

## บทที่ 4

### ผลการวิจัย

#### ผลการสำรวจและการระบุชนิดของเห็ดที่พบในสวนยางพารา

จากการเก็บตัวอย่างเห็ดราขนาดใหญ่ในสวนยางพารา ตำบลแสนตุง อำเภอลำปาง จังหวัด ตราด พบเห็ดจำนวน 12 ชนิด (รหัสตัวอย่าง) คือ *Trichoderma* sp. (RP1), *Daldinia eschscholtzii* (RP2), *Cookeina sulcipes* (RP3), *Cookeina garethjonesii* (RP4), *Cookeina tricholoma* (RP5), *Xylaria* sp. (RP6) (ภาพที่ 4.1), *Auricularia cornea* (NU10), *Schizophyllum commune* (SC3), *Schizophyllum umbrinum* (CN17), *Termitomyces cylindricus* (PK1), *Tremella fuciformis* (NU21) และ *Trichaleuria javanica* (PL8) (ภาพที่ 4.2)

เมื่อทำการระบุชนิดด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นและด้วยวิธีทางอนุชีววิทยา โดยทำการเพิ่มจำนวน DNA บริเวณ Internal Transcribed Spacer (ITS) แล้วทำการตรวจสอบผลผลิตจากปฏิกิริยา PCR (PCR product) ด้วยเทคนิค gel electrophoresis (ภาพที่ 4.3-4.4) จากนั้นทำให้ PCR product บริสุทธิ์แล้วนำส่งตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA sequencing) ที่บริษัท ATGC ประเทศไทย จากนั้นจะทำการตรวจสอบคุณภาพของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ โดยใช้โปรแกรม BioEdit Sequence Alignment Editor และแก้ไขลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ไม่เหมาะสมกับคู่เบสเพื่อให้เกิดความถูกต้องด้วยโปรแกรม GeneStudio Professional Edition โดยนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ถูกต้องแล้วใส่ในโปรแกรม BLAST N (Basic Local Alignment Search Tool) ในฐานข้อมูล (GenBank) ที่จัดทำขึ้นโดย National Center for Biotechnology Information หรือ NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) เพื่อตรวจสอบร้อยละความคล้ายคลึง (percent similarity) และทำการระบุชนิดของเห็ดราได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.1

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี



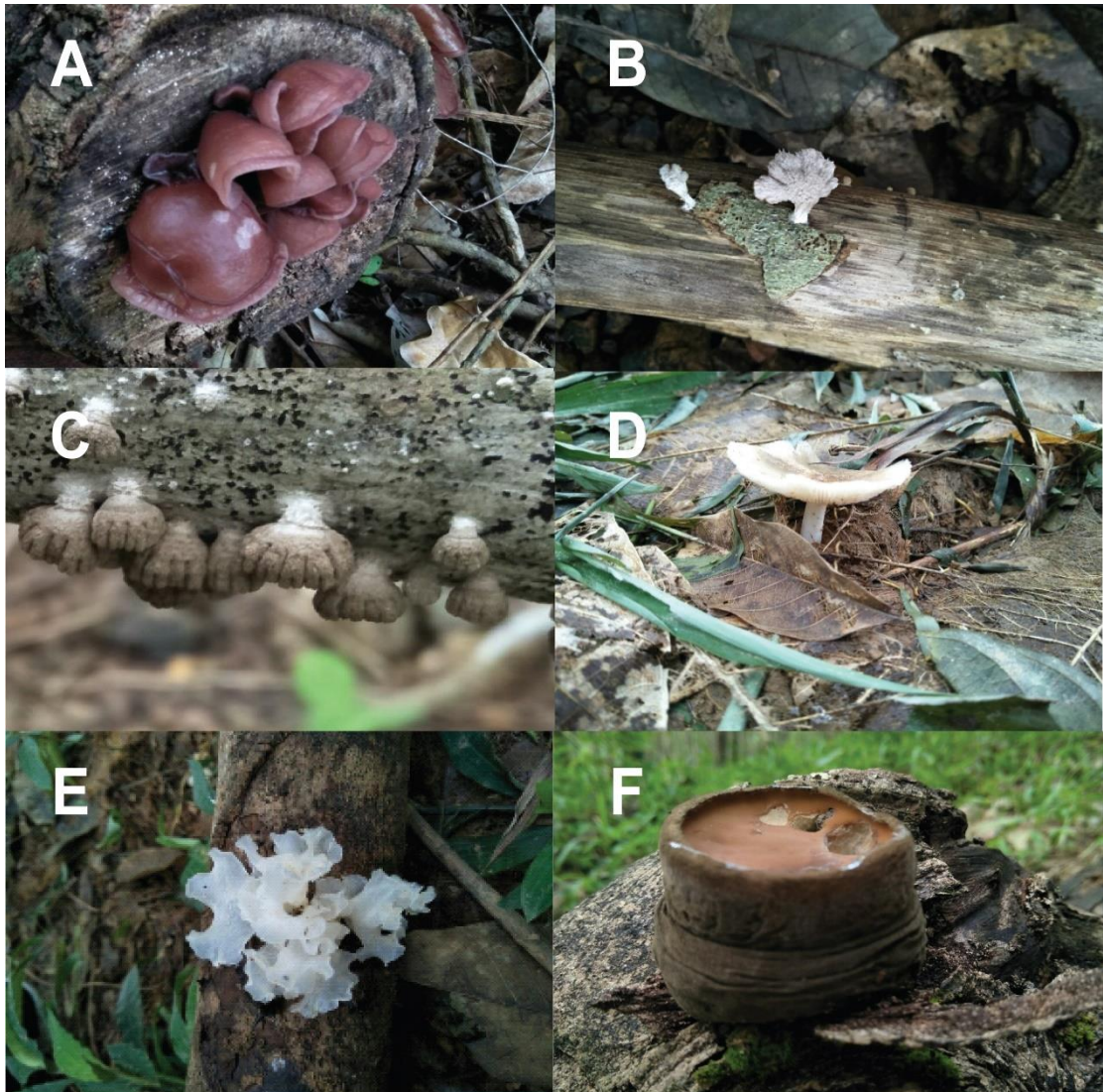
ภาพที่ 4.1 ตัวอย่างเห็ดที่พบในการศึกษารั้งนี้ (1)

A: *Trichoderma* sp. (RP1); B: *Daldinia eschscholtzii* (RP2);

C: *Cookeina sulcipes* (RP3); D: *Cookeina garethjonesii* (RP4);

E: *Cookeina tricholoma* (RP5); F: *Xylaria* sp. (RP)



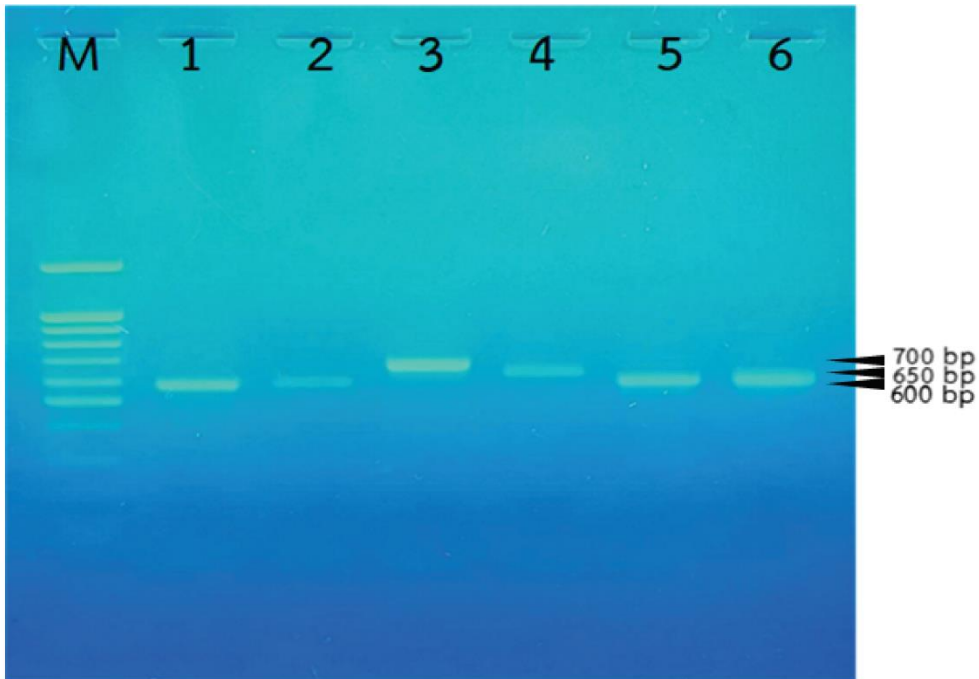


ภาพที่ 4.2 ตัวอย่างเห็ดที่พบในการศึกษารั้งนี้ (2)

A: *Auricularia cornea* (NU10); B: *Schizophyllum commune* (SC3);

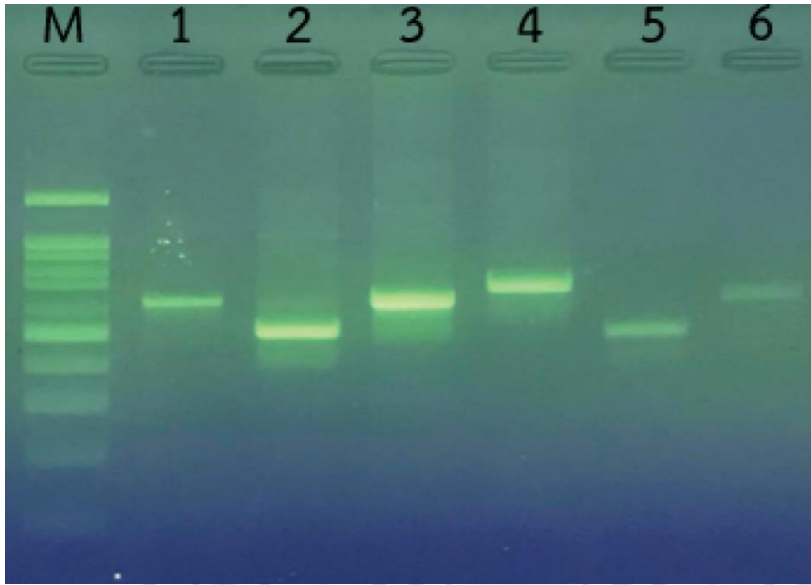
C: *Schizophyllum umbrinum* (CN17); D: *Termitomyces cylindricus* (PK1);

E: *Tremella fuciformis* (NU21); F: *Trichaleuria javanica* (PL8)



ภาพที่ 4.3 ตัวอย่างผล gel electrophoresis เพื่อตรวจสอบผลิตภัณฑ์ PCR จากการเพิ่มจำนวน DNA บริเวณ ITS ด้วยเทคนิค PCR เพื่อระบุชนิดเห็ดราด้วยวิธีทางอณูชีววิทยา (1)  
 Lane M: DNA ladder (100 bp)  
 Lane 1: *Trichoderma* sp. (RP1);  
 Lane 2: *Daldinia eschscholtzii* (RP2);  
 Lane 3: *Cookeina sulcipes* (RP3);  
 Lane 4: *Cookeina garethjonesii* (RP4);  
 Lane 5: *Cookeina tricholoma* (RP5);  
 Lane 6: *Xylaria* sp. (RP6)

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี



ภาพที่ 4.4 ตัวอย่างผล gel electrophoresis เพื่อตรวจสอบผลิตภัณฑ์ PCR จากการเพิ่มจำนวน DNA บริเวณ ITS ด้วยเทคนิค PCR เพื่อระบุชนิดเห็ดราด้วยวิธีทางอนุชีววิทยา (2)

Lane M: DNA ladder (100 bp)

Lane 1: *Schizophyllum commune* (SC3);

Lane 2: *Auricularia cornea* (NU10);

Lane 3: *Schizophyllum umbrinum* (CN17);

Lane 4: *Termitomyces cylindricus* (PK1);

Lane 5: *Tremella fuciformis* (NU21);

Lane 6: *Trichaleuria javanica* (PL8)

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ตารางที่ 4.1 ผลการ BLAST และ GenBank accession number ของตำแหน่ง ITS

| Species                         | Collection No. | Best match (Accession No.)   |                | GenBank Accession number |
|---------------------------------|----------------|--|----------------|--------------------------|
|                                 |                | ITS  | Similarity (%) |                          |
| <i>Trichoderma</i> sp.          | RP1            | <i>Trichoderma pezizoides</i><br>(DQ835513.1)  | 98.79          | MW659098                 |
| <i>Daldinia eschscholtzii</i>   | RP2            | <i>Daldinia eschscholtzii</i><br>(MN310384.1)  | 100            | MW659100                 |
| <i>Cookeina sulcipes</i>        | RP3            | <i>Cookeina sulcipes</i><br>(KY094620.1)   | 98.44          | MW659101                 |
| <i>Cookeina garethjonesii</i>   | RP4            | <i>Cookeina garethjonesii</i><br>(KY094622.1)  | 99.06          | MW680773                 |
| <i>Cookeina tricholoma</i>      | RP5            | <i>Cookeina tricholoma</i><br>(KY094619.1)   | 100            | MW680771                 |
| <i>Xylaria</i> sp.              | RP6            | <i>Xylaria terricola</i><br>(MF577038.1)   | 88.42          | MW659104                 |
| <i>Auricularia cornea</i>       | NU10           | <i>Auricularia cornea</i><br>(MT159982)  | 99.48          | MZ049564                 |
| <i>Schizophyllum commune</i>    | SC3            | <i>Schizophyllum commune</i><br>(MT466518)   | 100            | MZ061710                 |
| <i>Schizophyllum umbrinum</i>   | CN17           | <i>Schizophyllum umbrinum</i><br>(KM098067)  | 100            | MW575873                 |
| <i>Termitomyces cylindricus</i> | PK1            | <i>Termitomyces</i> sp.<br>(LC481556.1)<br><i>Termitomyces cylindricus</i><br>(MN160278) | 100            | MZ049565                 |
| <i>Tremella fuciformis</i>      | NU21           | <i>Tremella fuciformis</i><br>(MH453614)   | 100            | MZ061711                 |
| <i>Trichaleurja javanica</i>    | PL8            | <i>Trichaleurja javanica</i><br>(MG871291)   | 99.78          | MZ061709                 |



### ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเห็ดแครงสายพันธุ์สวนยาง

จากผลการระบุชนิดของเห็ดราขนาดใหญ่ที่พบในสวนยางพารา จึงได้ทำการคัดเลือกเห็ดแครง (*Schizophyllum commune*) ซึ่งเป็นเห็ดที่มีรายงานว่ากินได้ (edible mushroom) พบได้บ่อยในสวนยางพาราและยังมีสารออกฤทธิ์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย โดยเห็ดแครงมีลักษณะทั่วไปคือ ดอกเห็ดเป็นรูปพัด มีขนสีขาวหรือขาวปนเทาปกคลุมทั่ว ปลายงุ้มลงเป็นลอน แตกแขนงเป็นแฉก ขนาดเล็ก ๆ คล้ายนิ้วเท้าตุ๊กแก แยกเป็นแฉกตามยาวและม้วนงอลงขนาด 1-3 เซนติเมตร สูง 1-4 เซนติเมตร ลักษณะเนื้อมีความเหนียว ครีบกจะมีกลิ่นเหม็นเป็นรัศมีออกไปจากฐานดอก มีสีครีม ส่วนก้านจะอยู่บริเวณด้านข้างหรือเกือบไม่มีก้าน ลักษณะสปอร์รูปไข่หรือทรงกระบอกหัวท้ายมน ใสไม่มีสี (ภาพที่ 4.5)



ภาพที่ 4.5 ลักษณะดอกและลักษณะสปอร์ของเห็ดแครง (*Schizophyllum commune*)

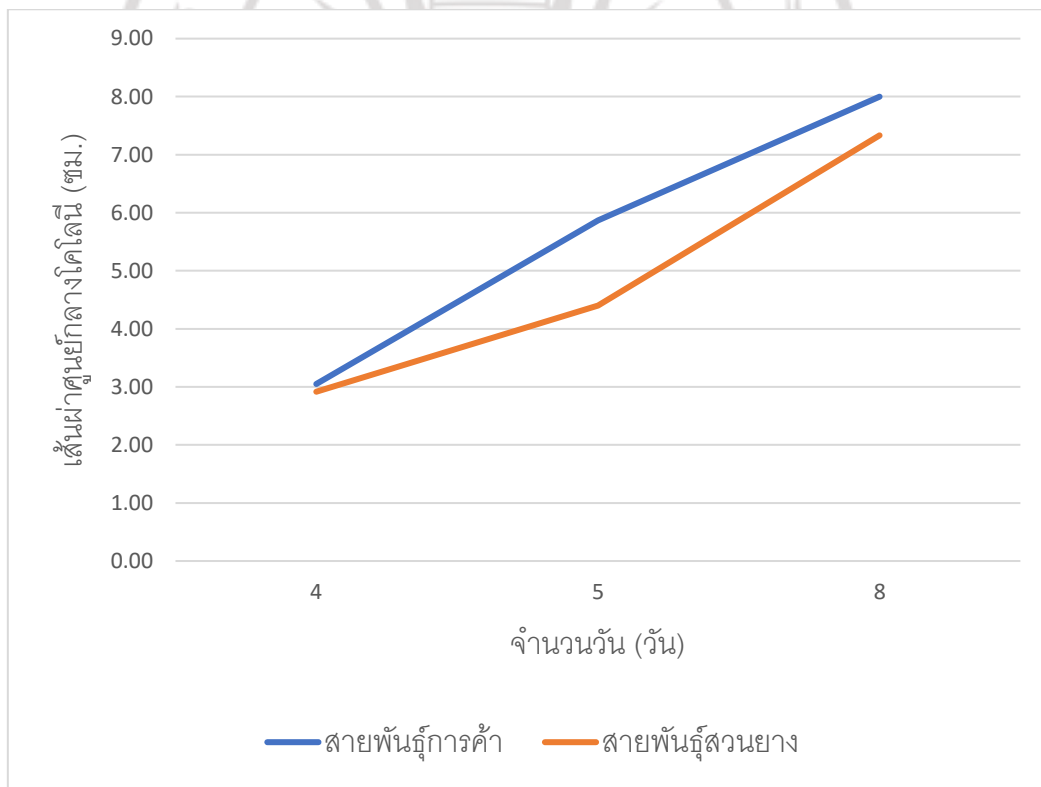
### ผลการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดแครงในระดับห้องปฏิบัติการ

#### การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดบนอาหาร PDA

เมื่อนำเส้นใยของเห็ดแครงสายพันธุ์สวนยางและเห็ดแครงสายพันธุ์ทางการค้า มาเพาะเลี้ยงบนจานอาหาร PDA แล้วทำการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี พบว่าเห็ดแครงสายพันธุ์ทางการค้ามีการเจริญเติบโตของเส้นใยได้เร็วกว่าเห็ดแครงสายพันธุ์สวนยาง โดยมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนี ดังแสดงในตารางที่ 4.2 และภาพที่ 4.6 อย่างไรก็ตามพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีลักษณะโคโลนีและลักษณะเส้นใยภายใต้กล้องดังภาพที่ 4.7

ตารางที่ 4.2 เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเส้นใยเห็ดแครงสายพันธุ์การค้าและสายพันธุ์สวนยางเมื่อเจริญบนจานอาหาร PDA

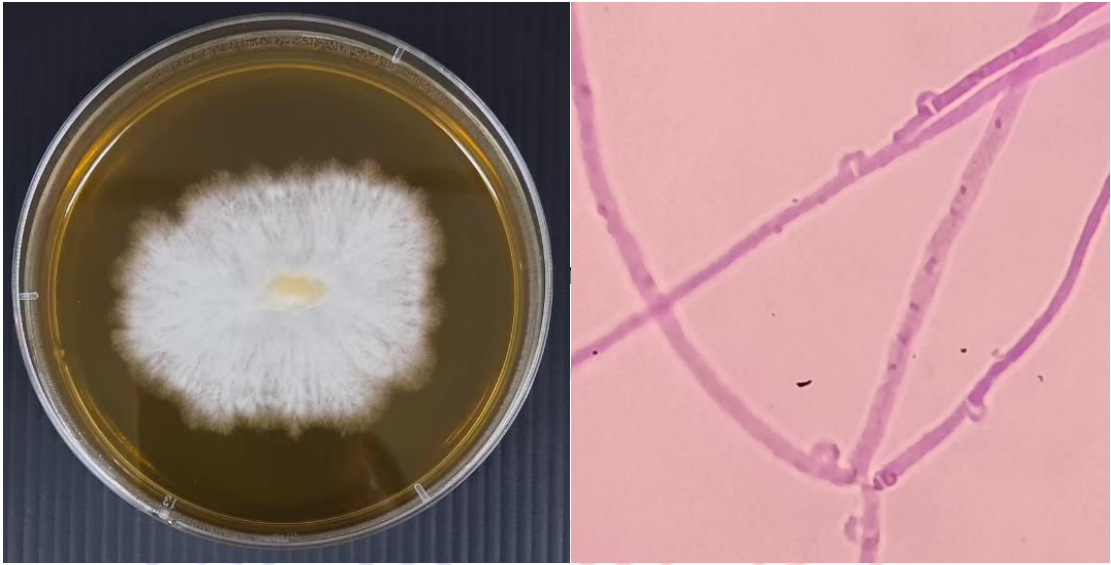
| วันที่ | ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (ซม.) |                 |
|--------|---------------------------------------|-----------------|
|        | สายพันธุ์การค้า                       | สายพันธุ์สวนยาง |
| 4      | 3.05                                  | 2.92            |
| 5      | 5.87                                  | 4.40            |
| 8      | 8.00                                  | 7.33            |



ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ภาพที่ 4.6 แผนภูมิเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเห็ดแครงสายพันธุ์การค้าและสายพันธุ์สวนยาง





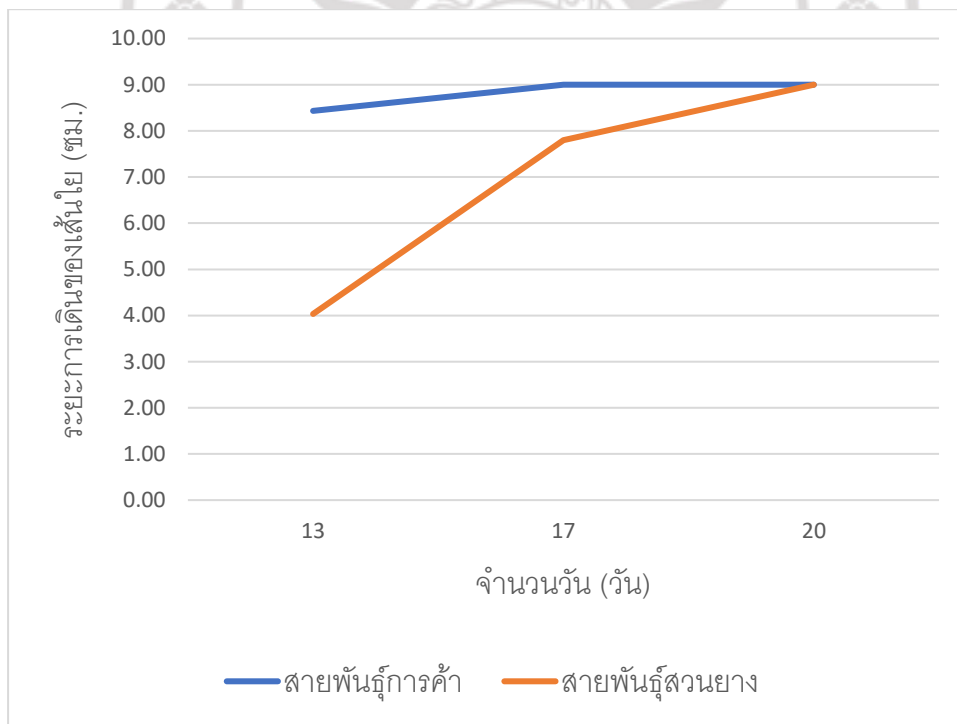
ภาพที่ 4.7 เส้นใยของเห็ดแครง (*Schizophyllum commune*) บนจานเพาะเชื้อและภายใต้กล้องจุลทรรศน์

#### การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดบนเมล็ดข้าวฟ่าง

เมื่อนำเส้นใยเห็ดบนอาหาร PDA ขนาด 0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่ลงไปกลางขวดเมล็ดข้าวฟ่างที่ปลอดเชื้อ จากนั้นวัดการเจริญของเส้นใยเห็ด โดยวัดการเดินทางของเส้นใยจากเมล็ดข้าวฟ่างด้านบนลงสู่เมล็ดข้าวฟ่างด้านล่างของขวดเพาะเลี้ยง ผลการศึกษาพบว่าในวันที่ 13 ของการบ่มเชื้อเห็ดแครงสายพันธุ์การค้ามีระยะทางการเจริญของเส้นใยบนเมล็ดข้าวฟ่างได้มากกว่าเห็ดแครงสายพันธุ์สวนยาง โดยสายพันธุ์ทางการค้าใช้ระยะเวลาในการเจริญจนเต็มขวดเมล็ดข้าวฟ่างสั้นกว่าเห็ดแครงสายพันธุ์สวนยาง (ตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.8) ซึ่งชี้ให้เห็นว่าในการขยายเชื้อด้วยเมล็ดข้าวฟ่างเห็ดแครงสายพันธุ์สวนยางเจริญเติบโตได้ช้ากว่าสายพันธุ์ทางการค้า แต่อย่างไรก็ตาม จากผลการทดลองก็แสดงให้เห็นว่าการใช้เมล็ดข้าวฟ่างในการขยายเชื้อสามารถใช้ได้กับเห็ดแครงสายพันธุ์ที่แยกได้จากสวนยางพาราในการศึกษาครั้งนี้ โดยมีลักษณะการเจริญของเส้นใยเห็ดแครงในเมล็ดข้าวฟ่างดังแสดงในภาพที่ 4.9

ตารางที่ 4.3 ระยะการเดินทางของเส้นใยเห็ดแครงสายพันธุ์การค้าและสายพันธุ์สวนยางเมื่อเจริญบน  
เมล็ดข้าวฟ่าง

| วันที่ | ค่าเฉลี่ยระยะการเดินทางของเส้นใยบน<br>เมล็ดข้าวฟ่าง (ซม.) |                 |
|--------|---|-----------------|
|        | สายพันธุ์การค้า   | สายพันธุ์สวนยาง |
|        | 13  | 8.43            |
| 17     | 9.00  | 7.80            |
| 20     | 9.00  | 9.00            |



ภาพที่ 4.8 แผนภูมิระยะการเดินทางของเส้นใยเห็ดแครงสายพันธุ์การค้าและสายพันธุ์สวนยางเมื่อเจริญบน  
เมล็ดข้าวฟ่าง



ภาพที่ 4.9 เส้นใยของเห็ดแครง (*Schizophyllum commune*) สายพันธุ์สวนยาง (แครงสวนยาง) และสายพันธุ์ทางการค้า (แครงสวนเห็ด) ที่เจริญบนเมล็ดข้าวฟ่าง

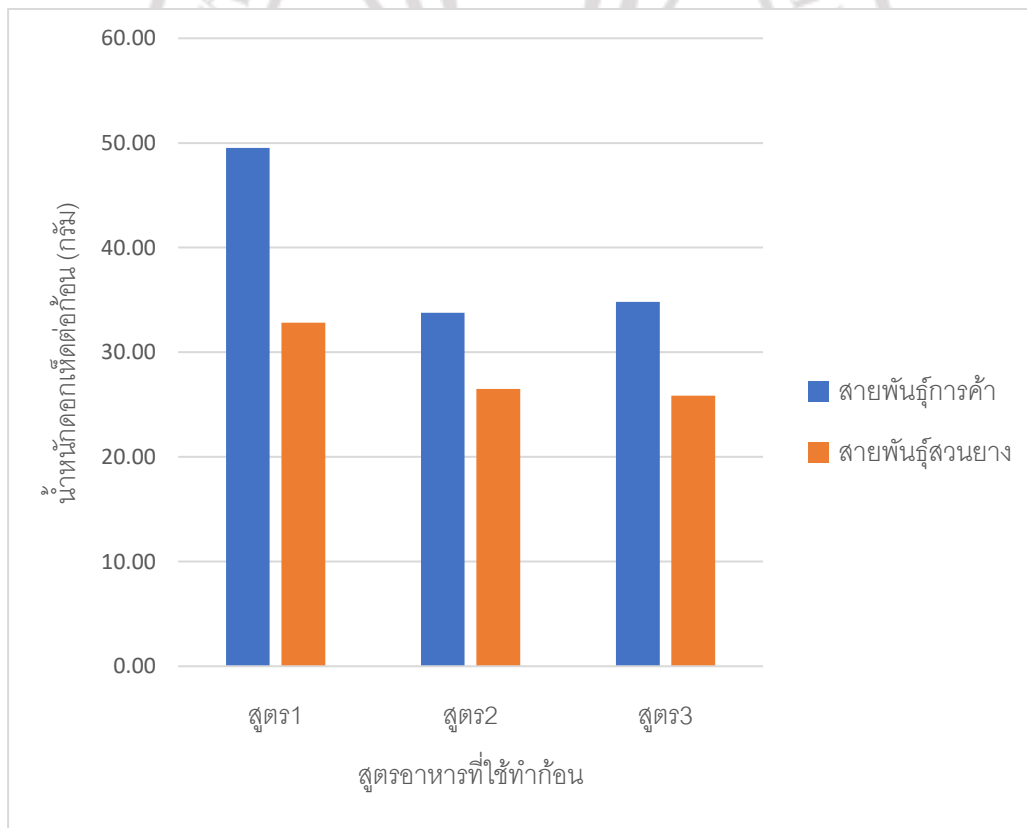
#### ผลการเพาะเห็ดแครงในระดับโรงเรือน

ทำการเก็บผลผลิตดอกเห็ดที่ได้จากก้อนเชื้อทั้งหมด 3 สูตร แล้วทำการชั่งน้ำหนักผลผลิตที่ได้ โดยมีเห็ดแครงสายพันธุ์การค้าเป็นสายพันธุ์เปรียบเทียบ พบว่าเห็ดแครงสายพันธุ์ที่แยกได้จากสวนยางพาราให้ผลผลิตได้น้อยกว่าเห็ดแครงสายพันธุ์ทางการค้าในทั้ง 3 สูตรก้อนเชื้อ โดยสูตรก้อนเชื้อสูตรที่ 1 ให้ผลผลิตดอกเห็ดมากที่สุดในทั้งสองสายพันธุ์ อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.4, ภาพที่ 4.10, 4.11) โดยพบว่ามีก้อนเห็ดบางส่วนไม่สามารถเก็บผลผลิตได้เนื่องจากการติดเชื้อราชนิดอื่นปนเปื้อน (ภาพที่ 4.12)

ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าเชื้อเห็ดแครงที่แยกได้จากสวนยางพารา ต่าบลแสนตั้งอำเภอเขาสมิง ถึงแม้จะให้ผลผลิตได้น้อยกว่าสายพันธุ์ทางการค้า แต่ก็สามารถนำมาเพาะเห็ดในระดับโรงเรือนเพื่อเก็บผลผลิตเป็นแหล่งอาหาร และยังสามารถสร้างเป็นรายได้เสริมให้กับชุมชนได้

ตารางที่ 4.4 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักดอกเห็ดต่อก้อนของเห็ดแครงสายพันธุ์การค้าและสายพันธุ์สวนยาง

| สายพันธุ์       | ค่าเฉลี่ยน้ำหนักดอกเห็ดต่อก้อน (กรัม) |             |             |
|-----------------|---------------------------------------|-------------|-------------|
|                 | สูตร 1                                | สูตร 2      | สูตร 3      |
| สายพันธุ์การค้า | 49.52 (n=8)                           | 33.77 (n=6) | 34.81 (n=4) |
| สายพันธุ์สวนยาง | 32.83 (n=7)                           | 26.49 (n=5) | 25.85 (n=4) |



ภาพที่ 4.10 แผนภูมิน้ำหนักดอกเห็ดต่อก้อนของเห็ดแครงสายพันธุ์การค้าและสายพันธุ์สวนยาง







ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี