รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. **ชุดโครงการวิจัย** : -

2. **โครงการวิจัย** : วิจัยและพัฒนาเห็ดไมตาเกะและเห็ดถั่งเช่าสีทอง

   กิจกรรม : เห็ดไมตาเกะ

3. **ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)** : ศึกษาลักษณะทางสรีรวิทยาและสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเกิดดอกเห็ดไมตาเกะ

   ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Physiological Characteristics and Optimal Formula of Cultivation Material Affecting Fruitification of *Grifola frondosa*

4. **คณะผู้ดำเนินงาน**

   หัวหน้าการทดลอง : นายกรกช จันทร สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

   ผู้ร่วมงาน : นายอนุสรณ์ วัฒนกุล สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

5. **บทคัดย่อ**

เห็ดไมตาเกะเป็นเห็ดที่รับประทานได้และนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายด้าน เป็นที่รู้จักกันแพร่หลายในทวีปเอเชีย จัดเป็นเห็ดที่มีมูลค่าสูงและในปัจจุบันมีการเพาะเห็ดชนิดนี้เป็นการค้าในหลายประเทศ หน่วยเก็บอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมเห็ด กรมวิชาการเกษตร เก็บรักษาเชื้อพันธุ์เห็ดไมตาเกะไว้จำนวน 3 สายพันธุ์ คือ Gf001 Gf002 และ Gf003 การเจริญของเส้นใยเชื้อเห็ดไมตาเกะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 6 ชนิด พบว่าเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ มีการเจริญของเส้นใยได้ดีที่สุดบนอาหาร PDA การศึกษาช่วงอุณหภูมิที่ต่างกัน 5 ระดับ ที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะ พบว่าการเจริญของเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ เจริญได้ดีที่สุดที่ช่วงอุณหภูมิ 24-27°c (อุณหภูมิห้อง) การเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งคาร์บอนแตกต่างกัน 7 ชนิด และแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน 6 ชนิด พบว่า เชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ เจริญได้ดีบนอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นองค์ประกอบหลายชนิดใกล้เคียงกัน ได้แก่ ฟรุคโตส แป้ง เดกซ์โตส กลูโคส และมัลโตส ในส่วนของแหล่งไนโตรเจน เชื้อเห็ดไมตาเกะ Gf001 และ

Gf002 มีการเจริญได้ดีบนอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบหลายชนิดใกล้เคียงกัน ในขณะที่ Gf003 เจริญได้ดีที่สุดบนอาหารที่มีแอมโมเนียมคลอไรด์เป็นองค์ประกอบ การเตรียมเชื้อขยายเห็ดไมตาเกะบนเมล็ดข้าวฟ่าง ที่ 15 วัน เชื้อเห็ดไมตาแกะทั้ง 3 สายพันธุ์เริ่มเจริญเต็มข้าวฟ่างฝั่งด้านที่เขี่ยเชื้อไมตาเกะลงเลี้ยง โดย Gf003 มีอัตราการเจริญของสูงกว่า Gf002 และ Gf001 เขย่าขวดเชื้อเห็ดไมตาเกะเพื่อช่วยให้เชื้อเห็ดเจริญเต็มขวด ที่ 27-30 วัน เชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ เจริญเต็มขวดพร้อมที่จะนำไปใช้ต่อไป การศึกษาสูตรอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเห็ดไมตาเกะ จำนวน 8 สูตร ในถุงเพาะขนาด 150 กรัม พบว่า เชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ มีอัตราการเจริญดีที่สุดบนอาหารสูตร 2 และสูตร 3 ตามลำดับ นำสูตรอาหารทั้ง 2 สูตร มาใช้เป็นวัสดุเพาะในการทดสอบการเพาะเลี้ยงเห็ดไมตาเกะเปรียบเทียบกับสูตรวัสดุเพาะเลี้ยงเห็ดปกติทั่วไป (สูตร 1) ในถุงเพาะขนาด 400 กรัม บ่มก้อนเชื้อเห็ดที่อุณหภูมิ 24-27°c ที่ 80-90 วัน Gf001 และ Gf002 เริ่มเจริญเต็มก้อนวัสดุเพาะสูตร 2 และ 3 เห็ดไมตาเกะ Gf003 ใช้เวลา 90-95 วัน จึงเจริญเต็มก้อนวัสดุเพาะสูตร 2 และ 3 ในขณะเชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ ใช้เวลามากกว่า 95 วัน เชื้อจึงเริ่มเจริญเต็มก้อนวัสดุเพาะสูตร 1 นำก้อนเชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ที่เส้นใยเจริญเต็มก้อนวัสดุเพาะ ไปกระตุ้นให้เกิดดอกภายในโรงเรือนควบคุมอุณหภูมิ ที่ 20°c ความชื้นสัมพัทธ์ 85% ให้ความชื้นโดยการฉีดน้ำแบบพ่นฝอยที่บริเวณผิวก้อนเชื้อ ช่วงเช้าและบ่ายของวันที่ 5-7 วัน เห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ บนวัสดุเพาะสูตร 2 และ 3 เริ่มมีการรวมตัวของเส้นใยหนาขึ้นบริเวณผิวหน้าก้อนเชื้อ และพัฒนาเป็นตุ่มดอกขนาดเล็กๆสีขาวครีมเกิดขึ้นจำนวนมาก เมื่อเวลาผ่านไปตุ่มดอกเห็ดไมตาเกะ Gf001 และ Gf002 ไม่มีการเจริญพัฒนาต่อและฝ่อไปในที่สุด ในขณะที่เห็ดไมตาเกะ Gf003 ตุ่มดอกเห็ดมีการเจริญพัฒนาเป็นดอกที่สมบูรณ์และสามารถเก็บผลผลิตได้ ที่ประมาณ 12-14 วัน ทั้งนี้เห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์บนวัสดุเพาะสูตร 1 เส้นใยมีการรวมตัวของหนาขึ้นบริเวณผิวหน้าก้อนเชื้อ มีสีขาวอมเหลืองถึงน้ำตาล แต่ไม่มีการพัฒนาสร้างตุ่มดอกเกิดขึ้น

6. คำนำ

มนุษย์นำเห็ดมาบริโภคเป็นอาหารกันมาอย่างยาวนาน ซึ่งเป็นที่รู้จักและใช้บริโภคกันในชีวิตประจำวัน เห็ดเป็นอาหารที่บริโภคง่าย มีรสชาติเฉพาะตัว หลายชนิดมีคุณค่าทางโภชนาการและมีผลดีต่อสุขภาพผู้บริโภค มีโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตสูง มีกรดอะมิโนจำเป็นมากมาย มีวิตามินที่เป็นประโยชน์หลายชนิด อีกทั้งยังไม่มีโคเลสเตอรอล นอกจากเห็ดจะมีคุณค่าทางโภชนาการที่หลากหลายแล้ว พบว่าเห็ดหลายชนิดมีประโยชน์ในเชิงสมุนไพร ที่มีสรรพคุณด้านต่างๆ เช่น การต่อต้านอนุมูลอิสระ การสร้างเสริมภูมิคุ้มกัน เป็นต้น (นิวัฒ, 2553) เห็ดเป็นสิ่งมีชีวิตที่จัดอยู่ในกลุ่มเชื้อราที่มีขนาดใหญ่ การดำรงชีวิตของเห็ดแบ่งออกได้เป็น 3 แบบ คือ Saprophytes เห็ดรากลุ่มนี้ทำหน้าที่เป็นผู้ย่อยสลายเศษ

ซากต่างๆในระบบนิเวศ ให้กลายเป็นธาตุอาหารลงสู่ดิน Parasites เห็ดรากลุ่มนี้ได้รับสารอาหารจากสิ่งมีชีวิตอื่นๆ เห็ดราที่ดำรงชีวิตแบบนี้อาจก่อให้เกิดโรคกับต้นพืชที่อาศัยร่วมอยู่ด้วย หรือทำให้ต้นพืชเจริญเติบโตได้ไม่ดีเท่าที่ควร และ Mycorrhiza เห็ดรากลุ่มนี้ดำรงชีวิตแบบพึ่งพาอาศัยกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น (symbiosis) การเป็นมายคอไรซาของเห็ดนั้นมีส่วนช่วยให้พืชอาศัยดูดธาตุอาหารได้มากขึ้น อีกทั้งช่วยป้องกันการเข้าทำลายจากเชื้อสาเหตุของโรคพืชด้วย (Smith and Read, 1997) เห็ดมีความสำคัญต่อมนุษย์อย่างมากทั้งในด้านการนำมาเป็นอาหาร ยา ตลอดจนด้านสิ่งแวดล้อม โดยมีบทบาทสำคัญต่อระบบนิเวศวิทยาเป็นตัวบ่งชี้ถึงความสมบูรณ์ของสภาพป่าไม้ ในอดีตมนุษย์รู้จักแต่การนำเห็ดมาปรุงหรือประกอบเป็นอาหารเท่านั้น แต่แท้จริงแล้วเห็ดยังสามารถนำมาใช้ในการรักษาโรค โดยนำมาเป็นยาอายุวัฒนะ บำรุงร่างกาย ตลอดจนใช้เป็นยาสมุนไพรในการบำบัดรักษาโรค ปัจจุบันมีการศึกษาและวิจัยทางด้านเห็ดมากขึ้น พบว่าเห็ดมีคุณประโยชน์ต่อสุขภาพสูง โดยสามารถสกัดสารที่มีประโยชน์จากเห็ดมาใช้ สามารถแบ่งกลุ่มของเห็ดตามการนำไปใช้ประโยชน์ได้ 2 กลุ่ม คือ

1. เห็ดใช้เป็นอาหาร (Dietary mushrooms) เป็นกลุ่มเห็ดที่นำมาใช้ในการประกอบอาหาร เนื่องจากหาได้ง่าย ราคาถูก มีรสชาติดี มีคุณค่าทางอาหารสูง ทางด้านโภชนาการพบว่าเห็ดมีสารอาหารค่อนข้างครบถ้วนสมบูรณ์ อุดมไปด้วยโปรตีน คาร์โบไฮเดรต เยื่อใย วิตามิน และมีปริมาณไขมันและแคลอรี่ต่ำ (Sadler, 2003; Bernas *et al*., 2006) ตลอดจนเป็นแหล่งรวมสารอาหารชนิดอื่นๆด้วย เช่น โปแตสเซียม ฟอสฟอรัส เหล็กและแมกนีเซียม รวมถึงวิตามิน B ชนิดต่างๆ วิตามิน C และ D (Sadler, 2003; Bernas *et al*., 2006)

2. เห็ดที่ใช้เป็นยาสมุนไพร (Medicinal mushrooms) เป็นกลุ่มเห็ดที่มีคุณสมบัติทางยาหรือเป็นสมุนไพร ในอดีตในประเทศจีน ญี่ปุ่น นิยมนำเห็ดมาใช้เป็นสมุนไพร เห็ดที่นิยมนำมาเป็นสมุนไพรกันอย่างแพร่หลาย คือ เห็ดหลินจือ (ศิริวรรณ และไมตรี, 2543) โดยนำมาเป็นยาอายุวัฒนะมีส่วนช่วยให้ผู้บริโภคมีอายุยืน ต่อมาแพร่หลายไปทางยุโรปและอเมริกา ในประเทศไทยนำเห็ดที่เจริญบนไม้ผุมาผสมเป็นยาใช้ในทางการแพทย์สมุนไพร เช่น เห็ดโคนซึ่งมีรสหวาน ใช้เป็นยาบำรุงกำลัง ช่วยในการย่อยอาหาร ละลายเสมหะ และลดการคลื่นไส้อาเจียน เห็ดแครง ใช้แก้อาการอ่อนเพลีย รักษาโรคของสตรี เห็ดตับเต่า แก้ไข้หวัด ลดอาการปวดในข้อ รักษาการตกขาว เป็นต้นเห็ดนับว่าเป็นแหล่งผลิตผลิตภัณฑ์ทางยาตัวใหม่ๆ สารที่สกัดจากเห็ดบางชนิดมีคุณสมบัติในการต่อต้านการเกิดเนื้องอก กระตุ้นภูมิคุ้มกัน มีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ลดโคลเลสเตอรอลในเลือด ต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ เห็ดหลายชนิดมีสาร polysaccharide เป็นองค์ประกอบในดอกเห็ด เส้นใย สารนี้ส่วนใหญ่มีโครงสร้างหลักของ glucan มีส่วนสำคัญที่เกี่ยวข้องกับความสามารถในการระงับการเจริญของมะเร็ง โดยกระตุ้นเซลล์ในระบบภูมิกันโดยเฉพาะ T- Cell เพื่อต่อต้านเซลล์มะเร็ง (Wasser, 2002) จากสรรพคุณทางยาต่างๆของเห็ด ทำให้

วงการแพทย์และเภสัชกรรมค้นหาเห็ดที่มีศักยภาพในการผลิตสารที่มีประโยชน์ เพื่อนำมาผลิตยาสำหรับรักษาโรคมะเร็งและระบบภูมิคุ้มกันต่าง ๆ ซึ่งยังไม่มียาชนิดใดรักษาได้ในปัจจุบัน

เห็ดไมตาเกะ (*Grifola frondosa* (Dicks.) Gray) ชื่อสามัญ Dancing mushroom (Mayuzumi and Mizuno, 1997; Stamets, 2000), Cloud mushroom, Hen of the woods (Stamets, 2000), หรือ Dancing butterfly mushroom (Hobbs, 1995; Yamanaka, 1997) จัดอยู่ในวงศ์ Meripilaceae ดอกเห็ดมีลักษณะเป็นดอกเดี่ยวบนก้านดอก ทรงดอกมีลักษะเฉพาะตัวคล้ายพัดหรือช้อนจำนวนมากซ้อนทับกัน โครงสร้างใต้ดอกเป็นรูพรุนสีขาว สีของดอกเห็ดแตกต่างกันไปตามช่วงการเจริญของเห็ด มีสีเทาเข้มอมน้ำตาลในดอกอ่อน และเปลี่ยนเป็นเทาอมน้ำตาลอ่อนในดอกที่เจริญเต็มที่ เนื้อในของดอกเห็ดสีขาวครีม เนื้อนิ่มและแน่น (Bon, 1987; Stott and Mohammed, 2004) เห็ดไมตาเกะมีถิ่นกำเนิดทางตะวันออกเฉียงเหนือของญี่ปุ่น ป่าไม้เขตอบอุ่นในจีนและยุโรป (Mizuno and Zhuang, 1995) ทางตะวันออกเฉียงเหนือและแอตแลนติคตอนกลางของอเมริกา (Stamets, 1993) ดำรงชีวิตแบบ Saprophytes ทำให้เกิดอาการ white rot และย่อยสลายไม้ที่ตายแล้ว มักพบบริเวณโคนต้นไม้จำพวกเต็งรัง

เห็ดไมตาเกะเป็นเห็ดที่สามารถรับประทานได้ตลอดจนนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายด้าน ซึ่งเป็นที่รู้จักกันแพร่หลายในทวีปเอเชีย เห็ดมีรสชาติอร่อย ดอกเห็ดมีเนื้อสัมผัสที่ดีมาก นิยมนำมาประกอบอาหารญี่ปุ่น จีนหรือตะวันตก (Mizuno and Zhuang, 1995) รวมถึงมีคุณค่าทางโภชนาการหลายประเภทอีกด้วย (Yamanaka, 1997) พบว่ามีโปรตีนประมาณ 27% ของน้ำหนักดอกแห้ง (Stamets, 1993) มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง อีกทั้งประกอบไปด้วยวิตามินบี 1 วิตามินบี 2 วิตามินซี วิตามินดีและไนอะซีน (niacin) รวมถึงธาตุอาหารต่างๆ เช่น แมกนีเซียม เหล็ก แคลเซียมและฟอสฟอรัส ในด้านสรรพคุณทางยาของเห็ดไมตาเกะ กล่าวกันว่าประเทศจีนมีการนำเห็ดชนิดนี้มาใช้ประโยชน์ทางยามายาวนานกว่า 2,000 ปีแล้ว (Shen, 2001) ซึ่งสรรพคุณทางยาในเห็ดไมตาเกะ เช่น สารต่อต้านอนุมูลอิสระ ต่อต้านมะเร็ง กระตุ้นภูมิคุ้มกันทั้งแบบชั่วคราวและแบบถาวร เป็นต้น (นิวัฒ, 2553) ลดความดันโลหิตลง (Mizuno and Zhuang, 1995; Kubo and Nanba, 1997) ลดโคลเลสเตอรอล (Kubo and Nanba, 1997) นอกจากการนำเห็ดไมตาเกะมาบริโภคแล้ว ปัจจุบันมีการนำเห็ดชนิดนี้มาศึกษาหาสารสำคัญเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ ปัจจุบันมีรายงานการพบสารกริโฟแลน (grifolan) และเบต้ากลูแคน (β-glucan) ในเห็ดชนิดนี้ โดยมีส่วนช่วยกระตุ้นเซลล์ในระบบภูมิกันเพื่อต่อต้านเซลล์มะเร็ง (Lin *et al*., 2004; Kodama *et, al*.,2002; Suzuki *et al*., 1987; Takeyama *et al*., 1987) มีส่วนช่วยต่อต้านเชื้อไวรัสเมื่อนำมาทดสอบกับผู้ป่วยที่ติดเชื้อ HIV (Nanba *et al*.,1999)

เห็ดไมตาเกะถือได้ว่าเป็นเห็ดที่มีมูลค่าสูง ราคาดอกเห็ดสดอยู่ที่ 40 ดอลลาร์ออสเตรเลีย (A$) ต่อกิโลกรัม (Mohammed, 1998) ในประเทศญี่ปุ่นส่งเห็ดไมตาเกะแห้งบรรจุแคปซูลจำหน่ายไปยังตลาดด้านยาในสหรัฐอเมริกา ราคาอยู่ที่ 200-280 ดอลลาร์ออสเตรเลียต่อ 100 กรัม (cited after Stott and Mohammed, 2004) ปัจจุบันมีการเพาะเห็ดชนิดนี้เป็นการค้าในหลายประเทศ เช่น ประเทศญี่ปุ่น จีน เกาหลี และสหรัฐอเมริกา มีการพัฒนาวิธีการและเทคโนโลยีอย่างต่อเนื่องจากในอดีต กระทั่งในปัจจุบันทำการเพาะในถุงพลาสติก โดยมีขี้เลื่อยไม้เป็นส่วนประกอบในวัสดุเพาะ (Stott and Mohammed, 2004) อย่างไรก็ตามพบว่าในประเทศไทยการเพาะเห็ดไมตาเกะยังไม่แพร่หลายหรืออาจไม่มีการเพาะเป็นการค้า อาจเนื่องด้วยเห็ดชนิดนี้เหมาะที่จะเพาะในสภาพอากาศเย็น ซึ่งไม่เหมาะกับสภาพอากาศโดยส่วนใหญ่ของประเทศไทยที่ร้อนชื้นถึงร้อน รวมถึงยังไม่มีการศึกษาหาเทคโนโลยีการเพาะที่เหมาะสม และถ่ายทอดสู่เกษตรกรผู้เพาะเห็ด จากการที่หน่วยเก็บอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมเห็ด กลุ่มวิจัยและพัฒนาเห็ด สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร ได้เก็บรักษาเชื้อพันธุ์เห็ดไมตาเกะไว้จำนวน 3 สายพันธุ์ งานการศึกษาข้อมูลทางด้านสรีระวิทยาในด้านต่างๆของเห็ดไมตาเกะ ทั้งความสามารถในการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อเห็ดบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ ความต้องการแหล่งไนโตรเจนและแหล่งคาร์บอน และช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อเห็ด ตลอดจนการศึกษาหาสูตรอาหารที่มีความเหมาะสมต่อการกระตุ้นให้เกิดดอกเห็ดไมตาเกะในเบื้องต้น จะเป็นข้อมูลที่มีความสำคัญที่จะนำไปสู่การวิจัยและพัฒนาหาวิธีการเพาะเห็ดไมตาเกะต่อไป

7. วิธีดำเนินการ

7.1 สายพันธุ์เห็ดไมตาเกะที่นำมาศึกษา

เห็ดไมตาเกะที่นำมาใช้ทดลองจำนวน 3 สายพันธุ์ ที่อนุรักษ์ไว้ในหน่วยเก็บอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมเห็ด กลุ่มวิจัยและพัฒนาเห็ด กรมวิชาการเกษตร เป็นสายพันธุ์ที่เพาะเป็นการค้าในประเทศญี่ปุ่น นำเชื้อเห็ดไมตาเกะที่เก็บรักษาไว้เลี้ยงบนอาหาร PDA (Potato Dextrose Agar) จนกระทั่งเส้นใยเชื้อเห็ดเจริญเต็มผิวหน้าอาหาร เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25°c เมื่อจะทำการทดลองจึงย้ายเส้นใยเชื้อเห็ดลงเลี้ยงในอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิห้อง (24-27 °c) เมื่อเชื้อเห็ดอายุได้ 7 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ตัดส่วนปลายเส้นใยเพื่อนำไปปลูกเชื้อ (inoculate) ลงบนอาหารวุ้นชนิดต่างๆ ที่ทำการทดสอบ

7.2 ศึกษาสูตรอาหารและอุณหภูมิที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดไมตาเกะ

7.2.1 อาหารวุ้น

วางแผนการทดลองแบบ CRD (complete randomized design) กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ (แต่ละซ้ำประกอบด้วย 4 จานเลี้ยงเชื้อ)

1. ศึกษาการเจริญของเส้นใยของเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์บนอาหารวุ้น 6 ชนิด ในจานเลี้ยงเชื้อเพื่อเปรียบเทียบการเจริญของเส้นใยเชื้อเห็ดในแนวระดับ (linear growth rate) สูตรอาหารที่ใช้ทดสอบมีดังนี้ คือ

1.1 PDA (มันฝรั่ง 200 กรัม, dextrose 20 กรัม) เป็น control

1.2 CMA (corn meal 20 กรัม)

1.3 GPA (glucose 10 กรัม, peptone 2.0 กรัม, KH_2PO_4 0.5 กรัม, $MgSO_4.7H_2O$ 0.5 กรัม)

1.4 MEA (malt extract 3 กรัม, yeast extract 2 กรัม, KH_2PO_4 0.5 กรัม, $MgSO_4.7H_2O$ 0.5 กรัม)

1.5 PDPYA (มันฝรั่ง 100 กรัม, dextrose 20 กรัม, peptone 2 กรัม, yeast extract 0.5 กรัม)

1.6 PMP (มันฝรั่ง 200 กรัม, dextrose 20 กรัม, malt extract 10 กรัม, peptone 1 กรัม)

ทุกสูตรอาหารเติมผงวุ้น 15 กรัม และน้ำปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน ที่อุณหภูมิ 121°c ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที

2. หลังจากปลูกเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ (24-27°c) วัดการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อเห็ด โดยวัดจากขนาดความกว้างของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี ที่อายุ 3, 5, 7, 9, 11, 13 และ 15 วัน ตามลำดับ และประเมินความหนาแน่นของเส้นใยโดยสายตา

7.2.2 อุณหภูมิ

วางแผนการทดลองแบบ RCBD (randomized complete block design) กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ (แต่ละซ้ำประกอบด้วย 4 จานเลี้ยงเชื้อ)

1. ศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อการเจริญของเลี้ยงเส้นใยเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ ที่ช่วงอุณหภูมิ 5 ระดับ เลี้ยงเชื้อเห็ดบนสูตรอาหาร PDA ใช้อาหารปริมาตร 25 มิลลิลิตรต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

2. บ่มเลี้ยงเชื้อไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 15°c, 20°c, 25°c, 30°c และอุณหภูมิห้อง

3. วัดการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อเห็ด โดยวัดจากขนาดความกว้างของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี ที่อายุ 3, 5, 7, 9, 11, 13 และ 15 วัน วัน ตามลำดับ และประเมินความหนาแน่นของเส้นใยโดยสายตา

7.3 ศึกษาการเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะบนอาหารที่มีแหล่งคาร์บอน และไนโตรเจนต่าง ๆ

7.3.1 แหล่งคาร์บอน

วางแผนการทดลองแบบ CRD กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ (แต่ละซ้ำประกอบด้วย 3 จานเลี้ยงเชื้อ)

1. ศึกษาการเจริญของเส้นใยของเห็ดไมตาเกะ 3 สายพันธุ์ บนอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน 7 ชนิด คือ กลูโคส (glucose), เซลลูโลส (cellulose), ซูโครส (sucrose), แป้ง (soluble starch), ฟรุคโตส (fructose), แมนโนส (mannose) และเดกซ์โตส (dextrose) อาหารทุกสูตรที่ทำการทดลองใช้จำนวน 25 มิลลิลิตรต่อจานเลี้ยงเชื้อ

2. บ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (24-27°c) วัดการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อที่อายุ 3, 5, 7, 9, 11, 13 และ 15 วัน ตามลำดับและประเมินความหนาแน่นของเส้นใยโดยสายตา

7.3.2. แหล่งไนโตรเจน

วางแผนการทดลองแบบ CRD กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ (แต่ละซ้ำประกอบด้วย 3 จานเลี้ยงเชื้อ)

1. ศึกษาการเจริญของเส้นใยของเห็ดไมตาเกะ 3 สายพันธุ์ บนอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน 6 ชนิด คือ เปปโตน (peptone), โปรแตสเซียมไนเตรต (KNO_3), ยูเรีย (urea), แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl), แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) และแอมโมเนียมไนเตรต (NH_4NO_3) อาหารทุกสูตรที่ทำการทดลองใช้จำนวน 25 มิลลิลิตรต่อจานเลี้ยงเชื้อ

2. บ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (24-27°c) วัดการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อที่อายุ 3, 5, 7, 9, 11, 13 และ 15 วัน ตามลำดับและประเมินความหนาแน่นของเส้นใยโดยสายตา

7.4 ศึกษาการเตรียมหัวเชื้อเห็ดไมตาเกะบนข้าวฟ่าง

วางแผนการทดลองแบบ CRD กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ (แต่ละซ้ำประกอบด้วย 3 ขวดหัวเชื้อ)

1. ตัดเส้นใยเชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ Gf001 Gf002 และ Gf003 จากอาหาร PDA ลงในเมล็ดข้าวฟ่างต้มสุกที่บรรจุในขวดแก้วทนร้อน ปริมาณ 100 กรัม ซึ่งผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

2. นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง (24-27°c)

3. หลังจากปลูกเชื้อแล้วประมาณ 7 วัน เริ่มวัดขนาดความกว้างของโคโลนี และประเมินความหนาแน่นของเส้นใยโดยสายตา หลังจากนั้นเก็บข้อมูลทุก 2 วัน เป็นเวลา 15 วัน เปรียบเทียบอัตราการเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะแต่ละสายพันธุ์

4. เส้นใยเห็ดไมตาเกะที่เจริญคลุมเมล็ดข้าวฟ่างเต็มขวดแล้ว นำไปใช้เป็นหัวเชื้อทดลองต่อไป

7.5 ศึกษาการเจริญของเส้นใยบนสูตรวัสดุเพาะต่างๆ

วางแผนการทดลองแบบ CRD กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ (แต่ละซ้ำประกอบด้วย 3 ถุงวัสดุเพาะ)

1. สูตรวัสดุเพาะที่มีผลต่อการเจริญของเลี้ยงเส้นใยเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ สูตรวัสดุเพาะ 8 สูตร ที่ใช้ทดสอบมีดังนี้ คือ

สูตรที่ 1 ขี้เลื่อยไม้ยางพารา : รำละเอียด : ปูนขาว : ดีเกลือ (100 : 5 : 1 : 0.2 โดยน้ำหนัก) เป็น Control

สูตรที่ 2 ขี้เลื่อยไม้ยางพารา : รำละเอียด : ปูนขาว : ดีเกลือ (100 : 10 : 1: 0.2 โดยน้ำหนัก)

สูตรที่ 3 ขี้เลื่อยไม้ยางพารา : รำละเอียด : ซังข้าวโพดบด : ปูนขาว : ดีเกลือ (100 : 5 : 5 : 1 : 0.2 โดยน้ำหนัก)

สูตรที่ 4 ขี้เลื่อยไม้ยางพารา : รำละเอียด : ซังข้าวโพดบด : ปูนขาว : ดีเกลือ (100 : 5 : 10 : 1 : 0.2 โดยน้ำหนัก)

สูตรที่ 5 ขี้เลื่อยไม้เบญจพรรณ : รำละเอียด : ปูนขาว : ดีเกลือ (100 : 5 : 1 : 0.2 โดยน้ำหนัก)

สูตรที่ 6 ขี้เลื่อยไม้เบญจพรรณ : รำละเอียด : ปูนขาว : ดีเกลือ (100 : 10 : 1: 0.2 โดยน้ำหนัก)

สูตรที่ 7 ขี้เลื่อยไม้เบญจพรรณ : รำละเอียด : ซังข้าวโพดบด : ปูนขาว : ดีเกลือ (100 : 5 : 5 : 1 : 0.2 โดยน้ำหนัก)

สูตรที่ 8 ขี้เลื่อยไม้เบญจพรรณ : รำละเอียด : ซังข้าวโพดบด : ปูนขาว : ดีเกลือ (100 : 5 : 10 : 1 : 0.2 โดยน้ำหนัก)

2. ผสมวัสดุเพาะตามสูตรข้างต้น ปรับให้ได้ความชื้น 60-65% บรรจุวัสดุเพาะ 150 กรัม ลงในถุงพลาสติกทนร้อน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121°c เป็นเวลา 3 ชม. ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นจึงเขี่ยเชื้อเห็ดไมตาเกะที่เลี้ยงบนเมล็ดข้าวฟ่างลงไปในวัสดุเพาะ

3. บ่มเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิห้อง (24-27°c) หลังจากบ่มเชื้อ 15 วัน วัดการเจริญเส้นใยบนวัสดุเพาะทุกๆ 5 วัน จนกระทั่งเส้นใยเจริญเต็มวัสดุเพาะ และประเมินความหนาแน่นของเส้นใยโดยสายตาและเปรียบเทียบระยะเวลาที่เชื้อเห็ดเจริญเต็มวัสดุเพาะ

7.6 ศึกษาการเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะ 3 สายพันธุ์ บนวัสดุเพาะที่เหมาะสมในถุงพลาสติกอย่างน้อย 2 สูตร

วางแผนการทดลองแบบ 3x3 factorial in CRD ปัจจัยแรกคือ เชื้อเห็ดไมตาเกะ 3 สายพันธุ์ และปัจจัยที่สอง คือ สูตรวัสดุเพาะ 3 สูตร โดยแต่ละกรรมวิธีประกอบด้วย 4 ซ้ำ (แต่ละซ้ำประกอบด้วยก้อนเชื้อเห็ด 20 ก้อน)

1. สูตรวัสดุเพาะที่มีผลต่อการเจริญของเลี้ยงเส้นใยเห็ดไมตาเกะดีที่สุดอย่างน้อย 2 สูตร จากกการทดลองที่ 7.5

สูตรที่ 1 ขี้เลื่อยไม้ยางพารา : รำละเอียด : ปูนขาว : ดีเกลือ (100 : 5 : 1 : 0.2 โดยน้ำหนัก) เป็น Control

สูตรที่ 2 ขี้เลื่อยไม้ยางพารา : รำละเอียด : ปูนขาว : ดีเกลือ (100 : 10 : 1 : 0.2 โดยน้ำหนัก)

สูตรที่ 3 ขี้เลื่อยไม้ยางพารา : รำละเอียด : ซังข้าวโพดบด : ปูนขาว : ดีเกลือ (100 : 5 : 5 : 1 : 0.2 โดยน้ำหนัก)

2. ผสมวัสดุเพาะตามสูตรข้างต้น บรรจุวัสดุเพาะ 400 กรัม ปรับให้ได้ความชื้น 60-65% อัดวัสดุให้แน่นพอสมควร ใส่คอพลาสติกและอุดด้วยจุกสำลี นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121°c เป็นเวลา 3 ชม. ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นจึงเขี่ยเชื้อเห็ดที่เลี้ยงไว้ในเมล็ดข้าวฟ่างลงไป 1 ช้อนต่อถุง

3. บ่มเลี้ยงไว้ที่ช่วงอุณหภูมิห้อง (24-27°c) หลังจากบ่มเชื้อ 15 วัน วัดการเจริญเส้นใยบนวัสดุเพาะทุกๆ 5 วัน จนกระทั่งเส้นใยเจริญเต็มวัสดุเพาะ เปรียบเทียบระยะเวลาที่เชื้อเห็ดเจริญเต็มวัสดุเพาะ

7.7 ศึกษาการทำให้เกิดดอกเห็ดไมตาเกะบนวัสดุเพาะในถุงพลาสติก

1. ก้อนวัสดุเพาะจากการทดลองที่ 7.6 หลังจากบ่มเชื้อจนเจริญเต็มก้อนวัสดุเพาะ ทิ้งไว้ให้เส้นใยแก่ (ประมาณ 1-2 สัปดาห์) นำไปเปิดถุงให้ออกดอก เปิดถุงดึงจุกสำลีออก พับปากถุงลงมาให้อยู่เหนือวัสดุเพาะประมาณ 2-3 เซนติเมตร

2. นำไปเปิดดอกที่โรงเรือนควบคุมอุณหภูมิ ที่ช่วงอุณหภูมิ 18-20°c ความชื้นสัมพัทธ์ 85-90% รอจนกระทั่งเห็ดออกดอก เปรียบเทียบผลผลิต และลักษณะดอกเห็ดของแต่ละสายพันธุ์

คำนวณหา B.E.โดยใช้สูตร

$$B.E.\ (\%) = \frac{\text{น้ำหนักเห็ดสดที่ได้รับ}}{\text{น้ำหนักวัสดุแห้งที่ใช้เพาะ}} \times 100$$

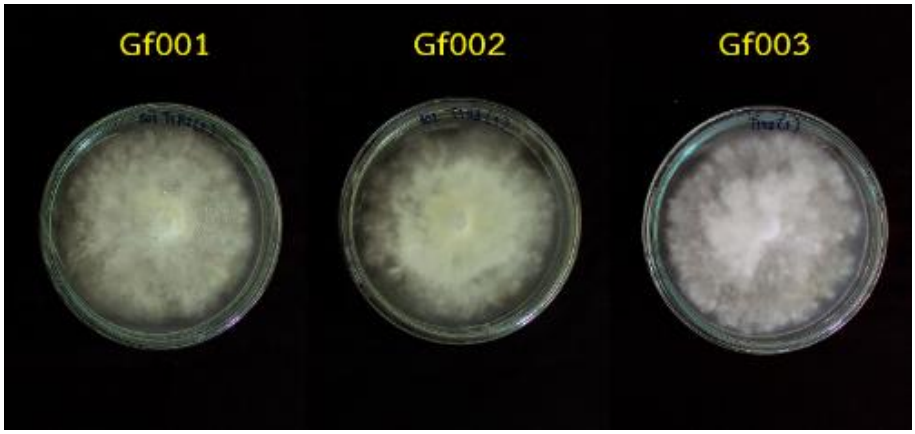
สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

กลุ่มวิจัยและพัฒนาเห็ด สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

8.1 สายพันธุ์เห็ดไมตาเกะที่นำมาศึกษา

เห็ดไมตาเกะที่นำมาใช้ทดลองจำนวน 3 สายพันธุ์ เป็นสายพันธุ์ที่เพาะเป็นการค้าในประเทศญี่ปุ่น ซึ่งเก็บรักษาไว้ในหน่วยเก็บอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมเห็ด กลุ่มวิจัยและพัฒนาเห็ด กรมวิชาการเกษตร โดยให้รหัสเชื้อเห็ดเป็น Gf001 Gf002 และ Gf003 ซึ่งทั้ง 3 สายพันธุ์ มีลักษณะเส้นใยสีขาว ฟูเล็กน้อย การเจริญของเส้นใยค่อนข้างหนาแน่นถึงหนาแน่นมากบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 ลักษณะเชื้อเห็ดไมตาเกะ 3 สายพันธุ์ที่นำมาศึกษา บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

8.2 สูตรอาหารและอุณหภูมิที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดไมตาเกะ

8.2.1 อาหารวุ้น

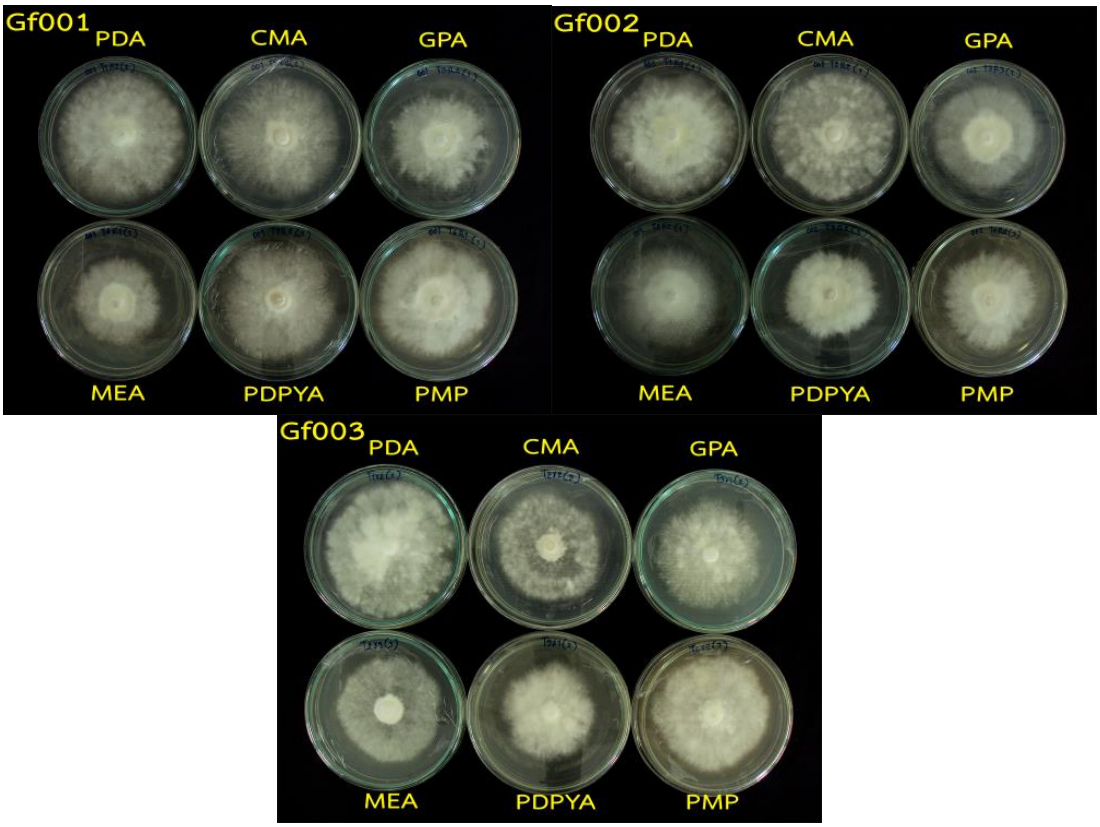
ผลการศึกษาชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ 6 ชนิด ได้แก่ PDA (control), CMA, GPA, MEA, PDPYA และ PMP ที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดไมตาเกะ โดยบ่มเลี้ยงเส้นใยที่อุณหภูมิ 24-27°c เป็นเวลา 15 วัน พบว่า เห็ดไมตาเกะ Gf001 Gf002 และ Gf003 มีอัตราการเจริญของเส้นใยได้ดีที่สุดบนอาหาร PDA (8.25 8.30 และ 8.89 เซนติเมตร ตามลำดับ) โดยลักษณะของเส้นใยของเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ เจริญค่อนข้างหนาแน่นถึงหนาแน่นมากบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ในขณะที่เห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์มีการเจริญของเส้นใยในอัตราที่ช้าบนอาหาร MEA (6.10 6.65 และ 7.43 เซนติเมตร ตามลำดับ) โดยลักษณะของเส้นใยของเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ เจริญหนาแน่นปานกลางถึงค่อนข้างหนาแน่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ แสดงในตารางที่ 1 (ภาพที่ 2)

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะ 3 สายพันธุ์ อายุ 15 วัน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 6 ชนิด ที่อุณหภูมิห้อง (24-27°c)

อาหารเลี้ยงเชื้อ	**ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (ซม.)** [1/]			**ความหนาแน่นของเส้นใย**[2/]		
	Gf001	Gf002	Gf003	Gf001	Gf002	Gf003
PDA (control)	8.52a	8.30a	8.89a	+++	++++	++++
CMA	7.73b	8.31a	7.69c	+++	+++	+++
GPA	6.90c	6.82c	8.07b	+++	++	+++
MEA	6.10d	6.65c	7.43c	+++	++	+++
PDPYA	7.89ab	7.02bc	7.73c	+++	+++	+++
PMP	7.62b	7.51b	8.13b	++++	+++	++++
CV	5.8%	5.0%	2.6%			

[1/]ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Duncan’s New Multiple Range Test

[2/]++++ เส้นใยเจริญหนาแน่นมาก +++ เส้นใยเจริญค่อนข้างหนาแน่น ++ เส้นใยเจริญหนาแน่นปานกลาง + เส้นใยเจริญหนาแน่นน้อย



ภาพที่ 2 การเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะ 3 สายพันธุ์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 6 ชนิด

8.2.2 อุณหภูมิ

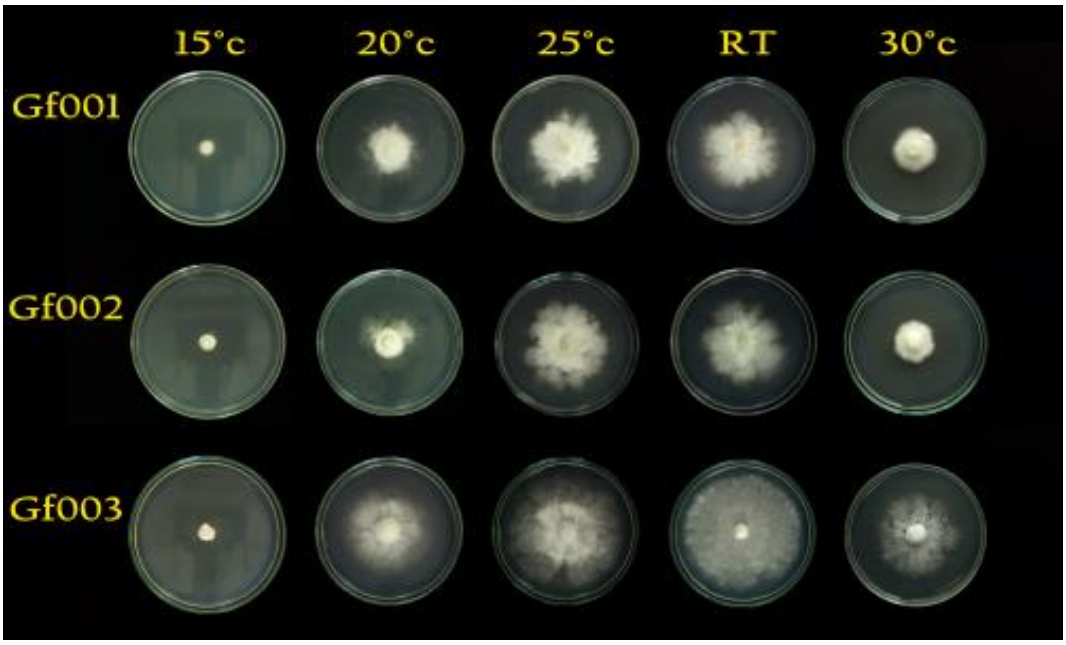
การเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะ 3 สายพันธุ์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ช่วงอุณหภูมิต่างกัน 5 ระดับ ได้แก่ 15°c, 20°c, 25°c, 30°c และอุณหภูมิห้อง (24-27°c) โดยที่ระยะเวลาบ่มเชื้อ 15 วัน พบว่า เชื้อเห็ดไมตาเกะทุกสายพันธุ์เจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิห้อง (24-27°c) โดยเห็ดไมตาเกะ Gf001 และ Gf002 (6.68 และ 6.96 เซนติเมตร) มีลักษณะการเจริญของเส้นใยค่อนข้างหนาแน่น ในขณะที่ Gf003 (8.19 เซนติเมตร) มีลักษณะการเจริญของเส้นใยหนาแน่นปานกลาง ทั้งนี้ที่ช่วงอุณหภูมิ 25°c เชื้อเห็ดไมตาเกะ Gf001 และ Gf003 มีอัตราการเจริญได้ดีใกล้เคียงกับที่อุณหภูมิห้อง (6.44 และ 8.09 เซนติเมตร) ในขณะที่ช่วงอุณหภูมิ 15°c เชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์มีอัตราการเจริญที่ต่ำที่สุด (2.03, 1.98 และ 2.99 เซนติเมตร) แสดงในตารางที่ 2 (ภาพที่ 3)

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะ 3 สายพันธุ์ อายุ 15 วัน ที่ช่วงอุณหภูมิต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

อุณหภูมิ (°c)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเห็ดไมตาเกะ (ซม.) [1/]			ความหนาแน่นของเส้นใย[2/]		
	Gf001	Gf002	Gf003	Gf001	Gf002	Gf003
15	2.03d	1.98e	2.99d	+	+	+
20	5.36b	4.79c	6.88b	++	++	++
25	6.44a	6.60b	8.09a	+++	+++	+++
RT	6.68a	6.96a	8.19a	+++	+++	++
30	2.97c	3.14d	6.43c	++	++	++
CV	6.0%	4.0%	4.6%			

[1/]ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Duncan’s New Multiple Range Test

[2/]++++ เส้นใยเจริญหนาแน่นมาก +++ เส้นใยเจริญค่อนข้างหนาแน่น ++ เส้นใยเจริญหนาแน่นปานกลาง + เส้นใยเจริญหนาแน่นน้อย



ภาพที่ 3 การเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะ 3 สายพันธุ์ ที่ช่วงอุณหภูมิต่างๆบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

8.3 การเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะบนอาหารที่มีแหล่งคาร์บอน และไนโตรเจนต่างๆ

8.3.1 แหล่งคาร์บอน

การเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะ 3 สายพันธุ์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน 7 ชนิด พบว่า เชื้อเห็ดไมตาเกะ Gf001 เจริญได้ดีบนอาหารที่มีแหล่งคาร์บอน ฟรุคโตส แป้ง กลูโคส เดกซ์โตส และมัลโตส ตามลำดับ (7.41, 7.31, 6.82, 6.68 และ 6.58 เซนติเมตร) เห็ดไมตาเกะ Gf002 เจริญได้ดีบนอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนแป้งและฟรุคโตส (7.30 และ 7.25 เซนติเมตร) และเชื้อเห็ดไมตาเกะ Gf003 เจริญได้ดีบนอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนฟรุคโตส แป้ง เดกซ์โตส มัลโตส กลูโคสและเซลลูโลส ตามลำดับ (7.69, 7.49, 7.28, 7.20, 6.82 และ 6.65 เซนติเมตร) ในขณะที่เชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ เจริญได้น้อยที่สุดบนอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนซูโครส (4.65, 3.761 และ 4.81 เซนติเมตร) โดยเชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ มีลักษณะการเจริญของเส้นใยหนาแน่นน้อยถึงปานกลางบนอาหารเชื้อที่มีแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน 7 ชนิด แสดงในตารางที่ 3 (ภาพที่ 4)

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะ 3 สายพันธุ์ อายุ 15 วัน บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน 7 ชนิด

แหล่งคาร์บอน	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเห็ดไมตาเกะ (ซม.) [1/]			ความหนาแน่นของเส้นใย[2/]		
	Gf001	Gf002	Gf003	Gf001	Gf002	Gf003
เดกซ์โตส	6.68a	6.89ab	7.28a	+	+	+
กลูโคส	6.82a	6.69ab	6.82a	++	+	+
เซลลูโลส	6.13ab	6.18b	6.65a	++	++	+
ซูโครส	4.65b	3.76c	4.81b	+	+	+
แป้ง	7.31a	7.30a	7.49a	++	++	++
ฟรุคโตส	7.41a	7.25a	7.69a	+	+	+
มัลโตส	6.58a	6.46ab	7.20a	+	+	+
CV	16.0%	9.3%	17.3%			

[1/]ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Duncan’s New Multiple Range Test

[2/]++++ เส้นใยเจริญหนาแน่นมาก +++ เส้นใยเจริญค่อนข้างหนาแน่น ++ เส้นใยเจริญหนาแน่นปานกลาง + เส้นใยเจริญหนาแน่นน้อย

ภาพที่ 4 การเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะ 3 สายพันธุ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ
ที่มีแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน 7 ชนิด

8.3.2 แหล่งไนโตรเจน

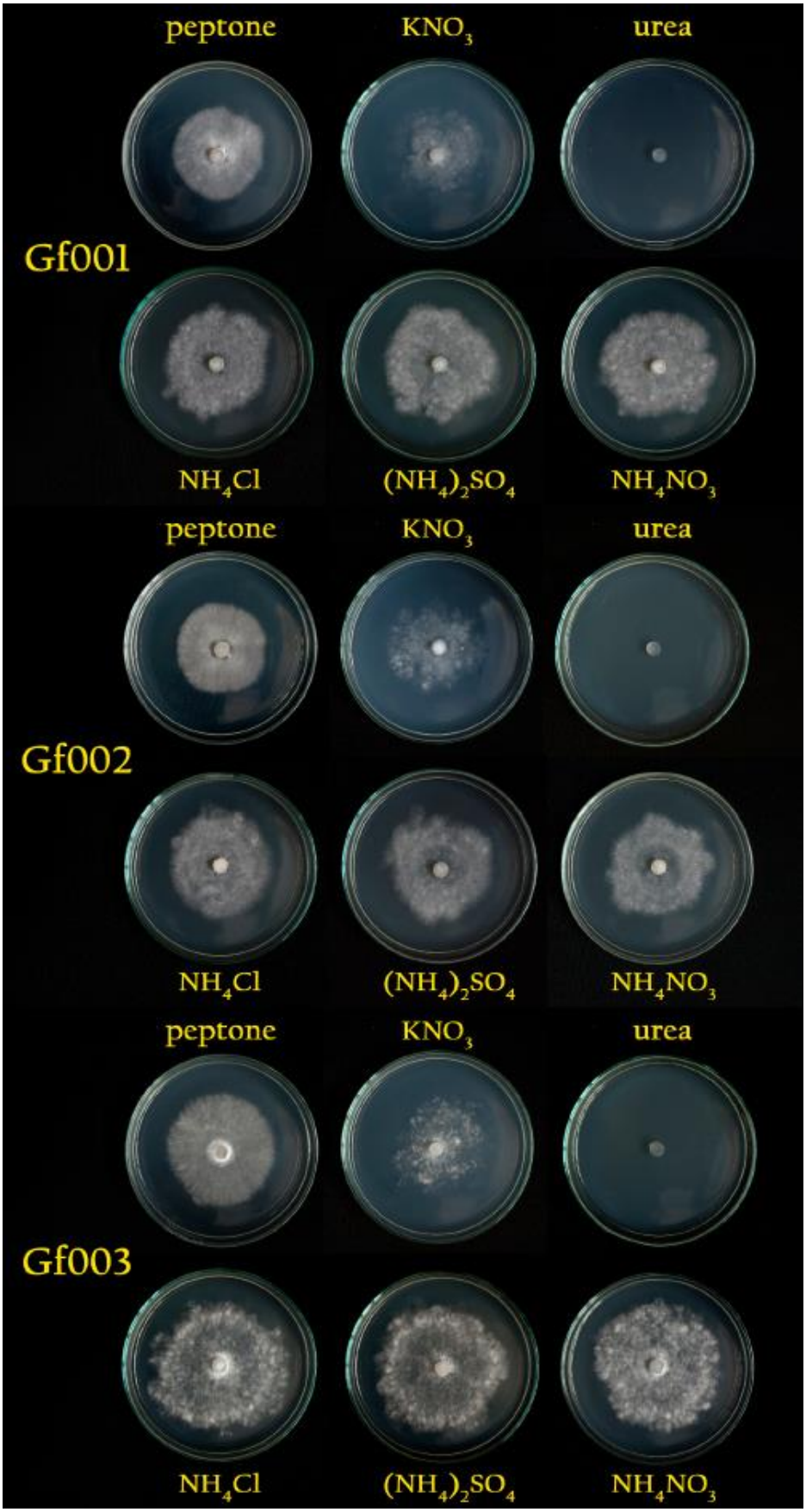
การเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะ 3 สายพันธุ์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน 6 ชนิด พบว่า เห็ดไมตาเกะ Gf001 และ Gf002 เจริญได้ดีบนอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนแอมโมเนียมคลอไรด์ แอมโมเนียมไนเตรท แอมโมเนียมซัลเฟต และโปแทสเซียมไนเตรท ตามลำดับ โดย Gf001 (6.11, 5.95, 5.94 และ 5.90 เซนติเมตร) และ Gf002 (5.80, 5.70, 5.69 และ 5.66 เซนติเมตร) เห็ดไมตาเกะ Gf003 เจริญได้ดีที่สุดบนอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนแอมโมเนียมคลอไรด์ (7.54 เซนติเมตร) โดยเชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ มีลักษณะการเจริญของเส้นใยหนาแน่นน้อยถึงปานกลางบนอาหารเชื้อที่มีแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน 6 ชนิด ทั้งนี้พบว่าไม่มีเชื้อเห็ดไมตาเกะสายพันธุ์ใดที่สามารถเจริญได้บนอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนยูเรีย แสดงในตารางที่ 4 (ภาพที่ 5)

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะ 3 สายพันธุ์ อายุ 15 วัน บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน 6 ชนิด

แหล่งไนโตรเจน	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเห็ดไมตาเกะ (ซม.) [1/]			ความหนาแน่นของเส้นใย[2/]		
	Gf001	Gf002	Gf003	Gf001	Gf002	Gf003
เปปโตน	5.01b	4.75b	6.36c	++	++	++
KNO_3	5.90a	5.66a	6.49c	+	+	+
ยูเรีย	-	-	-	-	-	-
NH_4Cl	6.11a	5.80a	7.54a	++	++	++
$(NH_4)_2SO_4$	5.94a	5.69a	7.28ab	++	++	++
NH_4NO_3	5.95a	5.70a	6.85bc	++	++	++
CV	6.4%	5.6%	4.5%			

[1/]ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

[2/]++++ เส้นใยเจริญหนาแน่นมาก +++ เส้นใยเจริญค่อนข้างหนาแน่น ++ เส้นใยเจริญหนาแน่นปานกลาง + เส้นใยเจริญหนาแน่นน้อย



ภาพที่ 5 การเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะ 3 สายพันธุ์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

ที่มีแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน 6 ชนิด

8.4 การเตรียมหัวเชื้อขยายเห็ดไมตาเกะบนข้าวฟ่าง

จากผลการศึกษาช่วงอุณหภูมิที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะ 3 สายพันธุ์ พบว่า ที่อุณหภูมิห้อง (24-27°c) และ 25°c เชื้อเห็ดไมตาเกะมีการเจริญของเส้นใยดีที่สุดตามลำดับ ดังนั้นจึงเลือกใช้ช่วงอุณหภูมิห้อง (24-27°c) เป็นอุณหภูมิที่ใช้ในการศึกษาการเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะบนเมล็ดข้าวฟ่าง หลังจากย้ายเชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ ลงเลี้ยงบนเมล็ดข้าวฟ่างปริมาณ 100 กรัม ที่บรรจุในขวดแก้วทนร้อน เป็นเวลา 3 วัน เริ่มวัดการเจริญของเส้นใยเชื้อเห็ด พบว่าเชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ เริ่มมีการเจริญของเส้นใยจากชิ้นวุ้นลงบนเมล็ดข้าวฟ่าง วัดอัตราการเจริญของเส้นใยของเชื้อเห็ดไมตาเกะทุกๆ 2 วัน เป็นเวลา 15 วัน พบว่า เห็ดไมตาเกะ Gf003 มีอัตราการเจริญของเส้นใยสูงกว่า Gf002 และ Gf001 โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.65, 6.11 และ 5.92 เซนติเมตร ตามลำดับ ลักษณะเส้นใยของเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์บนข้าวฟ่างมีสีขาว มีการเจริญของเส้นใยค่อนข้างหนาแน่น หลังจากเก็บผลการเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะ ในวันที่ 15 แล้ว ทำการเขย่าขวดเชื้อเห็ดไมตาเกะ เพื่อช่วยให้เชื้อเห็ดไมตาเกะเจริญเต็มขวด หลังจากนั้น 12-15 วัน (บ่มเชื้อ 27-30 วัน) เชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ เจริญเต็มขวดเลี้ยงเชื้อพร้อมที่จะนำไปใช้เป็นเชื้อขยายต่อไป แสดงในตารางที่ 5 (ภาพที่ 6)

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะ 3 สายพันธุ์ บนข้าวฟ่างที่อุณหภูมิห้อง (24-27°c) นาน 15 วัน

เห็ดไมตาเกะ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเห็ดไมตาเกะ (ซม.) [1/]	ความหนาแน่นของเส้นใย[2/]
Gf001	5.92b	+++
Gf002	6.11b	+++
Gf003	6.65a	+++
CV	6.2%	

[1/]ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

[2/]++++ เส้นใยเจริญหนาแน่นมาก +++ เส้นใยเจริญค่อนข้างหนาแน่น ++ เส้นใยเจริญหนาแน่นปานกลาง + เส้นใยเจริญหนาแน่นน้อย

ภาพที่ 6 การเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะ 3 สายพันธุ์บนเมล็ดข้าวฟ่างที่ 15 และ 30 วัน

8.5 การเจริญของเส้นใยเชื้อเห็ดไมตาเกะบนสูตรวัสดุเพาะ 8 สูตร

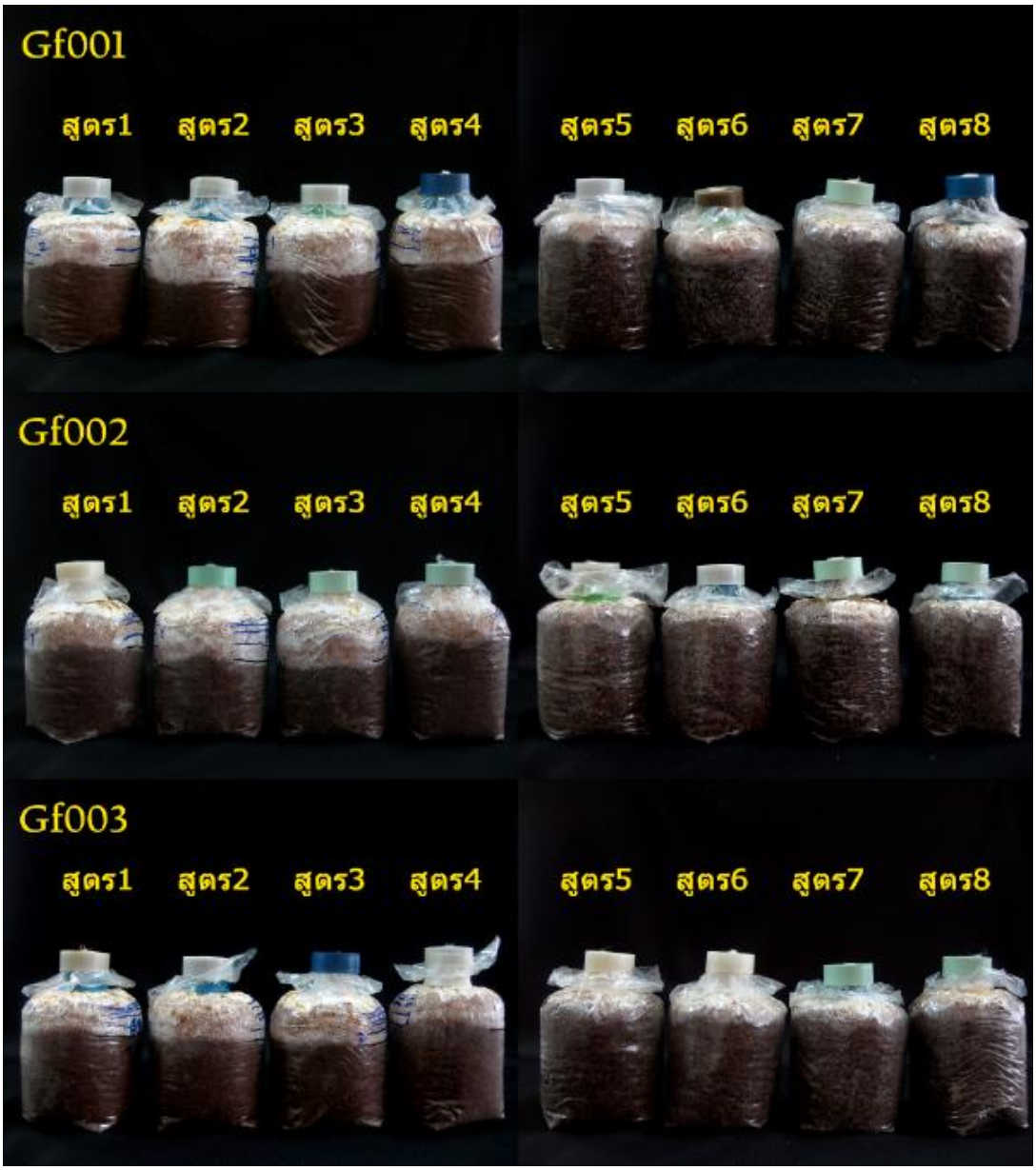
การศึกษาการเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ บนวัสดุเพาะในถุงพลาสติกขนาด 150 กรัม ใส่เชื้อขยายเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ ลงบนสูตรอาหารทั้ง 8 สูตร บ่มก้อนเชื้อเห็ดไมตาเกะที่อุณหภูมิห้อง (24-27°c) พบว่าหลังจากใส่เชื้อขยายเป็นเวลา 15 วัน เชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ เริ่มมีการเจริญของเส้นใยลงบนอาหารสูตร 1 ถึง 4 ในขณะที่อาหารสูตร 5 ถึง 8 เชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ เริ่มมีการเจริญของเส้นใยลงบนอาหาร ประมาณ 20-25 วัน ที่ 45 วัน เชื้อเห็ดไมตาเกะ Gf001 Gf002 และ Gf003 มีการเจริญของเส้นใยบนอาหารสูตร 2 (ขี้เลื่อยไม้ยางพารา : รำละเอียด : ปูนขาว : ดีเกลือ (100 : 10 : 1: 0.2 โดยน้ำหนัก)) ได้ดีที่สุด คือ 6.00, 5.70 และ 5.06 เซนติเมตร ตามลำดับ และบนอาหารสูตร 3 (ขี้เลื่อยไม้ยางพารา : รำละเอียด : ซังข้าวโพดบด : ปูนขาว : ดีเกลือ (100 : 5 : 5 : 1 : 0.2 โดยน้ำหนัก)) รองลงมาคือ 5.12, 5.65 และ 4.76 เซนติเมตร ตามลำดับ ในขณะที่บนอาหารสูตร 5 6 7 และ 8 ที่ 45 วัน อัตราการเจริญของเส้นใยของเชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ มีการเจริญที่ช้าเมื่อเทียบกับสูตรอาหารที่ 1 2 3 และ 4 แสดงในตารางที่ 6 (ภาพที่ 7) เมื่อบ่มก้อนเชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ต่อ พบว่าที่ 80-90 วัน เชื้อเห็ดไมตาเกะ Gf001 และ Gf002 มีการเจริญของเส้นใยเต็มก้อนเชื้อบนสูตรอาหารที่ 1 2 3 และ 4 โดยเส้นใยมีสีขาว เจริญค่อนข้างหนาแน่นบนวัสดุเพาะ ในขณะที่เชื้อเห็ดไมตาเกะ Gf003 มีการเจริญของเส้นใยเต็มก้อนเชื้อบนสูตรอาหารที่ 4 เท่านั้น (ภาพที่ 8) ทั้งนี้เชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ ที่ทดสอบบนสูตรอาหาร 5 6 7 และ 8 มีการเจริญที่ค่อนข้างช้าและเจริญไม่เต็มก้อนวัสดุเพาะ

ตารางที่ 6 อัตราการเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะ 3 สายพันธุ์บนสูตรอาหาร 8 สูตร ที่ 45 วัน

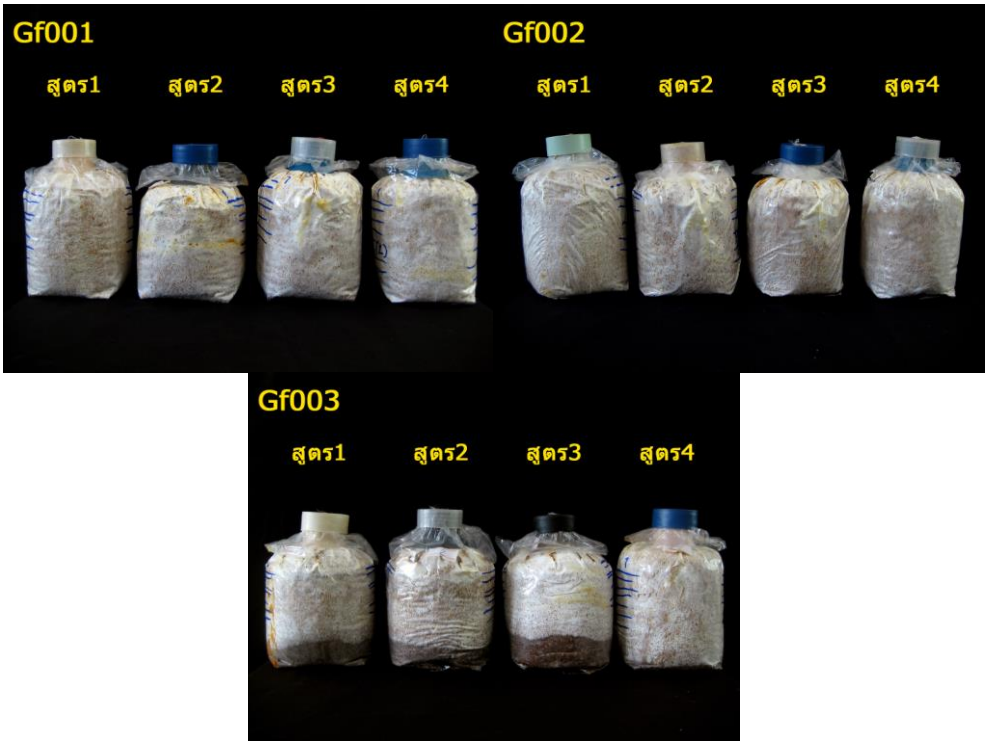
สูตรวัสดุเพาะ	การเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะ (ซม.) [1/]			ความหนาแน่นของเส้นใย[2/]		
	Gf001	Gf002	Gf003	Gf001	Gf002	Gf003
1 (control)	4.84c	4.55c	4.26b	+++	++	++
2	6.00a	5.70a	5.06a	+++	+++	+++
3	5.12b	5.65a	4.76a	+++	+++	+++
4	4.56d	4.87b	4.27b	+++	+++	++
5	2.59e	2.26d	2.21c	+	+	+
6	2.84e	2.42d	2.29c	+	+	++
7	2.61e	2.33d	2.25c	++	++	++
8	2.60e	2.38d	2.28c	++	++	++
CV	4.1%	5.3%	6.8%			

[1/]ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Duncan’s New Multiple Range Test

[2/]++++ เส้นใยเจริญหนาแน่นมาก +++ เส้นใยเจริญค่อนข้างหนาแน่น ++ เส้นใยเจริญหนาแน่นปานกลาง + เส้นใยเจริญหนาแน่นน้อย



ภาพที่ 7 การเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะ 3 สายพันธุ์ บนวัสดุเพาะ 8 สูตร ที่เวลา 45 วัน



ภาพที่ 8 การเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะ 3 สายพันธุ์ บนวัสดุเพาะสูตร 1-4 ที่เวลา 80-90 วัน

8.6 การเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะ 3 สายพันธุ์ บนวัสดุเพาะที่เหมาะสมในถุงพลาสติกอย่างน้อย 2 สูตร

จากผลการศึกษาการเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะ 3 สายพันธุ์ บนสูตรอาหาร 8 สูตร พบว่าสูตรอาหารที่ 2 (ขี้เลื่อยไม้ยางพารา : รำละเอียด : ปูนขาว : ดีเกลือ (100 : 10 : 1: 0.2 โดยน้ำหนัก)) และ 3 (ขี้เลื่อยไม้ยางพารา : รำละเอียด : ซังข้าวโพดบด : ปูนขาว : ดีเกลือ (100 : 5 : 5 : 1 : 0.2 โดยน้ำหนัก)) มีผลต่อการเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ ในอัตราที่ดีที่สุด จึงนำสูตรอาหารทั้ง 2 สูตร มาใช้เป็นวัสดุเพาะในการทดสอบการเพาะเลี้ยงเห็ดไมตาเกะ โดยเปรียบเทียบกับสูตรวัสดุเพาะเลี้ยงเห็ดปรกติทั่วไป (สูตร 1 ขี้เลื่อยไม้ยางพารา : รำละเอียด : ปูนขาว : ดีเกลือ (100 : 5 : 1 : 0.2 โดยน้ำหนัก)) โดยเตรียมวัสดุเพาะบรรจุถุงพลาสติกทนร้อนขนาด 400 กรัม ใส่เชื้อขยายเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ ลงบนวัสดุเพาะทั้ง 3 สูตร บ่มก้อนเชื้อเห็ดไมตาเกะที่อุณหภูมิห้อง (24-27°c) พบว่าหลังจากใส่เชื้อขยายเป็นเวลา 15 วัน เชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ เริ่มมีการเจริญของเส้นใยลงบนวัสดุเพาะ พบว่าที่ 60 วัน เห็ดไมตาเกะ Gf001 และ Gf003 มีอัตราการเจริญดีที่สุดบนวัสดุเพาะสูตร 2 (10.36 และ 8.49 เซนติเมตร) เห็ดไมตาเกะ Gf002 มีอัตราการเจริญดีที่สุดบนวัสดุเพาะสูตร 3 (11.00 เซนติเมตร) ในขณะที่เชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ มีอัตราการเจริญที่ช้าบนวัสดุเพาะสูตร 1 (7.59, 6.64 และ 6.23 เซนติเมตร ตามลำดับ) แสดงในตารางที่ 7 (ภาพที่ 9)

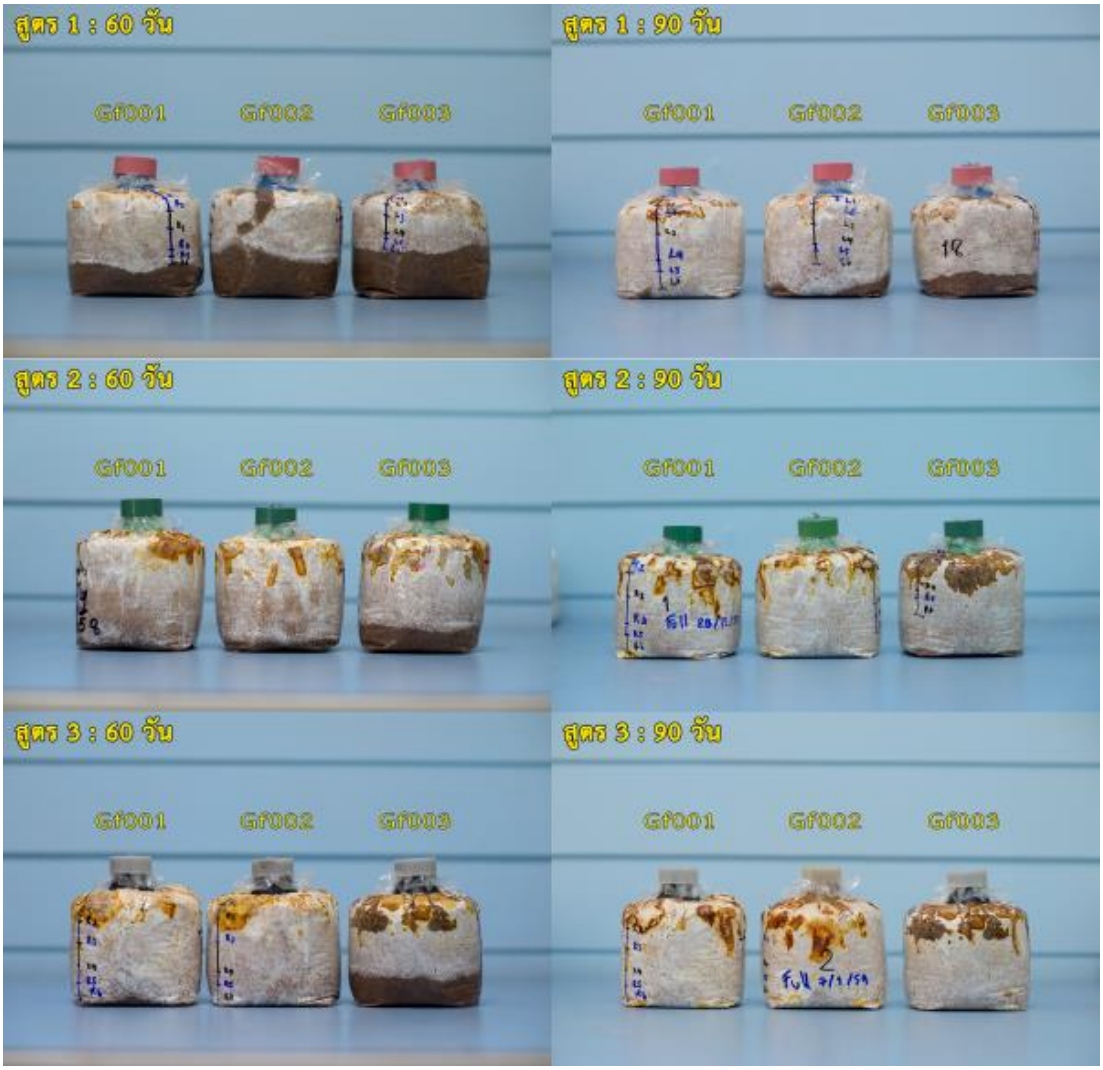
เมื่อบ่มก้อนเชื้อต่อพบว่า ที่ 80-90 วัน เชื้อเห็ดไมตาเกะ Gf001 และ Gf002 บนวัสดุเพาะสูตร 2 และ 3 เริ่มเจริญเต็มก้อนวัสดุเพาะ ส่วนเชื้อเห็ดไมตาเกะ Gf003 เจริญถึงขอบล่างก้อนวัสดุเพาะเท่านั้น ในขณะที่เชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ ยังเจริญได้ไม่เต็มก้อนวัสดุเพาะสูตร 1 (ภาพที่ 9)

ตารางที่ 7 อัตราการเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะ 3 สายพันธุ์บนบนวัสดุเพาะที่เหมาะสมในถุงพลาสติกอย่างน้อย 2 สูตร ที่ 60 วัน

สูตรวัสดุเพาะ	การเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะ (ซม.) [1/]			ความหนาแน่นของเส้นใย[2/]		
	Gf001	Gf002	Gf003	Gf001	Gf002	Gf003
1 (control)	7.59c	6.64c	6.23c	++	++	++
2	10.36a	9.36b	8.49a	+++	+++	+++
3	9.54b	11.00a	7.37b	+++	+++	+++
CV	12.7%	16.6%	14.4%			

[1/]ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Duncan’s New Multiple Range Test

[2/]++++ เส้นใยเจริญหนาแน่นมาก +++ เส้นใยเจริญค่อนข้างหนาแน่น ++ เส้นใยเจริญหนาแน่นปานกลาง + เส้นใยเจริญหนาแน่นน้อย



ภาพที่ 9 การเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะ 3 สายพันธุ์ บนวัสดุเพาะสูตร 1, 2 และ 3 ที่ 60 และ 90 วัน

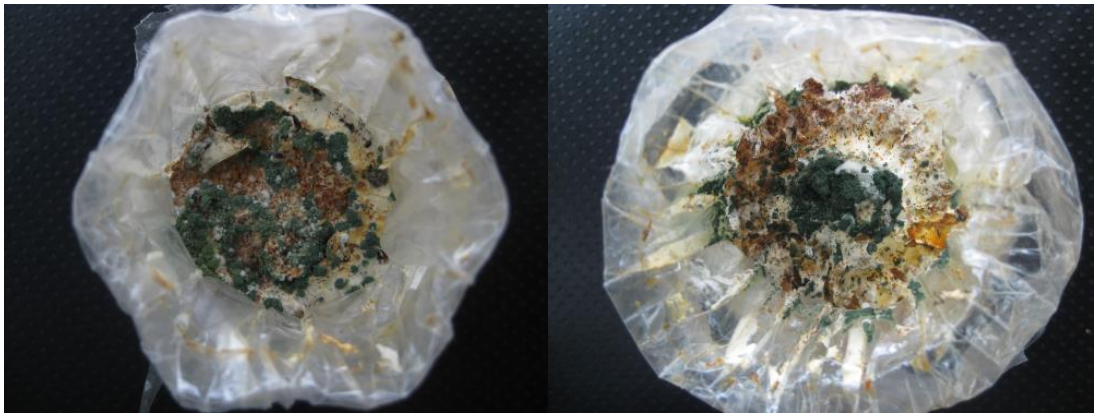
8.7 การทำให้เกิดดอกเห็ดไมตาเกะบนวัสดุเพาะในถุงพลาสติก

ก้อนเชื้อเห็ดไมตาเกะ 3 สายพันธุ์ที่เส้นใยเจริญเต็มวัสดุเพาะ 4 สูตร (จากผลการทดลอง 8.5) นำก้อนเชื้อวางบนชั้นเพาะเห็ดในโรงเรือนควบคุมอุณหภูมิ ตั้งช่วงอุณหภูมิ 20°c ความชื้นสัมพัทธ์ 85% ดึงฝาและจุกสำลีออกจากก้อนเชื้อ ให้น้ำโดยการฉีดพ่นแบบฝอยบริเวณผิวก้อนเชื้อ ช่วงเช้าและบ่ายต่อวัน เพื่อกระตุ้นให้เกิดดอก พบว่าเมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 5-7 วัน เส้นใยเชื้อเห็ดไมตาเกะ Gf003 บนวัสดุเพาะสูตร 2, 3 และ 4 เริ่มมีการรวมตัวของเส้นใยหนาขึ้นบริเวณผิวหน้าก้อนเชื้อ เส้นใยมีสีขาวอมเหลืองถึงน้ำตาล และเปลี่ยนเป็นขาวอมเทา และเริ่มสังเกตเห็นตุ่มดอกขนาดเล็กๆเกิดขึ้น ดอกเห็ดใช้เวลาเจริญเติบโตอีก 5-7 วัน จนอยู่ในช่วงที่มีลักษณะเหมาะสมแก่การเก็บผลผลิต โดยดอกเห็ดจะเจริญแตกเป็นกิ่งคล้ายพัดหรือซ้อนจำนวนมากซ้อนทับกัน ใต้ดอกเป็นรูพรุนสีขาว สีของดอกเห็ดมีสีขาวครีม เทาเข้มอมน้ำตาลหรือเทาอมน้ำตาลอ่อน เนื้อในของดอกเห็ดสี

ขาวครีม เนื้อนิ่มและแน่น (ภาพที่ 12ก.-ง.) ในขณะที่เชื้อเห็ดไมตาเกะ Gf001 และ Gf002 บนวัสดุเพาะทั้ง 4 สูตร เส้นใยมีการรวมตัวของหนาขึ้นบริเวณผิวหน้าก้อนเชื้อ มีสีขาวอมเหลืองถึงน้ำตาล แต่เมื่อเวลาผ่านไปนานขึ้น ก้อนเชื้อเห็ดไมตาเกะ Gf001 และ Gf002 บนวัสดุเพาะทุกสูตรเริ่มแสดงการปนเปื้อนของราดำและราเขียว และไม่มีการพัฒนาดอกเห็ดเกิดขึ้น (ภาพที่ 11)

ก้อนเชื้อเห็ดไมตาเกะ 3 สายพันธุ์ที่เส้นใยเจริญเต็มวัสดุเพาะ 3 สูตร (จากผลการทดลอง 8.6) นำก้อนเชื้อวางบนชั้นเพาะเห็ดในโรงเรือนควบคุมอุณหภูมิ ตั้งช่วงอุณหภูมิ 20°c ความชื้นสัมพัทธ์ 85% ดึงฝา จุกสำลีและคอพลาสติกออกจากก้อนเชื้อ ใส่คอพลาสติกใหม่ขนาดกว้างขึ้น ให้น้ำโดยการฉีดพ่นแบบฝอยบริเวณผิวก้อนเชื้อ ช่วงเช้าและบ่ายต่อวัน เพื่อกระตุ้นให้เกิดดอก พบว่าเมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 5-7 วัน เห็ดไมตาเกะ Gf001 และ Gf002 บนวัสดุเพาะสูตร 2 และ 3 เริ่มมีการรวมตัวของเส้นใยหนาขึ้นบริเวณผิวหน้าก้อนเชื้อ เส้นใยมีสีขาวอมเหลืองและเปลี่ยนเป็นขาวอมเทา และพัฒนาเป็นตุ่มดอกขนาดเล็กๆสีขาวครีมเกิดขึ้นจำนวนมาก (ภาพที่ 10) แต่เมื่อเวลาผ่านไป ตุ่มดอกเห็ดไมตาเกะ Gf001 และ Gf002 ไม่มีการเจริญพัฒนาต่อและฝ่อไปในที่สุด ในขณะที่เห็ดไมตาเกะ Gf003 มีการสร้างตุ่มดอกที่ 5-7 วัน และเจริญพัฒนาเป็นดอกที่สมบูรณ์ที่ 12-14 วัน บนวัสดุเพาะสูตร 2 และ 3 (ภาพที่ 12จ.-ฉ.) ทั้งนี้เห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์บนวัสดุเพาะสูตร 1 เส้นใยมีการรวมตัวของหนาขึ้นบริเวณผิวหน้าก้อนเชื้อ มีสีขาวอมเหลืองถึงน้ำตาล แต่ไม่มีการพัฒนาสร้างตุ่มดอกเกิดขึ้น

ภาพที่ 10 ลักษณะการเกิดตุ่มดอกเห็ดไมตาเกะ Gf001 และ Gf002 บนวัสดุเพาะขนาด 400 กรัม



ภาพที่ 11 การปนปื้อนของราเขียวและราดำบริเวณปากถุงก้อนเชื้อเห็ดไมตาเกะ Gf001 และ Gf002 หลังจากนำไปกระตุ้นให้เกิดดอกในโรงเรือนควบคุมอุณหภูมิ

ภาพที่ 12 ลักษณะการเกิดดอกเห็ดไมตาเกะ Gf003 บนวัสดุเพาะขนาด 150 กรัม (ก.), บนวัสดุเพาะขนาด 400 กรัม (จ.), ลักษณะรูปทรงดอกเห็ดไมตาเกะ (ข., ค. และ ฉ.), ลักษณะรูพรุนสีขาวใต้ดอกเห็ด (ง.)

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การศึกษาชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ 6 ชนิด ได้แก่ PDA (control), CMA, GPA, MEA, PDPYA และ PMP ที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดไมตาเกะ ที่บ่มเลี้ยงเส้นใยที่อุณหภูมิ 24-27°c พบว่าเชื้อเห็ดไมตาเกะ Gf001 Gf002 และ Gf003 มีอัตราการเจริญของเส้นใยได้ดีที่สุดบนอาหาร PDA ซึ่งเป็นอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อราทั่วไป ลักษณะของเส้นใยของเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ มีสีขาว ค่อนข้างฟูเล็กน้อย เจริญค่อนข้างหนาแน่นถึงหนาแน่นมากบนอาหาร โดยใช้เวลาประมาณ 15-17 วัน เชื้อเห็ดจะเจริญเต็มผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ทั้งนี้พบว่าอาหาร PMP, PDPYA และ CMA สามารถนำมาใช้เลี้ยงเชื้อเห็ดไมตาเกะได้ โดยเชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์มีอัตราการเจริญในระดับที่ดีรองลงมาจากอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

การศึกษาช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ โดยเลี้ยงเชื้อเห็ดที่ช่วงอุณหภูมิ 5 ระดับ ได้แก่ 15°c, 20°c, 25°c, 30°c และอุณหภูมิห้อง (24-27°c) พบว่าที่ช่วงอุณหภูมิห้อง (24-27°c) และ 25°c เชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์มีอัตราการเจริญในระดับที่ดีใกล้เคียงกัน โดยเห็ดไมตาเกะ Gf003 มีอัตราการเจริญของเส้นใยที่สูงกว่า Gf002 และ Gf001 ดังนั้นอุณหภูมิในช่วง 24-27°c จึงเป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการนำมาใช้บ่มเลี้ยงเส้นใยหรือการเก็บรักษาเชื้อเห็ดไมตาเกะในระยะสั้น (short term) ได้ ในขณะที่การบ่มเชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ในช่วงอุณหภูมิที่ต่ำลงคือ 20°c และ 15°c เชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ มีแนวโน้มของอัตราการเจริญที่ลดลง เช่นเดียวกับเมื่อบ่มเลี้ยงเชื้อเห็ดไมตาเกะในช่วงอุณหภูมิที่สูงขึ้นคือ 30°c

การเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะ 3 สายพันธุ์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน 7 ชนิดและแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน 6 ชนิด พบว่าเชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ เจริญได้ดีบนอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นองค์ประกอบหลายชนิดใกล้เคียงกัน ได้แก่ ฟรุคโตส แป้ง เดกซ์โตส กลูโคส และมัลโตส ในขณะที่เชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์มีการเจริญที่ต่ำบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งคาร์บอนซูโครสเป็นองค์ประกอบ ในส่วนของแหล่งไนโตรเจนนั้น พบว่าเชื้อเห็ดไมตาเกะ Gf001 และ Gf002 เจริญได้ดีบนอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบหลายชนิดใกล้เคียงกัน ได้แก่ แอมโมเนียมคลอไรด์ แอมโมเนียมไนเตรท แอมโมเนียมซัลเฟต และโปแทสเซียมไนเตรท เห็ดไมตาเกะ Gf003 เจริญได้ดีที่สุดบนอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนแอมโมเนียมคลอไรด์เป็นองค์ประกอบ ในขณะที่เชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ไม่สามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งไนโตรเจนยูเรียเป็นองค์ประกอบ ดังนั้นการเลือกใช้แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสมที่สุดเป็นส่วนประกอบเพิ่มเติมในอาหารเลี้ยงเชื้อหรือวัสดุเพาะเลี้ยง อาจจะมีผลช่วยทำให้เชื้อเห็ดไมตาเกะเจริญได้เร็วและดีขึ้นได้

การศึกษาการเตรียมเชื้อขยายเห็ดไมตาเกะ 3 สายพันธุ์ บนเมล็ดข้าวฟ่าง โดยเลี้ยงเชื้อเห็ดไมตาเกะบนเมล็ดข้าวฟ่างปริมาณ 100 กรัม ที่บรรจุในขวดแก้วทนร้อน บ่มที่อุณหภูมิห้อง (24-27°c) พบว่าที่ 15 วัน เชื้อเห็ดไมตาแกะทั้ง 3 สายพันธุ์เริ่มเจริญเต็มข้าวฟ่างฝั่งด้านที่เขี่ยเชื้อไมตาเกะลงเลี้ยง โดยเห็ดไมตาเกะ Gf003 มีอัตราการเจริญของเส้นใยสูงกว่า Gf002 และ Gf001 ลักษณะเส้นใยของเห็ดไมตาเกะมีสีขาวบนข้าวฟ่าง มีการเจริญของเส้นใยค่อนข้างหนาแน่น จากนั้นทำการเขย่าขวดเชื้อเห็ดไมตาเกะ เพื่อช่วยให้เชื้อเห็ดไมตาเกะเจริญเต็มขวด หลังจากนั้น 12-15 วัน (27-30 วัน หลังการใส่เชื้อ) เชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ เจริญเต็มขวดเลี้ยงเชื้อพร้อมที่จะนำไปใช้เป็นเชื้อขยายต่อไป

การศึกษาสูตรอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเห็ดไมตาเกะ จำนวน 8 สูตร บรรจุในถุงพลาสติกทนร้อนขนาด 150 กรัม โดยใช้ขี้เลื่อยไม้ยางพาราและขี้เลื่อยไม้เบญจพรรณเป็นวัสดุหลัก และดัดแปลงจากสูตรที่ใช้เพาะเลี้ยงเห็ดทั่วไป พบว่าหลังจากใส่เชื้อขยายเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ เป็นเวลา 15 วัน เชื้อเห็ดไมตาเกะเริ่มมีการเจริญของเส้นใยลงบนอาหารสูตร 1 ถึง 4 ซึ่งใช้ขี้เลื่อยไม้ยางพาราเป็นวัสดุหลัก ในขณะที่อาหารสูตร 5 ถึง 8 ที่ใช้ขี้เลื่อยไม้เบญจพรรณเป็นวัสดุหลัก เชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ เริ่มมีการเจริญของเส้นใยลงบนอาหาร ประมาณ 20-25 วัน จากนั้นที่ 45 วัน พบว่าเชื้อเห็ดไมตาเกะ Gf001 Gf002 และ Gf003 มีอัตราการเจริญของเส้นใยดีที่สุดบนอาหารสูตร 2 ซึ่งประกอบด้วย ขี้เลื่อยไม้ยางพารา : รำละเอียด : ปูนขาว : ดีเกลือ (100 : 10 : 1: 0.2 โดยน้ำหนัก) และดีรองลงมาบนอาหารสูตร 3 ซึ่งประกอบด้วย ขี้เลื่อยไม้ยางพารา : รำละเอียด : ซังข้าวโพดบด : ปูนขาว : ดีเกลือ (100 : 5 : 5 : 1 : 0.2 โดยน้ำหนัก) ในขณะที่บนอาหารสูตร 5 6 7 และ 8 ที่ 45 วัน อัตราการเจริญของเส้นใยของเชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ มีการเจริญที่ค่อนข้างช้าเมื่อเทียบกับสูตรอาหารที่ 1 2 3 และ 4 เมื่อบ่มก้อนเชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ต่อ เป็นระยะเวลารวม 80-90 วัน เชื้อเห็ดไมตาเกะ Gf001 และ Gf002 มีการเจริญของเส้นใยเต็มก้อนเชื้อบนสูตรอาหารที่ 1 2 3 และ 4 โดยเส้นใยมีสีขาว เจริญค่อนข้างหนาแน่นบนวัสดุเพาะ ส่วนเชื้อเห็ดไมตาเกะ Gf003 มีการเจริญของเส้นใยเต็มก้อนเชื้อบนสูตรอาหารที่ 4 เท่านั้น ในขณะที่เชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ ที่ทดสอบบนสูตรอาหาร 5 6 7 และ 8 มีการเจริญที่ค่อนข้างช้าและเจริญไม่เต็มก้อนวัสดุเพาะ ซึ่งจากการศึกษาข้างต้นทำให้ทราบว่าขี้เลื่อยไม้ยางพารามีความเหมาะสมในการนำมาใช้เป็นวัสดุหลักสำหรับทำวัสดุเพาะเห็ดไมตาเกะมากกว่าขี้เลื่อยไม้เบญจพรรณ การเพิ่มปริมาณรำละเอียดขึ้น 1 เท่า ในสูตรอาหารสูตร 2 และการเติมซังข้าวโพดบด 5 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารสูตร 3 มีผลต่อการเพิ่มอัตราการเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ เมื่อเทียบกับสูตรอาหารสูตร 1 ประกอบด้วย ขี้เลื่อยไม้ยางพารา : รำละเอียด : ปูนขาว : ดีเกลือ (100 : 5 : 1: 0.2 โดยน้ำหนัก) ซึ่งเป็นสูตรที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเห็ดทั่วๆไป เมื่อนำก้อนเชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ที่เส้นใยเจริญเต็มแล้ว ดึงฝาและจุกสำลีออกจากก้อนเชื้อ นำไปกระตุ้นให้เกิดดอกภายในโรงเรือนควบคุมอุณหภูมิ ที่ 20°c ความชื้นสัมพัทธ์ 85% และให้ความชื้นโดยการฉีดน้ำแบบพ่นฝอยที่บริเวณผิวก้อนเชื้อ ในช่วงเช้าและบ่ายของวัน เมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 5-7 วัน ก้อนเชื้อเห็ดไมตาเกะ Gf003 บนวัสดุเพาะสูตร 2, 3 และ 4 เริ่มมีการรวมตัวของเส้นใยหนาขึ้นบริเวณผิวหน้าก้อนเชื้อ โดยเส้นใยมีสีขาวอมเหลืองถึงน้ำตาล และเปลี่ยนเป็นขาวอมเทา และเริ่มสังเกตเห็นตุ่มดอกขนาดเล็กๆ เกิดขึ้น และใช้เวลาอีกประมาณ 5-7 วัน ดอกเห็ดจะเจริญพัฒนาจนอยู่ในช่วงที่มีลักษณะเหมาะสมต่อการเก็บผลผลิต ในขณะที่ก้อนเชื้อเห็ดไมตาเกะ Gf001 และ Gf002 บนวัสดุเพาะทั้ง 4 สูตร เส้นใยมีการรวมตัวของหนาขึ้นบริเวณผิวหน้าก้อนเชื้อเช่นกัน แต่เมื่อเวลาผ่านไป ก้อนเชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 2

สายพันธุ์ บนวัสดุเพาะทุกสูตรเริ่มมีการปนเปื้อนของราดำและราเขียว และไม่พบการพัฒนาดอกเห็ดเกิดขึ้น

จากการศึกษาการเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะ 3 สายพันธุ์ บนสูตรอาหาร 8 สูตร จึงได้นำสูตรอาหารสูตร 2 และ 3 ซึ่งมีผลต่อการเจริญของเชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ ในอัตราที่ดีที่สุด มาใช้เป็นวัสดุเพาะในการทดสอบการเพาะเลี้ยงเห็ดไมตาเกะ เปรียบเทียบกับสูตรวัสดุเพาะเลี้ยงเห็ดปกติทั่วไป (สูตร 1) โดยเตรียมวัสดุเพาะบรรจุถุงพลาสติกทนร้อนขนาด 400 กรัม โดยบ่มก้อนเชื้อเห็ดที่อุณหภูมิ 24-27°c ที่ 15 วัน หลังจากใส่เชื้อขยาย เชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์เริ่มเจริญลงวัสดุเพาะทั้ง 3 สูตร เชื้อเห็ดไมตาเกะ Gf001 และ Gf002 เริ่มเจริญเต็มก้อนวัสดุเพาะสูตร 2 และ 3 เมื่อผ่านไป 80-90 วัน ในขณะที่เชื้อเห็ดไมตาเกะ Gf003 ใช้เวลา 90-95 วัน จึงเจริญเต็มก้อนวัสดุเพาะสูตร 2 และ 3 ในขณะเชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ ต้องใช้เวลามากกว่า 95 วัน เชื้อเห็ดจึงเริ่มเจริญเต็มก้อนวัสดุเพาะสูตร 1 เมื่อนำก้อนเชื้อเห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ที่เส้นใยเจริญเต็มก้อนวัสดุเพาะแล้ว ไปกระตุ้นให้เกิดดอกภายในโรงเรือนควบคุมอุณหภูมิ ที่ 20°c ความชื้นสัมพัทธ์ 85% และให้ความชื้นโดยการฉีดน้ำแบบพ่นฝอยที่บริเวณผิวก้อนเชื้อ ในช่วงเช้าและบ่ายของวัน โดยเปลี่ยนรูปแบบการเปิดดอกเห็ดแบบใหม่ ดึงฝา จุกสำลีและคอพลาสติกออกจากก้อนเชื้อ ใส่คอพลาสติกใหม่ขนาดกว้างขึ้น เพื่อให้บริเวณหน้าก้อนเชื้อมีพื้นที่ในการสร้างดอกมากขึ้น หลังจากนั้นประมาณ 5-7 วัน เห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ บนวัสดุเพาะสูตร 2 และ 3 เริ่มมีการรวมตัวของเส้นใยหนาขึ้นบริเวณผิวหน้าก้อนเชื้อ เส้นใยมีสีขาวอมเหลืองและเปลี่ยนเป็นขาวอมเทา และพัฒนาเป็นตุ่มดอกขนาดเล็กๆ สีขาวครีมเกิดขึ้นจำนวนมาก อย่างไรก็ตามเมื่อเวลาผ่านไป ตุ่มดอกเห็ดไมตาเกะ Gf001 และ Gf002 ไม่มีการเจริญพัฒนาต่อและฝ่อไปในที่สุด ในขณะที่เห็ดไมตาเกะ Gf003 ตุ่มดอกเห็ดมีการเจริญพัฒนาเป็นดอกที่สมบูรณ์และสามารถเก็บผลผลิตได้ ที่ประมาณ 12-14 วัน ทั้งนี้เห็ดไมตาเกะทั้ง 3 สายพันธุ์ บนวัสดุเพาะสูตร 1 เส้นใยมีการรวมตัวของหนาขึ้นบริเวณผิวหน้าก้อนเชื้อ มีสีขาวอมเหลืองถึงน้ำตาล แต่ไม่มีการพัฒนาสร้างตุ่มดอกเกิดขึ้น จากที่เชื้อเห็ดไมตาเกะ Gf001 และ Gf002 มีการสร้างตุ่มดอกแต่ไม่เจริญพัฒนาเป็นดอกที่สมบูรณ์ เหมือนเห็ดไมตาเกะ Gf003 อาจเนื่องมาจากช่วงอุณหภูมิ 20°c หรือความชื้นสัมพัทธ์ที่ตั้งไว้ในโรงเรือนควบคุมอุณหภูมิ ไม่เหมาะสมต่อการเจริญพัฒนาของดอกเห็ดไมตาเกะทั้ง 2 สายพันธุ์

รูปแบบการเปิดดอกเห็ดไมตาเกะทั้ง 2 แบบที่นำมาใช้ พบว่าการดึงฝาและจุกสำลีออกจากก้อนเชื้อ เมื่อดอกเห็ดเจริญพัฒนาจนอยู่ในช่วงที่เก็บผลผลิตได้ การเก็บผลผลิตจะค่อนข้างยาก การดึงดอกเห็ดจากก้อนเชื้อ จะทำให้ในบางครั้งดอกเห็ดจะฉีกขาดหลุดจากโคนดอก ทำให้ได้ผลผลิตดอกเห็ดรูปร่างไม่สมบูรณ์ แต่ทั้งนี้พบว่าดอกเห็ดที่ได้จะมีทรงดอกที่ค่อนข้างสวยและสมบูรณ์ ในขณะที่การเปิดดอกโดยการดึงฝา จุกสำลีและคอพลาสติกออกจากก้อนเชื้อ แล้วใส่คอพลาสติกใหม่ พบว่า

การเก็บผลผลิตอาจจะง่ายกว่าวิธีแรกแต่ก็ไม่มากนัก เก็บผลผลิตโดยใช้ปลายช้อนที่สะอาด งัดบริเวณส่วนโคนดอกให้หลุดออกจากก้อนวัสดุเพาะ ซึ่งผลผลิตดอกเห็ดที่ได้มีรูปร่างค่อนข้างสมบูรณ์ แต่ขนาดทรงดอกเห็ดจะค่อนข้างเล็ก อาจเนื่องจากถูกจำกัดพื้นที่ด้วยคอพลาสติกที่เปลี่ยนใส่ลงไป ดังนั้นยังคงต้องทดลองหารูปแบบการเปิดดอกเห็ดที่เหมาะสมกว่านี้ เพื่อให้ผลผลิตดอกเห็ดที่ได้มีขนาด รูปร่างที่สมบูรณ์ และเก็บผลผลิตได้ง่ายและสะดวกกว่านี้

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

การศึกษาถึงปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการกระตุ้นให้เกิดดอกของเห็ดไมตาเกะ รวมถึงสูตรวัสดุเพาะที่เหมาะสมต่อการนำมาใช้เพาะเลี้ยงเห็ดไมตาเกะ ทำให้ทราบถึงวิธีการและกระบวนการต่างๆ รวมถึงระยะเวลาในการทำเชื้อขยายเห็ดไมตาเกะ การทำก้อนวัสดุเพาะเห็ดไมตาเกะ ตลอดจนปัจจัยและขั้นตอนในการกระตุ้นให้เกิดดอกในสภาพโรงเรือนควบคุมอุณหภูมิ ซึ่งจากข้อมูลที่ได้เหล่านี้ จะนำไปใช้เพื่อศึกษาและพัฒนาต่อถึงวิธีการเพาะเลี้ยงเห็ดไมตาเกะในสภาพโรงเรือนควบคุมอุณหภูมิให้มีความคงที่และสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น ตลอดจนการนำไปทดสอบเพาะเลี้ยงในสภาพโรงเรือนธรรมชาติต่อไป เพื่อที่จะนำวิธีการเพาะเลี้ยงที่ได้ถ่ายทอดสู่เกษตรกรที่สนใจการเพาะเลี้ยงเห็ดชนิดนี้ต่อไป

11. คำขอบคุณ (ถ้ามี)

----

12. เอกสารอ้างอิง

นิวัฒ เสนาะเมือง. 2553. เห็ดป่าเมืองไทย: ความหลากหลายและการใช้ประโยชน์. หจก. ยูนิเวอร์แซล กราฟฟิค แอนด์ เทรดดิ้ง: กรุงเทพมหานคร.

ศิริวรรณ สุทธจิตต์ และ ไมตรี สุทธจิตต์. 2543. เห็ดสมุนไพร: จากอดีต สู่ปัจจุบันและอนาคต. เห็ดไทย 2545. สมาคมนักวิจัยและเพาะเห็ดแห่งประเทศไทย.

Bernas, E., G. Jaworska, and Z. Lisiewska. 2006. Edible mushrooms as a source of valuable nutritive constituents. Acta Sci. Pol., Technol. Aliment. 5 (1): 5-20.

Bon, M. 1987. The Mushrooms and Toadstools of Britain and North-western Europe. Hodder & Stoughton: London.

Hobbs, C. 1995. Medicinal Mushrooms: An exploration of tradition, healing, and culture. Culinary Arts Ltd.: Oregon.

Kodama, N., Komuta, K., and H. Nanba. 2002. Can Maitake MD-Fraction Aid Cancer Patients?. Alternative Medicine Review 7(3): 236-239.

Kubo, K., and H. Nanba. 1997. Anti-hyperliposis effect of maitake fruit body *Grifola frondosa* I. Biological and Pharmaceutical Bulletin 20: 781-785.

Lin, H., She, Y. H., Cassileth, B. R., Sirotnak, F., and S. Cunningham Rundles. 2004. Maitake beta-glucan MD-fraction enhances bone marrow colony formation and reduces doxorubicin toxicity in vitro. Int Immunopharmacol 4(1): 91-99.

Mayuzumi, Y., and T. Mizuno. 1997. Cultivation Methods of Maitake (*Grifola frondosa*). Food Reviews International 13: 357-364.

Mizuno, T., and C. Zhuang, 1995. Maitake "*Grifola frondosa*": Pharmacological Effects. Food Reviews International 11: 135-149.

Nanba, H., Kodama, N., Schar, D., and D. Turner. 1999. Maitake (*Grifola frondosa*) can maintain the Health of People suffering with HIV infection, pp. 194-198. In Broderick, A., and N.G.T. Nair (eds.)3rd. International Conference on Mushroom Biology and Mushrooms Products: Sydney.

Sadler, M. 2003. Nutritional properties of edible fungi. Nutrition Bulletin 28: 305-308.

Sanmee, R., B. Dell, P. Lumyong, K. Izumori, and S. Lumyong. 2003. Nutritive value of popular wild edible mushrooms from northern Thailand. Food Chemistry 82: 527-532.

Smith, S. E., and D. J. Read. 1997. Mycorrhizal symbiosis. 2nd ed. Academic Press: London.

Stamets, P. 1993. Growing Gourmet and Medicinal Fungi. Ten Speed Press and Mycomedia: Olympia.

Stamets, P. 2000. Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms. 3rd. ed. Ten Speed Press: Toronto.

Stott, K., and C. Mohammed. 2004. Specialty Mushroom Production Systems: Maitake and Morels. Rural Industries Research and Development Corporation : Barton.

Suzuki, I., Takeyama, T., Ohno, N., Oikawa, S., Sato, K., Suzuki. Y., and T. Yadomae. 1987. Antitumor effect of polysaccharide grifolan NMF-5N on syngeneic tumor in mice. J Pharmacobiodyn 10(2): 72-7.

Takeyama, T., Suzuki, I., Ohno, N., Oikawa, S., Sato, K., Ohsawa, M., and T.Yadomae. 1987. Host-mediated antitumor effect of grifolan NMF-5N, a polysaccharide obtained from *Grifola frondosa*. J Pharmacobiodyn. 10(11): 644-51.

Wasser, S. P. 2002. Medicinal mushroom as a source of antitumor and immunodulating polysaccharide. Applied Microbiology Biotechnology 60: 258-274.

Yamanaka, K. 1997. Production of cultivated edible mushrooms. Food Reviews International 13: 327-333.

13. ภาคผนวก