

การพัฒนาสูตรอาหารที่ชักนำการสร้างสโตรมาของเชื้อรา *Cordyceps* sp.

Development of culture media inducing stroma production of *Cordyceps* sp.

วรารณ สุทธิสา^{1*}

Waraporn Sutthisa^{1*}

บทคัดย่อ: การศึกษาการเจริญของเชื้อรา *Cordyceps* sp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) และ mushroom complete agar (MCM) หลังจากปลูกเชื้อ 21 วัน พบว่าเชื้อเจริญช้ามาก แต่บนอาหาร PDA เชื้อสามารถสร้าง pigment ได้มากกว่าบนอาหาร MCM การฉีดสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Cordyceps* sp. ที่ความเข้มข้น 10^8 สปอร์/มล. ให้กับดักแด้ไหมและหนอนไหม พบว่าเชื้อสามารถเจริญบนดักแด้ไหมได้ดีกว่าบนหนอนไหม การศึกษาการเจริญของเชื้อบนอาหารกึ่งสังเคราะห์ผสมกับโปรตีนจากดักแด้ไหมหรือหนอนไหม พบว่าหลังจากปลูกเชื้อ 21 วัน การเจริญของเชื้อไม่มีความแตกต่างกันทั้งชนิดอาหาร และแหล่งโปรตีน การศึกษาการเจริญของเชื้อบนวัสดุธรรมชาติผสมกับโปรตีนจากดักแด้ไหมและหนอนไหม พบว่าหลังจากการปลูกเชื้อ 21 วัน การเจริญของเชื้อในทุกกรรมวิธีที่มีการเติมโปรตีนจากดักแด้ไหมและหนอนไหมไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นการเลี้ยงเชื้อบนกิ่งหม่อนบดผสมรำข้าวผสมโปรตีนจากดักแด้ไหม 5% กิ่งหม่อนบดผสมรำข้าวผสมโปรตีนจากหนอนไหม 5 และ 10 % ที่มีการเจริญน้อยกว่าในกรรมวิธีอื่น ไม่พบการพัฒนาเป็นสโตรมาในทุกกรรมวิธี

คำสำคัญ: *Cordyceps* sp. ดักแด้ไหม หนอนไหม

ABSTRACT: This research is a study of the mycelium growth of *Cordyceps* sp. cultured on potato dextrose agar (PDA) and mushroom complete agar (MCM) plates for 21 days. The results showed slow growth in both media. However, the amount of *Cordyceps* sp. pigment developed on PDA was higher than that of MCM medium. Injection of the 10^8 spore/ml. spore suspension into pupae and silkworm larvae showed higher mycelium in pupae than that of silkworm larvae. There was no significant difference on the growth of *Cordyceps* sp. on semi-synthetic medium mixed with protein from pupae or silkworm larvae powder, except in culturing the mycelium on grinded mulberry branch medium mixed with rice bran, 5% pupae powder, 5% or 10% of silkworm larvae powder. No stroma production was seen in all treatments.

Keywords: *Cordyceps* sp., pupae, silkworm larvae

¹ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม มหาสารคาม 44150

Department of Biology, Faculty of Science, Mahasarakham University, Mahasarakham 44150, Thailand

* Corresponding author: wsutthisa@gmail.com

บทนำ

เชื้อรา *Cordyceps* เป็นเชื้อราที่อยู่ในไฟลัม Ascomycota อันดับ Hypocreales วงศ์ Clavicipitaceae พบได้ในประเทศต่างๆ ทั่วโลก เป็นราที่สร้างสโตรมา (stroma) ซึ่งเป็นส่วนของเส้นใยที่อัดแน่น มีรูปร่างคล้ายกระบอก มีก้านยาวและตรงสำหรับรองรับส่วนของเนื้อเยื่อที่จะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ ทุกชนิดเป็นปรสิตของแมลง โดยทำให้เกิดโรคกับแมลงในอันดับ Diptera, Hymenoptera, Isoptera และ Lepidoptera มีรายงานถึงการนำหนอนผีเสื้อและดักแด้ที่ถูก *Cordyceps* เข้าทำลายไปใช้เป็นยารักษาโรคและเป็นอาหาร ซึ่งพบว่า *Cordyceps* บางชนิด เช่น *C. sinensis* สร้างสาร cordycepic acid หรือสาร cordycepin ซึ่งเป็น isomer หนึ่งของ quinic acid สามารถนำมาใช้เป็นยารักษาโรคได้ (Isaka et al., 2000) เนื่องจากวงจรชีวิตที่สมบูรณ์ของเชื้อรา *Cordyceps* spp. บางชนิดใช้เวลานาน 5-7 ปี จึงทำให้มีจำนวนน้อยไม่เพียงพอต่อความต้องการที่เพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้มีราคาสูงในประเทศจีน ญี่ปุ่น และจากมากได้พัฒนาสูตรอาหารในการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Cordyceps* ขึ้นมาโดยทั่วไปมี 2 วิธีการคือการเลี้ยงในอาหารเหลวซึ่งจะทำให้สูญเสียส่วนของ extra-cellular compounds ที่เชื้อขับออกมา อีกวิธีการหนึ่งคือการเลี้ยงในอาหารแข็งซึ่งเป็นวิธีการที่ดีกว่าเนื่องจากไม่มีการสูญเสียสารสำคัญไป และเมื่อนำส่วนของเส้นใยและส่วนของสโตรมาที่ได้จากการเลี้ยงบนอาหารแข็งมาวิเคราะห์พบว่าในสโตรมามีสารสำคัญมากกว่าในเส้นใย ในประเทศจีนนิยมใช้วัสดุเหลือทิ้งจากการเลี้ยงไหม (*Bombyx mori*) และหนอนไหมอบแห้งเป็นส่วนผสมของอาหารเลี้ยงเชื้อ *Cordyceps* สำหรับประเทศไทยเป็นประเทศที่มีการปลูกหม่อนเลี้ยงไหมกันมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ สิริภัก และ วันวิสาข์ (2552) จึงได้ทำการศึกษาการเจริญของเชื้อรา *Cordyceps* spp. บนดักแด้ไหมพันธุ์นางลายx108 โดยการปลูกเชื้อให้

กับดักแด้ไหม พบว่าเชื้อสามารถเจริญบนดักแด้ไหมได้ดี การวิจัยนี้จึงได้นำผลผลิตจากการเลี้ยงไหม ได้แก่ หนอนไหม และดักแด้ไหมพันธุ์ดอกบัว มาใช้เป็นส่วนผสมในการพัฒนาสูตรอาหารเพื่อชักนำให้เกิดการสร้างสโตรมาของเชื้อรา *Cordyceps* sp. เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าและใช้ประโยชน์ในด้านเภสัชกรรมต่อไป

วิธีการศึกษา

การทดสอบการเจริญของเชื้อรา *Cordyceps* sp. บนอาหารสังเคราะห์

นำเชื้อรา *Cordyceps* sp. ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากห้องปฏิบัติการเก็บรักษาสายพันธุ์จุลินทรีย์ไบโอเทค ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ชนิด คือ potato dextrose agar (PDA) และ mushroom complete medium (MCM) ชนิดละ 10 ข้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 °C ในที่มืด 12 ชม. สลับกับที่มีแสง 12 ชม. ประเมินการเจริญของเส้นใย โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อทุกวัน นาน 21 วัน

การทดสอบการเจริญของเชื้อรา *Cordyceps* sp. บนหนอนไหมและดักแด้ไหม

นำหนอนไหมวัย 5 และดักแด้ไหมพันธุ์ดอกบัว มาฆ่าเชื้อที่ผิวโดยแช่ในแอลกอฮอล์ 70% นาน 2 นาที แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 70 °C นาน 2 ชม. เพื่อฆ่าหนอนไหมและดักแด้ จากนั้นทำการฉีดสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Cordyceps* sp. ที่ความเข้มข้น 10⁸ สปอร์/มล. ใน Tween 80 (0.1%) ให้กับหนอนไหมและดักแด้ไหม ตัวละ 0.1 มล. นำหนอนไหมและดักแด้ใส่ลงในหลอดทดลองที่มีทรายชุมน้ำและมีสำลีบรรจุอยู่ เก็บชุดทดลองที่อุณหภูมิห้องนาน 3 วัน แล้วจึงย้ายไปเก็บในที่มืดที่อุณหภูมิ 24-25 °C โดยยัดทั้งหมด 10 ข้ำ (สิริภัก และวันวิสาข์, 2552) สังเกตการเจริญของเส้นใย นาน 30 วัน

การทดสอบการเจริญของเชื้อรา *Cordyceps* sp. บนอาหารกึ่งสังเคราะห์ผสมกับแหล่งโปรตีนธรรมชาติ

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อกึ่งสังเคราะห์ PDA และ MCM ผสมกับอาหารธรรมชาติซึ่งเป็นแหล่งโปรตีนธรรมชาติได้แก่ โปรตีนจากหนอนไหม และ ดักแด้ไหม ในอัตราส่วน 5, 10 และ 15% ชนิดละ 10 ข้ำ บ่มที่อุณหภูมิ 25 °C ในที่มืด 12 ชม. สลับกับที่มีแสง 12 ชม. สังเกตการเจริญของเส้นใย และวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อทุกวัน นาน 21 วัน

การทดสอบการเจริญของเชื้อรา *Cordyceps* sp. บนวัสดุธรรมชาติผสมกับแหล่งโปรตีนธรรมชาติ

ทำการเลี้ยงเชื้อรา *Cordyceps* sp. บนวัสดุธรรมชาติ ได้แก่ กิ่งหม่อนบด ข้าวฟ่างบด รำข้าว และ วัสดุธรรมชาติผสมกับโปรตีนจากหนอนไหมหรือดักแด้ไหม ซึ่งบรรจุอยู่ในขวดปากกว้าง ในอัตราส่วน 5, 10 และ 15% ชนิดละ 10 ข้ำ บ่มที่อุณหภูมิ 25 °C ในที่มืด 12 ชม. สลับกับที่มีแสง 12 ชม. สังเกตการเจริญของเส้นใย และวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อทุกวัน นาน 21 วัน

ผลการศึกษา

การทดสอบการเจริญของเชื้อรา *Cordyceps* sp. บนอาหารสังเคราะห์

การทดสอบการเจริญของเชื้อรา *Cordyceps* sp. บนอาหาร PDA และ MCM พบว่าเชื้อมีการเจริญช้ามาก บนอาหาร PDA สามารถวัดค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อ *Cordyceps* sp. ได้ 1.3, 2.1 และ 2.8 ซม. หลังจากเลี้ยงเชื้อ 7, 14 และ 21 วัน ตามลำดับ ซึ่งบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดนี้ เชื้อรา *Cordyceps* sp. มีการสร้าง pigment สีชมพูม่วง ได้อย่างชัดเจน ในขณะที่การเลี้ยงเชื้อบนอาหาร MCM วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อได้ 1.4, 2.1 และ 2.6 ซม. หลังจากเลี้ยงเชื้อ 7, 14 และ 21 วัน ตามลำดับ และมีการสร้าง pigment ในอาหารเล็กน้อย โดยพบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อนๆ

การทดสอบการเจริญของเชื้อรา *Cordyceps* sp. บนหนอนไหมและดักแด้ไหม

หลังจากปลูกเชื้อนาน 3 วัน เริ่มสังเกตเห็นเส้นใยสีขาวเจริญออกมาจากดักแด้ไหม และเจริญคลุมทั่วทั้งตัวดักแด้ไหมภายใน 30 วัน ส่วนหนอนไหมหลังจากปลูกเชื้อนาน 3 วัน เริ่มสังเกตเห็นเส้นใยสีขาวเจริญออกมาบนตัวหนอน เส้นใยฟูและเจริญคลุมตัวหนอน หลังจากปลูกเชื้อนาน 10 วัน แต่เมื่อถึง 30 วัน หนอนไหมที่ทำการทดลองเน่าทั้งหมด เส้นใยที่เจริญบนตัวหนอนยุบตัวลง

การทดสอบการเจริญของเชื้อรา *Cordyceps* sp. บนอาหารกึ่งสังเคราะห์ผสมกับแหล่งโปรตีนธรรมชาติ

หลังจากปลูกเชื้อ 7 วัน ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเลี้ยงเชื้อบนอาหาร PDA, PDA ผสมกับโปรตีนจากดักแด้ไหม และโปรตีนจากหนอนไหม ที่ความเข้มข้น 5, 10 และ 15% ส่วนการเลี้ยงเชื้อบนอาหาร MCM พบว่า เชื้อรา *Cordyceps* sp. มีการเจริญได้ดีกว่าบนอาหาร PDA การเลี้ยงเชื้อบนอาหาร MCM ผสมกับโปรตีนจากหนอนไหมบด 15% และอาหาร MCM ผสมกับโปรตีนจากดักแด้ไหม 5, 10 และ 15% เชื้อมีการเจริญได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 1) หลังจากปลูกเชื้อ 14 วัน พบว่าเชื้อราสามารถเจริญได้ดีบนอาหาร PDA ผสมกับโปรตีนจากหนอนไหมบด 10 และ 15% และผสมโปรตีนจากดักแด้ไหมบด 15% ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \geq 0.05$) กับการเลี้ยงเชื้อบนอาหาร MCM ผสมกับโปรตีนจากดักแด้ไหมบด 10 และ 15% (Table 1) หลังจากปลูกเชื้อ 21 วัน พบว่า เชื้อราสามารถเจริญได้เต็มขวดเลี้ยงเชื้อ (2.7 ซม.) ในทุกกรรมวิธีที่มีการเติมโปรตีนจากดักแด้ไหม หรือหนอนไหมทุกความเข้มข้น (Table 1) จากการสังเกตการเจริญของเชื้อหลังจาก 21 วัน พบว่าเส้นใยจะมีการเจริญฟูเต็มขวดเลี้ยงเชื้อและค่อยๆ ยุบตัวลงเมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อหมด

การทดสอบการเจริญของเชื้อรา *Cordyceps* sp. บนวัสดุธรรมชาติผสมกับแหล่งโปรตีนธรรมชาติ

หลังจากปลูกเชื้อ 7 วัน การเลี้ยงเชื้อบนข้าวฟ่าง บดผสมรำข้าวผสมโปรตีนจากหนอนไหมบด 10 และ 15% เชื้อรา *Cordyceps* sp. สามารถเจริญได้ดีแต่ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) กับการเลี้ยงเชื้อบนข้าวฟ่างบดผสมรำข้าวผสม โปรตีนจากดักแด้ไหมบด 10 และ 15% ส่วนการเลี้ยง เชื้อบนกิ่งหม่อนบดผสมรำข้าว ผสมโปรตีนจากดักแด้ ไหมบดหรือหนอนไหมบด หรือไม่ผสมแหล่งโปรตีน พบว่ามีการเจริญของเชื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติ การ เลี้ยงเชื้อบนข้าวฟ่างบดและการเลี้ยงเชื้อบนข้าวฟ่าง บดผสมกับรำข้าว มีการเจริญของเชื่อน้อย (Table 2)

หลังจากปลูกเชื้อ 14 วัน พบว่า เชื้อรา *Cordyceps* sp. สามารถเจริญได้ดีเมื่อเลี้ยงเชื้อบนข้าวฟ่างบดผสม รำข้าวผสมโปรตีนจากหนอนไหมบด 15% และผสม โปรตีนจากดักแด้ไหมบด 15% ซึ่งไม่แตกต่างอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติกับการเลี้ยงเชื้อบนกิ่งหม่อนบด ผสมรำข้าวผสมโปรตีนจากดักแด้ไหมบด 10 และ 15% ข้าวฟ่างบดผสมโปรตีนจากดักแด้ไหม 5, 10 และ 15% (Table 2) หลังจากปลูกเชื้อ 21 วัน พบว่า เชื้อราสามารถเจริญได้เต็มขวดเลี้ยงเชื้อ (2.7 ซม.) ใน ทุกกรรมวิธี ยกเว้นการเลี้ยงเชื้อบนกิ่งหม่อนบดผสมรำ ข้าว (Table 2) จากการสังเกตการเจริญของเชื้อหลัง จาก 21 วัน ไม่พบการพัฒนาเป็นสโตรมา แต่เส้นใย จะมีการเจริญฟูเต็มขวด

Table 1 Mycelium growth of *Cordyceps* sp. on semi-synthetic medium mixed with protein from pupae and silkworm larvae.

Treatment	Colony diameter (cm.) ^{1/}		
	Day after inoculation		
	7 days	14 days	21 days
PDA	1.00 ^c	1.50 ^e	2.33 ^c
PDA + 5% pupae powder	1.00 ^c	1.60 ^e	2.70 ^a
PDA + 10% pupae powder	1.00 ^c	1.77 ^{cde}	2.70 ^a
PDA + 15% pupae powder	1.00 ^c	2.63 ^{ab}	2.70 ^a
PDA + 5% silkworm larvae powder	1.00 ^c	1.70 ^{de}	2.70 ^a
PDA + 10% silkworm larvae powder	1.00 ^c	2.23 ^{abcd}	2.70 ^a
PDA + 15% silkworm larvae powder	1.00 ^c	2.70 ^a	2.70 ^a
MCM	1.00 ^c	1.73 ^{cde}	2.50 ^b
MCM + 5% pupae powder	1.20 ^{ab}	2.03 ^{bcde}	2.70 ^a
MCM + 10% pupae powder	1.23 ^{ab}	2.33 ^{abc}	2.70 ^a
MCM + 15% pupae powder	1.20 ^{ab}	2.63 ^{ab}	2.70 ^a
MCM + 5% silkworm larvae powder	1.00 ^c	1.73 ^{cde}	2.70 ^a
MCM + 10% silkworm larvae powder	1.13 ^{bc}	2.10 ^{abcde}	2.70 ^a
MCM + 15% silkworm larvae powder	1.30 ^a	2.70 ^a	2.70 ^a

^{1/} Means (n=5) followed by the same letters are not significantly different ($P > 0.05$) based on a protected test of least significant difference.

Table 2 Mycelium growth of *Cordyceps* sp. on natural material mixed with protein from pupae and silkworm.

Treatment	Colony diameter (cm.) ¹		
	Day after inoculation		
	7 days	14 days	21 days
Mulberry + rice bran	1.00 ^{de}	2.00 ^{gh}	2.30 ^c
Mulberry + rice bran + 5% pupae powder	1.07 ^{cd}	2.00 ^{gh}	2.47 ^b
Mulberry + rice bran + 10% pupae powder	1.07 ^{cd}	2.67 ^a	2.70 ^a
Mulberry + rice bran + 15% pupae powder	1.13 ^{bcd}	2.63 ^{ab}	2.70 ^a
Mulberry + rice bran + 5% silkworm larvae powder larvae	0.90 ^{ef}	1.70 ^h	2.47 ^b
Mulberry + rice bran + 10% silkworm larvae powder larvae	1.03 ^{de}	2.10 ^{fg}	2.47 ^b
Mulberry + rice bran + 15% silkworm larvae powder larvae	1.03 ^{de}	2.33 ^{bcdef}	2.70 ^a
Sorghum	0.70 ^g	1.73 ^h	2.70 ^a
Sorghum + 5% pupae powder	0.97 ^{def}	2.50 ^{abcde}	2.70 ^a
Sorghum + 10% pupae powder	1.03 ^{de}	2.57 ^{abc}	2.70 ^a
Sorghum + 15% pupae powder	1.00 ^{de}	2.53 ^{abcd}	2.70 ^a
Sorghum + 5% silkworm larvae powder larvae	1.00 ^{de}	2.00 ^{gh}	2.70 ^a
Sorghum + 10% silkworm larvae powder larvae	1.13 ^{bcd}	2.07 ^{fg}	2.70 ^a
Sorghum + 15% silkworm larvae powder larvae	1.20 ^{bc}	2.23 ^{defg}	2.70 ^a
Sorghum + rice bran	0.83 ^{fg}	2.20 ^{efg}	2.70 ^a
Sorghum + rice bran + 5% pupae powder	1.03 ^{de}	2.30 ^{cdefg}	2.70 ^a
Sorghum + rice bran + 10% pupae powder	1.23 ^{abc}	2.33 ^{bcdef}	2.70 ^a
Sorghum + rice bran + 15% pupae powder	1.27 ^{ab}	2.50 ^{abcde}	2.70 ^a
Sorghum + rice bran + 5% silkworm larvae powder larvae	1.03 ^{de}	2.20 ^{efg}	2.70 ^a
Sorghum + rice bran + 10% silkworm larvae powder larvae	1.23 ^{abc}	2.27 ^{cdefg}	2.70 ^a
Sorghum + rice bran + 15% silkworm larvae powder larvae	1.37 ^a	2.70 ^a	2.70 ^a

¹ Means (n=5) followed by the same letters are not significantly different (P>0.05) based on a protected test of least significant difference.

วิจารณ์

การศึกษาการเจริญของเชื้อรา *Cordyceps* sp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ MCM พบว่าการเจริญของเชื้อไม่แตกต่างกัน แต่บนอาหาร PDA เชื้อสามารถสร้าง pigment ได้มากกว่าบนอาหาร MCM แต่ไม่พบการสร้างสโตรมาในอาหารทั้ง 2 ชนิด จากงานวิจัยของ ยุกพิน และคณะ (2543) ได้ทำการศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. pseudomilitaris* ในอาหารเลี้ยงเชื้อหลากหลายชนิดในห้องปฏิบัติการ รวม

ถึงอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโต พบว่า *C. pseudomilitaris* สายพันธุ์ 945.03, 951.2, 4671, 5558 และ 6712 สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 25°C แต่ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิ 30°C ในขณะที่ Plaingam et al. (1998) ศึกษาคุณลักษณะและสภาวะการเจริญที่เหมาะสมรวมถึงการสร้างรงควัตถุของ *C. pseudomilitaris* 4671 ที่เจริญบนอาหารแข็ง potato dextrose agar, sabouraud dextrose agar, malt extract agar, minimum medium agar, Czapek-Doz agar และ low carbon

source agar พบว่าที่อุณหภูมิ 30°C มีผลทำให้การผลิตควิตูได้เร็วกว่าแต่มีการเจริญของเส้นใยน้อยกว่าที่อุณหภูมิ 25°C แต่อุณหภูมิไม่มีผลต่อลักษณะการเจริญของราในอาหารเหลว PDB, SDB, Czapek yeast autolysate agar และ yeast extract sucrose agar อุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 25-30°C และที่อุณหภูมิ 37°C เชื้อไม่สามารถเจริญได้เลย การฉีดสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Cordyceps* sp. ให้กับดักแด้ไหมและหนอนไหม พบว่าเชื้อสามารถเจริญบนดักแด้ไหมได้ดีกว่าบนหนอนไหม จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการฆ่าเชื้อบนดักแด้ไหมและหนอนไหมโดยการจุ่มในแอลกอฮอล์ 70% นาน 2 นาที แล้วอบที่อุณหภูมิ 70°C ไม่สามารถฆ่าเชื้อได้หมด เนื่องจากภายหลังจากการปลูกเชื้อ 7 วัน มีหนอนไหมบางส่วนเน่าเนื่องจากการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย

การศึกษากการเจริญของเชื้อรา *Cordyceps* sp. บนอาหารกึ่งสังเคราะห์ผสมกับแหล่งโปรตีนธรรมชาติคือโปรตีนจากดักแด้ไหมบด และหนอนไหมวัย 5 บด พบว่าในช่วง 7 วันแรก เชื้อรา *Cordyceps* sp. สามารถเจริญบนอาหาร MCM ผสมกับแหล่งโปรตีนทั้งจากดักแด้ไหมและหนอนไหมได้ดีกว่าอาหาร PDA ผสมกับแหล่งโปรตีนทั้งจากดักแด้ไหมและหนอนไหม แต่หลังจาก 21 วัน การเจริญของเชื้อไม่มีความแตกต่างกันทั้งชนิดอาหาร และแหล่งโปรตีน การเจริญของเชื้อรา *Cordyceps* sp. บนวัสดุธรรมชาติผสมกับแหล่งโปรตีนธรรมชาติคือโปรตีนจากดักแด้ไหมบด พบว่าหลังจากปลูกเชื้อ 7 วัน การเลี้ยงเชื้อบนข้าวฟ่างบดผสมรำข้าวผสมโปรตีนจากทั้งดักแด้บดและหนอนไหมบด เชื้อมีการเจริญดีที่สุดมี แต่หลังจากการปลูกเชื้อ 21 วันการเจริญของเชื้อในทุกกรรมวิธีที่มีการเติมโปรตีนจากดักแด้ไหมบดและหนอนไหมบดไม่มีความแตกต่างกัน ยกเว้นการเลี้ยงเชื้อบนกิ่งหม่อนบดผสมรำข้าวผสมโปรตีนจากดักแด้ไหมบด 5 % กิ่งหม่อนบดผสมรำข้าวผสมโปรตีนจากหนอนไหมบด 5 % และกิ่งหม่อนบดผสมรำข้าวผสมโปรตีนจากหนอนไหมบด 10 % ที่มีการเจริญน้อยกว่าในกรรมวิธีอื่นๆ Xie et al. (2009) ได้ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *C. militaris* โดยเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวที่เติม brown rice paste (BRP),

beer wort (B) และ soybean meal juice (SMJ) ในสภาพเขย่า เพื่อศึกษาการสร้างสาร cordycepin และการเจริญของเส้นใย พบว่าวัสดุธรรมชาติทั้ง 3 ชนิดมีผลต่อน้ำหนักแห้งของเส้นใยของเชื้อ และปริมาณสาร cordycepin จากการทดสอบการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Cordyceps* sp. เพื่อชักนำให้เชื้อสร้างสโตรมานันต์ ต้องคำนึงถึงชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และความชื้นที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ รวมถึงระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อด้วย

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ รศ.ดร.นิวัฒน์ เสนาะเมือง ที่ให้คำปรึกษา แนะนำ และให้ความช่วยเหลือจนงานวิจัยสำเร็จได้ด้วยดี โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากเงินทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณแผ่นดิน (รายได้) ประจำปีงบประมาณ 2554 มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

เอกสารอ้างอิง

- ยุวพิน ด้านดุสิตาพันธ์, นฤมล พลายนาม, พนิดา พงศ์กาญจนาพร, อมลยา จตุรภัทร, มกร ตันติเจริญ และ ไนเจล ไชเวล โรจน์. 2543. คุณลักษณะทางกายภาพที่แตกต่างกันระหว่าง *C. pseudomilitaris* และ *C. militaris*. วารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 23: 149-163.
- สิริภค สุระพร และ วันวิสาข์ ศิริวัฒนเมธานนท์. 2552. การเจริญของเชื้อรา *Cordyceps* spp. บนดักแด้ไหมพันธุ์นางลาย x 108. วิทยาสารกำแพงแสน 7: 1-9.
- Isaka, M., J. Punya, Y. Lertwerawat, M. Tanticharoen and Y. Theptaranonth. 2000. Antiplasmodial compounds from wood decayed fungus *Xylaria* BCC 1067. Plant Med. 66: 473-475.
- Plaingam, N. 1998. Growth optimization and characteristics of *Cordyceps pseudomilitaris* 4671. Pilot Plant Development and Training Institute Compiled Research and Technical paper/Poster, 194-199.
- Xie, C.Y., Z.X. Gu, G.J. Fan, F.R. Gu, Y.B. Han and Z.G. Chen. 2009. Production of cordycepin and mycelia by submerged fermentation of *Cordyceps militaris* in mixture natural culture. Appl. Biochem Biotechnol. 158: 483-492.