

美味羊肚菌(*Morchella esculenta*)菌絲體粉對大鼠不具生殖與發育的二期毒性

林明義¹，江玲慧¹，吳思穎¹，古幸宜²，陳勁初^{1,3-5*}

葡萄王生技股份有限公司，桃園市¹；台美檢驗科技有限公司，新北市²；台灣大學食品科技研究所，台北市³；實踐大學食品營養與保健生物學系，台北市⁴；中原大學生物科技學系⁵，桃園市，台灣

摘要

本研究係依據衛生福利部公告之「健康食品安全性評估方法」探討液態發酵美味羊肚菌菌絲體經加熱及冷凍乾燥所得之凍乾粉是否對 SD 大鼠之生殖與發育具有二期毒性。本次試驗使用 80 隻懷孕 SD 大鼠，將試驗動物分成對照組（滅菌之逆滲透水）及美味羊肚菌菌絲體凍乾粉低、中、高劑量組（1,000、2,000 與 3,000 mg/kg BW/day）共四組，於妊娠期間（懷孕第 6~15 天，為胎鼠器官形成期）每日口服給予試驗物質，並於分娩前一日（懷孕第 20 天）將母鼠犧牲解剖，進行母鼠與胎鼠之檢查。試驗期間每日測定體重變化與飼料攝取量並進行懷孕母鼠死亡率與臨床觀察。結果顯示餵食各劑量之試驗組，在懷孕母鼠子宮重量、卵巢黃體數、胎鼠性別比率、著床數、存活胎鼠數、胚胎著床前與著床後之損失率與對照組相比均無統計差異。胎鼠檢查部分，包含外觀檢查、內臟與骨骼檢查，各劑量組與對照組皆無統計差異。意即試驗物質對懷孕母鼠無生殖毒性，對胚胎發育中之胎鼠亦無發育（致畸胎）之毒性。對懷孕母鼠之未觀察到不良效應的最高劑量「no-observed-adverse effect level (NOAEL)」為 3,000 mg/kg/day。

關鍵字：羊肚菌菌絲體粉、胚胎發育、NOAEL

前言

美味羊肚菌(*Morchella esculenta*)別名羊肚菜、羊肚蘑、羊肚子、陽雀菌、蜂窩蘑等，隸屬於子囊菌門(*Ascomycota*)、盤菌綱(*Pezizomycetes*)、盤菌目(*Pezizales*)、羊肚菌科(*Morchellaceae*)、羊肚菌屬(*Morchella*)。羊肚菌的分布很廣，在溫帶、熱帶與亞熱帶地區均有分布，是世界公認的一種珍貴食、藥用菌。野外羊肚菌的子囊果常具有形狀、顏色與大小的多態性(Polymorphism)，造成物種認定與鑑別的困難，因此在傳統分類上關

於羊肚菌的種類有許多的爭議^[1]。

根據真菌索引資料庫 Index Fungorum database (<http://www.indexfungorum.org/>) 最新的資料顯示羊肚菌屬中已發表高達 344 個物種。O' Donnell et al^[2] 首次利用 Genealogical Concordance Phylogenetic Species Recognition (GCPSR) 的方法，依據 RNA 聚合酶 I (RPB1)，RNA 聚合酶 II (RPB2) 的部分序列，真核延伸因子 1 α (EF1- α) 與部分核糖體 DNA 序列 LSU rDNA 等基因，分析羊肚菌屬物種間的親緣關係，將本屬物種分為三大演化支：黑羊肚菌（以高羊肚菌 *Morchella elata* Fr. 為代表）、黃羊肚菌（以美味羊肚菌 *Morchella esculenta* 為代表）與變紅羊肚菌 (*Morchella rufobrunnea*)。

*通訊地址：葡萄王生技股份有限公司
桃園市龍潭區龍園一路 68 號 陳勁初
電話：(03) 4993093 ext.5812
E-mail: gkbioeng@grapeking.com.tw

羊肚菌於《本草綱目》中就有“甘寒無毒，益腸胃，化痰利氣”的記載（李時珍 1590）。且有豐富的蛋白質和大量人體必需氨基酸，多種維生素、礦物質多醣及脂肪酸類化合物。此外，羊肚菌亦含有多種具特殊風味之胺基酸如順-3-氨基-脯氨酸、2-氨基異丁酸、2,4-三氨基異丁酸等的特殊香味物質^[3,4]，因此被廣泛用於食品中。研究顯示羊肚菌具有多種的生理活性，例如預防酒精或四氯化碳所引起的肝損傷^[5,6]、降低大鼠肺泡細胞 NR8383 因 PM2.5 所引起的發炎反應^[7]、抗氧化、美白^[8]、抗癌^[9,10]、免疫調節^[11]、降血脂^[12]及保護因順鉑和慶大霉素對小鼠的腎毒性等功能^[13]。

羊肚菌目前雖可人工栽種但礙於菌種、種植環境、與氣候干擾等因素使其產量仍受到限制，此外亦有文獻指出野外羊肚菌容易有重金屬污染的疑慮^[14]，因此利用發酵槽快速生產羊肚菌絲體，是獲取高品質羊肚菌產品的另一途徑，除了可確保生產菌種的專一性、亦可管控發酵原料的品質避免遭受農藥、重金屬、塑化劑等等的污染，但由於僅中、美及法等國有少數以發酵槽生產羊肚菌絲體作為食品或調味品之文獻紀錄可供搜尋引用^[15,16,17]，因此進行生殖與發育毒性安全性測試，以評估羊肚菌絲體凍乾品之食用安全性，進而開發更為完善之保健產品。

材料與方法

試驗物質

羊肚菌絲體(*Morchella esculenta*)凍乾粉末，源自於新鮮羊肚子實體分離並經中國科學院微生物研究所鑑定之菌種，經液態發酵後經加熱萃取及冷凍乾燥所得，而其液態發酵條件如下：

將培養於 potato dextrose agar (PDA) 平板上羊肚菌絲體，切取 1 cm² 大小菌塊接入 2 L 三角搖瓶中培養內含 1 L 培養基，培養基

配方為 2% sucrose、0.3% yeast extract、2% 黃豆粉、0.05% KH₂PO₄ 與 0.05% MgSO₄，培養溫度控制於 25°C，震盪轉速為 120 rpm 條件下培養一周後，接入 500 L 發酵槽培養 10 天後，菌絲體連同培養液體進行冷凍乾燥，並研磨成粉末、儲存在室溫備用。

試驗動物

80 隻 Sprague-Dawley (SD) 品系之雌性大鼠，每組 20 隻，共 4 組，懷孕母鼠經 3 天動物適應後，確定無異常臨床症狀後才進行實驗，飼養環境控制於溫度 22±3°C，相對溼度 55%±15%，換氣頻率 105 次/小時，光暗週期各為 12 小時，並單獨飼養於經高溫高壓之塑膠飼養飼育籠中，飼料為 MGF (Oriental Yeast Co., Ltd., Tokyo, Japan)，墊料採用 Lignocel FS-14 (J. Rettenmaier & Söhne GmbH + Co. G.K., Germany)，飲水為高溫高壓滅菌之逆滲透水。

試驗設計

本試驗依據行政院衛生福利部健康食品安全性評估方法(1999)進行，於母鼠懷孕第 6~15 天，每日管餵不同劑量之試驗物質：低劑量組 (1,000 mg/kg b.w./day)、中劑量組 (2000 mg/kg b.w./day)、高劑量組 (3000 mg/kg b.w./day) 之羊肚菌絲體粉，及對照物質 (滅菌之逆滲透水)，於母鼠懷孕期間，每日進行臨床觀察並記錄投予試驗物質後動物是否顯現任何異常臨床症狀或死亡情形，若發現動物出現瀕死或流產情形，則需進行犧牲解剖；此外每日記錄母鼠體重及飼料攝取量。並於懷孕第 20 天以二氧化碳麻醉犧牲所有存活母鼠，解剖取出子宮及胎鼠並秤重，記錄胎鼠著床數、活胎數、死胎數、再吸收胎數及個別胎鼠重量，此外採集卵巢保存於 10% 中性福馬林溶液固定後計算卵巢黃體數目，並計算著床前後損失率。

另外，檢查存活胎鼠並計算雄性/雌性胎鼠比率，檢查所有胎鼠外觀是否顯現異常或變異，每窩約一半的胎鼠，依據 Leroy M. and Jocteur-Monrozier A^[18]及 Critcheell K.^[19]的方法檢查胎鼠頭部、頸部、胸腔及腹腔中器官之構造是否異常；每窩約一半的胎鼠以 95% 酒精固定，以 KOH 處理 Alizarin red S 染色後觀察其骨骼內部形態之變化，並依據 Manson and Kang^[20]及 Christian^[21]之方法評估骨骼是否異常。

數據分析與評估

母鼠之體重、攝食量、子宮重量、胎鼠體重、黃體數、著床數、著床前後損失率、胎鼠內臟檢查及胎鼠骨骼檢查之原始實驗數據，經 SPSS 統計軟體統整後以平均值(mean)及標準差(standard deviation, SD)表示，並利用單因子變異分析(One-Way ANOVA)及 Duncan's multiple range test 分析各組別間之統計差異，並以 p 值小於 0.05 作為顯著差異水準。

結 果

菌株鑑定結果

中國科學院微生物研究所依據送檢菌種的培養特性、顯微特性及 rRNA 基因序列(圖 1. A)等實驗數據綜合分析，並經 NCBI Basic Local Alignment Search Tool 比對部分序列結果(圖 1. B)，與美味羊肚菌序列相似度達 100%，確認該菌種為美味羊肚菌(*Morchella esculenta*)。

凍乾粉對母鼠之影響

試驗期間各組母鼠經投予對照物質或試驗物質後，均未顯現任何異常臨床症狀，所有動物均存活至試驗結束，肉眼病變檢查顯示各組懷孕母鼠均無顯現任何異常之肉眼病變，在懷孕母鼠之平均體重上，試驗週期各劑量組平均體重與對照組相比均無統計差異(圖 2)；飼料攝取量方面除了中劑量組母

鼠懷孕第 9 天之平均攝食量與對照組相比較低($p < 0.05$)外，其他試驗期間，各劑量組母鼠之平均攝食量與對照組相比均無統計差異(圖 2)；懷孕母鼠之存活率與臨床觀察之結果及懷孕母鼠之子宮、卵巢及胎鼠檢查結果：子宮重量、卵巢黃體數、胎鼠重量、活胎數、死胎數、再吸收胎數胎鼠性別、著床前後損失率等相關參數(表 1)與對照組相比並無統計差異($p > 0.05$)。

凍乾粉對胎鼠之影響

胎鼠外觀檢查與內臟檢查結果，顯示對照組與各劑量組間並無統計差異，且經內臟檢查各劑量組中均無發現胎鼠腎盂擴張及輸尿管擴張等情形(表 2)。

胎鼠骨骼檢查方面每胎中取二分之一鼠胎，經酒精固定、KOH 處理及染色後進行相關檢查，其結果亦呈列於表 2，檢查結果各組骨骼發展異常發生率：胸椎椎體雙叉(1.6.6%)、第 5 胸骨鈣化不全(7.10.1%)、第 6 胸骨鈣化不全(7.92.9%)、上枕骨骨化不全(0.8%)、頂骨間骨化不全(0.8.6%)，在對照組與各劑量組間無統計差異($p < 0.05$)，亦無劑量變化趨勢，各組骨骼異常發生率亦落於正常參考範圍內或差距極微^[22,23]。

討 論

先天性異常亦稱出生缺陷、先天性疾病或先天性畸形，可定義為在宮內生命期發生並能在產前、出生或後來發現的結構性或功能性異常。根據世界衛生組織統計全球每年估計有 30.3 萬新生兒在出生後 4 週內死於先天性異常^[24]，雖然多數先天性異常不能歸咎於某一特定原因，但還是存在一些已知的起因或危險因素，包含：遺傳、孕婦飲食營養狀況、傳染或環境方面的因素。此外，多數開發中國家或已開發國家大多面臨著生育率低及少子化的問題^[25]，因此為確保孕婦食用羊肚菌菌絲體之安

全性與胎兒發育的健全，新產品開發時進行生殖與發育毒性試驗相當重要。

先前曾有學者針對羊肚菌菌絲體及子實體進行食品毒理性安全評估^[26,27]，在急性、亞急性及慢性毒性測試上均無毒副作用，屬安全性極高之食品。但由於文獻中缺乏羊肚菌菌絲體之生殖發育毒理性安全數據，因此參考衛生福利部健康食品安全性評估法(1999)進行本研究，結果顯示不同劑量組之懷孕母鼠各生殖參數與對照組相比均無統計差異；部分劑量組懷孕母鼠體重、攝食量、胎鼠體重與對照組相比有統計差異，但均於正常參考範圍內，因此不具臨床生理意義。胎鼠性別比率上由於低、中劑量分別各有一窩胎鼠

(雄/雌)性別比率異常(14:1；12:2)，導致低、中劑量組胎鼠性別比率數值偏大，但無統計差異及任何臨床生理意義，此外胎鼠外觀檢查與內臟檢查結果皆無顯著異常；骨骼檢查結果顯示，各組骨骼異常發生率亦落於正常參考範圍內或差距極微，綜合以上結果，本試驗物質「羊肚菌菌絲體粉」於本試驗設計條件下，投予3,000 mg/kg B.W./day之攝食劑量對懷孕母鼠無生殖毒性；對胚胎發育中之胎鼠亦無發育(致畸胎)之毒性，且本試驗對懷孕母鼠之未觀察到毒性的最高劑量(no observed adverse effect level, NOAEL) 為3,000 mg/kg/day，可作為後續人體使用安全性參考之依據。

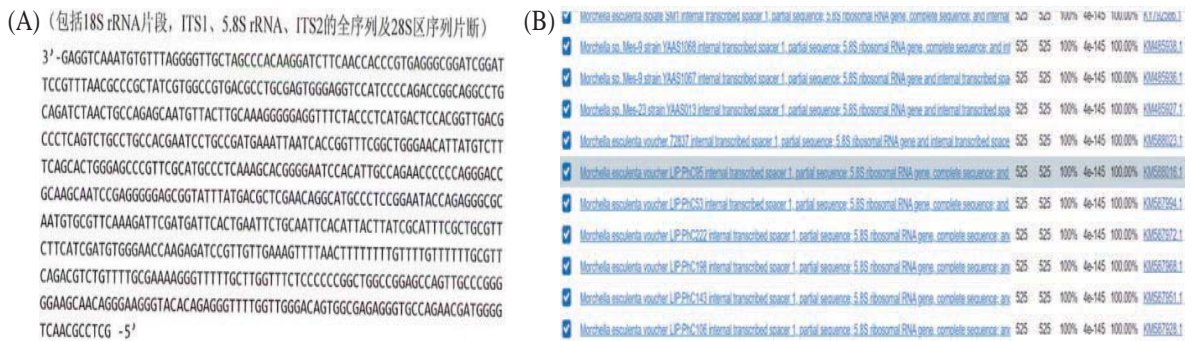


圖 1. (A)鑑定菌株之部分 rRNA 基因序列；(B)鑑定菌株之 rRNA 部分基因序列 NCBI BLAST 比對結果[(A) Partial rRNA gene sequence of *Morchella esculenta*. (B) Comparison of partial rRNA gene sequence to NCBI BLAST database.]

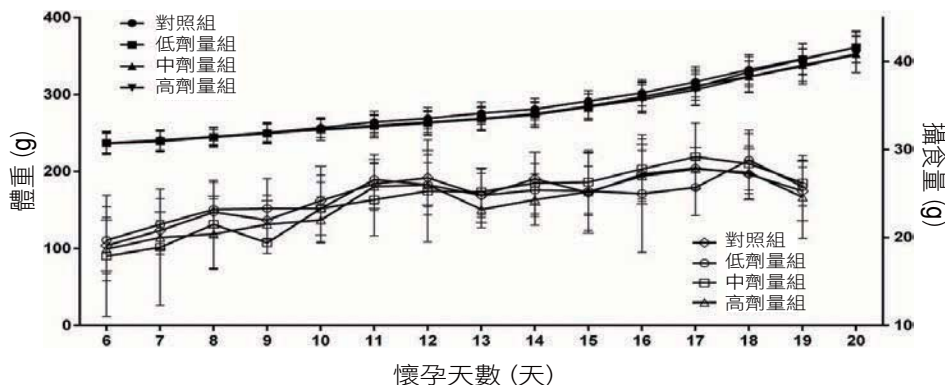


圖 2. 羊肚菌菌絲體凍乾粉在二期生殖與發育毒性測試期間之試驗大鼠平均體重變化與平均飼料消耗量之情形[Mean body weight and feed consumption of pregnant rats consuming *Morchella esculenta* mycelia powder over the test period]

表 1. 羊肚菌絲體凍乾粉在二期生殖與發育的毒性試驗期間之懷孕大鼠子宮、卵巢及胎鼠檢查結果
[Examination of the uterus, ovary and fetal rat in pregnant rats consuming *Morchella esculenta* mycelium powder]

	對照組	低劑量	中劑量	高劑量
	0 mg/kg	1,000 mg/kg	2,000 mg/kg	3,000 mg/kg
胎鼠窩數	20	20	20	20
子宮重量 (g) ^a	85.51 ± 16.84	87.51 ± 14.85	81.77 ± 8.75	81.39 ± 11.19
卵巢黃體數	13.9 ± 2.05	14.25 ± 1.830	13.65 ± 1.69	13.90 ± 2.130
胎鼠體重 (g)	4.40 ± 0.89	4.40 ± 0.68	04.28 ± 0.58	4.30 ± 0.47
胎鼠性別比例 ^b	0.87 ± 0.67	1.68 ± 2.96	1.84 ± 2.57	1.29 ± 1.17
各組胎鼠總數	267	273	261	263
各組死亡胎鼠總數	0	0	0	0
各組再吸收胎鼠總數	0	1	1	0
各組總著床數	267	274	262	263
著床數	13 ± 2	14 ± 2	13 ± 2	13 ± 2
存活胎鼠數	13 ± 2	14 ± 2	13 ± 2	13 ± 2
著床前損失率 ^c	3.73 ± 5.06	3.90 ± 5.51	3.91 ± 4.31	4.9 ± 5.40
著床後損失率 ^d	0 ± 0	0.28 ± 1.24	0.45 ± 2.03	0 ± 0

^a 數據以 Mean ± SD 表示

^b 胎鼠性別比率 = 雄性鼠胎數 ÷ 雌性鼠胎數。

^c 著床前損失(%) = (黃體數-著床數) / 黃體數 × 100。

^d 著床後損失(%) = (著床數-活胎數) / 著床數 × 100。

表 2. 羊肚菌菌絲體凍乾粉在二期生殖與發育的毒性試驗期間之胎鼠外觀、內臟與骨骼之檢查結果
[Examination of fetal rat appearance, internal organs and bones in pregnant rats consuming *Morchella esculenta* mycelium powder]

	胎鼠骨骼檢查			
	對照組	羊肚菌菌絲體粉 低劑量組	羊肚菌菌絲體粉 中劑量組	羊肚菌菌絲體粉 高劑量組
	0 mg/kg	1,000 mg/kg	2,000 mg/kg	3,000 mg/kg
外觀及內臟檢查胎鼠窩數	20	20	20	20
顯示外觀及內臟異常之胎鼠窩數	0	0	0	0
外觀檢查胎鼠數量	267	273	261	263
顯示外觀異常胎鼠數量	0	0	0	0
內臟檢查胎鼠數量	138	142	137	136
顯示內臟異常胎鼠數量	0	0	0	0
骨骼檢查胎鼠數量 (n)	129	131	124	127
骨骼變異分類				
胸椎椎體雙叉(Bifid)				
顯現變異胎鼠數量/百分比	4 / 3.1	3 / 2.3	7 / 5.6	2 / 1.6
顯現變異胎鼠窩數/百分比	4 / 20	3 / 15	5 / 25	2 / 10
第 5 胸骨鈣化不全(Unossified)				
顯現變異胎鼠數量/百分比	13 / 10.1	13 / 9.9	9 / 7.3	9 / 7.1
顯現變異胎鼠窩數/百分比	9 / 45	8 / 40	8 / 40	5 / 25
第 6 胸骨鈣化不全(Unossified)				
顯現變異胎鼠數量/百分比	16 / 12.4	11 / 8.4	16 / 12.9	10 / 7.9
顯現變異胎鼠窩數/百分比	10 / 50	4 / 20	8 / 40	6 / 30
上枕骨骨化不全(Incomplete ossification)				
顯現變異胎鼠數量/百分比	0	1 / 0.8	0	1 / 0.8
顯現變異胎鼠窩數/百分比	0	1 / 5	0	1 / 5
頂骨間骨化不全(Incomplete ossification)				
顯現變異胎鼠數量/百分比	1 / 0.8	0	2 / 1.6	0
顯現變異胎鼠窩數/百分比	1 / 5	0	2 / 10	0

參考文獻

1. Masaphy S, Zabari L, Goldberg D *et al.* The complexity of *Morchella* systematics: a case of the yellow morel from Israel. *Fungi Magazine*. 2010; 3:14-8.
2. O'Donnell K, Rooney AP, Mills GL *et al.* Phylogeny and historical biogeography of true morels (*Morchella*) reveals an early Cretaceous origin and high continental endemism and provincialism in the Holarctic. *Fungal Genet Biol*. 2011; 48:252-65.
3. 黃年來, 林志彬, 陳國良。中國食藥用菌學(下篇)。2010: ch65。上海科學技術文獻出版社。
4. Moriguchi M, Sada SI, Hatanaka SI. Isolation of *cis*-3-Amino-1-Proline from Cultured Mycelia of *Morchella esculenta* Fr. *Appl Environ Microbiol* 1979; 38:1018-9.
5. Meng B, Zhang Y, Wang Z *et al.* Hepatoprotective effects of *Morchella esculenta* against alcohol-induced acute liver injury in the C57BL/6 mouse related to Nrf-2 and NF- κ B Signaling. *Oxid Med Cell Longev* 2019;6029876
6. Nitha B, Fijesh PV, Janardhanan KK. Hepatoprotective activity of cultured mycelium of Morel mushroom, *Morchella esculenta*. *Exp Toxicol Pathol*. 2013; 65:105-12.
7. Li W, Cai ZN, Mehmood S *et al.* Anti-inflammatory effects of *Morchella esculenta* polysaccharide and its derivatives in fine particulate matter-treated NR8383 cells. *Int J Biol Macromol*. 2019; 129:904-15.
8. Park KM, Kwon KM, Lee SH. Evaluation of the antioxidant activities and tyrosinase inhibitory property from mycelium culture extracts. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2015;2015,616298.
9. Li S1, Gao A, Dong S *et al.* Purification, antitumor and immunomodulatory activity of polysaccharides from soybean residue fermented with *Morchella esculenta*. *Int J Biol Macromol* 2017; 96:26-34.
10. Hu M, Chen Y, Wang C *et al.* Induction of apoptosis in HepG2 cells by polysaccharide MEP-II from the fermentation broth of *Morchella esculenta*. *Biotechnol Lett* 2013; 35:1-10.
11. Duncan CJ, Pugh N, Pasco DS *et al.* Isolation of a galactomannan that enhances macrophage activation from the edible fungus *Morchella esculenta*. *J Agric Food Chem* 2002; 50:5683-5.
12. 明建, 曾凱芳, 趙國華等。羊肚菌水溶性多糖 PMEP-1 降血脂作用研究。食品科學 2009; 30:285-8。
13. Nitha B, Janardhanan KK. Aqueous-ethanolic extract of morel mushroom mycelium *Morchella esculenta*, protects cisplatin and gentamicin induced nephrotoxicity in mice. *Food Chem Toxicol* 2008; 46:3193-9.
14. Elinoar Shavit and Efrat Shavit. Lead and arsenic in *Morchella esculenta* fruitbodies collected in lead arsenate contaminated apple orchards in the northeastern United States: a preliminary study. *Fungi Magazine* 2010; 3:11-8.
15. 儷人牌得寶口服液。國家食品藥品監督管理總局 CFDA。(中)國食健字 G20100693。https://www.med126.com/baojian/2012/20120214230010_552249.shtml. 2010.10.22
16. Litchfield JH, Overbeck RC and Davidson S. Mushroom Culture, Factors affecting the growth of morel mushroom mycelium in submerged culture. *J Agric Food Chem* 1963; 11:158-62.
17. Szuets J. Method of growing mushroom mycelium and the resulting products. United States Patent Office. 1958: 2,850,841.
18. Leroy M, Jocteur-Monrozier A. Fetal soft tissue examinations by microdissection. *Methods Mol Biol* 2013; 947:243-53.
19. Critchell K. Fetal soft tissue examination by serial sectioning. *Methods Mol Biol* 2013; 947:233-42.
20. Manson JM, Kang YJ. Test methods for assessing female reproductive and developmental toxicology. In Hayes AW (ed.), *Principles and Methods of Toxicology*. 1994: 989-1037. 3rd ed. Raven Press, New York.
21. Christian MS. Test methods for assessing female reproductive and developmental toxicology. In Hayes AW (ed.), *Principles and Methods of Toxicology*. 2007: 1641-60. 5th ed. Raven Press, New York.
22. Ohta T, Izumi H, Kimura E *et al.* Comparison of reproductive parameters between Crj:CD (SD) and Crj:CD(SD)IGS rats (II). *Biological reference data on CD (SD)IGS-2002/2003*:135-40.
23. Ema M, Endoh K, Fukushima R *et al.* Historical control data on developmental toxicity studies in rodents. *Congenit Anom (Kyoto)* 2014; 54:150-61.
24. World Health Organization. Congenital anomalies. https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/congenital-anomalies. 2016.9.7
25. 黃財丁。由統計資料看人口老化問題。https://portal.stpi.narl.org.tw/index/article/37. 2014.9.12
26. 宋淑敏, 鄒作華, 王洪蔭等。EF-11 營養液的研製及其保健作用的試驗研究。食品科學 1996; 17:52-7。
27. 屠雅銑, 孫曉明, 張衛明等。羊肚菌食品毒理學安全性評價。中國野生植物資源 2001; 20:38-42。

No Teratogenic Effect of *Morchella esculenta* Mycelium Powder in Rats

Min-Yi Lin¹, Lynn-Huey Chiang¹, Szu-Yin Wu¹, Sing-Yi Gu², Chin-Chu Chen^{1,3-5*}

¹Bioengineering Center of Grape King Bio Ltd, Taoyuan City ; ²Super Laboratory Ltd, New Taipei City ; ³Institute of Food Science and Technology, National Taiwan University, Taipei ; ⁴Department of Food Science, Nutrition, and Nutraceutical Biotechnology, Shin Chien University, Taipei ; ⁵Department of Bioscience Technology, Chung Yuan Christian University, Taoyuan City, Taiwan

Abstract

This study was conducted to evaluate the potential adverse effects of *Morchella esculenta* mycelium powder obtained by heating and freeze-drying on pregnancy and fetal development in rats. The evaluation was conducted in accordance with the “Safety Evaluation Methods for Health Food (1999)” published by the Ministry of Health and Welfare, Taiwan. Eighty pregnant SD rats were divided into three treatment groups and a control group, each consisting of 20 pregnant rats. Rats in the treatment groups were oral administered with 1,000 mg/kg/day (low dose), 2,000 mg/kg/day (medium dose), or 3,000 mg/kg/day (high dose) of *Morchella esculenta* mycelium powder during the major embryonic organogenesis period (days 6~15). Rats in the control group were giving 10 mL/Kg/day distilled

water. All rats were examined daily for weight change, food consumption, and mortality. At the 20th day of pregnancy, rats were sacrificed and examined for fetal development. Results showed no statistical difference between treatment and control groups in uterus weight, number of corpus luteum, fetal sex ratio (M/F), litter number, and visceral and skeletal development. Therefore, the no-observable-adverse-effect level (NOAEL) of *Morchella esculenta* mycelium powder for pregnancy and embryo-fetal development in rats is considered to be 3,000 mg/kg/day.

Keywords: *Morchella esculenta* mycelium powder, fetal development, no-observable-adverse-effect level