



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การระบุชนิดของเห็ดราขนาดใหญ่ด้วยวิธีทางอณูชีววิทยาในพื้นที่สวนยางพารา

ตำบลวังตะเคียน อำเภอกาญจนดิษฐ์ จังหวัดตราด

Molecular Identification of Macrofungi in para rubber plantation,

Wang Takien, Khao Saming, Trat province

เสาวภา สุราวุธ

ชุตานา คุณสุข

ณมนรัก คำฉัตร

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก
งบกองทุนวิจัย มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี
ประจำปีงบประมาณ 2567

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การระบุชนิดของเห็ดราขนาดใหญ่ด้วยวิธีทางอนุชีววิทยาในพื้นที่สวนยางพารา

ตำบลวังตะเคียน อำเภอกาญจนดิษฐ์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี

Molecular Identification of Macrofungi in para rubber plantation,

Wang Takien, Khao Saming, Trat province

เสาวภา สุราษฎร์

ชุตานา คุณสุข

ณมนรัก คำฉัตร

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก
งบกองทุนวิจัย มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี
ประจำปีงบประมาณ 2567

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้ร่วมวิจัย นักศึกษา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี และ
สหกรณ์ตราดยางพาราจำกัด ที่สนับสนุนวัสดุอุปกรณ์และสถานที่ในการทำวิจัย ตลอดจน
ข้อเสนอแนะแนวทางในการทำวิจัยจนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี โดยงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัย
จากกองทุนวิจัย มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี ปีงบประมาณ 2567

เสาวภา สุราวุธ

กุมภาพันธ์ 2567

ชื่อเรื่อง การระบุชนิดของเห็ดราขนาดใหญ่ด้วยวิธีทางอนุชีววิทยาในพื้นที่สวนยางพารา
ตำบลวังตะเคียน อำเภอลำปลายมาศ จังหวัดบุรีรัมย์

ชื่อผู้วิจัย เสาวภา สุราษฎร์, ชุตานา คุณสุข และณมนรัก คำจันทร์

หน่วยงาน คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ปีงบประมาณ 2567

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจเห็ดราขนาดใหญ่ในพื้นที่สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอลำปลายมาศ จังหวัดบุรีรัมย์ และทำการระบุชนิดด้วยวิธีทางอนุชีววิทยา รวมทั้งศึกษาบทบาทที่มีต่อระบบนิเวศและคุณสมบัติในการรับประทาน โดยทำการสำรวจในเดือนมิถุนายน 2567 พบตัวอย่างเห็ดราขนาดใหญ่ จำนวน 34 ตัวอย่าง เมื่อทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นและคัดเลือกเห็ดราขนาดใหญ่ที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกัน จำนวน 28 ตัวอย่าง พบว่าสามารถจัดจำแนกเห็ดราขนาดใหญ่ได้เป็น 7 กลุ่ม โดยกลุ่มเห็ดครีบ (Gilled fungi) พบมากที่สุด (39.29%) จากนั้นนำตัวอย่างเห็ดรามาทำการระบุชนิดด้วยวิธีทางอนุชีววิทยา โดยใช้เทคนิค Polymerase chain reaction (PCR) ร่วมกับการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง Internal transcribed spacer (ITS) พบว่าสามารถจัดจำแนกอยู่ใน 2 ไฟลัม (Phylum), 4 ชั้น (Class), 10 อันดับ (Order), 17 วงศ์ (Family) และ 22 สกุล (Genus) โดยเห็ดราส่วนใหญ่จัดอยู่ในไฟลัม Basidiomycota (85.71%) และวงศ์ Polyporaceae พบความหลากหลายชนิดมากที่สุด (25%) ทั้งนี้มีเห็ดราขนาดใหญ่จำนวน 3 ตัวอย่าง (10.71%) ที่สามารถจัดจำแนกได้เพียงในระดับสกุล นอกจากนี้ยังพบว่าเห็ดราส่วนใหญ่มีบทบาทเป็นผู้ย่อยสลายหรือกลุ่มเห็ดกินซาก (Saprotroph) (89.28%) และพบเห็ดมีรายงานว่าสามารถรับประทานได้ จำนวน 7 ชนิด (25%) คือ เห็ดหูหนู *Auricularia cornea* (WK19), เห็ดพายทอง *Dacryopinax spathularia* (WK18), เห็ดเยื่อไผ่ *Phallus lutescens* (WK20), เห็ดจวกุ้ง *Sanguinoderma rugosum* (WK4), เห็ดแครง *Schizophyllum commune* (WK15), เห็ดปลวก *Termitomyces cylindricus* (WK12) และเห็ดจมูกหมู *Trichaleurina javanica* (WK24) โดยพบเห็ดพิษ จำนวน 1 ชนิด (3.57%) คือ *Scleroderma xanthochroum* (WK17) ซึ่งตัวอย่างเห็ดราส่วนใหญ่ (71.43%) ไม่มีข้อมูลของการรับประทาน

คำสำคัญ : เห็ดราขนาดใหญ่, การระบุชนิด, ไอทีเอส, สวนยางพารา, ตรายาง

Title Molecular Identification of Macrofungi in para rubber plantation,
Wang Takien, Khao Saming, Trat Province

Researchers Saowapha Surawut, Chutapa Kunsook and Namonrug Khamchatra

Organization Faculty of Science and Technology, Rambhai Barni Rajabhat University

Year 2024

Abstract

This research aimed to survey macrofungi in para rubber plantations, Wang Takien Subdistrict, Khao Saming District, Trat Province, identify them using molecular biology approach, to investigate their role in the ecosystem and their edibility. Thirty-four macrofungi samples were collected in June 2024. Among these samples, 28 samples with different morphological characteristics of their fruiting bodies were selected and it was found that the macrofungi could be classified into 7 groups, with the gilled fungi group being the most abundant (39.29%). Subsequently, they were identified by molecular techniques. Polymerase chain reaction (PCR) was used to amplify the Internal transcribed spacer (ITS) and nucleotide sequence analysis was performed. It was found that they could be classified into 2 phyla, 4 classes, 10 orders, 17 families, and 22 genera. Most of the macrofungi were classified in phylum Basidiomycota (85.71%) and Polyporaceae (25%). Three samples (10.71%) could be classified only at the genus level. In addition, most macrofungi played the role of decomposers or saprotrophs (89.28%). Seven species of macrofungi (25%) were reported to be edible, namely *Auricularia cornea* (WK19), *Dacryopinax spathularia* (WK18), *Phallus lutescens* (WK20), *Sanguinoderma rugosum* (WK4), *Schizophyllum commune* (WK15), *Termitomyces cylindricus* (WK12) and *Trichaleurina javanica* (WK24). Only one poisonous macrofungi (3.57%), *Scleroderma xanthochroum* (WK17) have been reported. Most of the macrofungi in this study (71.43%) did not have any information on their edibility.

Keywords : Macrofungi, Identification, ITS, Para rubber plantation, Trat

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ.....	(1)
บทคัดย่อภาษาไทย.....	(2)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	(3)
สารบัญ.....	(4)
สารบัญตาราง.....	(6)
สารบัญภาพ.....	(7)
บทที่ 1 บทนำ	1
ความเป็นมาและความสำคัญ.....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
ประโยชน์ของการวิจัย.....	3
ขอบเขตของการวิจัย.....	3
นิยามศัพท์เฉพาะ.....	3
กรอบแนวความคิดในการวิจัย.....	4
บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
ชีววิทยาของเห็ด.....	5
โครงสร้างของดอกเห็ด.....	5
บทบาทของเห็ดต่อระบบนิเวศ.....	7
วงจรชีวิตของเห็ด.....	7
การจัดจำแนกและระบุชนิดเห็ดโดยใช้ข้อมูลทางสัณฐานวิทยา.....	9
การจัดจำแนกและระบุชนิดเห็ดโดยใช้วิธีทางอณูชีววิทยา.....	12
Ribosomal RNA (rRNA).....	12
ตำแหน่ง Internal Transcribed Spacer (ITS) ในการจัดจำแนกเห็ดรา.....	13
การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR).....	14
การวิเคราะห์ผลผลิตจากปฏิกิริยา PCR ด้วยเทคนิค Gel electrophoresis.....	16
การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเทคนิค DNA sequencing.....	17

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
การวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยการ BLAST.....	18
การวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการด้วยการสร้าง Phylogenetic tree	18
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	19
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	22
สารเคมีและสารละลายที่ใช้ในการวิจัย.....	22
วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย.....	22
เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย.....	23
สถานที่ทำการทดลอง.....	24
วิธีดำเนินงานวิจัย.....	24
บทที่ 4 ผลการวิจัย	31
ผลการวิจัย.....	31
บทที่ 5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	42
สรุปผล.....	42
อภิปรายผล.....	43
ข้อเสนอแนะ.....	46
บรรณานุกรม	47
ภาคผนวก	52
ภาคผนวก ก การเตรียมสารเคมี.....	53
ภาคผนวก ข ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและข้อมูลอนุกรมวิธานของเห็ดราขนาดใหญ่ ที่สำรวจพบในพื้นที่สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด.....	56
ประวัติผู้เขียน	85

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 ส่วนประกอบในปฏิกิริยา PCR ปริมาตร 20 μ l.....	26
3.2 สภาพะการทำให้ปฏิกิริยา PCR.....	27
3.3 ส่วนประกอบในปฏิกิริยา PCR ปริมาตร 50 μ l	28
4.1 เห็ดราขนาดใหญ่ที่สำรวจพบในสวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด ข้อมูลอนุกรมวิธาน ผลการ BLASTn บทบาทที่มีต่อระบบนิเวศ และคุณสมบัติในการกินได้.....	34

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1.1 กรอบแนวความคิดในการวิจัย.....	4
2.1 ส่วนประกอบของเห็ด.....	6
2.2 วงจรชีวิตเห็ดแบบไม่ต้องผสม (Homothallic).....	8
2.3 วงจรชีวิตเห็ดแบบต้องผสม (Heterothallic)	9
2.4 บริเวณ Internal Transcribe Spacer (ITS) ที่ใช้ในการจัดจำแนกและระบุชนิดของเชื้อรา.....	14
2.5 ปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR).....	16
2.6 Agarose Gel electrophoresis.....	17
3.1 แผนที่สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด ที่ทำการสำรวจเห็ดรา ขนาดใหญ่ในการศึกษานี้.....	24
3.2 การเก็บตัวอย่างเห็ดราขนาดใหญ่ในพื้นที่สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด.....	25
3.3 ตัวอย่างผล DNA sequencing โดยโปรแกรม BioEdit.....	28
3.4 หน้าต่างโปรแกรม BLASTn.....	29
3.5 ตัวอย่างผลการ BLAST.....	29
3.6 ตัวอย่างผลการสืบค้นด้วยโปรแกรม FUNGuild.....	30
4.1 ตัวอย่างผล Gel electrophoresis เพื่อตรวจสอบ PCR product จากการเพิ่มจำนวน DNA ตำแหน่ง ITS ด้วยเทคนิค PCR เพื่อระบุชนิดเห็ดราด้วยวิธีทางอนุชีววิทยา.....	33
4.2 แผนภูมิ Phylogenetic tree จากลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง ITS ของเห็ดราขนาดใหญ่ ที่พบในพื้นที่สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด.....	39
4.3 เห็ดราขนาดใหญ่ที่มีรายงานว่ากินได้และเห็ดพิษที่สำรวจพบในสวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด.....	40

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญ

การยางแห่งประเทศไทยได้จัดให้มีการจัดทำโครงการสำรวจความหลากหลายทางชีวภาพในพื้นที่สวนป่าสหกรณ์ตราดยางพาราจำกัด จังหวัดตราด เพื่อใช้ในการเตรียมความพร้อมเพื่อการขอเข้าสู่การรับรองการจัดการป่าไม้อย่างยั่งยืนตามมาตรฐาน FSC (Forest Stewardship Council) โดยโครงการนี้เกิดจากความร่วมมือกันระหว่างการยางแห่งประเทศไทย สหกรณ์ตราดยางพาราจำกัด และคณะผู้วิจัยจากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี จังหวัดจันทบุรี เป็นการสร้างความเข้าใจและการตระหนักให้ชุมชนที่อยู่โดยรอบสวนป่าให้เห็นถึงคุณค่าและประโยชน์ของความหลากหลายทางชีวภาพในสวนป่า ส่งเสริมให้เกิดความร่วมมือในการอนุรักษ์ ป่า และเฝ้าระวังการสูญเสียความหลากหลายทางชีวภาพในพื้นที่ให้มากขึ้น ซึ่งจะ เป็นประโยชน์ต่อการจัดการระบบนิเวศภายในสวนป่าให้เกิดความยั่งยืนทั้งในปัจจุบันและสืบเนื่องต่อไปในอนาคต โดยความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตที่จะต้องดำเนินการสำรวจ ประกอบด้วย พืช สัตว์ และเห็ดราขนาดใหญ่ (Macrofungi) ซึ่งความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตเหล่านี้จะเป็นดัชนีที่บ่งชี้ถึง ความอุดมสมบูรณ์ของระบบนิเวศในพื้นที่สวนยางพารา

เห็ดเป็นเชื้อราชนิดหนึ่ง ซึ่งถูกจัดเป็นสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในอาณาจักรฟังไจ (Kingdom of Fungi) มีเซลล์แบบยูคาริโอต (Eukaryote) ไม่มีคลอโรพลาสต์ ไม่สามารถสังเคราะห์อาหารได้ด้วยตนเอง มีการสืบพันธุ์ด้วยการสร้างสปอร์ สำหรับราที่จัดว่าเป็นเห็ดนั้นจะอยู่ใน 2 ไฟลัม คือ Ascomycota และ Basidiomycota เห็ดในระยะแรกเมื่อสปอร์งอกจะมีลักษณะเป็นเส้นสาย (Hyphae) จากนั้นจะมีการพัฒนาของเส้นใยจนกระทั่งสร้างโครงสร้างขนาดใหญ่หรือที่เรียกว่า ดอกเห็ด (Macrofungi/Fruiting body/Mushroom) ที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า โครงสร้างพื้นฐานของดอกเห็ดประกอบด้วย ส่วนต่าง ๆ คือ หมวกดอก (Cap) ครีบ (Gills) ก้าน (Stalk) เยื่อหรือปลอกหุ้มโคน (Volva) วงแหวน (Ring) เส้นใย (Mycelium) สปอร์ (Spore) ซึ่งเห็ดมีบทบาทสำคัญในระบบนิเวศทำหน้าที่เป็นผู้ย่อยสลายซากพืช ซากสัตว์ เห็ดส่วนใหญ่มักมีความสามารถในการย่อยสลายลิกนิน ซึ่งเป็นส่วนประกอบที่พบมากในเนื้อไม้ เห็ดหลายชนิดสามารถนำมารับประทานได้แต่เห็ดบางชนิดก็มีสารออกฤทธิ์ที่ล่อลวงประสาท หรือเมื่อรับประทานเข้าไปแล้วอาจทำให้ถึงแก่ชีวิตได้ (ราชบัณฑิตยสถาน, 2550 : 1-9)

การจัดจำแนกและระบุชนิดเห็ดราจะต้องอาศัยข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ประกอบไปด้วยการศึกษาลักษณะของดอกเห็ดที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า เช่น ขนาด รูปร่าง สีของ

ส่วนต่าง ๆ ในโครงสร้างของดอกเห็ด หรือลักษณะรอยพิมพ์สปอร์ (Spore Print) และการศึกษา ลักษณะที่มองเห็นภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เช่น ขนาดและรูปร่างของ Basidiospore, Basidium, Ascospore และ Ascus เป็นต้น สำหรับวิธีการจัดจำแนกและระบุชนิดเห็ดราด้วยวิธีทางสัณฐานวิทยาจะต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญในการระบุชนิดของเห็ดราและใช้ระยะเวลาค่อนข้างนาน และเห็ดที่นำมาระบุชนิดจะต้องอยู่ในสภาพที่สมบูรณ์ครบถ้วน หากเห็ดที่นำมาระบุชนิดมีลักษณะไม่สมบูรณ์ จะทำให้การระบุชนิดของเห็ดอาจเกิดความผิดพลาดได้ และในบางกรณีจะไม่สามารถระบุชนิดของเห็ดได้แน่ชัดเพราะเป็นการศึกษาจากลักษณะภายนอกเพียงเท่านั้น ซึ่งเห็ดบางชนิดมีลักษณะที่คล้ายกัน การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวจึงไม่เพียงพอต่อการระบุชนิด ดังนั้น จึงได้มีการพัฒนาวิธีการระบุชนิดของเห็ดด้วยวิธีทางอณูชีววิทยา (Molecular technique) ซึ่งเป็นวิธีการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของบริเวณอนุรักษ์ (Conserved region) เช่น ยีน rRNA (Ribosomal RNA) บริเวณ ITS (Internal Transcribed Spacer), SSU (Small Subunit), LSU (Large Subunit) หรือตำแหน่งอื่น ๆ บนสาย DNA เป็นต้น (White et al., 1990: 315-322) วิธีการระบุชนิดเห็ดทางอณูชีววิทยาช่วยให้การระบุชนิดของเห็ดมีความถูกต้องแม่นยำมากยิ่งขึ้น โดยวิธีนี้จะใช้เทคนิค PCR (Polymerase Chain Reaction) เพื่อทำการเพิ่มปริมาณ DNA แล้วทำการตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยวิธีการ DNA Sequencing จากนั้นนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ไปเปรียบเทียบกับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล (Database) แต่ทั้งนี้การระบุชนิดของเห็ดรายังคงจำเป็นที่จะต้องอาศัยข้อมูลทางสัณฐานวิทยาในการพิจารณาควบคู่กับข้อมูลทางอณูชีววิทยาเสมอ

ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อระบุชนิดของเห็ดราขนาดใหญ่ในพื้นที่สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด ด้วยวิธีทางอณูชีววิทยาและเป็นข้อมูลในการเตรียมความพร้อมเข้าสู่การรับรองการจัดการป่าไม้อย่างยั่งยืนตามมาตรฐาน FSC (Forest Stewardship Council) ของสวนป่าสหกรณ์ตราดยางพาราจำกัด

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อสำรวจความหลากหลายของเห็ดราขนาดใหญ่ในพื้นที่สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด
2. เพื่อทำการระบุชนิดของเห็ดราขนาดใหญ่ในพื้นที่สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด ด้วยวิธีทางอณูชีววิทยา โดยทำการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง Internal Transcribed Spacer (ITS)

ประโยชน์ของการวิจัย

การระบุชนิดของเห็ดราขนาดใหญ่ในพื้นที่สวนยาง ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด ด้วยเทคนิคทางอณูชีววิทยาทำให้ทราบถึงความหลากหลายของเห็ดในพื้นที่ และเป็นประโยชน์ต่อการใช้ในการเตรียมความพร้อมเพื่อการขอเข้าสู่การรับรองการจัดการป่าไม้ อย่างยั่งยืนตามมาตรฐาน FSC (Forest Stewardship Council) ของสหกรณ์ตราดยางพาราจำกัด อีกทั้งการทราบชนิดของเห็ดที่มีรายงานว่ารับประทานได้สามารถนำไปศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดใน ฤๅพลาสติกเพื่อเป็นอาหารหรือเพื่อสร้างรายได้

ขอบเขตของการวิจัย

การศึกษานี้ ทำการสำรวจความหลากหลายและทำการจัดจำแนกระบุชนิดของเห็ด ในพื้นที่สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด ด้วยวิธีทางอณูชีววิทยา โดยทำการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง Internal Transcribed Spacer (ITS) และมีระยะเวลา ในการดำเนินงานวิจัยเป็นเวลา 1 ปี

นิยามศัพท์เฉพาะ

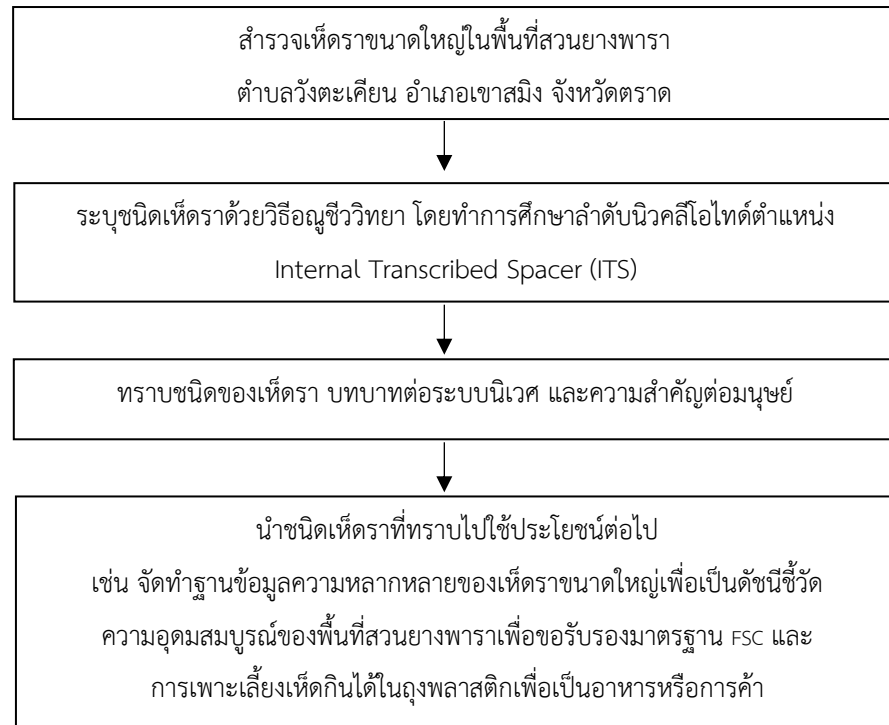
เห็ดราขนาดใหญ่ (Macrofungi) หมายถึง กลุ่มสิ่งมีชีวิตในอาณาจักรรา (Kingdom Fungi) ที่ถูกจัดอยู่ใน 2 หมวด (Phylum) คือ Ascomycota และ Basidiomycota ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีความสามารถ สร้างเส้นใยแล้วรวมตัวกันจนเป็นโครงสร้างขนาดใหญ่จนมนุษย์มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า สามารถหยิบจับ สัมผัสได้

อณูชีววิทยา (Molecular biology) หมายถึง ชีววิทยาโมเลกุล ที่เน้นศึกษาโครงสร้างและ การทำงานของยีน (Gene) ซึ่งเป็นรหัสพันธุกรรมบนสาย DNA หรือ RNA

สวนยางพารา (Para rubber plantation) หมายถึง ที่ดินที่มีการปลูกต้นยางพาราหลายไร่ ซึ่ง เป็นพืชเศรษฐกิจของไทย สามารถสร้างรายได้ให้แก่เกษตรกร

เห็ดที่มีรายงานว่ากินได้ (Edible macrofungi) หมายถึง เห็ดที่มีงานวิจัยอ้างอิงว่าสามารถ รับประทานได้ หรือมีการเผยแพร่ทั่วไปว่าสามารถรับประทานได้

กรอบแนวความคิดในการวิจัย



ภาพที่ 1.1 กรอบแนวความคิดในการวิจัย

บทที่ 2

แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ชีววิทยาของเห็ด

เห็ดจัดเป็นสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในอาณาจักรรา (Kingdom of Fungi) เนื่องจากไม่มีคลอโรพิลล์ และไม่สามารถสังเคราะห์อาหารได้ด้วยตนเอง ไม่มีระบบเส้นประสาทหรือประสาทสัมผัส ไม่มีอวัยวะสำหรับการเคลื่อนไหวโดยเฉพาะ จึงทำให้แตกต่างจากสิ่งมีชีวิตในอาณาจักรพืชและสัตว์ แต่เห็ดนั้นมีการพัฒนาจนกระทั่งสร้างโครงสร้างขนาดใหญ่ หรือที่เรียกว่า ดอกเห็ด (Fruiting body) ที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า สัมผัส และจับต้องได้ ซึ่งอาจจะอ่อนนุ่ม เปราะบาง หรือแข็งเหนียว และบริเวณใต้หมวกดอกเห็ดเป็นที่เกิดของหน่วยสืบพันธุ์ (Spore) ของเห็ด ซึ่งมีขนาดเล็กมากจนต้องตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ (สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช, 2554 : 1)

สำหรับราที่จัดว่าเป็นเห็ดนั้นจะอยู่ใน 2 ไฟลัม คือ Ascomycota และ Basidiomycota ซึ่งเห็ดใน 2 ไฟลัมนี้ แตกต่างกันในรูปแบบการสร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ คือ Ascomycota มีการสร้าง Ascospore ภายในโครงสร้างรูปร่างคล้ายถุงที่เรียกว่า Ascus ส่วน Basidiomycota มีการสร้าง Basidiospore บนโครงสร้าง ที่เรียกว่า Basidium วงชีวิตของเห็ดทุกชนิดจะมีลักษณะคล้ายกัน โดยเริ่มจากการที่สปอร์ปลิวไปตกอยู่ตามที่ต่าง ๆ และหากปลิวไปตกอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมก็จะงอกขึ้นเป็นเส้นใย (Hyphae) และกลุ่มของเส้นใย (Mycelium) จากนั้นจะรวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อนเกิดเป็นดอกเห็ด ซึ่งถ้าเห็ดเจริญเติบโตก็จะสามารถสร้างสปอร์ขึ้นใหม่และปลิวไปงอกเป็นเส้นใยได้อีก (ราชบัณฑิตยสถาน, 2550 : 1-9)

โครงสร้างของเห็ด

ดอกเห็ดทั่วไปประกอบด้วยส่วนต่าง ๆ ดังนี้

หมวกเห็ด (Cap) เป็นส่วนบนสุดของดอกที่เจริญเติบโตขึ้นไปในอากาศ เมื่อดอกบานเต็มที่จะกางออก มีลักษณะรูปทรงเหมือนร่มกาง ขอบงุ้มลงหรือแบนราบ หรือกลางหมวกเว้าลงเป็นแอ่งมีรูปเหมือนกรวยปากกว้าง ผิวหมวกเห็ดด้านบนอาจจะเรียบขรุขระ มีเกล็ดหรือมีขนแตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดของเห็ดเนื้อหมวกเห็ดหนาบางต่างกัน อาจจะเหนียวหรือฉีกขาดได้ง่าย เนื้อเยื่อของหมวกเห็ดบางชนิดอาจเปลี่ยนสีได้เมื่อถูกอากาศ

ครีบ (Gill) หรือซี่หมวกเห็ด เรียงเป็นรัศมีรอบก้านดอกด้านล่างของหมวกเห็ด เห็ดแต่ละชนิดจะมีจำนวนครีบหมวกแตกต่างกันและความหนาบางไม่เท่ากัน จำนวนของครีบหมวกจึงใช้เป็น

ลักษณะประกอบการจำแนกเห็ดด้วย สีของครีบหมวกส่วนมากจะเป็นสีเดียวกับสปอร์ของเห็ด ซึ่งจัดเป็นลักษณะแตกต่างของเห็ดแต่ละชนิดด้วย

ก้านดอก (Stipe) มีขนาดใหญ่และยาวแตกต่างกัน ส่วนมากเป็นรูปทรงกระบอก ตอนบนยึดติดกับหมวกเห็ดหรือครีบหมวกด้านใน ก้านดอกเห็ดมีผิวเรียบขรุขระหรือมีขน หรือมีเกล็ด

สปอร์ (Basidiospore) สปอร์จะสร้างจากครีบดอก สปอร์มีขนาดเล็กมาก อาจมีสีหรือไม่มีสี มีรูปร่างแตกต่างกันไป ทำหน้าที่เป็นอวัยวะสืบพันธุ์คล้ายเมล็ดพืช

วงแหวน (Ring) เป็นเนื้อเยื่อบาง ๆ ยึดก้านดอกและขอบหมวกของเห็ดให้ติดกัน เมื่อหมวกเห็ดกางออกเยื่อจึงจะขาดจากขอบหมวก แต่ยังมีเศษส่วนที่ยึดติดกับก้านดอกให้เห็นรอบก้านดอกเหมือนมีวงแหวน หรือแผ่นเยื่อบางส่วนอยู่

เยื่อหุ้มดอกเห็ด (Volva) อยู่ด้านล่างของโคนก้านดอก เป็นเนื้อเยื่อหุ้มดอกเห็ดขณะยังตูม มีลักษณะคล้ายถ้วยหยาบรองดอกเห็ด พบในเห็ดฟางและเห็ดสกุลอะมานิตา (*Amanita*)

กลุ่มเส้นใย (Mycelium) บริเวณที่ดอกเห็ดจะขึ้นจะปรากฏเส้นใยสีขาวขึ้นอยู่ก่อน เส้นใยนี้จะก่อตัวกันเป็นก้อนใหญ่ เห็ดบางชนิดจะมีเส้นใยรวมตัวกันเป็นก้อนแข็งอยู่ที่โคนก้านดอกหรือเป็นเส้นหยาบ มองเห็นด้วยตาเปล่า แต่เห็ดบางชนิดมีเส้นใยละเอียดเล็กมาก มองไม่เห็นลักษณะดังกล่าว โดยปกติเส้นใยของเห็ดจะเป็นสีขาวนวลแทรกซึมอยู่ตามที่เป็นบริเวณที่จะเกิดดอกเห็ด (ภาพที่ 2.1) (ราชบัณฑิตยสถาน, 2550 : 6-8)



ภาพที่ 2.1 ส่วนประกอบของเห็ด

ที่มา : (สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช, 2554 : 5)

บทบาทของเห็ดต่อระบบนิเวศ

เนื่องจากเห็ดเป็นสิ่งมีชีวิตที่ไม่สามารถสังเคราะห์อาหารเองได้ จึงต้องอาศัยอาหารจากสิ่งมีชีวิตอื่นอยู่เพื่อการเจริญเติบโต ดังนั้นถ้าพิจารณาสิ่งที่ให้อาหารแก่เห็ดจะสามารถบอกถึงบทบาทและหน้าที่ต่อระบบนิเวศของเห็ดได้ ดังนี้

1. เห็ดที่ขึ้นอยู่บนซากพืชและมูลสัตว์ เรียกว่าเห็ดผู้ย่อยสลายอินทรีย์วัตถุ (Saprophytic Mushroom) เห็ดพวกนี้ทำหน้าที่ย่อยสลายซากเหล่านั้นโดยการปล่อยเอนไซม์ (Enzyme) ออกไปย่อยเนื้อไม้ ทำให้เนื้อไม้ค่อย ๆ ผุพังและกลายเป็นแร่ธาตุกลับคืนลงสู่ดิน บางส่วนของแร่ธาตุจะถูกเส้นใยของเห็ดดูดไปใช้ เห็ดกลุ่มนี้พบได้บ่อยเพราะมีจำนวนมาก มีทั้งที่อ่อนนุ่ม เหนียว แข็ง และพบได้ตลอดทั้งปี โดยเฉพาะบริเวณที่มีความชื้นสูง

2. เห็ดที่ขึ้นโดยตรงจากดิน เห็ดกลุ่มนี้สามารถแบ่งตามชนิดของสิ่งมีชีวิตที่สัมพันธ์ด้วยได้ 2 กลุ่ม ดังนี้

2.1 เห็ดที่อยู่ร่วมกับรากของพืชที่เจริญอยู่ใกล้ ๆ ในแบบพึ่งพาอาศัยกัน (Symbiosis mushroom) หรือที่เรียกว่า เห็ดเอคโตไมคอร์ไรซา (Ectomycorrhizal mushroom) โดยเส้นใยบางส่วนของเห็ดเข้าไปเจริญอยู่ภายในรากพืช ส่วนเส้นใยที่กระจายอยู่ในดินจะพันรอบ ๆ รากพืช ทำหน้าที่ช่วยดูดแร่ธาตุและน้ำในดินส่งผ่านไปให้ต้นพืช เห็ดเอคโตไมคอร์ไรซา นี้ ยังช่วยให้พืชเจริญเติบโตได้ดียิ่งขึ้น มีความต้านทานต่อโรคที่จะเกิดกับราก และทนทานต่อความแห้งแล้งได้มากขึ้นอีกด้วย เห็ดในกลุ่มนี้พบมากในป่าที่มีไม้วงศ์ยาง (Dipterocarpaceae) วงศ์ก่อ (Fagaceae) และวงศ์สนเขา (Pinaceae)

2.2 เห็ดโคนเห็ดปลวก (Termite mushroom) เห็ดในกลุ่มนี้การเจริญของเส้นใยที่รวมตัวเกิดเป็นดอกเห็ด จำเป็นต้องมีสารบางชนิดที่ปลวกสร้างขึ้นจึงจะเกิดเป็นโครงสร้างดอกเห็ดอย่างที่เราเห็นได้ ดอกเห็ดจะขึ้นโดยตรงจากดินและเมื่อขุดดูจะพบว่ามีโครงสร้างคล้าย ๆ รากของดอกเห็ดหรือที่เรียกว่า รากเทียม (Pseudorhiza) ปรากฏอยู่ที่ปลายรากสุดของรากเทียมนี้ จะขึ้นตรงจากรังปลวก (Termite nest) ชนิดของปลวกและชนิดของเห็ดมักมีความสัมพันธ์กันในระดับหนึ่ง

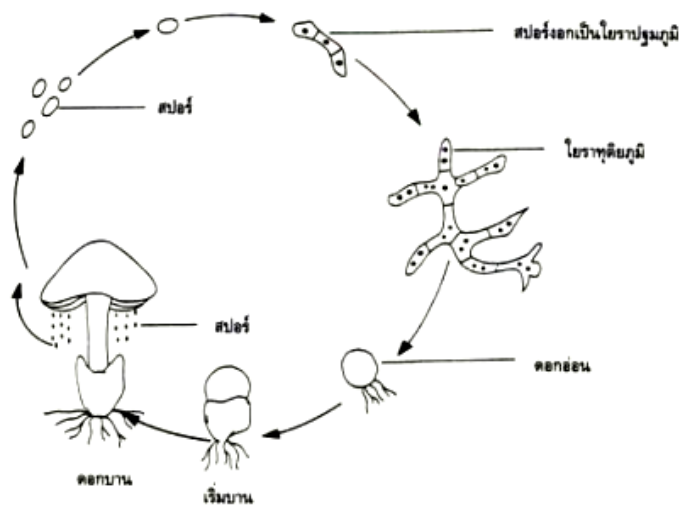
3. เห็ดที่ขึ้นอยู่ตามลำต้น กิ่ง และก้านของต้นไม้ บนตัวหนอน หรือส่วนต่าง ๆ ของแมลง เรียกว่าเห็ดปรสิต (Parasitic mushroom) เห็ดประเภทนี้จะเข้าไปแย่งน้ำและอาหาร ทำให้เซลล์และเนื้อเยื่อของสิ่งที่เห็ดขึ้นอยู่ค่อย ๆ ตายลงไป จากจุดเล็ก ๆ แล้วค่อยขยายออกไปจนพืชทั้งต้นหรือแมลงทั้งตัวถึงตาย (สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช, 2554 : 2-3)

วงจรชีวิตของเห็ด

วงจรชีวิตของเห็ดเริ่มจากการงอกของสปอร์เห็ด ซึ่งถูกสร้างขึ้นได้หมวกของดอกเห็ดและใช้ในการขยายพันธุ์ของเห็ดรา สปอร์จะแบ่งออกเป็นสปอร์แบบไม่มีเพศ (Asexual spore) และสปอร์แบบ

มีเพศ (Sexual spore) เรียกเชื้อราที่มีโครงสร้างการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศว่า อะนามอร์ฟ (Anamorphs) และเรียกโครงสร้างแบบมีเพศว่า เทเลมอร์ฟ (Teleomorphs) ดอกเห็ดที่พบเห็นส่วนมากจะแพร่พันธุ์ด้วยสปอร์แบบมีเพศแทบทั้งสิ้น เรียกว่า เบสิดิโอสปอร์ (Basidiospore) เห็ดดอกหนึ่งสามารถสร้างสปอร์ได้จำนวนมากนับล้าน ๆ สปอร์ สปอร์จะปลิวไปตามลม เมื่อสปอร์ปลิวไปตกบริเวณที่มีสภาพแวดล้อมเหมาะสม สปอร์จะงอกเป็นเส้นใย เส้นใยเหล่านี้จะรวมตัวกันมากขึ้นและพัฒนาเป็นดอกเห็ด เห็ดมีวงจรชีวิตแยกออกได้เป็น 2 แบบ (ราชบัณฑิตยสถาน, 2550 : 3-4)

1. วงจรชีวิตเห็ดแบบไม่ต้องผสม (Homothallic) วงจรชีวิตเห็ดที่เริ่มจากสปอร์แบบนี้ แต่ละสปอร์ สามารถเจริญเป็นดอกเห็ดจนครบวงจรชีวิตได้เอง เริ่มต้นด้วยแต่ละสปอร์จะงอกเป็นเส้นใย เรียกว่า เส้นใยระยะที่ 1 จะมีจำนวนนิวเคลียสเพียง 1 นิวเคลียสในแต่ละเซลล์ เมื่อเส้นใยระยะที่ 1 เจริญอยู่ระยะหนึ่งก็จะมีการพัฒนาตัวเองให้กลายเป็นเส้นใยระยะที่ 2 ซึ่งมีนิวเคลียส 2 นิวเคลียสในแต่ละเซลล์ เส้นใยระยะที่ 2 นี้เองที่จะรวมกันเป็นกลุ่มก้อนเล็ก ๆ แล้วค่อย ๆ เจริญเติบโตจนเป็นดอกเห็ดที่สามารถสร้างสปอร์ได้อีก สปอร์ของดอกเห็ดแต่ละสปอร์ก็จะสามารถเจริญเป็นดอกเห็ดต่อไปอีกหมุนเวียนเป็นวงจรดังกล่าวมาแล้ว (ภาพที่ 2.2)

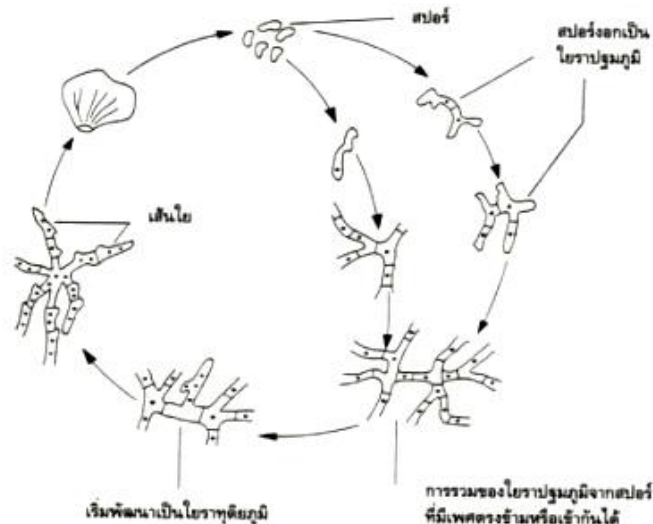


ภาพที่ 2.2 วงจรชีวิตเห็ดแบบไม่ต้องผสม (Homothallic)

ที่มา : (ราชบัณฑิตยสถาน, 2550 : 4)

2. วงจรชีวิตเห็ดแบบต้องผสม (Heterothallic) เห็ดบางชนิดสร้างสปอร์แตกต่างจากแบบแรก คือแต่ละสปอร์ไม่สามารถเจริญเป็นดอกเห็ดคงเจริญเป็นได้เฉพาะเส้นใย ซึ่งเราเรียกว่า เส้นใยหมั่น ก็คือเส้นใยระยะที่ 1 ซึ่งไม่สามารถพัฒนาตัวเองให้เป็นเส้นใยระยะที่ 2 การเกิดเส้นใย

ระยะที่ 2 จึงต้องอาศัยการผสมเส้นใยที่เจริญเป็นเส้นใยในระยะที่ 1 การผสมเส้นใยจะเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อเส้นใยระยะที่ 1 ที่จะมาผสมกันนั้นจะต้องเป็นเส้นใยจากสปอร์อื่นที่จะรวมเข้ากันได้เท่านั้น (Compatible) เมื่อเส้นใยทั้งสองรวมกันแล้วก็จะมีการพัฒนาเส้นใยเป็นเส้นใยระยะที่ 2 ซึ่งจะเจริญเติบโตรวมเป็นกลุ่มก้อนดอกเห็ดต่อไป (ภาพที่ 2.3)



ภาพที่ 2.3 วงจรชีวิตเห็ดแบบต้องผสม (Heterothallic)

ที่มา : (ราชบัณฑิตยสถาน, 2550 : 4)

การจัดจำแนกและระบุชนิดเห็ดโดยใช้ข้อมูลทางสัณฐานวิทยา

การวินิจฉัยชนิดเห็ดต้องใช้ลักษณะของดอกเห็ดที่มองเห็นด้วยตาเปล่า (Macroscopic Features) และลักษณะที่มองเห็นด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Microscopic Features) ประกอบกัน ซึ่งในที่นี้จะกล่าวถึงแต่วิธีการวินิจฉัยลักษณะของดอกเห็ดที่มองเห็นด้วยตาเปล่าเท่านั้น

การบันทึกลักษณะของดอกเห็ดที่มองเห็นด้วยตาเปล่า (Macrostructure) ในการบันทึกลักษณะภายนอกของดอกเห็ดอย่างคร่าว ๆ จะต้องบันทึกข้อมูลในขณะที่ดอกเห็ดยังสดอยู่ เพื่อใช้ประกอบการวินิจฉัยชนิด ดังนี้ (สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช, 2554 : 8-19)

1. ขนาด การวัดขนาดเป็นสิ่งสำคัญที่ต้องบันทึกขณะดอกเห็ดยังสดอยู่ ควรวัดขนาดความกว้าง ความยาว และความสูงของหมวกเห็ด ก้านดอก ปลอกก้านดอก วงแหวน และลักษณะสำคัญอื่น ๆ การวัดขนาดนิยมนัดในหน่วยของมิลลิเมตร หรือเซนติเมตร

2. สี สีของดอกเห็ดมีได้ทุกสีตั้งแต่สีขาวถึงสีแดง แต่สีที่พบบ่อยอยู่ในโทนสีเหลืองถึงสีน้ำตาล การอธิบายสีของดอกเห็ดมักแตกต่างกันไปแล้วแต่บุคคล ดังนั้นควรมีตารางเทียบสีมาตรฐาน

จะบันทึกได้ถูกต้อง สีของดอกเห็ดอาจเปลี่ยนแปลงได้ตามอายุ และสภาพแวดล้อมจึงควรบันทึกทั้งสีของดอกอ่อน และดอกแก่

3. การทำรอยพิมพ์สปอร์ (Spore print) นิยมทำเฉพาะเห็ดโคน (Agarics) เพื่อดูสีของสปอร์ หลังเก็บดอกเห็ดจากในป่า ซึ่งควรเป็นดอกเห็ดที่โตเต็มที่และยังสดอยู่ นำมาตัดดอกเห็ดเอาเฉพาะหมวกเห็ด (Cap, Pileus) วางคว่ำลงบนกระดาษสีขาวหรือกระดาษที่ข้างหนึ่งเป็นสีดำและอีกข้างหนึ่งเป็นสีขาว (ถ้าไม่มีอาจใช้กระดาษหนังสือพิมพ์แทนได้) เมื่อกลับถึงที่พักให้รีบทำรอยพิมพ์สปอร์ทันที ภาชนะครอบเห็ดทิ้งไว้ระยะหนึ่งประมาณ 2-3 ชั่วโมงถึง 1 คืน แล้วแต่ชนิดเห็ด เมื่อเปิดภาชนะครอบออก ย้ายหมวกเห็ดออกจากกระดาษพิมพ์สปอร์ จะเห็นสีของสปอร์ที่หล่นติดกับกระดาษพิมพ์สีของรอยพิมพ์สปอร์แบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มสีขาวหรือสีอ่อน ได้แก่ สีขาว สีครีม สีเหลืองอ่อนจนถึงสีเหลืองและเขียวอ่อน

กลุ่มสีชมพูอ่อน จนถึงชมพูแก่ และน้ำตาลอมชมพู

กลุ่มสีน้ำตาลปนเหลือง จนถึงสีน้ำตาล และสีน้ำตาลปนแดง หรือสีสนิมเหล็ก

กลุ่มสีน้ำตาลปนม่วง จนถึงสีน้ำตาลปนสีช็อคโกแลต

และกลุ่มสีเทาจนถึงสีดำ

เก็บรอยพิมพ์สปอร์ไว้บันทึกเลขที่ให้ตรงกับตัวอย่างดอกเห็ดที่เก็บ เพื่อนำไปใช้เป็นข้อมูลตรวจพิสูจน์ชนิดเห็ดตามหลักอนุกรมวิธาน (Taxonomy) ต่อไป

4. การเปลี่ยนสี (Color Changes) เนื้อเยื่อบางชนิดของเห็ดโคน (Agarics) เมื่อถูกทำให้เกิดแผล หรือใช้ใบมีดตัดจะเปลี่ยนสีเมื่อทำปฏิกิริยากับอากาศ โดยตัดให้เป็นรอยแผลบริเวณหมวก ครีบ (Gill) ก้านดอก หรือส่วนอื่น ๆ การเกิดยางไหล (Exudation) จากหมวกเห็ด เมื่อดอกเห็ดฉีกขาดหรือมีรอยขีดบริเวณครีบอาจมีของเหลวหรือน้ำยาง (Latex) ไหลออกมา น้ำยางอาจไม่มีสี มีสีขาว หรือสีอื่น ๆ ซึ่งลักษณะนี้จะใช้ในการตรวจพิสูจน์ชนิดเห็ดในสกุล *Lactarius* ได้

5. หมวก (Cap, Pileus) หมวกเห็ดเป็นโครงสร้างที่เกิดของสปอร์ อาจมีลักษณะด้าน (Dull) เหนียวเมื่อชื้น (Viscid) หรือคล้ายมีกาวหุ้ม (Elutinous) เป็นต้น อาจเปลี่ยนสีหรือไม่เปลี่ยนสีเมื่อแห้งก็ได้ นอกจากนี้ยังมีลักษณะสำคัญอื่น ๆ อีก เช่น รูปร่าง ลักษณะยอด รูปร่างของขอบหมวกที่ผ่าครึ่งตามความยาว และผิวของขอบหมวก วัดขนาดความกว้าง ความยาว และค่าเฉลี่ย บันทึกรายละเอียดทั้งหมด ซึ่งข้อมูลเหล่านี้เป็นข้อมูลสำคัญที่ใช้ในการจัดจำแนกชนิดเห็ดทั้งสิ้น

6. เนื้อดอกเห็ด (Texture) เห็ดโคน (Agarics) มักจะชุ่มด้วยความชื้นค่อนข้างสูงจนมีลักษณะคล้ายฟองน้ำ เปราะ เหนียว เบา หนัก เนื้อดอกเห็ดสีขาว เป็นต้น

7. เนื้อใน (Flesh) เมื่อใช้มีดผ่าหรือตัดจนเห็นเนื้อด้านใน ให้สังเกต สี การเปลี่ยนสี ความหนาวยาละเอียด กลิ่น รสชาติ เป็นต้น ควรวัดความหนาบริเวณตรงกลางหมวกและใกล้ขอบหมวกด้วย

8. ครีบและรูพรุน (Gills, Pores หรือ Tubes) ครีบเป็นแหล่งกำเนิดสปอร์ที่อยู่ด้านล่างของหมวก ต้องทำการบันทึกลักษณะการติดของครีบกับก้าน การเรียงตัวและระยะห่างระหว่างครีบ อาจถี่หรือห่าง ความหนา ลึก จำนวนรู หรือครีบต่อมิลลิเมตรหรือเซนติเมตร เป็นต้น ขอบของครีบอาจมีสีที่ผิดปกติ มักมาจากการมีและไม่มีของเซลล์ที่เป็นหมันหรือซิสติเดีย (Cystidia) ลักษณะอื่น ๆ ของครีบที่ควรบันทึกได้แก่ ผิวหน้าของครีบ (Gill face) ลักษณะครีบที่บริเวณขอบหมวก ซึ่งอาจพบว่าบางครีบเจริญจากขอบหมวกแต่ไม่ได้เจริญไปจนถึงก้าน ครีบแบบนี้เรียกว่าครีบย่อย (Lamellulae) ถ้าพบว่าครีบแตกแขนงเป็น 2 เส้นที่บริเวณใกล้ขอบ เรียกว่า Bifurcate ถ้าการแตกแขนงของครีบมีการแตกแขนงซ้ำ กล่าวคือแต่ละแขนงที่แตกออกไปนั้นแยกออกเป็น 2 แขนงที่มีความยาวเท่ากันอีก การแตกแขนงของครีบนั้นเรียกว่า Dichotomous หรือ Dichotomously branched ถ้าระหว่างครีบมีครีบหรือสันเชื่อมระหว่างกันจนทำให้เห็นว่ามีลักษณะเป็นร่างแห เรียกครีบนั้นว่า Anastomosing

9. ก้าน (Stipe หรือ Stalk) เป็นส่วนที่ชูให้หมวกเห็ดยกสูงขึ้น เพื่อให้สะดวกแก่การปล่อยสปอร์ แต่เห็ดบางชนิดที่มีลักษณะเป็นหึ่งอาจไม่มีก้าน บันทึกลักษณะการติดของก้านกับหมวก รูปร่าง สี ผิวของก้าน ลักษณะของเนื้อใน การปรากฏวงแหวน (Ring หรือ Annulus) หรือถ้วย (Volva หรือ Cup) เป็นต้น วัดขนาดความกว้าง ความยาว และค่าเฉลี่ย

10. หนังกุ้มดอกเห็ด (Veil) คือเนื้อเยื่อชั้นส่วนของเนื้อเยื่อหุ้มดอกเห็ด การสร้างห่วง (Ring หรือ Annulus) ที่ก้านดอก สูงหรือต่ำ ปลอกที่ฐานก้านดอกฝังดินอยู่ต้องใช้มีดขุดอย่าให้ขาดชำรุดเสียหายโดยเฉพาะเห็ดในสกุล *Amanita* และ *Agaricus*

11. กลิ่นและรสชาติ (Odor หรือ Taste) เช่น ลักษณะกลิ่นหอมชวนรับประทาน กลิ่นเหม็น สะอิดสะเอียน ขม เผื่อน จืด หวาน ฝาด ฯลฯ

12. กลุ่มเส้นใย (Mycelium) เห็ดอาจมีการสร้างรากเทียม (Rhizomorphs) หรือก้อนเส้นใยแข็ง (Sclerotium) เป็นต้น

13. นิสัยในการเจริญ (Growth habit) นิสัยในการเจริญของเห็ดบอกถึงจำนวนของดอกเห็ดชนิดหนึ่งที่พบในพื้นที่แห่งหนึ่งได้ นิสัยดังกล่าวแบ่งออกเป็น 5 แบบ คือ เจริญอยู่เดี่ยว ๆ (Solitary) เจริญเป็นกลุ่มแต่ละกลุ่มห่างกัน 1-2 ฟุต (Scattered) เจริญอยู่ใกล้ ๆ กัน (Gregarious) และเจริญเป็นกระจุก (Caespitose) โดยบางชนิดที่โคนของกระจุกมีก้านเชื่อมติดกันแล้วจึงแยกออกทางปลายก้าน (Connate)

14. การติดของดอกเห็ดกับสิ่งที่เห็ดเจริญอยู่ (Fruiting body attachment) โดยปกติดอกเห็ดมักติดกับสิ่งที่มันเจริญอยู่โดยก้านซึ่งเรียกว่าแบบ Stipitate แต่มีเห็ดหลายชนิดที่มีการยึดติดแบบอื่น เช่น มีลักษณะของก้านที่ไม่ชัดเจนหรือเรียกว่าก้านเทียม (Pseudostipe หรือ Substipitate)

หมวกเห็ดไม่มีก้านติดกับสิ่งที่เห็ดขึ้นโดยตรงเรียกว่า Sessile ดอกเห็ดขึ้นซ้อนทับกันเป็นชั้น ๆ (Imbricate) เป็นต้น (สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช, 2554 : 8-19)

การจัดจำแนกและระบุชนิดเห็ดโดยใช้วิธีทางอนุชีววิทยา

นอกจากการระบุชนิดของเห็ดด้วยวิธีทางสัณฐานวิทยา ปัจจุบันได้มีวิธีที่สามารถระบุชนิดของเห็ดได้คือวิธีทางอนุชีววิทยา (Molecular techniques) ซึ่งวิธีนี้สามารถช่วยให้การระบุชนิดของเห็ดมีความถูกต้องและแม่นยำมากขึ้น โดยใช้ระยะเวลาที่รวดเร็วมากกว่าและก่อให้เกิดความผิดพลาดได้น้อยกว่าวิธีทางสัณฐานวิทยาซึ่งเป็นการระบุชนิดของเห็ดโดยศึกษาเพียงลักษณะภายนอกเท่านั้น ผู้ศึกษาจึงจำเป็นต้องมีความเชี่ยวชาญในการระบุชนิดของเห็ด และวิธีนี้ยังใช้ระยะเวลานานกว่าจะสามารถระบุชนิดของเห็ดในระดับสปีชีส์ได้ อีกทั้งตัวอย่างของเห็ดที่นำมาศึกษาต้องทำการรักษาสภาพให้มีความสมบูรณ์เพื่อที่จะใช้ศึกษา จึงทำให้ในบางครั้งตัวอย่างที่จัดเก็บไว้เกิดความเสียหาย จึงทำให้เกิดความผิดพลาดในการระบุชนิดเห็ดได้ จึงได้มีการพัฒนาวิธีการระบุชนิดของเห็ดด้วยวิธีทางอนุชีววิทยา เพื่อให้สามารถระบุชนิดของเห็ดได้อย่างรวดเร็วและมีความถูกต้องแม่นยำยิ่งขึ้น โดยใช้เทคนิค PCR (Polymerase Chain Reaction) ซึ่งเป็นเทคนิคที่เพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมหรือที่เรียกว่า ดีเอ็นเอ (DNA) โดยเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและได้ดีเอ็นเอสายใหม่ให้มีปริมาณเป็นล้านเท่าด้วยระยะเวลาอันสั้น ซึ่งเป็นการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของ rRNA (Ribosomal RNA) โดยการระบุชนิดของเห็ดตำแหน่งที่นิยมใช้จัดจำแนกเห็ดรา คือบริเวณ Internal Transcribe Spacer (ITS) แต่ภายหลังพบว่าการใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ (Nucleotide) ในตำแหน่ง ITS เพียงตำแหน่งเดียวไม่สามารถจัดจำแนกเห็ดราบางชนิดได้ จึงได้มีการเพิ่มการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ Small subunit (SSU), Large subunit (LSU) The Second-Largest subunit of RNA polymerase II (Rpb2) หรือ The translation Elongation Factor-1 alpha (TEF-1 alpha) เป็นต้น เพื่อเพิ่มความสามารถในการจัดจำแนกเห็ดราบางชนิดให้ถูกต้องมากยิ่งขึ้น โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ของบริเวณต่าง ๆ ที่ได้รับจากวิธี DNA sequencing จะถูกนำไปเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล NCBIและฐานข้อมูล BOLD Systems ทำให้สามารถระบุชนิดของเห็ดได้โดยวิเคราะห์จากร้อยละความคล้ายคลึง (% Identity) (Raja et al., 2017 : 756-770)

Ribosomal RNA (rRNA)

โดยทั่วไปโมเลกุลของ rRNA ประกอบรวมอยู่กับโปรตีนแล้วเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่เรียกว่า ไรโบโซม (Ribosome) ซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการแปลรหัส (มหาวิทยาลัยนเรศวร, 2568)

ยูคาริโอต (Eukaryote) สามารถแบ่งโมเลกุลของ rRNA ได้เป็น 4 ชนิด คือ

1. 28S rRNA มีขนาดประมาณ 4,718 นิวคลีโอไทด์ ซึ่งเป็นองค์ประกอบหน่วยย่อยขนาดใหญ่ของไรโบโซม ขนาด 60S
2. 18S rRNA มีขนาดประมาณ 1,874 นิวคลีโอไทด์ ซึ่งเป็นองค์ประกอบหน่วยย่อยขนาดเล็กของไรโบโซม ขนาด 40S
3. 5.8S rRNA มีขนาดประมาณ 160 นิวคลีโอไทด์ ซึ่งเป็นองค์ประกอบหน่วยย่อยขนาดใหญ่ของไรโบโซม ขนาด 60S
4. 5S rRNA มีขนาดประมาณ 120 นิวคลีโอไทด์ ซึ่งเป็นองค์ประกอบหน่วยย่อยขนาดใหญ่ของไรโบโซม ขนาด 60S

ไรโบโซมของยูคาริโอตมีขนาด 80S ซึ่งประกอบด้วยหน่วยย่อย 2 หน่วย คือ

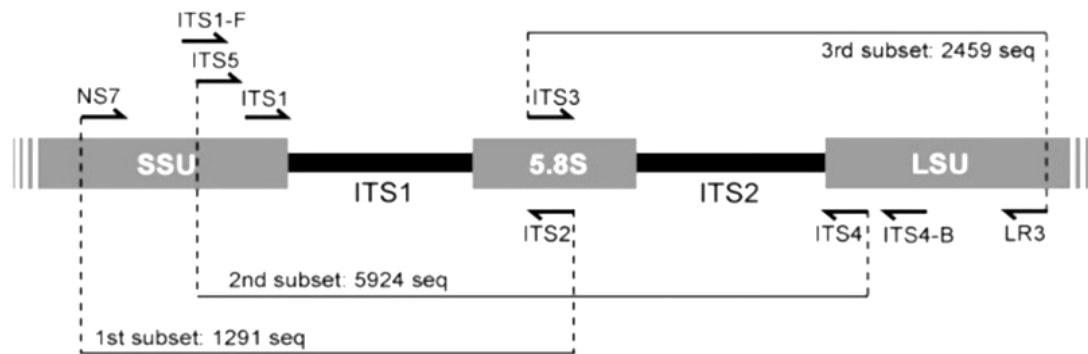
1. Large Subunit (60S) ประกอบด้วย 28S rRNA + 5.8S rRNA + 5S rRNA + protein 45 ชนิด
2. Small Subunit (40S) ประกอบด้วย 18S rRNA + protein 23 ชนิด (มหาวิทยาลัยนเรศวร, 2568)

ตำแหน่ง Internal Transcribed Spacer (ITS) ในการจัดจำแนกเห็ดรา

บริเวณ ITS เป็นบริเวณที่นิยมนำมาใช้ในการจัดจำแนกชนิดของรา เนื่องจากเป็นบริเวณลำดับเบสที่สามารถพบได้ในราทุกชนิด ตำแหน่งของไพรเมอร์ที่ใช้ในการศึกษาส่วนใหญ่จะอยู่บริเวณ ITS1 ซึ่งอยู่ระหว่าง 18 rRNA กับ 5.8S rRNA และ ITS2 อยู่ระหว่าง 5.8S rRNA กับ 28S rRNA โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง ITS (ITS1+ITS2) มีขนาดแตกต่างกันในราแต่ละชนิด ซึ่งจะมีขนาดอยู่ในช่วงประมาณ 500 - 900 คู่เบส บริเวณ ITS เป็นบริเวณที่ลำดับนิวคลีโอไทด์มีการอนุรักษ์ลำดับเบสไว้มาก ในขณะที่พบความผันแปรของตำแหน่ง ITS ระหว่างสปีชีส์ค่อนข้างมาก แต่มีการอนุรักษ์ในกลุ่มสปีชีส์เดียวกันสูง อีกทั้งจำนวนชุด rRNA จำนวนมากทำให้สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ง่าย ถึงแม้จะมีดีเอ็นเอแม่แบบปริมาณเล็กน้อย ซึ่งเหมาะสำหรับการจัดจำแนกความแตกต่างของราในระดับสปีชีส์ (White et al., 1990 : 315-322)

การจัดจำแนกเชื้อราด้วยวิธีทางอณูชีววิทยา นิยมทำการเพิ่มจำนวนบริเวณ Internal Transcribed Spacer (ITS) ด้วยเทคนิค PCR หรือเรียกว่า ITS-PCR โดยใช้ไพรเมอร์ประกอบด้วย ITS1F และ ITS4 จากนั้นจึงนำลำดับนิวคลีโอไทด์มาทำการเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราในฐานข้อมูล ซึ่งร้อยละความคล้ายคลึง (%Identity หรือ %Similarity) ที่สูงสามารถบ่งชี้ได้ว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของราที่คัดเลือกได้น่าจะเป็นราชนิดใด เมื่อพิจารณาความละเอียดในการระบุชนิดของราแล้วจะเห็นได้ว่าวิธี ITS-PCR สามารถแยกความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์หรือภายใน

สายพันธุ์เดียวกันได้ อย่างไรก็ตาม วิธีนี้ควรมีการศึกษาทางสัณฐานวิทยาร่วมด้วยเสมอ (White et al., 1990 : 315-322)



ภาพที่ 2.4 บริเวณ Internal Transcribe Spacer (ITS) ที่ใช้ในการจัดจำแนกและระบุชนิดของเชื้อรา

ที่มา : (Bellermain et al., 2010 : 189)

การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR)

Polymerase Chain Reaction (PCR) เป็นเทคนิคในการเพิ่มจำนวนยีนหรือชิ้นส่วน DNA ที่สนใจในหลอดทดลองแบบซ้ำ ๆ กันหลาย ๆ รอบ (Repeated cycles) โดยอาศัยหลักการ DNA Replication และอาศัยการทำงานของเอนไซม์ Polymerase ที่มีคุณสมบัติทนความร้อน

องค์ประกอบในการทำ PCR

1. Template หรือ DNA ตั้งต้น
2. Primers เป็นโอลิโกนิวคลีโอไทด์ (Oligonucleotides) สายสั้น ๆ จะเป็นตัวเริ่มต้นของการสร้าง DNA สายใหม่ในบริเวณช่วง DNA template หรือยีนที่เราต้องการ โดย Primers ที่ใช้ในปฏิกิริยา PCR ทั้งหมดจะมี 2 เส้นคือ Forward primer และ Reverse primer โดย Primers ที่ดีจะต้องมีค่า T_m ของทั้งสองเส้นเท่ากันหรือใกล้เคียงกัน
3. Thermostable DNA polymerase เป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการสร้างสาย DNA เส้นใหม่ หรือ PCR product ในตำแหน่งยีนที่ต้องการ
4. Deoxynucleotide triphosphate (dNTPs) ประกอบด้วย dATP, dTTP, dCTP และ dGTP ซึ่งเป็นนิวคลีโอไทด์ A, T, C, G ที่จะใช้ในการสร้าง PCR product สายใหม่
5. PCR Buffer จะช่วยให้ปฏิกิริยา PCR เกิดได้อย่างมีประสิทธิภาพโดย Buffer จะสอดคล้องกับชนิดของ DNA Polymerase ที่ใช้ ซึ่งปกติ Buffer จะถูกเตรียมเป็นความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของที่

ใช้จริง (10X) ซึ่งผู้ให้จะต้องใส่ 1 ใน 10 ของปริมาตรรวมในปฏิกิริยา PCR เพื่อให้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 1X

น้ำที่ใช้ในการทำ PCR ก็มีความสำคัญเช่นกัน ควรใช้น้ำที่ปราศจาก DNase หรือ RNase และ ไม่มีการปนเปื้อน โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากเชื้อแบคทีเรียที่อาจมี Enzyme nuclease ที่ทำลาย DNA template และ Primers รวมถึงรบกวนปฏิกิริยา PCR ด้วย

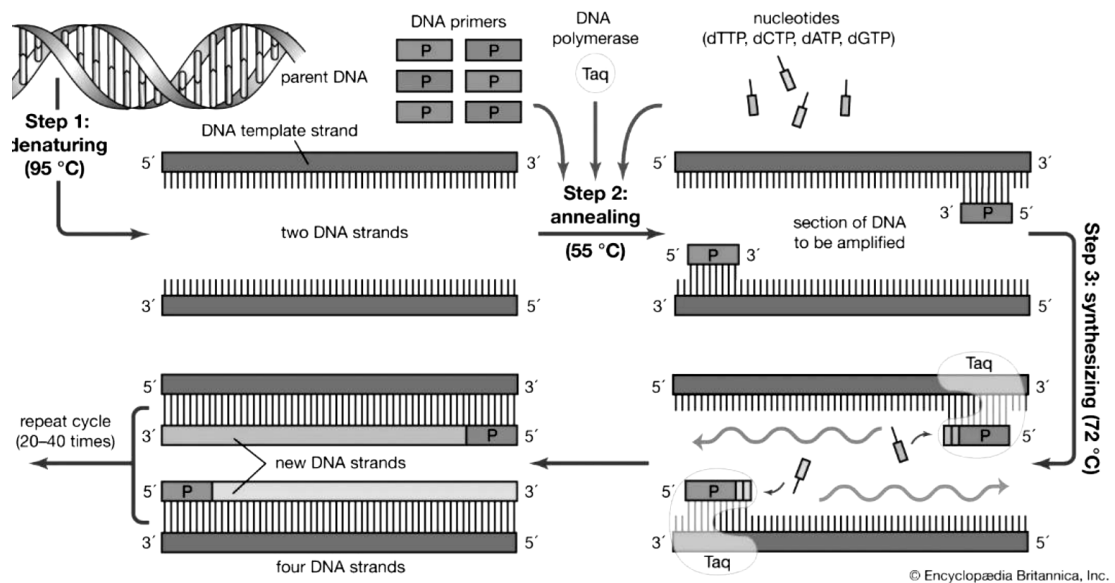
หลักการ Polymerase Chain Reaction (PCR)

1. Denaturation step เป็นขั้นตอนแยกสาย DNA template สายคู่ให้เป็นสายเดี่ยวโดยใช้ อุณหภูมิสูงประมาณ 90 - 95 องศาเซลเซียส

2. Annealing step เป็นขั้นตอนที่ลดอุณหภูมิลงเพื่อให้ Primers ในปฏิกิริยา PCR เข้าจับกับ DNA template ในตำแหน่งที่จำเพาะเพื่อเตรียมที่จะสร้าง PCR product ใหม่ ขั้นตอนนี้จะใช้ อุณหภูมิในช่วงประมาณ 50-55 องศา เซลเซียส

3. Extension step เป็นขั้นตอนการสร้าง DNA สายใหม่โดยเริ่มจากจุดเริ่มต้นของ Primers ใน DNA template แต่ละข้างโดยการนำ dNTPs ต่าง ๆ มาต่อกันในลักษณะที่คู่สมกับ DNA template ซึ่งอาศัยการทำงานของเอนไซม์ DNA polymerase โดยจะต้องใช้อุณหภูมิให้เหมาะสม กับการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ ตัวอย่างเช่นการใช้ *Taq* DNA polymerase จะใช้อุณหภูมิในช่วง ที่เหมาะสมคือ 70-75 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิที่นิยมใช้คือ 72 องศาเซลเซียส

ในช่วงต้นของปฏิกิริยา PCR (ก่อนจะเข้าสู่ Denaturation step) จะมีการเพิ่มอุณหภูมิให้ เท่ากับอุณหภูมิของขั้นตอน Denaturation หรือสูงกว่าเล็กน้อย (ไม่เกิน 95 องศาเซลเซียส) เป็น ระยะเวลาอย่างน้อย 3-5 นาที (เรียกว่า Pre Denaturation step) นอกจากนั้น ในช่วงท้ายของการ ทำ PCR เมื่อครบจำนวนรอบ (Cycle) ที่ต้องการแล้ว (ปกติจะอยู่ไม่เกิน 45 รอบ) จะมีการตั้งค่า อีกอุณหภูมิหนึ่งที่เรียกว่า Final extension ซึ่งจะใช้อุณหภูมิในช่วง Extension เป็นเวลา 5-15 นาที เพื่อให้มั่นใจว่าปฏิกิริยาในการสร้างสาย DNA ในแต่ละเส้นของทั้ง Forward และ Reverse primers ทำได้สมบูรณ์ รวมถึงเพื่อเพิ่มความเสถียรของ PCR product ใหม่ที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นมา (White et al., 1990 : 315-322)



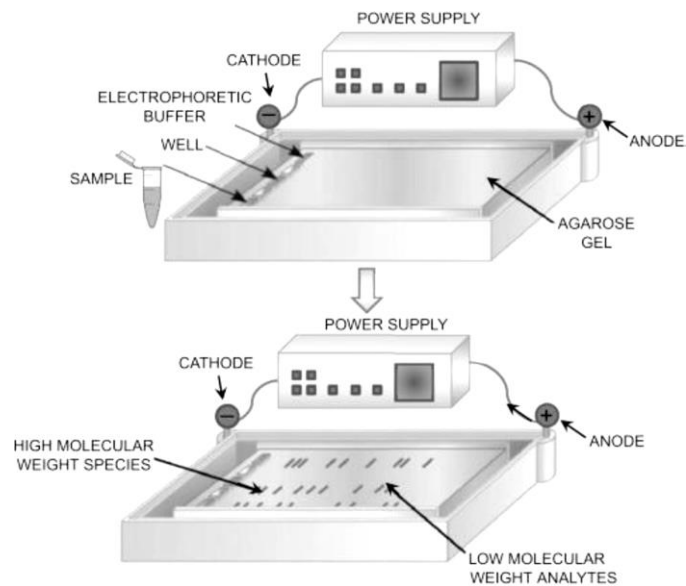
ภาพที่ 2.5 ปฏิกริยา Polymerase Chain Reaction (PCR)

ที่มา : (Encyclopaedia, 2024)

การวิเคราะห์ผลผลิตจากปฏิกริยา PCR ด้วยเทคนิค Gel Electrophoresis

DNA ที่สกัดได้จากตัวอย่าง หรือที่ได้จากผลผลิตจากปฏิกริยา PCR ในหลอดทดลองจะไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ ดังนั้น เพื่อตรวจหาดีเอ็นเอผลผลิตจะต้องนำตัวอย่างที่ทำ PCR (PCR product) มาวิเคราะห์ โดยใช้เทคนิคที่เรียกว่า Electrophoresis เป็นการแยก DNA ด้วยกระแสไฟฟ้าบนแผ่นวุ้น (Agarose gel) โดยระยะทางที่ DNA สามารถเคลื่อนที่ไปได้จะขึ้นอยู่กับขนาดและรูปร่างของ DNA รวมถึงกระแสไฟฟ้าที่ใช้ DNA ที่แยกโดยวิธีนี้สามารถมองเห็นได้เมื่อย้อมด้วยสีพิเศษ ซึ่งจะเรืองแสงเมื่อเจอกับแสงอัลตราไวโอเล็ต (Ultra Violet, UV) ซึ่งจะเห็นแถบดีเอ็นเอเรืองแสงบนแผ่นเจล

เทคนิค Electrophoresis เป็นเทคนิคที่ใช้แยกโมเลกุลของสารที่มีประจุออกจากกันโดยใช้กระแสไฟฟ้า โดยให้สารที่มีประจุนั้นเคลื่อนที่ผ่านตัวกลางชนิดหนึ่งในสารละลาย สารที่ประจุต่างกันจะเคลื่อนที่ไปในทิศทางตรงกันข้าม นอกจากประจุแล้วอัตราการเคลื่อนที่ก็ยังขึ้นอยู่กับขนาด รูปร่าง โมเลกุล แรงเคลื่อนไฟฟ้าและตัวกลางที่ใช้ด้วย โมเลกุลของดีเอ็นเอประกอบด้วยหมู่ฟอสเฟตจำนวนมาก สารละลายของดีเอ็นเอจึงมีประจุเป็นลบ เมื่ออยู่ในสนามไฟฟ้าโมเลกุลของ DNA จะเคลื่อนที่จากขั้วลบไปยังขั้วบวก โมเลกุลของดีเอ็นเอขนาดเล็กจะเคลื่อนที่ได้เร็วกว่าโมเลกุล DNA ขนาดใหญ่ ดีเอ็นเอที่แยกโดยวิธีนี้สามารถมองเห็นได้เมื่อย้อมด้วยย้อมด้วย RedSafe ซึ่งจะเรืองแสงเมื่อเจอกับแสงอัลตราไวโอเล็ต (Ultra Violet, UV) (Drabik, Kulakowska & Silberring, 2013 : 115-143)



ภาพที่ 2.6 Agarose gel electrophoresis

ที่มา : (Drabik, Kulakowska & Silberring, 2013 : 115-143)

การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเทคนิค DNA sequencing

เทคนิค DNA sequencing เป็นการตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์หรือลำดับเบสของดีเอ็นเอ ตัวอย่าง ซึ่งได้จากการนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Automated DNA sequencing ซึ่งเครื่อง จะทำการรายงานลำดับเบสออกมา เทคนิคหลักที่นิยมใช้ในการหาลำดับ DNA (Sequencing) คือ Chain termination method หรือ อีกชื่อคือ Sanger sequencing

ในปฏิกิริยาประกอบด้วย

1. DNA ต้นแบบที่มีการเพิ่มจำนวนในบริเวณที่ต้องการศึกษาหาลำดับนิวคลีโอไทด์
2. ไพร์เมอร์ 1 เส้นเป็น Forward primer หรือ Reverse primer
3. เอนไซม์ DNA Polymerase
4. สาร Deoxyribonucleotide triphosphates (dNTPs) 4 ชนิด ได้แก่ dATP, dTTP, dGTP และ dCTP
5. สาร Dideoxynucleotide triphosphates (ddNTPs) 4 ชนิด ได้แก่ ddA, ddC, ddG และ ddT

เทคนิคนี้อาศัยการใช้ Dideoxynucleotide triphosphates (ddNTPs) เป็นตัวหยุดการสังเคราะห์สาย DNA โดยแบ่งปฏิกิริยาการสังเคราะห์ DNA เป็น 4 หลอด ในแต่ละปฏิกิริยาจะมีไพร์เมอร์ซึ่งจะเข้าจับกับ DNA ต้นแบบ และเอนไซม์ DNA polymerase ทำหน้าที่สังเคราะห์สาย DNA โดยใช้ Deoxynucleotide triphosphates (dNTP) เต็มลงในปฏิกิริยาเพื่อสังเคราะห์สาย DNA

ในแต่ละหลอดของปฏิกิริยาการสังเคราะห์ DNA จะใส่ ddNTP คนละชนิด (ddATP, ddCTP, ddGTP หรือ ddTTP) ปฏิกิริยาการสังเคราะห์ DNA จะหยุดเมื่อมี ddNTP เข้ามาจับ ทำให้แต่ละปฏิกิริยาจะมีชิ้น DNA หลากหลายขนาดรวมกันอยู่ ผลผลิตของทั้ง 4 ปฏิกิริยาปัจจุบันมีการใช้สีย้อมฟลูออเรสเซนส์ (Fluorescence dye) แทนการใช้สารกัมมันตรังสีในวิธีอโตเรดิโอกราฟ และรวมปฏิกิริยาทั้ง 4 ทำในหลอดเดียวกัน นอกจากนี้มีการใช้อิเล็กโตรโฟรีซิสแบบแคปิลลารี (Capillary electrophoresis) แสดงแถบ DNA วิธีแซงเกอร์สามารถวิเคราะห์ลำดับเบส ได้ในช่วงประมาณ 500 ถึง 1000 คู่เบส (Gibthai, 2024)

การวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยการ BLAST

การวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยการ BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) เป็นการวิเคราะห์ความเหมือน (Homology search) ของข้อมูลนิวคลีโอไทด์ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์บนเครือข่ายอินเทอร์เน็ต โดยเป็นการค้นหาความเหมือนของผล Sequence ที่จะได้รับผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ในรูปแบบไฟล์ แล้วนำผลนิวคลีโอไทด์ที่ได้ไปเทียบกับฐานข้อมูล

ฐานข้อมูล NCBI (National Center for Biotechnology Information) ในระบบ Genbank มีข้อมูลของผล Sequence อยู่ในฐานข้อมูลเพื่อหากลุ่มของยีน รวมทั้งเป็นการคาดเดาโครงสร้างและหน้าที่ของโปรตีนจาก Sequence ที่ได้มา ซึ่งการค้นหาความเหมือนจากฐานข้อมูลสามารถทำได้โดยใช้โปรแกรม BLASTn ที่เป็นโปรแกรมภายใต้ฐานข้อมูล NCBI โดยโปรแกรมระบบจะปรากฏชื่อ Genus และ Species ของเชื้อ และเปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึง (% Similarity) (สัญญา พงษ์กร, 2561 : 92-98) ปกติแล้วลำดับนิวคลีโอไทด์ของสิ่งมีชีวิตควรมีเปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึง (% Similarity หรือ % Identity) มากกว่าหรือเท่ากับ 97.0% เมื่อเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล จึงจะสามารถระบุได้ถึงระดับชนิด (Species) ส่วนลำดับนิวคลีโอไทด์ของสิ่งมีชีวิตที่มีเปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึง 90.0-96.9% เมื่อเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูลจะสามารถระบุได้ถึงแค่ระดับสกุล (Genus) อย่างไรก็ตามในการศึกษาอนุกรมวิธานของเห็ดราหากลำดับนิวคลีโอไทด์ของเห็ดรา มีเปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึงน้อยกว่า 98.0% เมื่อเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูลอาจหมายถึงตัวอย่างเห็ดรานี้อาจจะเป็นชนิดใหม่ที่ต่างจากในฐานข้อมูล (Surawut et al., 2023 : 1-19)

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการด้วยการสร้าง Phylogenetic tree

วิธี Neighbor Joining เป็นวิธีที่ใช้ในการจัดกลุ่มของสิ่งมีชีวิตที่ค่อนข้างได้รับความนิยมเนื่องจากเป็นวิธีที่ให้ผลเร็วเป็นแผนภาพต้นไม้แห่งวิวัฒนาการ ซึ่งโดยมากเป็นต้นไม้ที่ไม่มีการตรึงราก (Unrooted tree) ต้นไม้ประเภทนี้อาจพบว่ามีลักษณะที่เรียกว่าเป็น Additive tree ถ้าหากพบว่าระยะห่างทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตที่ศึกษาแต่ละคู่มีค่าเท่ากับผลรวมของความยาวกิ่ง (Branch

length) ที่เชื่อมโยงสิ่งมีชีวิตคู่นั้น และผลที่ได้นี้ก็สอดคล้องกับค่าที่พบในตารางแสดงระยะห่างทางพันธุกรรม คู่ของสิ่งมีชีวิตที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์คล้ายกันมากที่สุด (มีระยะห่างทางพันธุกรรมน้อยที่สุด) จะถูกนำมาเชื่อมโยงกัน เรียกว่า Neighbor

หลักการของวิธีนี้คือ มีการคำนวณระยะห่างทางพันธุกรรม (Genetic distance) และสร้างตารางแสดงระยะห่างทางพันธุกรรม (Distance matrix) จากนั้นจึงสร้างแผนภาพต้นไม้แห่งวิวัฒนาการโดยวิเคราะห์ผลจากตารางดังกล่าว ซึ่งเป็นการเชื่อมโยงสายวิวัฒนาการของคู่สิ่งมีชีวิตที่มีระยะห่างทางพันธุกรรมน้อยที่สุด ตามด้วยสิ่งมีชีวิตที่มีระยะห่างทางพันธุกรรมมากขึ้นตามลำดับ (สฤษฎี พยุกรณ์, 2561 : 115-139)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เทียมหทัย ชูพันธ์ (2565 : 1-3) ได้ศึกษาเห็ดในอุทยานแห่งชาติภูแลนคา จังหวัดชัยภูมิ ดำเนินการระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2561 ถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2562 โดยศึกษาธรรมชาติป่าเต็งรัง ป่าเบญจพรรณ และป่าดิบแล้ง เพื่อรวบรวมชนิดของเห็ดและจัดจำแนกด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา ซึ่งผลการศึกษาพบเห็ดจำนวน 31 วงศ์ 55 สกุล 83 ชนิด จำแนกเป็น 3 กลุ่ม คือ เห็ดกินได้ 35 ชนิด เห็ดที่กินไม่ได้และเห็ดพิษ 17 ชนิด และเห็ดที่ไม่ทราบข้อมูล 32 ชนิด โดยวงศ์ที่พบมากที่สุดคือวงศ์ Polyporaceae จำนวน 12 ชนิด รองลงมาคือวงศ์ Marasmiaceae จำนวน 11 ชนิด วงศ์ Boletaceae จำนวน 10 ชนิด และวงศ์ Amanitaceae จำนวน 9 ชนิด ตามลำดับจัดเป็นเห็ดผู้ย่อยสลาย 20 วงศ์ 48 ชนิด และเห็ดเอคโตไมคอร์ไรซา 11 วงศ์ 35 ชนิด

ขวัญเรือน นาคสุวรรณกุล และคนอื่น ๆ (2566 : 66) ได้ศึกษาเห็ดในอุทยานแห่งชาติป่าหินงามของประเทศไทย ดำเนินการฤดูฝน ในช่วงระหว่างเดือนมิถุนายน ถึงเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2565 โดยทำการสำรวจและเก็บเห็ดตามเส้นทางเดินป่าศึกษาธรรมชาติ และเส้นทางเก็บเห็ดของชาวบ้านพบเห็ด 46 ชนิด ซึ่งจัดอยู่ใน 15 วงศ์ และ 26 สกุล ไม่ทราบชื่อ 5 ชนิด ซึ่งมีเห็ดรับประทานได้เป็นส่วนใหญ่ แต่ก็พบเห็ดพิษ เห็ดเป็นยา และเห็ดกลุ่มย่อยสลาย เห็ดส่วนใหญ่ที่พบอยู่ในวงศ์ Amanitaceae และ Boletaceae

ณัฐกานต์ หนูรุ่ม และคนอื่น ๆ (2566 : 55-67) ทำการศึกษาเห็ดสกุล *Macrocybe* จัดเป็นเห็ดราขนาดใหญ่ที่มีรายงาน 8 ชนิดทั่วโลก โดยในประเทศไทยพบการรายงานเพียง 2 ชนิด ได้แก่ *M. crassa* (เห็ดตีนแรด) ที่รับประทานได้และ *M. gigantea* ที่ไม่มีข้อมูลการรับประทาน เพื่อระบุชนิดเห็ดสกุล *Macrocybe* จาก 7 กรณีการเกิดพิษระหว่างปี พ.ศ. 2555 ถึง พ.ศ. 2565 โดยใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของตำแหน่ง ITS วิเคราะห์ความสัมพันธ์เทียบกับฐานข้อมูล BLASTn และ BOLD (ฐานข้อมูลบาร์โค้ดของสิ่งมีชีวิต) อธิบายลักษณะแผนภูมิเชิงวิวัฒนาการโดยใช้วิธี Maximum Likelihood (ML) ผลการศึกษาจากฐานข้อมูล BLASTn และ BOLD พบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จาก

ตัวอย่างส่งตรวจมีความคล้ายคลึงที่จะเป็นเห็ด *M. gigantea* สูง อีกทั้งข้อมูลแผนภูมิเชิงวิวัฒนาการเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี ML ยืนยันได้ว่าเห็ดสกุล *Macrocybe* ที่ผู้ป่วยรับประทานเป็นชนิด *M. gigantea*

Parnmen et al. (2020 : 239-248) ทำการจัดจำแนกเห็ดพิษที่มีพิษต่อระบบทางเดินอาหารที่ได้จากคลินิกในประเทศไทย ผู้ป่วย 39 ราย ที่มีอาการเป็นพิษ โดยทำการศึกษาตัวอย่างเห็ดทางคลินิก จำนวน 15 ตัวอย่าง โดยทำการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ ITS และบริเวณ LSU ของ ribosomal RNA การเพิ่มปริมาณตำแหน่ง ITS ด้วยเทคนิค PCR ใช้ไพรเมอร์ ITS1F และ ITS4 ส่วนตำแหน่ง LSU ใช้ไพรเมอร์ LROR, LR5, LR6 และทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของตัวอย่างพบว่า ตัวอย่างเห็ดพิษที่ผู้ป่วยกินเข้าไปนั้นเป็น *Cantharocybe virosa* การตรวจสอบสารพิษในทางเดินอาหารโดยใช้ Liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry (LC-QTOF-MS) พบว่ามีสาร Coparine ซึ่งสร้างโดย *C. virosa* ประเภทของอาการพิษจัดอยู่ในกลุ่ม 4 คือ พิษต่อเมตาบอลิซึม/ต่อมไร้ท่อ ซึ่งส่งผลให้เกิดการระคายเคืองในทางเดินอาหารอย่างรุนแรง

Kumla et al. (2023 : 1-12) ทำการศึกษาเห็ดกินได้สายพันธุ์ใหม่ที่มีชื่อว่า *Panus sribuabanensis* จากทางภาคเหนือของประเทศไทยและทำการศึกษาองค์ประกอบทางโภชนาการ ปริมาณฟีนอลและการต่อต้านสารอนุมูลอิสระ โดยทำการรวบรวมเห็ดจากป่าธรรมชาติและตลาดในชุมชน และทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ ITS โดยใช้ไพรเมอร์ ITS5 และ ITS4 บริเวณ LSU โดยใช้ไพรเมอร์ LROR, LR5 โดยเทคนิค PCR และทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และทำการตรวจสอบองค์ประกอบทางโภชนาการ ปริมาณฟีนอล และการต้านสารอนุมูลอิสระ จากการศึกษาพบว่าเห็ด CMUNK0924, CMUNK0930, CMUNK1100 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนสูง และมีปริมาณไขมันต่ำ จากการตรวจสอบคุณค่าทางโภชนาการพบว่าเห็ดทั้ง 3 ชนิดมีประโยชน์ต่อสุขภาพ สามารถเป็นแหล่งอาหารและสารต้านอนุมูลอิสระแก่นุชนได้

Surawut et al. (2021 : 50-56) ทำการศึกษาความหลากหลายของเห็ดราขนาดใหญ่ที่จัดอยู่ในไฟลัม Ascomycota ซึ่งเรียกว่า Ascomycetes macrofungi ในพื้นที่สวนยางพาราภาคตะวันออกของประเทศไทย โดยทำการระบุชนิดด้วยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง ITS และ LSU พบว่าตัวอย่างเห็ดรหัส RP2, RP3, RP4, และ RP5 ถูกระบุชนิดได้เป็น *Daldinia eschscholtzii*, *Cookeina sulcipes*, *C. garethjonesii*, และ *C. tricholoma* ตามลำดับ โดยมีเห็ดจำนวน 2 ตัวอย่าง ซึ่งสามารถระบุได้เพียงระดับสกุลแต่ไม่สามารถระบุระดับชนิดได้ คือ *Trichoderma* sp. (RP1) และ *Xylaria* sp. (RP6)

Surawut et al. (2023 : 1-19) ทำการศึกษาความหลากหลายของเห็ดราขนาดใหญ่ในพื้นที่ปกปักพันธุ์กรรมพืช จังหวัดจันทบุรี จากผลการสำรวจสามารถเก็บเห็ดตัวอย่างได้ทั้งหมด 185 ตัวอย่าง จากนั้นทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น แล้วคัดเลือกเฉพาะเห็ดราขนาดใหญ่ที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกัน มาทำการระบุชนิดด้วยวิธีทางอนุชีววิทยาโดยเทคนิค PCR ร่วมกับการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง ITS ผลการศึกษาพบว่า สามารถจัดจำแนกเห็ดได้ทั้งหมด 41 ชนิด โดยจัดจำแนกอยู่ใน 2 ไฟลัม, 5 ชั้น, 11 อันดับ, 21 วงศ์, 34 สกุล โดยเห็ดที่สำรวจพบส่วนใหญ่จัดอยู่ในไฟลัม Basidiomycota (85.4%) ซึ่งพบเห็ดในวงศ์ Polyporaceae มากที่สุด (24.4%) และเห็ดส่วนใหญ่มีบทบาทเป็นเห็ดกินซาก (Saprotroph) (97.6%) โดยที่ส่วนใหญ่เห็ดรายังไม่มีข้อมูลว่ากินได้หรือไม่ (Unknown data) (70.7%) ทั้งนี้พบเห็ดที่มีรายงานว่ากินได้ จำนวน 8 ชนิด (19.5%) คือ เห็ดถั่วขนสั้น (*Cookeina sulcipes*), เห็ดถั่วขนยาว (*Cookeina tricoloroma*), เห็ดจวกุ้ง (*Amauroderma rugosum*), เห็ดปลวก (*Termitomyces* sp.), เห็ดตีนตุ๊กแก (*Schizophyllum commune*), เห็ดหูหนูดำ (*Auricularia cornea*), เห็ดพายทอง (*Dacryopinax spathularia*) และเห็ดหูหนูขาว (*Tremella fuciformis*) โดยพบเห็ดที่มีรายงานว่ามีพิษ จำนวน 4 ชนิด (9.8%) คือ *Entoloma omiense*, *Lepiota thrombophora*, *Inocybe parvisquamulosa* และ *Scleroderma xanthochroum* โดยเห็ดกรวยทองตะกู่ (*Microporus xanthopus*) เป็นเห็ดชนิดเด่นในพื้นที่ปกปักพันธุ์กรรมพืช

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

งานวิจัยมีการใช้สารเคมี วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือ ดังนี้

สารเคมีและสารละลายที่ใช้ในการวิจัย

1. Lysis buffer
2. Potassium acetate (pH 4.8)
3. Isopropyl alcohol (100 %)
4. 70%, 95% Ethanol
5. น้ำกลั่น (Molecular grade) (Apsalagen, Thailand)
6. DNA Marker (Biotechrabbit, Germany)
7. RedSafe (iNtRON, Korea)
8. Loading dye (Biotechrabbit, Germany)
9. TAE Buffer (50x) (Serva, Germany)
10. Agarose gel (Biotech, USA)
11. Silicon dioxide (Sigma-aldrich, USA)
12. Absolute alcohol (99.99% Alcohol) (RCI Labscan, Thailand)
13. Primer ITS1 (Macrogen, Korea)
14. Primer ITS4 (Macrogen, Korea)
15. PCR 2x Master mix (Apsalagen, Thailand)
16. สีย้อม Lactophenol cotton blue (HiMedia, India)

วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

1. ไมโครปิเปตทิป (Micropipette tip) ขนาด 20-200 และ 100-1000 ไมโครลิตร
2. เข็มเขี่ยปลายงอ (Inoculating needle)
3. ปากคีบ (Forceps)
4. แท่งบด (Micropestle)
5. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
6. กระบอกตวง (Cylinder)
7. หลอดเหวี่ยง (Centrifuge tube) ขนาด 15 ml

8. มีดผ่าตัด (Scalpel)
9. ถังมียาง (Dura, Thailand)
10. พาราฟิล์ม (Bemis, USA)
11. ถุงพลาสติก (Plastic bag)
12. ที่วางหลอดทดลอง (Rack)
13. กรรไกร (Scissors)
14. หลอดไมโครเซ็นติฟิวก์ (Eppendorf) ขนาด 0.2, 1.5 ml
15. ช้อนตักสาร (Spatula)
16. กล่องเก็บตัวอย่าง (Plastic box)
17. กระดาษสไลด์ (Glass slide)
18. กระจกปิดสไลด์ (Cover slip)
19. ไม้บรรทัด (Ruler)
20. กระดาษกราฟ

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1. เครื่องชั่งดิจิตอล (Electronic balance)
2. ไมโครเวฟ (Microwave, Electrolux)
3. ปิเปตอัตโนมัติ (Auto pipette) ขนาด 20-200 และ 100-1000 ไมโครลิตร (Joanlab, China)
4. เครื่อง UV-Transilluminator (BioGenomed, France)
5. เครื่อง Electrophoresis (Mupid, Japan)
6. เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (FOUR E'S scientific, China)
7. ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar flow)
8. เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (Thermal cycle) (Bio-Rad, USA)
9. เครื่องปั่นผสม (Vortex) (Scientific industries, USA)
10. เครื่องอบแห้ง (Hot air oven) (Mettler, Germany)
11. กล่องเก็บตัวอย่าง (Freezing box)
12. เครื่องนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) (Mettler, Germany)
13. เครื่อง Heat box (FOUR E'S scientific, China)
14. ตู้เย็น -20, -70 องศาเซลเซียส (Deep freezer)
15. เครื่องระบุพิกัด (GPS) (GARMIN, China)

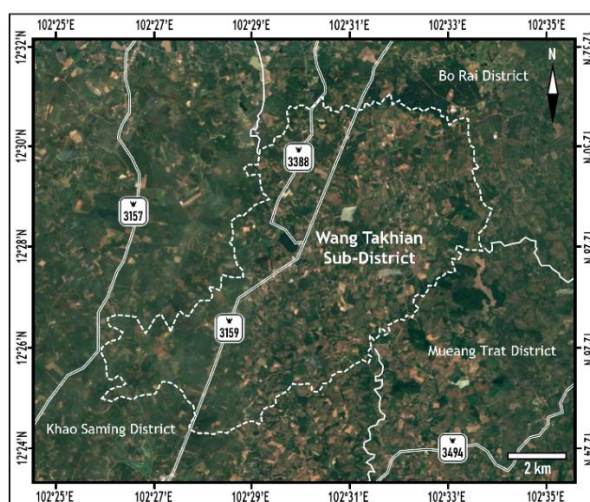
สถานที่ทำการทดลอง

สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตรัง และห้องปฏิบัติการภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

วิธีดำเนินงานวิจัย

1. การเก็บตัวอย่างและการจัดการตัวอย่าง

ทำการออกสำรวจหาเห็ดราขนาดใหญ่ในพื้นที่สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตรัง ในเดือนมิถุนายน 2567 เมื่อลงพื้นที่จะทำการแบ่งกลุ่มเดินสำรวจตามแถวแนวปลูกของต้นยางพารา เมื่อพบเห็นเห็ดราขนาดใหญ่จะทำการถ่ายภาพด้วยกล้องถ่ายภาพ (Nikon D3400) เพื่อเก็บข้อมูลถิ่นที่อยู่บริเวณรอบ ๆ ของเห็ด ถ่ายภาพให้เห็นรายละเอียดโครงสร้างของเห็ด จากนั้นจะเก็บตัวอย่างเห็ดลงในกล่องเก็บตัวอย่าง ทำการขนย้ายตัวอย่างมาที่ห้องปฏิบัติการและดำเนินการจัดการตัวอย่าง โดยทำการระบุรหัสของเห็ด แล้วถ่ายภาพดอกเห็ดพร้อมรหัสและสเกลกระดาษเพื่อใช้เทียบขนาด จากนั้นทำการเก็บเนื้อเยื่อเห็ด หากเป็นไปได้ให้เก็บเนื้อเยื่อด้านในที่สัมผัสสิ่งแวดล้อมเพื่อลดการปนเปื้อน โดยเก็บเนื้อเยื่อเห็ดเพียงเล็กน้อยใส่ในหลอด 1.5 ml Microcentrifuge tube (Eppendorf) เพื่อนำไปสกัด DNA และทำการเก็บเนื้อเยื่อเป็นจำนวนมากใส่ใน 1.5 ml Microcentrifuge tube แล้วเติม Absolute ethanol จนท่วมเนื้อเยื่อเห็ด นำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อเก็บรักษาเนื้อเยื่อ ส่วนตัวอย่างเห็ดที่เหลือนำมาอบแห้งทั้งหมดโดยนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนกว่าจะแห้ง เพื่อเก็บรักษาตัวอย่างเห็ดแบบแห้ง (ภาพที่ 3.1 และ 3.2)



ภาพที่ 3.1 แผนที่สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตรัง ที่ทำการสำรวจเห็ดราขนาดใหญ่ในการศึกษารังนี้



ภาพที่ 3.2 การเก็บตัวอย่างเห็ดราขนาดใหญ่ในพื้นที่สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด

2. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น

ทำการศึกษาลักษณะของดอกเห็ดที่พบในพื้นที่ที่สำรวจจากภาพถ่าย และลักษณะที่บันทึกไว้ เช่น ส่วนที่เป็นหมวกเห็ด (Cap) ครีบ (Gill) ก้าน (Stalk) แผ่นวงแหวน (Ring) เยื่อหุ้มดอกเห็ด (Volva) และเกล็ด (Scale) รวมทั้งบริเวณพื้นที่รอบ ๆ ที่เห็ดเจริญ แล้วทำการวิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้นทางสัณฐานวิทยาเพื่อนำไปใช้ในการจำแนกชนิดเห็ด โดยทำการเทียบข้อมูลกับหนังสือความหลากหลายของเห็ดและราขนาดใหญ่ในประเทศไทย (อนงค์ จันทรศรีกุล, พูนพิไล สุวรรณฤทธิ์, และอุทัยวรรณ แสงวนิช, 2551 : 1-514), หนังสือเห็ดในประเทศไทย (ราชบัณฑิตยสถาน, 2550 : 1-272), หนังสือเห็ดและราในประเทศไทย (ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ, 2544 : 1-268) และหนังสือคู่มือการศึกษาความหลากหลายเห็ด (Mushrooms) (บาร์มี สกลรักษ์, กิตติมา ด่วงแค, วินันท์ดา หิมะมาน, จันจิรา อายะวงศ์ และกฤษณา พงษ์พานิช, 2560 : 1-153)

3. การสกัด DNA

ใส่ทรายซิลิกา (Silicon dioxide) 0.1 กรัม ลงในหลอด Eppendorf ใส่เนื้อเยื่อเห็ดขนาดเท่า ๆ กับปริมาณของทรายประมาณ 0.05-0.1 กรัม ทำการเติม Lysis buffer ปริมาตร 50 μ l แล้วใช้แท่งบด ทำการบดเป็นเวลา 2-3 นาที หรือจนกว่าเนื้อเยื่อเห็ดจะละเอียด ทำเช่นนี้ไปเรื่อย ๆ จน Lysis buffer ที่เติมลงไปมีปริมาตรครบ 500 μ l จากนั้นตั้ง Eppendorf ไว้ที่อุณหภูมิห้อง

เป็นเวลา 10-15 นาที เมื่อครบเวลาแล้วจะเติมสารละลาย Potassium acetate (pH 4.8) ปริมาตร 150 μL แล้วทำการผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลาย (Vortex Mixer) เป็นระยะเวลาสั้น ๆ และหมุนเหวี่ยงตกตะกอนด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ความเร็ว 10,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที ทำการเก็บส่วน Supernatant และถ่ายไปยัง Eppendorf หลอดใหม่

จากนั้นนำหลอดเข้าเครื่อง Centrifuge อีกครั้ง ที่ความเร็ว 10,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที นำมาถ่ายส่วน Supernatant ไปยัง Eppendorf หลอดใหม่อีกครั้ง (บันทึกปริมาตรไว้ด้วยในหน่วย μL) แล้วทำการเติม Isopropyl alcohol ในปริมาตรที่เท่ากัน ทำการผสมสารโดยกลับหลอดไปมาเป็นระยะเวลาสั้น ๆ แล้วนำ Eppendorf ไปปั่นด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ความเร็ว 15,000 rpm เป็นเวลา 2 นาที แล้วทิ้งส่วน Supernatant

สังเกตตะกอนที่ก้นหลอด และทำการล้างตะกอน DNA ที่ได้โดยเติม 70% Ethanol ปริมาตร 300 μL ปั่นล้างตะกอน DNA ที่ความเร็ว 10,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที แล้วทิ้งส่วน Supernatant อย่างเบามือ ทำการตากตะกอน DNA ประมาณ 30 นาทีหรือจะกว่าจะแห้ง และละลายตะกอน DNA ด้วยน้ำกลั่น (Molecular grade) ปริมาตร 50 μL ทำการเก็บรักษา DNA ด้วยการนำหลอด DNA ไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส ทั้งนี้หากจะนำ DNA ไปเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค PCR จะต้องทำการอุ่น DNA ในเครื่อง Heat block ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วจึงนำไปใช้ในปฏิกิริยา PCR (Liu et al., 2000 : 471)

4. การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมตำแหน่ง ITS ด้วยวิธี PCR

ทำการเตรียมปฏิกิริยา PCR โดยใน 1 หลอด มีส่วนประกอบดังตารางที่ 3.1 จากนั้นนำไปเพิ่มปริมาณ DNA ที่ตำแหน่ง ITS ด้วยเครื่อง Thermal cycle โดยใช้สภาวะในการทำปฏิกิริยา PCR ดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.1 ส่วนประกอบในปฏิกิริยา PCR ปริมาตร 20 μL

Composition	20 μL reaction	Final concentration
Distilled water	6 μL	-
2x PCR Master mix	10 μL	1x
10 μM Primer ITS1	1 μL	0.5 μM
10 μM Primer ITS4	1 μL	0.5 μM
DNA template	2 μL	10 pg-1 μg

ตารางที่ 3.2 สภาวะการทำปฏิกิริยา PCR

PCR profile	Cycle number	Temperature	Time
Initial denaturation	1	95 °C	3 min
Denaturation	35	95 °C	30 sec
Annealing		52 °C	30 sec
Extension		72 °C	1 min
Final extension	1	72 °C	10 min

5. การตรวจสอบผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยา PCR ด้วยวิธี Gel electrophoresis

ทำการตรวจสอบผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยา PCR (PCR product) ด้วยวิธี Gel electrophoresis โดยทำการเตรียม 2% Agarose gel ใน 1x TAE buffer แล้วทำการละลายเจลให้หมดด้วยความร้อนจากเครื่องไมโครเวฟ จากนั้นตั้งทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้อง จนกระทั่งอุณหภูมิลดลงเหลือประมาณ 50-70 องศาเซลเซียส แล้วทำการเติม RedSafe ปริมาตร 5 μ l ผสมให้เข้ากัน เทใส่ถาดเตรียมเจล ทิ้งไว้ให้เย็นและทำการหยดสี (Loading dye) บนแผ่นพาราฟิล์ม โดยจะใช้ไมโครปิเปต (Micropipette) แบ่งสีให้เป็นหยดเล็ก ๆ ประมาณหยดละ 1-2 μ l แล้วปิเปต PCR Product ปริมาตร 5 μ l ผสมกับหยดสีที่แบ่งไว้ จากนั้นโหลดลงหลุมเจล (Well) บนแผ่นเจลที่เตรียมไว้แล้วในเครื่องอิเล็กโตรโฟรีซิส จากนั้นใช้กระแสไฟฟ้าที่ 100 โวลต์ 30 นาที แล้วนำเจลมาส่องด้วยเครื่องฉายแสงยูวี (UV-transilluminator) เพื่อสังเกตและระบุขนาดของแถบ DNA ที่เกิดขึ้น โดยเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (100 bp DNA ladder)

6. การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยวิธี DNA sequencing และการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูลด้วยการ BLAST

ทำการเพิ่มจำนวนตำแหน่ง ITS ด้วยเทคนิค PCR ในปริมาตร 50 μ l จำนวน 3 หลอด ต่อ 1 ตัวอย่าง โดยมีส่วนประกอบในปฏิกิริยาดังตารางที่ 3.3 และขั้นตอนการทำปฏิกิริยา PCR ดังตารางที่ 3.2 จากนั้นนำ PCR product ที่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ 1 แถบ ส่งบริษัท เอ ที จี ซี จำกัด (ปทุมธานี ประเทศไทย) เพื่อให้ PCR product บริสุทธิ์ (Purified PCR product) และทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ ตำแหน่ง ITS ด้วยวิธี DNA sequencing เมื่อทางบริษัทวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์เสร็จแล้วจะส่งผลการวิเคราะห์เป็นไฟล์ผ่านทางอีเมลล์ส่งกลับมา เมื่อได้รับผลการวิเคราะห์แล้วจะทำการแก้ไขลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ไม่ถูกต้องกับคูเบสให้ถูกต้องก่อนด้วยโปรแกรม BioEdit (ภาพที่ 3.3) จากนั้นนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม BLASTn (Basic Local Alignment Search

Tool) ในฐานข้อมูล GenBank ของ NCBI (National Center for Biotechnology Information) (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) เพื่อตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึงและระบุชนิดของเห็ดรา (ภาพที่ 3.4-3.5) ปกติแล้วลำดับนิวคลีโอไทด์ของสิ่งมีชีวิตควรมีเปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึง (%Similarity หรือ %Identity) มากกว่าหรือเท่ากับ 97.0% เมื่อเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล จึงจะสามารถระบุได้ถึงระดับชนิด (Species) ส่วนลำดับนิวคลีโอไทด์ของสิ่งมีชีวิตที่มีเปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึง 90.0-96.9% เมื่อเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูลจะสามารถระบุได้ถึงแค่ระดับสกุล (Genus) อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาอนุกรมวิธานของเห็ดรา หากลำดับนิวคลีโอไทด์ของเห็ดรา มีเปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึงน้อยกว่า 98.0% เมื่อเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูลอาจหมายถึงตัวอย่างเห็ดรานั้นอาจจะเป็นชนิดใหม่ที่ต่างจากในฐานข้อมูล (Surawut et al., 2023 : 1-19)

ตารางที่ 3.3 ส่วนประกอบในปฏิกิริยา PCR ปริมาตร 50 μ l

Composition	50 µl reaction	Final concentration
Distilled water	18 µl	-
2x PCR Master mix	25 µl	1x
10µM Primer ITS1	2.5 µl	0.5 µM
10µM Primer ITS4	2.5 µl	0.5 µM
DNA template	2 µl	10 pg-1 µg



ภาพที่ 3.3 ตัวอย่างผล DNA sequencing โดยโปรแกรม BioEdit

U.S. National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

COVID-19 Information
Public health information (CDC) | Research information (NIH) | SARS-CoV-2 data (NCBI) | Prevention and treatment information (HHS) | Español

BLAST® » blastn suite

Standard Nucleotide BLAST

Enter Query Sequence

Enter accession number(s), gi(s), or FASTA sequence(s) [Clear](#)

CGGTGCGCCGCGGACGTCAG

Query subrange

From

To

Or, upload file

Job Title

☐ Align two or more sequences

Choose Search Set

Database ☒ Standard databases (nr etc.) ☐ rRNA/ITS databases ☐ Genomic + transcript databases ☐ Betacoronavirus

Organism Nucleotide collection (nr/nt)

Enter organism name or id—completions will be suggested ☐ exclude [Add organism](#)

New columns added to the Description Table
Click 'Select Columns' or 'Manage Columns'.

Activate Windows
Go to Settings to activate Windows.

ภาพที่ 3.4 หน้าต่างโปรแกรม BLASTn
ที่มา : (NCBI, 2023)

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Xylaria papulis isolate G3 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal 1...	Xylaria papulis	989	989	100%	0.0	100.00%	535	OL687382.1
Xylaria papulis strain MPL-S8S2A small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spac...	Xylaria papulis	979	979	99%	0.0	99.81%	609	ON754064.1
Xylaria sp. XF4 18S ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA g...	Xylaria sp. XF4	979	979	99%	0.0	99.81%	582	HQ435661.1
Xylaria papulis isolate B9021903 18S ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S r...	Xylaria papulis	979	979	99%	0.0	99.81%	591	GU300100.1
Xylaria sp. strain PB-78 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S...	Xylaria sp.	974	974	99%	0.0	99.62%	600	MK333968.1
Xylaria hongkongensis GDGM 40058 ITS region, from TYPE material	Xylaria hongkon...	972	972	99%	0.0	99.62%	552	NR_154905
Xylaria hongkongensis voucher GDGM40058 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RN...	Xylaria hongkon...	972	972	99%	0.0	99.62%	552	KF926669.1
Xylaria papulis voucher UOC DAMIA D11 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA ge...	Xylaria papulis	970	970	98%	0.0	99.81%	604	KR188877.1
Xylaria sp. isolate MTN33 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8...	Xylaria sp.	970	970	98%	0.0	99.81%	565	OK446744.1
Xylaria papulis strain 5118 18S ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S riboso...	Xylaria papulis	970	970	100%	0.0	99.44%	564	JX868517.1
Xylaria papulis strain 5097 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and intern...	Xylaria papulis	968	968	99%	0.0	99.44%	565	JQ862099.1
Xylaria sp. S35-1B5142 genes for ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, partial and complete sequence	Xylaria sp. S35-1...	968	968	99%	0.0	99.62%	591	AB363683.1
Xylaria hongkongensis isolate KR-3U internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene a...	Xylaria hongkon...	966	966	98%	0.0	99.81%	559	ON222815.1
Xylaria papulis strain 5246 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and intern...	Xylaria papulis	966	966	99%	0.0	99.44%	564	JQ862700.1
Xylaria papulis strain WZG35 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and inter...	Xylaria papulis	959	959	97%	0.0	99.81%	524	MK229146.1
Xylaria papulis strain APL-1 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and intern...	Xylaria papulis	959	959	97%	0.0	99.81%	524	ON796531.1
Xylaria mali isolate YNAS06 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and intern...	Xylaria mali	933	933	96%	0.0	99.42%	514	GU355650.1
Fungal endophyte isolate 4341 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and int...	fungal endophyte	931	931	99%	0.0	98.13%	563	KR015771.1

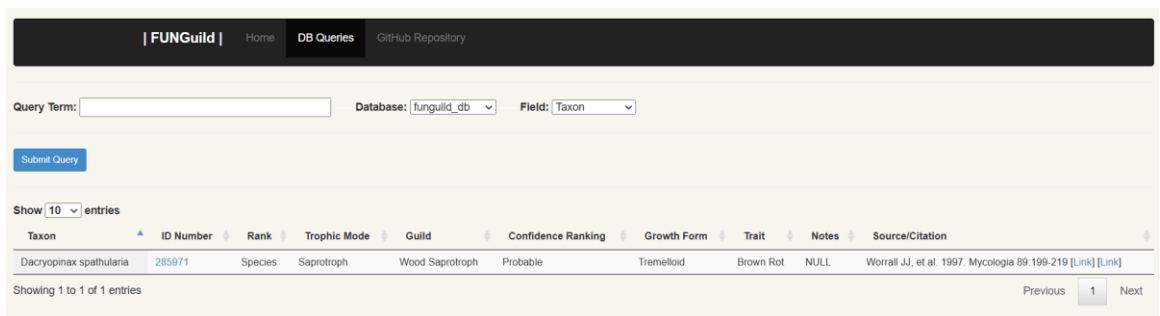
ภาพที่ 3.5 ตัวอย่างผลการ BLAST
ที่มา : (NCBI, 2023)

7. การวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการด้วยการสร้าง Phylogenetic tree

ลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง ITS จากตัวอย่างเห็ด ได้ถูกนำมาวิเคราะห์โดยวิธี Neighbor-Joining method เพื่อสร้างแผนภูมิ Phylogenetic tree (Saitou & Nei, 1987: 406-425; Felsenstein, 1985 : 783-791; Tamura, Nei & Kumar, 2004 : 11030-5) โดยใช้โปรแกรม MEGA X (Kumar et al. 2018 : 1547-1549)

8. การจำแนกบทบาทของเห็ดในระบบนิเวศ

ทำการจัดจำแนกเห็ดตามบทบาทของเห็ดต่อระบบนิเวศและมนุษย์ โดยทำการค้นหาจากข้อมูลที่มีการตีพิมพ์เผยแพร่มาก่อนและด้วยโปรแกรม FUNGuild (<https://github.com/UMNFun/FUNGuild>) (Nguyen et al., 2015 : 241-248) โดยบทบาทของเห็ดต่อระบบนิเวศแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มเห็ด กินซาก (Saprotroph : SA) กลุ่มเห็ดปรสิต (Pathotroph: PA) และกลุ่มเห็ดที่มีความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยกันกับสิ่งมีชีวิตอื่น (Symbiotroph: SM) โดยบทบาทของเห็ดที่มีต่อมนุษย์แบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ เห็ดที่มีรายงานว่ารับประทานได้ (Edible mushroom : E) เห็ดที่มีรายงานว่าเป็นพิษ (Poisonous mushroom : P) และเห็ดที่ไม่มีรายงานว่ารับประทานได้หรือเป็นพิษ (Unknown data) (ภาพที่ 3.6)



The screenshot shows the FUNGuild database interface. At the top, there are navigation links: Home, DB Queries, and GitHub Repository. Below this is a search bar with 'Query Term:' and a dropdown menu for 'Database' set to 'funguild_db'. The 'Field' is set to 'Taxon'. A 'Submit Query' button is visible. Below the search bar, it says 'Show 10 entries'. The results are displayed in a table with columns: Taxon, ID Number, Rank, Trophic Mode, Guild, Confidence Ranking, Growth Form, Trait, Notes, and Source/Citation. The first entry is for 'Dacryopinax spathularia' with ID 285971, Rank Species, Trophic Mode Saprotroph, Guild Wood Saprotroph, Confidence Ranking Probable, Growth Form Tremelloid, Trait Brown Rot, Notes NULL, and Source/Citation Worral JJ, et al. 1997. Mycologia 89:199-219. At the bottom, it says 'Showing 1 to 1 of 1 entries' and has 'Previous' and 'Next' buttons.

Taxon	ID Number	Rank	Trophic Mode	Guild	Confidence Ranking	Growth Form	Trait	Notes	Source/Citation
Dacryopinax spathularia	285971	Species	Saprotroph	Wood Saprotroph	Probable	Tremelloid	Brown Rot	NULL	Worral JJ, et al. 1997. Mycologia 89:199-219 [Link] [Link]

ภาพที่ 3.6 ตัวอย่างผลการสืบค้นด้วยโปรแกรม FUNGuild
ที่มา : (FUNGuild, 2023)

บทที่ 4

ผลการวิจัย

ผลการเก็บตัวอย่างเห็ดราขนาดใหญ่ในพื้นที่สวนยางพารา

จากการออกสำรวจเห็ดราขนาดใหญ่ในพื้นที่สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด แล้วทำการเก็บตัวอย่างเห็ดราขนาดใหญ่ เพื่อนำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและระบุชนิดด้วยวิธีทางอนุชีววิทยา สามารถเก็บตัวอย่างเห็ดราขนาดใหญ่ได้ จำนวน 34 ตัวอย่าง

ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น

นำเห็ดราขนาดใหญ่ที่สำรวจได้มาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น พบว่ามีเห็ดราขนาดใหญ่บางตัวอย่างที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่คล้ายคลึงกัน ดังนั้นในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จึงเลือกตัวอย่างที่มีลักษณะดอกเห็ด (Fruiting body) ที่แตกต่างกันจำนวนทั้งหมด 28 ตัวอย่าง (ภาคผนวก ข)

ผลการจัดจำแนกเบื้องต้นโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าสามารถจัดจำแนกดอกเห็ดได้ 7 กลุ่ม คือ

1. กลุ่มเห็ดแอสโคไมซีทีส (Ascomycetes) ประกอบด้วย รหัส WK1, WK2, WK3 และ WK24 มีลักษณะดอกหลากหลายรูปแบบ เช่น มีลักษณะเป็นแผ่นนูน ไม่มีก้าน ติดอยู่บนขอนไม้ (WK1), มีลักษณะเป็นก้อนกลมเนื้อแข็ง (WK2), มีลักษณะคล้ายกระบองและมีเนื้อแข็ง (WK3), มีลักษณะเป็นทรงกระบอกเตี้ย เนื้อนิ่มหยุ่น อุ่มน้ำ (WK24) ซึ่งทั้งหมดสร้างสปอร์ชนิด Ascospore

2. กลุ่มเห็ดครีป (Gilled fungi) ประกอบด้วย รหัส WK12, WK13, WK14, WK15, WK22, WK25, WK26, WK27, WK28, WK29 และ WK30 มีลักษณะเด่นคือ ดอกเห็ดมีหมวก เนื้อนิ่ม ใต้หมวกมีลักษณะเป็นครีป

3. กลุ่มเห็ดวุ้น (Jelly fungi) ประกอบด้วย รหัส WK18 และ WK19 มีลักษณะเด่นคือ เนื้อนิ่ม เป็นเมือก ยืดหยุ่นคล้ายแผ่นยาง

4. กลุ่มเห็ดลูกฟูก (Puffballs fungi) ประกอบด้วย รหัส WK17 มีลักษณะเด่นคือ ดอกเห็ดเป็นรูปทรงกลม คล้ายไข่หรือผลสาถิ

5. กลุ่มเห็ดเขาเหม็น (Stinkhorns fungi) ประกอบด้วย รหัส WK20 มีลักษณะเด่นคือ คล้ายเขาสัตว์ ก้านมีลักษณะพรุณและนิ่มมาก มีร่างแหปกคลุมก้านคล้ายกระบอง

6. กลุ่มเห็ดหิ้ง (Polypores and bracket fungi) ประกอบด้วย รหัส WK4, WK5, WK6, WK7, WK8, WK9, WK10 และ WK11 มีลักษณะเด่นคือ ดอกเห็ดมีรูปร่างคล้ายชั้น หรือหิ้งวางของ หรือคล้ายเครื่องหมายวงเล็บ หรือคล้ายพัด เนื้อเหนียวแข็ง ด้านหลังหมวกมีรูขนาดเล็ก

7. กลุ่มเห็ดแผ่นหนัง (Leather-bracket fungi) ประกอบด้วย รหัส WK16 มีลักษณะเด่นคือ ดอกเห็ดรูปร่างคล้ายเครื่องหมายวงเล็บหรือคล้ายพัด ไม่มีก้าน มีลักษณะเป็นแผ่นบางและเหนียว ด้านหลังหมวกมีลักษณะเรียบ

จากผลการสำรวจพบว่า กลุ่มเห็ดครีบ พบมากที่สุด จำนวน 11 ตัวอย่าง คิดเป็น 39.29% รองลงมาคือ กลุ่มเห็ดหึ่ง พบจำนวน 8 ตัวอย่าง คิดเป็น 28.57%, กลุ่มเห็ดแอสโคมัยซิส พบจำนวน 4 ตัวอย่าง คิดเป็น 14.29%, กลุ่มเห็ดวุ้น พบจำนวน 2 ตัวอย่าง คิดเป็น 7.14% โดยกลุ่มเห็ดลูกฟูก กลุ่มเห็ดเขาหมื่น และกลุ่มเห็ดแผ่นหนัง แต่ละกลุ่มพบจำนวน 1 ตัวอย่าง คิดเป็น 3.57% จากนั้นนำตัวอย่างเห็ดทั้ง 28 ตัวอย่าง มาทำการระบุชนิดด้วยวิธีทางอนุชีววิทยาในขั้นตอนต่อไป

ผลการระบุชนิดเห็ดรายนามใหญ่ด้วยวิธีทางอนุชีววิทยา

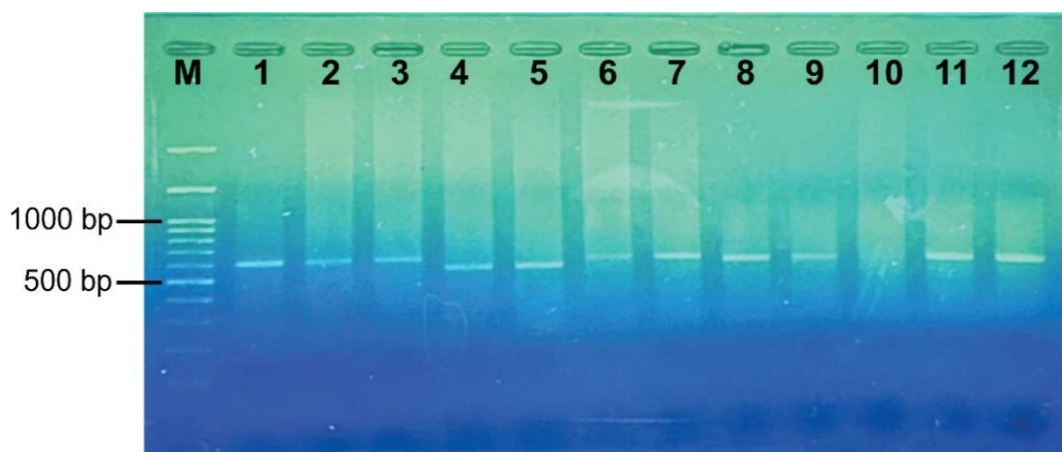
ทำการเพิ่มจำนวน DNA ตำแหน่ง ITS ด้วยเทคนิค PCR และจากการตรวจสอบ PCR product ด้วยเทคนิค Gel electrophoresis ปรากฏแถบ DNA ขนาด 550-700 bp (ภาพที่ 4.1) เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างเห็ดราไปทำการ BLASTn พบว่าให้ผลร้อยละความคล้ายคลึง ดังตารางที่ 4.1 โดยจากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง ITS พบว่าสามารถจัดจำแนกตัวอย่างเห็ดอยู่ใน 2 ไฟลัม (Phylum), 4 ชั้น (Class), 10 อันดับ (Order), 17 วงศ์ (Family) และ 22 สกุล (Genus) โดยไฟลัม Ascomycota พบเห็ดจำนวน 4 ตัวอย่าง คิดเป็น 14.29% ในขณะที่ไฟลัม Basidiomycota พบเห็ดจำนวน 24 ตัวอย่าง คิดเป็น 85.71% โดยเห็ดในวงศ์ Polyporaceae พบความหลากหลายชนิดมากที่สุด พบจำนวน 7 ตัวอย่าง (25.00%) รองลงมาคือวงศ์ Entolomataceae และ Malasmiaceae พบวงศ์ละ 3 ตัวอย่าง (10.71%) และวงศ์ Schizophyllaceae พบจำนวน 2 ตัวอย่าง (7.14%) ในขณะที่วงศ์ Auriculariaceae, Dacrymycetaceae, Ganodermataceae, Hypocreaceae, Hypoxylaceae, Lyophyllaceae, Phallaceae, Physalacriaceae, Porotheleaceae, Pyronemataceae, Sclerodermataceae, Stereaceae และ Xylariaceae พบวงศ์ละ 1 ตัวอย่าง (3.57%) (ตารางที่ 4.1) โดยมีเห็ดรายนามใหญ่จำนวน 3 ตัวอย่าง (10.71%) ที่ไม่สามารถจัดจำแนกในระดับชนิดได้ คือ *Marasmius* sp. (WK29), *Gerronema* sp. (WK25) และ *Picipes* sp. (WK10) (ตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.2)

โดยบทบาทของเห็ดรายนามใหญ่ในระบบนิเวศในพื้นที่สวนยางพารา พบว่าเห็ดราส่วนใหญ่มีบทบาทเป็นผู้ย่อยสลายหรือกลุ่มเห็ดกินซาก (Saprotroph) จำนวน 25 ชนิด คิดเป็น 89.28% พบเห็ดที่มีบทบาทเป็นปรสิตกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น (Pathotroph) จำนวน 1 ชนิด คือ *Ganoderma williamsianum* (WK5) คิดเป็น 3.57% และพบเห็ดที่มีบทบาทพึ่งพาอาศัยกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น

(Symbiotroph) จำนวน 2 ชนิด คือ *Termitomyces cylindricus* (WK12) และ *Scleroderma xanthochroum* (WK17) คิดเป็น 7.14% (ตารางที่ 4.1)

นอกจากนี้ เห็ดราขนาดใหญ่ที่พบในการศึกษาครั้งนี้และมีรายงานว่าสามารถกินได้ พบจำนวน 7 ชนิด คิดเป็น 25.00% คือ เห็ดหูหนู *Auricularia cornea* (WK19), เห็ดพายทอง *Dacryopinax spathularia* (WK18), เห็ดเยื่อไผ่ *Phallus lutescens* (WK20), เห็ดจวกุ้ง *Sanguinoderma rugosum* (WK4), เห็ดแครง *Schizophyllum commune* (WK15), เห็ดปลวก *Termitomyces cylindricus* (WK12) และเห็ดจมูกหมู *Trichaleurina javanica* (WK24) โดยพบเห็ดที่มีรายงานว่า เป็นพิษ จำนวน 1 ชนิด คิดเป็น 3.57% คือ *Scleroderma xanthochroum* (WK17) (ตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.3)

ทั้งนี้เห็ดราขนาดใหญ่จำนวนชนิดที่เหลือไม่มีข้อมูลของการกินหรือความเป็นพิษ พบจำนวน 20 ชนิด คิดเป็น 71.43% (ตารางที่ 4.1)



ภาพที่ 4.1 ตัวอย่างผล Gel electrophoresis เพื่อตรวจสอบ PCR product จากการเพิ่มจำนวน DNA ตำแหน่ง ITS ด้วยเทคนิค PCR เพื่อระบุชนิดเห็ดราด้วยวิธีทางอนุชีววิทยา

Lane M: 100 bp DNA ladder;	Lane 1: Collection No. WK1;
Lane 2: Collection No. WK2;	Lane 3: Collection No. WK3;
Lane 4: Collection No. WK4;	Lane 5: Collection No. WK5;
Lane 6: Collection No. WK6;	Lane 7: Collection No. WK7;
Lane 8: Collection No. WK8;	Lane 9: Collection No. WK9;
Lane 10: Collection No. WK10;	Lane 11: Collection No. WK11;
Lane 12: Collection No. WK12	

ตารางที่ 4.1 เห็ดราขนาดใหญ่ที่สำรวจพบในสวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอสุมิ จังหวัดตราด
ข้อมูลอนุกรมวิธาน ผลการ BLASTn บทบาทที่มีต่อระบบนิเวศ และคุณสมบัติในการกินได้

Phylum	Class	Order	Family	Scientific name (Collection number)	Best Match (Accession No.)		GenBank Accession No. in this study	Mode of life	Edibility
					ITS	Similarity (%)			
Ascomycota	Pezizomycetes	Pezizales	Pyronemataceae	<i>Trichaleurina javanica</i> (WK24)	<i>Trichaleurina javanica</i> (MW488268)	99.81	PV056378	SA	E
Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Hypocreaceae	<i>Trichoderma pezizoides</i> (WK1)	<i>Trichoderma pezizoides</i> (MW659098)	100	PV052342	SA	
Ascomycota	Sordariomycetes	Xylariales	Hypoxylaceae	<i>Daldinia eschscholtzii</i> (WK2)	<i>Daldinia eschscholtzii</i> (MH748178)	100	PV052343	SA	
Ascomycota	Sordariomycetes	Xylariales	Xylariaceae	<i>Xylaria feejeensis</i> (WK3)	<i>Xylaria feejeensis</i> (GU322452)	100	PV052344	SA	
Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Entolomataceae	<i>Clitopilus crispus</i> (WK27)	<i>Clitopilus crispus</i> (PP622156)	99.70	PV052377	SA	
Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Entolomataceae	<i>Entoloma bloxamii</i> (WK28)	<i>Entoloma bloxamii</i> (KC710087)	83.83	PV053538	SA	
Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Entolomataceae	<i>Entoloma phlebophyllum</i> (WK30)	<i>Entoloma phlebophyllum</i> (OR827451)	87.26	PV053539	SA	

ตารางที่ 4.1 เห็ดราขนาดใหญ่ที่สำรวจพบในสวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอสว่าง จังหวัดตรัง
ข้อมูลอนุกรมวิธาน ผลการ BLASTn บทบาทที่มีต่อระบบนิเวศ และคุณสมบัติในการกินได้ (ต่อ)

Phylum	Class	Order	Family	Scientific name (Collection number)	Best Match (Accession No.)		GenBank Accession No. in this study	Mode of life	Edibility
					ITS	Similarity (%)			
Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Lyophyllaceae	<i>Termitomyces cylindricus</i> (WK12)	<i>Termitomyces cylindricus</i> (LC729270)	100	PV052354	SM	E
Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Malasmiaceae	<i>Marasmius guyanensis</i> (WK13)	<i>Marasmius guyanensis</i> (OQ147036)	100	PV052353	SA	35
Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Malasmiaceae	<i>Marasmius haematocephalus</i> (WK14)	<i>Marasmius haematocephalus</i> (EU935527)	100	PV052355	SA	
Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Malasmiaceae	<i>Marasmius</i> sp. (WK29)	<i>Marasmius</i> sp. (OQ755409)	92.41	PV052378	SA	
Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Physalacriaceae,	<i>Oudemansiella canarii</i> (WK26)	<i>Oudemansiella canarii</i> (OR083758)	97.92	PV052376	SA	
Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Porotheleaceae	<i>Gerronema</i> sp. (WK25)	<i>Gerronema</i> sp. (KR155081)	99.86	PV052375	SA	

ตารางที่ 4.1 เห็ดราขนาดใหญ่ที่สำรวจพบในสวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอสว่าง จังหวัดตราด

ข้อมูลอนุกรมวิธาน ผลการ BLASTn บทบาทที่มีต่อระบบนิเวศ และคุณสมบัติในการกินได้ (ต่อ)

Phylum	Class	Order	Family	Scientific name (Collection number)	Best Match (Accession No.)		GenBank Accession No. in this study	Mode of life	Edibility
					ITS	Similarity (%)			
Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Schizophyllaceae	<i>Schizophyllum commune</i> (WK15)	<i>Schizophyllum commune</i> (MT908224)	99.84	PV052356	SA	E
Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Schizophyllaceae	<i>Schizophyllum umbrinum</i> (WK22)	<i>Schizophyllum umbrinum</i> (ON876056)	99.67	PV052374	SA	
Basidiomycota	Agaricomycetes	Auriculariales	Auriculariaceae	<i>Auricularia cornea</i> (WK19)	<i>Auricularia cornea</i> (OR354977)	99.66	PV052363	SA	E
Basidiomycota	Agaricomycetes	Boletales	Sclerodermataceae	<i>Scleroderma xanthochroum</i> (WK17)	<i>Scleroderma xanthochroum</i> (EU718126)	99.62	PV052360	SM	P
Basidiomycota	Agaricomycetes	Phallales	Phallaceae	<i>Phallus lutescens</i> (WK20)	<i>Phallus lutescens</i> (NR_171847)	99.17	PV052364	SA	E

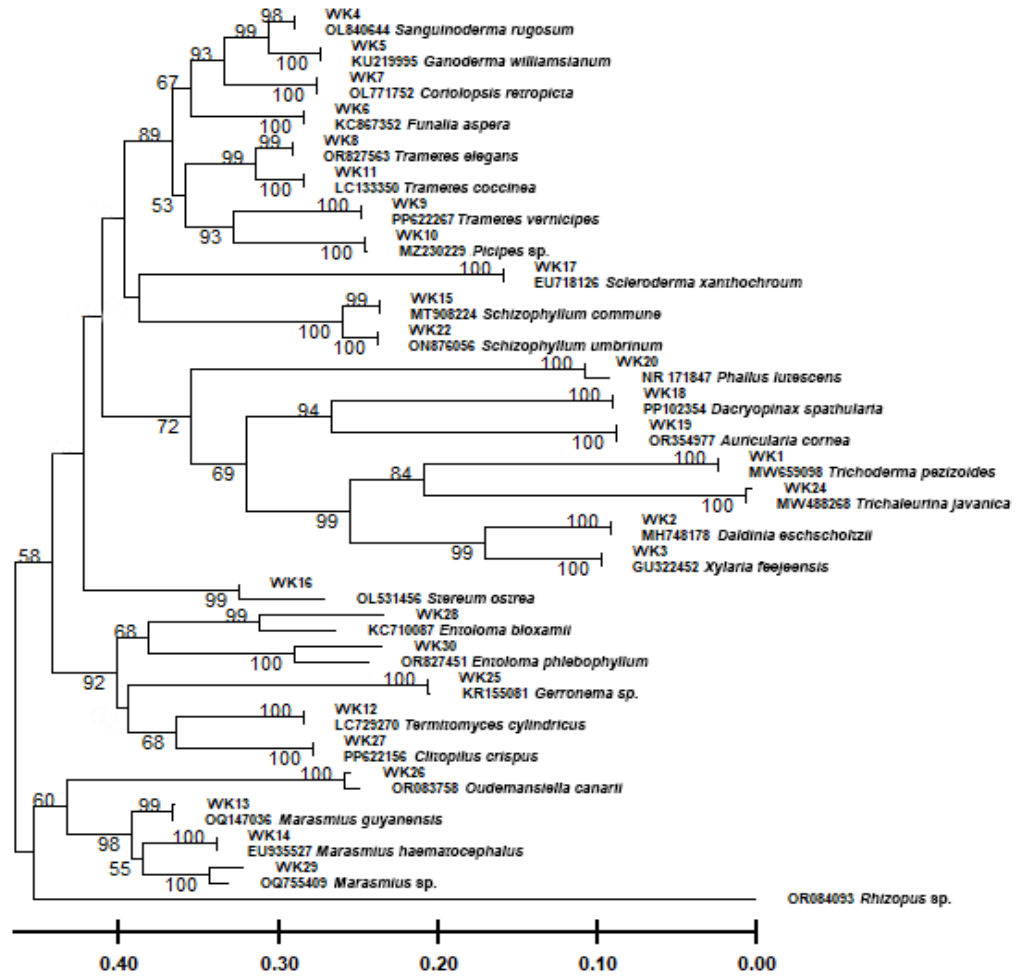
ตารางที่ 4.1 เปรียบเทียบลำดับที่สำรวจพบในสวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอสว่าง จังหวัดตราด
ข้อมูลอนุกรมวิธาน ผลการ BLASTn บทบาทที่มีต่อระบบนิเวศ และคุณสมบัติในการกินได้ (ต่อ)

Phylum	Class	Order	Family	Scientific name (Collection number)	Best Match (Accession No.)		GenBank Accession No. in this study	Mode of life	Edibility
					ITS	Similarity (%)			
Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Ganodermataceae	<i>Sanguinoderma rugosum</i> (WK4)	<i>Sanguinoderma rugosum</i> (OL840644)	100	PV052345	SA	E
Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Polyporaceae	<i>Ganoderma williamsianum</i> (WK5)	<i>Ganoderma williamsianum</i> (KU219995)	99.84	PV052346	PA	
Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Polyporaceae	<i>Coriolopsis retropicta</i> (WK7)	<i>Coriolopsis retropicta</i> (OL771752)	99.46	PV052348	SA	
Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Polyporaceae	<i>Funalia aspera</i> (WK6)	<i>Funalia aspera</i> (KC867352)	100	PV052347	SA	
Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Polyporaceae	<i>Picipes</i> sp. (WK10)	<i>Picipes</i> sp. (MZ230229)	100	PV052351	SA	
Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Polyporaceae	<i>Trametes elegans</i> (WK8)	<i>Trametes elegans</i> (OR827563)	100	PV052349	SA	

ตารางที่ 4.1 ให้ทราบขนาดใหญ่ที่สำรวจพบในสวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอสว่าง จังหวัดตราด
 ข้อมูลอนุกรมวิธาน ผลการ BLASTn บทบาทที่มีต่อระบบนิเวศ และคุณสมบัติในการกินได้ (ต่อ)

Phylum	Class	Order	Family	Scientific name (Collection number)	Best Match (Accession No.)		GenBank Accession No. in this study	Mode of life	Edibility
					ITS	Similarity (%)			
Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Polyporaceae	<i>Trametes vernicipes</i> (WK9)	<i>Trametes vernicipes</i> (PP622267)	99.69	PV052350	SA	
Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Polyporaceae	<i>Trametes coccinea</i> (WK11)	<i>Trametes coccinea</i> (LC133350)	100	PV052352	SA	
Basidiomycota	Agaricomycetes	Russulales	Stereaceae	<i>Stereum ostrea</i> (WK16)	<i>Stereum ostrea</i> (OL531456)	100	PV052357	SA	
Basidiomycota	Dacrymycetes	Dacrymycetales	Dacrymycetaceae	<i>Dacryopinax spathularia</i> (WK18)	<i>Dacryopinax spathularia</i> (PP102354)	99.59	PV052361	SA	E

Abbreviations: Mode of life: PA =pathotroph, SA = saprotroph, SM=symbiotrop; Edibility: E= edible macrofungi, P= poisonous macrofungi



ภาพที่ 4.2 แผนภูมิ Phylogenetic tree จากลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง ITS ของเห็ดราขนาดใหญ่
ที่พบในพื้นที่สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอกงหรา จังหวัดตรัง



ภาพที่ 4.3 เห็ดราขนาดใหญ่ที่มีรายงานว่ากินได้และเห็ดพิษที่สำรวจพบในสวนยางพารา

ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด (A-G เห็ดที่มีรายงานว่ากินได้, H เห็ดพิษ)

A: เห็ดหูหนู *Auricularia cornea* (WK19)

B: เห็ดพายทอง *Dacryopinax spathularia* (WK18)

C: เห็ดเยื่อไผ่ *Phallus lutescens* (WK20)

D: เห็ดจวกุ้ง *Sanguinoderma rugosum* (WK4)

E: เห็ดแครง *Schizophyllum commune* (WK15)

F: เห็ดปลวก *Termitomyces cylindricus* (WK12)

G: เห็ดจมูกหมู *Trichaleurina javanica* (WK24)

H: เห็ดก้อนฝุ่น *Scleroderma xanthochroum* (WK17)

บทที่ 5

สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผล

ในการสำรวจเห็ดราขนาดใหญ่ในพื้นที่สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด ในเดือนมิถุนายน 2567 พบตัวอย่างเห็ดราขนาดใหญ่ จำนวน 34 ตัวอย่าง เมื่อทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นและคัดเลือกเห็ดราขนาดใหญ่ที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่างกัน จำนวน 28 ตัวอย่าง พบว่าสามารถจัดจำแนกเห็ดราขนาดใหญ่ได้เป็น 7 กลุ่ม โดยกลุ่มเห็ดครีบ (Gilled fungi) พบมากที่สุด จำนวน 11 ตัวอย่าง (39.29%) จากนั้นนำตัวอย่างเห็ดรามาทำการระบุชนิดด้วยวิธีทางอนุชีววิทยา โดยใช้เทคนิค Polymerase chain reaction (PCR) ร่วมกับการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณตำแหน่ง Internal transcribed spacer (ITS) พบว่าสามารถจัดจำแนกอยู่ใน 2 ไฟลัม (Phylum), 4 ชั้น (Class), 10 อันดับ (Order), 17 วงศ์ (Family) และ 22 สกุล (Genus) โดยเห็ดราส่วนใหญ่จัดอยู่ในไฟลัม Basidiomycota จำนวน 24 ตัวอย่าง (85.71%) และจัดอยู่ในไฟลัม Ascomycota จำนวน 4 ตัวอย่าง (14.29%) โดยวงศ์ Polyporaceae พบความหลากหลายชนิดมากที่สุด พบจำนวน 7 ตัวอย่าง (25%) รองลงมาคือวงศ์ Entolomataceae และ Malasmiaceae พบวงศ์ละ 3 ตัวอย่าง (10.71%) และวงศ์ Schizophyllaceae พบจำนวน 2 ตัวอย่าง (7.14%) ในขณะที่วงศ์ Auriculariaceae, Dacrymycetaceae, Ganodermataceae, Hypocreaceae, Hypoxylaceae, Lyophyllaceae, Phallaceae, Physalacriaceae, Porotheleaceae, Pyronemataceae, Sclerodermataceae, Stereaceae และ Xylariaceae พบวงศ์ละ 1 ตัวอย่าง (3.57%) โดยมีเห็ดราขนาดใหญ่จำนวน 3 ตัวอย่าง (10.71%) ที่ไม่สามารถจัดจำแนกในระดับชนิดได้ คือ *Gerronema* sp. (WK25), *Marasmius* sp. (WK29) และ *Picipes* sp. (WK10)

จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่าเห็ดราส่วนใหญ่มีบทบาทเป็นผู้ย่อยสลายหรือกลุ่มเห็ดกินซาก (Saprotroph) จำนวน 25 ชนิด (89.28%) พบเห็ดที่มีบทบาทเป็นปรสิตกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น (Pathotroph) จำนวน 1 ชนิด (3.57%) คือ *Ganoderma williamsianum* (WK5) และพบเห็ดที่มีบทบาทพึ่งพาอาศัยกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น (Symbiotroph) จำนวน 2 ชนิด (7.14%) คือ *Termitomyces cylindricus* (WK12) และ *Scleroderma xanthochroum* (WK17) นอกจากนี้เห็ดราขนาดใหญ่ที่พบในการศึกษาครั้งนี้และมีรายงานว่าสามารถกินได้ พบจำนวน 7 ชนิด (25%) คือ เห็ดหูหนู *Auricularia cornea* (WK19) (Thongklang, Keokanngeun, Talam, & Hyde, 2020 :

120-130), เห็ดพายทอง *Dacryopinax spathularia* (WK18) (Additives et al., 2021: e06609; Bitzer et al., 2019: 162-168), เห็ดเยื่อไผ่ *Phallus lutescens* (WK20) (Li et al., 2020: 19-37), เห็ดจวกุ้ง *Sanguinoderma rugosum* (WK4) (Chan, P.M., et al., 2013 : 1-7; Mai, Y. et al., 2022 : 600-608), เห็ดแครง *Schizophyllum commune* (WK15) (Singh et al., 2021: 110399), เห็ดปลวก *Termitomyces cylindricus* (WK12) (Jannual et al., 2020: 2481-2491) และเห็ดจมูกหมู *Trichaleurina javanica* (WK24) (Kumar, Nithya & Kayalvizhi, 2021 : 18398–18402) โดยพบเห็ดที่มีรายงานว่าเป็นพิษ จำนวน 1 ชนิด (3.57%) คือ *Scleroderma xanthochroum* (WK17) (Sato, Tomonari, Kaneko, & Yo, K., 2019 : 1-9) ทั้งนี้เห็ดราขนาดใหญ่จำนวนชนิดที่เหลือไม่มีข้อมูลของการกินหรือความเป็นพิษ พบจำนวน 20 ชนิด (71.43%)

อภิปรายผล

จากการสำรวจเห็ดราขนาดใหญ่ภายในพื้นที่สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด โดยการเก็บตัวอย่างแล้วทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและทำการระบุชนิดด้วยวิธีทางอณูชีววิทยาโดยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) ร่วมกับการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง Internal Transcribed Spacer (ITS) นั้น ตามปกติแล้วลำดับนิวคลีโอไทด์ของสิ่งมีชีวิตที่ให้ผลร้อยละความคล้ายคลึง (% Similarity หรือ % Identity) มากกว่าหรือเท่ากับ 97.0% เมื่อเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล เราจะสามารถระบุชนิดได้ในระดับชนิด (Species-level identification) ส่วนลำดับนิวคลีโอไทด์ของสิ่งมีชีวิตที่ให้ผลร้อยละความคล้ายคลึงในช่วง 90.0-96.9% เราจะสามารถระบุชนิดได้ในระดับสกุล (Genus-level identification) อย่างไรก็ตามในการศึกษาอนุกรมวิธานของเชื้อรา หากพบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราที่ให้ผลร้อยละความคล้ายคลึงน้อยกว่า 98.0% เมื่อเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล อาจะหมายถึงตัวอย่างเชื้อรานี้อาจจะเป็นชนิดใหม่ที่แตกต่างจากชนิดที่มีอยู่ในฐานข้อมูล (Surawut et al., 2023 : 1-19)

ดังเช่นในการศึกษาครั้งนี้ พบเห็ดราหลายชนิด (Collection number WK26, WK28, WK29 และ WK30) ที่ให้ผลร้อยละความคล้ายคลึงน้อยกว่า 98.0% ขณะที่ WK25 และ WK10 ให้ผลร้อยละความคล้ายคลึงมากกว่า 99.0% กับเห็ดราที่สามารถระบุได้เฉพาะสกุล (Unknown species) (ยกเว้น WK29 ซึ่งแสดงร้อยละความคล้ายคลึงเท่ากับ 92.41%) ดังนั้นตัวอย่างเห็ดราเหล่านี้ที่พบในการศึกษาครั้งนี้จึงควรทำการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่งอื่น ๆ เพื่อให้สามารถระบุชนิดได้อย่างถูกต้อง

ในปัจจุบัน การระบุชนิดเห็ดราขนาดใหญ่โดยใช้เพียงลักษณะทางสัณฐานวิทยาอาจไม่สามารถระบุชนิดของเห็ดราที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันซึ่งมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่คล้ายกัน

อย่างมาก ดังนั้นการระบุชนิดด้วยวิธีทางอนุชีววิทยาโดยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์จึงเป็นวิธีการหนึ่งที่ใช้ควบคู่กับการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาเพื่อให้สามารถระบุชนิดได้อย่างถูกต้อง ถึงแม้ลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง ITS จะนิยมใช้เพื่อทำการระบุชนิดของเชื้อรา แต่เชื้อราบางชนิดก็ไม่สามารถทำการระบุชนิดได้ด้วยตำแหน่ง ITS เพียงตำแหน่งเดียว (Raja, et al., 2017 : 756-770; White et al., 1990 : 315-322)

ปัจจุบันมีการใช้ยีนหลายตำแหน่งร่วมกันในการระบุชนิดเชื้อรา เช่น nuclear large subunit rDNA (LSU), nuclear small subunit rDNA (SSU), translation elongation factor 1- α (*tef1- α*), RNA polymerase II second largest subunit (*rpb2*), beta-tubulin (*tub*), actin (*act*) และ cyclooxygenase gene (*cox*) ดังเช่นในรายงานของ Cho et al. (2015 : 408-414) ได้ทำการระบุชนิดเห็ด *Amanita* ด้วยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง ITS และ LSU ร่วมกัน พบว่าสามารถระบุชนิดได้เป็น *Amanita fulva*, *A. ejiji*, *A. volvata*, *A. manginiana*, *A. pallidrosea*, *A. rubescens*, *A. supjunquillea* และพบเห็ดที่มีรายงานใหม่คือ *Amanita caesareoides*, *A. girseoturcosa*, *A. imazekii*, *A. sepiacea* แต่มีเห็ดจำนวน 2 ตัวอย่างที่ไม่สามารถระบุชนิดได้

ในการศึกษาครั้งนี้ พบเห็ดราหลายชนิด (Collection number WK26, WK28, WK29 และ WK30) ที่ให้ผลร้อยละความคล้ายคลึงน้อยกว่า 98.0% และมีเห็ดราขนาดใหญ่ที่ไม่สามารถจัดจำแนกในระดับชนิดได้ คือ *Gerronema* sp. (WK25), *Marasmius* sp. (WK29) และ *Picipes* sp. (WK10) ซึ่งตัวอย่างเห็ดราเหล่านี้ อาจจะเป็นเห็ดชนิดใหม่ที่ยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน ดังนั้นจึงควรทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์เพิ่มเติมในตำแหน่งอื่น ๆ ดังเช่นในการระบุชนิดของเห็ดในสกุล *Gerronema* ได้มีรายงานการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 2 ตำแหน่งร่วมกัน คือ ITS และ LSU (Na et al., 2022 : 87-120) ในขณะที่การระบุชนิดเห็ดราในวงศ์ Marasmiaceae รวมทั้งสกุล *Marasmius* ได้มีการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 3 ตำแหน่งร่วมกัน คือ ITS, LSU, และ mtSSU (Amoako-Attah et al., 2020 : 3033-3042) นอกจากนี้การศึกษาในเห็ด *Picipes* sp. พบว่ามีเห็ดราวิเคราะห์ตำแหน่ง SSU, TUB, TEF1- α , RPB1 และ RPB2 ร่วมกันเพื่อทำการระบุชนิด (Zhou et al., 2016 : 1-10) ดังนั้นในการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนเหล่านี้เพิ่มเติมร่วมกับตำแหน่ง ITS อาจจะทำให้สามารถทราบชนิดของเห็ดราขนาดใหญ่เหล่านี้ได้ถูกต้องมากยิ่งขึ้น

ความหลากหลายชนิดของเห็ดราขนาดใหญ่ในพื้นที่หนึ่ง มีหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้อง เช่น สภาพภูมิประเทศ ระดับความสูงของพื้นที่จากน้ำทะเล ประเภทของป่าไม้และพรรณไม้ สภาพอากาศ อุณหภูมิ และความชื้น เป็นต้น โดยจังหวัดตราดมีที่ตั้งอยู่ในภาคตะวันออกของประเทศไทย มีสภาพภูมิอากาศแบบร้อนชื้นและมีฝนตกชุก ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างในเดือนมิถุนายนซึ่งอยู่ช่วงต้นของฤดูฝน จึงทำให้ในการศึกษาครั้งนี้พบความหลากหลายชนิดของเห็ดราขนาดใหญ่ได้จำนวนมาก โดยพบกลุ่มเห็ดครีบ (Gilled fungi) จำนวนมากที่สุด (39.29%) และพบว่าวงศ์ Polyporaceae มีจำนวน

ชนิดของเห็ดราหลากหลายมากที่สุด (25%) เช่นเดียวกับที่มีรายงานการศึกษาความหลากหลายของเห็ดราในจังหวัดกาญจนบุรี ประเทศไทย ซึ่งได้รายงานว่าในฤดูฝนจะพบความหลากหลายของเห็ดรามากกว่าฤดูแล้ง (Sutjaritvorakul et al., 2017 : 425-31)

ทั้งนี้สวนยางพารา มาจากการเปลี่ยนแปลงสภาพป่าดั้งเดิมที่มีพรรณไม้มานานชนิดให้เปลี่ยนแปลงเกษตรที่ปลูกพืชเชิงเดี่ยว ดังนั้นความหลากหลายของชนิดเห็ดราในพื้นที่ดังกล่าวจึงได้รับผลกระทบจากสภาพพื้นที่ที่เปลี่ยนแปลงไปเพื่อทำการเกษตร โดย Li et al. (2018 : 1-14) ได้ทำการศึกษเปรียบเทียบความหลากหลายของเห็ดราในป่าดั้งเดิมและป่าที่ถูกเปลี่ยนแปลงเป็นพื้นที่ทำการเกษตรบริเวณลุ่มแม่น้ำโขง พบว่าในพื้นที่ป่าดั้งเดิมมีความหลากหลายชนิดของเห็ดราขนาดใหญ่มากกว่าพื้นที่ที่ถูกเปลี่ยนแปลงมาทำการเกษตร ทั้งนี้ Lan et al. (2020 : 1-9) ได้อธิบายไว้ว่าการเปลี่ยนแปลงสภาพป่าดั้งเดิมมาทำเป็นแปลงเกษตรสวนยางพาราส่งผลให้ประชากรของเชื้อราในดินเปลี่ยนแปลงไปรวมถึงเชื้อเห็ดที่อยู่ในดินด้วย โดยพบว่าเชื้อราในที่อยู่ในดินส่วนใหญ่จัดอยู่ในไฟลัม Ascomycota จะเห็นได้ว่าการปลูกพืชเชิงเดี่ยว เช่น การทำสวนยางพารา และกิจกรรมทางการเกษตรของมนุษย์ส่งผลต่อความหลากหลายของชีวภาพและกิจกรรมของเชื้อราในดิน ซึ่งส่งผลทำให้การหมุนเวียนธาตุอาหารและปฏิสัมพันธ์ของเชื้อรากับสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ สูญเสียไป อย่างไรก็ตาม การเปลี่ยนแปลงประชากรของเชื้อราในดินจากการทำการเกษตรก็ไม่ได้มีแต่ข้อเสียเนื่องจากมีรายงานการค้นพบเชื้อราชนิดใหม่ (New species) ในพื้นที่สวนยางพารา (Xu et al., 2024 : 71-95) โดยเชื้อราชนิดใหม่นี้อาจจะมีประโยชน์ต่อมนุษย์ในด้านอื่น ๆ เช่น การผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและมีฤทธิ์ทางยา การสร้างเอนไซม์ที่มีประโยชน์ทางอุตสาหกรรม เป็นต้น ซึ่งจะต้องทำการศึกษาต่อไป

ดังนั้น ข้อมูลจากการศึกษาในครั้งนี้ จึงทำให้ทราบถึงความหลากหลายของเห็ดราขนาดใหญ่ในพื้นที่สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด โดยการระบุชนิดเห็ดราด้วยวิธีทางอนุชีววิทยาเป็นหลัก ซึ่งทำให้ผลในการระบุชนิดของเห็ดรามีความถูกต้องแม่นยำและน่าเชื่อถือต่อการนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ประโยชน์ในการจัดทำฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของเห็ดราขนาดใหญ่ในพื้นที่สวนยางพารา เพื่อนำไปประกอบในการประเมินมาตรฐาน FSC ของเกษตรกรชาวสวนยางในพื้นที่ตำบลวังตะเคียน ซึ่งเป็นสมาชิกของสหกรณ์ตราดยางพาราจำกัด โดยหากได้รับการรับรองมาตรฐานดังกล่าว จะทำให้เกษตรกรสามารถขายน้ำยางพาราได้ในราคาที่สูงขึ้น อีกทั้งยังสามารถถ่ายทอดองค์ความรู้เรื่องชนิดของเห็ดกินได้และเห็ดพิษที่พบในพื้นที่สวนยางพารา เพื่อการเฝ้าระวังการเก็บเห็ดพิษไปรับประทาน ส่วนเห็ดที่มีรายงานว่ากินได้ยังสามารถเก็บเพื่อนำไปประกอบอาหารหรือจำหน่ายเพื่อเป็นรายได้เสริมให้กับเกษตรกรอีกด้วย

ข้อเสนอแนะ

1. ในการระบุชนิดเห็ดด้วยวิธีทางอนุชีววิทยา หากทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง ITS เพียงตำแหน่งเดียวไม่สามารถระบุชนิดได้ จะต้องเพิ่มการวิเคราะห์ตำแหน่งอื่น ๆ เพื่อให้สามารถระบุชนิดของเห็ดได้อย่างถูกต้อง
2. ผลจากการสำรวจพบว่าในเห็ดบางชนิดมีสารประกอบสำคัญที่เป็นประโยชน์ ที่จะสามารถต่อยอดงานวิจัยเพื่อนำไปสกัดใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ได้ เช่น เห็ดแครง (*Schizophyllum commune*)
3. การศึกษาครั้งนี้พบเห็ดที่มีรายงานว่ากินได้หลายชนิด ซึ่งสามารถต่อยอดนำไปศึกษาการเพาะเลี้ยงในระดับห้องปฏิบัติการและในระดับโรงเรือน เพื่อเพาะเลี้ยงให้เป็นเห็ดเศรษฐกิจที่สร้างรายได้ให้กับชุมชน
4. เห็ดกินได้บางชนิดสามารถนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์แปรรูปได้หลากหลาย และเพื่อเป็นสินค้าที่สร้างรายได้ให้แก่ชุมชน

บรรณานุกรม

- ขวัญเรือน นาคสุวรรณกุล และคนอื่น ๆ. (2566). การระบุชนิดเห็ดพิษและเห็ดรับประทานได้ด้วย
ลักษณะสัณฐานวิทยา ภูมิปัญญาท้องถิ่น และการแพร่กระจายในประเทศไทย. **วารสาร
วิทยาศาสตร์บูรพา**, 27(1), 66-84.
- ณัฐกานต์ หนูรุ่ม และคนอื่น ๆ. (2566). การใช้ nuclear ITS region เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอ
บาร์โค้ดในการตรวจระบุชนิดเห็ดสกุล *Macrocybe* ที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ. **วารสาร
พิษวิทยาไทย**, 38(1), 55-67.
- เทียมหทัย ชูพันธ์. (2565). การศึกษาเห็ดด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาในอุทยานแห่งชาติภูแลนคา
จังหวัดชัยภูมิ. **วารสารวิทยาศาสตร์ วิศวกรรมศาสตร์ และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัย
ราชภัฏเลย**, 2(1), 1-11.
- บารมี สกลรักษ์ และคนอื่น ๆ. (2560). **คู่มือการศึกษาความหลากหลายเห็ด**. กรุงเทพฯ : สำนักวิจัย
การอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช, กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช.
- มหาวิทยาลัยนเรศวร. (2568). **บทที่ 5 โมเลกุลอาร์เอ็นเอ**. (ออนไลน์). เข้าถึงได้จาก:
<http://conf.agi.nu.ac.th/webnewasp/ereading/gene/unit5.pdf>.
วันที่สืบค้น 8 สิงหาคม 2567.
- ราชบัณฑิตยสถาน. (2550). **เห็ดในประเทศไทย**. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: ราชบัณฑิตยสถาน.
- ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ. (2544). **เห็ดและราในประเทศไทย**. กรุงเทพฯ:
สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ.
- สัญญา พงษ์กร. (2561). **อณูไวรัสวิทยาเชิงคอมพิวเตอร์**. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์
มหาวิทยาลัย.
- สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช. (2554). **คู่มือการสำรวจความหลากหลายของเห็ด**.
กรุงเทพฯ : กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช.
- อนงค์ จันทรศรีกุล, พูนพิไล สุวรรณฤทธิ์, และอุทัยวรรณ แสงวณิช. (2551). **ความหลากหลายของ
เห็ดและราขนาดใหญ่ในประเทศไทย**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Additives, EPoF. et al. (2021). Safety evaluation of long-chain glycolipids from
Dacryopinax spathularia. **EFSA journal European Food Safety Authority**,
19(6), e06609.
- Amoako-Attah, I. et al. (2020). Identification and characterization of fungi causing thread
blight diseases on cacao in Ghana. **Plant Disease**, 104(11), 3033-3042.

- Bellemain, E. et al. (2010). ITS as an environmental DNA barcode for fungi: an in silico approach reveals potential PCR biases. **BMC Microbiology**, 10: 1-9.
- Bitzer, J. et al. (2019). Genetic toxicity studies of glycolipids from *Dacryopinax spathularia*. **Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association**, 123, 162-168.
- Chan, P.M. et al. (2013). *Amauroderma rugosum* (Blume & T. Nees) Torrend: Nutritional composition and antioxidant and potential anti-inflammatory properties. **Evidence-based complementary and alternative medicine**, 1-10.
- Cho, H. J. et al. (2015). Four New Species of *Amanita* in Inje County, Korea. **Mycobiology**, 43(4), 408-414.
- Drabik, A., Kulakowska A.B. & Silberring, J. (2013). Gel Electrophoresis. In **Proteomic Profiling and Analytical Chemistry**. (pp. 115-143). Amsterdam : Elsevier.
- Encyclopaedia Britannica. (2024). **Polymerase chain reaction: facts & related content**. (online). Available: <http://www.britannica.com/facts/polymerase-chain-reaction>. 1 May 2024.
- Felsenstein, J. (1985). Confidence Limits on Phylogenies: An Approach Using the Bootstrap. **Evolution**, 39(4), 783-791.
- FUNGuild. (2023). ตัวอย่างผลการสืบค้นด้วยโปรแกรม FUNGuild. (online). Available: <https://github.com/UMNFun/FUNGuild>. 27 March 2023.
- Gibthai. (2024). ขั้นตอนการทำงานของ Sanger sequencing. (online). Available: https://www.gibthai.com/service/article_detail/214/Capillary-DNA-sequencing-Sanger-Sequencing. 22 May 2024.
- Jannual, N. et al. (2020). Morphological and molecular characterization of *Termitomyces* (Lyophyllaceae, Agaricales) in Thailand. **Biodiversitas Journal of Biological Diversity**, 21(6), 2481-2491.
- Kumla, J. et al. (2023). A New Edible Wild Mushroom Species, *Panus sribuabanensis* (Panaceae, Polyporales) from Northern Thailand and Its Nutritional Composition, Total Phenolic Content, and Antioxidant Activity. **Mycologia**, 1-12.

- Kumar, M., Nithya, S. & Kayalvizhi, A.A. (2021). First report of the fleshy mushroom *Trichaleurina javanica* (Rehm) M. Carbone et al. (Ascomycota: Pezizales: Chorioactidaceae) from southern India. **Journal of Threatened Taxa**, 13(5), 18398–18402.
- Kumar, S., et al. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. **Molecular Biology and Evolution**, 35(6), 1547-1549.
- Lan, G. et al. (2020). Tropical rainforest conversion into rubber plantations results in changes in soil fungal composition, but underlying mechanisms of community assembly remain unchanged. **Geoderma**, 375, 1-9.
- Li, H. et al. (2018). Native forests have a higher diversity of macrofungi than comparable plantation forests in the Greater Mekong Subregion. **Forests**, 9(7), 1-14.
- Li, T., et al. (2020). *Phallus dongsun* and *P. lutescens*, two new species of Phallaceae (Basidiomycota) from China. **Phytotaxa**, 443(1), 19-37.
- Liu, D., Coloe, S., Baird, R. & Pedersen, J. 2000. Rapid Mini-Preparation of Fungal DNA for PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, 38, 471.
- Mai, Y. et al. (2022). Gastroprotective effects of water extract of domesticated *Amauroderma rugosum* against several gastric ulcer models in rats. **Pharmaceutical biology**, 60(1), 600-608.
- Na, Q. et al. (2022). Updated taxonomy on *Gerronema* (Porotheleaceae, Agaricales) with three new taxa and one new record from China. **MycKeys**, 89, 87-120.
- NCBI. (2023). หน้าต่างโปรแกรม BLAST N. (online). Available: www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank. 27 March 2023.
- NCBI. (2023). ตัวอย่างผลการ BLAST. (online). Available: www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank. 27 March 2023.
- Nguyen, N.H. et al. (2016). FUNGuild: An open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild. **Fungal Ecology**, 20, 241-248.
- Parnmen, S. et al. (2020). Phylogenetic evidence revealed *Cantharocybe virosa* (Agaricales, Hygrophoraceae) as a new clinical record for gastrointestinal mushroom poisoning in Thailand. **Toxicology Research**, 36, 239–248.

- Raja, H.A. et al. 2017. Fungal identification using molecular tools: a primer for the natural products research community. **Journal of Natural Product**, 80(3), 756–770.
- Saitou, N. & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. **Molecular Biology and Evolution**, 4(4), 406–425.
- Sato Y., Tomonari H., Kaneko Y., & Yo K. (2020). Mushroom poisoning with *Scleroderma albidum*: a case report with review of the literature. **Acute Medicine & Surgery**, 7(1), e460.
- Singh, S., et al. (2021). Characterization and development of cultivation technology of wild split gill *Schizophyllum commune* mushroom in India. **Scientia Horticulturae**, 289, 110399.
- Surawut, S. et al. (2021). Diversity and the Molecular Identification of Some Ascomycetes Macrofungi Found in the Para Rubber Plantation, Thailand. **Journal of Biochemical Technology**, 12(4), 50-56.
- Surawut, S. et al. (2023). Biodiversity and Functional Distribution of Macrofungi from Plant Genetic Conservation Area, Chanthaburi Province, Thailand. **Current Applied Science and Technology**, 23(5), 1-19.
- Sutjaritvorakul, T. et al. (2017). The study of seasonal and climate changes on macrofungi biodiversity in the community forest at Sai Yok District, Kanchanaburi Province, Thailand. **International Journal of Agricultural Technology**, 13(3), 425-431.
- Tamura, K., Nei, M. & Kumar, S. (2004). Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 101(30), 11030-11035.
- Thongklang, N. et al. (2020). Cultivation of a wild strain of *Auricularia cornea* from Thailand. **Current Research in Environmental & Applied Mycology**, 10(1), 120-130.
- White, T.J. et al. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. **PCR Protocols**, 315-322.

- Xu, R-F. et al. (2024). Four new species of Dothideomycetes (Ascomycota) from Para rubber (*Hevea brasiliensis*) in Yunnan Province, China. **MycoKeys**, 103, 71-95.
- Zhou, J.L., et al. (2016). Taxonomy and Phylogeny of *Polyporus* Group *Melanopus* (Polyporales, Basidiomycota) from China. **PloS one**, 11(8), 1-10.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การเตรียมสารเคมี

การเตรียม 2% Agarose gel

ชั่งเจล 1.0 กรัม ผสมกับ 1x TAE Buffer ปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยค่อย ๆ หลอมให้เจลละลายหมดด้วยเครื่องไมโครเวฟ จนสังเกตเห็นเจลใสเป็นเนื้อเดียวกัน ไม่มีเม็ดเจลปนอยู่ เมื่อเจลละลายจนหมด นำขวดเจลไปแกว่งในอ่างน้ำเพื่อลดอุณหภูมิลงแต่ไม่ให้เจลแข็งตัว จากนั้นเติมสีย้อม DNA (RedSafe) ปริมาตร 5 ไมโครลิตร แกว่งขวดเจลให้เข้ากัน แล้วเทลงภาตสำหรับเตรียมเจล

การเตรียม 70% Alcohol

ตวง 95% Alcohol ปริมาตร 750 ml ผสมลงไปในน้ำกลั่น 250 ml

การเตรียม Lysis buffer

สูตรในการเตรียม ประกอบด้วย

400 mM Tris-HCl [pH 8.0]

60 mM EDTA [pH 8.0]

150 mM NaCl

1% Sodium dodecyl sulfate (SDS)

หากต้องการเตรียม Lysis buffer ปริมาตร 100 ml ให้ทำการเตรียมสารดังนี้

เตรียม Tris-HCl [pH 8.0] ที่ความเข้มข้น 1000 mM จากนั้นปิเปตปริมาตร 40 ml ใส่ในขวดแก้ว (Duran bottle) สำหรับเตรียมผสมสารเพื่อเป็น lysis buffer

เตรียม EDTA [pH 8.0] ที่ความเข้มข้น 500 mM จากนั้นปิเปตปริมาตร 12 ml ใส่ในขวดแก้วขวดเดิม

เตรียม NaCl ที่ความเข้มข้น 5000 mM จากนั้นปิเปตปริมาตร 3 ml ใส่ในขวดเดิม

เตรียม 1% Sodium dodecyl sulfate ปิเปตปริมาตร 10 ml ใส่ในขวดเดิม

เอาสารละลายทั้งหมดผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติมน้ำกลั่น 35 ml ให้ได้ปริมาตรครบ 100 ml แล้วนำไปแช่ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

การเตรียม Potassium acetate (pH 4.8)

สูตรในการเตรียม ประกอบด้วย

5 M potassium acetate 60.0 ml

Glacial acetic acid 11.5 ml

น้ำกลั่น (Distilled water) 28.5 ml

หากต้องการเตรียม Potassium acetate (pH 4.8) ปริมาตร 100 ml ให้ทำการเตรียมสารดังนี้

เตรียม Potassium acetate ที่ความเข้มข้น 5M แล้วปิเปตมาปริมาตร 60 ml ใส่ในขวดแก้ว (Duran bottle) จากนั้นปิเปต Glacial acetic acid ปริมาตร 11.5 ml ใส่ในขวดแก้วขวดเดิม แล้วทำการเติมน้ำกลั่นปริมาตร 28.5 ml เอาสารละลายทั้งหมดผสมให้เข้ากันในขวดแก้ว ทำการปรับ pH ให้เท่ากับ 4.8 แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

การเตรียม TAE buffer (1x)

หากต้องการเตรียม TAE buffer (1x) ปริมาตร 1,000 ml ให้ทำการเตรียมสารโดยปิเปต TAE buffer (50x) ปริมาตร 20 ml ผสมลงในในน้ำกลั่น 980 ml แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

การเตรียม TE buffer pH 8.0

เตรียมโดยละลาย Tris 1.211 กรัม และ EDTA 9.306 กรัม ในน้ำกลั่นที่ผ่านการกำจัดไอออน (Deionize water) ปรับ pH ให้เท่ากับ 8.0 ด้วย 0.01 M HCl ปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

การเตรียม Working Primer ที่ความเข้มข้น 10 μ M

เตรียมจาก Stock Primer ที่ความเข้มข้น 100 μ M

จากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

(ความเข้มข้นของสาร1) (ปริมาตรของสาร1) = (ความเข้มข้นของสาร2) (ปริมาตรของสาร2)

$$(100 \mu\text{M}) (V_1) = (10 \mu\text{M}) (500 \mu\text{l})$$

$$V_1 = 50 \mu\text{l}$$

ดังนั้น ปิเปต Stock Primer ที่ความเข้มข้น 100 μ M ปริมาตร 50 μ l ผสมน้ำกลั่น (PCR grade) ปริมาตร 450 μ l ผสมให้เข้ากัน แล้วทำการแบ่งใส่หลอด หลอดละ 100 μ l เก็บที่ -20 องศาเซลเซียส นำออกมาใช้ที่หลอด

ภาคผนวก ข

ข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยา
และอนุกรมวิธานของเห็ดราขนาดใหญ่ที่สำรวจพบ
ในพื้นที่สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอลำสมิ
จังหวัดตรัง

รหัส : WK1

ชื่อทั่วไป : -

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Trichoderma
pezizoides*

อนุกรมวิธาน(Taxonomy)

Kingdom: Fungi

Phylum: Ascomycota

Class: Sordariomycetes

Order: Hypocreales

Family: Hypocreaceae

Genus: *Trichoderma*

Species: *Trichoderma pezizoides*



ลักษณะทั่วไป : ดอกเป็นแผ่นกลมหรือเกือบกลม นูนและแข็ง ดอกเห็ดติดกับพื้นผิวและไม่มีก้าน เรียกว่า Stroma มีสีส้มแดง มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.2-1.0 เซนติเมตร

สภาพที่อยู่อาศัย : กิ่งไม้ผุ

การเจริญของดอกเห็ด : เจริญแบบดอกเดี่ยวหรือกลุ่ม

การใช้ประโยชน์ : เป็นผู้อย่อยสลายในระบบนิเวศ และไม่มีข้อมูลว่ารับประทานได้หรือไม่

สถานที่พบ : สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด

รหัส : WK2

ชื่อทั่วไป : เห็ดดันทมิ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Daldinia eschscholtzii*

อนุกรมวิธาน (Taxonomy)

Kingdom: Fungi

Phylum: Ascomycota

Class: Sordariomycetes

Order: Xylariales

Family: Hypoxylaceae

Genus: *Daldinia*

Species: *Daldinia eschscholtzii*



ลักษณะทั่วไป : ดอกเห็ดมีลักษณะก้อนกลม มีสีน้ำตาลดำอมม่วง ดอกเห็ดแห้งมีลักษณะผิวเรียบ คล้ายก้อนหิน เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1-4 เซนติเมตร ดอกเจริญเกาะติดกับพื้นผิวเปลือกต้นไม้ ไม่มีก้านดอก

สภาพที่อยู่อาศัย : บนขอนไม้

การเจริญของดอกเห็ด : ดอกเดี่ยวหรือกลุ่ม

การใช้ประโยชน์ : เป็นผู้อย่อยสลายในระบบนิเวศ และไม่มีรายงานว่ารับประทานได้

สถานที่พบ : สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด

รหัส : WK3

ชื่อทั่วไป : เห็ดไผ่ลาเรีย

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Xylaria feejeensis*

อนุกรมวิธาน (Taxonomy)

Kingdom: Fungi

Phylum: Ascomycota

Class: Leotiomyces

Order: Leotiales

Family: Xylariaceae

Genus: *Xylaria*

Species: *Xylaria feejeensis*



ลักษณะทั่วไป : ดอกเห็ดมีลักษณะเป็นทรงกระบอกยาวเรียว สีดำหรือน้ำตาลดำ ผิวไม่เรียบ ขรุขระ มีความแข็งกรอบ ขนาดยาวประมาณ 2-6 เซนติเมตร ขึ้นเป็นกลุ่มเยอะๆ

สภาพที่อยู่อาศัย : บนขอนไม้

การเจริญของดอกเห็ด : ดอกกลุ่ม

การใช้ประโยชน์ : เป็นผู้อย่อยสลายในระบบนิเวศ และไม่มีข้อมูลว่ารับประทานได้หรือไม่

สถานที่พบ : สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด

รหัส WK4

ชื่อทั่วไป: เห็ดจวกู

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Sanguinoderma rugosum*

อนุกรมวิธาน (Taxonomy)

Kingdom: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Class: Agaricomycetes

Order: Polyporales

Family: Ganodermataceae

Genus: *Sanguinoderma*

Species: *Sanguinoderma rugosum*



ลักษณะทั่วไป: ลักษณะของดอกเห็ดจะมีสีน้ำตาลหรือน้ำตาลอมดำ พื้นผิวหยาบเป็นร่องเล็ก ๆ หรือเป็นรอยย่น มีความกว้างขนาด 4-6 เซนติเมตร ดอกอ่อนตรงบริเวณขอบดอกจะมีสีขาว ใต้ดอกเป็นรูขนาดเล็กสีเทา ลักษณะก้านทรงกระบอกเล็ก ติดค่อนข้างทางด้านข้าง สีน้ำตาลเช่นเดียวกับดอก เนื้อภายในก้านตัน ทั้งดอกเห็ดและก้านมีลักษณะเนื้อที่แข็ง เหนียว และไม่มีกลิ่น

สภาพที่อยู่อาศัย: บนพื้นดิน

การเจริญของดอกเห็ด: เจริญเป็นดอกเดี่ยว

การใช้ประโยชน์: เป็นผู้ย่อยสลายในระบบนิเวศ และมีรายงานว่ารับประทานได้

สถานที่พบ: สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด

รหัส WK5

ชื่อทั่วไป: เห็ดหิ้ง

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Ganoderma williamsianum*

อนุกรมวิธาน (Taxonomy)

Kingdom: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Class: Agaricomycetes

Order: Polyporales

Family: Polyporaceae

Genus: *Ganoderma*

Species: *Ganoderma williamsianum*



ลักษณะทั่วไป: ลักษณะของดอกเห็ดคล้ายรูปพัดหรือครึ่งวงกลม ขนาดของดอกเห็ดยาวประมาณ 35-50 มิลลิเมตร กว้าง 45-75 มิลลิเมตรหนา 5-8 มิลลิเมตร ดอกเห็ดจะมีสีน้ำตาล พื้นผิวของดอกเห็ดส่วนด้านบนขรุขระเป็นคลื่น มีลักษณะมันเงา ขอบหมวกเมื่อมองจากด้านบนจะเรียบ หรือเป็นหยักห่าง ๆ เนื้อของดอกเห็ดมีความแข็งและเหนียวมาก

สภาพที่อยู่อาศัย: บนต้นไม้ที่มีชีวิต

การเจริญของดอกเห็ด: เจริญเป็นดอกเดี่ยว

การใช้ประโยชน์: เป็นผู้ย่อยสลายในระบบนิเวศ และไม่มีข้อมูลว่ารับประทานได้หรือไม่

สถานที่พบ: สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด

รหัส : WK6

ชื่อทั่วไป : เห็ดหิ้ง

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Funalia aspera*

อนุกรมวิธาน (Taxonomy)

Kingdom: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Class: Agaricomycetes

Order: Polyporales

Family: Polyporaceae

Genus: *Funalia*

Species: *Funalia aspera*



ลักษณะทั่วไป : ดอกเห็ดทรงครึ่งวงกลม แบนและบาง เหมือนแผ่นหนัง มีลายซ้อนกันหลายชั้น ขอบเห็ดมีความเว้าแหว่ง สีน้ำตาลเข้มไล่สีน้ำตาลอ่อน ค่อนข้างแข็ง เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2-3 เซนติเมตร ด้านหลังมีลักษณะเป็นรู

สภาพที่อยู่อาศัย : ขอนไม้ที่ตายแล้ว

การเจริญของดอกเห็ด : ดอกเดี่ยว

การใช้ประโยชน์ : เป็นผู้อย่อยสลายในระบบนิเวศ ไม่มีข้อมูลว่ารับประทานได้หรือไม่

สถานที่พบ : สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด

รหัส : WK7

ชื่อทั่วไป : เห็ดหิ้ง

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Coriolopsis*
retropicta

อนุกรมวิธาน (Taxonomy)

Kingdom: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Class: Agaricomycetes

Order: Polyporales

Family: Polyporaceae

Genus: *Coriolopsis*

Species: *Coriolopsis retropicta*



ลักษณะทั่วไป : ดอกเห็ดมีลักษณะเป็นแผ่นโค้งเป็นครึ่งวงกลมคล้ายใบพัด เนื้อเยื่อของดอกเห็ดจะมีความเหนียว บริเวณฐานดอกเห็ดที่ติดกับเนื้อไม้มีลักษณะคอดเล็กน้อยแต่ไม่มีก้าน ขอบดอกเห็ดมีลักษณะเรียบมีสีขาวย บริเวณหมวกดอกแบ่งเป็นโซนสีต่าง ๆ ได้แก่ สีน้ำตาลเข้ม น้ำตาลอ่อน และเหลืองอ่อน สลับกันเป็นวง ได้หมวกดอกมีสีน้ำตาลแดงและมีรูขนาดเล็กจำนวนมาก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของรูใต้ดอกเห็ดประมาณ 1-2 มิลลิเมตร

สภาพที่อยู่อาศัย : บนขอนไม้

การเจริญของดอกเห็ด : ดอกเดี่ยว

การใช้ประโยชน์ : เป็นฟั่วย่อยสลายในระบบนิเวศ และไม่มีข้อมูลว่ารับประทานได้หรือไม่

สถานที่พบ : สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด

รหัส WK8

ชื่อทั่วไป: เห็ดกาบหอยขาว

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Trametes elegans*

อนุกรมวิธาน (Taxonomy)

Kingdom: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Class: Agaricomycetes

Order: Polyporales

Family: Polyporaceae

Genus: *Trametes*

Species: *Trametes elegans*



ลักษณะทั่วไป: ดอกเห็ดเป็นแบบรูปพัดหรือรูปไต มีความกว้าง 10-350 มิลลิเมตร ดอกเห็ดมีสีขาว เนื้อมีลักษณะเหนียวหยาบ พื้นผิวด้านล่างเป็นรูกลม ก้านไม่มีหรือมีก้านสั้น ๆ บริเวณตรงที่ดอกเห็ดติดกับก้านนั้นจะมีส่วนเว้าเข้า บริเวณขอบของดอกเห็ดมีความเรียบเสมอกัน

สภาพที่อยู่อาศัย: พบได้ตามกิ่งไม้ที่ตายแล้ว

การเจริญของดอกเห็ด: แบบเดี่ยว และแบบกลุ่ม

การใช้ประโยชน์: เป็นผู้อย่อยสลายในระบบนิเวศ และไม่มีข้อมูลว่ารับประทานได้หรือไม่

สถานที่พบ: สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอลำสมิingue จังหวัดตรัง

รหัส WK9

ชื่อทั่วไป: -

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Trametes vernicipes*

อนุกรมวิธาน (Taxonomy)

Kingdom: Fungi

Phylum: Basidiomycota

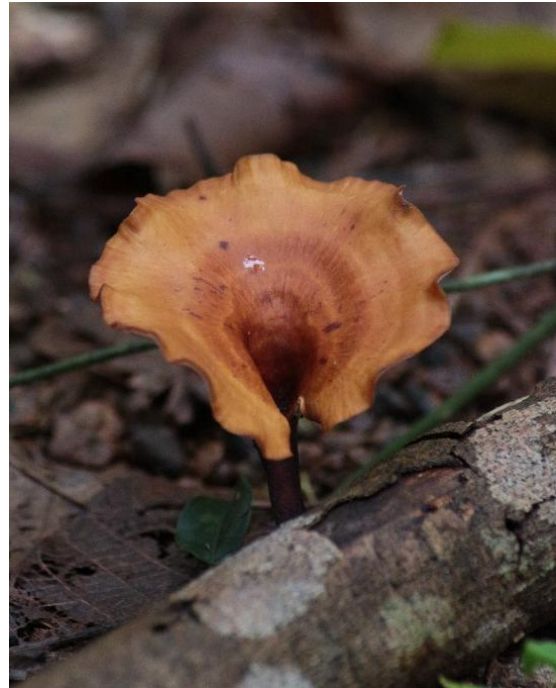
Class: Agaricomycetes

Order: Polyporales

Family: Polyporaceae

Genus: *Trametes*

Species: *Trametes vernicipes*



ลักษณะทั่วไป: ดอกเห็ดมีสีน้ำตาลและมีสีเข้มสลับอ่อนแยกเป็นชั้น ๆ ดอกมีลักษณะคล้ายกรวย มีก้านดอกสีน้ำตาลเข้ม แต่ก้านดอกค่อนข้างอยู่ทางด้านข้างของหมวกดอก ทำให้เป็นกรวยที่มีลักษณะแหงนไม่สมบูรณ์ ด้านใต้หมวกเห็ดหรือด้านหลังดอกมีลักษณะเรียบและมีสีขาว เนื้อดอกมีลักษณะเหนียวและแข็ง

สภาพที่อยู่อาศัย: ขึ้นบนกิ่งไม้ร่วงและขอนไม้ที่ตายแล้ว

การเจริญของดอกเห็ด: ดอกเดี่ยวหรือขึ้นเป็นกลุ่ม

การใช้ประโยชน์: เป็นผู้อย่อยสลายในระบบนิเวศ และไม่มีข้อมูลว่ารับประทานได้หรือไม่

สถานที่พบ: สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอลำสมิingue จังหวัดตราด

รหัส WK10

ชื่อทั่วไป: -

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Picipes* sp.

อนุกรมวิธาน (Taxonomy)

Kingdom: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Class: Agaricomycetes

Order: Polyporales

Family: Polyporaceae

Genus: *Picipes*

Species: -



ลักษณะทั่วไป: ดอกเห็ดมีลักษณะคล้ายพัด บริเวณริมขอบจะมีสีอ่อนหรือสีขาว ด้านในมีสีน้ำตาลอ่อน ลักษณะขอบดอกเรียบ ก้านเห็ดมีสีน้ำตาลอ่อน โดยก้านเห็ดนั้นจะเจริญเติบโตด้านข้างของขอบดอกเห็ด เนื้อดอกเห็ดและก้านมีความเหนียวและแข็ง

สภาพที่อยู่อาศัย: ขึ้นบนกิ่งไม้ร่วงและขอนไม้ที่ตายแล้ว

การเจริญของดอกเห็ด: ดอกเดี่ยวหรือขึ้นเป็นกลุ่ม

การใช้ประโยชน์: เป็นผู้อย่อยสลายในระบบนิเวศ และไม่มีข้อมูลว่ารับประทานได้หรือไม่

สถานที่พบ: สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอสว่าง จังหวัดตรัง

รหัส : WK11

ชื่อทั่วไป : เห็ดขอนแดง

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Trametes coccinea*

อนุกรมวิธาน (Taxonomy)

Kingdom: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Class: Agaricomycetes

Order: Polyporales

Family: Polyporaceae

Genus: *Trametes*

Species: *Trametes coccinea*



ลักษณะทั่วไป : ดอกเห็ดมีลักษณะคล้ายพัด เนื้อแข็งเหมือนเปลือกไม้ สีส้มแดง มีลายซ้อนกันหลายชั้นตรงปลายดอก ขอบดอกขรุขระ ไม่มีก้านหรือก้านสั้นมาก เจริญขึ้นบนขอนไม้ที่ตายแล้ว มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2-3 เซนติเมตร

สภาพที่อยู่อาศัย : ขอนไม้กิ่งไม้ที่ตายแล้ว

การเจริญของดอกเห็ด : ดอกเดี่ยว

การใช้ประโยชน์ : เป็นผู้อย่อยสลายในระบบนิเวศ ไม่มีข้อมูลว่ารับประทานได้หรือไม่

สถานที่พบ : สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด

รหัส WK12

ชื่อทั่วไป: เห็ดโคน เห็ดปลวก

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Termitomyces cylindricus*

อนุกรมวิธาน (Taxonomy)

Kingdom: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Class: Agaricomycetes

Order: Agaricales

Family: Lyophyllaceae

Genus: *Termitomyces*

Species: *Termitomyces cylindricus*



ลักษณะทั่วไป: ลักษณะของดอกเห็ดจะมีขนาดความกว้าง 0.5-2 เซนติเมตร รูปทรงของหมวกเห็ดเป็นแบบระฆังคว่ำ มีสีขาวนวล พื้นผิวเรียบ นุ่ม ขอบเป็นริ้ว ตรงกลางของดอกเห็ดจะสีเข้มกว่าบริเวณรอบ ๆ และมีความนูนแหลมเล็กน้อย มีครีbspสีขาว เรียงถี่ ดอกเห็ดไม่ยึดติดกับก้าน ซึ่งก้านนั้นมีความกว้าง 2-4 × 0.1-0.3 เซนติเมตร รูปทรงกระบอกขนาดใหญ่ ไม่มีวงแหวน

สภาพที่อยู่อาศัย: พบบนพื้นดินใกล้รังปลวก

การเจริญของดอกเห็ด: ดอกเดี่ยวหรืออยู่เป็นกลุ่ม

การใช้ประโยชน์: เป็นผู้อย่อยสลายในระบบนิเวศ และมีรายงานว่ารับประทานได้

สถานที่พบ: สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอลำสมิingue จังหวัดตราด

รหัส : WK13

ชื่อทั่วไป : เห็ดร่มก้านดำสีเหลือง

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Marasmius guyanensis*

อนุกรมวิธาน (Taxonomy)

Kingdom: Fungi

Phylum: Basidiomycota

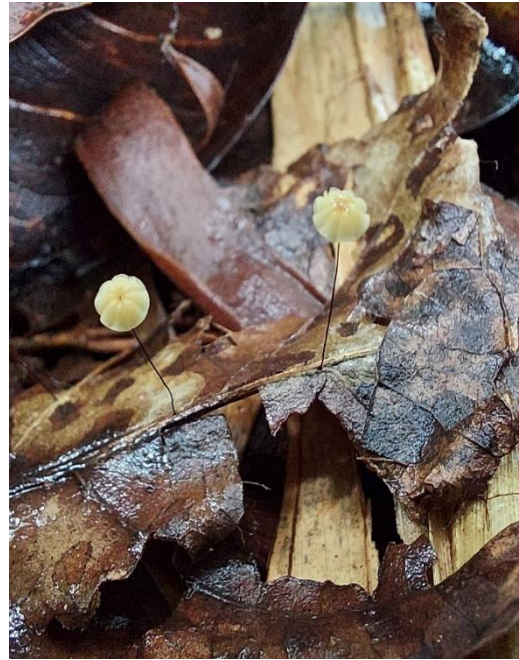
Class: Agaricomycetes

Order: Agaricales

Family: Marasmiaceae

Genus: *Marasmius*

Species: *Marasmius guyanensis*



ลักษณะทั่วไป : หมวกเห็ดคล้ายระฆังคว่ำ มีสีเหลือง มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3-18 มิลลิเมตร รูปร่างของหมวกเห็ดเป็นแบบครึ่งทรงกลม แล้วบานป้านออกเป็นรูปร่างโค้งนูน บริเวณกลางหมวกโป่งพองขึ้น พื้นผิวเรียบ มีร่องตื้นถึงค่อนข้างลึกตามแนวรัศมี มีครีบใต้หมวก ลักษณะครีบจะติดกับก้านที่มุมขอบหมวกเห็ด ก้านจะมีขนาด $8-48 \times 0.2-0.8$ มิลลิเมตร ก้านรูปร่างทรงกระบอก พื้นผิวเรียบ ก้านจะติดอยู่ตรงกลางหมวกเห็ดและมีสีดำ

สภาพที่อยู่อาศัย : ซากใบไม้หรือขอนไม้ที่ตายแล้ว

การเจริญของดอกเห็ด : ดอกเดี่ยวหรือกลุ่ม

การใช้ประโยชน์ : เป็นผู้อย่อยสลายในระบบนิเวศ และไม่มีข้อมูลว่ารับประทานได้หรือไม่

สถานที่พบ : สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด

รหัส : WK14

ชื่อทั่วไป : เห็ดร่มก้านดำสีแดง

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Marasmius*
haematocephalus

อนุกรมวิธาน (Taxonomy)

Kingdom: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Class: Agaricomycetes

Order: Agaricales

Family: Marasmiaceae

Genus: *Marasmius*

Species: *Marasmius haematocephalus*



ลักษณะทั่วไป : ดอกเห็ดมีสีแดง หมวกเห็ดโคนนุ่นคล้ายกระดิ่งตอนทางออกคล้ายร่ม มีรอยพับรอบหมวก เนื้อนิ่ม มีขนาดเล็ก ความกว้างประมาณ 0.5-0.8 เซนติเมตร ได้หมวกดอกมีครีบ ก้านดอกยาวมากและมีสีดำ ยาวประมาณ 2-3 เซนติเมตร

สภาพที่อยู่อาศัย : ซากใบไม้

การเจริญของดอกเห็ด : ดอกเดี่ยวหรือเป็นกลุ่ม

การใช้ประโยชน์ : เป็นผู้อย่อยสลายในระบบนิเวศ และไม่มีข้อมูลว่ารับประทานได้หรือไม่

สถานที่พบ : สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด

รหัส : WK15

ชื่อทั่วไป : เห็ดแครงหรือเห็ดตีนตุ๊กแก

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Schizophyllum commune*

อนุกรมวิธาน (Taxonomy)

Kingdom: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Class: Agaricomycetes

Order: Agaricales

Family: Schizophyllaceae

Genus: *Schizophyllum*

Species: *Schizophyllum commune*



ลักษณะทั่วไป : ดอกเห็ดคล้ายใบพัดค่อนข้างเล็ก ไม่มีก้านดอกหรือก้านสั้นมาก สีน้ำตาลอ่อนจนถึงสีขาว ขอบเห็ดมีลักษณะหยักเป็นแฉก ๆ แยกออกมาเหมือนนิ้ว ไม่หนา กว้างยาวประมาณ 1-2 เซนติเมตร ด้านหลังดอกเห็ดเป็นครีบลึ ๆ เนื้อเยื่อนี้มีสีน้ำตาล ดอกเจริญเป็นกลุ่มเกาะติดกับขอนไม้

สภาพที่อยู่อาศัย : บนขอนไม้ที่ตายแล้ว

การเจริญของดอกเห็ด : ดอกกลุ่ม

การใช้ประโยชน์ : เป็นผู้อย่อยสลายในระบบนิเวศ และมีข้อมูลว่ารับประทานได้

สถานที่พบ : สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด

รหัส : WK16

ชื่อทั่วไป : เห็ดทางไก่อ่งวงปลอม

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Stereum ostrea*

อนุกรมวิธาน (Taxonomy)

Kingdom: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Class: Agaricomycetes

Order: Russulales

Family: Stereaceae

Genus: *Stereum*

Species: *Stereum ostrea*



ลักษณะทั่วไป : ดอกเป็นรูปครึ่งวงกลมหรือรูปพัด มีขนาดกว้างประมาณ 4 – 10 เซนติเมตร ผิวสีน้ำตาลแดงสลับกับสีเหลืองหรือสีน้ำตาลอมเทา เรียงสลับกันซ้อนกันเป็นวง ขอบเรียบเป็นคลื่น เนื้อเหนียวคล้ายแผ่นหนัง บาง ไม่มีก้าน เจริญติดกับพื้นที่ยึดเกาะ

สภาพที่อยู่อาศัย : ขอนไม้ผุ

การเจริญของดอกเห็ด : เจริญเป็นกลุ่ม เรียงตัวซ้อนกัน

การใช้ประโยชน์ : เป็นผู้อย่อยสลายในระบบนิเวศ และไม่มีข้อมูลว่ารับประทานได้หรือไม่

สถานที่พบ : สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด

รหัส : WK17

ชื่อทั่วไป : เห็ดก้อนฝุ่นเหลืองทอง

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Scleroderma xanthochroum*

อนุกรมวิธาน (Taxonomy)

Kingdom: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Class: Agaricomycetes

Order: Boletales

Family: Sclerodermataceae

Genus: *Scleroderma*

Species: *Scleroderma xanthochroum*



ลักษณะทั่วไป : ดอกเห็ดเป็นก้อนกลมปิด มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2.5-3.0 เซนติเมตร ผิวขรุขระมีสะเก็ด ดอกสีเหลือง มีก้านหรือรากอยู่ใต้พื้นดิน

สภาพที่อยู่อาศัย : บนพื้นดิน

การเจริญของดอกเห็ด : ดอกเดี่ยวหรือเป็นกลุ่ม

การใช้ประโยชน์ : เป็นผู้ย่อยสลายในระบบนิเวศ และมีรายงานว่าเป็นพิษ

สถานที่พบ : สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด

รหัส WK18

ชื่อทั่วไป: เห็ดพายทอง

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Dacryopinax
spathularia*

อนุกรมวิธาน (Taxonomy)

Kingdom: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Class: Dacrymycetes

Order: Dacrymycetales

Family: Dacrymycetaceae

Genus: *Dacryopinax*

Species: *Dacryopinax spathularia*



ลักษณะทั่วไป: ลักษณะดอกเห็ด ความกว้างประมาณ 2.1 เซนติเมตร รูปทรงกระบอกหรือรูปช้อน บริเวณขอบดอกมีลักษณะเป็นลอน ด้านบนของดอกเห็ดเป็นเนื้ออุ่นเหลืองถึงส้ม ส่วนความยาวของก้านประมาณ 2.2 เซนติเมตร อยู่ตรงด้านข้างของดอกเห็ด โคนของก้านกลม ส่วนด้านบนของก้านแบน โคนก้านสามารถเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลได้เมื่อแก่

สภาพที่อยู่อาศัย: บนท่อนไม้ผุ ขอนไม้

การเจริญของดอกเห็ด: เจริญเป็นกลุ่มหรือเดี่ยว

การใช้ประโยชน์: เป็นผู้อย่อยสลายในระบบนิเวศ และมีรายงานว่ารับประทานได้

สถานที่พบ: สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอลำสมิingue จังหวัดตรัง

รหัส WK19

ชื่อทั่วไป: เห็ดหูหนูดำ

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Auricularia cornea*

อนุกรมวิธาน (Taxonomy)

Kingdom: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Class: Agaricomycetes

Order: Auriculariales

Family: Auriculariaceae

Genus: *Auricularia*

Species: *Auricularia cornea*



ลักษณะทั่วไป: ลักษณะของดอกเห็ดมีความคล้ายหูของหนู โดยจะมีลักษณะเป็นแผ่นเหมือนวุ้น ส่วนเนื้อของเห็ดหูหนูนี้นั้นจะมีลักษณะอ่อนและเหนียวเป็นสีน้ำตาลอ่อนหรือน้ำตาลอมเทา ตรงบริเวณแผ่นใบหูด้านบนจะเป็นเงาและเรียบ ส่วนตรงขอบแผ่นใบแต่ละแผ่นจะเป็นลอนๆ หรือเป็นรอยจีบ และใต้ดอกจะถูกปกคลุมด้วยขนละเอียดประปราย ซึ่งบริเวณก้านดอกจะเป็นลักษณะสั้น ๆ ถึงสั้นมากอยู่ตรงกลางของดอกเห็ดหรืออาจค่อนข้างหนึ่งโดยยึดติดกับขอนไม้หรือลำต้น

สภาพที่อยู่อาศัย: มักขึ้นตามต้นไม้ใหญ่ที่เน่าเปื่อยหรือผุสลาย กิ่งไม้ ขอนไม้ที่ตายแล้ว

การเจริญของดอกเห็ด: ดอกเดี่ยวหรืออยู่เป็นกลุ่ม

การใช้ประโยชน์: เป็นผู้อย่อยสลายในระบบนิเวศ และมีรายงานว่ารับประทานได้

สถานที่พบ: สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอลำทะเมนชัย จังหวัดนครราชสีมา

รหัส WK20

ชื่อทั่วไป: เห็ดร่างแห

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Phallus lutescens*

อนุกรมวิธาน (Taxonomy)

Kingdom: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Class: Agaricomycetes

Order: Phallales

Family: Phallaceae

Genus: *Phallus*

Species: *Phallus lutescens*



ลักษณะทั่วไป: มีลักษณะดอกเป็นแท่ง ฐานดอกมีเยื่อบาง ๆ คล้ายร่างแห เมื่อยังอ่อนมีสีขาวแต่ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีเหลืองส้มแขนงทางห้อยลงมาคล้ายส้อมหรือกระบองรอบก้านดอก ฐานดอกกว้าง 4 เซนติเมตร สูง 3 เซนติเมตร ปลายเป็นแป้นกลม เส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร ผิวฐานดอกแบ่งเป็นห้องๆ และมีกลิ่นเหม็นรุนแรง ก้านสีขาว เนื้อเป็นรูปพวงคล้ายฟองน้ำ ยาว 10-15 เซนติเมตร ภายในก้านกลวง

สภาพที่อยู่อาศัย: พื้นดิน

การเจริญของดอกเห็ด: ดอกเดี่ยว

การใช้ประโยชน์: เป็นผู้อย่อยสลายในระบบนิเวศ และมีรายงานว่ารับประทานได้

สถานที่พบ: สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอลำสมิingue จังหวัดตรัง

รหัส WK22

ชื่อทั่วไป: -

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Schizophyllum umbrinum*

อนุกรมวิธาน (Taxonomy)

Kingdom: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Class: Agaricomycetes

Order: Agaricales

Family: Schizophyllaceae

Genus: *Schizophyllum*

Species: *Schizophyllum umbrinum*



ลักษณะทั่วไป: ดอกเห็ดเป็นรูปพัด มีขนสีน้ำตาลหรือสีน้ำตาลดำปกคลุมทั่ว ปलयงุ้มลงเป็นลอน แตกแขนงเป็นแฉกเล็ก ๆ คล้ายนิ้วเท้าตุ๊กแก แยกเป็นแฉกตามยาวและม้วนงอลง ขนาดประมาณ 1-3 เซนติเมตร ความสูงประมาณ 1-4 เซนติเมตร ลักษณะเนื้อมีความเหนียว ครีบจะมีการเรียงเป็นรัศมีออกไปจากฐานของดอก มีสีครีม ส่วนก้านจะอยู่บริเวณด้านข้างหรือเกือบไม่มีก้าน

สภาพที่อยู่อาศัย: ขึ้นบนกิ่งไม้หรือขอนไม้ที่ตายแล้ว

การเจริญของดอกเห็ด: มักพบขึ้นเป็นกลุ่ม

การใช้ประโยชน์: เป็นผู้อย่อยสลายในระบบนิเวศ และไม่มีข้อมูลว่ารับประทานได้หรือไม่

สถานที่พบ: สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอลำสมิingue จังหวัดตราด

รหัส WK24

ชื่อทั่วไป: เห็ดจมูกหมู

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Trichaleurina javanica*

อนุกรมวิธาน (Taxonomy)

Kingdom: Fungi

Phylum: Ascomycota

Class: Pezizomycetes

Order: Pezizales

Family: Pyronemataceae

Genus: *Trichaleurina*

Species: *Trichaleurina javanica*



ลักษณะทั่วไป: ดอกเห็ดมองภาพรวมคล้ายกับจมูกหมู ดอกเห็ดมีลักษณะเป็นทรงกระบอก ด้านบนเรียบ สีดอกด้านข้างมีสีน้ำตาลหรือสีน้ำตาลดำ ด้านบนของดอกมีสีน้ำตาล สีส้ม หรือสีครีม และมีผิวสัมผัสคล้ายกำมะหยี่ เนื้อดอกมีลักษณะนิ่มและยืดหยุ่นคล้ายเจลลี่ ไม่มีก้านดอก

สภาพที่อยู่อาศัย: ขึ้นบนกิ่งไม้หรือขอนไม้ที่ตายแล้ว

การเจริญของดอกเห็ด: ดอกเดี่ยว

การใช้ประโยชน์: เป็นผู้อย่อยสลายในระบบนิเวศ และมีรายงานว่ารับประทานได้

สถานที่พบ: สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอลำสมิingue จังหวัดตราด

รหัส : WK25

ชื่อทั่วไป : เห็ดกรวยแก้ว

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Gerronema* sp.

อนุกรมวิธาน (Taxonomy)

Kingdom: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Class: Agaricomycetes

Order: Agaricales

Family: Porothelaeaceae

Genus: *Gerronema*

Species: -



ลักษณะทั่วไป : ดอกเห็ดทรงบานออกมีรูปุ่มเล็กตรงกลางคล้ายกรวย ขอบหมวกมีความหยักและถี่ หมวกดอกบางนิ่มมีสีครีมผสมขาว ใต้หมวกมีสัณฐานคล้ายครีป ดอกมีขนาดประมาณ 2-4 เซนติเมตร ก้านยาวประมาณ 3-4 เซนติเมตร สีน้ำตาลครีม

สภาพที่อยู่อาศัย : ขอนไม้ที่ตายแล้ว

การเจริญของดอกเห็ด : ดอกเดี่ยวและดอกคู่

การใช้ประโยชน์ : เป็นผู้อย่อยสลายในระบบนิเวศ และไม่มีข้อมูลว่ารับประทานได้หรือไม่

สถานที่พบ : สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด

รหัส : WK26

ชื่อทั่วไป : -

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Oudemansiella canarii*

อนุกรมวิธาน (Taxonomy)

Kingdom: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Class: Agaricomycetes

Order: Agaricales

Family: Physalacriaceae

Genus: *Oudemansiella*

Species: *Oudemansiella canarii*



ลักษณะทั่วไป : ดอกเห็ดเป็นทรงร่ม หมวกดอกมีสีขาวปนสีน้ำตาลอ่อน ขอบหมวกเรียบ ใต้หมวกมีครีบสีขาว ก้านดอกเป็นทรงกลมมีสีขาว ก้านดอกอยู่กลางหมวกเห็ด

สภาพที่อยู่อาศัย : ขอนไม้ที่ตายแล้ว

การเจริญของดอกเห็ด : ดอกเดี่ยว

การใช้ประโยชน์ : เป็นผู้อย่อยสลายในระบบนิเวศ และไม่มีข้อมูลว่ารับประทานได้หรือไม่

สถานที่พบ : สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด

รหัส : WK27

ชื่อทั่วไป : -

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Clitopilus crispus*

อนุกรมวิธาน (Taxonomy)

Kingdom: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Class: Agaricomycetes

Order: Agaricales

Family: Entolomataceae

Genus: *Clitopilus*

Species: *Clitopilus crispus*



ลักษณะทั่วไป : ดอกเห็ดมีลักษณะคว่ำนูนโค้งเหมือนร่ม มีสีน้ำตาลอ่อนผสมขาวเนื้อมัน ผิวเรียบ หนา ขอบหมวกฉีกขาด ได้หมวกดอกเป็นครีบ มีสีน้ำตาล ดอกมีขนาดใหญ่ประมาณ 2-4 เซนติเมตร ก้านดอกหนา ยาวประมาณ 2-3 เซนติเมตร

สภาพที่อยู่อาศัย : บนดิน

การเจริญของดอกเห็ด : ดอกเดี่ยวหรือกลุ่ม

การใช้ประโยชน์ : เป็นผู้อย่อยสลายในระบบนิเวศ ไม่มีข้อมูลว่ารับประทานได้หรือไม่

สถานที่พบ : สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด

รหัส WK28

ชื่อทั่วไป: -

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Entoloma bloxamii*

อนุกรมวิธาน (Taxonomy)

Kingdom: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Class: Agaricomycetes

Order: Agaricales

Family: Entolomataceae

Genus: *Entoloma*

Species: *Entoloma bloxamii*



ลักษณะทั่วไป: ลักษณะของเห็ดดอกเป็นทรงร่ม เส้นผ่าศูนย์กลาง 22-35 มิลลิเมตร ผิวด้านบนเรียบเป็นมัน ได้หมวกมีครีบและมีสีขาวครีมอ่อน ในการติดของครีบบริเวณก้านจะห่างกัน ลักษณะก้านเป็นทรงกระบอกหรือแบน เนื้อในก้านกลวง ผิวเรียบ ตรงกลางเป็นร่องลึก มีสีขาวหรือขาวนวลทั่วทั้งก้าน

สภาพที่อยู่อาศัย: บนดิน

การเจริญของดอกเห็ด: ดอกเดี่ยว

การใช้ประโยชน์: เป็นผู้อย่อยสลายในระบบนิเวศ และไม่มีข้อมูลว่ารับประทานได้หรือไม่

สถานที่พบ: สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอลำสมิingue จังหวัดตราด

รหัส : WK29

ชื่อทั่วไป : เห็ดร่มก้านดำ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Marasmius* sp.

อนุกรมวิธาน (Taxonomy)

Kingdom: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Class: Agaricomycetes

Order: Agaricales

Family: Marasmiaceae

Genus: *Marasmius*

Species: -



ลักษณะทั่วไป : ดอกเห็ดมีสีม่วงอ่อน หมวกเห็ดคล้ายระฆังคว่ำ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3-18 มิลลิเมตร มีริบใต้หมวก ก้านมีขนาดประมาณ $8-48 \times 0.2-0.8$ มิลลิเมตร ก้านรูปทรงทรงกระบอก พื้นผิวเรียบ ก้านจะติดอยู่ตรงกลางหมวกเห็ดและมีสีดำ

สภาพที่อยู่อาศัย : ซากใบไม้หรือขอนไม้ที่ตายแล้ว

การเจริญของดอกเห็ด : ดอกเดี่ยวหรือกลุ่ม

การใช้ประโยชน์ : เป็นผู้อย่อยสลายในระบบนิเวศ และไม่มีข้อมูลว่ารับประทานได้หรือไม่

สถานที่พบ : สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด

รหัส WK30

ชื่อทั่วไป: -

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Entoloma phlebophyllum*

อนุกรมวิธาน (Taxonomy)

Kingdom: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Class: Agaricomycetes

Order: Agaricales

Family: Entolomataceae

Genus: *Entoloma*

Species: *Entoloma phlebophyllum*



ลักษณะทั่วไป: หมวกเห็ดดอกทรงร่ม หมวกดอกมีสีน้ำตาลเข้มหรือสีน้ำตาลดำ ตรงกลางของหมวกเห็ดด้านบนมีปุ่มลงเล็กน้อย หมวกเห็ดมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 22-35 มิลลิเมตร ผิวด้านบนของหมวกดอกมีลักษณะเรียบ ใต้หมวกดอกมีครีบ ครีบจะมีสีขาวครีมอ่อน ลักษณะก้านเป็นทรงกระบอก มีสีน้ำตาล

สภาพที่อยู่อาศัย: บนดินใกล้รากไม้

การเจริญของดอกเห็ด: ดอกเดี่ยว

การใช้ประโยชน์: เป็นผู้อยู่อาศัยในระบบนิเวศ และไม่มีข้อมูลว่ารับประทานได้หรือไม่

สถานที่พบ: สวนยางพารา ตำบลวังตะเคียน อำเภอลำสมิingue จังหวัดตราด

ประวัติผู้เขียน

ผู้เขียน: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เสาวภา สุราวุธ

ประวัติการศึกษา:

มหาวิทยาลัย	ปริญญา	สาขาวิชา	พ.ศ.ที่จบ
มหาวิทยาลัยขอนแก่น	ตรี	จุลชีววิทยา	2549
มหาวิทยาลัยมหิดล	โท	จุลชีววิทยา	2552
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	เอก	จุลชีววิทยาทางการแพทย์	2562

ตำแหน่งและสถานที่ทำงาน:

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ประจำหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา

หัวหน้าภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี