

บทที่ 4
ผลการวิจัย



1. ผลการสำรวจ รวบรวมตัวอย่างเห็ดป่าในเขตอุทยานแห่งชาติภูหินร่องกล้า

จากการสำรวจ และรวบรวมชนิดตัวอย่างเห็ดป่าในบริเวณป่าสนบริเวณบ้านพัก บริเวณเส้นทางเดินเท้าศึกษาธรรมชาติไปสู่ลานหินปุ่ม ผาชัน ที่หลบภัยทางอากาศ และสำนักอำนวยการ แบบสุ่ม ของอุทยานแห่งชาติภูหินร่องกล้า ดังรูปที่ 6. จำนวนทั้งหมด 14 จุด ในฤดูฝน ฤดูร้อน และฤดูหนาว บันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายรูป บันทึกข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่าง ๆ ทั้งลักษณะที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า และลักษณะที่เห็นภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สภาพถิ่นกำเนิด สำรวจตัวอย่างเห็ดทั้งหมดได้ 69 ชนิด ดังตารางที่ 1.

ตารางที่ 1. แสดงจำนวนตัวอย่างเห็ดทั้งหมดที่สำรวจได้ในแต่ละฤดู

ช่วงเวลา	จำนวนตัวอย่างเห็ด (ชนิด)	ร้อยละ(%)
ฤดูหนาว พฤศจิกายน 2551-กุมภาพันธ์ 2552	23	33.33
ฤดูร้อน มีนาคม - มิถุนายน 2552	9	13.04
ฤดูฝน กรกฎาคม- ตุลาคม 2552	46	66.66
มีจำนวนตัวอย่างทั้งหมด	69	100

หมายเหตุ เห็ดบางชนิดพบได้มากกว่า 1 ฤดู

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ห้องสมุดงานวิจัย

วันที่..... 22 ส.ย. 2555

เลขทะเบียน..... 246113

เลขเรียกหนังสือ.....

ตารางที่ 2. จำนวน วงศ์ และ ชนิด ของเห็ดราที่พบในไฟลัม Basidiomycota และ Ascomycota ที่สำรวจพบในอุทยานแห่งชาติภูหินร่องกล้า ในระหว่าง ธันวาคม 2551– ธันวาคม 2552

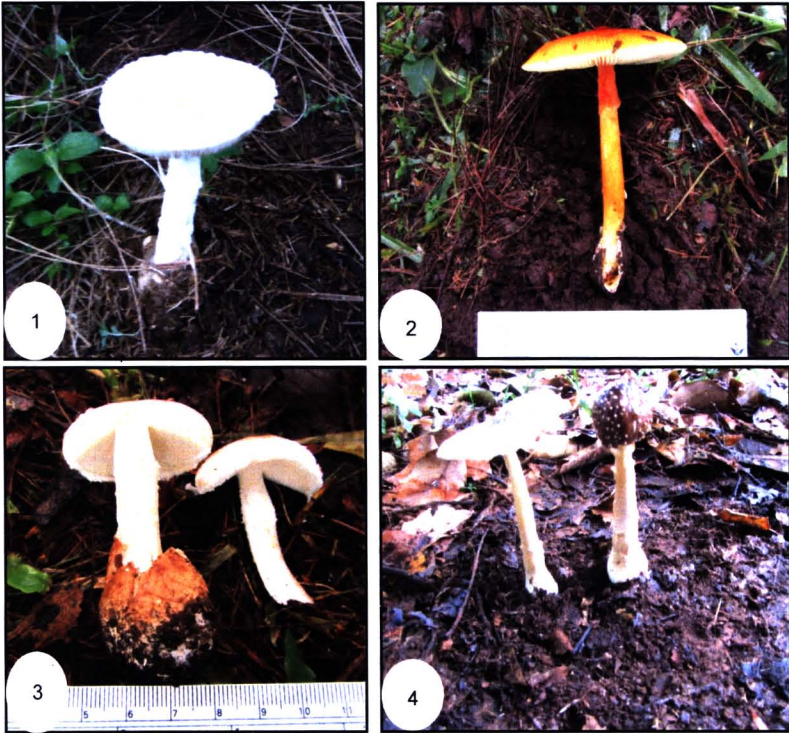
Phylum	Family	ตัวอย่าง
Basidiomycota	Polyporaceae	<i>Polyporus</i> sp. PHK 24 <i>Fomes</i> sp. <i>Pycnoporus sanguineus</i> <i>Microporus xanthopus</i> <i>Microporus</i> sp. <i>Fomes</i> sp. <i>Lentinus polychrus</i> <i>Lentizites</i> sp. <i>Trametes</i> sp.
	Sclerodermataceae	<i>Scleroderma citrinum</i> <i>Scleroderma flavidum</i> <i>Scleroderma polyrhizum</i>
	Lycopodaceae	<i>Lycopodon</i> sp.
	Geastraceae	<i>Geatrum</i> sp.
	Agaricaceae	<i>Chlorophyllum molybdites</i> <i>Agaricus</i> sp. <i>Lepiota</i> spp. <i>Leucolepiota</i> sp. <i>Macrolepiota</i> sp.
	Cortinariaceae	<i>Cortinarius</i> sp. <i>Inocybe</i> sp.
	Coprinaceae	<i>Coprinus</i> sp.
	Cantharellaceae	<i>Cantharellus</i> sp.
	Amanitaceae	<i>Amanita hemibapha</i> <i>Amanita pantherina</i> <i>Amanita</i> spp.

ตารางที่ 2. จำนวน วงศ์ และ ชนิด ของเห็ดราที่พบในไฟลัม Basidiomycota และ Ascomycota ที่สำรวจพบในอุทยานแห่งชาติภูหินร่องกล้า ในระหว่าง ธันวาคม 2551– ธันวาคม 2552 (ต่อ)

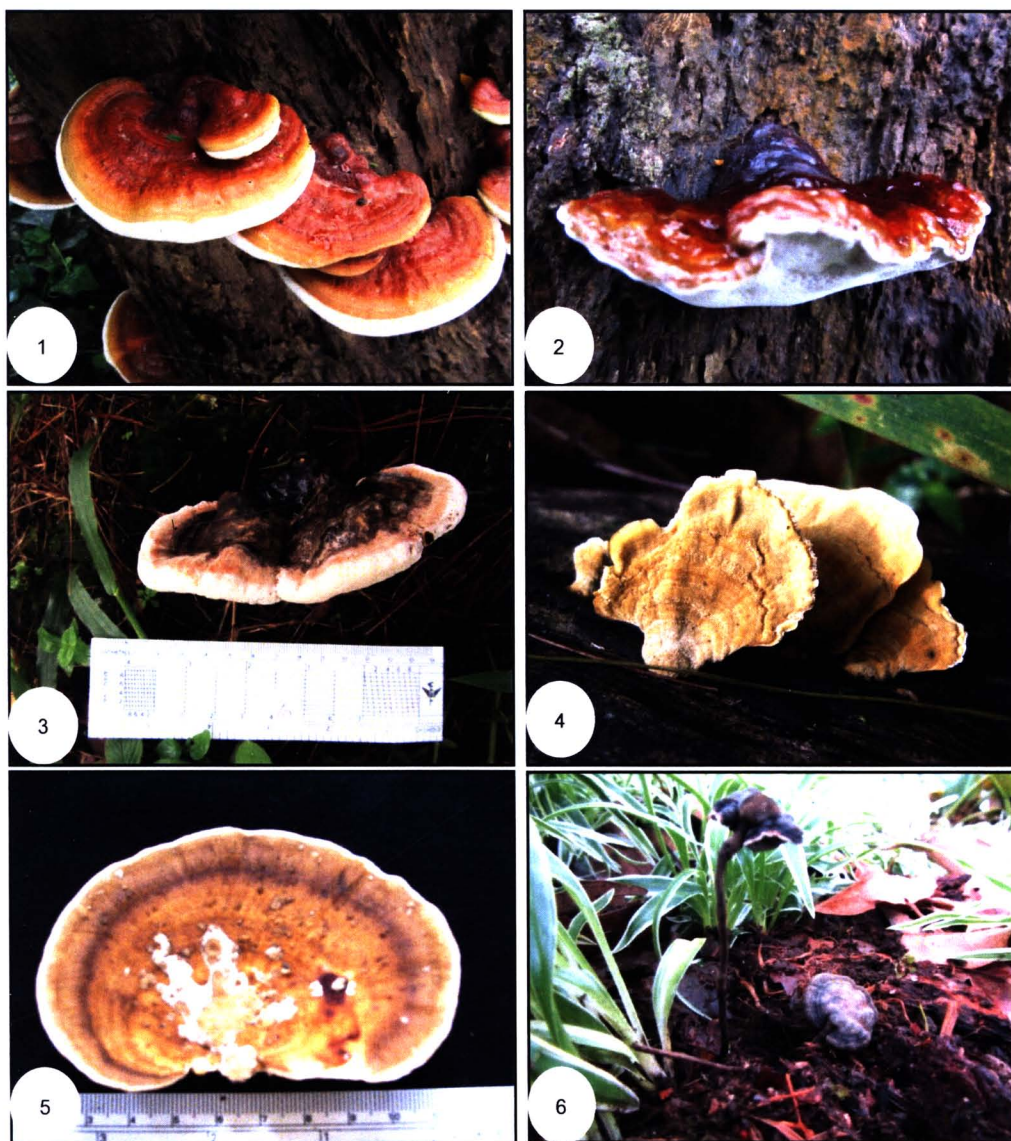
Phylum	Family	ตัวอย่าง
Basidiomycota(ต่อ)	Ganodermataceae	<i>Ganoderma lucidum</i> <i>Ganoderma spp.</i> <i>Amauroderma rude</i>
	Russulaceae	<i>Russula spp.</i> <i>Russula mairei</i> <i>Lactarius hatsudake</i> <i>Lactarius deliciosus</i>
	Schizophyllaceae	<i>Schizophyllum commune</i>
	Coriolaceae	<i>Coriolus veriscolor</i>
	Nidulaceae	<i>Cyathus straitus</i>
	Steraceae	<i>Stereum ostrea</i>
	Dacrymycetaceae	<i>Calocera viscosa</i> <i>Dacryopinax spathularia</i>
	Marasmiceae	<i>Miramius spp.</i> <i>Armillariella sp.</i> <i>Marasmiellus sp.</i> <i>Omphalotus sp.</i>
	Fomitopsidaceae	<i>Fomitopsis sp.</i>
	Thelephorace	<i>Thelephora vialis.</i>
	Boletaceae	<i>Boletus spp.</i> <i>Boletellus sp.</i> <i>Heimiella sp.</i> <i>Phylloporus sp.</i> <i>Tylopius chromopes</i>
	Suillaceae	<i>Suillus intermedius</i>

ตารางที่ 2. จำนวน วงศ์ และ ชนิด ของเห็ดราที่พบในไฟลัม Basidiomycota และ Ascomycota ที่สำรวจพบในอุทยานแห่งชาติภูหินร่องกล้า ในระหว่าง ธันวาคม 2551– ธันวาคม 2552 (ต่อ)

Phylum	Family	ตัวอย่าง
Basidiomycota(ต่อ)	Tricholomataceae	<i>Termitomyces eurrhiza</i> <i>Termitomyces clypeatus</i> <i>Hygrocybe</i> sp. <i>Lepista</i> sp. <i>Macrocybe</i> sp. <i>Xeromphlina</i> sp.
	Unidentified	3 ตัวอย่าง
Ascomycota	Xylariaceae	<i>Xylaria</i> sp. <i>Daldinia concentrica</i>
	Leotiaceae	<i>Leotia</i> sp.
	Helvellaceae	<i>Helvella</i> sp.



รูปที่ 7. ตัวอย่างเห็ดสกุล Amanita spp. ที่สำรวจพบในอุทยานแห่งชาติภูหินร่องกล้า (1) Amanita sp.1 (2) Amanita hemibapha (3) Amanita sp.2 (4) Amanita pantherina



รูปที่ 8. เห็ดกระด้างที่สำรวจพบในอุทยานแห่งชาติภูหินร่องกล้า (1) *Ganoderma lucidum*
 (2) *Fomitopsis* sp. (3) *Ganoderma applanatum* (4) *Trametes* sp. (5) *Lentizite vespacea*
 (6) *Amauroderma rugosum*



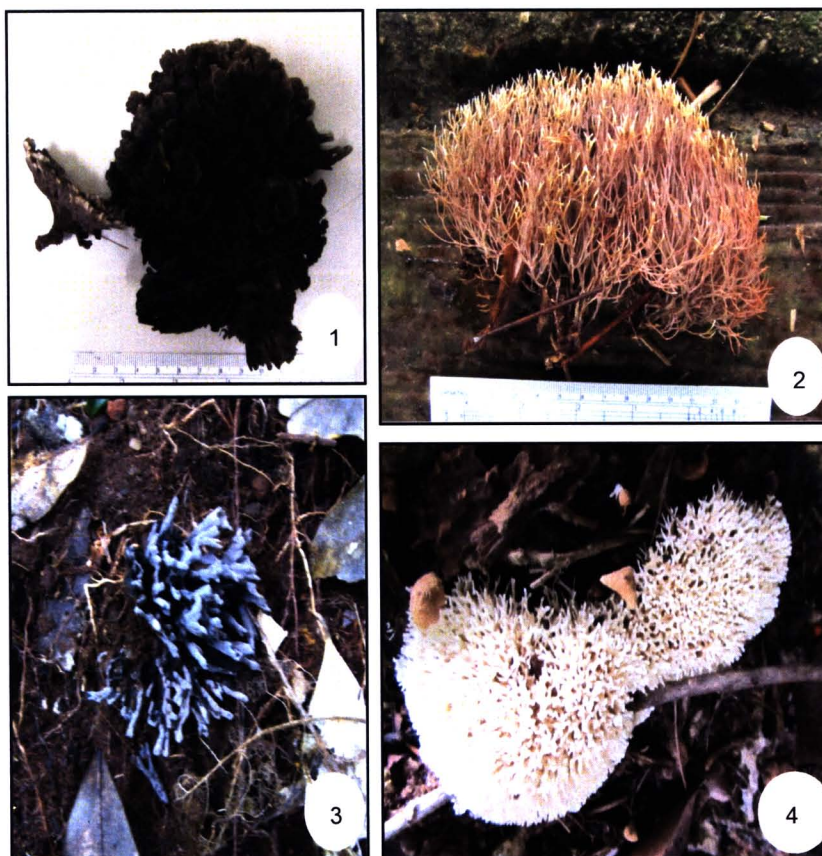
รูปที่ 9. เห็ดโคนที่สำรวจพบในอุทยานแห่งชาติภูหินร่องกล้า (1) *Termitomyces eurhiza* และรังปลวก
(2) *Termitomyces eurhiza* (3) *Termitomyces clypeatus*



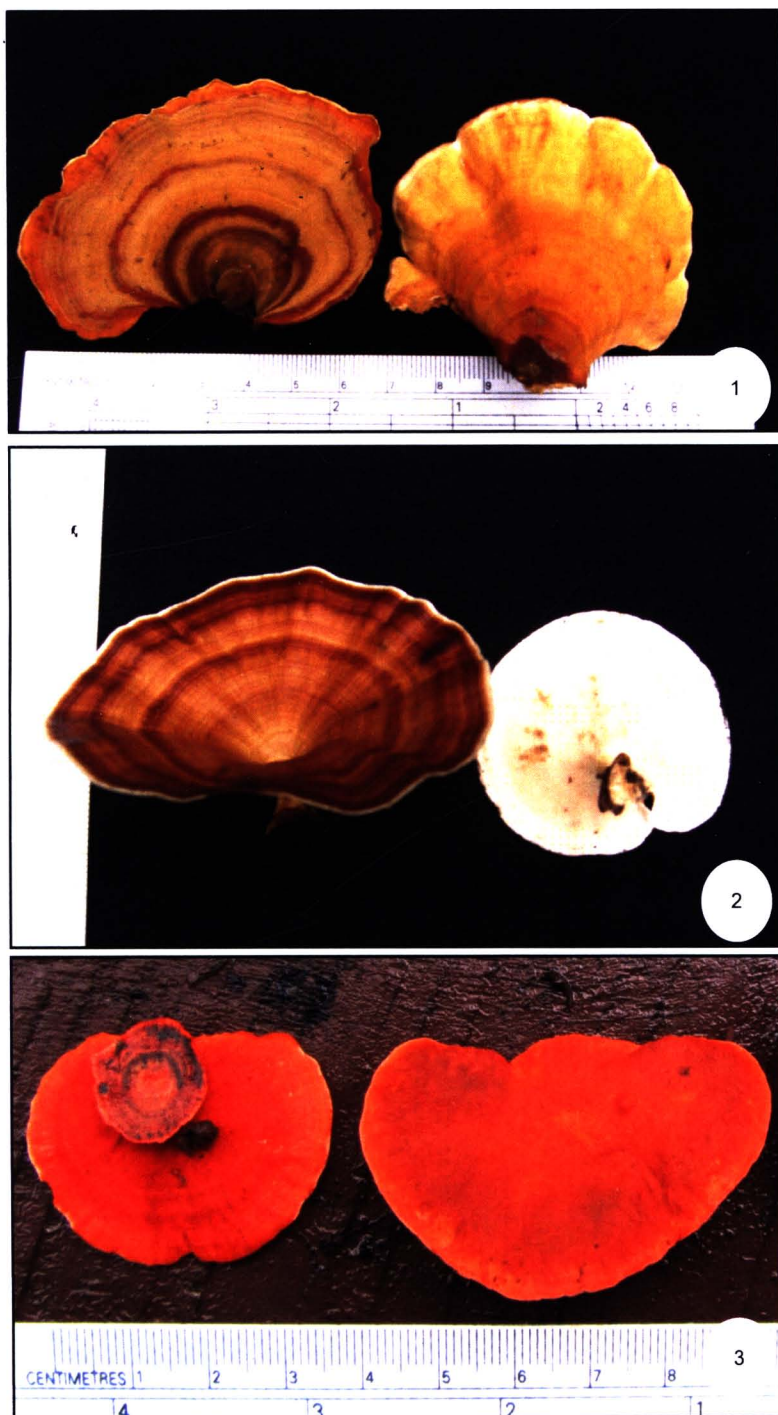
รูปที่ 10. เห็ดในวงศ์ boletaceae ที่สำรวจพบในอุทยานแห่งชาติภูหินร่องกล้า (1) *Boletus* sp.
(2) *Boletus chromapes*



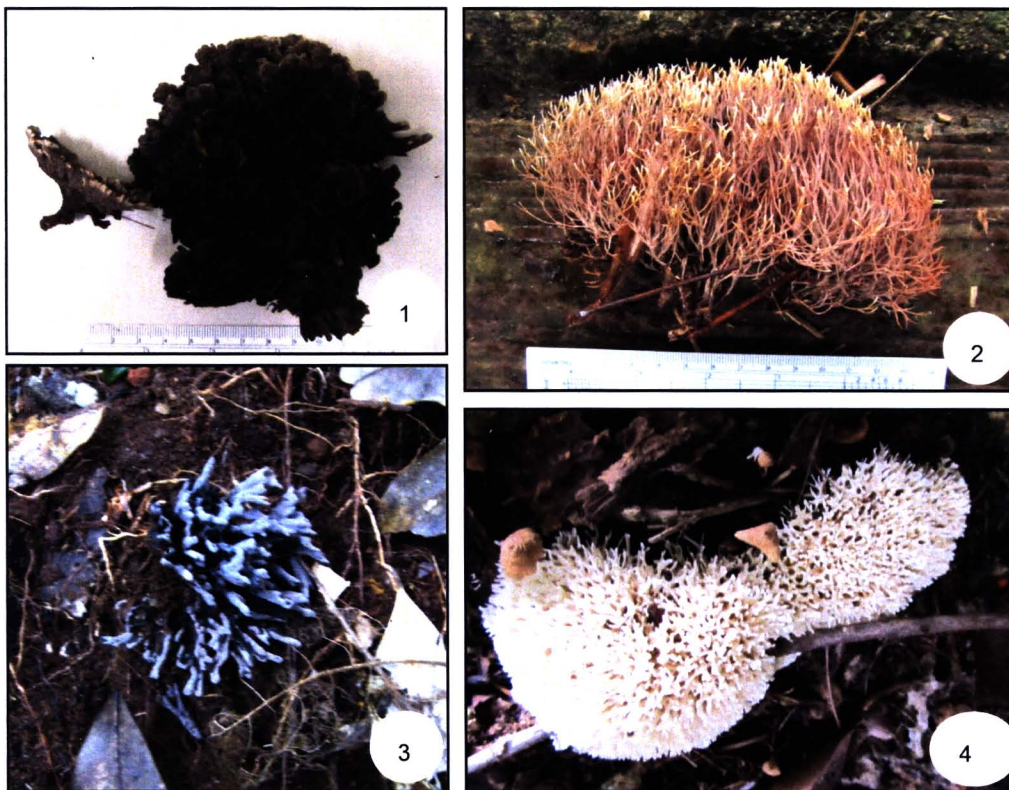
รูปที่ 11. เห็ดในวงศ์ russulaceae ที่สำรวจพบในอุทยานแห่งชาติภูหินร่องกล้า (1) *Russula* sp.
(2) *Russula fragilis*



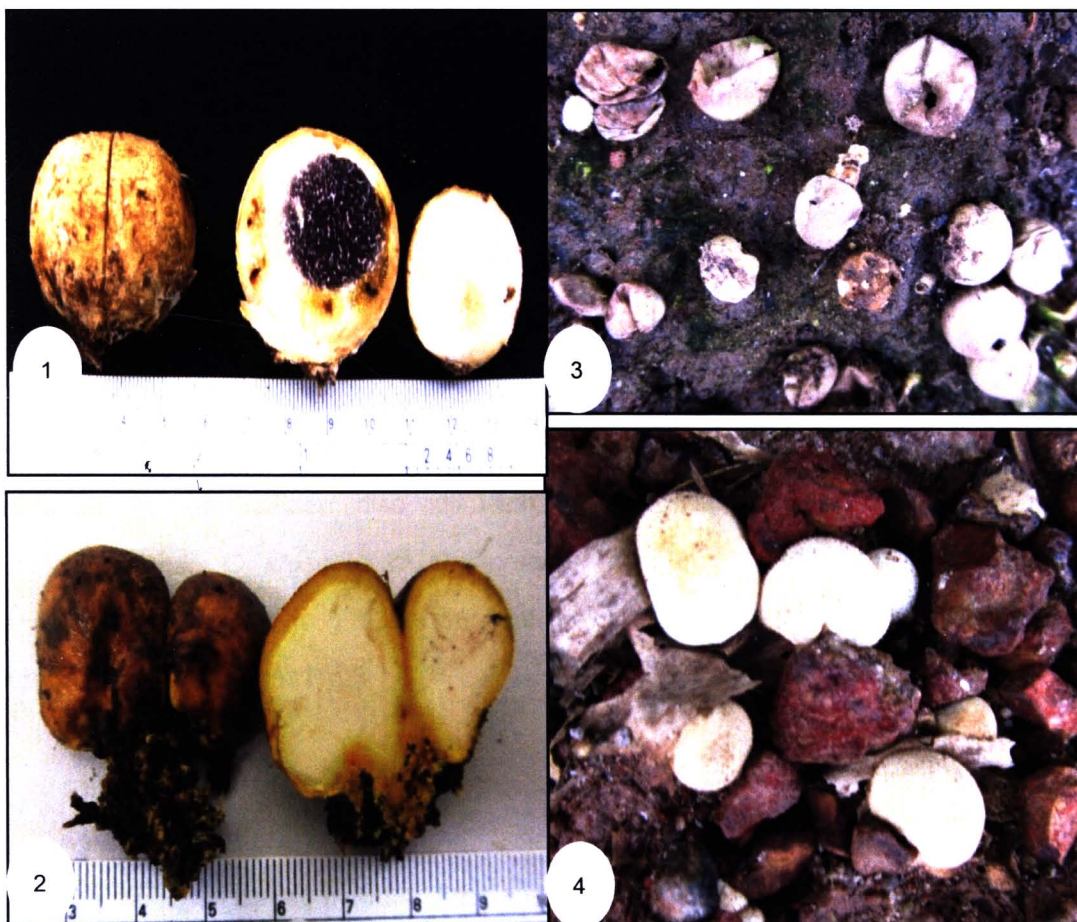
รูปที่ 12. Coral fungi ที่สำรวจพบในอุทยานแห่งชาติภูหินร่องกล้า (1) *Thelephora vialis*. (2) *Pterula verticella* (3) Unidentified (4) *Scyntinoogon angulisporus*



รูปที่ 13. เห็ดกระด้างที่สำรวจพบในอุทยานแห่งชาติภูหินร่องกล้า (1) *Stereum ostrea* (2) *Microporus xanthopus* (3) *Pycnoporus sanguineus*



รูปที่ 14. Coral fungi ที่สำรวจพบในอุทยานแห่งชาติภูหินร่องกล้า (1) *Thelephora vialis*.
(2) *Pterula verticella* (3) Unidentified (4) *Scyntinoogon angulisporus*



รูปที่ 15. เห็ด class Gasteromycetes ที่สำรวจพบในอุทยานแห่งชาติภูหินร่องกล้า (1) *Scleroderma polyrhizum* (2) *Scleroderma sinnamariense* (3) *Lycopodon* sp.



3. ผลการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดให้บริสุทธิ์บางชนิด และการสกัดตัวอย่างเห็ด (ดอกเห็ด) ต่อฤทธิ์ต้านแคนดิดา

การเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดบริสุทธิ์ที่สามารถแยกได้ 10 ชนิด เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ King's B medium ในอาหารเหลว PDB และ GYB ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ที่บรรจุในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง บนเครื่องเขย่าที่มีความเร็ว 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 วัน จากนั้นกรองเอาส่วนน้ำเลี้ยง นำมาทดสอบเพื่อคัดเลือกฤทธิ์ต้านแคนดิดา

ส่วนดอกเห็ด(basidiocarp)ที่เก็บรวบรวมนำไปอบแห้งใน hot air oven ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จนแห้งสนิท (ประมาณ 3-5 วัน) จากนั้น นำไปบดให้ละเอียดด้วย stone motorized grinder แล้วนำผงละเอียดปริมาณ 2.50 กรัม/100 มิลลิลิตร (W/V) ไปสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ methanol , Ethyl acetate และ chloroform นำส่วน organic solvent fraction นำมาทดสอบเพื่อคัดเลือกฤทธิ์ต้านแคนดิดา โดยวิธี agar paper disc diffusion method⁽¹⁴⁾ ใช้เชื้อทดสอบยีสต์ 3 สายพันธุ์ คือ *Candida albicans*, *C. krusei* และ *C. tropicalis* วัดขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของวงใสรอบ paper disc มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร พบว่าสารสกัดจากดอกเห็ด 10 ชนิด ที่มีฤทธิ์ต้านแคนดิดาสูงสุดในแต่ละชนิดของตัวทำละลาย ดังตารางที่ 3.

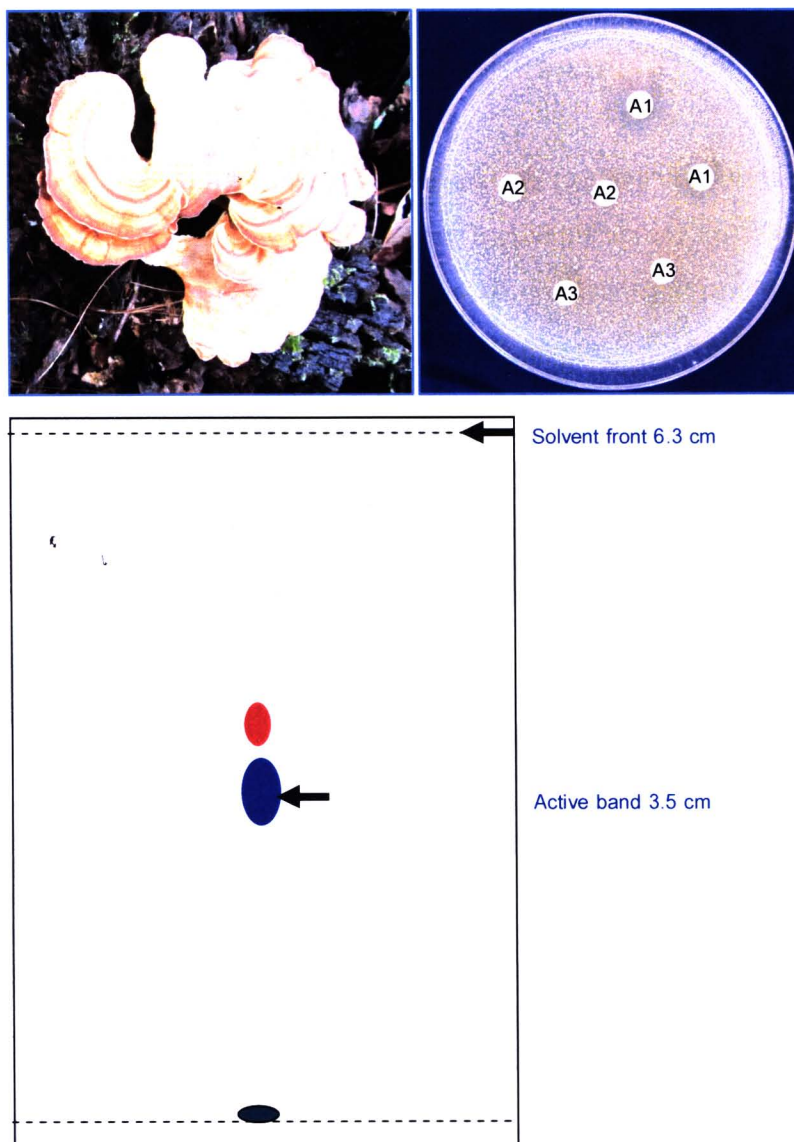
4. ผลทำการทดสอบฤทธิ์ต้านแคนดิดา

จากผลการคัดเลือกการทดสอบฤทธิ์ต้านแคนดิดาโดยวิธี agar paper disc diffusion method ต่อเชื้อทดสอบยีสต์ 3 สายพันธุ์ ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางของวงใสมากที่สุด ในตารางที่ 3. โดยนำผงละเอียดของตัวอย่างเห็ดแห้ง ปริมาณ 2.5 กรัม/100 มิลลิลิตร (W/V) และน้ำเลี้ยงจากเส้นใย อัตราส่วน 1: 1 (v/v) มาสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ methanol , Ethyl acetate และ chloroform นำส่วน organic solvent fraction แล้วมาระเหยให้แห้งด้วย rotary evaporator ได้ สารสกัดหยาบ (crude extract) นำมาหาค่า MIC (Minimal Inhibitory Concentration) โดยวิธี broth dilution method และนำสารสกัดหยาบมาศึกษาแยกส่วนของสารที่มีฤทธิ์ต้านแคนดิดา โดยวิธี Thin layer chromatography (TLC) และ นำโครมาโตแกรมที่ได้มาศึกษาหาค่า Rf ของ active fraction โดยวิธี Bioautography ได้ผลดังรูปที่ 16.

ตารางที่ 3. แสดงผลของฤทธิ์ต้านแคนดิดาของน้ำสกัดของของเส้นใย และน้ำสกัดของดอกเห็ด (ชนิดของตัวทำละลาย)

Family	ตัวอย่าง	Anticandida activity		
		Diameter of Inhibition zone(mm)		
		basidiocarps extract	mycelium broth	
			PDB	GYB
Polyporaceae	<i>Polyporus sp.</i> PHK 24	15.0 (M)	8.0	10.0
Sclerodermataceae	<i>Scleroderma polyrhizum</i>	9.0 (E)	7.0	7.5
Agaricaceae	<i>Agaricus sp.</i>	8.5 (E)	8.0	8.0
	<i>Chlorophyllum molybdites</i>	10.0 (M)	8.0	7.0
	<i>Lepiota sp.</i>	8.0 (E)	6.5	-
	<i>Macrolepiota sp.</i>	8.5 (E)	-	7.5
Coprinaceae	<i>Coprinus sp.</i>	7.5 (M)	6.5	7.5
Ganodermataceae	<i>Ganoderma lucidum</i>	11.5 (E)	7.0	8.5
Schizophyllaceae	<i>Schizophyllum commune</i>	7.5 (C)	7.0	-
Xylariaceae	<i>Xylaria sp.</i>	10.0 (C)	8.0	7.0

หมายเหตุ ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดตัวอย่าง คือ E = Ethyl acetate , M = methanol และ C = chloroform



รูปที่ 16. แสดงตัวอย่างเห็ดที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแคนดิดาที่ดีที่สุด

- ก. ลักษณะของดอกเห็ด *Polyporus* PHK 24
- ข. เส้นผ่าศูนย์กลางของวงใส ของสารสกัดเห็ดที่สกัดด้วย methanol (A1:15 มม.)
Chloroform (A2 : 9 mm) ethyl acetate (A3: 7 mm)
- ค. แสดงภาพโครมาโตแกรม ของ active fraction ของ methnolic crude extract