การป้องกันกำจัดเชื้อราสกุล *Hypomyces* สาเหตุโรคใยแมงมุมบนดอกเห็ดเป๋าฮื้อ (*Pleurotus cystidiosus*)

Control of genus *Hypomyces* Causing Cobweb Disease of Abalone Mushroom (*Pleurotus cystidiosus*)

นายอภิรัชต์ สมฤทธิ์

นายมนตรี เอี่ยมวิมังสา นางสาวธารทิพย ภาสบุตร นางสาวสุณีรัตน์ สีมะเดื่อ

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาตั้งแต่เดือนตุลาคม 2550 ถึงเดือนกันยายน 2552 พบว่าการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมบนอาหาร PDA (Potato Dextrose Agar) มีการสร้างโคโลนีลักษณะเส้นใย สีขาว นวล ฟู เจริญเร็วเต็มจานอาหารภายในเวลา 5 วัน เชื้อราสร้างก้าน conidiophore ลักษณะแตกกิ่งก้านแบบ verticillate โคนีเดียรูปไข่ ใส ไม่มีสี มี 1-2 เซลล์ ขนาด 5.12 – 10.36 x 10.36 – 25.90 ไมครอน เกิดจากฐาน denticulate conidiogenous loci บน phialide ที่ส่วนปลายแตกกิ่งก้านแบบ verticillate เมื่อจำแนกชนิดของเชื้อราสามารถจำแนกได้เป็นเชื้อราสกุล *Cladobotryum verticillatum* ซึ่งเป็นระยะ anamorph ของรา *Hypomyces ochraceus* การทดสอบสารเคมีในการป้องกันกำจัดราสาเหตุโรคใยแมงมุม พบว่าสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืชสารคาร์เบนดาซิม (carbendazim) สารเคมีโพรคลอราซ (prochloraz) และสารเคมีโพรพิโคนาโซล (propiconazole) มีประสิทธิภาพในยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุม บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และในสภาพโรงเรือนได้ดี การทดสอบการใช้สารสกัดจากขมิ้นชัน ไพล ใบพลู และ เปลือกมังคุด ในการกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุม พบว่า สารสกัดทั้ง 4 ชนิด สามารถยับยั้งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราของเชื้อรา *Hypomyces* สาเหตุโรคใยแมงมุมบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และในสภาพโรงเรือนได้แต่ไม่ดีเทียบเท่าการใช้สารเคมีที่ใช้ในการป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืช การทดสอบผลของน้ำส้มควันไม้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Hypomyces* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมน้ำส้มควันไม้ พบว่า เชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมของเห็ดเป๋าฮื้อไม่สามารถเจริญได้บนอาหารที่ผสมน้ำส้มควันไม้ในอัตราส่วน น้ำส้มควันไม้ ต่อน้ำกลั้นนึ่งฆ่าเชื้อ เท่ากับ 1 : 20 และในอัตราส่วนนี้ เส้นใยเห็ดก็ชะงักการเจริญด้วย

รหัสการทดลอง 01-16-49-03-06-07-01-51

คำนำ

Hypomyces เป็นราที่อาศัยอยู่ตามธรรมชาติ ซึ่งสามารถอาศัยอยู่บนราชนิดอื่นได้ ระยะ anamoprh ของรานี้พบได้บนรากลุ่ม Aphyllophorales (Basidiomycotina, Hymenomycetes) หรือกลุ่มของเห็ดรา โดยพบทำให้เกิดโรคที่สร้างความเสียหายต่อการเพาะเห็ดในต่างประเทศอย่างร้ายแรง (Pope *et al*., 1985; Rogerson and Samuels, 1993; Russell, 1984) นอกจากนั้นเชื้อในระยะ anamorph ในกลุ่มนี้ คือ *Cladobotryum verticillatum* ยังทำให้เกิดโรค cobweb หรือใยแมงมุมกับเห็ดหูหนูอย่างรุนแรงในประเทศอินเดีย (Goltapeh *et al*., 1989) เชื้อ *C. dendroides* ยังพบว่าเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรค cobweb กับเห็ดแชมปิญอง (*Agaricus bisporus*) ในหลายประเทศ (Makay *et al*., 1996) และยังพบเชื้อ *C. varium* ทำให้เกิดโรคกับดอกเห็ดเข็มทอง (*Flammulina velutipes*) ในประเทศเกาหลีใต้ (Kim *et al*., 2002) จากการพบเชื้อรา *Cladobotryum clavisporum, C. polypori* บนดอกเห็ดหูหนู (อภิรัชต์, 2544; อภิรัชต์และคณะ, 2545) และ *C. verticillatum* บนดอกเห็ดหลินจือในประเทศไทย ซึ่งราเหล่านี้เป็นระยะ anamorph ของรา Hypomyces ทำให้น่าพิจารณาว่าเชื้อราชนิดที่พบแล้ว หรือที่ยังไม่มีการพบใหม่อาจก่อให้เกิดความเสียหายกับเห็ดชนิดอื่น ๆ นอกจากเห็ดหูหนู และเห็ดหลินจือ และจากการที่ได้พบเชื้อราลักษณะเดียวกันกับรา *Cladobotryum* spp. เจริญบนดอกเห็ดเป๋าฮื้อที่เพาะที่จังหวัดแพร่เมื่อปี 2547 ซึ่งตรงกับที่ได้คาดคะเนไว้ แต่ขณะนี้ยังไม่ทราบชนิด (species) ของเชื้อราที่พบใหม่นี้ รวมถึงลักษณะทางสัณฐานวิทยา แหล่งอาศัย แหล่งแพร่กระจาย และชีววิทยา ดังนั้นจากการพบรายงานการระบาดและเข้าทำลายของเชื้อรากลุ่มนี้ จึงต้องวางแผนการศึกษาหาข้อมูลดังกล่าว เพื่อให้ข้อมูลและผลสรุปที่เป็นประโยชน์ต่อการหาวิธีการป้องกันกำจัดเชื้อรานี้อย่างมีประสิทธิภาพ ไม่ให้เกิดแพร่ระบาดทำความเสียหายแก่การผลิตเห็ดในฟาร์มเพาะเห็ดต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. แยกเชื้อบริสุทธิ์ของเชื้อราที่พบบนดอกเห็ดเป๋าฮื้อบนอาหาร PDA และตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อรา เพิ่มปริมาณเชื้อรา แล้วพิสูจน์โรคตามวิธี Koch's postulate แล้วบันทึกผลตรวจสอบและบันทึกลักษณะการเจริญของโคโลนีบนอาหาร PDA และ PDYA และศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา จำแนกชนิดของเชื้อราที่ได้โดยเปรียบเทียบกับชนิดและภาพ (monograph) ในเอกสารของต่างประเทศ

2. ทดสอบผลของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Hypomyces* ในห้องปฏิบัติการ โดยการนำสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา 3 ชนิด มาทำ suspension ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ให้มีความเจือจางของสารที่ 5, 10, 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ แล้วใช้ pipette ดูด

suspension 2 มล. หยดและเกลี่ยบนผิวอาหาร PDA ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม. ตัดเส้นใยเชื้อรา *Hypomyces* ที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 5 วัน มาวางบนอาหาร PDA ที่เกลี่ยด้วยสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราแล้ว (ทำ 5 ซ้ำ) จากนั้นบ่มไว้ในห้องที่มีอุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบการเจริญของเส้นใยเชื้อรา และเส้นใยเห็ด โดยวัดการเจริญในแนวราบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA หลังเลี้ยงเชื้อรา 3, 4, 5, 6 และ 7 วัน

3. ทดสอบผลของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Hypomyces* ในห้องปฏิบัติการ โดยการนำสารสกัดจากพืช 3 ชนิด มาทำ suspension ในเอธิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ แล้วทำให้สารที่ได้มีความเจือจางที่ 5, 10, 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ แล้วใช้ pipette ดูด suspension 2 มล. หยดและเกลี่ยบนผิวอาหาร PDA ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม. ตัดเส้นใยเชื้อรา *Hypomyces* ที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 5 วัน มาวางบนอาหาร PDA ที่เกลี่ยด้วยสารสกัดจากพืชแล้ว (ทำ 5 ซ้ำ) จากนั้นบ่มไว้ในห้องที่มีอุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบการเจริญของเส้นใยเชื้อรา กับเส้นใยเห็ด โดยวัดการเจริญในแนวราบบนอาหาร PDA หลังเลี้ยงเชื้อเห็ด 3, 4, 5, 6 และ 7 วัน

4. ทดสอบผลของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Hypomyces* ในห้องปฏิบัติการ โดยนำแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* 3 ไอโซเลท มาทำ suspension ในเอธิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ แล้วทำให้สารที่ได้มีความเจือจางที่ 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} และ 10^{-4} แล้วใช้ pipette ดูด suspension 2 มล. หยดและเกลี่ยบนผิวอาหาร PDA ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม. ตัดเส้นใยเชื้อรา *Hypomyces* ที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 5 วัน มาวางบนอาหาร PDA ที่เกลี่ยด้วยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์แล้ว (ทำ 5 ซ้ำ) จากนั้นบ่มไว้ในห้องที่มีอุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบการเจริญของเส้นใยเชื้อรา กับเส้นใยเชื้อรา โดยวัดการเจริญในแนวราบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA หลังเลี้ยงเชื้อรา 3, 4, 5, 6 และ 7 วัน

5. ทดสอบผลของสารเคมี สารสกัดจากพืช และจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเกิดโรคใยแมงมุมในโรงเรือนเพาะเห็ดเป๋าฮื้อ โดยการปลูกเชื้อรา *Hypomyces* ลงบนดอกเห็ดเป๋าฮื้อ บ่มเชื้อ 5 วัน ในสภาพความชื้นประมาณ 80-85 เปอร์เซ็นต์ และอุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส จนเชื้อเจริญคลุมเข้าทำลายดอกเห็ดและเป็นโรคใยแมงมุม จากนั้นนำก้อนเชื้อเห็ดเป๋าฮื้อที่เกิดโรคจำนวน 20 ก้อน ไปวางรวมกับก้อนเห็ดเป๋าฮื้อจำนวน 200 ก้อน ที่กำลังเปิดดอก แต่ยังไม่มีดอกเห็ดโผล่ออกมา ดูแลให้ความชื้นและอุณหภูมิเหมาะสมต่อการเกิดโรค ทิ้งไว้ประมาณ 5 วัน จากนั้นแบ่งพื้นที่วางเห็ดเป็น 4 ส่วน กั้นแบ่งแต่ละส่วนออกจากกันด้วยผ้าพลาสติก และแต่ละส่วนวางก้อนเห็ด 50 ก้อน ส่วนที่ 1 พ่นสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา ส่วนที่ 2 พ่นสารสกัดจากพืช ส่วนที่ 3 พ่นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ส่วนที่ 4 พ่นน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ โดยพ่นที่พื้นและผนังโรงเรือน ชั้นวางก้อน และผิวนอกของก้อนเชื้อที่เป็นถุงพลาสติก ในแต่วันจะต้องปรับสภาพความชื้นและอุณหภูมิให้เหมาะสมต่อการเจริญของดอกเห็ด

บันทึกผลในแต่ละส่วนจากขนาดและน้ำหนัก ลักษณะอาการโรค และเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนดอกเห็ดแต่ละดอกจนครบ 50 ดอก

เวลา เดือน ตุลาคม 2550 – เดือน กันยายน 2553

สถานที่ - กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
- ฟาร์มเพาะเห็ดเศรษฐกิจของเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. จากการศึกษา พบว่าการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมบนอาหาร PDA (Potato Dextrose Agar) มีการสร้างโคโลนีลักษณะเส้นใย สีขาวนวล ฟู เจริญเร็วเต็มจานอาหารภายในเวลา 5 วัน เชื้อราสร้างก้าน conidiophore ลักษณะแตกกิ่งก้านแบบ verticillate โคนีเดียรูปไข่ ใส ไม่มีสี มี 1-2 เซลล์ ขนาด 5.12 – 10.36 x 10.36 – 25.90 ไมครอน เกิดจากฐาน denticulate conidiogenous loci บน phialide ที่ส่วนปลายแตกกิ่งก้านแบบ verticillate เมื่อจำแนกชนิดของเชื้อราตามลักษณะสัณฐานวิทยาและลักษณะโคโลนีบนอาหาร โดยเปรียบเทียบกับ เอกสารการจัดจำแนกชนิดที่มีการศึกษาและรายงานไว้แล้ว สามารถจำแนกได้เป็นเชื้อราสกุล *Cladobotryum verticillatum* ซึ่งเป็นระยะ anamorph ของรา *Hypomyces ochraceus* เชื้อราชนิดมีแหล่งอาศัยที่เป็นสิ่งมีชีวิต จำพวกเห็ดสกุล Russulales ได้แก่ *Lactarius* spp. และ *Russula* spp. เมื่อเจริญปกคลุมดอกเห็ดแล้ว จะทำให้เนื้อเยื่อดอกเห็ดส่วนนั้นเน่าเสีย และในที่สุดเน่าเสียทั้งดอก

เชื้อรามีแหล่งแพร่กระจายทั่วโลก ได้แก่ แคนาดาตะวันออก ทั่วทุกภาคของสหรัฐอเมริกา คิวบา โคลัมเบีย ฝรั่งเศส สหราชอาณาจักร ฟินแลนด์ สาธารัฐเช็ค เยอรมัน เนเธอร์แลนด์ เอสโตเนีย ลิตทูเนีย รัสเซีย ยูเครน ไซบีเรีย และญี่ปุ่น ส่วนใหญ่พบในระยะ anamorph หรือ เป็นเชื้อรา *Cladobotryum verticillatum* มากกว่า ระยะ teleomorph หรือ เชื้อรา *Hypomyces ochraceus*

2. ทดสอบผลของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Hypomyces* ในห้องปฏิบัติการ พบว่า สารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืชคาร์เบนดาซิม (carbendazim) โพรคลอราซ (prochloraz) และโพรพิโคนาโซล (propiconazole) อัตราส่วนผสมตั้งแต่ 5 มล. ต่อน้ำ 1,000 มล. หรือ 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุม บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA แต่อย่างไรก็ตามสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชทั้ง 3 ชนิด ก็มีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดด้วยเช่นกัน คือทำให้เส้นใยเห็ดชะงักการเจริญด้วย ผลจากการทดลองนี้ ทำให้ทราบว่าแม้สารป้องกันกำจัดโรคพืชคาร์เบนดาซิม โพรคลอราซ และ โพรพิโคนาโซล จะมีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเจริญหรือป้องกันกำจัดเชื้อรา *Hypomyces* สาเหตุของโรคใยแมงมุมบนดอกเห็ดเป๋าฮื้อ แต่ก็มีผลกระทบอย่างมากต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดเป๋าฮื้อ ดังนั้นหากจะมีการนำเอาสารเคมี

ป้องกันกำจัดโรคพืชทั้ง 3 ชนิด หรือชนิดอื่น ๆ ควรหาวิธีการใช้ที่เหมาะสม ไม่ให้กระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหรือการเจริญของดอกเห็ด จึงไม่ควรใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชในระยะเวลาที่ก้อนเห็ดเปิด หรือระยะเปิดก้อน ซึ่งนอกจากสารเคมีจะมีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยและดอกเห็ดแล้ว ยังอาจจะตกค้างอยู่ในดอกเห็ด จนเป็นอันตรายร้ายแรงต่อผู้บริโภคเห็ดด้วย

3. ทดสอบผลของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Hypomyces* ในห้องปฏิบัติการ

การทดสอบการใช้สารสกัดจากขมิ้นชัน ไพล ใบพลู และ เปลือกมังคุด ที่สกัดโดยวิธีแช่น้ำร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และวิธีการแช่ในเอธิลแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหูหนูในห้องปฏิบัติการ เมื่อนำสารสกัดที่ได้มาเจือจาง แล้วผสมลงในอาหาร PDA เลี้ยงเชื้อเห็ด พบว่า สารสกัดทั้ง 4 ชนิด สามารถยับยั้งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราของเชื้อรา *Hypomyces* สาเหตุโรคใยแมงมุมบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

สารสกัดจากขมิ้นชัน ไพล ใบพลู และ เปลือกมังคุด ที่สกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% แล้วเจือจางที่ความเข้มข้นไม่ต่ำกว่า 70% เมื่อผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์และเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ ส่วนสารสกัดจากพืช 4 ชนิดที่สกัดด้วยน้ำร้อน 100 องศาเซลเซียส ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้งสองชนิดมาบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด ได้

การทดสอบผลของน้ำส้มควันไม้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Hypomyces* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมน้ำส้มควันไม้ พบว่า เชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมของเห็ดเป๋าฮื้อไม่สามารถเจริญได้บนอาหารที่ผสมน้ำส้มควันไม้ในอัตราส่วน น้ำส้มควันไม้ ต่อน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เท่ากับ 1 : 20 และในอัตราส่วนนี้ เส้นใยเห็ดก็ชะงักการเจริญด้วย

4. ทดสอบผลของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Hypomyces* ในห้องปฏิบัติการ

การเก็บรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* โดยสุ่มแยกจากก้อนเชื้อเห็ดนางรม ได้เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* จำนวน 8 ไอโซเลท ได้แก่ หรือ M1 (Mycology1), M2, M3, M4, M5, M6, M7 และ M8 และเก็บรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่มีจำหน่ายเป็นการค้า ได้ 3 ไอโซเลท ได้แก่ B1 (Bacillus 1), B2 และ B3 รวม 11 ไอโซเลท การทดสอบผลกระทบของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่รวบรวมได้จำนวน 11 ไอโซเลท ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดเป๋าฮื้อในห้องปฏิบัติการ พบว่า *B. subtilis* ทั้ง 11 ไอโซเลท ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดเป๋าฮื้อ ทั้งบนจานอาหาร PDA และ ทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* 8 ไอโซเลทจากทั้งหมด 11 ไอโซเลท ได้แก่ M1, M2, M3, M4, M5 และ B1, B2 และ B3 สามารถสร้าง clear zone รอบตัวเอง และยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ โดยไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูง 4 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท M2, B1, B2 และ B3

สำหรับเชื้อ*แบคทีเรีย B. subtilis* 4 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการเจริญของ เชื้อรา *Cladobotryum verticillatum* ซึ่งเป็นระยะ anamorph ของเชื้อรา *Hypomyces ochraceus* สาเหตุโรคใยแมงมุมบนเห็ดเป๋าฮื้อ สามารถนำไปศึกษาต่อ และพัฒนาเป็นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สำหรับใช้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชต่อไปได้

5. ทดสอบผลของสารเคมี สารสกัดจากพืช และจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเกิดโรคใยแมงมุมในโรงเรือนเพาะเห็ดเป๋าฮื้อ

พบว่า สารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืชคาร์เบนดาซิม (carbendazim) โพรคลอราซ (prochloraz) และโพรพิโคนาโซล (propiconazole) อัตราส่วนผสมตั้งแต่ 5 มล. ต่อน้ำ 1,000 มล. หรือ 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุม ในสภาพโรงเรือนได้ดี แต่เนื่องจากมีผลกระทบอย่างมากต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดเป๋าฮื้อในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังนั้นผลจากการทดลองนี้เป็นเพียงการหาข้อมูลของชนิดสารป้องกันกำจัดโรคพืชที่มีประสิทธิภาพดีในการยังยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุม หรือป้องกันกำจัดโรคใยแมงมุมในการเพาะเห็ดเป๋าฮื้อ แต่ตามความเป็นจริงนั้น ไม่ควรใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชในระยะเวลาที่ก้อนเห็ดเปิด หรือระยะเปิดก้อน ซึ่งนอกจากสารเคมีจะมีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยและดอกเห็ดแล้ว ยังอาจจะตกค้างอยู่ในดอกเห็ด จนเป็นอันตรายร้ายแรงต่อผู้บริโภคเห็ดด้วย

การทดสอบใช้สารสกัดจากพืชในการป้องกันกำจัดเชื้อราในสภาพโรงเรือน พบว่า สารสกัดที่ได้จากขมิ้นชัน ไพล ใบพลู และ เปลือกมังคุด ที่สกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% ที่เจือจางให้มีความเข้มข้นสูงกว่าระดับ 70% ทำให้เชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมหยุดการเจริญได้

ในการทดลองนี้ได้ใช้วิธีการสกัดสารจากพืชสมุนไพรด้วยวิธีการที่ไม่ยุ่งยากซับซ้อน เพื่อที่เกษตรกรผู้เพาะเห็ดสามารถนำไปปฏิบัติใช้ในสภาพโรงเรือนเพาะเห็ดได้ง่าย ไม่สิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย และไม่ต้องใช้วัสดุอุปกรณ์ยุ่งยาก นอกจากนี้ยังมีพืชสมุนไพรอีกหลากหลายชนิด และวิธีการสกัดสารจากพืชอีกหลายวิธีที่สามารถนำมาปรับใช้สกัดสารจากพืช เพื่อยับยั้งการเข้าทำลายเห็ดของเชื้อสาเหตุโรคเห็ด ซึ่งเกษตรกรผู้เพาะเห็ดสามารถคิดค้นพัฒนาได้เอง โดยใช้พื้นฐานจากงานทดลองนี้

การทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูง 4 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท M2, B1, B2 และ B3 ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุม หรือป้องกันกำจัดโรคใยแมงมุมบนดอกเห็ดเป๋าฮื้อในสภาพโรงเรือนเปิดดอกเห็ด โดยการเจือจางเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เลี้ยงในนมสดจำนวน 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมงในน้ำเปล่า 20 ลิตร แล้วพ่นลงบนก้อนและดอกเห็ดที่เริ่มพบการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุม พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญ และการแพร่กระจายของเชื้อราสาเหตุบนก้อน และบนดอกเห็ดเป๋าฮื้อได้เป็นอย่างดี

อย่างไรก็ตาม แม้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* นี้ จะมีประสิทธิภาพดีในการป้องกันกำจัดโรคใยแมงมุม แต่วิธีการที่ใช้ในงานทดลองนี้ หากเปรียบเทียบกับวิธีอื่นแล้ว อาจจะให้ผลที่แตกต่างกันในเรื่องต้นทุนการผลิตเห็ด ดังนั้นการศึกษาถึงเรื่องต้นทุน และประสิทธิภาพในแต่ละ

วิธีการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ควรน่าจะมีการศึกษาหาข้อเปรียบเทียบกันให้ชัดเจน เพื่อจะเป็นประโยชน์ต่อการลดต้นทุนการผลิตของเกษตรกรเพาะเห็ด

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมคือเชื้อรา *Cladobotryum verticillatum* ซึ่งเป็นระยะ anamorph ของรา *Hypomyces ochraceus* ลักษณะการเจริญบนอาหาร PDA มีการสร้างโคโลนีลักษณะเส้นใย สีขาวนวล ฟู เจริญเร็วเต็มจานอาหารภายในเวลา 5 วัน เชื้อราสร้างก้าน conidiophore ลักษณะแตกกิ่งก้านแบบ verticillate โคนีเดียรูปไข่ ใส ไม่มีสี มี 1-2 เซลล์ ขนาด 5.12 – 10.36 x 10.36 – 25.90 ไมครอน เกิดจากฐาน denticulate conidiogenous loci บน phialide ที่ส่วนปลายแตกกิ่งก้านแบบ verticillate

การทดสอบสารเคมีในการป้องกันกำจัดราสาเหตุโรคใยแมงมุม พบว่าสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืชสารคาร์เบนดาซิม (carbendazim) สารเคมีโพรคลอราซ (prochloraz) และสารเคมีโพรพิโคนาโซล (propiconazole) อัตราส่วนตั้งแต่ 5 มล. ต่อน้ำ 1,000 มล. หรือ 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุม บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA แต่อย่างไรก็ตามสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชทั้ง 3 ชนิด ก็มีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดด้วยเช่นกัน

การทดสอบการใช้สารสกัดจากขมิ้นชัน ไพล ใบพลู และ เปลือกมังคุด ที่สกัดโดยวิธีแช่น้ำร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และวิธีการแช่ในเอธิลแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหูหนูในห้องปฏิบัติการ เมื่อนำสารสกัดที่ได้มาเจือจาง แล้วผสมลงในอาหาร PDA เลี้ยงเชื้อเห็ด พบว่า สารสกัดทั้ง 4 ชนิด สามารถยับยั้งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราของเชื้อรา *Hypomyces* สาเหตุโรคใยแมงมุมบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

การทดสอบผลกระทบของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่รวบรวมได้จำนวน 11 ไอโซเลท ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดเป๋าฮื้อในห้องปฏิบัติการ พบว่า *B. subtilis* ทั้ง 11 ไอโซเลท ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดเป๋าฮื้อ ทั้งบนจานอาหาร PDA และ ทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* 8 ไอโซเลทจากทั้งหมด 11 ไอโซเลท ได้แก่ M1, M2, M3, M4, M5 และ B1, B2 และ B3 สามารถสร้าง clear zone รอบตัวเอง และยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ โดยไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูง 4 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท M2, B1, B2 และ B3

สารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืชคาร์เบนดาซิม (carbendazim) โพรคลอราซ (prochloraz) และโพรพิโคนาโซล (propiconazole) อัตราส่วนผสมตั้งแต่ 5 มล. ต่อน้ำ 1,000 มล. หรือ 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุม ในสภาพโรงเรือนได้ดี

การทดสอบใช้สารสกัดจากพืชในการป้องกันกำจัดเชื้อราในสภาพโรงเรือน พบว่า สารสกัดที่ได้จากขมิ้นชัน ไพล ใบพลู และ เปลือกมังคุด ที่สกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% ที่เจือจางให้มีความเข้มข้นสูงกว่าระดับ 70% ทำให้เชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมหยุดการเจริญได้

การทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูง 4 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท M2, B1, B2 และ B3 ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมหรือป้องกันกำจัดโรคใยแมงมุมบนดอกเห็ดเป๋าฮื้อในสภาพโรงเรือนเปิดดอกเห็ด โดยการเจือจางเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เลี้ยงในนมสดจำนวน 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมงในน้ำเปล่า 20 ลิตร แล้วพ่นลงบนก้อนและดอกเห็ดที่เริ่มพบการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุม พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญ และการแพร่กระจายของเชื้อราสาเหตุบนก้อน และบนดอกเห็ดเป๋าฮื้อได้เป็นอย่างดี

อย่างไรก็ตาม แม้จะทราบถึงชนิดของสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช สารสกัดจากพืช และจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันกำจัดโรคใยแมงมุม แต่วิธีการที่ใช้ในงานทดลองนี้หากเปรียบเทียบกับวิธีอื่นแล้ว อาจจะให้ผลที่แตกต่างกันในเรื่องต้นทุนการผลิตเห็ด ดังนั้นควรจะมีการศึกษาถึงวิธีการใช้วิธีการป้องกันกำจัดเหล่านี้ ควบคู่กับการศึกษาเรื่องต้นทุน เพื่อหาข้อเปรียบเทียบกันให้ชัดเจน เพื่อจะเป็นประโยชน์ต่อการลดต้นทุนการผลิตของเกษตรกรเพาะเห็ดต่อไป

เอกสารอ้างอิง

นิตยา กันหลง, พัน อินทร์จันทร์, พัฒนา สนธิรัตน, และประเทืองศรี สินชัยศรี. 2540. การใช้สารสกัดจากพืชบางชนิดในการควบคุมโรคหอมเลื้อย, หน้า 49-64. *ใน* รายงานผลงานวิจัยผลงานวิจัย พ.ศ.2540. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

พัฒนา สนธิรัตน, นิตยา กันหลง, ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน, และประเทืองศรี สินชัยศรี. 2537. ผลของสารสกัดจากพืชบางชนิดต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสและเลื้อยของหอม, หน้า 27-38. *ใน* รายงานผลงานวิจัยผลงานวิจัย พ.ศ.2537. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

ศรีสุดา กวยาสกุล. 2536. แบคทีเรียในสกุล *Bacillus* ที่มีความสามารถในการควบคุมเชื้อ *Fusarium moniliforme* Seldon เชื้อสาเหตุโรครากเน่าและลำต้นเน่าของอ้อย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อภิรัชต์ สมฤทธิ์. 2544. โรคของเห็ดหูหนู. ข่าวสารเพื่อผู้เพาะเห็ด ปีที่ 6 ฉบับที่ 2 (พฤษภาคม-สิงหาคม 2544): 18-20.

อภิรัชต์ สมฤทธิ์. 2545. การทดสอบสารป้องกันกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุม (cobweb). ข่าวสารเพื่อผู้เพาะเห็ด ปีที่ 7 ฉบับที่ 3 (กันยายน-ธันวาคม 2545): 26-28.

อภิรัชต์ สมฤทธิ์, ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน, นิยม ไข่มุกข์, และธารทิพย ภาสบุตร. 2545. โรค Cobweb ของเห็ดหูหนู, หน้า 12-13. ใน เอกสารประชุมวิชาการ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา ปี พ.ศ.2545 กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

Bhatt, N., and R. P. Singh. 2003. Cobweb Disease of *Agaricus bisporus*: Incidence, Losses and Effective Management. http://www.mushworld.com/disease/view.

Coles, P. S., and W. Barber. 2004. Pest Species Biology and Control, pp. 52-60. *In* Pennsylvania Mushroom Integrated Pest Management Handbook. Pennsylvania Department of Agriculture and the Pennsylvania State University, United States of America.

Goltapeh, E.M., C.L. Jandaik, J.N. Kapoor and V. Prakash. 1989. *Cladobotryum verticillatum*-A new pathogen of Jew's ear mushroom causing cobweb disease. Mush. J. Tropics, 9:155-160.

Kim, H.K., S. J. Seok, G. P. Kim, B. J. moon, and T. Terashita. 2002. Occurrence of Disease Caused by *Cladobotryum varium* on *Flammulina velutipes* in Korea. http://www.mushworld.com.

Kwan, H. J. 2002. Mushroom-Engulfing Cobweb (*Dactylium dendroides*). http://www.mushworld.com.

Makay, G. J., D. Egan, E. Morris, C. Scott, and A. E. Brown. 1996. Genetic and Morphological Characterization of *Cladobotryum* Species Causing Cobweb Disease of Mushrooms. Applied and Environmental Microbiology, 65 (2): 606-610.

McHugh, R., B., Seddon. Comparison of Biocontrol of *Botrytis cinerea* in Tomato and Lettuce Crops Using *Bacillus brevis*. http://www.google.co.th/search?q=cache:A9Y_suDRYREJ:www.u-bourgogne.fr/IUVV/P52.pdf+bacillus%2Bmould%2Bbioco.

Poppe, J., W. Welvaert, and G. de Both. 1985. Diseases and their control-possibilities after ten years *Pleurotus* culture in Belgium. Mededelingen-van-de-Faculteit-Landbouwwetenschappen-Rijksuniversiteit-Gent, 50:3b, 1097-1108.

Rogerson, C.T. and G.J. Samuels. 1993. Polyporicolous species of *Hypomyces*. Mycologia, 85(2) 231-272.

Russell, P. 1984. Sporgon on mushrooms. Mushroom Journal, 141:299-300.

Seddon, B. *Bacillus brevis* (*Brevibacillus brevis*) and Biological Control of *Botrytis cinerea*. http://www.u-bourgogne.fr/IUVV/L25.html