

การคัดเลือกเชื้อรา *Oudemansiella* spp. ที่มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อราสกุล
Colletotrichum spp. สาเหตุโรคพืช

Selection of Effective *Oudemansiella* spp. to Control *Colletotrichum* spp.

พจนา ตระกูลสุขรัตน์^{1/} กรกช จันทร์^{2/} และปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์^{2/}

^{1/} กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/} กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร สำนักวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

บทคัดย่อ

การทดลองหาไอโซเลทเห็ด *Oudemansiella* spp. ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่าไอโซเลท L3P สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคได้ดีที่สุด และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการอบแห้งเส้นใยเห็ดคือ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน

คำนำ

เห็ดในสกุล *Oudemansiella* spp. บางชนิดสามารถนำมาใช้รับประทานเป็นอาหารได้ บางชนิดมีคุณสมบัติในการควบคุมการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคทั้งในพืชและในมนุษย์ สามารถพบเห็ดในสกุลนี้ได้พบได้ทั้งในเขตร้อนชื้นและเขตอบอุ่นบนรากต้นไม้ที่เน่าผุ ในประเทศไทยมีการพบเห็ดในสกุลนี้บางชนิดในเขตจังหวัดนราธิวาส ตากและเลย (อัจฉรา, 2545) มีรายงานว่าสารประกอบที่ได้อส่วน fruiting body ของเห็ดในสกุลนี้สามารถลดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *Sphaerotheca fuliginea* สาเหตุโรคราแป้งแดงกว่าได้ถึง 20% นอกจากนี้ยังลดอัตราการงอกของโคโคนีเดียได้ถึง 71% ภายใน 48 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อ (Stadnik *et al.*, 2003) นอกจากนี้เห็ดบางชนิดในสกุลนี้ เช่น *O. radicata*, *O. canarii* และ *O. mucida* ยังสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคในมนุษย์ (Denisova, 2001; Reshetnikovs *et al.*, 2001; Vahidi and Namjoyan, 2004) และดังนั้นการศึกษาหาชนิดเห็ดในสกุล *Oudemansiella* spp. ที่สามารถสร้างสารประกอบที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืช จึงมีความจำเป็นเพื่อให้ได้ข้อมูลสำหรับใช้เป็นแนวทางในการคัดเลือกสายพันธุ์เห็ดในสกุล *Oudemansiella* spp. ที่มีศักยภาพสำหรับการ

รหัสการทดลอง 03-04-54-01-03-02-01-54

นำมาใช้เป็นสารชีวภัณฑ์ควบคุมโรคพืช เพื่อลดความเสียหายของพืชที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรค และเป็นการลดการใช้สารเคมีควบคุมโรคอีกทางหนึ่ง

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์เห็ด *Oudemansiella* spp. ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคพืชในสภาพห้องปฏิบัติการ และหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการอบแห้งเส้นใยเห็ดก่อนนำมาสกัดสารประกอบด้วยตัวทำละลาย สำหรับเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาการนำสารประกอบจากเห็ด *Oudemansiella* spp. มาใช้ป้องกันกำจัดจุลินทรีย์เชื้อสาเหตุโรคพืชโดยชีววิธีอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

วิธีดำเนินการและอุปกรณ์

อุปกรณ์

1. เห็ดในสกุล *Oudemansiella* spp. ที่เก็บอยู่ในหน่วยเก็บรักษาเชื้อพันธุ์เห็ด กรมวิชาการเกษตร
2. เชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคพืช
3. อาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) และ potato dextrose broth (PDB)
4. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการและเครื่องแก้ว
5. อุปกรณ์บันทึกผลการทดลองได้แก่ กล้องถ่ายภาพ และสมุดบันทึก

วิธีการ

1. เลี้ยงและขยายปริมาณเห็ด *Oudemansiella* spp.
เลี้ยงเห็ดในสกุล *Oudemansiella* spp. ซึ่งเก็บรักษาอยู่ขวดในน้ำกลั่นหนึ่งหลอดเชื้อ ของหน่วยเก็บรักษาศูนย์เชื้อพันธุ์เห็ด กรมวิชาการเกษตร จำนวน 4 ไอโซเลท คือ
 1. ไอโซเลท L3P พบที่ ศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทองอันเนื่องมาจากพระราชดำริ อ.พิกุลทอง จ.นราธิวาส เมื่อ พ.ศ. 2539
 2. ไอโซเลท ชช 17 พบที่ จ.ตาก โดยศุภนิมิตย์ หิรัญประดิษฐ์ และยงยุทธ สายฟ้า เมื่อ พ.ศ. 2544
 3. ไอโซเลท หนาว พบที่ อ.ภูเรือ จ.เลย เมื่อ พ.ศ. 2545
 4. ไอโซเลท สุราษฎร์ พบที่ อ.กาญจนดิษฐ์ จ.สุราษฎร์ธานี เมื่อ พ.ศ. 2552
 บนอาหาร PDA เป็นเวลา 1-2 สัปดาห์ จนเห็นเส้นใยเจริญ ใช้ cork borer เจาะอาหาร PDA ที่มีเส้นใยเห็ดเจริญอยู่ในหลอดในขวดบรรจุอาหารเหลว PDB ปริมาตร 100 มิลลิลิตร วางขวดอาหารเหลว PDB บนเครื่องเขย่าขวดอาหารและตั้งให้เครื่องเขย่ามีความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเวลา 30 และ 60 วัน จนเห็นการเจริญของกลุ่มเส้นใยเห็ดเป็นก้อนกลมมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3.0-5.0 มิลลิเมตร

2. ศึกษาระดับอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับอบแห้งเส้นใยเห็ด

นำกลุ่มเส้นใยเห็ดสกุล *Oudemansiella* spp. ทั้ง 4 ไอโซเลท อายุ 1 และ 2 เดือนซึ่งเจริญอยู่ในอาหารเหลว PDB มากรองด้วยกระดาษกรอง Wathman เบอร์ 1 บนกรวยแก้ว ย้ายเส้นใยที่กรองได้ไปวางบนกระดาษฟรอยด์ ก่อนนำไปอบที่ตู้อบความร้อน อุณหภูมิ 30, 45 และ 50 องศาเซลเซียส บันทึกเวลาที่ใช้ออบจนเส้นใยเห็ดสกุล *Oudemansiella* spp. แห้ง ณ อุณหภูมิต่างกัน

3. เลี้ยงและขยายปริมาณเชื้อราสาเหตุโรคพืช

เก็บรวบรวมตัวอย่างพริกเป็นโรคแอนแทรคโนสซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. จากแปลงเกษตร จำนวน 1 ไอโซเลท แยกและเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่งั้วที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5-7 วันจนเห็นเส้นใยเจริญเพื่อรอทดสอบ

เลี้ยงและขยายเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคพืชซึ่งเก็บรักษาอยู่ใน culture collection จำนวน 3 ไอโซเลทคือ

1. *Colletotrichum capsici* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก พบที่ จ.อุบลราชธานี
2. *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก พบที่ จ.พิจิตร
3. *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสมะม่วง พบที่ จ.สุพรรณบุรี

บนอาหาร PDA ที่งั้วที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5-7 วันจนเห็นเส้นใยเจริญเพื่อรอทดสอบ

4. ทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค

ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5.0 มิลลิเมตร เจาะอาหาร PDA ที่มีเส้นใยเห็ดเจริญอยู่บริเวณขอบโคโลนีวางบนอาหาร PDA ในจานอาหาร อีกด้านหนึ่งวางชิ้นงั้วที่มีเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคพืชที่ถูกเจาะด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5.0 มิลลิเมตร วางอยู่ให้มีระยะห่างกัน 3 เซนติเมตร ชุดควบคุม (control) วางชิ้นงั้วที่มีเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหาร PDA วางจานอาหารที่งั้วที่อุณหภูมิห้องจนโคโลนีเชื้อราสาเหตุโรคในจานอาหารชุดควบคุมเจริญเต็มจาน จดบันทึกลักษณะการยับยั้งการเจริญของโคโลนีเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคพืชของเส้นใยเห็ด *Oudemansiella* spp. ไอโซเลทต่างๆ

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2553 สิ้นสุด กันยายน 2554

ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช และห้องปฏิบัติการกลุ่มงานจุลชีววิทยาประยุกต์ สำนักวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. เลี้ยงและขยายปริมาณเห็ด *Oudemansiella* spp.

ลักษณะเส้นใยเห็ด *Oudemansiella* spp. จำนวน 4 ไอโซเลทคือ ชช17, สุราษฎร์, หนาว และ L3P เส้นใยมีสีขาวขุ่น มีการเจริญของกลุ่มเส้นใยเห็ด *Oudemansiella* spp. ในอาหาร PDB เหลวที่สะอาดไม่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดอื่น เริ่มแรกมีลักษณะเป็นก้อนกลมสีขาวขุ่นขนาดเล็ก ต่อมาก้อนขยายขนาดจนมีเส้นผ่าศูนย์กลางระหว่าง 3.0-5.0 มิลลิเมตร อาหารเหลว PDB ใส่ไม่ขุ่น ถ้าเกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดอื่นเส้นใยเห็ดก็ยังสามารถเจริญได้แต่อาหารเหลว PDB จะมีลักษณะขุ่นเป็นตะกอน

2. ศึกษาระดับอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับอบแห้งเส้นใยเห็ด

ลักษณะเส้นใยเห็ด *Oudemansiella* spp. ภายหลังจากอบแห้ง เส้นใยจับตัวกันเป็นแผ่นแข็งและเปลี่ยนจากสีขาว-ขาวครีม เป็นสีน้ำตาลเข้ม อุณหภูมิที่ใช้ออบเปรียบเทียบ 3 ระดับอุณหภูมิพบว่า อุณหภูมิเหมาะสมสำหรับการอบเส้นใยเห็ดคือ 35 องศาเซลเซียสใช้เวลาอบประมาณ 3 วัน ในขณะที่ อุณหภูมิ 45 และ 50 องศา ใช้เวลาเร็วกว่าคือ 1-2 วัน แต่เส้นใยเห็ดที่ได้มีลักษณะเป็นก้อนแข็งจนไม่สามารถนำบดเป็นผงเพื่อนำไปใช้สกัดสารประกอบต่อได้ นอกจากนี้เส้นใยที่อบด้วยอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสยังมีกลิ่นคล้ายกลิ่นไหม้เล็กน้อย

3. ทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค

การเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคพืชมีลักษณะผิดปกติ โดยเฉพาะเมื่อทดสอบกับเส้นใยเห็ด *Oudemansiella* spp. ไอโซเลท L3P เส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคบริเวณขอบโคโลนีตรงบริเวณที่เส้นใยทั้งสองพบกันหยุดการเจริญ และมีลักษณะเป็นสีเข้มผิดปกติ เส้นใยปกติ เมื่อนำเส้นใยบริเวณดังกล่าวไปส่องตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่าเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum* spp. มีลักษณะบิดเบี้ยว โค้งงอ นอกจากนี้ยังพบอีกว่าเส้นใยเห็ด *Oudemansiella* spp. ไอโซเลท L3P สามารถเจริญคลุมทับโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคพืชได้ทุกไอโซเลท ในขณะที่ผลการทดลองกับเส้นใยเห็ด *Oudemansiella* spp. อีก 3 ไอโซเลท เห็นความผิดปกติของเส้นใยเชื้อราบริเวณขอบโคโลนีเจริญเพียงเล็กน้อยไม่ชัดเจนเท่ากับการทดลองกับ *Oudemansiella* spp. ไอโซเลท L3P

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลการทดลองหาไอโซเลทเห็ด *Oudemansiella* spp. ที่เหมาะสมที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ รา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคของในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่าไอโซเลท L3P สามารถยับยั้งการเจริญของโคโลนีเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคบนอาหาร PDA โดยเส้น

ใยของเชื้อราสาเหตุโรครามีการเจริญผิดปกติเห็นได้ชัดเจนกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ การทดลองกับไอโซเลท ชช17, หนาว และสุราษฎร์และอุณหภูมิเหมาะสมที่ใช้อบแห้งเส้นใยเห็ด *Oudemansiella* spp. คือ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน

เอกสารอ้างอิง

- อัจฉรา พยัพพานนท์. 2545. เห็ดสกุล *Oudemansiella* จะเป็นเห็ดพาณิश्य์. วารสารเห็ดไทย 2545 :45-55.
- Denisova, N.P. 2001. Traditional of using medicinal mushroom in different nations. Int. J. Med. Mushr. 3:409-415.
- Reshetnikos, S.V., Wasser, S.P. and K.K. Ton. 2001. Higher basidiomycotota as a source jof antitumor and immunostimulation polysaccharides (Review). Int. J. Med. Mushr. 3:361-394
- Stadnik, M.J., Bettiol, W., and M.L. Saito. 2003. Bioprospecting for plant and fungus extracts with systemic effect to control the cucumber powdery mildew. J. of Plant Disease and Protection 110 (4): 383-393.
- Vahidi, H. and F. Namjoyan. 2004. Evaluation of antimicrobial activity of *Oudermansiella* sp. (Basidiomycetes). Iranian J. of Pharmaceutical Research 2:115-117.