRD ที่ปริมาณเปปโตน 1.0 กรัม/ลิตร ในสภาพแบบกึ่งนิ่ง เนื่องจากมีค่าเฉลี่ยของเส้นใยสูงสุดที่ 5.78 กรัม/ลิตร ดังภาพที่ 13

สำหรับเส้นใยเห็ดโคน *T. globulus* เจริญได้ดีในอาหารเหลว PD เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารเหลว WRD MCM CoD BD โดยน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของ เส้นใยเห็ด *T. globulus* ต่อลิตร 37.50 กรัม ใน PD 35.52 กรัม ใน CoD 32.37 กรัม ใน MCM 27.28 กรัม ใน WRD และ 24.73 กรัม ใน BD ส่วนในอาหารเหลวอีกสามชนิดเส้นใยไม่มีการเจริญเช่นเดียวกับชนิด *T. striatus* เมื่อเลี้ยงเส้นใยได้ 25 วัน ส่วนปริมาณเปปโตนที่เหมาะสมกับการเจริญของเส้นใยนี้ คือที่เปปโตนปริมาณ 1.0 กรัม/ลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับเปปโตนปริมาณอื่นๆ 0.0 1.5 2.0 และ 2.5 กรัม/ลิตร โดยน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเส้นใยต่อลิตร 22.5 กรัม ในเปปโตนปริมาณ 1.0 กรัม/ลิตร 21.61 กรัม ในเปปโตนปริมาณ 1.5 กรัม/ลิตร 20.12 กรัม ในเปปโตนปริมาณ 2.0 กรัม/ลิตร 19.54 กรัม ในเปปโตนปริมาณ 2.5 กรัม/ลิตร และ 14.96 กรัม ในเปปโตนปริมาณ 0.0 กรัม/ลิตร และสภาพการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อเส้นใยคือที่สภาพแบบนิ่ง เนื่องจากให้น้ำหนักแห้ง ของเส้นใยสูงเมื่อเทียบกับสภาพแบบกึ่งนิ่ง เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่า ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว PD ให้น้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเส้นใยเห็ด *T. globulus* สูงกว่าอาหารชนิดอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ส่วนของปริมาณเปปโตน 1.0 กรัม/ลิตร ให้น้ำหนักแห้งเฉลี่ย ของเส้นใยสูงกว่าปริมาณอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ และน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเส้นใยเห็ดใน ส่วนของสภาพการเพาะเลี้ยงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเช่นกัน (ภาคผนวก ค) นอกจากนี้เมื่อรวมวิเคราะห์ปัจจัยที่ใช้ทั้งหมดพบว่า เมื่อใช้ปัจจัยทั้งสามรวมกันไม่มีผลต่อน้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดชนิดนี้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 8) สำหรับอาหารที่เลือกใช้ในการทดลองต่อไปคือ CoD ที่ปริมาณเปปโตน 1.0 กรัม/ลิตร ในสภาพแบบนิ่ง เนื่องจากมีค่าเฉลี่ยของเส้นใยสูงสุดที่ 8.40 กรัม/ลิตร ดังภาพที่ 14

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 13 กราฟน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเส้นใยเห็ดโคน *T. striatus* ในชนิดของอาหาร ปริมาณเปปโตน และสภาพที่มีความเหมาะสม



ภาพที่ 14 กราฟน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเส้นใยเห็ดโคน *T. globulus* ในชนิดของอาหาร ปริมาณเปปโตน และสภาพที่มีความเหมาะสม

ตารางที่ 8 การวิเคราะห์น้ำหนักแห้งเส้นใยเห็ดโคนทั้งสองชนิดในปัจจัยต่างๆ ทางสถิติ

SOV	Df	ค่า MS ของสายพันธุ์เห็ดโคน	
		T. striatus	*T. globules*
treatment	79	6.97	23.76**
A	7	59.52**	235.09**
B	4	0.64^{ns}	10.76**
C	1	8.10**	40.94**
AB	28	1.19^{ns}	2.14**
AC	7	6.17**	10.05**
BC	4	0.76^{ns}	0.61^{ns}
ABC	28	1.57*	0.53^{ns}
Error	160	0.86	0.50

หมายเหตุ: A คือ ชนิดของอาหารทั้ง 8 สูตรที่ใช้ในการทดลองได้แก่

banana dextrose (BD) cassava dextrose (CaD)

corn dextrose (CoD) mushroom complete media (MCM)

potato dextrose (PD) papaya dextrose (PPD)

soybean dextrose (SD) white raddish dextrose (WRD)

B คือ ปริมาณของเปปโตนที่ใช้ในการทดลอง (กรัม/ ลิตร) ได้แก่

0.0 1.0 1.5 2.0 2.5

C คือ สภาพการเพาะเลี้ยงเส้นใย ได้แก่

แบบนิ่ง (stationary) แบบกึ่งนิ่ง (semi stationary)

* คือ significant ที่ระดับความเชื่อมั่น $\alpha = 0.05$

** คือ highly significant ที่ระดับความเชื่อมั่น $\alpha = 0.01$

ns คือ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (non significant)

5. ขยายส่วนการเลี้ยงเส้นใยเห็ดโคนทั้ง 2 ชนิด ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

เลี้ยงเส้นใยเห็ดโคนชนิด *T. striatus* ในอาหารเหลว WRD ที่มีการเติมเปปโตน 1.0 กรัม/ ลิตร เลี้ยงในสภาพแบบกึ่งนิ่ง และเส้นใยเห็ดโคนชนิด *T. globulus* ในอาหารเหลว CoD ที่มีการเติมเปปโตน 1.0 กรัม/ ลิตร เลี้ยงในสภาพแบบนิ่ง ที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นคือ 5.5 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เท่ากัน เพื่อศึกษาการสร้างเส้นใยในอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร ในถังเลี้ยงเชื้อขนาด 5 ลิตร เป็นเวลา 25 วัน จากการทดลองพบว่า เมื่อเลี้ยงเส้นใยไปจนครบเวลา ได้น้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเส้นใยเห็ดโคนทั้ง 2 ชนิด ต่อ 1 ลิตร *T. striatus* 5.75 กรัม/ลิตร ส่วน *T. globulus* 8.29 กรัม/ ลิตร ดังตารางที่ 9

การพัฒนาของเส้นใยเห็ดโคนทั้งสองชนิดพบว่า การเลี้ยงเส้นใยเห็ดโคน *T. striatus* ในถังเลี้ยงเชื้อในสภาพแบบกึ่งนิ่ง เส้นใยเจริญได้ทั้งผิวหน้า และมีลักษณะเกือบเป็น pellet กลมจมอยู่ในอาหาร ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่ถึง 1 เซนติเมตร เมื่ออายุ 25 วัน และขนาดไม่ใหญ่ขึ้น ส่วนลักษณะเส้นใยที่เจริญบนผิวหน้ามีลักษณะเป็นกระจุกบางส่วนคล้ายหนังย่นๆ ดังภาพที่ 15 ก และการเลี้ยงเส้นใยเห็ดโคน *T. globulus* ในถังเลี้ยงเชื้อในสภาพนิ่ง เส้นใยเห็ดโคนมีการเจริญรวมกันเป็นแผ่นบนผิวหน้าอาหารเหลวเมื่ออายุ 25 วัน มีลักษณะแบบหัวสมอง บางส่วนมีเส้นใยสีขาว มีการเจริญบางลงไปในอาหารด้วย ดังภาพที่ 15 ข

ตารางที่ 9 การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนทั้ง 2 ชนิด ในอาหารเหลว WRD ในสภาพแบบกึ่งนิ่งสำหรับ *T. striatus* และ CoD ในสภาพแบบนิ่งสำหรับ *T. globulus* ที่มีการเติมเปปโตนปริมาณ 1.0 กรัม/ ลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว 1 ลิตร ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

ชนิดเห็ด	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของเส้นใย* กรัม/ ลิตร
T. striatus	5.75 ± 1.45
T. globules	8.29 ± 0.42

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ยมาจาก 3 ซ้ำ

± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ของค่าเฉลี่ย

ก

ข

ภาพที่ 15 การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนในอาหารเหลวที่ต่างกันและในสภาพการเลี้ยงที่ต่างกัน (ก) เส้นใยเห็ดโคน *T. striatus* ในอาหารเหลว WRD สภาพแบบกึ่งนิ่ง (ข) เส้นใยเห็ดโคน *T. globulus* ในอาหารเหลว CoD สภาพแบบนิ่ง และในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมเปปโตนปริมาณ 1.0 กรัม/ลิตร

4.6 ศึกษาคุณค่าทางอาหารของเส้นใยเห็ดโคนทั้ง 2 ชนิด ที่ได้จากการขยายส่วนการเพาะเลี้ยงเส้นใย

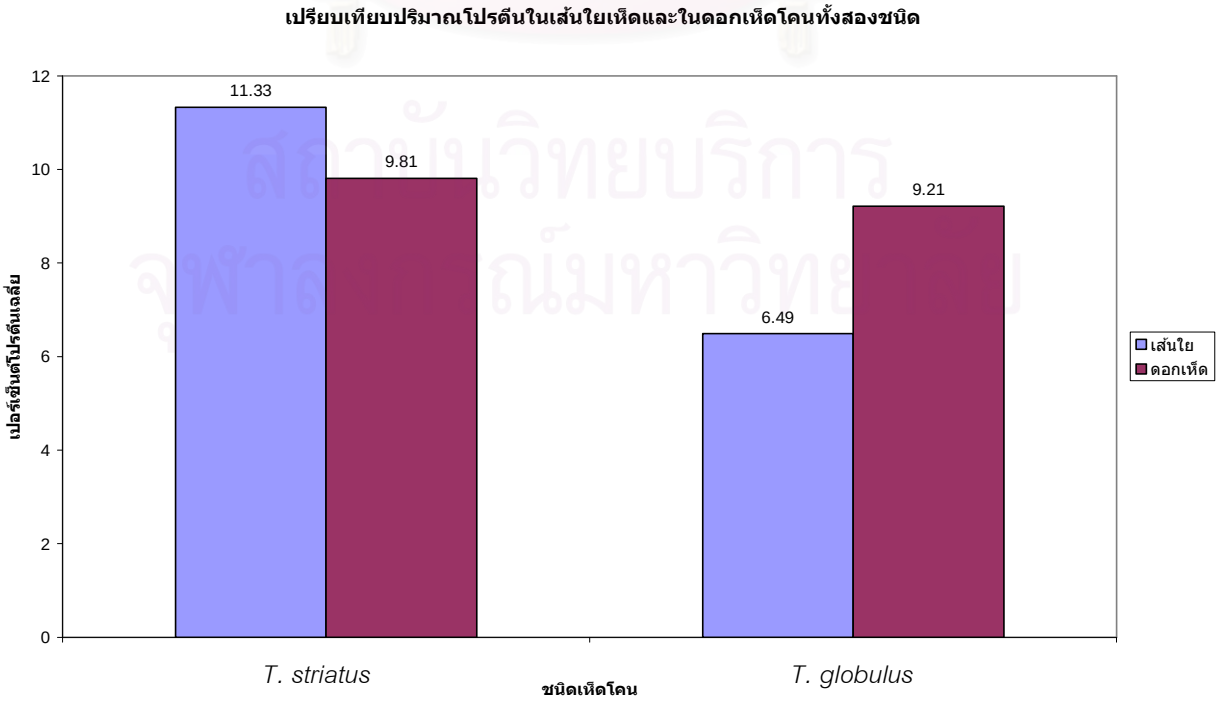
จากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ในเส้นใยเห็ดโคนเปรียบเทียบกับดอกเห็ดโคนแห้ง พบว่าโปรตีนในเส้นใยของเห็ดโคนชนิด *T. striatus* มีปริมาณสูงกว่าในดอกเห็ด โดยมีปริมาณโปรตีนในเส้นใย 11.33 เปอร์เซ็นต์ และดอกเห็ด 9.81 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่า เส้นใยเห็ดโคน *T. striatus* มีปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างกับโปรตีนในดอกเห็ด ส่วนโปรตีนในดอกเห็ด *T. globulus* กลับมีปริมาณของโปรตีนสูงกว่าในเส้นใย โดยมีปริมาณโปรตีน 9.21 เปอร์เซ็นต์ ในเส้นใย 6.49 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ปริมาณโปรตีนในดอกเห็ดกับในเส้นใย *T. globulus* ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 10 และภาพที่ 16

ตารางที่ 10 เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนในเส้นใยเห็ดโคนทั้งสองชนิด

ชนิดสายพันธุ์เห็ด	ตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์โปรตีน*
T. striatus	เส้นใย	11.33
	ดอกเห็ด	9.81
T. globulus	เส้นใย	6.49
	ดอกเห็ด	9.21

หมายเหตุ: * ค่าเฉลี่ยมาจาก 3 ซ้ำ

ภาพที่ 16 แผนภูมิเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนในเส้นใย และในดอกเห็ดโคนทั้งสองชนิด



บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

1. การรวบรวมชนิดเห็ดโคนและการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเห็ดโคน

การเก็บตัวอย่างชนิดเห็ดโคนที่เก็บจากจังหวัดนครปฐม และจังหวัดราชบุรี ที่เก็บในช่วงเดือนกันยายน – พฤษจิกายน ซึ่งเป็นช่วงปลายฤดูฝน ที่มีความชื้นสูง ซึ่งเห็นโคนที่เก็บได้นั้นมีความแตกต่างกันไม่มากนัก และเมื่อนำมาตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเห็ดทั้งสองจังหวัดนั้น เห็นโคนที่เก็บได้จากจังหวัดราชบุรีเป็นชนิด *Termitomyces striatus* (Beeli) R. Heim ส่วนที่เก็บได้จากจังหวัดนครปฐมเป็นชนิด *Termitomyces globulus* R. Heim & Gooss. – Font

2. การแยกเส้นใยจากดอกเห็ดเพื่อให้ได้เส้นใยเห็ดบริสุทธิ์

เนื่องจากเห็ดโคนที่เลือกมาทดลองเลือกดอกที่มีขนาดของ stipe ขนาดใหญ่ ทำให้การแยกเส้นใยมาเพาะเลี้ยงได้ดีกว่าดอกที่มีลักษณะ stipe เล็ก ซึ่งในระยะแรกที่แยกเส้นใยจากดอกเห็ดเพื่อทำให้เป็นเส้นใยบริสุทธิ์นั้นการเจริญของเส้นใยจะช้ามาก แต่เมื่อทำการขยายลงอาหารในครั้งต่อๆ มา พบว่าการเจริญของเส้นใยจะดีขึ้นเรื่อยๆ

3. ศึกษาการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนทั้ง 2 ชนิด ในอาหารเหลวชนิดต่างๆที่มีการเติมเปปโตนปริมาณต่างๆ กัน และอยู่ในสภาพแบบนิ่ง และแบบกึ่งนิ่ง

การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนทั้งสองชนิดในอาหารเหลวธรรมชาติชนิดต่างๆ ได้แก่ BD CaD CoD PD PPD SD และ WRD กับอาหารสูตร MCM ที่มีการเติมเปปโตนปริมาณต่างๆ กัน ได้แก่ 0.0 1.0 1.5 2.0 และ 2.5 กรัม/ลิตร แล้วทำการเลี้ยงในสองสภาพด้วยกันคือ แบบนิ่งและแบบกึ่งนิ่ง ที่ความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้น 5.5 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 วัน จากการทดลองพบว่า ชนิดของอาหารเลี้ยงเหลวที่เหมาะสมต่อการเจริญ ของเส้นใยเห็ดโคนชนิด *T. striatus* และชนิด *T. globulus* คือ WRD ในสภาพแบบกึ่งนิ่ง และ CoD ในสภาพแบบนิ่ง ตามลำดับ ที่ปริมาณเปปโตน 1.0 กรัม/ลิตร โดยได้น้ำหนักแห้งของเส้นใยเฉลี่ยสูงกว่าในภาวะอื่นๆ

4. การขยายส่วนการเลี้ยงเส้นใยเห็ดโคนทั้ง 2 ชนิด ในถังเลี้ยงเชื้อขนาด 5 ลิตร ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร

เมื่อทำการคัดเลือกภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเส้นใยเห็ดโคนทั้งสองชนิด และนำมาขยายส่วนการเลี้ยงเส้นใยในถังเลี้ยงเชื้อขนาด 5 ลิตร พบว่าการเจริญของเส้นใยของเห็ดโคนทั้งสองชนิดจริญได้ดีเช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

5. การศึกษาคุณค่าทางอาหารของเส้นใยเห็ดโคนทั้ง 2 ชนิด ที่ได้จากการขยายส่วนการเพาะเลี้ยงเส้นใย

ศึกษาคุณค่าทางอาหารของเส้นใยเห็ดทั้งสองชนิด เปรียบเทียบกับในดอกเห็ดโคนทั้งสองชนิด โดยการตรวจวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน พบว่าในเห็ดโคน *T. striatus* มีปริมาณโปรตีนสูงกว่าในดอกเห็ด ส่วนเห็ดโคน *T. globulus* ปริมาณโปรตีนในดอกเห็ดสูงกว่าในเส้นใย แต่เมื่อเปรียบเทียบสถิติไม่แตกต่างกันทั้งในเส้นใยและดอกเห็ด

จากการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดโคนในอาหารเหลวเพื่อศึกษาภาวะที่มีความเหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเส้นใย ทำให้ทราบว่าสามารถเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเส้นใยจากวัสดุการเกษตรที่หาง่ายเนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม เป็นการนำวัสดุการเกษตรที่มีอยู่มาเพิ่มปริมาณมวลชีวภาพของเส้นใยเห็ดที่มีข้อจำกัดทางการเจริญ ซึ่งจะเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการผลิตเส้นใยเห็ดโคนเพื่อเป็นอาหารต่อไป โดยอาศัยความรู้ทางเทคโนโลยีชีวภาพ มาประยุกต์ใช้อันจะนำไปสู่ความก้าวหน้าและประโยชน์ต่อไปในอนาคต

อภิปรายผลการวิจัย

1. การรวบรวมชนิดเห็ดโคน และการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเห็ดโคน

ผลจากการรวบรวมชนิดเห็ดโคนในขั้นตอนนี้ เป็นการเก็บเห็ดโคนในจังหวัด นครปฐม และราชบุรี และตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา เพื่อการจัดจำแนก มีดังนี้

การเก็บรวบรวมชนิดเห็ดโคนในจังหวัดนครปฐม และราชบุรีนั้น เก็บในช่วงเดือน กันยายน ถึงพฤศจิกายน เหตุที่เก็บในช่วงเวลานี้ เนื่องมาจากเป็นช่วงที่มีความชื้นของอากาศสูง อยู่ในหน้าฝน สลับกับอากาศที่ร้อนอบอ้าว ทำให้พบเห็ดโคนได้มาก ซึ่งสอดคล้องกับที่ ดีพร้อม ชัยวงศ์เกียรติ (2525) กล่าวว่า เห็ดโคนจะออกดอกมากในช่วงเดือนกันยายน ถึงตุลาคม บางครั้งอาจถึงเดือนพฤศจิกายน ที่สภาพธรรมชาติช่วงนี้เหมาะสมต่อการเจริญของเห็ดโคน เนื่องจากเป็นช่วงที่มีฝน

ตกลงมาปริมาณมาก แล้วมีอากาศร้อนติดต่อกัน 2 – 3 วัน แล้วมีฝนตกลงมาปริมาณมากอีก เป็นสภาพภูมิอากาศที่ช่วยกระตุ้นการออกดอกของเห็ดโคนเป็นอย่างดี

ส่วนการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของของเห็ดโคน ประกอบด้วย ลักษณะของหมวกดอก lamellae stipe pseudorhiza contex spore spore deposit basidia และ cystidia สัณฐานวิทยาของเห็ดโคนจังหวัดราชบุรี และนครปฐมนั้นมีความแตกต่างกัน โดยลักษณะต่างๆของเห็ดโคนจังหวัดราชบุรี มีความคล้ายกับเห็ดโคนชนิด *Termitomyces striatus* (Beeli) R. Heim ส่วนนครปฐมมีความคล้ายกับชนิด *Termitomyces globulus* R. Heim & Goss. – Font ซึ่งมีความสอดคล้องกับ key การจัดจำแนกชนิดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และรูปวาดเห็ดโคน ของ Pegler และ Vanhaecke (1994) นอกจากนี้การที่จะจัดจำแนกเห็ดโคนได้ดีนั้นควรมีลักษณะของดอกเห็ดที่มีความสมบูรณ์ ความถูกต้องในการจำแนกจะแม่นยำมากขึ้น

2. ศึกษาการเติบโตของเส้นใยเห็ดโคนทั้ง 2 ชนิด ในอาหารเหลวชนิดต่าง ๆ ที่เปปโตนปริมาณต่าง ๆ กัน และอยู่ในสภาพแบบนิ่ง และแบบกึ่งนิ่ง

2.1 สูตรอาหารที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนทั้งสองชนิด

การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนทั้งสองชนิดคือ *T. striatus* (TR) และ *T. globulus* (TN) ในอาหารเหลวเพื่อเพิ่มปริมาณเส้นใย พบว่า เส้นใยเห็ดโคน *T. striatus* และเส้นใยเห็ดโคน *T. globulus* (TN) เจริญเติบโตในอาหารเหลวน้ำต้ม หัวไชเท้า (WRD) และน้ำต้มมันฝรั่ง(PD) ตามลำดับ โดยได้น้ำหนักแห้งของเส้นใยสูงกว่าในอาหารเหลวอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาหารเหลว WRD และ PD ประกอบด้วย น้ำต้มหัวไชเท้า หรือน้ำต้มมันฝรั่ง ซึ่งมีแป้ง (starch) และน้ำตาลเดรกโตส ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนที่ดี ที่อยู่ในสภาพของ polysaccharide และ disaccharide ตามลำดับ เมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์จะกลายสภาพเป็น monosaccharide ที่สำคัญ คือ น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลชนิดอื่น ๆ ซึ่งเหมาะแก่การที่เส้นใยเห็ดจะดูดซึมเพื่อนาไปใช้ในการเจริญของเส้นใย (Khanna and Garcha, 1985)

สำหรับการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนในอาหารเหลว มีความสอดคล้องและแตกต่างกับผลการทดลองของ รัฐพล ศรประเสิรฐ (2536) ที่รายงานว่าทั้งเส้นใยเห็ดหอมและ เห็ดนางรม ในอาหารเหลว PD ให้น้ำหนักของเส้นใยสูงกว่าในอาหารอื่นๆ ซึ่งเป็นอาหารเหลวชุดเดียวกับการทดลองครั้งนี้ แตกต่างกันที่อาหารสังเคราะห์ที่ใช้ทดสอบ ในการทดลองกับเส้นใยเห็ดโคนนี้ใช้ mushroom complete media (MCM) ให้น้ำหนักแห้งสูงเป็นอันดับที่ 3 ในทั้งสองชนิด ในขณะที่อาหารสังเคราะห์ (SM) ไม่ส่งเสริมการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม จากการที่น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดโคนทั้งสองชนิด ในอาหารเหลวสูตรต่างๆ มีความแตกต่างกัน เนื่องจากการต้มหรือการสกัด

สารอาหารในวัสดุที่นำมาใช้ว่าที่ออกมาในอาหารเหลวนั้นอยู่ในโมเลกุลแบบใด ถ้าอยู่ในโมเลกุลที่เส้นใยเห็ดนำไปใช้ได้ หรือมีอยู่มาก จะช่วยส่งผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนทั้งสองได้แตกต่างกัน นอกจากนี้อาหารที่เห็ดโคนทั้งสองสายพันธุ์ไม่เจริญคือ SD PPD และ CaD อาจเกิดจากอาหารดังกล่าวไม่ส่งเสริมการเจริญ และมีการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนทั้งสองชนิด

2.2 ปริมาณเปปโตนที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนทั้งสองชนิด

ผลของการเติมเปปโตนปริมาณต่างๆกันในอาหารเหลว สำหรับการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนทั้งสองชนิด พบว่าเส้นใยเห็ดโคนทั่งสองชนิดสามารถเจริญได้ดีในอาหารที่มีการเติมเปปโตนปริมาณ 1.0 กรัมต่อลิตร โดยได้น้ำหนักแห้งของเส้นใยสูงกว่าในอาหารที่มีการเติมเปปโตน หรือไม่เติมเปปโตนเลย อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในชนิดเห็ดโคน *T. globulus* คือสามารถเติมเปปโตนแค่ 1.0 กรัมต่อลิตร ก็สามารถทำให้ได้น้ำหนัก แห้งของเส้นใยสูงได้ ไม่จำเป็นต้องใส่ปริมาณเปปโตนที่มากกว่านี้ในการเลี้ยงเส้นใยเห็ดโคนชนิดนี้นี้ เพราะปริมาณของเปปโตนที่มากกว่านี้ให้น้ำหนักแห้งน้อยกว่า และเป็นการสิ้นเปลือง แต่ ดีกว่าไม่ มีการเติมเปปโตนเลย ส่วนอีกชนิดหนึ่ง *T. striatus* น้ำหนักแห้งที่ได้ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อมีการเติมเปปโตนที่ต่างกัน ซึ่งมีความสอดคล้องกับการทดลองของ สอดคล้องกับงานวิจัยของ ออมสิน สัตยกุล (2540) ที่รายงานว่าน้ำหนักแห้ง เฉลี่ยของเส้นใยเห็ดโคนทั้ง 7 ชนิด จะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเปปโตนสูงขึ้น และเชื้อเห็ดโคนทุกชนิดมีการเจริญได้ดีที่สุดที่เปปโตนระดับความเข้มข้น 6 g/l ในอาหารเลี้ยงเชื้อ czapek dox agar (CDA) นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับ Pokhrel และ Ohga (2007) ที่แสดงให้เห็นว่าเปปโตนมีผลทำให้ น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหอมมากเป็นอันดับที่สองรองจากยีสต์สกัด

2.3 สภาพการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนทั้งสองชนิด

สภาพการเลี้ยงเส้นใยเห็ดมีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนทั้งสองชนิด พบว่าในสภาพการเลี้ยงเส้นใยเห็ดโคนแบบนิ่ง ให้น้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเส้นใยเห็ดโคนทั้งสองสูงกว่าสภาพการเลี้ยงเส้นใยแบบกึ่งนิ่ง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งไม่สอดคล้องกับการทดลองของรัฐพล ศรประเสริฐ (2536) ที่แสดงว่าสภาพการเลี้ยงเส้นใยเห็ดหอมและเห็ดนางรมแบบกึ่งนิ่งให้น้ำหนักแห้งของเส้นใยเฉลี่ยสูงกว่าแบบนิ่ง อาจเนื่องมาจากเส้นใยของเห็ดโคนนั้นจะขาดง่าย และเจริญได้ช้ากว่าเส้นใยเห็ดชนิดอื่นๆ หรือเป็นไปได้ว่าปริมาณของออกซิเจนที่เส้นใยเห็ดโคนต้องการนั้นต้องมีการหาความเหมาะสมของแต่ละชนิด เพื่อให้เส้นใยเจริญได้ดียิ่งขึ้นได้

และเมื่อวิเคราะห์รวมปัจจัยต่างๆ ทั้งชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ ปริมาณเปปโตน และสภาพการเพาะเลี้ยง พบว่ามีความแตกต่างกันของน้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดโคน *T. striatus* อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนในน้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดโคน *T. globulus* ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ภาวะที่มีความเหมาะสมของการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดโคนชนิด *T. striatus* คือ อาหาร WRD ที่ปริมาณเปปโตน 1.0 กรัมต่อลิตร ในสภาพแบบกึ่งนิ่ง ส่วนเส้นใยเห็ดโคนชนิด *T. globulus* คือ อาหาร CoD ที่ปริมาณเปปโตน 1.0 กรัมต่อลิตร ในสภาพแบบนิ่ง เหตุที่ได้ภาวะที่เหมาะสมของแต่ละชนิดดังนี้ เพราะในภาวะนี้ให้ค่าน้ำหนักแห้งของเส้นใยเฉลี่ยสูงกว่าในภาวะอื่น อาจเนื่องมาจากอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว ปริมาณเปปโตน และสภาพการเพาะเลี้ยง มีผลซึ่งกันและกันทำให้น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดโคนทั้งสองชนิดมีปริมาณมากที่สุดในภาวะดังกล่าว

3. ศึกษาการขยายขนาดการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดโคนทั้งสองชนิดในภาวะที่เหมาะสมที่ได้ทำการคัดเลือกแล้ว ในอาหารเหลวปริมาตร 1 ลิตร ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

จากการศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่ได้กล่าวมาแล้วทำให้ได้ปัจจัยที่มีความเหมาะสมเพื่อนำมาเป็นข้อมูล และศักยภาพในการขยายส่วนการเลี้ยงเส้นใยเห็ดโคนทั้งสองชนิด พบว่า การเลี้ยงเส้นใยเห็ดโคนในภาวะที่เหมาะสมของแต่ละชนิด สามารถได้น้ำหนักแห้งของเส้นใยเฉลี่ยได้ดีพอๆ กับในการเพาะเลี้ยงเพื่อหาภาวะทีเหมาะสมของแต่ละชนิด ทำให้มีความเป็นได้ที่จะขยายส่วนการเลี้ยงเส้นใยต่อไปในระดับอุตสาหกรรมมีความสอดคล้องกับ Bukhalo และ Solomko (1978) ว่าเลี้ยงเส้นใยเห็ดในขวดทดลองแล้วมีการขยายส่วนการเลี้ยงในถังเลี้ยงเชื้อ พบว่าจะทำให้ได้น้ำหนักแห้งของเส้นใยเพิ่มขึ้น

4. ศึกษาปริมาณโปรตีนที่ได้จากเส้นใยเห็ดโคนทั้งสองชนิด เทียบกับดอกเห็ดแห้งของแต่ละชนิด

การศึกษาคุณค่าทางอาหารของเส้นใยเห็ดเปรียบเทียบกับดอกเห็ดแห้ง โดยการนำเส้นใยและดอกเห็ดโคนทั้งสองสายพันธุ์แห้งมาบดเป็นผง แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ด้วยวิธี Bradford's protein assay พบว่าเส้นใยเห็ดโคน *T. striatus* มีปริมาณโปรตีนสูงกว่าในดอกเห็ด แต่ในขณะที่ดอกเห็ดโคน *T. globulus* มีโปรตีนสูงกว่าในเส้นใย แต่แตกต่างกันไม่มากนัก และเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าปริมาณโปรตีนในดอกเห็ดแห้งกับเส้นใยแห้ง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งสองชนิดเห็ดโคน ดังนั้นโอกาสที่จะนำเส้นใยเห็ดโคนมาเป็นอาหารสำหรับมนุษย์ เพื่อทดแทนกับการที่ต้องรอเก็บเกี่ยวตามฤดูกาลของเห็ดโคน น่าจะมีความเป็นไปได้สูงเนื่องจากโปรตีนไม่แตกต่างกันมากนัก โดยนำไปทำเป็นเส้นใยเห็ดแผ่นเพื่อการค้าต่อไป

ข้อเสนอแนะ

1. ควรพิจารณาวัสดุที่เหลือใช้จากโรงงาน เพื่อเตรียมเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ช่วยลดต้นทุนการผลิตเส้นใยเห็ด

2. ควรนำเส้นใยเห็ดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมาแปรรูป เพื่อเป็นส่วนประกอบของอาหาร หรือเป็นขนมขบเคี้ยว เห็ดแผ่น

3. ควรนำเส้นใยเห็ดโคนที่ได้ รวมถึงอาหารเหลวที่ใช้เพาะเลี้ยงเส้นใยมาสกัดหาสารที่มีคุณค่าทางอาหารและยาต่อไป

4. ปรับปรุงเรื่องการนำเส้นใยไปอบแห้งเพื่อให้ได้คุณภาพกลิ่นรสที่ดี

5. การเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดในถังเลี้ยงเชื้อนั้น ควรมีการปรับปรุงระบบควบคุมค่าความเป็นกรดเป็นด่าง อุณหภูมิ อัตราการให้อากาศ เทคนิคและวิธีการเก็บตัวอย่าง ขั้นตอนและวิธีการเขย่า และลดการปดเปื้อนจากเชื้ออื่นอีกด้วย

6. น่าจะมีการทดลองกับเส้นใยเห็ดโคนสายพันธุ์ต่างๆ ทุกสายพันธุ์เพื่อหาเส้นใยเห็ดที่ดีและคุณค่าทางอาหารสูงสุด

7. ควรจะมีเครื่องมือสำคัญในการวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารที่ครบครัน เพื่อการวิจัยที่ดียิ่งขึ้นต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

จำรูญศรี พุ่มเทียน. 2537. การวิเคราะห์เรสทริกชั่นแฟคเมนท์ดีเอ็นเอของสายใยเห็ดโคน (*Termitomyces* sp.) เห็ดฟาง (*Volvariella volvacae*) และเห็ดลูกผสมจากการรวมเซลล์. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ชัชฎาพร อินทำมา. 2538. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและไอโซไซม์ของเห็ดโคน *Termitomyces* spp. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ดีพร้อม ไชยวงศ์เกียรติ์. 2525. เพาะเห็ดและเห็ดบางชนิดในประเทศไทย. กรุงเทพมหานคร :

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ. 2541. จุลชีววิทยาทั่วไป. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย,

ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์ และกิตติพงษ์ ศิริวานิชกุล. 2538. เทคโนโลยีการเพาะเห็ด. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์รั้วเขียว,

ยงยุทธ์ สายฟ้า, สมศักดิ์ เสียงก้อง, ธำรงศักดิ์ อาจหาญ และไพบูลย์ นาคสุวรรณ. 2520. ศึกษาชีพจักร สัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และเซลล์วิทยาของเชื้อเห็ดโคน. รายงานผลการทดลองและวิจัย กรมวิชาการเกษตร ประจำปี 2520. กรุงเทพมหานคร: กรมวิชาการเกษตร.

รัฐพล ศรประเสริฐ. 2536. การเจริญของเส้นใยเห็ดหอม *Lentinula edodes* สายพันธุ์ MU2 และเห็ดนางรม *Pleurotus ostreatus* สายพันธุ์นางรม 1 ในอาหารเหลว. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สายรัก กวางแก้ว. 2545. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของเห็ดโคน *Termitomyces straitus* (Beeli) Heim. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุมาลี พิชญางกูร. 2547. เห็ดโคนและลูกผสมฟิวแสนท์. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก,

อนงค์ จันทร์ศรีกุล. 2520. เห็ดเมืองไทย. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช,

อนงค์ จันทร์ศรีกุล. 2541. เห็ดเมืองไทย. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช,

อนิวรรต เฉลิมพงษ์. 2541. การจำแนกชนิดพันธุ์เห็ดราขนาดใหญ่ในระบบนิเวศป่าไม้. กรุงเทพมหานคร : สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้,

อนุเทพ ภาสุระ. 2542. อาณาจักรเห็ดรา: ไฟลัมแบสิดิโอมัยคอต้า. กรุงเทพมหานคร,

อภิรัชต์ สมฤทธิ์, อัจฉรา พยัพพานนท์, ธารทิพย์ ภาสบุตร, อภิญญา สุราวุธ และบุญโชค ไทยทัตกุล. 2545. หนังสือเห็ดไทย 2544. กรุงเทพมหานคร : สมาคมนักวิจัยและเพาะเห็ดแห่งประเทศไทย,

ออมสิน สัตยกุล. 2540. ลักษณะและสรีรวิทยาของราที่แยกได้จากเห็ดโคน *Termitomyces* sp. ; วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อาภรณ์ บัวศรี. 2544. ความหลากหลายทางชีวภาพของเห็ดสกุล *Termitomyces* sp. ในภาคกลางบางจังหวัดของประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อุษา กลิ่นหอม, วินัย กลิ่นหอม และวรรณา กาญจนมยูร. 2545. เห็ดปลวก (*Termitomyces*) ในภาคอีสาน.

ภาษาอังกฤษ

Bae, J. T., Park, J. P., Song, C. H., Yu, C. B., Park, M. K., and Yun, J. W. 2001. Effect of carbon source on the mycelial growth and exo – biopolymer production by submerged culture of *Paecilomyces japonica*. Journal of Bioscience and bioengineering 91 : 522 - 524.

Batra, S. W. T., and Batra, L. R. 1967. The fungus gardens of insects. Scientific american 217 : 112 - 120.

Bels, P. J., and Pataragetvit, S. 1982. Edible mushroom in Thailand cultivated by termites. In Tropical Mushrooms Biological Nature and Cultivation Method edited by S. T. Chang and T. H. Quimio. The Chinese University Press, Hongkong : 445 - 460.

Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive for the quantitaion of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein – dye binding. Analytical Biochemistry 72 : 248 - 254.

Bukhalo, A. S., and Solomko, E. F. 1978. Submerged culture growth of *Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kumm. On complex media. Mushroom Science X (Part I) : 833 - 841.

Fang, Q., and Zhong, J. 2002. Two – stage culture process for improved production of ganoderic acid by liquid fermentation of higher fungus *Ganoderma lucidum*. Biotechnology Progress 18 : 51 - 54.

Friel, M. T., McLoughlin, A. J. 2000. Production of a liquid inoculum / spawn of Agaricus bisporus. Biotechnology Letters 22 : 351 - 354.

Fukushima, Y., Okada, K., Kawai, G., and Motai, H. 1993. Efficient production of mycelium of *Lentinus edodes* by a continuous culture and the effect of lignin on growth. Journal of Fermentation and Bioengineering 76 : 45 - 48.

Hadar, Y., and Arazi, E. C. 1986. Chemical composition of the edible mushroom *Pleurotus ostreatus* produced by fermentation. Applied Environmental Microbiology 51 : 1352 - 1354.

Heim R. 1977. *Termites et Champignons*. Société Nouvelle Des Éditions Boubée, Paris. 1–206.

Humfeld, H. and Sugihara, F. 1952. Mycologia 44 : 605 – 620.

Kim, S. W., Hwang, H. J., Park, J. P., Cho, Y. J., Song, C. H., and Yun, J. W. 2002. Mycelial growth and exo – biopolymer production by submerged culture of various edible mushroom under different media. Letters in Applied Microbiology 34 : 56 - 61.

Lee, B. C., Bae, J. T., Pyo, H. B., Choe, T. B., Kim, S. W., Hwang, H. J., and Yun, J. W. 2004. Submerged culture conditions for the production of mycelial biomass and exopolysaccharides by the edible Basidiomyces *Grifora frondosa*. Enzyme and Microbial Technology : 369 - 376.

Maziero, R., Cavazzoni, V., Bononi, V. L. R. 1999. Screening of basidiomyces for the production of exopolysaccharides and biomass in submerged culture. Revista de Microbiologia 30 : 77 - 84.

Park, J. P., Kim, S. W., Hwang, H. J., and Yun, J. W. 2001. Optimization of submerged culture conditions for the mycelial growth and exo – biopolymer production by *Cordyceps militaris*. Letters in Applied Microbiology 33 : 76 – 81.

Pegler, D. N., and Vanhaecke, M. 1994. Kew - Bulletin 49(4) : 717 - 736.

Pokhrel, C. P., and Ohga, S. 2007. Submerged culture conditions for mycelial yield and

polysaccharides production by Lyophyllum decastes. Food Chemistry 105 : 641 - 646.

Thomus, R. J. 1987. Distribution of Termitomyces and other fungi in the nests and major workers of several Nigerian Macrotermitinae. Soil Biological Biochem 19(3) : 335 - 350.

Wikipedia Foundation, Inc. Termitomyces. [online] Avaliable from: http://en. wikipedia. org/wiki/Termitomyces

Wu, J. Z., Cheunga, P. C. K., Wong, K., and Huang, N. 2003. Studies on submerged fermentation of *Pleurotus tuberregium* (Fr.) Singer. Part 1: physical and chemical factors affecting the rate of mycelial growth and bioconversion. Food Chemistry 81 : 389 - 393.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารเลี้ยงเส้นใยเห็ด

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. 1 อาหารธรรมชาติ (natural medias)

ใช้มันฝรั่ง มันสำปะหลัง ถั่วเหลืองสด ข้าวโพดสด หัวไชเท้า กล้วยน้ำว้า และมะละกอ อย่างละ 200 กรัม ผสมกับ Dextrose 20 กรัม และน้ำกลั่น 1 ลิตร

วิธีการเตรียมอาหารเหลว: ปอกเปลือกมันฝรั่ง และหั่นเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ ชั่งน้ำหนักตามความต้องการนำมาต้มด้วยไฟอ่อนๆ ใช้เวลานานประมาณ 15 นาที นับจากน้ำเดือด กรองเฉพาะน้ำต้ม เติม Dextrose ในอัตราส่วนที่กำหนดคนจนกระทั่งละลายหมด ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น ปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 5.5 ด้วย 0.1 N HCl หรือ 1 N NaOH (วัสดุอื่นทำเช่นเดียวกัน) ตวงอาหารเหลว 100 มิลลิลิตร ในขวดทดลอง 250 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

การนึ่งฆ่าเชื้อ: ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ด้วยเครื่อง autoclave

1. 2 อาหาร MCM หรือ Mushroom completes media

ตารางที่ 11 องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ MCM

Component		กรัม/ลิตร
Glucose		20
KH_2PO_4		0.46
K_2HPO_4		1
$MgSO_4.7\ H_2O$		0.5
Yeast extract		2
	0.0	0
	1.0	1 0
Peptone	1.5	1.5
	2.0	2.0
	2.5	2.5

ปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่าง = 5.5 ด้วย 0.1 N HCl หรือ 1 N NaOH

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่าง

2.1 การเตรียม 0.1 N / 0.1 M HCl

ดูด conc. HCl (35% w/w - 38% w/w HCl) 8.5 ml โดยใช้ volumetric pipet ถ่ายใส่ใน volumetric flask 1000 ml ที่มีน้ำอยู่แล้ว แล้วค่อยปรับปริมาตรจนครบ 1000 ml ด้วยน้ำกลั่น ซึ่งใช้น้ำเป็นตัวทาลัะลายได้เลย

8.5 X ml HCl ปรับปริมาตรจนครบ 1000 ml ด้วยน้ำ

X คือ N (Normal) ที่ต้องการเติม)

N คือ number of equivalents / 1 L solution

2.2 การเตรียม 1 N NaOH

NaOH 1 M = 1 N

ชั่ง NaOH มา 1 โมล มาใส่ในบีกเกอร์ แล้วเติมน้ำให้ครบ 1000 ml

NaOH มี n = 1 (Na^+, OH^-)

$$N = nM$$

นำมาเข้าสูตร

$$g / MW = CV / 1000$$

g คือ น้ำหนักสารที่เราต้องชั่ง

MW = 40

C = 1

V คือ ปริมาตรที่เราต้องการเตรียม

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนตามวิธีของ Bradford protein assay

การเตรียม BSA standard curve

1. เตรียม dye reagent โดยการเจือจาง dye reagent concentrate 1 ส่วน ในน้ำกลั่น 4 ส่วน แล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 ซึ่งหลังจากเตรียมสารนี้แล้วจะเก็บไว้ได้ 2 สัปดาห์ เมื่อเก็บที่อุณหภูมิห้อง

2. เตรียมเจือจางความเข้มข้นของโปรตีนมาตรฐาน bovine serum albumin (BSA) เพื่อใช้ในการสร้าง protein standard curve ที่เป็นกราฟเส้นตรง โดยใช้ความเข้มข้นที่เจือจาง 4 ระดับ คือ 0.0 0.2 0.4 0.6 และ 0.8 mg/ ml

ตารางที่ 12 การเตรียมสารเพื่อเป็น BSA standard curve

Standard	Protein concentration	BSA (µl)	**น้ำกลั่น** (µl)
BSA	0.0	0	1000
BSA	0.2	133	867
BSA	0.4	265	735
BSA	0.6	397	603
BSA	0.8	530	470

3. ไปเปตทั้ง standard และตัวอย่างที่จะทดสอบโปรตีน อย่างละ 100 µl ลงในหลอดทดลองที่สะอาด สารละลายโปรตีนโดยปกติควรทำ 2 – 3 ซ้ำ

4. เติม dilute dye reagent ปริมาตร 5 ml ลงในแต่ละหลอดทดลอง และ vortex

5. บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอย่างน้อย 5 นาที แต่ไม่ควรทิ้งไว้เกิน 1 ชั่วโมง

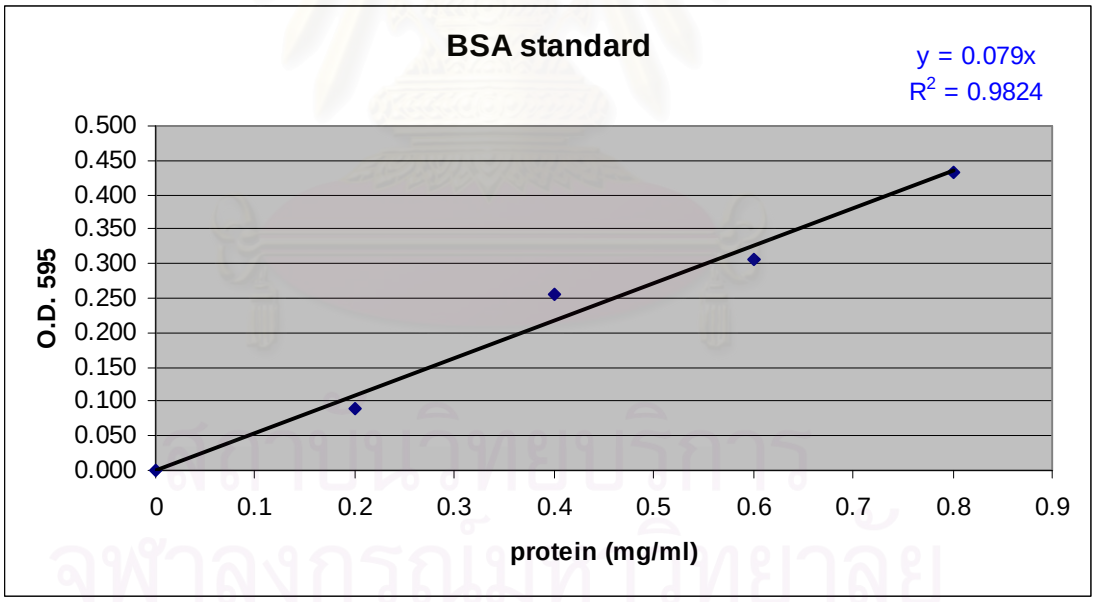
6. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 nm

ตารางที่ 13 การวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 nm ของBSA standard

protein concentration (mg/ml)	absorbance at 595 nm (1)	absorbance at 595 nm (2)	mean
0	0.000	0.000	0.000
0.2	0.086	0.094	0.090
0.4	0.226	0.284	0.255
0.6	0.302	0.313	0.308
0.8	0.424	0.443	0.434

จากนั้นนำค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงของ protein standard มาทำกราฟ เป็น protein standard curve เพื่อใช้ในการหาปริมาณโปรตีนในเส้นใย และดอกเห็ดแห้ง ซึ่งได้ดังกราฟโปรตีนมาตรฐานดังภาพต่อไปนี้

ภาพที่ 17 protein standard curve



จากนั้นนำตัวอย่างของดอกเห็ดแห้ง และเส้นใยแห้ง ที่ละลายเป็นสารละลายแล้ว ที่เตรียมได้จากข้อ 1.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงได้ดังต่อไปนี้

ตารางที่ 14 การวัดค่าการดูดกลืนแสง และเปอร์เซ็นต์โปรตีนที่มีในตัวอย่างที่ทดลอง

sample	OD1	OD2	mean	**ค่า X (ความเข้มข้น BSA, mg/ml)**	**% โปรตีน**
T1r1	0.131	0.142	0.137	1.728	17.28
T1r2	0.016	0.021	0.019	0.234	2.34
T2r1	0.086	0.079	0.083	1.044	10.44
T2r2	0.062	0.064	0.063	0.797	7.97
MT1r1	0.062	0.073	0.068	0.854	8.54
MT1r2	0.118	0.105	0.112	1.411	14.11
MT2r1	0.056	0.046	0.051	0.646	6.46
MT2r2	0.048	0.055	0.052	0.652	6.52

การวิเคราะห์ผล:

จากค่า absorbance ในตารางที่ 28 นำค่าเฉลี่ยของแต่ละตัวอย่าง ไปเทียบกับสมการมาตรฐานของกราฟมาตรฐาน

จาก $y = 0.079x$; y = ค่าการดูดกลืนแสง

X = ความเข้มข้น BSA (mg/ ml)

เมื่อหาค่า x ได้จากสมการข้างต้น จะได้ค่าความเข้มข้นของโปรตีน

จากนั้นนำค่าที่ได้มาหาปริมาณโปรตีนทั้งหมด โดยใช้สูตร

ปริมาณโปรตีนทั้งหมด = (ค่าโปรตีนที่ได้/ น้ำหนักแห้งของเส้นใยหรือดอกเห็ด)* 0.1 (g)

% โปรตีน = (ปริมาณโปรตีนทั้งหมด / น้ำหนักแห้งของเส้นใยหรือดอกเห็ด)*100

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยคอมพิวเตอร์ โดยใช้ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS version 15.0 ซึ่งมีลำดับขั้นตอนดังตัวอย่างต่อไปนี้

1. ป้อนข้อมูลเพื่อวิเคราะห์ทางสถิติเข้าเครื่องคอมพิวเตอร์
2. เลือกวิธีการวิเคราะห์ในที่นี้เลือกใช้แผนการทดลองเป็น completely randomized design (CRD)

ได้ผลการวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

ตารางที่ 15 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของน้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดโคนชนิด *Termitomyces striatus* (Beeli) Heim (TR)

SOV	Df	SS	MS	F	
Treatment	79	550.7	6.97	8.10	
A	7	416.7	59.52	69.19	**
B	4	2.54	0.64	0.74	ns
C	1	8.1	8.10	9.42	**
AB	28	33.41	1.19	1.39	ns
AC	7	43.16	6.17	7.17	**
BC	4	3.02	0.76	0.88	ns
ABC	28	43.82	1.57	1.82	*
Error	160	137.7	0.86		
Total	239	688.4			

หมายเหตุ: A คือ ชนิดของอาหารทั้ง 8 สูตรที่ใช้ในการทดลองได้แก่

banana dextrose (BD) cassava dextrose (CaD)

corn dextrose (CoD) mushroom complete media (MCM)

potato dextrose (PD) papaya dextrose (PPD)

soybean dextrose (SD) white raddish dextrose (WRD)

B คือ ปริมาณของเปปโตนที่ใช้ในการทดลอง (กรัม/ลิตร) ได้แก่

0.0 1.0 1.5 2.0 2.5

C คือ สภาพการเพาะเลี้ยงเส้นใย ได้แก่

แบบนิ่ง (stationary) แบบกึ่งนิ่ง (semi stationary)

* คือ significant ที่ระดับความเชื่อมั่น α = 0.01

** คือ highly significant ที่ระดับความเชื่อมั่น α = 0.01

ns คือ non significant

จากตารางพบว่า ชนิดของอาหารและสภาพการเพาะเลี้ยงที่ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (highly significant) ที่ระดับความเชื่อมั่น α = 0.01 และเมื่อนำมาวิเคราะห์ทีละคู่ของอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ LSD = 0.87 ได้ดังตารางต่อไปนี้

ตารางที่ 16 อันดับของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ให้น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดโคน *Termitomyces striatus* (Beeli) R. Heim เปรียบเทียบที่ LSD = 0.87

อันดับของอาหาร	ชนิดของอาหาร	น้ำหนักแห้งเส้นใย (กรัม/ลิตร)
1	white raddish dextrose	23.29
2	potato dextrose	15.78
3	mushroom complete media	11.08
4	corn dextrose	10.38
5	banana dextrose	7.32
6	cassava dextrose	0
7	papaya dextrose	0
8	soybean dextrose	0

อาหารทุกชนิดให้น้ำหนักแห้งของเส้นใยแตกต่างกัน อาหารอันดับที่ 6 – 8 ไม่นำมาวิเคราะห์ เนื่องจากไม่มีการเจริญของเส้นใย

ตารางที่ 17 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของน้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดโคนชนิด *Termitomyces globulus* R. Heim & Gooss. – Font

SOV	Df	SS	MS	F	
Treatment	79	1877.2	23.76	47.93	**
A	7	1645.6	235.09	474.21	**
B	4	43.05	10.76	21.71	**
C	1	40.94	40.94	82.58	**
AB	28	59.92	2.14	4.32	**
AC	7	70.32	10.05	20.26	**
BC	4	2.42	0.61	1.22	ns
ABC	28	14.93	0.53	1.08	ns
Error	160	79.32	0.50		
Total	239	1956.5			

หมายเหตุ: A คือ ชนิดของอาหารทั้ง 8 สูตรที่ใช้ในการทดลองได้แก่

banana dextrose (BD) cassava dextrose (CaD)

corn dextrose (CoD) mushroom complete media (MCM)

potato dextrose (PD) papaya dextrose (PPD)

soybean dextrose (SD) white raddish dextrose (WRD)

B คือ ปริมาณของเปปโตนที่ใช้ในการทดลอง (กรัม/ลิตร) ได้แก่

0.0 1.0 1.5 2.0 2.5

C คือ สภาพการเพาะเลี้ยงเส้นใย ได้แก่

แบบนิ่ง (stationary) แบบกึ่งนิ่ง (semi stationary)

* คือ significant ที่ระดับความเชื่อมั่น α = 0.01

** คือ highly significant ที่ระดับความเชื่อมั่น α = 0.01

ns คือ non significant

จากตารางพบว่า ชนิดของอาหาร ปริมาณเปปโตน และสภาพการเพาะเลี้ยงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (highly significant) ที่ระดับความเชื่อมั่น α = 0.01 และเมื่อนำมาวิเคราะห์ทีละคู่ของอาหารเลี้ยงเชื้อ และปริมาณเปปโตน ที่ LSD = 0.66 ได้ดังตารางต่อไปนี้

ตารางที่18 อันดับของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ให้น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดโคน *Termitomyces globulus* R. Heim & Gooss. – Font เปรียบเทียบที่ LSD = 0.66

อันดับของอาหาร	ชนิดของอาหาร	น้ำหนักแห้งเส้นใย (กรัม/ลิตร)
1	potato dextrose	37.50
2	corn dextrose	35.52
3	mushroom complete media	32.37
4	white raddish dextrose	27.28
5	banana dextrose	24.73
6	cassava dextrose	0
7	papaya dextrose	0
8	soybean dextrose	0

อาหารทุกชนิดให้น้ำหนักแห้งของเส้นใยแตกต่างกัน อาหารอันดับที่ 6 – 8 ไม่นำมาวิเคราะห์ เนื่องจากไม่มีการเจริญของเส้นใย

ตารางที่ 19 อันดับของปริมาณเปปโตน ที่ให้น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดโคน *Termitomyces globolus* R. Heim & Gooss. – Font เปรียบเทียบที่ LSD = 0.66

อันดับของปริมาณเปปโตน	ปริมาณเปปโตน (กรัม/ลิตร)	น้ำหนักแห้งเส้นใย (กรัม/ลิตร)
1	1.0	22.5a
2	1.5	21.61b
3	2.0	20.12c
4	2.5	19.54c
5	0.0	14.96d

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

จากตารางสรุปได้ว่า สามารถเติมเปปโตนแค่ 1.0 กรัม/ลิตร ก็สามารถทำให้ได้น้ำหนักแห้งของเส้นใยสูงได้ ไม่จำเป็นต้องใส่เปปโตนปริมาณมากกว่า 1.0 กรัม/ลิตร เพราะปริมาณเปปโตนที่

มากกว่านี้ให้ปริมาณเส้นใยน้อยกว่าปริมาณดังกล่าว แต่ดีกว่าไม่เติมเปปโตนเลย ส่วนปริมาณเปปโตน 2.0 กรัม/ลิตร และ 2.5 กรัม/ลิตร ให้น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดไม่แตกต่างกัน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายประกรรษวัต จันทร์ประไพ เกิดเมื่อวันที่ 1 เมษายน พ. ศ. 2524 จังหวัดสมุทรปราการ สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยาประยุกต์ จากสถาบันราชภัฏพระนครศรีอยุธยา ปี พ. ศ. 2546 และเข้าศึกษาต่อหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพฤกษศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2547 โดยได้รับทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์สำหรับนิสิต จากบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในระดับปริญญาตรีได้รับรางวัลนักศึกษาดีเด่นอันดับหนึ่งประจำปีการศึกษา 2544 และได้รับคัดเลือกเป็นตัวแทนสถาบันเข้าอบรมนักศึกษาที่มีผลการเรียนดีเด่น โครงการค่ายเพชรราชภัฏ ของสำนักงานสภาสถาบันราชภัฏ เมื่อปี พ. ศ. 2545

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย