

ผลของสารสกัดจากพืชบางชนิดต่อการเติบโตของเห็ดถั่งเช่าหิมะ

Effects of Some Plant Extracts on Growth of Snowflake Cordyceps

ปรียา มะโนรัตน์¹ จิราพร กุลสาริน^{1*} ไสว บุรณพานิชพันธุ์¹ และ ธัญญา ทะพิงค์แก²
Preeya Manorat¹, Jiraporn Kulsarin^{1*}, Sawai Buranapanichpan¹ and Tanya Tapingkae²

ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

¹Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

²ภาควิชาเทคโนโลยีและพัฒนากาเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50300

²Department of Technology and Development in Agriculture, Faculty of Agricultural Technology,

Chiang Mai Rajabhat University, Chiang Mai 50300

*Corresponding author: Email: j.tayuti@gmail.com

(Received: 18 March 2020; Accepted: 8 June 2020)

Abstract: Silkworm (*Bombyx mori*) is an economically important insect providing more income to farmers. Silkworm pupae also contain proteins and other essential nutrients. Silkworm pupae were used as substrate for cultivating cordyceps which has medicinal properties and benefits in cosmeceutical medicine. From the report, the use of plant hormone such as auxin group can promote the growth of mushroom stalk. Thus, this study aimed to investigate the effectiveness of some plant extracts and hormones on the growth of snowflake cordyceps (*Cordyceps tenuipes*) by spraying aqueous extract of bean sprouts, aqueous extract of baby corn and mushroom hormone. Each plant extract and hormone at the amount of 0.5 ml were sprayed on fruiting bodies of snowflake cordyceps cultivated on Khao Dawk Mali 105 rice mixed with silkworm pupae as substrate. The result indicated that aqueous extract of bean sprouts spraying on the cordyceps in day 1, day 4 and day 7 at total amount of 1.5 ml/bottle was the most suitable for promoting the growth of cordyceps. After application, the average height, fresh weight, dry weight and adenosine content of fruiting body were 2.28 cm, 17.23 g/bottle, 1.90 g/bottle and 49.22 mg/100 g, respectively.

Keywords: Snowflake cordyceps, *Cordyceps tenuipes*, plant extract, silkworm pupa

บทคัดย่อ: ไหม (*Bombyx mori*) เป็นแมลงสำคัญทางเศรษฐกิจที่สร้างรายได้ให้กับเกษตรกร ดักแด้ไหมมีส่วนประกอบของโปรตีน และสารอาหารที่มีประโยชน์หลายชนิด สามารถใช้เป็นวัสดุเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าให้สรรพคุณเป็นยาสมุนไพรและมีประโยชน์ทางเวชสำอางได้ และพบว่าการใช้ฮอร์โมนพืชในกลุ่มของออกซิน มีส่วนช่วยในการสร้างก้านดอกเห็ดให้เติบโตได้ ดังนั้นในการวิจัยนี้จึงมีเป้าประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการใช้สารสกัดจากพืชต่อการเติบโตของเห็ดถั่งเช่าหิมะ (*Cordyceps tenuipes*) โดยทำการปนสารสกัดจากพืช ได้แก่ ถั่วอก ข้าวโพดฝักอ่อน และ ฮอร์โมนเห็ดบนก้านดอกเห็ดถั่งเช่าหิมะเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะข้าวขาวหอมมะลิ 105 ผสมดักแด้ไหม โดยพ่น 0.5 มิลลิลิตรต่อครั้ง ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน พบว่า การปนสารสกัดถั่วอก ในวันที่ 1, 4 และ 7 ใช้ปริมาณรวมทั้งหมด 1.5 มิลลิลิตรต่อขวดเพาะ เป็นวิธีการที่เหมาะสมสำหรับนำไปใช้ในการเร่งการเติบโตให้กับเห็ดถั่งเช่าหิมะ เมื่อทำการปนแล้วให้ ความสูงเฉลี่ยที่ 2.28 เซนติเมตร มีน้ำหนักก้านดอกเห็ดสดและแห้ง เท่ากับ 17.23 กรัมต่อขวดเพาะ และ 1.90 กรัมต่อขวดเพาะ นอกจากนี้ยังให้ปริมาณสาร adenosine ที่ 49.22 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม

คำสำคัญ: เห็ดถั่งเช่าหิมะ *Cordyceps tenuipes* สารสกัดจากพืช ดักแด้ไหม

คำนำ

เห็ดถั่งเช่าหิมะ (snowflake cordyceps) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cordyceps tenuipes* (Peck) อยู่ในวงศ์ Cordycipitaceae (Kepler *et al.*, 2017) มีการค้นพบเห็ดถั่งเช่าแล้วมากกว่า 700 ชนิด ในอดีตชาวจีน เกาหลี และทิเบต นำถั่งเช่ามาทำเป็นยาอายุวัฒนะ ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยทางด้านเภสัชวิทยา พบว่า เห็ดถั่งเช่าประกอบด้วยสารสำคัญหลายชนิด ได้แก่ โพลีแซคคาไรด์ ช่วยต้านอนุมูลอิสระ คอร์ดิเซปิน (cordycepin) มีฤทธิ์บำรุงไต กรดคอร์ดิเซปิก (cordycepic acid) ช่วยเพิ่มเมแทบอลิซึมของร่างกาย อะดีโนซีน (adenosine) ช่วยด้านการแข็งตัวของเลือด (Tapingkae, 2012)

ไหม เป็นแมลงกลุ่มผีเสื้อที่อยู่ในวงศ์ Bombycidae มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Bombyx mori* L. (Konala *et al.*, 2013) ไหมเป็นผีเสื้อกลางคืน ลักษณะตัวสีครีม เมื่อปีกออกมีความยาวประมาณ 2 นิ้ว ตัวอ่อนตัวเต็มวัยไม่กินอาหาร อายุสั้นเพียง 2-3 วัน วางไข่ประมาณ 300-500 ฟอง เมื่อตัวหนอนฟักออกมา ตัวหนอนกินใบหม่อนเป็นอาหารจนหมดอายุ 35-40 วัน จึงเข้าดักแด้ ซึ่งเป็นระยะที่ได้รับความนิยมในการรับประทาน (Wongsiri, 2012) จากการวิจัยของ Wattanathorn and Muchimapura (2012) พบว่า ดักแด้ไหมสามารถเพิ่มการเรียนรู้และความจำของมนุษย์ได้ นอกจากนี้สามารถป้องกันภาวะความจำบกพร่องที่พบใน

โรคสมองเสื่อม หรืออัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) ซึ่งคุณค่าทางอาหารของดักแด้ไหม มีโปรตีนสูงถึง 60-62% และไขมัน 15-18% นอกจากนี้ไม่พบปัญหาเรื่องสารพิษตกค้าง และสามารถนำดักแด้ไหมมาบริโภคได้ทุกสายพันธุ์ (Liengpompan, 2007) ในประเทศจีนนิยมใช้วัสดุเหลือทิ้งจากการเลี้ยงไหม หนอนไหม และดักแด้ไหมมาเป็นส่วนผสมของอาหารเลี้ยงเชื้อรา *Cordyceps* หรือที่รู้จักกันดีในชื่อของ ถั่งเช่า (Russell and Paterson, 2008) จากการวิจัยของ Ji *et al.* (2011) ได้ทำการผสมผงดักแด้ไหมกับข้าว เพื่อเป็นส่วนประกอบหลักในการทำเป็นวัสดุเพาะเชื้อเห็ดถั่งเช่าหิมะ และทำให้เชื้อเห็ดถั่งเช่าหิมะสามารถขยายจำนวนได้ดีขึ้น ในปัจจุบันมีการศึกษาเกี่ยวกับการนำสารฮอร์โมนพืชมาใช้ในการเพาะเห็ดถั่งเช่าจากการศึกษาของ Wen *et al.* (2014) พบว่าเห็ดถั่งเช่าสีทองสามารถใช้ฮอร์โมนพืช naphthyl acetic acid (NAA) และ indole butyric acid (IBA) ซึ่งเป็นฮอร์โมนพืชในกลุ่มออกซิน ทำให้ได้ผลผลิตในส่วนของก้านดอกเห็ดมากขึ้น และได้สารออกฤทธิ์สำคัญที่พบบนก้านดอกเห็ด ได้แก่ คอร์ดิเซปิน ที่มีปริมาณสูงมากกว่าเดิม ในขณะนี้ยังไม่พบรายงานว่า ฮอร์โมนพืชเหล่านี้ส่งผลเสียต่อเห็ดหรือมีสารพิษตกค้างบนเห็ดแต่อย่างใด นอกจากนี้ยังพบว่าในพืชบางชนิดสามารถสังเคราะห์สาร indole-3-acetic acid (IAA) หรือออกซิน ได้เอง เช่น ข้าวโอ๊ต ยาสูบ มะเขือเทศ ทานตะวัน และข้าวบาร์เลย์ โดยสังเคราะห์ได้ที่ใบอ่อนหรือจุดกำเนิดของใบและเมล็ดที่กำลังเจริญเติบโต

ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อที่มีอายุน้อย จะพบออกซินในปริมาณมากที่สุด (Jarassamrit, 1994) ซึ่งสามารถนำมาสกัดและนำไปศึกษา ผลของสารสกัดจากพืชบางชนิดต่อการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าหิมะ โดยข้อมูลเหล่านี้จะช่วยเป็นแนวทางในการเพาะเห็ดถั่งเช่าหิมะให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

อุปกรณ์และวิธีการ

ศึกษาปริมาณและการใช้สารสกัดจากพืชบางชนิดที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าหิมะ

ทำการเพาะเลี้ยง *C. tenuipes* บน potato dextrose agar (PDA) จากนั้นนำมาตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 5x5 มิลลิเมตร ใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้วจุ่มชิ้นวุ้นใส่ลงไปในอาหารเหลว Sabouraud dextrose broth (SDB) ผสมดักแด้ใหม่ ประมาณ 6 ชิ้น ต่อ 150 มิลลิลิตร นำไปแช่ยาในที่มืดที่อุณหภูมิ 18-22 องศาเซลเซียส (Luerdara et al., 2016) เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะที่ทำจาก ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ผสมกับดักแด้ใหม่ที่ต้มสุกในอัตราส่วน 3 ต่อ 1 ทำการใส่เชื้อราเห็ดถั่งเช่าหิมะที่ได้จากการเพิ่มปริมาณในอาหารเหลว SDB ผสมดักแด้ใหม่ ปริมาณ ขวดละ 4 มิลลิลิตร นำวัสดุเพาะที่ได้เก็บไว้ในตู้มืดที่อุณหภูมิประมาณ 18-22 องศาเซลเซียส รอให้เส้นใยของเชื้อราเจริญคลุมทั่ววัสดุเพาะ

ทำการเตรียมสารสกัดจากพืชโดย นำถั่วงอกและข้าวโพดฝักอ่อน อย่างละ 100 กรัม มาปั่นคั้นน้ำและกรองกาก ซึ่งหลังจากกรองกากออกแล้ว ได้สารสกัดถั่วงอก 40 มิลลิลิตร และสารสกัดข้าวโพดฝักอ่อน 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ต้มด้วยไฟอ่อนเป็นเวลา 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำมาพบนวัสดุเพาะ หลังจากเส้นใยของเชื้อรา *C. tenuipes* เจริญคลุมทั่ววัสดุเพาะและเริ่มสร้างก้านดอกเห็ดแล้ว ทำการเปรียบเทียบกับฮอร์โมนเห็ด

ทำการวางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ทดสอบปริมาณและการใช้สารสกัดจากถั่วงอกและข้าวโพดฝักอ่อนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าหิมะ ทำการพบนสารสกัดจากพืชและฮอร์โมนเห็ด โดยพบนบนวัสดุเพาะในปริมาณ

ครั้งละ 0.5 มิลลิลิตร ในความถี่ของระยะเวลาที่แตกต่างกัน โดยทำการพบนในวันที่ 1, พบนวันที่ 1 และ 2, พบนวันที่ 1 และ 3, พบนวันที่ 1 และ 4, พบนวันที่ 1 และ 5, พบนวันที่ 1 และ 6, พบนวันที่ 1 และ 7, พบนวันที่ 1 และ 8, พบนวันที่ 1, 4, 7, พบนวันที่ 1, 5, 9 และ พบนวันที่ 1, 3, 5, 7, 9 ทำการเพาะเลี้ยงในตู้มืด สังเกตผลการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดถั่งเช่าหิมะ บันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยา ความสูงเฉลี่ยของเห็ดถั่งเช่าหิมะ น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง

การวิเคราะห์สารออกฤทธิ์สำคัญของเห็ดถั่งเช่าหิมะบนก้านดอกเห็ดและบนวัสดุเพาะ

ทำการวิเคราะห์สาร adenosine ในเห็ดถั่งเช่าหิมะ โดยสกัดสารจากเห็ดถั่งเช่าหิมะบดละเอียด 1 กรัม ด้วยน้ำกลั่น และ methanol อย่างละ 5 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง บั่นเหวี่ยง (centrifuge) จากนั้นกรองเฉพาะส่วนที่เป็นสารสกัดใส ไปวิเคราะห์สาร adenosine ด้วยเครื่อง high-performance liquid chromatography (HPLC) (Huang et al., 2009) นำข้อมูลที่ได้มาทำการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลของปริมาณและการใช้สารสกัดจากพืชบางชนิดที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าหิมะ

จากการทดสอบความถี่ในการพบนสารสกัดจากถั่วงอก พบว่า การพบนสารสกัดถั่วงอกวันที่ 1, 4, 7 ให้ผลที่ดีที่สุด โดยให้ความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 2.38 เซนติเมตร น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 17.23 และ 1.90 กรัมต่อขวดเพาะ รองลงมาคือการพบนสารสกัดถั่วงอกวันที่ 1, 5, 9 โดยให้ความสูงเฉลี่ย 2.03 เซนติเมตร ให้น้ำหนักก้านสดและแห้งคือ 15.91 และ 1.77 กรัมต่อขวดเพาะ ซึ่งทั้ง 2 กรรมวิธี ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \geq 0.05$) จากการทดสอบพบนฮอร์โมนการเจริญเติบโตลงบนเห็ดถั่งเช่าหิมะด้วยสารสกัดข้าวโพดฝักอ่อน การพบนสารสกัดข้าวโพดฝักอ่อน ในวันที่วันที่ 1, 4, 7 ให้ผลที่ดีที่สุดโดยให้ความสูงเฉลี่ยที่ 2.28 เซนติเมตร ให้น้ำหนักก้านสดและแห้งที่ 12.42 และ 1.83 กรัมต่อขวดเพาะ รองลงมาคือการพบนสารสกัดข้าวโพดฝักอ่อนในวันที่ 1 และ 4 โดยให้

ความสูงเฉลี่ย 1.85 เซนติเมตร ให้น้ำหนักสดและแห้งที่ 12.35 และ 1.76 กรัมต่อขวดเพาะ ซึ่งทั้ง 2 กรรมวิธีไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \geq 0.05$) และเมื่อพิจารณาการปนสรโหมนเห็ด ลงบนเห็ดถึงเข้าหิมะ การปนในวันวันที่ 1, 4, 7 ให้ผลที่ดีที่สุดกว่าทุกกรรมวิธี โดยให้ความสูงเฉลี่ยที่ 2.58 เซนติเมตร ให้น้ำหนักก้านสดและแห้งเฉลี่ยที่ 19.91 และ 2.20 กรัมต่อขวดเพาะ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) กับทุกกรรมวิธี (Table 1) จากการทดลองพบว่า การปนสารสกัดจากพืชมีผลต่อการสร้างก้านดอกเห็ดของเห็ดถึงเข้าหิมะ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ramachela and Sihlagu (2016) ได้ทำการทดสอบปนสรโหมนพืชกลุ่มออกซินกับเห็ดนางรม ทำให้ทราบว่าการสร้างเส้นใยและการสร้างดอกเห็ดของเห็ดนางรม เร็วกว่าการใช้สรโหมนพืชจากกลุ่มอื่นและการไม่ใช้สรโหมนพืช โดยการใส่สรโหมนพืชในกลุ่มออกซิน ทำให้เชื้อเห็ดนางรมเดินเส้นใยได้เร็วที่สุดที่ 38% รองลงมาคือ จิบเบอเรลลินที่ 29% ตามด้วย ไซโตไคนิน และกรรมวิธีที่ไม่ใช้สรโหมนพืช โดยเส้นใยของเห็ดนางรมเจริญให้ค่าเท่ากับที่ 20%

จากนั้นนำข้อมูลจากตารางที่ 1 มาทำการเปรียบเทียบสารสกัดถั่วงอก สารสกัดข้าวโพดฝักอ่อน และสรโหมนเห็ดอีกครั้ง เพื่อหาความถี่ในการปนที่เหมาะสม โดยพิจารณาความสูงเฉลี่ย น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเฉลี่ย จึงได้คัดเลือก กรรมวิธีที่ให้ผลดีที่สุด 3 กรรมวิธีคือ การปนวันที่ 1, 4, 7 ซึ่งให้ผลดีที่สุดจากการปนสารสกัดจากถั่วงอก สารสกัดข้าวโพดฝักอ่อน และสรโหมนเห็ด การปนในวันที่ 1, 5, 9 เป็นผลดีจากการปนสารสกัดถั่วงอก และคัดเลือกการปนวันที่ 1 และ 4 ซึ่งเป็นผลดีจากการปนสารสกัดข้าวโพดฝักอ่อน พบว่าการปนสรโหมน ในวันที่ 1, 4, 7 ให้ผลดีที่สุด โดยสรโหมนเห็ด ให้ความสูงเฉลี่ยมากที่สุดที่ 2.58 เซนติเมตร รองลงมาคือ สารสกัดข้าวโพดฝักอ่อนและสารสกัดถั่วงอก โดยมีความสูง 2.38 และ 2.28 เซนติเมตร ตามด้วยสรโหมนเห็ดและสารสกัดถั่วงอก พ่นวันที่ 1, 5, 9 มีความสูงเฉลี่ย 2.23 และ 1.98 เซนติเมตร ตามลำดับ เมื่อพิจารณา น้ำหนักสดเฉลี่ยของก้านดอกเห็ด พบว่า การปนสรโหมนเห็ด โดยพ่นวันที่ 1, 4, 7 ให้น้ำหนักสดเฉลี่ยมากที่สุดที่ 19.91 กรัมต่อขวดเพาะ รองลงมาคือ การปนสารสกัดถั่วงอก

Table 1. Average of the height and the fresh and dry weight of *Cordyceps tenuipes* fruiting body after application of the extracts of bean sprouts and baby corn compared to commercial mushroom hormone

Spraying frequency	Bean sprouts			Fruiting body			Mushroom hormone		
	Average height (cm)	Average fresh weight (g/bottle)	Average dry weight (g/bottle)	Average height (cm)	Average fresh weight (g/bottle)	Average dry weight (g/bottle)	Average height (cm)	Average fresh weight (g/bottle)	Average dry weight (g/bottle)
Day 1	1.34 ^{e1}	7.70 ^d	1.64 ^{bc}	0.78 ^e	9.81 ^{bcd}	0.96 ^e	1.65 ^{bcd}	9.43 ^d	1.49 ^{cde}
Day 1-2	2.00 ^{abcd}	14.30 ^b	1.67 ^{bc}	1.98 ^{ab}	11.24 ^{ab}	1.36 ^{bc}	2.00 ^{abc}	9.66 ^{cd}	1.30 ^{de}
Day 1-3	1.24 ^e	11.95 ^c	1.60 ^c	1.63 ^{bcd}	9.20 ^{cde}	1.39 ^b	1.93 ^{bc}	8.75 ^d	1.25 ^e
Day 1-4	1.80 ^{bode}	14.33 ^b	1.18 ^f	1.85 ^{ab}	12.35 ^a	1.76 ^a	1.63 ^{bcd}	13.13 ^b	1.61 ^{bcd}
Day 1-5	2.10 ^{ab}	12.00 ^c	1.63 ^{bc}	1.33 ^{cd}	8.58 ^{cde}	1.25 ^{cd}	0.88 ^e	6.83 ^e	1.74 ^{bc}
Day 1-6	1.95 ^{abcd}	4.66 ^e	0.83 ^g	1.85 ^{ab}	8.42 ^{de}	1.43 ^b	1.43 ^{cde}	6.46 ^e	0.83 ^f
Day 1-7	1.50 ^{cde}	11.16 ^c	1.43 ^d	1.50 ^{bcd}	6.31 ^f	1.21 ^d	1.48 ^{cde}	6.82 ^e	1.36 ^{de}
Day 1-8	1.45 ^{de}	7.45 ^d	0.83 ^g	1.20 ^{de}	9.80 ^{bcd}	1.25 ^{cd}	1.10 ^{de}	10.13 ^{cd}	1.52 ^{bode}
Day 1,4,7	2.38 ^a	17.23 ^a	1.90 ^a	2.28 ^a	12.42 ^a	1.83 ^a	2.58 ^a	19.91 ^a	2.20 ^a
Day 1,5,9	2.03 ^{abc}	15.91 ^{ab}	1.77 ^{ab}	1.98 ^{ab}	10.21 ^{bc}	1.44 ^b	2.23 ^{ab}	13.23 ^b	1.84 ^b
Day 1,3,5,7,9	1.63 ^{bode}	8.47 ^d	1.24 ^{ef}	1.65 ^{bcd}	8.14 ^e	1.25 ^{cd}	1.50 ^{cde}	9.72 ^{cd}	1.53 ^{bode}
Control	1.78 ^{bode}	11.27 ^c	1.37 ^{de}	1.78 ^{bc}	8.62 ^{cde}	0.68 ^f	1.78 ^{bc}	11.23 ^c	1.39 ^{de}

¹Means within the same column followed by the same letters are not significantly different at $P \geq 0.05$

มีน้ำหนักสดเฉลี่ยก้านดอกเห็ดที่ 17.23 กรัมต่อขวดเพาะ ในส่วนของน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของก้านดอกเห็ด พบว่า การพ่นในวันที่ 1, 4, 7 ให้ผลดีที่สุดเมื่อพ่นด้วยฮอร์โมนเห็ด ให้น้ำหนักแห้งเฉลี่ยมากที่สุดที่ 2.20 กรัมต่อขวดเพาะ รองลงมาคือ สารสกัดถั่งงอกให้ผลที่ 1.90 กรัมต่อขวดเพาะ สารสกัดข้าวโพดฝักอ่อน 1.83 กรัมต่อขวด ตามด้วย สารสกัดถั่งงอกพ่นวันที่ 1, 5, 9 ให้น้ำหนักแห้งเฉลี่ย ที่ 1.77 กรัมต่อขวดเพาะ ดังนั้นจึงได้คัดเลือก สารสกัด จากพืชและฮอร์โมนเห็ดทั้ง 3 ชนิด พ่นวันที่ 1, 4, 7 และ คัดเลือก สารสกัดถั่งงอกและฮอร์โมนเห็ด พ่นวันที่ 1, 5, 9 เพื่อทำการทดลองในขั้นต่อไป

จากการพ่นด้วยฮอร์โมนการเจริญเติบโตจาก สารสกัดถั่งงอก พบว่า ลักษณะของก้านดอกเห็ดถั่งเช่า หิมะ มีสีเหลืองและอวบในทุกกรรมวิธี มีความสูงของก้าน ดอกเห็ดประมาณ 2.00 เซนติเมตร (Figure 1A, 1B, 1C) ส่วนก้านดอกเห็ดที่ถูกพ่นด้วยสารสกัดข้าวโพดฝักอ่อน มีสีเหลืองและอวบ (Figure 1D, 1E) ความสูงประมาณ 2.00 เซนติเมตร แต่ในกรรมวิธีที่พ่นในวันที่ 1, 5 และ 9 มีจำนวนก้านดอกเห็ดที่ไม่หนาแน่นเต็มขวดเท่า กรรมวิธีอื่น (Figure 1F) ในส่วนของก้านดอกเห็ด ที่ถูกพ่น ด้วยฮอร์โมนเห็ด มีสีเหลืองแต่ก้านดอกเห็ดมีลักษณะลีบ เล็กกว่าก้านดอกเห็ดที่ถูกพ่นด้วยฮอร์โมนการเจริญเติบโต ชนิดอื่นเล็กน้อย และมีจำนวนก้านดอกเห็ดแน่นเต็ม ขวดเพาะ (Figure 1G, 1H, 1I)

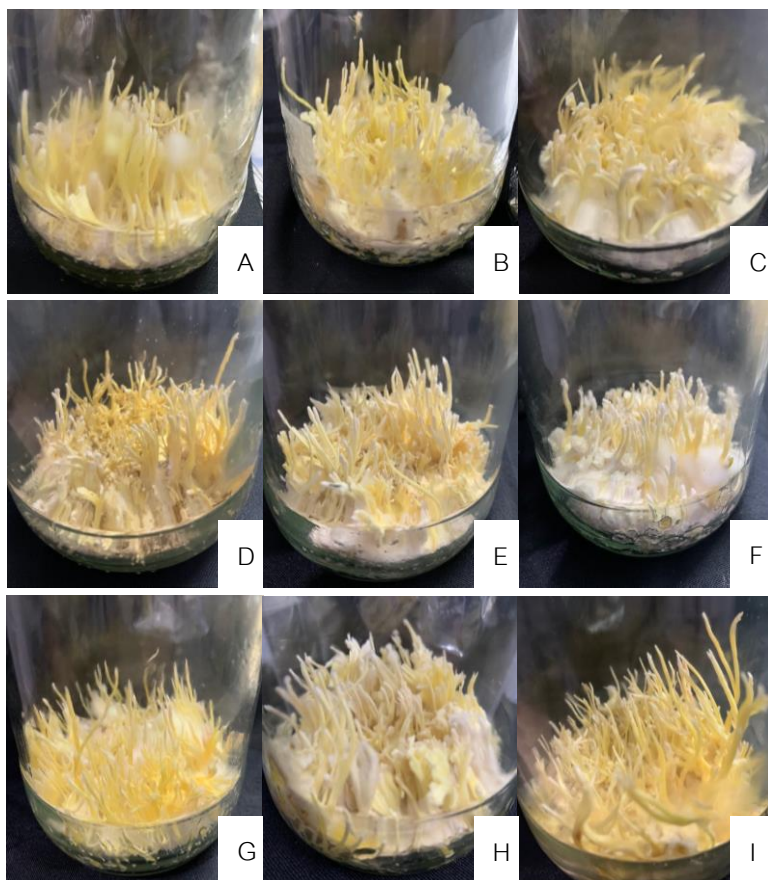


Figure 1. Morphology of snowflake cordyceps after sprayed with various boiled aqueous plant extracts and a commercial mushroom hormone; (A) Bean sprouts at day 1-4 (B) Bean sprouts at day 1, 4, 7 (C) Bean sprouts at day 1, 5, 9 (D) Baby corn at day 1-4 (E) Baby corn at day 1, 4, 7 (F) Baby corn at day 1, 5, 9 (G) Commercial mushroom hormone at day 1-4 (H) Commercial mushroom hormone at day 1, 4, 7 (I) Commercial mushroom hormone at day 1, 5, 9

ผลการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์สำคัญของเห็ดถั่งเช่าหิมะบนก้านดอกเห็ด

ในส่วนของการฟั่นฮอร์โมนเห็ด พบว่า มีหยดน้ำสีเขียวตกค้างอยู่บนวัสดุเพาะ (Figure 2) จึงไม่นำไปวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ เนื่องจากสีตกค้างอยู่บนวัสดุเพาะ เป็นสีที่ไม่ได้จากธรรมชาติ อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค และทำให้ปริมาณสารออกฤทธิ์ที่วิเคราะห์มีความคลาดเคลื่อนได้

ดังนั้นจึงวิเคราะห์สาร adenosine ด้วยวิธี high-performance liquid chromatography (HPLC) จากก้านดอกเห็ด จากกรรมวิธีที่ใช้สารสกัดถั่งงอก ฟ่นวันที่ 1, 4 และ 7 และฟ่นวันที่ 1, 5 และ 9 และสารสกัดข้าวโพดฝักอ่อน ฟ่นวันที่ 1, 4 และ 7 พบว่า การฟั่นสารสกัดถั่งงอกฟ่นวันที่ 1, 4 และ 7 ทำให้ก้านดอกเห็ดมีปริมาณสาร adenosine มากที่สุดที่ 49.22 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม รองลงมาเป็นกรรมวิธีที่ฟ่นด้วยสารสกัดถั่งงอก

ในวันที่ 1, 5 และ 9 และ สารสกัดข้าวโพดฝักอ่อน ฟ่นวันที่ 1, 4 และ 7 มีปริมาณ adenosine ในก้านดอกเห็ด 41.84 และ 39.04 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (Table 2) ซึ่งมากกว่าการทดลองของ Manorat (2015) ที่ได้ทำการวิเคราะห์สาร adenosine บนก้านดอกเห็ดบนวัสดุเพาะข้าวหอมมะลิ 105 ผสมดักแด้ใหม่ ที่ไม่มีการฉีดพ่นฮอร์โมนการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าหิมะพบสาร adenosine เพียง 6.70 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม และจากการทดลองของ Sun *et al.* (2013) ได้ทำการวิเคราะห์ฮอร์โมนที่พบในต้นถั่งงอก ด้วยวิธี Micellar Electrokinetic Chromatography (MEKC) ซึ่งพบฮอร์โมนพืช IAA, IBA, GA3, ABA และ NAA ในความเข้มข้น 0.076, 3.302, 0.528, 0.721 และ 0.164 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งฮอร์โมนเหล่านี้มีส่วนช่วยให้ต้นถั่งงอกเจริญเติบโตและอาจมีผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าหิมะ



Figure 2. Green water drop on *Cordyceps tenuipes* media

Table 2. Adenosine content in fruiting body of *Cordyceps tenuipes* grown on media after spraying with boiled aqueous plant extracts at different times

Plant extracts	Application time	Adenosine content (mg/100g)
Bean sprouts	Day 1, 4, 7	49.22 ns
Bean sprouts	Day 1, 5, 9	41.84 ns
Baby corn	Day 1, 4, 7	39.04 ns

ns=Not significant

สรุป

จากการศึกษาปริมาณและการใช้สารสกัดจากพืชบางชนิดที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าหิมะ (*Cordyceps tenuipes*) พบว่า การพ่นสารสกัดจากพืชทั้ง 2 ชนิด และฮอร์โมนเห็ด ในวันที่ 1, 4, 7 ให้ผลดีที่สุด ฮอร์โมนเห็ด มีความสูงเฉลี่ยมากที่สุดที่ 2.58 เซนติเมตร และมีน้ำหนักก้านดอกเห็ดสดและแห้งมากที่สุดที่ 19.91 กรัม และ 2.20 กรัม รองลงมาคือ การพ่นด้วยสารสกัดถั่วอก ให้ความสูงเฉลี่ยที่ 2.38 เซนติเมตร และมีน้ำหนักก้านดอกเห็ดสดและแห้ง 17.23 กรัม และ 1.90 กรัม ในลำดับสุดท้ายคือสารสกัดข้าวโพดฝักอ่อน ให้ความสูงเฉลี่ยที่ 2.28 เซนติเมตร ให้น้ำหนักก้านสดและแห้งที่ 12.42 กรัม และ 1.83 กรัม เมื่อคัดเลือกก้านดอกเห็ดถั่งเช่าหิมะที่พ่นด้วย สารสกัดถั่วอกและสารสกัดข้าวโพดฝักอ่อน ไปวิเคราะห์สาร adenosine พบว่า ก้านดอกเห็ดถั่งเช่าหิมะที่ถูกพ่นด้วยสารสกัดถั่วอก ในวันที่ 1, 4 และ 7 พบสาร adenosine 49.22 มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม ดังนั้นการพ่นสารสกัดถั่วอกลงบนวัสดุเพาะ หลังจากเริ่มสร้างก้านดอกเห็ดถั่งเช่าหิมะ ในวันที่ 1, 4, 7 ในปริมาณ 0.5 มิลลิตรต่อครั้ง ใช้ปริมาณรวมทั้งหมด 1.5 มิลลิตรต่อขวดเพาะ เป็นวิธีการที่เหมาะสมสำหรับนำไปใช้ในการเร่งการเจริญเติบโตให้กับเห็ดถั่งเช่าหิมะ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณศูนย์หม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติสมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถ จังหวัดเชียงใหม่ กรมหม่อนไหม กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ที่ให้การสนับสนุนสถานที่และอุปกรณ์ในการทำงานวิจัย และ ขอขอบคุณ ทู่นสนับสนุนงานวิจัยจากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เอกสารอ้างอิง

Huang, L., Q. Li, Y. Chen, X. Wang and X. Zhou. 2009. Determination and analysis of cordycepin and adenosine in the products

of *Cordyceps* spp. African Journal of Microbiology Research 3(12): 957-961.

Jarassamrit, N. 1994. Plant hormone and plant growth regulators. Sahamit Press, Bangkok. 124 p. (in Thai)

Ji, S.D., G.B. Sung, P.D. Kang, K.Y. Kim, Y.S. Choi, N.S. Kim, S.O. Woo, S.M. Han, I.P. Hong and N.G. Ha. 2011. Synnemata production using silkworm variety, female Yangwonjam by *Isaria tenuipes*. Mycobiology 39(3): 158-163.

Kepler, R.M., J.J. Luangsa-ard, N.L. Hywel-Jones, C.A. Quandt, G.H. Sung, S.A. Rehner, M.C. Aime, T.W. Henkel, T. Sanjuan, R. Zare, M.J. Chen, Z.Z. Li, A.Y. Rossman, J.W. Spatafora and B. Shrestha. 2017. A phylogenetically-based nomenclature for Cordycipitaceae (Hypocreales). International Mycological Association Fungus 8(2): 335-353.

Konala, N., P. Abburi, V.R. Bovilla and A. Mamillapalli. 2013. The effect of bovine milk on the growth of *Bombyx mori*. Journal of Insect Science 13: 98, doi: 10.1673/031.013.9801.

Liengpompan, S. 2007. How does insect eating affect human being? Thaksin University Journal 10(2): 1-11. (in Thai)

Luerdara, K., J. Kulsarin, S. Buranapanichpan and T. Tapingkae. 2016. Growth of gold cordyceps (*Cordyceps militaris*) on pupae of Nanglai Thai native silkworm and eri silkworm. Journal of Agriculture 32(1): 95-102. (in Thai)

Manorat, P. 2015. Effect of mixed silkworm pupa culture media on growth and development of snowflake cordyceps (*Isaria tenuipes*). B.S. Special Problem. Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai. 26 p. (in Thai)

- Ramachela, K. and S.M. Sihlangu. 2016. Effects of various hormonal treated plant substrates on development and yield of *Pleurotus ostreatus*. Cogent Food & Agriculture 2: 1, doi: 10.1080/23311932.2016.1276510.
- Russell R. and M. Paterson. 2008. Cordyceps-a traditional Chinese medicine and another fungal therapeutic biofactory. Phytochemistry 69(7): 1469-1495.
- Tapingkae, T. 2012. Cordyceps mushroom cultivation. Twofour Printing, Bangkok. 94 p. (in Thai)
- Sun, Y.N., X.Y. Qin, Y.K. Lv, S.Z. Li and C. Wei. 2013. Simultaneous determination of five phytohormones in mungbean sprouts of China by micellar electrokinetic chromatography. Journal of Chromatographic Science 52(7): 1-5.
- Wattanathorn, J. and S. Muchimapura. 2012. Silkworm pupae protect against Alzheimer's disease. American Journal of Agricultural and Biological Sciences 7(3): 330-336.
- Wen, T.C., G.R. Li, J.C. Kang, C. Kang and K.D. Hyde. 2014. Optimization of solid-state fermentation for fruiting body growth and cordycepin production by *Cordyceps militaris*. Chiang Mai Journal of Science 41(4): 858-872.
- Wongsiri, S. 2012. Edible insects to be used as food during natural disasters. The Journal of the Royal Institute of Thailand 37(1): 125-139. (in Thai)
-