

1. ชุดโครงการ : 77. วิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช
2. โครงการวิจัย : 217. วิจัยและพัฒนาการควบคุมศัตรูพืชทางการเกษตรโดยชีววิธี
กิจกรรม : 3. การผลิตและการใช้เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมโรคพืช
กิจกรรมย่อย (ถ้ามี) : 3.2 การผลิตและการใช้เชื้อราควบคุมโรคพืช
3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) การคัดเลือกเชื้อรา *Oudemansiella* spp. ที่มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อราสกุล *Colletotrichum gloeosporioides* และ *C. capsici* ในพริก
ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) Selection of Effective *Oudemansiella* spp. to Control *Colletotrichum gloeosporioides* and *C. capsici* of Chilli
4. คณะผู้ดำเนินงาน
หัวหน้าการทดลอง พจนา ตระกูลสุขรัตน์ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ผู้ร่วมงาน กรกช จันทร สำนักวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ สำนักวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

5. บทคัดย่อ (ไทย)

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

บทคัดย่อ (อังกฤษ)

Under laboratory condition, *Oudemansiella* spp. which its effectiveness could control *Colletotrichum* spp. was L3P isolate. It could control the growths of plant pathogen fungi. The optimum temperature to dry those mushroom hyphae was 35 °C. It took 3 days in incubator machine.

6. คำนำ

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

ลดความเสียหายของพืชที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรค และเป็นการลดการใช้สารเคมีควบคุมโรคอีกทางหนึ่ง

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

7. วิธีดำเนินการ

- 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 ซช 17 พบที่ จ.ตาก โดยศุภนิത്യ 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 ที่มีเส้นใยเห็ดเจริญอยู่ใส่ลงในขวดบรรจุอาหารเหลว 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

เก็บรวบรวมตัวอย่างพริกเป็นโรคแอนแทรกคโนสซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. จากแปลงเกษตร จำนวน 1 ไอโซเลท แยกและเลี้ยงบนอาหาร PDA ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5-7 วันจนเห็นเส้นใยเจริญเพื่อรอทดสอบ

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

(1) *Colletotrichum capsici* สาเหตุโรคแอนแทรกคโนสพริก พบที่ จ.อุบลราชธานี

(2) *C. gloeosporiodes* สาเหตุโรคแอนแทรกคโนสพริก พบที่ จ.พิจิตร

(3) *C. gloeosporiodes* สาเหตุโรคแอนแทรกคโนสมะม่วง พบที่ จ.สุพรรณบุรี
บนอาหาร PDA ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5-7 วันจนเห็นเส้นใยเจริญเพื่อรอทดสอบ

4. ทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค

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

- เวลาและสถานที่ เริ่มต้น ตุลาคม 2555 สิ้นสุด กันยายน 2556

ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช และ

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานจุลชีววิทยาประยุกต์ สำนักวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

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 ถ้าเกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดอื่น เส้นใยเห็ดก็ยังสามารถเจริญได้แต่อาหารเหลว PDB จะมีลักษณะขุ่นเป็นตะกอน

2. ศึกษาระดับอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับอบแห้งเส้นใยเห็ด

ลักษณะเส้นใยเห็ด *Oudemansiella* spp. ภายหลังการอบแห้ง เส้นใยจับตัวกันเป็นแผ่นแข็งและเปลี่ยนจากสีขาว-ขาวครีม เป็นสีน้ำตาลเข้ม อุณหภูมิที่ใช้อบเปรียบเทียบ 3 ระดับอุณหภูมิ พบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการอบเส้นใยเห็ดคือ 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 เส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคบริเวณขอบโคโลนีตรงบริเวณที่เส้นใยทั้งสองพบกันหยุดการเจริญและมีลักษณะเป็นสีเข้มติดจากสีเส้นใยปกติ 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

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ผลการทดลองหาไอโซเลทเห็ด *Oudemansiella* spp. ที่เหมาะสมที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคของในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่าไอโซเลท L3P สามารถยับยั้งการเจริญของโคโลนีเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคบนอาหาร PDA โดยเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคมีการเจริญผิดปกติเห็นได้ชัดเจนกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองกับไอโซเลท ชช17, หนาว และสุราษฎร์และอุณหภูมิตามสมควรที่ซ็อบแห้งเส้นใยเห็ด *Oudemansiella* spp. คือ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับเป็นแนวทางการนำเห็ดมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชทดแทนการใช้สารเคมี

11. คำขอขอบคุณ (ถ้ามี)

12. เอกสารอ้างอิง

- อัจฉรา พยัพพานนท์. 2545. เห็ดสกุล *Oudemansiella* จะเป็นเห็ดพิษหรือไม่. 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 of 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 *Oudemansiella* sp. (Basidiomycetes). Iranian J. of Pharmaceutical Research 2:115-117.

13. ภาคผนวก