

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใย ปริมาณผลผลิต คุณภาพ และปริมาณบีต้า-กลูแคนของเห็ดตีนแรด

Factors Influencing Mycelial Growth, Yield, Quality and β -glucan Content of Hed Taen Rad (*Macrocybe crassa*)

ธนภักษ์ อินยอด^{1*} สุทธิพันธ์ แก้วสมพงษ์² อัจฉรา พัยพานนท์³ ธนากร ลัทธธีระสุวรรณ⁴

ชนิษฐา ชวนะนรเศรษฐ¹ ธนภัทร เต็มอารมณ¹ ชาทรี กอนี¹ สุริมา ญาดีโส¹ สุจิตรา บัวลอย¹

และ ปิยะดา เอี่ยมประสงศ์¹

Tanapak Inyod^{1*} Suttipun Keawsompong² Achara Payapanon³ Thanakorn Lattirasuvan⁴

Khanittha Chawanorasest¹ Thanapat Termarom¹ Chatree Konee¹ Surima Yatsom¹ Suchitra Bualoi¹

and Piyada Eamprasong¹

¹สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) เทคโนโลยี ปทุมธานี

²ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร

³กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพมหานคร

⁴สาขาวิชาการจัดการป่าไม้ มหาวิทยาลัยแม่โจ้-แพร่ เฉลิมพระเกียรติ แพร่

¹Thailand Institute of Scientific and Technological Research (TISTR), Technopolis, Pathum Thani

²Department of Biotechnology, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, Bangkok

³Department of Agriculture, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Bangkok

⁴Forest Management Program, Maejo University, Phrae Campus, Phrae

*E-mail: tanapak@tistr.or.th

Received: Oct 17, 2022

Revised: Dec 12, 2022

Accepted: Jan 03, 2023

บทคัดย่อ

บีต้า-กลูแคนเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ พบได้ในเห็ดหลายชนิด รวมทั้งเห็ดตีนแรด (*Macrocybe crassa*) ปริมาณของบีต้า-กลูแคนที่พบในเห็ดขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น สายพันธุ์ของเห็ด และส่วนประกอบของวัสดุเพาะ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใย ผลผลิต คุณภาพ และปริมาณของบีต้า-กลูแคนของเห็ดตีนแรด 5 สายพันธุ์ (DOA, DOA-1, DOA-4, DOA-7 และ DOA-10) ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดตีนแรดที่ศึกษา คือ ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ (Corn meal agar, Coconut water agar, Glucose peptone agar, V8 juice agar, Malt extract agar และ Potato dextrose agar) ความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ (4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10) อุณหภูมิสำหรับการเจริญของเส้นใยเห็ด (15, 20, 25, 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส) ผลการทดลองพบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเส้นใยเห็ดตีนแรดทุกสายพันธุ์ที่ใช้ในการศึกษานี้ คือ การเพาะเลี้ยงบนอาหาร Malt extract agar ที่ pH ในช่วง 5-10 และที่อุณหภูมิในช่วง 20-30 องศาเซลเซียส ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณผลผลิต คุณภาพ และปริมาณของบีต้า-กลูแคนของเห็ดตีนแรดที่ศึกษา คือ วัสดุเพาะเห็ดจำนวน 7 สูตรสำหรับการเพาะเลี้ยงในสภาวะโรงเรือนเพาะเห็ด นำเห็ดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงด้วยวัสดุเพาะต่าง ๆ มาวิเคราะห์ปริมาณผลผลิต คุณภาพของดอกเห็ด คุณค่าทางโภชนาการ และปริมาณบีต้า-กลูแคน ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเพาะเห็ดตีนแรดสายพันธุ์ DOA-10 ด้วยวัสดุเพาะสูตรที่ 7 (ก้อนเชื้อเห็ดเก่าผสมกับเมล็ดข้าวโพดป่น) ให้ปริมาณผลผลิตสูงสุด และดอกเห็ดมีคุณภาพสูงสุด โดยมีความกว้างหมวกดอก และความยาวก้านดอกมากที่สุด ในขณะที่การเพาะเห็ดตีนแรดสายพันธุ์ DOA-1 ด้วยวัสดุเพาะสูตรที่ 2 (สูตรมาตรฐานสำหรับการเพาะเห็ดเศรษฐกิจ) ให้ปริมาณบีต้า-กลูแคน และปริมาณแร่ธาตุหลักบางชนิด (ฟอสฟอรัส, โพแทสเซียม และแคลเซียม) สูงสุด ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้เป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาการผลิตเห็ดตีนแรดเชิงพาณิชย์ต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ: เห็ดตีนแรด บีต้า-กลูแคน วัสดุเพาะ การเจริญของเส้นใย

Abstract

β -glucan belongs to bioactive polysaccharides found in a variety of mushrooms including Hed Taen Rad (*Macrocybe crassa*). β -glucan contents in mushrooms depend on a number of factors such as mushroom strains and cultivation substrate compositions. This research aimed to study factors influencing mycelial growth, yield, quality and β -glucan content of 5 *M. crassa* strains (DOA, DOA-1, DOA-4, DOA-7 and DOA-10). Factors influencing mycelial growth of *M. crassa* strains to be tested were types of media (Corn meal agar, Coconut water agar, Glucose peptone agar, V8 juice agar, Malt extract agar and Potato dextrose agar), pH of media (4, 5, 6, 7, 8, 9 and 10) and temperatures for mycelial growth (15, 20, 25, 30, 35 and 40°C). The results revealed that the optimal conditions for mycelial growth of all *M. crassa* strains used in this study were cultivation on Malt extract agar at pH in the range of 5-10 and at temperatures in the range of 20-30°C. Factors influencing yield, quality and β -glucan content of *M. crassa* strains to be tested were 7 cultivation substrate formulas for mushroom cultivation in mushroom house condition. Mushrooms cultivated with different cultivation substrates were analyzed for their yields, quality of fruiting bodies, nutritional values and β -glucan contents. The results demonstrated that cultivation of *M. crassa* strain DOA-10 with cultivation substrate formula 7 (old sawdust mixed with corn seed powder) resulted in the maximum yield of mushroom and the highest quality of fruiting body with the highest cap diameter and stalk length. On the other hand, cultivation of *M. crassa* strain DOA-1 with cultivation substrate formula 2 (standard formula for commercial mushroom cultivation) resulted in the maximum contents of β -glucan and some major minerals (phosphorus, potassium and calcium). The information obtained from this study is useful for further development of the commercial production of *M. crassa* in the future.

Keywords: *Macrocybe crassa*, β -glucan, Cultivation substrate, Mycelial growth

1. บทนำ

เห็ดตีนแรดในประเทศไทยเริ่มมีการศึกษาทดลองตั้งแต่ปี พ.ศ. 2501 โดยณรงค์ มีนระนันท์ และเสียงทอง นุตาลัย จากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ซึ่งได้ส่งตัวอย่างเห็ดตีนแรดไปยังสวนพฤกษศาสตร์หลวงเมืองคิว (Kew Botanical Garden) ประเทศอังกฤษ และได้รับการจัดจำแนกเป็น *Tricholoma crassum* (Berk.) sacc. [1] แต่ในปัจจุบันเปลี่ยนเป็น *Macrocybe crassa* [2] ลักษณะดอกของเห็ดตีนแรดมีขนาดใหญ่สีขาว เมื่ออายุมากสีจะหม่นมากขึ้นคล้ายสีครีมหรือสีขาวปนเทา สามารถเจริญเติบโตได้ดีทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทย จึงมีชื่อเรียกตามแต่ละท้องถิ่นต่าง ๆ กัน เช่น ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เรียกว่า ตีนแฮด ภาคกลางเรียกเห็ดตับเต่าขาวหรือเห็ดยักษ์ ภาคเหนือเรียกว่าเห็ดจั่น ภาคใต้เรียกเห็ดหัวส้ม เห็ดตีนแรดสามารถรับประทานได้ มีรสชาติดี เนื้อกรอบไม่เหนียว มีคุณสมบัติไม่ย่อยตัวเอง (Non-autolysis) [3] คุณค่าทางโภชนาการสูง โดยเห็ดตีนแรด 100 กรัม ประกอบด้วย โปรตีน 2.91 กรัม คาร์โบไฮเดรต 10.02 กรัม ไขมัน 0.486 กรัม แร่ธาตุ 1.293 กรัม ไนโตรเจน 0.287 กรัม แคลเซียม 2.71 มิลลิกรัม เหล็ก 3.36 มิลลิกรัม และ

ฟอสฟอรัส 115.75 มิลลิกรัม [4] นอกจากนี้ พบว่าเห็ดในตระกูลเดียวกัน เช่น *T. gambosum* และ *T. matsutake* มีสารที่มีผลต่อการควบคุมระบบการหมุนเวียนของโลหิต ลดไขมันและยับยั้งเซลล์มะเร็ง [5] เช่น ซีลีเนียม (Selenium; Se) โดยดอกเห็ดตีนแรดมีปริมาณธาตุซีลีเนียมสะสมอยู่ระหว่าง 35-180 ไมโครกรัมต่อดอกเห็ด 1 กิโลกรัม สูงกว่าเห็ดถั่ว (*Coprinus cinereus*) และเห็ดฟาง (*Volvariella volvacea*) ที่มีปริมาณธาตุซีลีเนียมอยู่ 12 และ 123 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งซีลีเนียมมีคุณสมบัติทำหน้าที่เป็นส่วนหนึ่งของระบบต้านอนุมูลอิสระ สามารถป้องกันและลดความเสี่ยงการเกิดมะเร็ง เช่น มะเร็งต่อมลูกหมาก [6], [7] นอกจากนี้ซีลีเนียมแล้ว บัต้า-กลูแคน (β -glucan) ก็เป็นสารสำคัญในเห็ดที่มีคุณสมบัติเช่นเดียวกัน

บัต้า-กลูแคนเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharides) ที่ประกอบด้วย β -D-glucose เรียงต่อกันเป็นสาย พบได้ทั้งในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตหลายชนิด รวมทั้งในเห็ด มีรายงานว่าสารบัต้า-กลูแคน (β -glucan) ที่สกัดได้จากเห็ดที่รับประทานได้ มีฤทธิ์ในการเพิ่มการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย เช่น การทดสอบฤทธิ์ของสารบัต้า-กลูแคนในหนูทดลอง โดย

หลังจากให้บีต้า-กลูแคนเป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่า ตับ ม้าม และลำไส้เล็กของหนูมีปริมาณของ Macrophage, NK-cell และ Mononuclear cell ที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันเพิ่มขึ้นและมีขนาดใหญ่ขึ้น [8] สอดคล้องกับการศึกษาของ Cao and Lin [9] ซึ่งพบว่าสารบีต้า-กลูแคนจากเห็ดหลินจือ (*Ganoderma lucidum*) มีฤทธิ์เพิ่มการเจริญเติบโต และเพิ่มจำนวนของ Dendritic cell รวมทั้งเพิ่มปริมาณ NK-cell อีกทั้งมีคุณสมบัติช่วยลดการอักเสบหรือโรคอักเสบเรื้อรัง เช่น โรคลำไส้อักเสบ และโรคเกาต์ [10]

โดยปกติสารสำคัญที่มีคุณสมบัติดังกล่าวในดอกเห็ดมีปริมาณน้อย และไม่เพียงพอที่จะนำมาใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรม ที่ผ่านมามีการศึกษาถึงปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อปริมาณสารสำคัญดังกล่าวในดอกเห็ด มีรายงานว่านอกจากคุณภาพของสายพันธุ์เห็ดแล้ว ชนิดของวัสดุเพาะที่มีสารอาหารต่างกัน มีผลต่อคุณค่าทางโภชนาการของเห็ด สารสำคัญที่อยู่ในดอกเห็ด และปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ และโปรตีน [11] อาหารเสริมเป็นอีกปัจจัยที่ช่วยให้การเพาะเห็ดประสบความสำเร็จ ให้ผลผลิตสูง และดอกเห็ดมีคุณภาพ มีการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเห็ดตีนแรด 6 สูตร พบว่าสูตรที่ประกอบด้วย ซีลีเยอไมยางพารา กากถั่วเหลือง ข้าวโพดป่น และรำละเอียดให้ค่าประสิทธิภาพการผลิต (% Biological efficiency) สูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับร้อยละ 29.11 และให้ปริมาณโปรตีนของดอกเห็ดที่สูง โดยมีค่าเท่ากับ 13.38 กรัมต่อ 100 กรัม [11] จากข้อมูลการศึกษา และตัวอย่างรายงานการวิจัยข้างต้น มีความเป็นไปได้ว่าเห็ดตีนแรดมีฤทธิ์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย ทั้งในแง่ของการกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย เห็ดชนิดนี้จึงเหมาะสมที่จะได้รับการส่งเสริมให้รู้จัก และส่งเสริมให้มีการบริโภคมากขึ้น รวมถึงการนำไปพัฒนาเป็นอาหารฟังก์ชัน (Functional foods) เพื่อเสริมสร้างประโยชน์ให้กับร่างกาย นอกจากนี้ ด้วยลักษณะดอกขนาดใหญ่ เนื้อแน่น น้ำหนักดีของเห็ดตีนแรด ยังสามารถช่วยให้เกษตรกรมีรายได้เพิ่มขึ้นจากการเพาะเป็นการค้า

คณะผู้วิจัยเล็งเห็นว่าการพัฒนากระบวนการผลิตเห็ดตีนแรดให้มีประสิทธิภาพสูงสุดเป็นกระบวนการสำคัญที่จะสามารถส่งเสริมและพัฒนาให้เห็ดตีนแรดเป็นเห็ดเศรษฐกิจอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งการพัฒนากระบวนการผลิตเห็ดตีนแรดจำเป็นต้องมีข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อกระบวนการผลิตเห็ด ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใย ผลผลิต คุณภาพ

และปริมาณของบีต้า-กลูแคนของเห็ดตีนแรด 5 สายพันธุ์ (DOA, DOA-1, DOA-4, DOA-7 และ DOA-10) คณะผู้วิจัยคาดหวังว่าข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญ และมีประโยชน์ต่อการกระบวนการพัฒนาการผลิตเห็ดตีนแรดให้เป็นเห็ดเศรษฐกิจในอนาคต

2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

2.1. เชื้อเห็ดตีนแรด

เชื้อเห็ดตีนแรดที่ใช้ในการศึกษานี้ได้รับความอนุเคราะห์จากคุณอัจฉรา พยัพพานนท์ จากศูนย์รวบรวมเชื้อพันธุ์เห็ดแห่งประเทศไทย กรมวิชาการเกษตร จำนวน 4 สายพันธุ์ คือสายพันธุ์ DOA-1, DOA-4, DOA-7, DOA-10 และสายพันธุ์การค้า 1 สายพันธุ์ คือ DOA

2.2. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของเส้นใยเห็ดตีนแรด

เลี้ยงเส้นใยเห็ดตีนแรดบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) เป็นระยะเวลา 7 วัน จากนั้นใช้ Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะเส้นใยเห็ด วางชิ้นวุ้นตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยเทคนิคปลอดเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิห้อง วัดอัตราการเจริญของเส้นใยทุก 1 วัน เป็นเวลาทั้งหมด 10 วัน คำนวณขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (Colony)

2.3. การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดตีนแรด

2.3.1. การศึกษาผลของชนิดอาหารและความเป็นกรด-ด่างต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดตีนแรด

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 ชนิด ได้แก่ Corn meal agar (CMA), Coconut water agar (CWA), Glucose peptone agar (GPA), V8 juice agar (V8), Malt extract agar (MEA) และ PDA นำไปปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ให้ได้ pH 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 ینگเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เจาะเส้นใยเห็ดบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน ด้วย Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร วางชิ้นวุ้นกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ชนิด ที่มีระดับ pH ต่าง ๆ โดยเทคนิคปลอดเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นวัดอัตราการเจริญของเส้นใยทุก 1 วัน วัดการเจริญของเส้นใย คำนวณเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี (เซนติเมตร) และให้คะแนนความหนาแน่นเส้นใยตามเกณฑ์ที่กำหนดไว้ดังนี้

(+) เส้นใยบาง, (++) เส้นใยหนาปานกลาง และ (+++) เส้นใยหนามาก

2.3.2. การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดตีนแรด

เจาะเส้นใยเห็ดตีนแรดทั้ง 5 สายพันธุ์ที่เจริญบนอาหาร PDA ด้วย Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร นำไปวางตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดที่เหมาะสม (ตามผลการทดลองที่ได้จากการทดลองที่ 2.3.1.) จากนั้นนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวไปบ่มที่อุณหภูมิที่แตกต่างกัน 6 อุณหภูมิ คือ 15, 20, 25, 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส วัดอัตราการเจริญของเส้นใยทุก 1 วัน และบันทึกจำนวนวันที่เส้นใยเจริญเต็มจานอาหาร (เส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร)

2.4. การศึกษาวัสดุเพาะที่เหมาะสมต่อปริมาณผลผลิต คุณภาพ และปริมาณบีต้า-กลูแคนของดอกเห็ดตีนแรด

2.4.1. การเตรียมหัวเชื้อเห็ดในเมล็ดข้าวฟ่าง

นำเมล็ดข้าวฟ่างแช่น้ำ 1 คืน จากนั้นต้มจนสุกพอประมาณ ตากให้แห้งพอหมาด บรรจุลงขวดแก้วขวดละ

120 กรัม นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำเส้นใยเห็ดอายุ 7 วัน ตัดชิ้นวันที่มีเส้นใยเจริญวางในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง โดยเทคนิคปลอดเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน หรือจนเส้นใยเจริญปกคลุมเต็มเมล็ดข้าวฟ่างจึงนำไปหยอดเชื้อลงก้อน

2.4.2. การเตรียมวัสดุเพาะและอาหารเสริมทั้งหมด 7 สูตร

ชั่งน้ำหนักส่วนประกอบของวัสดุเพาะและอาหารเสริมให้ได้ปริมาณตามสูตร (Table 1) ผสมให้เข้ากัน จากนั้นปรับความชื้นวัสดุให้ได้ร้อยละ 60 บรรจุใส่ถุงพลาสติกขนาด 6.5 เซนติเมตร x 12.5 เซนติเมตร ให้ได้น้ำหนัก 850 กรัมต่อถุง จำนวนสูตรละ 20 ถุง นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อเตาตั้งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นทำการถ่ายเชื้อจากเมล็ดข้าวฟ่างลงในถุงก้อนเชื้อเห็ด โดยใช้แท่งเหล็กตีหัวเชื้อเห็ดให้กระจายโดยเทคนิคปลอดเชื้อ จากนั้นฉีดพ่นแอลกอฮอล์เพื่อฆ่าเชื้อบริเวณผิวก้อนเชื้อเห็ดแล้วหยอดหัวเชื้อเห็ดลงก้อนเห็ดแต่ละสูตร ประมาณ 10-20 เมล็ด แล้วปิดฝาให้สนิทบ่มก้อนเห็ดไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

Table 1 Compositions of different cultivation substrate formulas used in this study

Compositions (kg)	Cultivation substrate formulas						
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
Sawdust (Para rubber wood)	-	100	100	95	25	-	-
Straw	100	-	-	5	-	-	-
Old sawdust (Para rubber wood)	-	-	-	-	-	100	100
Corn powder (Cob and seed)	-	-	-	-	75	-	-
Cow manure	25	-	-	-	-	-	-
Rice bran	3	3	5	5	3	3	3
Calcium carbonate	1	1	1	1	1	1	1
Gypsum	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Corn seed powder	-	-	-	-	0.5	-	0.5
Pumice sulfate	-	-	-	-	-	3	-

2.4.3. การเปิดดอกเห็ดในโรงเรือนเปิดดอกและการเก็บผลผลิต

เตรียมโรงเรือนให้เหมาะสมต่อการเปิดดอกเห็ด จากนั้นนำก้อนเห็ดที่เส้นใยเจริญเต็มที่แล้ว นำมาเปิดหน้าก้อน โดยใช้มีดกรีดถูรอบ ๆ บริเวณปากถุง นำดินปลูกโรยบริเวณหน้าก้อน หนาประมาณ 5-10 เซนติเมตร รดน้ำให้ความชื้นแก่ก้อนเชื้อเห็ดวันละ 3 ครั้ง เช้า-กลางวัน-เย็น ครั้งละ 10 นาที ทุกวัน หลังจาก 25 วันเก็บผลผลิต และตรวจสอบคุณภาพของดอกเห็ด โดยการชั่งน้ำหนักสด วัดขนาดความกว้าง ความยาวของหมวกดอก และก้านดอก จากนั้นฉีกดอกเห็ดให้มีขนาดเล็กลง นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ในตู้อบลมร้อน เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปบดให้ละเอียดเพื่อนำไปวิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนาการ แร่ธาตุ และสารปีต้า-กลูแคนในตัวอย่างเห็ดตีนแรด

2.5. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและแร่ธาตุของเห็ด

การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ โดยดำเนินการทดสอบ ณ ห้องปฏิบัติการ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ดังนี้ วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน (Crude protein) ตามวิธีของ Kjeldahl [12] วิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรต (Total carbohydrate) โดยวิธี Phenol sulfuric acid method ดัดแปลงจาก Hansen and Moller [13] วิเคราะห์ปริมาณไขมัน (Crude fat) ปริมาณเยื่อใย (Crude fiber) และปริมาณเถ้าทั้งหมด (Total ash) ตามวิธีของ AOAC [14] วิเคราะห์ธาตุอาหารในเห็ด ได้แก่ K, Na, Cu, Ca, Zn, Mn, Mg และ Fe โดยใช้เครื่อง Atomic absorption spectrophotometer (AAS) [15] วิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัส (P) ในเห็ด โดยใช้ Spectrophotometer

molybdovanadophosphate method [16] และวิเคราะห์หา Total glucan โดยใช้ Mushroom and yeast beta-glucan assay kit (Megazyme, Ireland)

2.6. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

นำผลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยวางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียลในแบบแผนสุ่มสมบูรณ์ [Factorial in CRD (Completely randomized design)] โดยใช้โปรแกรม SAS (1999-2000) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3. ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

3.1. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของเส้นใยเห็ดตีนแรด

จากการนำเส้นใยเห็ดตีนแรดจำนวน 5 สายพันธุ์เลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้อง เมื่อเส้นใยมีอายุ 10 วัน ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาบนจานอาหาร พบว่าทั้ง 5 สายพันธุ์มีการเจริญเติบโตของโคโลนีใกล้เคียงกัน คือ มีลักษณะโคโลนีสีขาวขุ่น ขอบโคโลนีเรียบสม่ำเสมอ โดยเส้นใยเห็ดตีนแรดสายพันธุ์ DOA-4, DOA-7 และ DOA-10 เจริญแผ่ตามแนวรัศมีราบไปกับผิวหน้าของอาหาร ในขณะที่สายพันธุ์ DOA-1 และ DOA เส้นใยมีลักษณะหนาและฟูเล็กน้อย (Cottony) (Figure 1) เมื่อตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์เส้นใยมีสีใส (Hyaline) ลักษณะเป็นท่อยาวและแตกกิ่งก้านภายในเส้นใยพบผนังกันเซลล์ (Septum) กันเป็นระยะ ทำให้เส้นใยแบ่งออกเป็น Hyphal segment สอดคล้องกับรายงานของ Inyod et al. [17] ที่ตรวจสอบเส้นใยเห็ดตีนแรดพบภายในมีผนังกันเซลล์ มีแขนเชื่อมต่อเซลล์เป็นปม เมื่อเส้นใยแก่ตัวจะสร้างสปอร์ที่มีลักษณะกลมหรือรูปไข่ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3-4.5 ไมโครเมตร

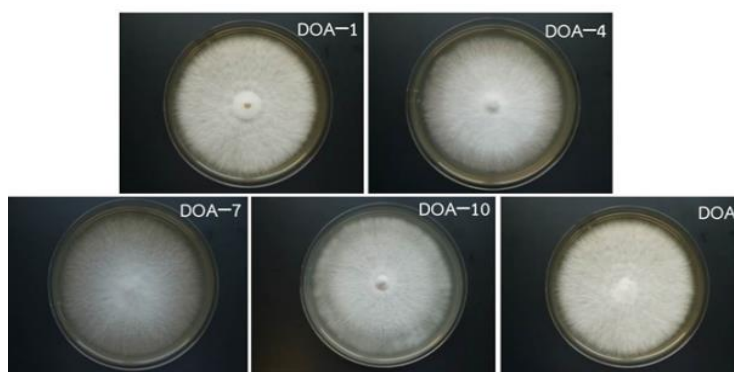


Figure 1 Mycelial morphology of five *M. crassa* strains cultivated on PDA at room temperature for 10 days

3.2. ผลของชนิดอาหารและค่าความเป็นกรด-ด่างต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดตีนแรด

จากการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดตีนแรดทั้ง 5 สายพันธุ์บนอาหารแข็ง 6 ชนิด ได้แก่ CMA, CWA, GPA, V8, MEA, และ PDA ที่ระดับ pH แตกต่างกัน 7 ระดับ คือ pH 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 หลังจากบ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 วัน ได้ผลการทดลองดังนี้

บนอาหาร CMA เห็ดตีนแรดสายพันธุ์ DOA-10 เจริญเติบโตได้ดีในช่วง pH ที่กว้าง (pH 5-8) โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเท่ากับ 7.213 ± 0.012 - 7.853 ± 0.009 เซนติเมตร (Table 2) และมีระดับความหนาแน่นของเส้นใยบางจนถึงหนาแน่นปานกลาง (++) (Figure 2 A.) ในขณะที่เห็ดสายพันธุ์ DOA-1 ก็มีการเจริญเติบโตที่ดี แต่ในช่วง pH ที่แคบกว่า (pH 5-7)

บนอาหาร CWA ที่มีน้ำมะพร้าวเป็นองค์ประกอบหลัก เห็ดสายพันธุ์ DOA-10 เจริญได้ดีที่สุดในช่วง pH 6-10 โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเท่ากับ 7.063 ± 0.021 - 7.286 ± 0.006 เซนติเมตร (Table 2) และมีระดับความหนาแน่นของเส้นใยหนาแน่นปานกลาง ในขณะที่ pH 4 เส้นใยเจริญได้น้อยและบางมาก (Figure 2 B.)

บนอาหาร GPA ที่มีเปปโตน (Peptone) เป็นแหล่งไนโตรเจน เห็ดสายพันธุ์ DOA-10 เจริญได้ดีที่สุดในช่วง pH 9 โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเท่ากับ 7.583 ± 0.009 เซนติเมตร และมีระดับความหนาแน่นของเส้นใยหนาแน่นปานกลาง (Figure 2 C.) อย่างไรก็ตามเห็ดสายพันธุ์ DOA-10 ไม่สามารถเจริญบนอาหาร GPA ที่มี pH 4 ได้ (Table 2)

บนอาหาร V8 พบว่าเห็ดทุกสายพันธุ์เจริญเติบโตได้ดีที่ค่า pH ทุกระดับตั้งแต่ pH 4-10 โดยเฉพาะสายพันธุ์ DOA-10 (Figure 2 D.) และ DOA-1 โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีในช่วง 7.336 ± 0.005 - 8.170 ± 0.014 เซนติเมตร และ 7.476 ± 0.019 - 8.500 ± 0.008 เซนติเมตร ตามลำดับ (Table 2) สอดคล้องกับรายงานของ Inyod et al. [18] ที่พบว่าบนอาหาร V8 เส้นใยเห็ดนางฟ้า (*Pleurotus pulmonarius*) เจริญเต็มจานอาหารเร็วที่สุด เนื่องจากอาหาร V8 ประกอบด้วย น้ำผัก 8 ชนิด คือ มะเขือเทศ แครอท ขึ้นฉ่ายฝรั่ง บีท (Beet) พาร์สลีย์ (Parsley) ผักกาดหอม วอเตอร์เครส (Watercress) และผักโขม ซึ่งอุดมไปด้วยวิตามิน และแร่ธาตุ จึงกระตุ้นการเจริญเติบโตของเส้นใย ทำให้เจริญได้เร็ว

บนอาหาร PDA ที่ pH 7-10 เห็ดทุกสายพันธุ์สามารถเจริญได้ดี โดยเฉพาะที่ pH 9-10 เห็ดสายพันธุ์ DOA-7 และ DOA-10 เจริญได้ดีที่สุด (Table 2, Figure 2 E.)

บนอาหาร MEA เห็ดทุกสายพันธุ์เจริญเติบโตได้ดีที่สุด (Table 2, Figure 3) โดยเห็ดสายพันธุ์ DOA-1, DOA-4, DOA-7, DOA-10 และ DOA เจริญได้ดีที่สุดในช่วง pH 5-10, 8, 6-10, 8-10 และ 10 ตามลำดับ

จากการเปรียบเทียบอาหารทั้งหมด 6 ชนิด พบว่าอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดตีนแรดทุกสายพันธุ์คืออาหาร MEA เนื่องจากเป็นอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดได้ทุกสายพันธุ์ในช่วง pH ที่กว้าง (pH 5-10) และเส้นใยมีความหนาแน่นมาก โดยเฉพาะสายพันธุ์ DOA-1 และ DOA-10 อาหาร MEA ประกอบด้วยมอลต์สกัด (Malt extract) และเปปโตน ซึ่งเป็นแหล่งไนโตรเจนสำคัญสำหรับการเจริญของเชื้อรา รองลงมาคืออาหาร PDA ที่ช่วง pH 7-10 โดยอาหาร PDA เป็นอาหารสูตรทั่วไปที่มีการใช้อย่างแพร่หลาย มีองค์ประกอบเป็นน้ำตาลเด็กซ์โทรส (Dextrose) ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอน อีกทั้งมีน้ำตาล และวิตามินจากธรรมชาติที่ได้จากสารสกัดมันฝรั่ง ส่งผลให้เส้นใยมีการเจริญได้เร็วและมีลักษณะหนาแน่น นอกจากนี้ยังมีบทบาทสำคัญต่อโครงสร้างและการสะสมสารต่าง ๆ ภายในเซลล์ [19] สอดคล้องกับงานวิจัยของ Muthu and Shanmugasundaram [20] ที่ทดสอบอาหาร 5 ชนิด ได้แก่ Yeast malt agar (YMA), Saboraud's dextrose agar (SDA), GPA, MEA และ PDA ต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่น (*Cyclocybe aegerita*) พบว่าบน MEA เส้นใยเจริญได้ดีและเร็วที่สุด เนื่องจากเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่สกัดจากมอลต์ ซึ่งช่วยสนับสนุนการเจริญเติบโตของเส้นใย อุดมไปด้วยโปรตีน คาร์โบไฮเดรตในปริมาณที่สูง ในขณะที่อาหาร PDA เป็นชนิดอาหารที่เส้นใยเจริญได้รองลงมา

ในบรรดาเห็ดตีนแรดที่นำมาศึกษา เห็ดสายพันธุ์ DOA-4 และ DOA-10 เป็นสายพันธุ์ที่เมื่อเจริญบนอาหาร MEA แล้วมีขนาดโคโลนีกว้าง และเส้นใยหนาแน่นมากกว่าเมื่อเทียบกับสายพันธุ์อื่น ๆ ที่อายุ 10 วันเท่ากัน (Figure 3) ซึ่งเป็นการบ่งชี้ว่าเส้นใยมีความแข็งแรง และอาจส่งผลต่อการเจริญเป็นดอกเห็ด ปริมาณผลผลิต และปริมาณสารสำคัญเมื่อมีการนำไปเพาะเลี้ยงในสภาวะโรงเรือนเพาะเห็ด [20]

หากเปรียบเทียบในแง่ของค่า pH จะเห็นได้ว่าเส้นใยเห็ดตีนแรดสามารถเจริญได้ดีในช่วง pH 5-10 จากรายงานของ

Sornprasert et al. [11] พบเห็ดดินแร่ในสภาวะธรรมชาติตามบริเวณโคนต้นและดินรอบโคนต้นไทรที่มีใบไม้ผุทับถมเมื่อเก็บตัวอย่างดินมาวัดค่า pH พบว่าดินมีค่า pH เท่ากับ 6.4 อย่างไรก็ตามการเจริญของเส้นใยบนอาหารจะมีลักษณะและความสามารถในการเจริญต่างกัน ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่างนอกเหนือไปจากค่า pH ทำให้ในบางครั้งเห็ดสายพันธุ์เดียวกัน

อาจเจริญได้ดีที่ค่า pH ต่างกัน เช่น Kushwaha and Mishra [21] เพาะเลี้ยงเห็ด *Massee (Macrocybe gigantea)* หรือ Giant mushroom โดยปรับวัสดุเพาะให้มีค่า pH เท่ากับ 8-8.5 ในขณะที่ Devi and Sumbali [22] เพาะเลี้ยงเห็ดสายพันธุ์เดียวกัน คือ *M. gigantea* แต่ปรับค่า pH ของวัสดุเพาะให้อยู่ในช่วง 6-7

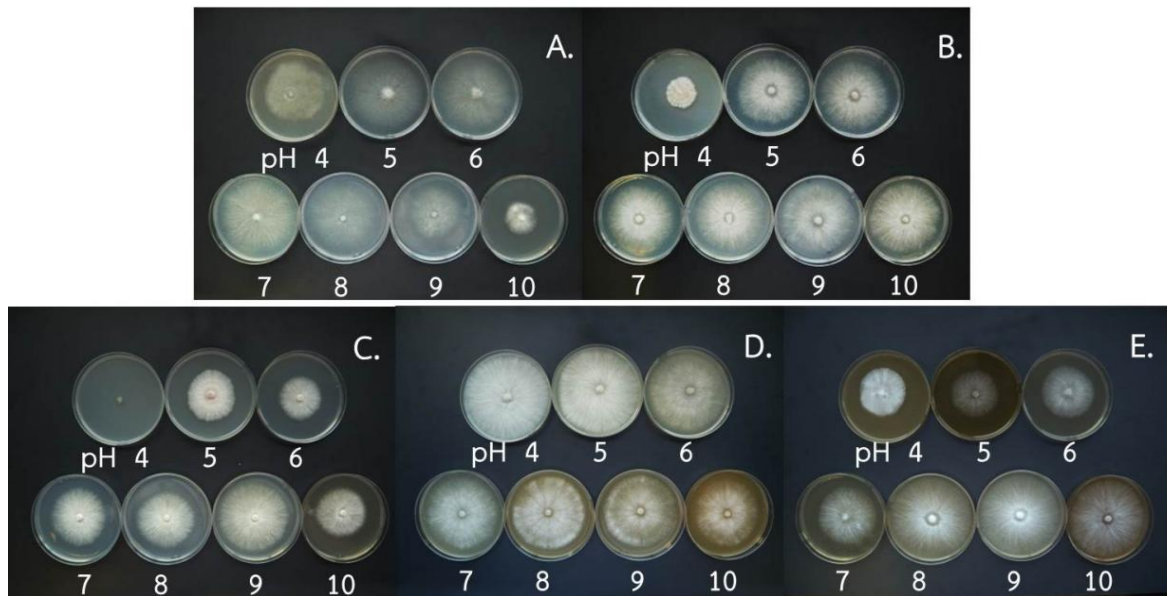


Figure 2 Mycelial morphology of *M. crassa* strain DOA-10 cultivated on different media with pH ranging from 4 to 10 at room temperature for 10 days; CMA (A.), CWA (B.), GPA (C.), V8 (D.) and PDA (E.)

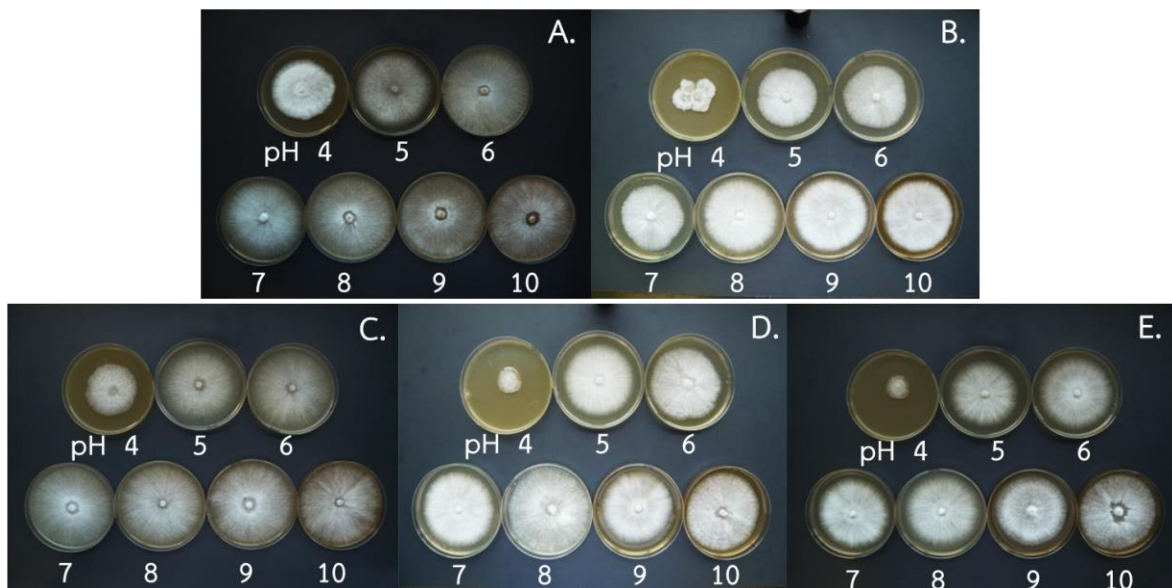


Figure 3 Mycelial morphology of five *M. crassa* strains cultivated on MEA with pH ranging from 4 to 10 at room temperature for 10 days; DOA-1 (A.), DOA-4 (B.), DOA-7 (C.), DOA-10 (D.) and DOA (E.)

Table 2 Mycelial growth of five *M. crassa* strains on different media (pH 4-10) at room temperature for 10 days

Media	pH	Colony diameters (cm)				
		DOA-1	DOA-4	DOA-7	DOA-10	DOA
Corn meal agar (CMA)	4	5.043±0.021 ^t	4.346±0.021 ^z	4.736±0.012 ^z	4.530±0.016 ^u	4.016±0.009 ^y
	5	7.156±0.012 ⁱ	5.976±0.005 ^o	7.440±0.016 ^e	7.406±0.029 ^j	6.340±0.016 ^k
	6	7.646±0.025 ^s	5.280±0.008 ^f	7.350±0.014 ^f	7.280±0.022 ^k	6.603±0.021 ^h
	7	8.043±0.054 ^b	4.836±0.012 ^v	6.610±0.008 ^m	7.853±0.009 ^f	5.516±0.017 ^r
	8	6.740±0.014 ^l	4.640±0.014 ^x	5.840±0.024 ^t	7.213±0.012 ^l	4.783±0.025 ^y
	9	5.836±0.009 ^p	4.176±0.012 ^z	2.346±0.021 ^z	5.910±0.008 ^p	4.150±0.008 ^y
	10	5.480±0.016 ^q	3.176±0.005 ^z	1.613±0.004 ^z	2.670±0.008 ^y	4.206±0.009 ^y
Coconut water agar (CWA)	4	3.153±0.017 ^z	2.886±0.005 ^z	3.740±0.014 ^z	3.086±0.021 ^y	2.870±0.008 ^z
	5	4.846±0.009 ^v	4.876±0.012 ^u	6.833±0.005 ^j	6.780±0.022 ⁿ	5.313±0.012 ^v
	6	5.866±0.019 ^p	5.543±0.012 ^p	7.096±0.009 ^h	7.063±0.021 ^m	5.733±0.005 ^o
	7	6.723±0.017 ^l	5.260±0.016 ^f	6.950±0.014 ⁱ	7.276±0.005 ^k	6.463±0.005 ^j
	8	6.533±0.025 ⁿ	5.260±0.036 ^f	6.350±0.014 ^o	7.286±0.006 ^k	7.206±0.009 ^d
	9	5.910±0.014 ^o	5.363±0.019 ^q	6.243±0.012 ^p	7.220±0.022 ^l	6.153±0.012 ^m
	10	5.360±0.008 ^r	4.976±0.019 ^t	6.226±0.005 ^p	7.196±0.009 ^l	6.593±0.005 ^h
Glucose peptone agar (GPA)	4	4.476±0.012 ^x	4.543±0.009 ^y	5.040±0.014 ^x	0.000±0.000 ^z	4.953±0.011 ^w
	5	5.920±0.014 ^o	5.146±0.021 ^s	5.916±0.017 ^s	3.513±0.005 ^x	4.813±0.005 ^x
	6	5.076±0.012 ^t	5.263±0.038 ^f	5.443±0.021 ^v	3.870±0.022 ^w	4.696±0.009 ^y
	7	4.823±0.026 ^v	3.943±0.025 ^z	5.710±0.008 ^u	5.913±0.005 ^p	5.666±0.009 ^p
	8	4.613±0.005 ^w	6.530±0.000 ⁱ	6.150±0.022 ^r	6.160±0.024 ^o	5.408±0.008 ^s
	9	4.356±0.005 ^y	6.030±0.014 ⁿ	6.193±0.012 ^q	7.583±0.009 ^h	5.420±0.008 ^t
	10	3.923±0.017 ^z	4.743±0.025 ^w	6.436±0.009 ⁿ	5.213±0.005 ^s	5.290±0.016 ^v
V8 juice agar (V8)	4	8.500±0.008 ^a	7.133±0.024 ^e	6.696±0.009 ^k	8.060±0.008 ^d	5.480±0.008 ^s
	5	8.500±0.005 ^a	7.006±0.005 ^f	7.710±0.008 ^c	8.170±0.014 ^c	5.603±0.005 ^q
	6	7.686±0.045 ^f	7.366±0.019 ^c	8.070±0.014 ^b	7.970±0.014 ^e	6.563±0.012 ⁱ
	7	7.973±0.031 ^c	6.636±0.033 ^h	7.336±0.012 ^f	7.413±0.012 ^j	6.313±0.005 ^l
	8	7.756±0.040 ^e	6.316±0.024 ^k	7.510±0.014 ^d	7.676±0.012 ^g	6.063±0.002 ⁿ
	9	7.823±0.019 ^d	6.773±0.009 ^g	7.276±0.012 ^g	7.336±0.005 ^j	5.600±0.008 ^q
	10	7.476±0.019 ^h	6.500±0.014 ⁱ	6.643±0.009 ^l	7.393±0.005 ⁱ	5.386±0.012 ^u
Malt extract agar (MEA)	4	4.963±0.005 ^u	3.783±0.009 ^z	4.913±0.017 ^y	4.880±0.029 ^t	2.630±0.008 ^z
	5	8.496±0.012 ^a	6.143±0.025 ^m	8.046±0.033 ^b	5.753±0.021 ^q	6.750±0.016 ^s
	6	8.500±0.008 ^a	6.270±0.008 ^l	8.500±0.008 ^a	5.930±0.016 ^p	7.453±0.012 ^c
	7	8.503±0.012 ^a	6.376±0.012 ^j	8.503±0.006 ^a	6.183±0.009 ^o	6.853±0.017 ^f
	8	8.496±0.012 ^a	7.780±0.014 ^a	8.500±0.016 ^a	8.503±0.005 ^a	7.683±0.005 ^b
	9	8.500±0.008 ^a	7.686±0.021 ^b	8.500±0.008 ^a	8.503±0.012 ^a	6.870±0.022 ^f
	10	8.496±0.012 ^a	7.290±0.022 ^d	8.503±0.005 ^a	8.503±0.005 ^a	8.296±0.009 ^a
Potato dextrose agar (PDA)	4	5.146±0.009 ^s	3.473±0.009 ^z	3.233±0.012 ^z	3.253±0.012 ^x	3.956±0.003 ^z
	5	2.586±0.012 ^z	6.506±0.005 ^l	4.120±0.014 ^z	3.376±0.012 ^x	6.063±0.008 ⁿ
	6	2.410±0.014 ^z	6.740±0.014 ^g	5.413±0.005 ^w	4.313±0.012 ^v	6.160±0.016 ^m
	7	6.513±0.012 ⁿ	6.390±0.016 ^j	6.820±0.022 ^j	5.480±0.008 ^f	6.606±0.009 ^h
	8	6.813±0.019 ^k	6.310±0.014 ^k	6.666±0.019 ^l	7.316±0.005 ^j	6.750±0.014 ^g
	9	6.613±0.012 ^m	7.040±0.029 ^f	8.500±0.005 ^a	8.353±0.012 ^b	7.213±0.012 ^d
	10	6.970±0.008 ^j	6.636±0.026 ^h	8.500±0.005 ^a	8.353±0.005 ^b	7.016±0.003 ^e
F-test		**	**	**	**	**
%CV		1.371	1.396	1.268	1.276	1.249

Note: ** and different superscript letters in a column indicate significant difference at the significance level of 0.05.

3.3. ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดตีนแรด

การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดตีนแรดทำโดยนำเส้นใยเห็ดตีนแรด 5 สายพันธุ์มาเลี้ยงบนอาหาร MEA บ่มที่อุณหภูมิ 6 ระดับ ได้แก่ 15, 20, 25, 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส จากนั้นบันทึกจำนวนวันที่เส้นใยของเห็ดเจริญจนเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (Mycelium colonization period) จากการศึกษาพบว่าเห็ดตีนแรดทั้ง 5

สายพันธุ์ เจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 20-30 องศาเซลเซียส และเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยเส้นใยเห็ดสายพันธุ์ DOA-10 เจริญเต็มจานอาหารภายใน 9 วัน ในขณะที่ที่อุณหภูมิต่ำ (15 องศาเซลเซียส) เส้นใยเห็ดตีนแรดทั้ง 5 สายพันธุ์ ใช้เวลามากกว่า 90 วันในการเจริญจนเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และไม่เจริญเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 35 และ 40 องศาเซลเซียส (Table 3)

Table 3 Mycelium colonization periods of five *M. crassa* strains on MEA at different temperatures

<i>M. crassa</i> strains	Mycelium colonization periods (days)					
	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C	40°C
DOA	>90	30	12	18	-	-
DOA-1	>90	20	10	15	-	-
DOA-4	>90	38	11	12	-	-
DOA-7	>90	35	13	15	-	-
DOA-10	>90	30	9	10	-	-

Note: - = no mycelial growth

3.4. ผลการศึกษาวัสดุเพาะที่เหมาะสมต่อปริมาณผลผลิตและคุณภาพของดอกเห็ดตีนแรด

จากการศึกษาชนิดของวัสดุเพาะต่อผลผลิตและคุณภาพของเห็ดตีนแรดทั้ง 5 สายพันธุ์ โดยเพาะเห็ดตีนแรดในวัสดุเพาะทั้ง 7 สูตร เมื่อเส้นใยเจริญเต็มก่อน นำก้อนเชื้อเห็ดย้ายเข้าโรงเรือนเปิดดอก เส้นใยใช้ระยะเวลา 15 วัน ในการพัฒนาและเริ่มสร้างตุ่มดอก (Primordium stage) จากนั้นใช้ระยะเวลาอีก 25 วัน เพื่อให้ตุ่มดอกพัฒนาเป็นดอกเห็ด (Figure 4) และสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ จากการทดลองพบว่าวัสดุเพาะที่ต่างกันให้ปริมาณผลผลิตที่ต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 4) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณผลผลิตจากน้ำหนักของดอกเห็ดสด พบว่าวัสดุเพาะสูตรที่ 7 (T7) ซึ่งเป็นก้อนเชื้อเห็ดเก่าที่ได้จากการเพาะเห็ดนางรมผสมเมล็ดข้าวโพดป่น ให้ผลผลิตของดอกเห็ดสูงที่สุดในทุกสายพันธุ์ โดยมีค่าน้ำหนักของดอกเห็ดสดเท่ากับ 185.33 ± 24.20 - 237.78 ± 22.00 กรัมต่อถุง (g/bag) โดยเห็ดตีนแรดสายพันธุ์ DOA-10 ที่เพาะในวัสดุเพาะสูตรที่ 7 เป็นสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตของดอกเห็ดสูงที่สุด สูตรที่มีผลผลิตสูงรองลงมา คือ สูตรที่ 6 (T6) เป็นก้อนเชื้อเห็ดเก่าผสมกับภูไมท์ (Pumice) ซึ่งเป็นอาหารเสริมของเห็ด มีค่าน้ำหนักของดอกเห็ดสดเท่ากับ 150.75 ± 16.74 - 219.41 ± 24.40 กรัมต่อถุง จะเห็นได้ว่าก้อน

เชื้อเห็ดเก่า เมื่อนำมาเพิ่มอาหารเสริมต่าง ๆ ยังคงสามารถนำมาใช้เพาะเห็ดชนิดอื่นต่อได้ อีกทั้งช่วยลดต้นทุนการผลิตแก่เกษตรกร สอดคล้องกับงานวิจัยของ Charoenrak et al. [23] ศึกษาใช้ก้อนเห็ดเก่าผสมฟางข้าวเป็นวัสดุเพาะเห็ดฟาง อัตราส่วนก้อนเห็ดเก่า 1 ส่วน : ฟางข้าว 1 ส่วน สามารถให้ผลผลิตเห็ดฟางเทียบเท่ากับการใช้ฟางข้าวเพียงอย่างเดียวได้ ในขณะที่สูตรมาตรฐานสำหรับการเพาะเห็ดเศรษฐกิจ (T2) [24] มีปริมาณผลผลิตใกล้เคียงกับสูตรเชื้อเห็ดเก่า โดยมีปริมาณผลผลิตเท่ากับ 124.72 ± 20.48 - 215.84 ± 20.79 กรัมต่อถุง เมื่อเพิ่มปริมาณรำข้าวลงในสูตรมาตรฐานเป็นร้อยละ 5 (T3) และเพิ่มข้าวโพดป่นลงในวัสดุเพาะทั้งส่วนเมล็ด แขน และเปลือกข้าวโพด (T5) พบว่าปริมาณของรำข้าว และข้าวโพดป่นไม่มีผลทำให้ผลผลิตดอกสดเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณรำข้าว และข้าวโพดป่นที่เพิ่มลงไปอัตราส่วนไม่มากพอที่จะส่งเสริมผลผลิตของเห็ด ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยของ Srioon [25] ที่ศึกษาผลของปริมาณรำข้าวต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของเห็ดมิลค์กี้ (*Calocybe indica*) โดยใช้รำข้าวในอัตราส่วนร้อยละ 0, 2.5, 5, 10, 15 และ 20 พบว่าการใส่รำข้าวในอัตราที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ผลผลิตของเห็ดมิลค์กี้เพิ่มขึ้นตามไปด้วย เนื่องจากไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในรำข้าวมีผลทำให้เส้นใยเห็ดแข็งแรงสามารถเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว [26]

นอกจากนี้ในการศึกษานี้ยังได้หาแนวทางเพื่อลดต้นทุนการผลิตโดยเลือกใช้วัสดุอื่นเพื่อลดและทดแทนซีลี้อย่างพารา โดยได้ผสมฟางข้าวร่วมกับซีลี้อย่างพารา (T4) และใช้ฟางข้าวเป็นวัสดุเพาะหลัก (T1) ในการเพาะเห็ดตีนแรด พบว่าทั้งการใช้ฟางข้าวเป็นส่วนประกอบเสริม และเป็นวัสดุเพาะหลัก (100%) ให้ผลผลิตดอกสดน้อยที่สุด โดยมีน้ำหนักเพียง $72.98 \pm 14.33 - 152.54 \pm 23.19$ กรัมต่อถุง ทั้งนี้เนื่องจากฟางข้าวเป็นวัสดุที่มีลักษณะย่อยสลายง่าย ธาตุอาหารบางอย่างอยู่ในรูปที่เห็ดตีนแรดนำไปใช้ได้ยาก จึงควรต้องทำการหมักเพื่อให้ธาตุอาหารเหล่านั้นอยู่ในรูปที่เห็ดสามารถนำไปใช้ได้ง่าย [27]

จากผลการทดลองข้างต้นวัสดุเพาะจากก้อนซีลี้อย่างพาราที่เหลือจากการเพาะเห็ด (T6, T7) ให้ปริมาณผลผลิตเห็ดตีนแรดสูงที่สุด รองลงมาเป็นสูตรมาตรฐานที่เป็นซีลี้อย่างพาราใหม่ (T2) เป็นสูตรที่ใช้ซีลี้อย่างพาราเป็นวัสดุหลัก มีสารประกอบของธาตุคาร์บอน ลิกนิน (Lignin) เซลลูโลส

(Cellulose) ไฟเบอร์ (Fiber) และแมกนีเซียม (Magnesium) เป็นองค์ประกอบหลัก เป็นอาหารที่ดีของเชื้อรา รวมถึงมีแร่ธาตุหลัก เช่น ไนโตรเจน (Nitrogen) ฟอสฟอรัส (Phosphorus) และโพแทสเซียม (Potassium) ที่ส่งเสริมการเจริญของเส้นใยเห็ด [28], [29] นอกจากนี้ยังพบว่าสายพันธุ์ของเห็ดตีนแรด รวมถึงปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตของเห็ดตีนแรด รวมถึงคุณภาพของดอกเห็ด โดยเห็ดตีนแรดสายพันธุ์ DOA-10 เมื่อเพาะด้วยวัสดุเพาะสูตรที่ 7 จะให้ปริมาณผลผลิตสูงที่สุดเท่ากับ 237.78 ± 22.00 กรัมต่อถุง และดอกเห็ดมีคุณภาพที่สุดโดยมีความกว้างหมวกดอก และความยาวก้านดอก เท่ากับ 117.10 ± 1.45 และ 37.20 ± 1.63 มิลลิเมตร ตามลำดับ (Table 4) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Laead-on [30] ที่รายงานว่าการเพาะเห็ดให้ได้ผลผลิตที่ดีต้องคำนึงถึงปัจจัยหลายประการ นอกจากชนิดของวัสดุเพาะ และอาหารเสริมแล้ว ลักษณะสายพันธุ์เห็ดก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตและคุณภาพของเห็ดด้วย



Figure 4 Fruiting bodies of *M. crassa* on day 20 (A.) and day 30 (B.)

3.5. ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี แร่ธาตุ และบีตา-กลูแคนในเห็ดตีนแรด

จากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในเห็ดตีนแรด 5 สายพันธุ์ที่เพาะในวัสดุเพาะต่างกัน พบว่าวัสดุเพาะสูตรที่ 7 (ก้อนเชื้อเห็ดเก่าผสมฟางข้าวโพดป่น) ส่งเสริมให้เห็ดทุกสายพันธุ์มีปริมาณโปรตีนสูงกว่าที่เพาะในวัสดุอื่น ๆ โดยเฉพาะสายพันธุ์ DOA-1 มีปริมาณโปรตีนมากที่สุดเท่ากับร้อยละ 33.61 (Table 5) รองลงมา คือเห็ดสายพันธุ์ DOA, DOA-10, DOA-7 และ DOA-4 ซึ่งมีปริมาณโปรตีนมากกว่าเห็ดเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น เห็ดนางรมหลวง เห็ดหิมะขาว เห็ดหอม และเห็ดเข็มทอง ซึ่งมีปริมาณโปรตีนเท่ากับร้อยละ 16.39 ± 0.22 , 14.80 ± 0.10 , 14.77 ± 0.37 และ 14.74 ± 0.05 ตามลำดับ [31] นอกจากนี้ยังพบว่าวัสดุเพาะทั้ง 7 สูตรทำให้เห็ดทุกสายพันธุ์มีปริมาณ

คาร์โบไฮเดรตสูงมากกว่าร้อยละ 50 โดยเห็ดสายพันธุ์ DOA-10 ที่เพาะในวัสดุเพาะสูตรที่ 5 (ซีลี้อย่างพาราผสมฟางข้าวโพดป่น) มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตมากที่สุด คือร้อยละ 76.61 (Table 5) เมื่อพิจารณาปริมาณไขมัน พบว่าการเพาะเห็ดตีนแรดในวัสดุเพาะสูตรที่ 1 (ใช้ฟางข้าวเป็นวัสดุเพาะหลัก) ส่งเสริมให้เห็ดมีปริมาณไขมันที่ต่ำ โดยเฉพาะกับเห็ดสายพันธุ์ DOA-4, DOA-7 และ DOA-10 (Table 5) จากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต แสดงให้เห็นว่าวัสดุเพาะที่ใช้ซีลี้อย่างพาราที่เติมฟางข้าวโพดป่นเป็นอาหารเสริม ส่งผลต่อปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของเห็ดตีนแรด ทั้งนี้เนื่องจากข้าวโพดป่นมีองค์ประกอบของโปรตีน ไขมัน กากใย และเถ้า [32] ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่เห็ดต้องการเพื่อใช้ในการเจริญ และการสร้างสารอาหารและแร่ธาตุต่าง ๆ

Table 4 Fresh weighs and quality of fruiting bodies of five *M. crassa* strains cultivated on different substrate formulas

Formulas	Strains	Fresh weighs (g/bag)	Cap diameters (mm)	Stalk diameters (mm)	Stalk lengths (mm)
T1	DOA	72.98±14.33 ^l	62.50±2.17 ^{ijklmno}	91.10±2.12 ^{ijk}	23.60±1.67 ^{efghij}
	DOA-1	104.92±11.45 ^{ijkl}	63.80±2.88 ^{klmno}	97.00±1.91 ^h	25.24±1.27 ^{defg}
	DOA-4	81.88±7.74 ^{k^l}	59.50±3.21 ^{nop}	83.27±2.54 ^{lm}	20.21±1.42 ^{jklm}
	DOA-7	151.29±12.96 ^{efghi}	62.60±2.84 ^{ijklmno}	92.50±2.02 ^{hijk}	25.61±1.97 ^{cdefg}
	DOA-10	119.59±10.23 ^{hijk}	67.20±1.74 ^{ijk}	122.43±2.05 ^c	24.80±1.41 ^{defghi}
T2	DOA	189.19±25.15 ^{bcde}	66.00±1.85 ^{ijklm}	114.18±2.42 ^{de}	28.09±0.74 ^{cd}
	DOA-1	124.72±20.48 ^{ghijk}	66.54±2.44 ^{ijkl}	121.19±1.50 ^c	27.15±0.29 ^{cde}
	DOA-4	211.54±24.90 ^{abc}	58.50±3.40 ^{op}	84.52±2.47 ^{lm}	20.00±0.27 ^{jklm}
	DOA-7	214.70±12.28 ^{abc}	68.50±1.63 ^{hij}	127.48±2.22 ^b	26.30±1.80 ^{cdefg}
	DOA-10	215.84±20.79 ^{acb}	67.81±2.85 ^{hij}	135.40±2.65 ^a	27.50±0.99 ^{cd}
T3	DOA	168.37±24.31 ^{cdefg}	65.30±3.72 ^{ijklmn}	105.50±3.33 ^{fg}	24.79±2.13 ^{defghi}
	DOA-1	203.28±20.79 ^{abcd}	64.20±4.26 ^{ijklmno}	107.50±2.92 ^f	25.10±1.05 ^{defg}
	DOA-4	180.25±24.65 ^{bcdef}	58.50±4.34 ^{op}	87.31±1.62 ^{klm}	21.45±1.69 ^{hijk}
	DOA-7	197.22±23.70 ^{abcde}	68.51±2.04 ^{hij}	117.40±2.45 ^{cd}	24.89±0.73 ^{defgh}
	DOA-10	205.15±19.86 ^{abcd}	73.34±2.92 ^{fgh}	136.70±2.45 ^a	27.08±1.69 ^{cdef}
T4	DOA	115.95±21.21 ^{hijkl}	83.30±1.63 ^d	70.60±1.93 ^{op}	23.32±1.17 ^{ghij}
	DOA-1	122.55±17.08 ^{ghijk}	67.72±1.75 ^{hij}	71.56±1.42 ^{nop}	17.71±1.62 ^{lmn}
	DOA-4	133.33±16.33 ^{ghij}	79.00±3.41 ^{ef}	102.22±2.91 ^g	20.42±1.27 ^{jklm}
	DOA-7	134.50±24.49 ^{ghij}	76.50±2.25 ^{fg}	82.19±2.21 ^m	16.22±1.10 ⁿ
	DOA-10	152.54±23.19 ^{efghi}	71.31±1.38 ^{ghi}	69.05±2.51 ^p	13.07±1.45 ^o
T5	DOA	114.09±16.33 ^{ijkl}	61.40±2.40 ^{klmnop}	75.70±2.51 ^{no}	17.12±1.61 ^{mn}
	DOA-1	113.75±12.83 ^{ijkl}	55.80±1.66 ^p	68.30±3.27 ^p	19.22±2.29 ^{klmn}
	DOA-4	95.49±20.85 ^{kl}	57.91±3.03 ^{op}	69.30±3.17 ^p	17.11±2.44 ^{mn}
	DOA-7	138.75±14.69 ^{fghij}	60.11±2.16 ^{mnop}	73.60±1.98 ^{nop}	17.90±1.63 ^{klmn}
	DOA-10	139.20±16.33 ^{fghij}	60.60±1.63 ^{lmnop}	73.71±1.90 ^{nop}	20.11±0.67 ^{jklm}
T6	DOA	180.63±25.26 ^{bcdef}	93.09±3.37 ^b	76.05±3.79 ⁿ	21.26±2.52 ^{ijkl}
	DOA-1	150.75±16.74 ^{efghi}	78.30±1.45 ^{ef}	88.31±2.02 ^{ijkl}	29.21±1.65 ^{bc}
	DOA-4	192.95±14.90 ^{abcde}	89.50±3.37 ^{bc}	93.11±2.10 ^{hij}	18.51±2.14 ^{klmn}
	DOA-7	219.41±24.40 ^{ab}	85.00±2.77 ^{cd}	84.30±1.58 ^{lm}	19.30±1.41 ^{klmn}
	DOA-10	206.92±22.86 ^{abcd}	94.30±2.45 ^b	117.80±2.50 ^{cd}	18.61±0.81 ^{klmn}
T7	DOA	185.33±24.20 ^{bcdef}	66.03±3.60 ^{ijklm}	109.20±4.08 ^{ef}	31.69±1.81 ^b
	DOA-1	223.51±24.83 ^{ab}	58.92±2.29 ^{op}	109.79±1.73 ^{ef}	28.23±1.60 ^{cd}
	DOA-4	197.85±25.72 ^{abcde}	58.10±1.36 ^{op}	94.53±3.08 ^{hi}	23.41±0.72 ^{fghij}
	DOA-7	221.86±16.41 ^{ab}	61.40±2.03 ^{klmnop}	107.91±4.15 ^f	37.12±2.16 ^a
	DOA-10	237.78±22.00 ^a	117.10±1.45 ^a	130.12±1.33 ^b	37.20±1.63 ^a
F-test		**	**	**	**
%CV		14.77	4.62	3.04	8.15

Note: ** and different superscript letters in a column indicate significant difference at the significance level of 0.05.

จากการวิเคราะห์ปริมาณปีต้า-กลูแคนในเห็ดตีนแรด พบว่าทั้งชนิดของวัสดุเพาะ และสายพันธุ์ของเห็ดต่างเป็นปัจจัยสำคัญต่อการผลิตสารปีต้า-กลูแคน โดยเห็ดตีนแรดสายพันธุ์ DOA-1 ที่ได้จากการเพาะในสูตรที่ 2 (สูตรมาตรฐาน) มีปริมาณสารปีต้า-กลูแคน เฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 46.56 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักเห็ดแห้ง (mg/g dry weight) รองลงมาได้แก่สายพันธุ์ DOA-10 และ DOA-7 ที่ใช้วัสดุเพาะเป็นขี้เลื่อยผสมกับฟางข้าวอัตราส่วน 95:5 (T4) มีปริมาณเท่ากับ 45.20 และ 45.87 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักเห็ดแห้ง ซึ่งต่างจากเห็ดนางฟ้าที่พบการสังเคราะห์ปีต้า-กลูแคนสูงสุดเมื่อเพาะในวัสดุที่ประกอบด้วยขี้เลื่อยผสมกับฟางข้าว (50:50) รองลงมาคือสูตรที่ใช้ขี้เลื่อยเป็นวัสดุหลัก [18] ผลการวิเคราะห์ปริมาณปีต้า-กลูแคนในเห็ดตีนแรดที่ได้จากการศึกษานี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Bach et al. [33] ที่รายงานว่าปริมาณของสารปีต้า-กลูแคนแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ วัสดุเพาะ (C:N ratio) และความสมบูรณ์ของดอกเห็ด แสดงให้เห็นว่าปริมาณสารสำคัญหรือองค์ประกอบทางเคมีบางชนิดไม่ได้แปรผันตามปริมาณผลผลิตดอกสดเสมอไป อย่างไรก็ตาม ปริมาณสารปีต้า-กลูแคนที่พบในเห็ดตีนแรดมีปริมาณสูงกว่าเห็ดที่จำหน่ายในท้องตลาดหลายชนิด เช่น เห็ดนางรมหลวง เห็ดหิมะขาว เห็ดหอม และเห็ดทอง โดยมีปริมาณเท่ากับร้อยละ 33.42±0.24, 30.53±0.26, 26.68±1.01 และ 10.94±1.33 ตามลำดับ [31]

ส่วนผลการวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุในเห็ดตีนแรด พบมีปริมาณแร่ธาตุต่าง ๆ สูงเมื่อเทียบกับปริมาณแร่ธาตุในเห็ดชนิดอื่น เช่น เห็ดออริจินิ เห็ดนางรม และเห็ดโคล [34] เมื่อใช้วัสดุเพาะสูตรที่ 2 ในการเพาะเห็ดตีนแรดสายพันธุ์ DOA-1 นอกจากจะทำให้เห็ดมีปริมาณปีต้า-กลูแคนสูงสุดแล้ว ยังทำให้มีปริมาณแร่ธาตุหลัก (Major minerals) บางชนิด ได้แก่ P, K และ Ca สูงสุดอีกด้วย อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ไม่สามารถตรวจพบคอปเปอร์ (Copper; Cu) ในเห็ดตีนแรดทุกสายพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองนี้ (Table 6)

4. บทสรุป

การศึกษานี้เป็นการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดตีนแรด และต่อปริมาณผลผลิตและคุณภาพของดอกเห็ดตีนแรด โดยใช้เห็ดตีนแรดทั้งหมด 5 สายพันธุ์ (DOA, DOA-1, DOA-4, DOA-7 และ DOA-10) ในการทดลอง ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดตีนแรดที่ทำการศึกษาคือ ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ (CMA, CWA, GPA, V8, MEA, และ

PDA) ค่า pH (4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10) และอุณหภูมิ (15, 20, 25, 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส) จากการทดลองพบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเส้นใยเห็ดตีนแรด คือ อาหาร MEA ที่ระดับ pH ในช่วง 5-10 และที่อุณหภูมิในช่วง 20-30 องศาเซลเซียส ส่วนปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตและคุณภาพของดอกเห็ดตีนแรดที่ทำการศึกษาคือ สูตรวัสดุเพาะ ซึ่งใช้ทั้งสิ้น 7 สูตร จากการทดลองพบว่า วัสดุเพาะสูตรที่ 7 (ก้อนเชื้อเห็ดเก่าผสมกับเมล็ดข้าวโพดป่น) ให้ผลผลิตของดอกเห็ดสูงที่สุดในทุกสายพันธุ์ โดยเห็ดตีนแรดสายพันธุ์ DOA-10 ที่เพาะด้วยวัสดุเพาะสูตรที่ 7 เป็นสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตของดอกเห็ดสูงที่สุด และดอกเห็ดที่ได้มีคุณภาพสูงสุด โดยมีความกว้างหมวกดอกเฉลี่ยและความยาวก้านดอกเฉลี่ยมากที่สุด ส่วนปริมาณปีต้า-กลูแคนและปริมาณแร่ธาตุหลักบางชนิด (P, K และ Ca) พบได้สูงสุดในเห็ดตีนแรดสายพันธุ์ DOA-1 ที่เพาะด้วยวัสดุเพาะสูตรที่ 2 (ใช้ขี้เลื่อยฟางเป็นวัสดุหลัก) ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญ และอาจมีประโยชน์ต่อการส่งเสริมการผลิตเห็ดตีนแรดให้เป็นเห็ดเศรษฐกิจในอนาคต

5. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ทุนวิจัยด้านวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) ในการสนับสนุนทุนวิจัยในการวิจัยและพัฒนาก่อสร้างต้นแบบการเพาะเห็ดในพื้นที่เมืองในแปลงวนเกษตรแบบไม่อาศัยโรงเรือน (เห็ดตับเต่าขาว และเห็ดร่างแห) เพื่อลดสภาวะโลกร้อนและพัฒนาเศรษฐกิจชุมชนอย่างยั่งยืน

6. References

- [1] Pataragetvit, S., Nutalaya, S. and Boon-Long, S. 1971. Preliminary study of cultivation of *Tricholoma crassum* (Berk) Sacc. **Agricultural Journal**. 4(3): 219-223. (in Thai)
- [2] Inyod, T. and et al. 2016. Selection of *Macrocybe crassa* mushroom for commercial production. **Agriculture and Natural Resources**. 50: 186-191.
- [3] Cuptapun, Y. 2014. Hed Taen Rad (*Macrocybe crassa*) interesting local mushrooms. **Food Journal**. 44(2): 23-26. (in Thai)
- [4] Pongsamart, S. and et al. 1986. **The Determination of Protein Quality of Mushroom**. Research Report, Chulalongkorn University. (in Thai)

Table 5 Nutritional values and β -glucan contents of five *M. crassa* strains cultivated on different substrate formulas

Formulas	Strains	Nutritional values (%)					β -glucan (mg/g DW)
		Moisture	Protein	Fat	Carbohydrate	Ash	
T1	DOA	11.89 ^{gh}	27.85 ^{de}	2.25 ^{cdefgi}	53.35 ^{ij}	9.10 ^r	38.81 ^g
	DOA-1	13.57 ^{de}	28.85 ^d	1.67 ^{fghi}	67.57 ^{abcdefg}	9.07 ^r	36.47 ^{ghi}
	DOA-4	14.24 ^{bc}	28.78 ^d	1.26 ⁱ	57.18 ^{ghij}	9.12 ^r	32.68 ^{lm}
	DOA-7	10.74 ^{ijk}	24.32 ^f	1.19 ⁱ	68.82 ^{abcdef}	9.34 ^p	40.99 ^f
	DOA-10	13.51 ^{def}	28.69 ^d	1.22 ⁱ	62.87 ^{cdefghi}	9.23 ^q	36.99 ^{ghi}
T2	DOA	12.76 ^{efg}	12.79 ^{rs}	1.86 ^{efghi}	62.99 ^{cdefghi}	12.04 ^{ef}	44.91 ^{bcd}
	DOA-1	12.09 ^g	14.94 ^{nop}	1.30 ^{hi}	63.92 ^{bcdefghi}	11.98 ^f	46.56 ^a
	DOA-4	12.51 ^{fg}	16.10 ^{lm}	2.04 ^{defghi}	53.79 ^{ij}	11.65 ^h	40.86 ^f
	DOA-7	6.98 ⁿ	11.85 st	2.16 ^{cdefghi}	58.26 ^{fghij}	12.13 ^{cd}	43.62 ^{cde}
	DOA-10	7.54 ^m	13.71 ^{qr}	2.49 ^{cdefghi}	58.08 ^{fghij}	12.26 ^b	43.14 ^{cde}
T3	DOA	6.40 ^o	12.07 st	1.91 ^{efghi}	63.07 ^{cdefghi}	10.45 ^m	41.32 ^{ef}
	DOA-1	10.95 ^{hi}	13.19 ^r	2.62 ^{cdefghi}	69.59 ^{abcde}	10.36 ⁿ	40.45 ^f
	DOA-4	11.12 ^h	14.91 ^{nop}	2.84 ^{cdefg}	58.87 ^{efghi}	10.77 ^k	41.76 ^{ef}
	DOA-7	11.12 ^h	11.46 ^t	1.20 ⁱ	60.45 ^{defghij}	10.69 ^l	42.16 ^{def}
	DOA-10	12.01 ^{gh}	20.89 ^g	1.99 ^{defghi}	50.61 ^j	10.34 ⁿ	40.83 ^f
T4	DOA	11.89 ^{gh}	17.54 ^{jk}	3.53 ^{bc}	58.51 ^{efghij}	11.32 ⁿ	40.01 ^f
	DOA-1	10.33 ^{kl}	15.76 ^{mn}	3.21 ^{cde}	62.99 ^{cdefghi}	10.97 ^j	46.20 ^{ab}
	DOA-4	14.20 ^{bc}	17.96 ^{ijk}	2.90 ^{cdefg}	54.75 ^{hij}	10.64 ^l	40.55 ^f
	DOA-7	10.56 ^{jk}	15.86 ^{mn}	2.27 ^{cdefghi}	64.17 ^{bcdefghi}	11.78 ^g	45.20 ^{bc}
	DOA-10	13.30 ^{ef}	15.60 ^{mno}	2.42 ^{cdefghi}	63.42 ^{cdefghi}	11.81 ^g	45.87 ^{bc}
T5	DOA	13.73 ^d	14.63 ^{opq}	3.04 ^{cdef}	69.52 ^{abcde}	10.38 ⁿ	37.74 ^{gh}
	DOA-1	14.32 ^b	15.34 ^{mnop}	3.41 ^{bcd}	68.59 ^{abcdef}	11.22 ⁱ	44.48 ^{bcd}
	DOA-4	12.05 ^{gh}	15.41 ^{mno}	3.40 ^{bcd}	58.07 ^{fghij}	12.15 ^c	43.04 ^{cde}
	DOA-7	10.79 ^{ijk}	15.61 ^{mno}	3.03 ^{cdef}	66.94 ^{abcdefg}	11.79 ^g	41.65 ^{ef}
	DOA-10	14.11 ^c	18.27 ^{ij}	1.49 ^{ghi}	76.61 ^a	12.13 ^{cd}	41.17 ^{ef}
T6	DOA	13.67 ^d	14.31 ^{pq}	4.89 ^a	65.27 ^{bcdefgh}	11.24 ⁱ	36.64 ^{ghi}
	DOA-1	15.16 ^{ab}	17.04 ^{kl}	3.43 ^{bcd}	67.80 ^{abcdefg}	11.63 ^h	42.32 ^{def}
	DOA-4	12.63 ^{efg}	19.67 ^h	4.66 ^{ab}	60.78 ^{cdefghij}	12.13 ^{cd}	35.57 ^{hi}
	DOA-7	10.78 ^{ijk}	18.99 ^{hi}	2.75 ^{cdefgh}	61.13 ^{cdefghij}	12.40 ^a	37.47 ^{gh}
	DOA-10	15.72 ^a	18.21 ^{ij}	2.76 ^{cdefgh}	71.74 ^{abc}	12.39 ^a	38.65 ^g
T7	DOA	13.33 ^e	31.37 ^b	1.70 ^{fghi}	70.96 ^{abcd}	9.26 ^q	37.56 ^{gh}
	DOA-1	14.09 ^{cd}	33.61 ^a	1.15 ⁱ	64.90 ^{bcdefgh}	9.07 ^r	36.21 ^{ghi}
	DOA-4	9.83 ^l	27.67 ^e	2.13 ^{cdefghi}	71.37 ^{abcd}	10.45 ^m	34.17 ^{jk}
	DOA-7	10.87 ^{hij}	30.20 ^c	1.50 ^{ghi}	66.64 ^{abcdefg}	10.25 ^o	38.85 ^g
	DOA-10	14.35 ^b	30.90 ^{bc}	1.76 ^{efghi}	74.75 ^{ab}	12.07 ^{de}	33.97 ^{kl}
F-test		**	**	**	**	**	**
%CV		2.05	4.41	2.04	1.56	3.22	3.04

Note: ** and different superscript letters in a column indicate significant difference at the significance level of 0.05.

Table 6 Mineral contents of five *M. crassa* strains cultivated on different substrate formulas

Formulas	Strains	Mineral contents (mg/kg DW)								
		P	K	Ca	Mg	Na	Fe	Zn	Cu	Mn
T1	DOA	8,300 ^{ef}	46,700 ^c	155.01 ^{jk}	1,257.69 ^{bcde}	1,013.47 ^{fgshi}	ND	25.01 ^m	ND	ND
	DOA-1	8,000 ^{hij}	43,700 ^f	178.93 ^{hi}	1,306.74 ^b	1,124.76 ^f	ND	25.03 ^m	ND	ND
	DOA-4	8,800 ^c	46,900 ^c	150.79 ^k	1,482.09 ^a	1,105.57 ^{fgsh}	ND	42.85 ^{ijk}	ND	ND
	DOA-7	7,600 ^k	43,400 ^{gh}	122.59 ^m	1,173.00 ^{defg}	709.88 ^{op}	ND	8.55 ^m	ND	ND
	DOA-10	8,900 ^{bc}	47,800 ^b	133.14 ^l	1,277.47 ^{bc}	1,466.02 ^e	ND	44.60 ^{hijk}	ND	ND
T2	DOA	5,300 ^u	35,300 ^{rst}	433.04 ^c	651.15 ^o	828.97 ^{klmno}	213.44 ^{kl}	37.65 ^{kl}	ND	13.07 ^{efg}
	DOA-1	9,600 ^a	53,000 ^a	493.69 ^a	959.70 ^{klmn}	1,552.24 ^e	318.03 ^d	57.23 ^{fg}	ND	12.01 ^g
	DOA-4	7,000 ⁿ	43,100 ^h	487.38 ^b	922.89 ^{mn}	993.11 ^{ghij}	321.01 ^d	50.20 ^{ghi}	ND	18.87 ^{bcd}
	DOA-7	5,700 ^s	40,900 ^l	422.29 ^d	717.75 ^o	899.02 ^{ijkl}	248.83 ^{ghijk}	32.04 ^{lm}	ND	12.47 ^{fg}
	DOA-10	6,200 ^q	43,100 ^h	492.63 ^{ab}	1,046.66 ^{hijkl}	936.33 ^{ijk}	283.21 ^{defg}	53.79 ^{gh}	ND	17.55 ^{cd}
T3	DOA	5,500 st	41,600 ^k	180.90 ^h	927.35 ^{mn}	947.96 ^{ijk}	247.02 ^{ghijk}	57.20 ^{fg}	ND	20.24 ^{bc}
	DOA-1	5,000 ^v	37,500 ^q	158.71 ^j	682.25 ^o	791.69 ^{lmno}	370.46 ^c	39.95 ^{jkl}	ND	21.17 ^{bc}
	DOA-4	6,100 ^{qr}	43,600 ^{fg}	134.27 ^l	1,082.40 ^{ghi}	1,014.10 ^{ghi}	270.20 ^{efghi}	52.03 ^{ghi}	ND	13.79 ^{efg}
	DOA-7	5,600 ^s	39,700 ^{no}	262.38 ^f	874.12 ⁿ	716.13 ^{nop}	267.23 ^{efghij}	46.61 ^{hij}	ND	15.40 ^{defg}
	DOA-10	9,000 ^b	42,400 ⁱ	118.49 ^m	1,115.81 ^{egh}	914.05 ^{ijkl}	263.68 ^{efghij}	63.20 ^{def}	ND	20.24 ^{bc}
T4	DOA	8,200 ^s	43,100 ^h	260.71 ^f	1,269.82 ^{bcd}	837.68 ^{klmn}	420.05 ^b	84.95 ^c	ND	1.09 ^{jk}
	DOA-1	7,600 ^k	41,900 ^j	121.53 ^m	1,279.22 ^{cb}	635.33 ^{pq}	363.50 ^c	80.16 ^c	ND	4.36 ^{hij}
	DOA-4	7,200 ^m	40,400 ^m	49.69 ^q	1,168.03 ^{efg}	748.39 ^{mno}	300.51 ^{de}	86.37 ^c	ND	2.74 ^{ijk}
	DOA-7	6,000 ^{qrs}	36,300 ^{qrs}	122.49 ^m	928.88 ^{mn}	540.49 ^q	233.55 ^{ijk}	83.77 ^c	ND	ND
	DOA-10	8,000 ^{hi}	45,800 ^d	265.19 ^f	1,434.77 ^a	864.67 ^{ijklm}	376.83 ^c	107.75 ^a	ND	6.22 ^{hi}
T5	DOA	7,200 ^m	33,100 ^u	ND	993.92 ^{ijklm}	3,068.02 ^c	426.48 ^b	70.05 ^d	ND	ND
	DOA-1	7,200 ^m	33,100 ^u	ND	1,062.50 ^{hijk}	3,754.30 ^a	252.12 ^{ghijk}	45.10 ^{hijk}	ND	ND
	DOA-4	7,500 ^{kl}	37,100 ^{qr}	ND	987.92 ^{ijklm}	2,442.20 ^d	426.54 ^b	46.13 ^{hijk}	ND	ND
	DOA-7	6,900 ^{no}	33,000 ^u	ND	990.85 ^{ijklm}	3,216.45 ^b	616.95 ^a	48.22 ^{hij}	ND	ND
	DOA-10	6,200 ^q	34,500 ^{rst}	ND	923.50 ^{mn}	50.62 ^f	262.95 ^{efghij}	67.34 ^{de}	ND	ND
T6	DOA	6,700 ^o	37,400 ^q	130.08 ^l	1,082.35 ^{ghi}	979.10 ^{hij}	233.23 ^{ijk}	80.78 ^c	ND	15.88 ^{def}
	DOA-1	7,600 ^k	41,400 ^k	312.97 ^e	1,196.05 ^{cdef}	1,110.61 ^{fg}	285.58 ^{defg}	86.06 ^c	ND	4.30 ^{hij}
	DOA-4	8,000 ^{hij}	44,400 ^e	173.37 ⁱ	1,274.16 ^{bc}	1,109.58 ^{fg}	386.79 ^{bc}	84.88 ^c	ND	7.55 ^h
	DOA-7	6,500 ^p	35,900 ^{qrs}	156.47 ^{jk}	967.19 ^{klmn}	1,101.09 ^{fgh}	294.29 ^{def}	68.84 ^d	ND	21.81 ^{ab}
	DOA-10	6,700 ^o	33,600 ^u	68.30 ^p	899.94 ^{mn}	577.54 ^q	236.04 ^{hijk}	96.72 ^b	ND	7.36 ^h
T7	DOA	8,600 ^c	37,900 ^p	111.28 ⁿ	1,043.51 ^{hijkl}	930.34 ^{ijk}	176.63 ^l	51.36 ^{ghi}	ND	24.90 ^a
	DOA-1	6,000 ^{qrs}	37,900 ^p	121.56 ^m	908.11 ^{mn}	765.33 ^{mno}	209.03 ^{kl}	64.16 ^{def}	ND	5.99 ^{hi}
	DOA-4	8,200 ^s	39,900 ^{no}	175.47 ^{hi}	972.86 ^{ijklmn}	935.66 ^{ijk}	240.61 ^{ghijk}	57.31 ^{fg}	ND	18.99 ^{bcd}
	DOA-7	8,400 ^e	40,100 ⁿ	189.07 ^s	955.27 ^{lmn}	1,006.96 ^{fgshi}	209.32 ^{kl}	66.15 ^{def}	ND	21.09 ^{bc}
	DOA-10	8,100 ^h	41,000 ^l	99.09 ^o	1,074.00 ^{ghi}	960.72 ^{ijk}	222.14 ^{jk}	58.72 ^{efg}	ND	16.16 ^{de}
F-test		**	**	**	**	**	**	**	-	**
%CV		7.74	6.42	15.36	5.27	5.84	9.31	8.18	-	21.53

Note: ND = not detected; ** and different superscript letters in a column indicate significant difference at the significance level of 0.05.

- [5] Saosoong, P. and et al. 2003. Antioxidant activity of some Thai edible mushroom. In: **Proceedings of Bio Thailand for Life**, 17-20 July 2003. Chonburi, Thailand. (in Thai)
- [6] Zhang, S. and et al. 2020. Mushroom consumption and incident risk of prostate cancer in Japan: A pooled analysis of the Miyagi Cohort Study and the Ohsaki Cohort Study. **International Journal of Cancer**. 146(10): 2712-2720.
- [7] Inyod, T. and et al. 2021. Development of grey oyster mushroom production technology with selenium supplemented rice straw cultivation substrates. **Journal of Science and Technology, Ubon Ratchathani University**. 23(3): 1-11. (in Thai)
- [8] Alaubydi, M.A. and Abed, R.M. 2011. The Usage of β -glucan extracted from local mushroom as immunomodulator. **Current Research Journal of Biological Sciences**. 3(5): 535-541.
- [9] Cao, L.Z. and Lin, Z.B. 2003. Regulatory effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on cytotoxic T-lymphocytes induced by dendritic cells *in vitro*. **Acta Pharmacologica Sinica**. 24(4): 321-326.
- [10] Suchecka, D. and et al. 2015. Antioxidative and antiinflammatory effects of high beta-glucan concentration purified aqueous extract from oat in experimental model of LPS-induced chronic enteritis. **Journal of Functional Foods**. 14: 244-254.
- [11] Sornprasert, R. and et al. 2017. Comparison of Tin Raed mushroom (*Macrocybe crassa* (Berk.) Pegler & Lodge) cultivated with six substrate formulas. **Journal of Agricultural Research and Extension**. 34(3): 1-12. (in Thai)
- [12] Kjeldahl, J. 1883. A new method for the determination of nitrogen in organic matter. **Journal of Analytical Chemistry**. 22: 366-382.
- [13] Hansen, J. and Moller, I. 1975. Percolation of starch and soluble carbohydrates from plant tissue for quantitative determination with anthrone. **Analytical Biochemistry**. 68(1): 87-94.
- [14] Association Official Analytical Chemists (AOAC). 2000. **Official Method of Analysis of AOAC International**. 17th edition. Gaithersburg, MD: AOAC International.
- [15] Dospatljev, L. and Ivanova, M. 2017. Determination of heavy metals in mushroom samples by atomic absorption spectrometry. **Bulgarian Chemical Communications**. 49(Special Issue G): 5-9.
- [16] Westerman, R.L. 1990. **Soil Testing and Plant Analysis**. 3rd edition. Madison: Soil Science Society of America. 512.
- [17] Inyod, T. and et al. 2017. Morphological characteristics and molecular identification of a wild Thai isolate of the tropical mushroom Hed Taen Rad (*Macrocybe crassa*). **Biodiversitas**. 18(1): 221-228.
- [18] Inyod, T. and et al. 2021. Suitable conditions for production of beta-glucan in oyster mushroom fruiting body. **Journal of Science and Technology Mahasarakham University**. 40(4): 352-363. (in Thai)
- [19] Hoa, H.T. and Wang, C.L. 2014. The effects of temperature and nutritional conditions on mycelium growth of two oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus cystidiosus*). **Microbiology**. 43(1): 14-23.
- [20] Muthu, N. and Shanmugasundaram, K. 2015. Effect of five different culture media on mycelial growth of *Agrocybe aegerita*. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**. 6(12): 5193-5197.

- [21] Kushwaha, K.P.S. and Mishra, A.K.S.K. 2016. Yield evaluation of *Macrocybe gigantea* (Massee) Pegler & Lodge (Giant mushroom) on locally available different agro-wastes. **International Journal of Advanced Life Sciences**. 5(24): 11277-11278.
- [22] Devi, S. and Sumbali, G. 2021. Suitability of three different cereal grains for spawn development and their impact on the growth and yield of *Macrocybe gigantea* (Massee) Pegler & Lod. **Journal of Applied and Natural Science**. 13(1): 204-209.
- [23] Charoenrak, P. and et al. 2020. Use of spent mushroom compost mix with rice straw on yield of straw mushroom in plastic basket. **Thai Journal of Agricultural Science**. 51(1): 255-260. (in Thai)
- [24] Sattayaphisit, W. 2000. **Genetic Instability of Mushrooms as Affected by Continuous Subculturing for Production**. M.Sc. Thesis, Suranaree University of Technology.
- [25] Srioon, K. 2018. Effects of amount of rice bran and number of sawdust spawn on the growth and yield of milky mushroom (*Calocybe indica*). **Thai Journal of Agricultural Science**. 49(2): 193-206. (in Thai)
- [26] Suwanwijit, W. 2003. **Effects of Some Supplemented Foods on Yield and Nutritional Value of Abalone Mushroom (*Pleurotus cystidiosus* O.K. miller.)**. M.Sc. Thesis, Kasetsart University. (in Thai)
- [27] Namee, J. and et al. 2021. Utilization of rice straw for the production of Hed Nangfa in Non Mak Mun subdistrict, Sa Kaeo province. **Area Based Development Research Journal**. 13(3): 163-179. (in Thai)
- [28] Tanarungrangsee, K., Laohakunjit, N. and Kerdchoechuen, O. 2015. Physicochemical and functional properties of dietary fiber from rice straw by alkaline extraction. **Agricultural Science Journal**. 46(3): 461-464. (in Thai)
- [29] Phasinam, K. and et al. 2020. A study of optimal proportion on the growth of mycelium *Pleurotus sajor-caju* by using rain tree sawdust, para rubber sawdust and rice straw as material. **Agricultural Science Journal**. 51(1): 163-167. (in Thai)
- [30] Laead-on, K. 2021. Utilization of rice straw for mushroom cultivated and supplemented materials on growth and yield of grey oyster mushroom in cylinder plastic. **Rajamangala University of Technology Tawan-ok Research Journal**. 14(1): 32-41. (in Thai)
- [31] Chanluang, S. 2015. **A Study of Beta-glucans, Protein and Fiber in Wild Mushroom in Ubon Ratchathani**. Research Report, Ubon Ratchathani University. (in Thai)
- [32] Rambey, R., Sitepu, I.D.B. and Siregar, E.B.M. 2019. Productivity of oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus*) on media corncobs mixed with sawdust. **Earth and Environmental Science**. 260: 1-6.
- [33] Bach, F. and et al. 2017. Edible mushrooms: a potential source of essential amino acids, glucans and minerals. **International Journal of Food Science and Technology**. 52(11): 2382-2392.
- [34] Genccelep, H. and et al. 2009. Determination of mineral contents of wild-grown edible mushrooms. **Food Chemistry**. 113(4): 1033-1036.