

รายงานวิจัย

ผลของวิตามินที่มีต่อการเจริญของเส้นใยและการเกิดตุ่มดอก  
ในเห็ดกินได้บางชนิดของสกุล *Pleurotus*

Effects of Vitamins on Vegetative Growth and Fruiting Body Primordial  
Formation in Some Edible Species of Mushrooms in the Genus *Pleurotus*



รศ. ดร. พรรณี ฐิตาภิชิต

หัวหน้าโครงการ

RCH  
OK  
898  
V5  
พ.ร.ร.  
เลขหมู่.....  
เลขทะเบียน **54575**  
วัน,เดือน,ปี **2.1 ส.ค. 2548**

b.	1179/2548
i.	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เพื่อการศึกษาค้นคว้า ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จด้วยดีด้วยทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินของคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ประจำปีงบประมาณปี พ.ศ. 2546 และการอนุเคราะห์ให้ใช้ห้องปฏิบัติการและเครื่องมือของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ตลอดจนคุณจินตนา บัวหลวง ผู้ช่วยนักวิจัยที่ได้ช่วยทำการทดลองและพิมพ์ต้นฉบับ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทคัดย่อ

ผลของการศึกษาชนิดของวิตามินที่มีต่อการเจริญของเส้นใยและการเกิดตุ่มดอกของเห็ดกินได้จำนวน 5 ชนิด ในสกุล *Pleurotus* ซึ่งได้แก่ เห็ดนางรมทอง เห็ดนางรมฮังการี เห็ดนางรมเห็ดนางนวน และเห็ดนางฟ้า โดยใช้วิตามินทดสอบ 8 ชนิด คือ nicotinic acid, thiamine, biotin, folic acid, inositol, pantothenic acid, pyridoxine และ riboflavin พบว่า thiamine เท่านั้นที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดและการเกิดตุ่มดอกในเห็ดทุกชนิด

## ABSTRACT

The results of the studies on effects of vitamins on vegetative growth and fruiting body primordial formation on 5 species of the mushrooms in the genus *Pleurotus*, i.e. *P. citrinopileatus*, *P. ostreatus* : Hungarian, *P. ostreatus*, *P. djamor* and *P. sajor-caju* by using 8 types of vitamins, i.e. nicotinic acid, thiamine, biotin, folic acid, inositol, pantothenic acid, pyridoxine and riboflavin found that thiamine was the only vitamin that affected both mycelial growth and fruiting body primordial formation for all of the species studied.

# สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ .....	2
บทคัดย่อ.....	3
ABSTRACT.....	3
สารบัญ .....	4
สารบัญตาราง .....	5
สารบัญภาพ .....	6
บทที่ 1 บทนำ .....	7
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร.....	9
บทที่ 3 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการดำเนินงานวิจัย .....	20
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	24
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง .....	36
บรรณานุกรม.....	38
ภาคผนวก .....	41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ชนิดของวิตามินที่ทำหน้าที่เป็น โคเอน ไซม์และปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้อง.....	13
4.1 ผลของชนิดของวิตามินที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมทอง เมื่อเลี้ยงเส้นใยเป็นเวลา 14 และ 21 วัน.....	25
4.2 ผลของชนิดของวิตามินที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมฮังการี เมื่อเลี้ยงเส้นใยเป็นเวลา 14 และ 21 วัน.....	26
4.3 ผลของชนิดของวิตามินที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม เมื่อเลี้ยงเส้นใยเป็นเวลา 14 และ 21 วัน.....	27
4.4 ผลของชนิดของวิตามินที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางนวล เมื่อเลี้ยงเส้นใยเป็นเวลา 14 และ 21 วัน.....	28
4.5 ผลของชนิดของวิตามินที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้า เมื่อเลี้ยงเส้นใยเป็นเวลา 14 และ 21 วัน.....	29
4.6 การเกิดตุ่มดอกในงานอาหารสูตรพื้นฐานที่เติมหรือไม่เติมวิตามินหรืออีสต์สกัดของเห็ดนางรมทอง เห็ดนางรมฮังการี เห็ดนางรม เห็ดนางนวล และเห็ดนางฟ้า เมื่อเลี้ยงเส้นใยเห็ดนางรมทองเป็นเวลา 55 วัน ส่วนเห็ดนางรมฮังการี เห็ดนางรม เห็ดนางนวล และเห็ดนางฟ้าเลี้ยงเส้นใยเป็นเวลา 40 วัน และบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส.....	30

## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1	ลักษณะของดอกเห็ดบจำนวน 5 ชนิดในสกุล <i>Pleurotus</i> ที่เจริญอยู่บนก้อนขี้เลื่อย .....12
2.2	โครงสร้างของไทอะมิน .....13
2.3	โครงสร้างของไทอะมินไพโรฟอสเฟต ซึ่งเป็นรูปของโคเอนไซม์ของไทอะมิน .....14
2.4	โครงสร้างของไบโอติน .....14
2.5	โครงสร้างของไพริดอกซีน .....15
2.6	โครงสร้างของ (ก) กรดนิโคตินิก และ (ข) นิโคตินาไมด์ .....16
2.7	โครงสร้างของกรดแพนโททินิก .....17
2.8	โครงสร้างของไรโบฟลาวิน .....17
2.9	โครงสร้างของ flavin adenine dinucleotide (FAD) .....18
2.10	โครงสร้างของกรดโฟลิก .....18
2.11	โครงสร้างของ myo-inositol .....19
4.1	การเกิดคุ่มดอกในงานอาหารเลี้ยงเชื้อของเห็ดนางรมทอง เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหาร พื้นฐานที่เติมวิตามินทั้ง 8 ชนิด (ก.1-2), ในสูตรอาหารพื้นฐานที่เติมยีสต์สกัด (ข.1-2) และในสูตรอาหารพื้นฐานที่เติมไทอะมิน (ค.1-2) เป็นเวลา 55 วัน .....31
4.2	การเกิดคุ่มดอกในงานอาหารเลี้ยงเชื้อของเห็ดนางรมฮังการี เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหาร พื้นฐานที่เติมวิตามินทั้ง 8 ชนิด (ก.1-2), ในสูตรอาหารพื้นฐานที่เติมยีสต์สกัด (ข.1-2) และในสูตรอาหารพื้นฐานที่เติมไทอะมิน (ค.1-2) เป็นเวลา 40 วัน .....32
4.3	การเกิดคุ่มดอกในงานอาหารเลี้ยงเชื้อของเห็ดนางรม เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหาร พื้นฐานที่เติมวิตามินทั้ง 8 ชนิด (ก.1-2), ในสูตรอาหารพื้นฐานที่เติมยีสต์สกัด (ข.1-2) และในสูตรอาหารพื้นฐานที่เติมไทอะมิน (ค.1-2) เป็นเวลา 40 วัน .....33
4.4	การเกิดคุ่มดอกในงานอาหารเลี้ยงเชื้อของเห็ดนางรมวอล เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหาร พื้นฐานที่เติมวิตามินทั้ง 8 ชนิด (ก.1-2), ในสูตรอาหารพื้นฐานที่เติมยีสต์สกัด (ข.1-2) และในสูตรอาหารพื้นฐานที่เติมไทอะมิน (ค.1-2) เป็นเวลา 40 วัน .....34
4.5	การเกิดคุ่มดอกในงานอาหารเลี้ยงเชื้อของเห็ดนางรมฟ้า เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหาร พื้นฐานที่เติมวิตามินทั้ง 8 ชนิด (ก.1-2), ในสูตรอาหารพื้นฐานที่เติมยีสต์สกัด (ข.1-2) และในสูตรอาหารพื้นฐานที่เติมไทอะมิน (ค.1-2) เป็นเวลา 40 วัน .....35

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

ในปัจจุบันประชากรโลกกำลังเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ก่อให้เกิดปัญหาการขาดแคลนอาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งแหล่งโปรตีน จึงมีความพยายามในการสรรหาแหล่งโปรตีนเพื่อมาทดแทนโปรตีนจากสัตว์ มีรายงานว่าเห็ดเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีโปรตีนสูง และมีสารอาหารอื่นๆ เช่น กลีโกลิแรนด์และวิตามินในระดับสูง เห็ดจึงมีความสำคัญต่อมนุษย์มากและเนื่องจากเห็ดเป็นสิ่งมีชีวิตจำพวก heterotroph จึงสามารถเจริญบนวัสดุเหลือใช้จากการเกษตรและอุตสาหกรรม โดยใช้แหล่งคาร์บอนจาก lignocellulose, คาร์โบไฮเดรต และสารประกอบอื่นๆ มาเป็นพลังงานในการเจริญเติบโตของเส้นใยและการเกิดดอก นอกจากนี้เห็ดจะมีคุณค่าทางอาหารสูงและมีคนนิยมรับประทานเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ แล้ว เห็ดหลายชนิดยังมีความสำคัญด้านการใช้เป็นเห็ดสมุนไพร เช่น เห็ดหอม (*Lentinula edodes*) ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอล (cholesterol) ในเลือด ยับยั้งเซลล์มะเร็งและเสริมภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย (ศิริวรรณและไมตรี สุทธิจิตต์, 2545)

เห็ดในสกุล *Pleurotus* เป็นเห็ดอีกกลุ่มหนึ่งที่มีผู้นิยมนำมารับประทาน เนื่องจากมีรสชาติอร่อย ซึ่งที่นิยมเพาะเป็นการค้ามีหลายชนิด เช่น เห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*), เห็ดนางรมทอง (*P. citrinopileatus*), เห็ดนางรมฮังการี (*P. ostreatus : Hungarian*) และ เห็ดนางฟ้า (*P. sajorcaju*) เป็นต้น เห็ดสกุลนี้ส่วนใหญ่เป็นเห็ดที่มีคุณค่าทางอาหารสูง โดยมีโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และวิตามิน โดยเฉพาะอย่างยิ่งมีวิตามินบี 1 และวิตามินบี 2 สูงกว่าเห็ดในสกุลอื่นๆ นอกจากนี้ยังมีกรดโฟลิก (folic acid) ที่มีคุณสมบัติช่วยป้องกันโรคโลหิตจางได้ อีกทั้งยังเหมาะสำหรับผู้ป่วยโรคหัวใจและไตอักเสบเนื่องจากมีไขมันและโซเดียมต่ำ (ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์, 2538) โดยมีรายงานว่าเห็ดนางรมสามารถลดคอเลสเตอรอลในเลือด ระวังอาการปวดตามข้อและต่อต้านมะเร็ง ส่วนเห็ดเป๋าฮื้อ (*P. cystidiosus*) มีคุณสมบัติต่อต้านแบคทีเรียแกรมบวก ลดไขมันในเลือด และต่อต้านมะเร็ง (ศิริวรรณและไมตรี สุทธิจิตต์, 2545)

ตามปกติเห็ดจะออกดอกตามฤดูกาลแต่เมื่อความต้องการผลผลิตเห็ดมีมากขึ้น การเกิดดอกเห็ดตามฤดูกาลและตามธรรมชาติจึงไม่เพียงพอับความต้องการของผู้บริโภค จึงได้มีการคิดที่จะทำให้เห็ดมีผลผลิตมากขึ้นจนเพียงพอแก่ความต้องการ นอกจากนี้ยังต้องการพัฒนาให้เห็ดมีเนื้อสัมผัสและรสชาติดี ดังนั้นจึงมีการศึกษาถึงปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการพัฒนาของดอกเห็ด ไม่ว่าจะเป็นการศึกษาทางด้านพันธุกรรม ปัจจัยทางกายภาพและทางเคมี ตลอดจนสารอาหารต่างๆ ซึ่งในการทำวิจัยครั้งนี้มีความมุ่งหมายที่จะศึกษาความต้องการวิตามินที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใย เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และเกิดคุ่มดอกของเห็ดจำนวน 5 ชนิด ในสกุล *Pleurotus* ด้วยเหตุผลที่ว่าวิตามินเป็นแหล่งอาหารประเภทหนึ่งที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของเห็ด ทั้งนี้เพื่อประโยชน์ที่จะนำไปใช้ในการเพาะเห็ดในสกุล *Pleurotus* ให้ได้ปริมาณที่เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภค

## 1.2 จุดประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของวิตามิน 8 ชนิด (nicotinic acid, thiamine, biotin, folic acid, inositol, pantothenic acid, pyridoxine and riboflavin) ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยและต่อการเกิดคุ่มดอกของเห็ดกินได้ 5 ชนิด ในสกุล *Pleurotus* ซึ่งได้แก่ เห็ดนางรมทอง (*Pleurotus citrinopileatus*), เห็ดนางรมฮังการี (*P. ostreatus* : Hungarian), เห็ดนางรม (*P. ostreatus*), เห็ดนางรมวล (*P. djamor*) และเห็ดนางฟ้า (*P. sajor-caju*)
2. เพื่อเป็นการพิสูจน์ว่าเห็ดชนิดต่างกันของสกุล *Pleurotus* มีความต้องการวิตามินชนิดต่างกันเพื่อการเจริญของเส้นใยและการเกิดคุ่มดอกหรือไม่
3. เพื่อเป็นการพิสูจน์ว่าการเกิดคุ่มดอกมีความสัมพันธ์โดยตรงหรือไม่กับการเจริญของเส้นใย

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาผลของวิตามิน 8 ชนิด (กรดนิโคตินิก ไทอะมีน ไบโอติน กรดโฟลิก อินโนซิทอล กรดแพนโททินิก ไพริดอกซิน และไรโบฟลาวิน) ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยและต่อการเกิดคุ่มดอกของเห็ดกินได้ 5 ชนิด ในสกุล *Pleurotus* (เห็ดนางรมทอง เห็ดนางรมฮังการี เห็ดนางรม เห็ดนางรมวล และเห็ดนางฟ้า)

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทำให้ทราบถึงความต้องการวิตามินที่เหมาะสมของวิตามินที่มีต่อการเจริญของเส้นใยและต่อการเกิดคุ่มดอกของเห็ดชนิดต่างๆในสกุล *Pleurotus*
2. เป็นแนวทางหนึ่งในการเพิ่มประสิทธิภาพของวิธีเพาะเห็ดชนิดต่างๆในสกุล *Pleurotus*
3. เป็นการกระตุ้นให้มีผู้สนใจศึกษาวิธีเพาะเห็ดให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น
4. ผลการศึกษาจะเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรผู้เพาะเห็ด โดยสามารถนำข้อมูลการวิจัยไปประยุกต์ใช้ในการเพาะเห็ดต่อไป

## บทที่ 2

### การตรวจเอกสาร

#### 2.1 ชีวิตวิทยาของเห็ดในสกุล *Pleurotus*

เห็ดในสกุล *Pleurotus* ส่วนมากเป็นพวก saprophyte ทุกชนิด (species) และมีการเจริญเติบโตคล้ายๆ กัน เห็ดกินได้ที่รู้จักกันดีในสกุลนี้ เช่น เห็ดนางรม (oyster mushroom, *P. ostreatus*), เห็ดนางฟ้า (phoenix tail mushroom, *P. sajor-caju*), เห็ดนางนวล (pink oyster mushroom, *P. djamor*), และเห็ดนางรมฮังการี (Hungarian oyster mushroom, *P. ostreatus* : Hungarian) เป็นต้น เห็ดเหล่านี้จะพบเจริญเป็นกลุ่มบนท่อนไม้หรือตอไม้ที่ตายแล้ว โดยเส้นใยของเห็ดเหล่านี้มีความสามารถในการย่อยสารที่มีส่วนประกอบพวกเซลลูโลสและลิกนินและมีหลายชนิดที่สามารถให้ดอกเห็ดได้ในอาหารวุ้น สามารถเพาะเลี้ยงได้ง่ายเนื่องจากเส้นใยเจริญได้อย่างรวดเร็ว นอกจากนี้เส้นใยสามารถเจริญได้ดีบนอาหารวุ้นและบนวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรหลายชนิดซึ่งได้แก่ขี้เลื่อย ฟางข้าว ช้างข้าว โปด เศษกระดาษ และเศษผ้า เป็นต้น (ศุภชัย รัตโนภาส, 2542)

#### 2.1.1 การจัดจำแนก (Classification) เห็ดในสกุล *Pleurotus* มีดังต่อไปนี้ (Alexopoulos et.al. 1996)

Kingdom	Mycota (Fungi)
Division	Amastigomycota
Class	Basidiomycetes
Order	Agaricales
Family	Tricholomataceae
Genus	<i>Pleurotus</i>

#### 2.1.2 ลักษณะชีวิตวิทยาของเห็ดในสกุล *Pleurotus*

เห็ดในสกุลนี้มีรูปร่างลักษณะส่วนใหญ่คล้ายคลึงกันแต่มีความแตกต่างกันตามชนิดของเห็ด รายละเอียดของเห็ด 5 ชนิดของสกุลนี้ที่จะทำการศึกษาในงานวิจัยนี้มีลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 1) ดังต่อไปนี้

### 2.1.2.1 เห็ดนางรมทอง (*Pleurotus citrinopileatus* Singer)

เห็ดชนิดนี้พบมากในแถบของเอเชียตะวันออก เช่น ประเทศจีนและญี่ปุ่น ดอกเห็ดมีสีเหลืองทองจนถึงสีเหลืองอ่อน หมวกดอก (cap, pileus) มีรูปร่างคล้ายกะทะคว่ำ ขอบหมวกดอกเสมอกัน (convex) มีขนาด 2 – 5 เซนติเมตร เมื่อเจริญเต็มที่ดอกเห็ดจะแบนราบ ก้านดอก (stalk, stipe) มีสีขาว สปอร์ (basidiospore) มีขนาด 7.5–9.0 x 3.0–6.5 ไมครอน (Stamets, 1993,2000)

### 2.1.2.2 เห็ดนางรมฮังการี (*Pleurotus ostreatus* : Hungarian)

หมวกดอกมีลักษณะแบนราบ หมวกดอกจะเป็นเนื้อเดียวกับก้านดอก ก้านดอกค่อนข้างสั้นและเจริญเข้าหาแสงสว่าง ครีบมีสีขาวหรือสีครีม (ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์, 2532)

### 2.1.2.3 เห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kummer)

เห็ดนางรม มีถิ่นกำเนิดในแถบยุโรป มีรูปร่างคล้ายหอยนางรม จึงมีชื่อภาษาอังกฤษว่า oyster mushroom ในธรรมชาติขึ้นตามไม้ซุง เจริญเติบโตได้ดีในต้นไม้หลายชนิด เช่น จำพวก oak และ maple เป็นต้น เห็ดนางรมในเขตอบอุ่นจะออกดอกในฤดูใบไม้ร่วงและฤดูหนาวในช่วงที่มีอุณหภูมิประมาณ 15 องศาเซลเซียส จึงมักเรียกเห็ดสายพันธุ์นี้ว่าเป็น winter type (สุภชัย รตโนภาส, 2542) เห็ดนางรมจัดเป็นเห็ดที่คนนิยมรับประทานกันมาก ทั้งนี้เนื่องจากเห็ดนางรมมีรสชาติหอมหวาน สีขาวสะอาด และมีคุณค่าทางอาหารสูง (ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์, 2532)

ลักษณะโดยทั่วไปของหมวกดอกเห็ดนางรมมีดังต่อไปนี้ มีก้านชูด้านข้างของหมวก ทำให้มีรูปร่างคล้ายหอยนางรม หมวกดอกมีลักษณะแบนราบ กลางหมวกดอกเว้าเป็นแอ่ง หมวกดอกอาจจะมีสีขาวหรือเทา และมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5–15 เซนติเมตร ลักษณะหมวกดอกจะเป็นเนื้อเดียวกับก้านดอก ส่วนครีบดอก (gills) มีลักษณะเป็นแผ่นบางๆ สีขาวหรือเทา สปอร์มีสีใสและมีขนาดประมาณ 8–12 x 3–4 ไมโครเมตร ก้านดอกมีลักษณะค่อนข้างสั้นและเจริญเข้าหาแสงสว่าง (ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์, 2538) บางครั้งก้านดอกจะแยกเป็นกิ่งซึ่งทำให้ดอกออกเป็นกระจุก (อานนท์ เอื้อตระกูล, 2523)

### 2.1.2.4 เห็ดนางนวล (*Pleurotus djamor* (Fr.) Bonedjin sensu lato, *P. flabellatus* (Berk. & Br.) Saccardo และ *P. salmoneo-stramineus* Vasil. (Stamets. 1993)

เห็ดชนิดนี้มีชื่อไทยว่า เห็ดนางนวล (pink oyster mushroom) ในธรรมชาติพบเห็ดชนิดนี้นับต่อไม้หลายชนิด เช่น ไม้มะม่วง ไม้มะเดื่อ ดอกเห็ดมักจะเกิดซ้อนกัน และมีรูปร่างคล้ายพัดและมีสีชมพู ก้านดอกสั้นมากและติดอยู่ที่ขอบด้านใดด้านหนึ่งของหมวกดอก ดอกเห็ดมีเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขนาดเล็กกว่าและไม่เหนียวเท่ากับเห็ดนางรมแม้ว่าจะมีอายุมากแล้วก็ตาม สามารถเพาะเห็ดชนิดนี้โดยใช้วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร ซึ่งได้แก่ ฟางข้าว กากกล้วย กากมะพร้าวที่คั่นเอากระทือออกแล้ว จี้เลื่อย และเศษใบไม้แห้ง เป็นต้น (สุภชัย รตโนภาส, 2542)

#### 2.1.2.5 เห็ดนางฟ้า (*Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer)

เห็ดนางฟ้า มีชื่อสามัญว่า phoenix tail mushroom มีถิ่นกำเนิดอยู่แถบหิมาลัย ประเทศอินเดีย ในสภาพธรรมชาติเห็ดนางฟ้าชอบเจริญเติบโตตามคอไม้ผุ ๆ ในบริเวณที่มีอากาศชื้นและเย็น ดอกเห็ดจะมีสีขาวนวลจนถึงสีน้ำตาลอ่อน เห็ดนางฟ้าสามารถเจริญเติบโตได้ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 15 – 35 องศาเซลเซียส แต่ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จัดเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตมากที่สุด (ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์, 2538)

หมวกดอกเห็ดนางฟ้าจะมีสีขาวถึงเทา และมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3 – 6 นิ้ว ดอกอาจจะออกมาเป็นดอกเดี่ยวหรือเป็นกระจุก ก้านดอกมีเนื้อแน่นสีขาวและไม่มียางแหวน (ring, annulus) รอบก้านดอก ถ้าเห็ดนางฟ้าเจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติตามขอนไม้ ดอกเห็ดจะมีลักษณะเรียงรายสลับกันเป็นชั้นๆ และก้านดอกจะสั้นมาก ครีบดอกมีลักษณะเป็นแผ่นบางๆ สีขาวและยาวตลอด เส้นใย (mycelium) ของเห็ดนางฟ้าจะมีลักษณะค่อนข้างละเอียดและมีสีขาว (ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์, 2538)

### 2.3 ความต้องการวิตามินของเห็ดรา (Vitamin Requirements of Fungi)

โดยทั่วไปเห็ดราจะต้องได้รับวิตามินจากอาหาร (substrate) ที่มันขึ้นอยู่เพื่อการเจริญเติบโต การขยายพันธุ์ (reproduction) และเพื่อทำหน้าที่อื่นๆที่เกี่ยวข้องกับการดำเนินชีวิต ยกเว้นเห็ดราจำนวนไม่มาก เช่น ในเชื้อราพวก *Aspergillus niger* ที่มีรายงานว่าเห็ดรา self-sufficient คือสามารถสังเคราะห์วิตามินทุกชนิด สำหรับการเจริญเติบโตของมันเอง (Okwujiko, 1990)

อย่างไรก็ตาม ในหลายรายงาน อาทิ Marshall *et al.*, 1955. และ Okwujiko, 1990) กล่าวว่าเห็ดราชั้นสูงจำพวก Hymenomycetes ส่วนใหญ่รวมทั้ง *Pleurotus ostreatus*, *P. sajor-caju* และ *P. tuberregium* จะไม่ต้องการวิตามินใดๆ สำหรับการเจริญของเส้นใย ยกเว้นไทอะมีน (thiamine) ในขณะที่ Volz (1972, อ้างโดย Okwujiko, 1990) รายงานผลตรงกันข้ามโดยกล่าวว่าเห็ดราพวก Hymenomycetes หลายชนิด รวมทั้ง *P. ostreatus* จะไม่ต้องการวิตามินใดๆรวมทั้งไทอะมีนในการเจริญเติบโต ในขณะที่ Wright (1976, อ้างโดย Okwujiko, 1990) รายงานว่าเห็ดกินได้จำพวก *Lepista nuda*, *L. aeva* และ *Calocybe gambasa* มีความต้องการไทอะมีน ไบโอติน (biotin) ไพริดอกซีน (pyridoxin) และกรดโฟลิก (folic acid) นอกจากนี้ Okwujiko (1990) ยังได้รายงานว่าไทอะมีน เป็นวิตามินเพียงชนิดเดียว (ใน 8 ชนิดที่เขาได้ทดลอง) ที่มีความจำเป็นต่อการเจริญของเส้นใยและการเกิดคุ่มดอกใน *P. sajor-caju*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.1 ลักษณะของดอกเห็ดจำนวน 5 ชนิดในสกุล *Pleurotus* ที่เจริญอยู่บนก้อนขี้เลื่อย  
 ก. เห็ดนางรมทอง ข. เห็ดนางรมฮังการี ค. เห็ดนางรม ง. เห็ดนางนวล  
 จ. เห็ดนางฟ้า

วิตามินเป็นสารอินทรีย์ที่เห็ดต้องการในปริมาณน้อยและไม่ได้ใช้เป็นแหล่งพลังงานหรือเป็นโครงสร้างของโปรโตพลาสต์ ซึ่งปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตมีมากมายหลายชนิดรวมทั้งสารประกอบและอนุพันธ์ของวิตามิน วิตามินส่วนใหญ่ทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ (coenzyme) หรือส่วนประกอบของโคเอนไซม์ (ตารางที่ 2.1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 ชนิดของวิตามินที่ทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์และปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้อง

วิตามิน	โคเอนไซม์	ปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้อง
Thiamine	<sup>1</sup> TPP	Aldehyde transfer
Riboflavin	<sup>2</sup> FMN, <sup>3</sup> FAD	Oxidation – reduction
Pyridoxine	pyridoxal-5-phosphate	Amino group transfer
Nicotinic acid	<sup>4</sup> NAD <sup>+</sup> , <sup>5</sup> NADP <sup>+</sup>	Oxidation – reduction
Pantothenic acid	Coenzym A	Acyl transfer
Biotin	Enzyme-bound biotin	Carboxylation
Folic acid	tetrahydrofolic acid	One-carbon group transfer

<sup>1</sup>TPP = Thiamine pyrophosphate

<sup>2</sup>FMN = Flavin mononucleotide

<sup>3</sup>FAD = Flavin adenine dinucleotide

<sup>4</sup>NAD<sup>+</sup> = Nicotinamide adenine dinucleotide

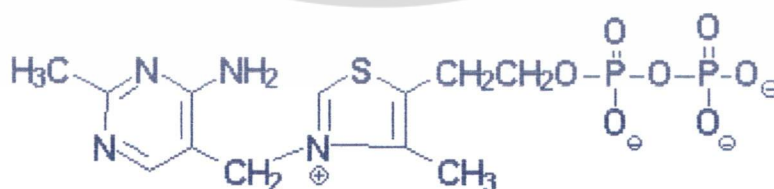
<sup>5</sup>NADP<sup>+</sup> = Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

ที่มา : Dube (1990)

เห็ดราบางชนิดไม่เจริญเติบโตบนอาหารสังเคราะห์ (synthetic medium) เพราะไม่สามารถสังเคราะห์วิตามินที่เห็ดรานั้นต้องการ จัดเห็ดราพวกนี้ว่าเป็นเห็ดราที่ขาดวิตามิน (vitamin deficient fungi) สำหรับวิตามินที่เห็ดราต้องการคือ กลุ่มของวิตามินบี ซึ่งวิตามินบีที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ thiamine, biotin, pyridoxine, inositol, pantothenic acid และ nicotinic acid (Lilly and Barnett, 1951)

### 2.3.1 ไทอะมิน (thiamine) หรือ วิตามินบี 1

ไทอะมิน มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ มีโครงสร้างที่ประกอบด้วย 2 ส่วน (moieties) คือ ไพริมิดีน (pyrimidine) และ ไทอะโซล (thiazole) (ภาพที่ 2.2)

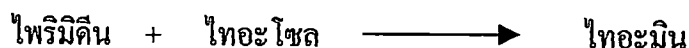


ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของไทอะมิน

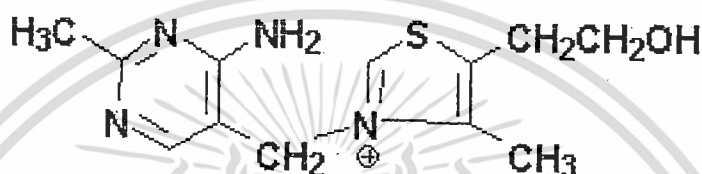
ที่มา : <http://www.indstate.edu/theme/mwking/vitamins.html>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสังเคราะห์ไทอะมินจะเกี่ยวข้องกับส่วนประกอบ 2 ส่วน ซึ่งเป็นไปตามสมการข้างล่าง



active form ของไทอะมิน คือ thiamine pyrophosphate (ภาพที่ 2.3) ซึ่งทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ในปฏิกิริยาที่มีเอนไซม์หลายชนิดในขบวนการเมตาบอลิซึม (Gounaris *et al.* 1977) เช่น ทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ในปฏิกิริยา decarboxylation ของกรดไพรูวิก และ transketolase (Jansen, 1954) นอกจากนี้ยังทำหน้าที่เป็นโคแฟกเตอร์ของ  $\alpha$ -ketoglutarate dehydrogenase (King, 2003)



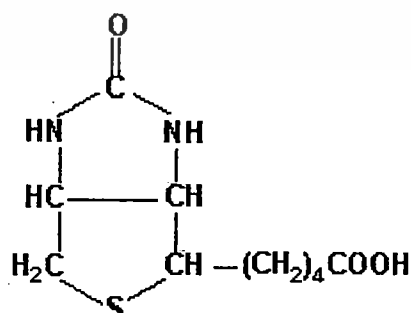
ภาพที่ 2.3 โครงสร้างของไทอะมินไพโรฟอสเฟต ซึ่งเป็นรูปของโคเอนไซม์ของไทอะมิน

ที่มา : <http://www.indstate.edu/thcme/mwking/vitamins.html>

โดยทั่วไปเห็ดราจะต้องการไทอะมินในการเจริญเติบโต เช่น เห็ดราชั้น (class) Phycomycetes [ได้แก่ เห็ดราเกือบทุกชนิดของสกุล *Phytophthora* (Robbins, 1938) และ *Phycomyces* (Leonian and Lilly, 1938)], Ascomycetes (ได้แก่ ยีสต์บางชนิด) และ Basidiomycetes (ได้แก่ เห็ดราส่วนใหญ่)

### 2.3.2 ไบโอติน (biotin) หรือ วิตามินเอช (vitamin H)

ไบโอตินเป็นวิตามินในกลุ่มของ vitamin B complex และเป็นวิตามินที่เห็ดราต้องการมากรองจากไทอะมิน โมเลกุลของไบโอตินประกอบด้วย tetrahydrothiophene 1 วง เชื่อมกับสายของหมู่เมทิล (side chain of methyl group) (ภาพที่ 2.4)



ภาพที่ 2.4 โครงสร้างของไบโอติน

ที่มา : <http://www.indstate.edu/thcme/mwking/vitamins.html>

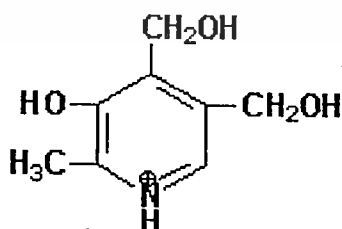
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สวอนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไบโอตินมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับระบบเอนไซม์หลายชนิด โดยวิตามินชนิดนี้พบในรูปที่จับกับโปรตีนด้วยพันธะเอไมด์ (amide linkage) ซึ่งเป็นพันธะโควาเลนต์ (covalent) ของไลซีน บริเวณที่ active ของโปรตีนหรือเอนไซม์ นอกจากนี้ไบโอตินยังเกี่ยวข้องในปฏิกิริยาคาร์บอกซิเลชันที่ต้องการ ATP โดยทำหน้าที่เป็นพาหะของหมู่คาร์บอกซิล (carboxyl group) ตัวอย่างเช่น เอนไซม์ acetyl CoA carboxylase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญในเมตาบอลิซึมของไขมัน โดยมีไบโอตินเป็นหมู่พรอสเทติก (prosthetic group) เพื่อทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยา (Rao and Modi, 1968) นอกจากนี้ยังพบว่าไบโอตินทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหายใจของ *Rhizobium sp.* (Lilly and Barnett, 1951) จากการศึกษาเห็ดราหลายชนิดยังพบว่าไบโอตินมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์กรดแอสพาทิก (aspartic acid) นอกจากนี้ยังมีหน้าที่ในการสังเคราะห์กรดไขมันที่จำเป็นต่อเห็ดรา

สำหรับความต้องการไบโอตินในการเจริญของเห็ดราส่วนใหญ่พบในยีสต์ (Burkholder, 1943; Burkholder and Moyer, 1943; Leonian and Lilly, 1942) มากกว่าพบในเห็ดราชั้นสูง (Melin and Lindeberg, 1939; Melin and Nyman, 1940; Lindeberg, 1946 และ Treschow, 1944)

### 2.3.3 ไพริดอกซีน (pyridoxine) หรือ วิตามินบี 6 (vitamin B<sub>6</sub>)

ไพริดอกซีนเป็นวิตามินที่มีความสำคัญสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ไพริดอกซีนมี 3 ชนิดด้วยกัน คือ ไพริดอกซีน (ภาพที่ 2.5) ไพริดอกซอล (pyridoxal) และไพริดอกซามีน (pyridoxamine) ไพริดอกซีนทั้ง 3 ชนิด จะมีลักษณะพิเศษคือ มีแอลกอฮอล์ในไพริดอกซีน มีแอลดีไฮด์ (aldehyde) ในไพริดอกซอล และมีหมู่อะมิโนในไพริดอกซามีน สำหรับหน้าที่ของไพริดอกซีนเมื่อเป็นโคเอนไซม์จะอยู่ในรูป pyridoxal-5-phosphate ซึ่งเป็นโคเอนไซม์ของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในขบวนการเมตาบอลิซึมของกรดอะมิโน decarboxylase, transaminase และ racemase (Umbreit, 1954) โดย Hilgenberg and Hofman (1977) รายงานว่าไพริดอกซีนเมื่อเป็นโคเอนไซม์ จะมีส่วนในการสังเคราะห์ tryptophan ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต



ภาพที่ 2.5 โครงสร้างของไพริดอกซีน

ที่มา : <http://www.chem.ox.ac.uk/mom/vitamins/vitaminb1.html>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับความต้องการไพรีดอกซีนของเห็ดราเมื่อเปรียบเทียบกับความต้องการไทอะมินและไบโอตินแล้วพบว่าเห็ดราต้องการไพรีดอกซีนค่อนข้างน้อย ใน Ascomycetes พบเห็ดราหลายชนิดที่ต้องการไพรีดอกซีน ส่วนในชั้น Basidiomycetes มีเพียงชนิดเดียวคือ *Ustilago maydis* จากการทดลองกับสายพันธุ์กลายของ *Neurospora crassa* และ *N. sitophila* พบว่าเห็ดราเหล่านี้จะเจริญได้อย่างจำกัดถ้าในอาหารเลี้ยงเชื้อมีไทอะมินอยู่ด้วย ซึ่งจากความสัมพันธ์ของวิตามินทั้งสองชนิดนี้อธิบายได้ว่า ไทอะมินจะไปยับยั้งการสลายไพรีดอกซีน ในทางตรงกันข้ามไพรีดอกซีนก็จะยับยั้งการสังเคราะห์ไทอะมินเช่นกัน โดยจะไปป้องกันการรวมตัวของส่วนไพริมิดีนในไทอะมิน (Dube, 1990)

### 2.3.4 กรดนิโคตินิก (nicotinic acid) หรือ ไนอะซิน (niacin)

กรดนิโคตินิก มี 2 รูป คือ กรดนิโคตินิกและนิโคตินาไมด์ (nicotinamide) (ภาพที่ 2.6) กรดนิโคตินิกเป็นผลึกรูปเข็มสีขาวทนต่อความร้อน กรด เบส และแสงสว่าง สามารถละลายในแอลกอฮอล์และน้ำ แต่ไม่ละลายในอีเทอร์



ภาพที่ 2.6 โครงสร้างของ (ก) กรดนิโคตินิก และ (ข) นิโคตินาไมด์

ที่มา : <http://www.chem.ox.ac.uk/mom/vitamins/vitaminb1.html>

กรดนิโคตินิกเป็นส่วนประกอบของโคเอนไซม์ 2 ชนิด ที่ทำหน้าที่ขนส่งไฮโดรเจนและอิเล็กตรอน ซึ่งได้แก่ nicotinamide adenine dinucleotide ( $\text{NAD}^+$ ) และ nicotinamide adenine dinucleotide phosphate ( $\text{NADP}^+$ ) มีโครงสร้างซึ่งเรียกรวมกันว่า pyridine nucleotide หรือโคเอนไซม์ไพรีดีน

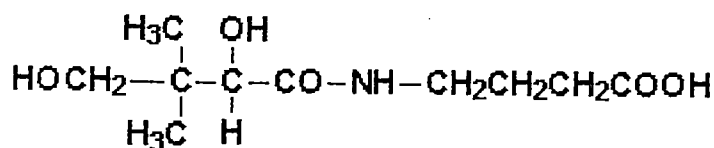
ความต้องการกรดนิโคตินิกมักพบได้บ่อยในยีสต์และ filamentous fungi เช่น *Torula Mycotorula*, *Candida* และ *Saccharomyces* โดย Rogosa (1943) ได้ศึกษาความต้องการกรดนิโคตินิกของยีสต์ พบว่ามียีสต์จำนวน 114 สายพันธุ์ ที่ต้องการกรดนิโคตินิกในการเจริญเติบโต

### 2.3.5 กรดแพนโททินิก (pantothenic acid)

สำหรับกรดแพนโททินิกถูกพบครั้งแรกในยีสต์ชื่อ *Saccharomyces cerevisiae* โดยทำหน้าที่เป็นส่วนสำคัญของโคเอนไซม์เอ (นำหมู่อะซิลในปฏิกิริยาอะซิลเลชัน) และเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต กรดแพนโททินิกประกอบด้วย 2 ส่วนเช่นกัน คือ  $\beta$ -alanine และ กรดแพนโท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นิก (pantonic acid) โดยมี amide เป็นตัวเชื่อม (ภาพที่ 2.7)



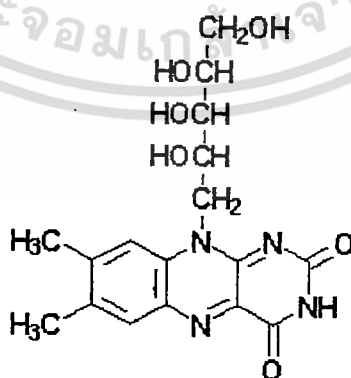
ภาพที่ 2.7 โครงสร้างของกรดแพนโททินิก

ที่มา : <http://www.chem.ox.ac.uk/mom/vitamins/vitaminb1.html>

สำหรับการขาดกรดแพนโททินิกมักพบในยีสต์มากกว่าในเห็ดรา ยีสต์ที่พบ เช่นสกุล *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Candida* และ *Torula* มีเชื้อราเพียงชนิดเดียวที่ขาดแบบไม่สมบูรณ์ (การขาดกรดแพนโททินิกจะมีลักษณะเช่นเดียวกับไทอะมินคือ ถ้าเห็ดราไม่สามารถสร้างเบต้าอะลานีนและกรดแพนโทนิคได้ทั้งสองส่วน ถือว่าเห็ดราชนิดนั้นไม่สามารถสร้างกรดแพนโทนิคได้อย่างสมบูรณ์) คือ *Polyporus texanus* และเบต้าอะลานีนเป็นส่วนที่พบได้บ่อยว่าเห็ดราไม่สามารถสร้างขึ้นได้

### 2.3.6 ไรโบฟลาวิน (riboflavin) หรือ วิตามินบี 2

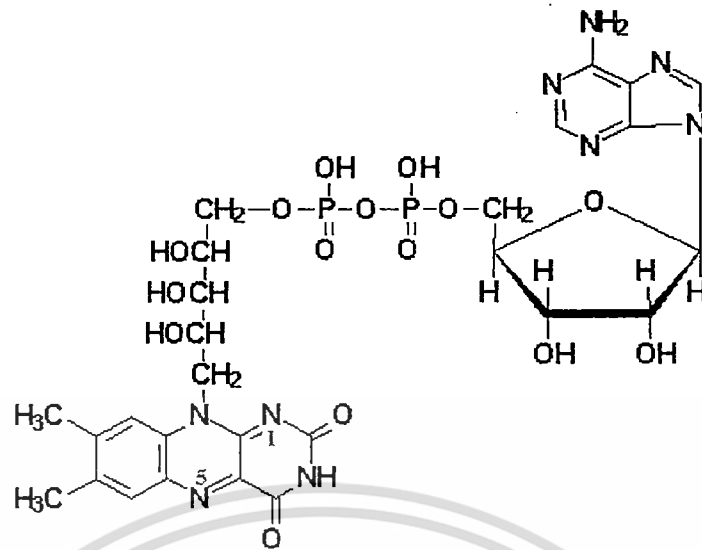
ไรโบฟลาวิน (วิตามินบี 2) มีสูตรทางเคมี คือ 6,7-dimethyl-9-(1-D-ribityl)-isoalloxazine ซึ่งโครงสร้างประกอบด้วยน้ำตาลแอลกอฮอล์ D-ribitol ติดอยู่กับวงแหวน 7,8-dimethyl isoalloxazine (ภาพที่ 2.8) ไรโบฟลาวินเป็นสารตั้งต้นสำหรับโคเอนไซม์ชนิด flavin mononucleotide (FMN) และ flavin adenine dinucleotide (FAD) สำหรับหน้าที่ของไรโบฟลาวินคือ ให้หมู่โปรสเทอริกของออกซิโดซิงเอนไซม์ (oxidizing enzyme)



ภาพที่ 2.8 โครงสร้างของไรโบฟลาวิน

ที่มา : <http://www.chem.ox.ac.uk/mom/vitamins/vitaminb1.html>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



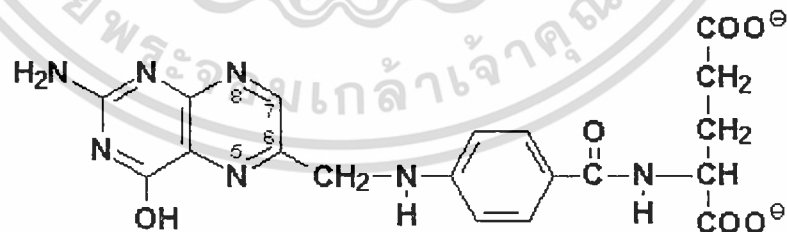
ภาพที่ 2.9 โครงสร้างของ flavin adenine dinucleotide

ที่มา : <http://www.chem.ox.ac.uk/mom/vitamins/vitaminb1.html>

สำหรับความต้องการไรโบฟลาวินของเห็ดรามีการศึกษาน้อยมาก มีเพียง Jennison *et al.* (1955) ที่รายงานว่า *Poria vaillantii* ต้องการไรโบฟลาวิน

### 2.3.7 กรดโฟลิก (folic acid)

กรดโฟลิกเป็นโมเลกุลที่ประกอบด้วยวงแหวน (ring) pteridine เชื่อมกับ para-aminobenzoic acid (PABA) ที่อยู่ในรูป ptericoic acid เมื่อเป็นโคเอนไซม์จะอยู่ในรูป tetrahydrofolate ทำหน้าที่เป็นตัวพา (carrier) ของหมู่คาร์บอน 1 อะตอม (ภาพที่ 2.10)



ภาพที่ 2.10 โครงสร้างของกรดโฟลิก

ที่มา : <http://www.indstate.edu/thcme/mwking/vitamins.html>.

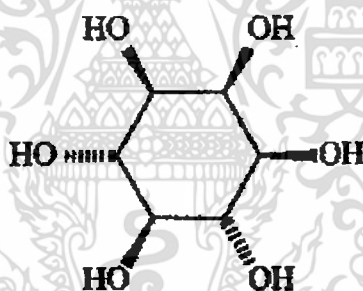
เห็ดราจะใช้กรดโฟลิกเป็นปัจจัยที่ช่วยในการเจริญเติบโต (growth factor) โดยมีเห็ดราจำนวนน้อยที่ต้องการกรดโฟลิก และส่วนใหญ่จะเป็นสายพันธุ์กลาย เช่น *Rhodotorula aurantica* *Saccharomyces cerevisiae*, *Blastocladiella pringsheimii* เป็นต้น (Robbins and Ma, 1944)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.3.8 อินโนซิทอล (inositol)

อินโนซิทอลเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีสูตรโครงสร้างเช่นเดียวกับ monosaccharide อาทิ เช่นซูคร (CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub> อินโนซิทอลมี 3 รูปแบบคือ *meso*-inositol, *i*-inositol และ *myo*-inositol แต่ *myo*-inositol (ภาพที่ 2.11) เท่านั้นที่มีคุณสมบัติคล้ายกับวิตามิน หน้าที่ของอินโนซิทอลในกรณีที่เป็นโคเอนไซม์ยังไม่ชัดเจนนัก แต่ทราบเพียงว่ามีหน้าที่รักษาโครงสร้างของไมโทคอนเดรีย (โดยทำงานร่วมกับ phospholipid) (Ridgway and Douglas, 1958) การขาดอินโนซิทอลส่วนใหญ่จะพบในยีสต์ เช่น *Saccharomyces uvarum* และ *Zygosaccharomyces pombe* (Burkholder, 1943)

นอกจากนี้ยังพบว่าอินโนซิทอลเป็น active form ของเอนไซม์ pancreatic amylase แต่ยังไม่ทราบถึงบทบาทที่แน่ชัดในการเป็นโคเอนไซม์ในระบบเอนไซม์ชนิดนี้ (Lane and William, 1948) ซึ่ง Fuller and Tatum (1956) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอินโนซิทอลกับสัณฐานวิทยาของเห็ดราสายพันธุ์กลายของ *Neurospora crassa* 37401 พบว่าถ้าปริมาณอินโนซิทอลในอาหารมีไม่เพียงพอ การเจริญของเส้นใย *N. crassa* 37401 จะเป็นก้อนนุ่มปน ซึ่งแตกต่างกับเส้นใยของสายพันธุ์ปกติ



ภาพที่ 2.11 โครงสร้างของ *myo*-inositol

ที่มา : [http://www.pdrhealth.com/drug\\_info/nmdrugprofiles/nutsupdrugs/myo\\_0145.shtml](http://www.pdrhealth.com/drug_info/nmdrugprofiles/nutsupdrugs/myo_0145.shtml)

### บทที่ 3

## วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการวิจัย

### 3.1 สารเคมี

1. ไทอะมินไฮโดรคลอไรด์ (บริษัท FLUKA)
2. ไบโอติน (บริษัท SIGMA)
3. กรดฟอสฟอริก (บริษัท SIGMA)
4. อินโนซิทอล (บริษัท SIGMA)
5. กรดแพนโททีนิก (บริษัท SIGMA)
6. ไรโบฟลาวิน (บริษัท FLUKA)
7. ไพรีดอกซิน (บริษัท FLUKA)
8. กรดนิโคทีนิก (บริษัท SIGMA)
9. กลูโคส
10. แมกนีเซียมซัลเฟต ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ )
11. โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $KH_2PO_4$ )
12. แอสพาราจिन (asparagine)
13. กรดฟูมาริก (fumaric acid)
14. แมงกานีสซัลเฟต ( $MnSO_4$ )
15. ซิงค์ซัลเฟต ( $ZnSO_4$ )
16. โซเดียมคาร์บอเนต ( $Na_2CO_3$ )
17. ยีสต์สกัด (yeast extract)
18. วุ้น (agar)

### 3.2 อุปกรณ์

1. ตู้เขี่ยเชื้อ (บริษัท ISSCO รุ่น HS 123)
2. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันสูง (บริษัท TOMY รุ่น 3S-325)
3. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (incubator) (บริษัท SHEL LAB รุ่น 2020)
4. ไมโครปิเปต (micropipett) (บริษัท LABSYSTEMS)
5. เครื่องชั่งละเอียด 2 ตำแหน่ง (บริษัท METTLER-TOLEDO รุ่น PG5002)
6. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (บริษัท METTLER-TOLEDO รุ่น AG 204)
7. เครื่องแก้ว เช่น บีกเกอร์ ขวดรูปชมพู่ ฯลฯ (บริษัท PYREX)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. ตู้อบ (บริษัท MEMMERT)
9. กระดาษกรอง (Whatman #1) (บริษัท Whatman)
10. มิลลิพอร์ฟิลเตอร์ (millipore filter) (บริษัท Millipore)
11. เข็มเขี่ยเชื้อ
12. อุปกรณ์ตัดเส้นใย (cork borer) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร

### 3.3 แหล่งเชื้อจุลินทรีย์

3.3.1 เห็ดนางรมฮังการี (*Pleurotus ostreatus* : Hungarian), เห็ดนางรมทอง (*P.citrinopileatus*) และเห็ดนางรมขาว (*P. djamor*) ได้รับการอนุเคราะห์จากศูนย์รวมสวนเห็ดบ้านอรุณภูมิ จังหวัดนครปฐม

3.3.2 เห็ดนางรม (*P. ostreatus*) และเห็ดนางฟ้า (*P. sajor-caju*) ได้รับการอนุเคราะห์จากกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

### 3.4 วิธีดำเนินงานวิจัย

#### 3.4.1. วิธีการศึกษาผลของวิตามินที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใย

##### 3.4.1.1 การเตรียมหัวเชื้อ

ทำการเลี้ยงเส้นใยเห็ดชนิดต่างๆ ลงในอาหารวุ้น WA (water agar) (ภาคผนวก) เพื่อเป็น stock culture จากนั้นเขี่ยเชื้อเห็ดจาก stock culture ลงในอาหารวุ้น WA บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

##### 3.4.1.2 การเตรียมอาหารสูตรต่างๆเพื่อศึกษาหาชนิดของวิตามินที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใย

การทดลองนี้ใช้สูตรอาหารที่เติมวิตามินแต่ละชนิด (ใน 8 ชนิด) ลงในสูตรอาหารพื้นฐาน ที่มีส่วนประกอบตามวิธีของ Okwujako (1990) (ภาคผนวก) จึงทำให้ได้สูตรอาหารตามชนิดของวิตามินได้ 8 สูตร และอีก 3 สูตร เป็นสูตรอาหารควบคุม ซึ่งได้แก่ สูตรอาหารพื้นฐานที่ไม่เติมวิตามินชนิดใดๆ ลงไป (จัดเป็นสูตรอาหารประเภท negative control), สูตรอาหารที่เติมวิตามินทั้ง 8 ชนิด ลงในสูตรอาหารพื้นฐาน (สูตรนี้จัดเป็นสูตรประเภท positive control) และสูตรอาหารที่เติมยีสต์สกัดลงในอาหารสูตรพื้นฐานโดยใช้ความเข้มข้น 0.04 กรัมต่อลิตร (จัดเป็นสูตรประเภท positive control) ดังนั้น สูตรอาหารที่ใช้ศึกษาในงานวิจัยนี้จึงมีทั้งสิ้น 11 สูตร ดังต่อไปนี้

- สูตรอาหารที่ 1 = สูตรอาหารพื้นฐานที่เติมกรดนิโคตินิก  
 สูตรอาหารที่ 2 = สูตรอาหารพื้นฐานที่เติมไทอะมิน  
 สูตรอาหารที่ 3 = สูตรอาหารพื้นฐานที่เติมไบโอติน  
 สูตรอาหารที่ 4 = สูตรอาหารพื้นฐานที่เติมกรดโฟลิก  
 สูตรอาหารที่ 5 = สูตรอาหารพื้นฐานที่เติมอินโนซิโทล  
 สูตรอาหารที่ 6 = สูตรอาหารพื้นฐานที่เติมกรดแพนโททินิก  
 สูตรอาหารที่ 7 = สูตรอาหารพื้นฐานที่เติมไพริดอกซิน  
 สูตรอาหารที่ 8 = สูตรอาหารพื้นฐานที่เติมไรโบฟลาวิน  
 สูตรอาหารที่ 9 = สูตรอาหารพื้นฐานที่เติมยีสต์สกัด  
 สูตรอาหารที่ 10 = สูตรอาหารพื้นฐานที่เติมวิตามินทั้ง 8 ชนิด  
 สูตรอาหารที่ 11 = สูตรอาหารพื้นฐานที่ไม่เติมวิตามิน

ทั้งนี้ได้ใช้ความเข้มข้นของวิตามินดังต่อไปนี้ กรดนิโคตินิก ไทอะมิน กรดโฟลิก กรดแพนโททินิก ไพริดอกซิน และไรโบฟลาวิน ใช้ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตร ส่วนไบโอติน และอินโนซิโทล ใช้ความเข้มข้น 10 และ 500 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในการเตรียมอาหารเพื่อการทดลองครั้งนี้ ถ้าเป็นส่วนประกอบต่างๆ ในอาหารสูตรพื้นฐาน (ภาคผนวก) จะนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แต่ถ้าเป็นยีสต์สกัด กลูโคส แอสพาราจีน และวิตามิน จะทำให้ปลอดเชื้อโดยการกรองด้วยมิลลิพอร์ฟิลเตอร์ (millipore filter)

### 3.4.1.3 การเลี้ยงเชื้อเห็ดในอาหารสูตรต่างๆ

เมื่อเตรียมสูตรอาหารต่างๆ จนครบ ขั้นตอนต่อมาจะใช้อุปกรณ์ตัดเส้นใย (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร) ตัดเส้นใยของเห็ดที่ได้จากการเตรียมหัวเชื้อในข้อที่ 3.4.1.1 ลงในอาหารเหลวแต่ละสูตร ปริมาตรสูตรละ 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ทำการวัดผลการเจริญของเส้นใยเมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 14 และ 21 วัน โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

### 3.4.1.4 การเก็บผลการทดลอง

หลังจากเลี้ยงเส้นใยเป็นเวลา 14 และ 21 วัน จะทำการเก็บเกี่ยวเส้นใยโดยกรองเส้นใยด้วยกระดาษกรอง ล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง (Hashimoto and Takahashi, 1974) จากนั้นนำไปหาค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งของเส้นใยในแต่ละการทดลอง ตามด้วยการนำค่าน้ำหนักแห้งที่ได้มาวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธีของคันทันแคน (Duncan's New

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Multiple Range Test) (สิทธิชัย เจริญเศรษฐศิลป์. 2542) เพื่อศึกษาว่าวิตามินชนิดใดที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใย

### 3.4.2. วิธีการศึกษาเพื่อหาชนิดของวิตามินที่เหมาะสมต่อการเกิดตุ่มดอกในงานอาหารเลี้ยงเชื้อ

การศึกษหาชนิดของวิตามินที่เหมาะสมต่อการเกิดตุ่มดอก จะใช้สูตรอาหารเช่นเดียวกับการศึกษาผลของชนิดของวิตามินที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใย เพียงแต่เติมวัน 1.5 เปอร์เซ็นต์ ลงในสูตรอาหารแต่ละชนิดเพื่อทำให้เป็นอาหารแข็ง เมื่อได้ทำการเตรียมอาหารในงานอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วจะทำการเลี้ยงเชื้อเห็ดในอาหารแข็งสูตรต่างๆ ทำนองเดียวกับวิธีการในข้อ 3.4.13 ทั้งนี้ถ้าเป็นเห็ดนางรมทองจะใช้เวลาเลี้ยงเชื้อประมาณ 55 วัน ส่วนเห็ดนางรมฮังการี เห็ดนางรม เห็ดนางรมพล และเห็ดนางรมฟ้า ใช้เวลาประมาณ 40 วัน

การศึกษผลของวิตามินต่อการเกิดตุ่มดอกจะดูจากการเกิดหรือไม่เกิดตุ่มดอกในงานอาหารเลี้ยงเชื้อของแต่ละการทดลอง เพื่อเปรียบเทียบว่ามีวิตามินใดบ้างที่มีผลต่อการเกิดตุ่มดอก และเพื่อพิสูจน์ว่าการเจริญของเส้นใยมีความสัมพันธ์กับการเกิดตุ่มดอกหรือไม่

## บทที่ 4

### ผลการวิจัย

#### 4.1 การศึกษาหาชนิดของวิตามินที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมทอง เห็ดนางรมอังการี เห็ดนางรม เห็ดนางนวล และเห็ดนางฟ้า

จากการทดลองเพื่อหาชนิดของวิตามินที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเส้นใยเห็ด 5 ชนิด โดยเฉพาะเลี้ยงเส้นใยบนอาหารเหลวรวม 11 สูตร และทำการวัดผลการเจริญของเส้นใย (รวมทั้งการเปรียบเทียบผลการทดลองโดยวิธี DMRT) เมื่อเชื้อมีอายุ 14 และ 21 วัน ได้ผลการทดลอง ดังตารางที่ 4.1-4.5 กล่าวคือ อาหารพื้นฐานที่เติมยีสต์สกัดและอาหารพื้นฐานที่เติมวิตามินทั้ง 8 ชนิด ให้ผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดสูงที่สุดและไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติสำหรับเห็ดนางรมทอง เห็ดนางรมอังการี และเห็ดนางฟ้า ส่วนในเห็ดอีก 2 ชนิด คือ เห็ดนางรม และเห็ดนางนวล พบว่า อาหารสูตรพื้นฐานที่เติมวิตามินทั้ง 8 ชนิดให้ผลดีที่สุด ในขณะที่อาหารสูตรพื้นฐานที่เติมยีสต์สกัดให้ผลดีเป็นอันดับ 2 สำหรับผลของชนิดของวิตามินพบว่า ไทอะมินให้ผลดีที่สุด (ในจำนวนวิตามิน 8 ชนิดที่ศึกษา) ในเห็ดทั้ง 8 ชนิด

#### 4.2 การศึกษาหาชนิดของวิตามินที่เหมาะสมต่อการเกิดตุ่มดอกในจานอาหารเลี้ยงเชื้อของเห็ดนางรมทอง เห็ดนางรมอังการี เห็ดนางรม เห็ดนางนวล และเห็ดนางฟ้า

จากการศึกษาหาชนิดของวิตามินที่เหมาะสมต่อการเกิดตุ่มดอก โดยใช้สูตรอาหารพื้นฐานที่เติมวิตามินทั้ง 8 ชนิด สูตรอาหารพื้นฐานที่เติมยีสต์สกัด และสูตรอาหารรวม 11 สูตรเช่นเดียวกับกรณีการศึกษาด้านการเจริญของเส้นใย ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.6 และ ภาพที่ 4.1-4.5 กล่าวคือ เฉพาะสูตรอาหารพื้นฐานที่เติม ไทอะมินและสูตรอาหารควบคุมชนิด positive control อีก 2 สูตร (สูตรอาหารพื้นฐานที่เติมยีสต์สกัดและที่เติมวิตามินทั้ง 8 ชนิด) เท่านั้นที่ให้ตุ่มดอก จึงแสดงว่าผลการทดลองด้านการเกิดตุ่มดอกเหมือนกับผลการทดลองด้านการเจริญของเส้นใย แสดงว่าการเจริญของเส้นใยมีผลโดยตรงต่อการเกิดตุ่มดอก ซึ่งควรจะมีผลโดยตรงต่อการออกดอกในขั้นสุดท้ายของวงจรชีวิตของเห็ดเช่นกัน

ตารางที่ 4.1 ผลของชนิดของวิตามินที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมทอง เมื่อเลี้ยงเส้นใยเป็นเวลา 14 และ 21 วัน

สูตรอาหาร	น้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเส้นใย (กรัม)	
	14 วัน	21 วัน
1. กรดนิโคตินิก	0.1331 <sup>e</sup>	0.1804 <sup>de</sup>
2. ไทอะมิน	0.1741 <sup>b</sup>	0.2559 <sup>a</sup>
3. ไบโอดีน	0.1345 <sup>c</sup>	0.2098 <sup>b</sup>
4. กรดโฟลิก	0.1347 <sup>e</sup>	0.2022 <sup>bc</sup>
5. อินโนซิทอล	0.1546 <sup>c</sup>	0.1899 <sup>cd</sup>
6. กรดแพนโททีนิก	0.1326 <sup>e</sup>	0.1879 <sup>cd</sup>
7. ไพริดอกซีน	0.1342 <sup>e</sup>	0.2073 <sup>b</sup>
8. ไรโบฟลาวิน	0.1454 <sup>d</sup>	0.1869 <sup>cde</sup>
9. ยีสต์สกัด	0.1741 <sup>a</sup>	0.2410 <sup>a</sup>
10. เติมวิตามินทั้ง 8 ชนิด	0.1927 <sup>a</sup>	0.2471 <sup>a</sup>
11. ไม่เติมวิตามิน	0.1025 <sup>f</sup>	0.1719 <sup>c</sup>

ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเป็นไปได้ 0.05

ตารางที่ 4.2 ผลของชนิดของวิตามินที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมฮังการี เมื่อเลี้ยงเส้นใยเป็นเวลา 14 และ 21 วัน

สูตรอาหาร	น้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเส้นใย (กรัม)	
	14 วัน	21 วัน
1. กรดนิโคตินิก	0.0299 <sup>fg</sup>	0.1146 <sup>d</sup>
2. ไทอะมิน	0.0890 <sup>b</sup>	0.2013 <sup>a</sup>
3. ไบโอติน	0.0589 <sup>c</sup>	0.1525 <sup>b</sup>
4. กรดโฟลิก	0.0552 <sup>cd</sup>	0.1116 <sup>de</sup>
5. อินโนซิทอล	0.0332 <sup>f</sup>	0.1039 <sup>f</sup>
6. กรดแพนโททีนิก	0.0444 <sup>c</sup>	0.1139 <sup>d</sup>
7. ไพรีดอกซีน	0.0519 <sup>d</sup>	0.1353 <sup>c</sup>
8. ไรโบฟลาวิน	0.0455 <sup>e</sup>	0.1178 <sup>d</sup>
9. ซีตัสกัก	0.1089 <sup>a</sup>	0.2057 <sup>a</sup>
10. เต็มวิตามินทั้ง 8 ชนิด	0.1095 <sup>a</sup>	0.1996 <sup>a</sup>
11. ไม่เต็มวิตามิน	0.0244 <sup>g</sup>	0.1030 <sup>f</sup>

ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเป็นไปได้ 0.05

ตารางที่ 4.3 ผลของชนิดของวิตามินที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมเมื่อเลี้ยงเส้นใยเป็นเวลา 14 และ 21 วัน

สูตรอาหาร	น้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเส้นใย (กรัม)	
	14 วัน	21 วัน
1. กรดนิโคตินิก	0.0569 <sup>d</sup>	0.0872 <sup>f</sup>
2. ไทอะมิน	0.1106 <sup>b</sup>	0.2259 <sup>a</sup>
3. ไบโอดีน	0.0721 <sup>c</sup>	0.1766 <sup>c</sup>
4. กรดฟอสฟอริก	0.0569 <sup>d</sup>	0.1708 <sup>c</sup>
5. อินโนซิทอล	0.0639 <sup>cd</sup>	0.1750 <sup>c</sup>
6. กรดแพนโทเทอิก	0.0697 <sup>c</sup>	0.1534 <sup>d</sup>
7. ไพริดอกซีน	0.0463 <sup>e</sup>	0.1145 <sup>e</sup>
8. ไรโบฟลาวิน	0.0670 <sup>c</sup>	0.1570 <sup>d</sup>
9. ซีลีเนียม	0.1131 <sup>b</sup>	0.2074 <sup>b</sup>
10. เติมวิตามินทั้ง 8 ชนิด	0.1348 <sup>a</sup>	0.2262 <sup>a</sup>
11. ไม่เติมวิตามิน	0.0480 <sup>e</sup>	0.1063 <sup>e</sup>

ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเป็นไปได้ 0.05

ตารางที่ 4.4 ผลของชนิดของวิตามินที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดคนางวล เมื่อเลี้ยงเส้นใยเป็นเวลา 14 และ 21 วัน

สูตรอาหาร	น้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเส้นใย (กรัม)	
	14 วัน	21 วัน
1. กรดนิโคทีนิก	0.1040 <sup>f</sup>	0.1594 <sup>d</sup>
2. ไทอะมิน	0.1719 <sup>b</sup>	0.2474 <sup>a</sup>
3. ไบโอติน	0.1255 <sup>c</sup>	0.1759 <sup>c</sup>
4. กรดโฟลิก	0.0939 <sup>g</sup>	0.1493 <sup>e</sup>
5. อินโนซิทอล	0.1107 <sup>c</sup>	0.1598 <sup>d</sup>
6. กรดแพนโททีนิก	0.1153 <sup>de</sup>	0.1564 <sup>d</sup>
7. ไพริดอกซีน	0.1239 <sup>c</sup>	0.1779 <sup>c</sup>
8. ไรโบฟลาวิน	0.1179 <sup>d</sup>	0.1589 <sup>d</sup>
9. ยีสต์สกัด	0.1695 <sup>b</sup>	0.2209 <sup>b</sup>
10. เติมวิตามินทั้ง 8 ชนิด	0.1918 <sup>a</sup>	0.2487 <sup>a</sup>
11. ไม่เติมวิตามิน	0.1032 <sup>e</sup>	0.1340 <sup>f</sup>

ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเป็นไปได้ 0.05

ตารางที่ 4.5 ผลของชนิดของวิตามินที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้าเมื่อเลี้ยงเส้นใยเป็นเวลา 14 และ 21 วัน

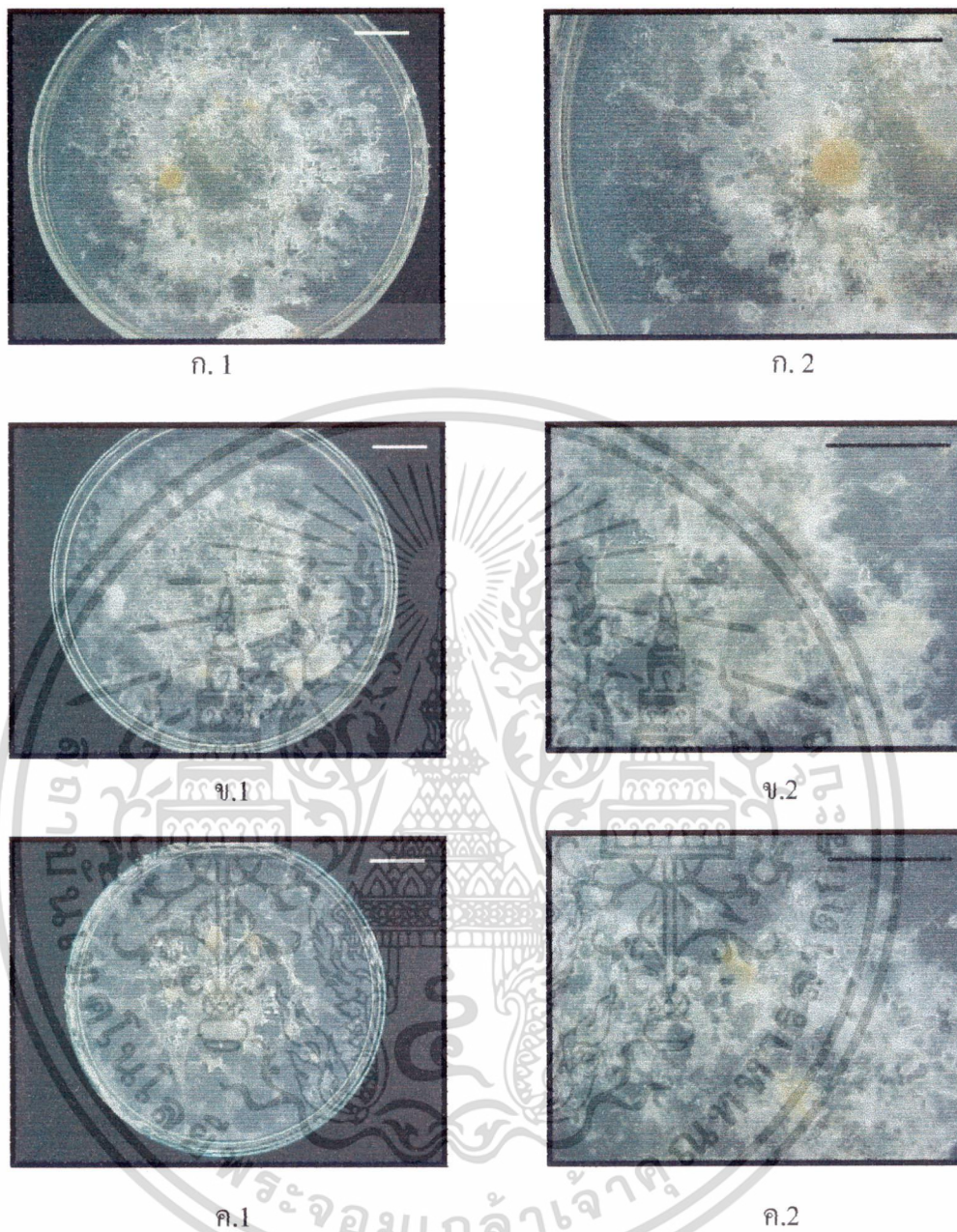
สูตรอาหาร	น้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเส้นใย (กรัม)	
	14 วัน	21 วัน
1. กรดนิโคตินิก	0.0451 <sup>d</sup>	0.0890 <sup>ef</sup>
2. ไทอะมิน	0.1008 <sup>a</sup>	0.1924 <sup>a</sup>
3. ไบโอดีน	0.0713 <sup>b</sup>	0.1124 <sup>c</sup>
4. กรดฟอลิก	0.0691 <sup>bc</sup>	0.0997 <sup>d</sup>
5. อินโนซิทอล	0.0629 <sup>c</sup>	0.0919 <sup>c</sup>
6. กรดแพนโทเทอิก	0.0619 <sup>c</sup>	0.0992 <sup>d</sup>
7. ไพริดอกซีน	0.0395 <sup>d</sup>	0.0752 <sup>g</sup>
8. ไรโบฟลาวิน	0.0459 <sup>d</sup>	0.0845 <sup>f</sup>
9. ยีสต์สกัด	0.0982 <sup>a</sup>	0.1619 <sup>b</sup>
10. เติมวิตามินทั้ง 8 ชนิด	0.0998 <sup>a</sup>	0.1978 <sup>a</sup>
11. ไม่เติมวิตามิน	0.0151 <sup>e</sup>	0.0381 <sup>h</sup>

ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเป็นไปได้ 0.05

ตารางที่ 4.6 ผลของการเกิดตุ่มดอกในงานอาหารสูตรพื้นฐานที่เติมหรือไม่เติมวิตามินหรืออีสต์  
 สกัดของเห็ดนางรมทอง เห็ดนางรมฮังการี เห็ดนางรม เห็ดนางนวล และเห็ดนางฟ้า  
 เมื่อเลี้ยงเส้นใยเห็ดนางรมทองเป็นเวลา 55 วัน ส่วนเห็ดนางรมฮังการี เห็ดนางรม เห็ด  
 นางนวลและเห็ดนางฟ้าเลี้ยงเส้นใยเป็นเวลา 40 วัน โดยบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 25 องศา  
 เซลเซียส

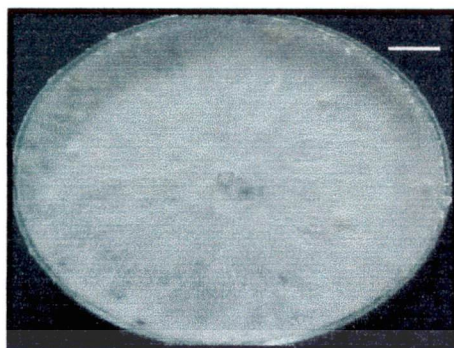
อาหาร	ชนิดของเห็ด				
	นางรมทอง	นางรม ฮังการี	นางรม	นางนวล	นางฟ้า
1. กรดนิโคตินิค	-	-	-	-	-
2. ไทอะมิน	+	+	+	+	+
3. ไปโอติน	-	-	-	-	-
4. กรดโฟลิก	-	-	-	-	-
5. อินโนซิทอล	-	-	-	-	-
6. กรดแพนโททินิก	-	-	-	-	-
7. ไพรีดอกซีน	-	-	-	-	-
8. ไรโบฟลาวิน	-	-	-	-	-
9. ยีสต์สกัด	+	+	+	+	+
10. เติมวิตามินทั้ง 8 ชนิด	+	+	+	+	+
11. ไม่เติมวิตามิน	-	-	-	-	-

+ หมายถึง เกิดตุ่มดอกในงานอาหารเลี้ยงเชื้อ - หมายถึง ไม่เกิดตุ่มดอกในงานอาหารเลี้ยงเชื้อ



ภาพที่ 4.1 การเกิดค่อมดอกในจานอาหารเลี้ยงเชื้อของเห็ดนางรมทอง เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารพื้นฐานที่เติมวิตามินทั้ง 8 ชนิด (ก.1-2), ในสูตรอาหารพื้นฐานที่เติมยีสต์สกัด (ข.1-2) และในสูตรอาหารพื้นฐานที่เติมไทอะมิน (ค.1-2) เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 55 วัน (สเกล = 1 ซม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ก. 1



ก. 2



ข. 1



ข. 2



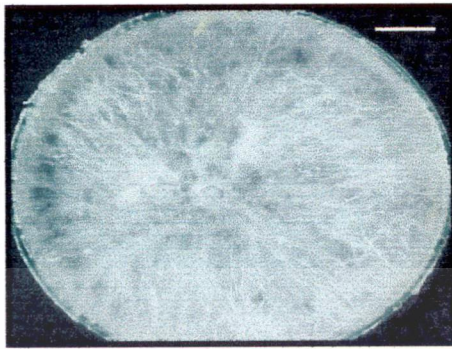
ค. 1



ค. 2

**ภาพที่ 4.2** การเกิดคุ่มดอกในงานอาหารเลี้ยงเชื้อของเห็ดนางรมอังการี เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารพื้นฐานที่เติมวิตามินทั้ง 8 ชนิด (ก.1-2), ในสูตรอาหารพื้นฐานที่เติมยีสต์สกัด (ข.1-2) และในสูตรอาหารพื้นฐานที่เติมไทอะมิน (ค.1-2) เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 40 วัน (สเกล = 1 ซม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ก.1



ก.2



ข.1



ข.2



ค.1



ค.2

**ภาพที่ 4.3** การเกิดตุ่มดอกในจานอาหารเลี้ยงเชื้อของเห็ดนางรม เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารพื้นฐานที่เติมวิตามินทั้ง 8 ชนิด (ก.1-2), ในสูตรอาหารพื้นฐานที่เติมอีสต์สกัด (ข.1-2) และในสูตรอาหารพื้นฐานที่เติมไทอะมิน (ค.1-2) เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 40 วัน (สเกล = 1 ซม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ก.1



ก.2



ข.1



ข.2



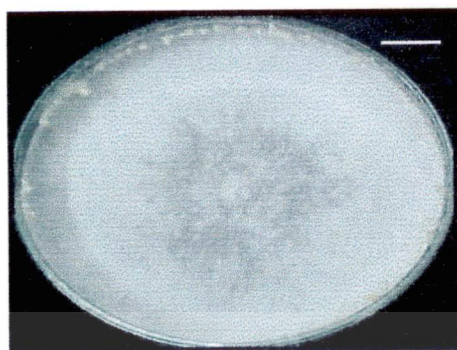
ค.1



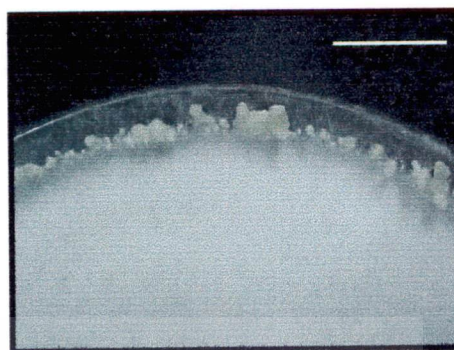
ค.2

**ภาพที่ 4.4** การเกิดตุ่มดอกในจานอาหารเลี้ยงเชื้อของเห็ดคนางวล เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารพื้นฐานที่เติมวิตามินทั้ง 8 ชนิด (ก.1-2), ในสูตรอาหารพื้นฐานที่เติมยีสต์สกัด (ข.1-2) และในสูตรอาหารพื้นฐานที่เติมไทอะมิน (ค.1-2) เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 40 วัน (สเกล = 1 ซม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ก.1



ก.2



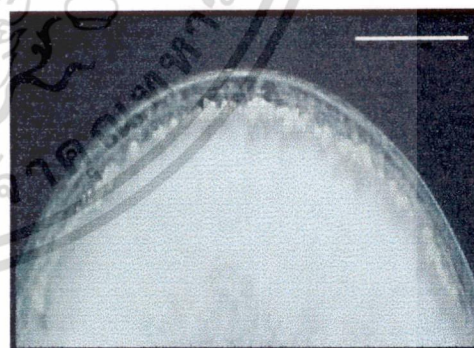
ข.1



ข.2



ค.1



ค.2

**ภาพที่ 4.5** การเกิดคุ่มดอกในงานอาหารเลี้ยงเชื้อของเห็ดนางฟ้า เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารพื้นฐานที่เติมวิตามินทั้ง 8 ชนิด (ก.1-2), ในสูตรอาหารพื้นฐานที่เติมยีสต์สกัด (ข.1-2) และในสูตรอาหารพื้นฐานที่เติมไทอะมิน (ค.1-2) เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 40 วัน (สเกล = 1 ซม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 5

### สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในการศึกษาหาชนิดของวิตามินที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมทอง เห็ดนางรมฮังการี เห็ดนางรม เห็ดนางนวล และเห็ดนางฟ้า โดยทำการทดลองเพาะเลี้ยงเส้นใยบนอาหารเหลวสูตรพื้นฐานที่เติมวิตามินแต่ละชนิดในจำนวน 8 ชนิด ซึ่งได้แก่ กรดนิโคตินิก ไทอะมิน ไบโอดีน กรดโฟลิก อินโนซิทอล กรดแพนโททินิก ไพริดอกซีน และไรโบฟลาวิน และอาหารสูตรพื้นฐานควบคุมอีก 3 สูตร คือ อาหารสูตรพื้นฐาน อาหารสูตรพื้นฐานที่เติมยีสต์สกัด และอาหารสูตรพื้นฐานที่เติมวิตามินทั้ง 8 ชนิด พบว่าอาหารสูตรพื้นฐานที่เติมยีสต์สกัด และอาหารสูตรพื้นฐานที่เติมวิตามินทั้ง 8 ชนิด ให้ผลดีที่สุดในเห็ดเกือบทุกชนิดแต่ถ้าเปรียบเทียบเฉพาะอาหารสูตรพื้นฐานที่เติมวิตามินชนิดใดชนิดหนึ่ง พบว่า ไทอะมินให้ผลดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของนักวิจัยหลายท่าน (Ward, 1962; Hashimoto and Takahashi, 1974 และ Leonian and Lilly, 1938)

จากการศึกษาหาชนิดของวิตามินที่เหมาะสมต่อการเกิดตุ่มดอก โดยใช้สูตรอาหารเช่นเดียวกันกับการศึกษาหาชนิดของวิตามินที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใย เพียงแต่เติมวัน 1.5 เปอร์เซ็นต์ลงในสูตรอาหารแต่ละชนิดเพื่อทำให้เป็นอาหารแข็ง พบว่าได้ผลทำนองเดียวกับเมื่อศึกษาการเจริญของเส้นใยเห็ด กล่าวคือ การเกิดตุ่มดอกในจานอาหารจะเกิดขึ้นในอาหารที่เติมยีสต์สกัด อาหารที่เติมวิตามินทั้ง 8 ชนิด และอาหารที่เติมไทอะมิน แสดงว่าไทอะมินเป็นวิตามินเพียงชนิดเดียวที่มีผลต่อการเกิดตุ่มดอก ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Okwujako (1990) และ Chang *et al.* (1993) สำหรับเหตุผลที่ยีสต์สกัดมีผลต่อการเกิดตุ่มดอกเช่นเดียวกับไทอะมินนั้น เนื่องจากในยีสต์สกัดมีองค์ประกอบหลายชนิด ซึ่งได้แก่ กรดอะมิโน คาร์โบไฮเดรต และวิตามินที่ละลายได้ในน้ำ โดยที่ไทอะมินก็เป็นวิตามินชนิดหนึ่งที่พบได้ในยีสต์สกัด

จากงานวิจัยนี้จะเห็นว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยและการเกิดตุ่มดอกคือ สูตรอาหารเดียวกัน จึงแสดงว่าการเจริญของเส้นใยมีผลโดยตรงต่อการเกิดตุ่มดอก

เนื่องจากยีสต์สกัดและไทอะมินต่างก็ให้ผลดีต่อการเจริญของเส้นใยและต่อการเกิดตุ่มดอกในเห็ดที่ศึกษา จึงมีคำถามที่น่าสนใจเกิดขึ้นว่า เกษตรกรผู้เพาะเห็ดควรใช้สารใดในการเพิ่มผลผลิต ซึ่งจากข้อมูลเบื้องต้นพบว่า ยีสต์สกัดมีราคาถูกในขณะที่ไทอะมินมีราคาแพง แต่จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าถ้าใช้ยีสต์สกัดต้องใช้ในปริมาณมากในขณะที่ถ้าเป็นไทอะมินจะใช้เพียงจำนวนเล็กน้อย ดังนั้นจึงเป็นหน้าที่ของเกษตรกรเองที่จะศึกษาและตัดสินใจว่าจะใช้สารใดและใช้ในปริมาณเท่าใดจึงจะคุ้มทุนมากที่สุด ซึ่งถ้าจะใช้ไทอะมินได้มีผู้เชี่ยวชาญด้านการเพาะเห็ด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แนะนำว่าควรใช้สารละลายไทอะมินที่มีความเข้มข้นที่เหมาะสมฉีดพ่นไปในดอกเห็ดดีกว่าจะผสมไทอะมินลงในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งที่ได้ทำการวิจัยในครั้งนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บรรณานุกรม

- ปัญญา โพธิ์จิวรัตน์. 2532. เทคโนโลยีการเพาะเห็ด. คณะเทคโนโลยีการเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.
- ปัญญา โพธิ์จิวรัตน์. 2538. เทคโนโลยีการเพาะเห็ด. คณะเทคโนโลยีการเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.
- ศิริวรรณ สุทธิจิตต์ และไมตรี สุทธิจิตต์. 2545. “เห็ดสมุนไพรร : จากอดีต สู่วันปัจจุบัน และอนาคต.” *เห็ดไทย*. 1 – 11.
- สิทธิชัย เจริญเศรษฐศิลป์. 2542. การวางแผนการตลาด. ภาควิชาสถิติประยุกต์. คณะวิทยาศาสตร์. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.
- ศุภชัย รตโนภาส. 2542. การผลิตเห็ด. สาขาวิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช. คณะเทคโนโลยีการเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.
- อานนท์ เอื้อตระกูล. 2523. การเพาะเห็ดนางรม. กองวิจัยโรคพืช. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.
- อภัสสร ฆมิคท์. 2537. ชีวเคมี. คณะสัตวแพทยศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- Alexopoulos, C.J., Mims, C.W. and M., Blackwell. 1996. *Introductory Mycology*. New York : John Wiley and Sons.
- Burkholder, P.R. 1943. Vitamin deficiencies in yeasts. *Am. J. Bot.* 30 : 206 – 211.
- Burkholder, P.R. and D., Moyer. 1943. Vitamin deficiencies of fifty yeasts and molds. *Bull. Torrey. Botan. Club.* 70 : 372 – 377.
- Dube, H.C. 1990. *An introduction to fungi*. Delhi : Gajendra Printing Press.
- Fuller, R.C. and E.L., Tatum. 1956. Inositol, phospholipid in *Neurospora* and its relationship to morphology. *Am. J. Bot.* 43 : 361 – 365.
- Gounaris, A.D., Turkenkopf, I., Averchia, L.L. and J., Greenlie. 1977. Pyruvate decarboxylase, 3. Specificity restriction for thiamine pyrophosphate in protein association step-sub unit structure. *Biochim. Biophys. Acta.* 405 : 492 – 499.
- Hilgenberg, W. and F., Holfmann. 1977. Tryptophan synthase in *Phycomyces blakesleeanus* I. Characterization of the enzyme. *Physiol. Plant.* 4 : 181 – 185.

- Hashimoto, K. and Z., Takahashi. 1974. Studies on the growth of *Pleurotus ostreatus*. **Mushroom Science IX (part I)**. 585-593.
- Jansen, B.C.P. 1954. **The vitamins**. New York : Academic Press.
- Jennison, M.W., Newcomb, M.D. and R., Henderson. 1955. Physiology of the wood rotting Basidiomycetes. 1. Growth and nutrition in submerged culture in synthetic media. **Mycologia**. 47 : 275.
- King, M. W. "Vitamin and Co-enzyme." (Online). Available: <http://www.indstate.edu/thcme/mwking/vitamins.html>. 2003.
- Lane, R.L., and R.J., William. 1948. Inositol, an active constituent of pancreatic (alpha). **Arch. Biochem.** 19 : 329 – 335.
- Leonian, L.H. and V.G., Lilly. 1938. Studies on the nutrition of fungi. I. Thiamin, its constituents and the source of nitrogen. **Phytopatho.** 28 : 531 – 548.
- Leonian, L.H. and V.G., Lilly. 1942. The effect of vitamins on ten strains of *Saccharomyces cerevisiae*. **Amer. J. Bot.** 29 : 459-464.
- Lilly, V.G. and H.L., Barnett. 1951. **Physiology of fungi**. New York : McGraw - Hill Book Company Inc.
- Lindeberg, G. 1946. The effect of biotin and thiamin on the growth of *Collybia dryophila*. **Fr. Sv. Bot. Tidsk.** 40 : 63 – 69.
- Marshall, W.J., Newcomb, M.D. and R., Henderson. 1955. Physiology of the wood-rotting Basidiomycetes. I. Growth and nutrition in submerged culture in synthetic media. **Mycologia**. 47 (3):275-304.
- Melin, E. and G., Lindeberg 1939. Über den einfluss von aneurin und biotin auf das wachstum einiger mykorrhizenpilze. **Bot. Not.** 241 - 245.
- Melin, E. and B., Nyman. 1940. Weitere untersuchungun Über die wirkung van aneurin und biotin auf das waschtum von wurzelpilzen. **Arch. Mikrobiol.** 11 : 318 – 328.
- Okwujiako, I.A. 1990. The effect of vitamins on the vegetative growth and fruitbody formation of *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer. **Mush. J. Tropics.** 10 : 35-39.

- Rao, K.K. and V.V., Modi. 1968. Metabolic change in biotin deficiencies *Aspergillus nidulans*. **Can. J. Microbiol.** 14 : 813 – 815.
- Ridgway, G.T. and H.C., Douglas. 1958. Unbalanced growth of yeast due to inositol deficiency. **J. Bac.** 76 : 163 – 166.
- Rogosa, M. 1943. Nicotinic acid requirements of certain yeasts. **J. Bac.** 46 : 435 – 440.
- Robbins, W.J. 1938. Organism requiring vitamin B<sub>1</sub>. **Proc. Nat. Acad.** 24 : 52 – 56.
- Robbins, W.J. and R., Ma. 1944. A *Rhodotorula* deficient for para-aminobenzoic acid. **Science.** 100 : 85 – 86.
- Stamets, P. 1993. **Growing gourmet and medicinal mushroom.** 2<sup>nd</sup> edition. HongKong : Ten Speed Press.
- Stamets, P. 2000. **Growing gourmet and medicinal mushroom.** 2<sup>rd</sup> edition. Toronto : Ten Speed Press.
- Thomson, R. “Myo-Inositol.” (online). Available : [http://www.pdrhealth.com/drug\\_info/nmdrugprofiles/nutsupdrugs/myo\\_0145.shtml](http://www.pdrhealth.com/drug_info/nmdrugprofiles/nutsupdrugs/myo_0145.shtml). 2003.
- Treschow, C. 1944. Nutrition of the cultivated mushroom. **Dansk Botanisk Arkiv.** 11(6) : 1 – 180.
- Umbreit, W.W. 1954. **The vitamins.** New York : Academic Press.
- Ward, E.W.B. 1962. Vitamin requirements of a low temperature basidiomycete. **Can. J. Bot.** 40 : 1347 - 1354.

## ภาคผนวก

1. สูตรอาหารพื้นฐานที่ใช้ในการศึกษาผลของวิตามินต่อการเจริญของเส้นใยและการเกิดตุ่มดอก (Okwujiako. 1990) มีส่วนประกอบดังต่อไปนี้

glucose	25.0	กรัมต่อลิตร
asparagine	1.0	กรัมต่อลิตร
potassium dihydrogenphosphate ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	1.0	กรัมต่อลิตร
magnesium sulphate ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	0.5	กรัมต่อลิตร
fumaric acid	1.32	กรัมต่อลิตร
sodium carbonate ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )	1.12	มิลลิกรัมต่อลิตร
ferrous sulfate ( $\text{FeSO}_4$ )	0.2	มิลลิกรัมต่อลิตร
manganese sulphate ( $\text{MnSO}_4$ )	0.1	มิลลิกรัมต่อลิตร
zinc sulfate ( $\text{ZnSO}_4$ )	0.2	มิลลิกรัมต่อลิตร

2. อาหารวุ้น (water agar: WA) ส่วนประกอบดังนี้

ผงวุ้น	20.0	กรัมต่อลิตร
--------	------	-------------