

การทดลองที่ 1.4 การศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดเพื่อใช้ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรครดพืช
Study in bioactive compounds from mushrooms for using to control
phytopathogenic fungi

ชื่อผู้วิจัย

หัวหน้าการทดลอง : นายกรกช จันทร

สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

ผู้ร่วมงาน : นางสาวภรณ์ สว่างศรี

สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

นางสาวอัจฉราพรรณ ใจเจริญ

สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์

สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

นางสาวพจนา ตระกูลสุขรัตน์

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

คำสำคัญ (Key words)

สารออกฤทธิ์ เห็ดนางรมหลวง เห็ดหลินจือ เห็ดหอม เห็ดยานางิ โรครดพืช

บทคัดย่อ (Abstracts)

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อเห็ด 6 ชนิด 10 ตัวอย่าง ของกรมวิชาการเกษตร คือ เห็ดนางรม, เห็ดนางรมหลวง, เห็ดหลินจือ เบอร์ 1 และ เบอร์ 2, เห็ดหอม เบอร์ 4 และ เบอร์ 5, เห็ดยานางิ เบอร์ 1 และ เบอร์ 2 และเห็ดอูดิมาน เบอร์ 1 และ เบอร์ 3 ต่อการยับยั้งการเจริญและความสามารถในการเจริญคลุมทับเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรครดพืช 4 ชนิด 7 ไอโซเลต ได้แก่ เชื้อรา *Alternaria* spp. ไอโซเลต KKU, *A. brassicolar* ไอโซเลต สอพ., *Colletotrichum* spp. ไอโซเลต KKU, *C. gleosporioides* ไอโซเลต สอพ., *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ไอโซเลต KKU, *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ไอโซเลต สอพ. และ *Sclerotium rolfsii* ไอโซเลต KKU ทดสอบด้วยวิธี Dual cultures พบว่าเห็ดแต่ละชนิดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรครดพืชในแต่ละชนิดที่แตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพเชื้อเห็ดในสกุลเดียวกัน ทำการคัดเลือกเชื้อเห็ด 5 ชนิด คือ เห็ดนางรม, เห็ดหลินจือ เบอร์ 2, เห็ดหอม เบอร์ 5, เห็ดยานางิ เบอร์ 2 และเห็ดอูดิมาน เบอร์ 3 เพื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดหยาบจากเส้นใยเชื้อเห็ดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรครดพืช ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยดูจากรัศมีของการยับยั้ง พบว่า สารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ด หลินจือ เบอร์ 2 และเห็ดอูดิมาน เบอร์ 3 ที่ระดับความเข้มข้น 0.75 หรือ 1 เท่าเท่านั้น ที่มีผลในการยับยั้งการเจริญเชื้อราโรครดพืช ยกเว้นกับเชื้อรา *S. rolfsii* ที่ไม่มีผลในการยับยั้ง และเมื่อทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดหลินจือ เบอร์ 2 และเห็ดอูดิมาน เบอร์ 3 เจือจางที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ : น้ำนิ่งฆ่าเชื้อ ที่อัตรา 1:1, 1:2 ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรครดพืช 4 ชนิด บนพืชทดสอบในระดับโรงเรือนทดลอง คือ เชื้อรา *A. brassicolar* สาเหตุโรครดใบจุดค่น้ำ, *C. gleosporioides* สาเหตุโรครดแอนแทรคโนสบนผลพริก, *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* สาเหตุโรครดเหี่ยวของมะเขือเทศ และ *S. rolfsii* สาเหตุโรครดโคนเน่าของมะเขือเทศ พบว่าสารสกัดหยาบจากเห็ดทั้ง 2 ชนิด ไม่มีผลในการยับยั้งการเกิดโรครดบนพืชทดสอบ โดยพืชทดสอบยังคงแสดงอาการของโรค การวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบโปรตีนในสารสกัดหยาบจากเห็ด 5 ชนิด ด้วยวิธี Kjeldahl method พบว่า สารสกัดหยาบจาก

เส้นใยเห็ดหลินจือ เบอร์ 2 และ เห็ดอูดิมาน เบอร์ 3 มีปริมาณโปรตีนที่สูงกว่าในเห็ดชนิดอื่น ที่ 18.67 เปอร์เซ็นต์ และ 17.32 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

บทนำ (Introduction)

พืชเป็นโรคซึ่งมีสาเหตุจากการเข้าทำลายโดยเชื้อสาเหตุโรคพืช (ไวรัส, แบคทีเรีย และรา) ส่งผลกระทบต่อการเพาะปลูก ตลอดจนเกิดความเสียหายหรือการลดลงของคุณภาพของผลผลิตทางการเกษตร การจัดการและควบคุมปัญหาที่เกิดขึ้นอาศัยการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชเป็นหลัก (Agrios, 2005) เชื้อราเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืชชนิดหนึ่งซึ่งสร้างความเสียหายต่อการเพาะปลูกพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะในพื้นที่เขตร้อนและร้อนชื้น (Brimner and Boland, 2003) พบว่ามีการใช้สารเคมีกำจัดเชื้อรา (chemical fungicides) กันอย่างกว้างขวาง ในการจัดการกับปัญหาที่เกิดขึ้น อย่างไรก็ตามการใช้สารกำจัดเชื้อราที่มากเกินไปจนเกินความจำเป็นในการเกษตร ก่อให้เกิดผลกระทบต่อหลายประการ ทั้งการทำลายสุขภาพของมนุษย์ ก่อให้เกิดมลภาวะกับสิ่งแวดล้อม และทำให้เชื้อราสาเหตุโรคพืชมีการปรับตัวจนต้านทานต่อสารเคมีที่ใช้ในที่สุด (Prapagdee *et al.*, 2008) ประเทศในสหภาพยุโรป สหรัฐอเมริกา และในอีกหลายประเทศ จึงให้ความสำคัญในการควบคุมเกี่ยวกับการจดทะเบียนสารกำจัดศัตรูพืช การกำหนดปริมาณสารออกฤทธิ์ในสารเคมีให้อยู่ในระดับต่ำลง การเลือกใช้ส่วนผสมในสารเคมีที่มีความเป็นพิษต่ำและก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมลดลง จากการออกข้อบังคับต่างๆส่งผลให้มีการห้ามใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชหลายชนิด และการจัดการโรคพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจบางโรคยากลำบากมากยิ่งขึ้น จากการใช้สารประกอบที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพืชน้อยลง (Montesions, 2007) ดังนั้นทั่วโลกจึงให้ความสนใจอย่างมาก ในการที่จะนำสารชนิดอื่นที่ไม่ใช่สารเคมีมาใช้ควบคุมและจัดการสิ่งมีชีวิตสาเหตุโรคพืช (Pacumbaba *et al.*, 1999)

สาร antifungal เป็นสารที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันตัว ที่ผลิตในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด สามารถพบทั้งในพืช สัตว์ และรา ซึ่งมีบทบาทในการป้องกันหรือต่อต้านการเข้าทำลายจากเชื้อราสาเหตุของโรค (Ngai and Ng, 2003) จากปัญหาการเพาะปลูกพืชทางการเกษตรถูกเข้าทำลายโดยเชื้อราสาเหตุโรคพืช จนก่อให้เกิดความเสียหายทั้งด้านปริมาณและคุณภาพของผลผลิตนั้น การศึกษาเกี่ยวกับสาร antifungal จึงเป็นที่สนใจที่จะนำมาใช้เป็นแนวทางในการแก้ปัญหาดังกล่าว (Chu *et al.*, 2005) สาร antifungal มีหลายชนิด โดยจัดแบ่งกลุ่มตามลักษณะโครงสร้างและบทบาทหน้าที่ที่แตกต่างกัน ประกอบด้วย thumatin-like proteins, chitinases, glucanases, peroxidases, ribonucleases, protease inhibitors, miraculin-like proteins, ribosome inactivating proteins, cyclophilin-like proteins, embryo-abundant proteins และ lectins (Wang and Ng, 2004) ปัจจุบันมีรายงานมากมายถึงการศึกษเกี่ยวกับสาร antifungal ที่ได้มาจากพืช ในขณะที่พบรายงานการศึกษาถึงสารเหล่านี้มีน้อยมากในเห็ด (Wang and Ng, 2004) ดังนั้นการศึกษาและค้นหาสาร antifungal จากเห็ดกินได้ (edible mushrooms) ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช เป็นสิ่งที่ควรให้ความสนใจเพื่อนำสารที่ได้มาประยุกต์ใช้ในการจัดการเชื้อราสาเหตุของโรคพืช ซึ่งเป็นทางเลือกหนึ่งในการป้องกัน กำจัดหรือลดความเสียหายของพืชจากการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรค อีกทั้งยังลดผลกระทบต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม เนื่องจากการใช้สารเคมีในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช

เห็ดเป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่พบว่ามีการออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เป็นประโยชน์เป็นองค์ประกอบมากมาย เช่น สารต้านแบคทีเรีย (antibacterial), สารต้านเชื้อรา (antifungal), สารต้านไวรัส (antiviral), สารต้านมะเร็ง (antitumor), สารยับยั้งการแบ่งตัว (antiproliferative), สารที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน (immunomodulatory), lectin-like, protease และ nuclease activities (Ng, 2004; Lindequist *et al.*, 2005) ปัจจุบันพบว่ารายงานการศึกษาเกี่ยวกับสาร antifungal จากเห็ดกินได้ ส่วนใหญ่มุ่งความสนใจไปที่สารที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งหรือต่อต้านโรคหรือเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคในมนุษย์ (Chu *et al.*, 2005; Gbolagade *et al.*, 2007; Guo *et al.*, 2005; Iwalokun *et al.*, 2007; Jagadish *et al.*, 2009; Jonathan and Fasidi, 2003; Ngai and Ng, 2003; Rosa *et al.*, 2003) เพื่อให้ทราบถึงประโยชน์ที่ได้รับจากการบริโภคเห็ดที่มีสารชนิดนั้นๆ ตลอดจนการนำสารเหล่านั้นมาประยุกต์ใช้หรือผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ทางยา ในขณะที่การศึกษาและค้นหาสาร antifungal ที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันหรือต้านทานเชื้อราสาเหตุโรคพืชยังมีไม่มากนัก อย่างไรก็ตามจากรายงานการศึกษาพบว่าเห็ดกินได้หลายชนิดมีสาร antifungal ที่มีประสิทธิภาพดี เมื่อทำการทดสอบสารกับเชื้อราสาเหตุโรคพืชภายใต้ห้องปฏิบัติการ

Anke *et al.* (1979) และ Becker *et al.* (1981) พบสาร oudemansin ในเห็ด *Oudemansiella mucida* ซึ่งเป็นสารประกอบ antifungal ได้ศึกษาโครงสร้างทางเคมีและความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราและแบคทีเรีย พบว่าสารชนิดนี้มีประสิทธิภาพสูงมากในการต้านเชื้อรา และมีผลในการยับยั้งกระบวนการหายใจของราอีกด้วย การศึกษาของ Imtiaz and Lee (2007) พบว่าสารที่มีอยู่ในอาหารเลี้ยงเส้นใยเห็ด *O. mucida* สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืช *Colletotrichum gloeosporioides* และ *C. miyabeanus* ได้ในระดับดี Ngai and Ng (2003) แยกสาร lentin ซึ่งเป็น antifungal protein ขนาด 27.5 กิโลดาลตัน (kDa) จากเห็ดหอม (*Lentinula edodes*) เมื่อนำสารมาทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคพืช *Botrytis cinerea*, *Mycosphaerella arachidicola* และ *Physalospora piricola* พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชทั้ง 3 ชนิดได้ในระดับดี การศึกษาของ Piero *et al.* (2006) ทำการแยกโปรตีนจากเห็ดหอมด้วยเทคนิค chromatography เมื่อนำต้นกล้าแตงกวา แช่ในสารละลายโปรตีนจาก peak V ที่มีปริมาณโปรตีนอยู่ 34% พบว่าบนใบเลี้ยงต้นกล้าแตงกวาตรวจพบระดับ peroxidase เพิ่มขึ้น และต้นกล้าแสดงความรุนแรงจากการเข้าทำลายจาก เชื้อรา *Colletotrichum lagenarium* ในระดับที่น้อยที่สุด Wang and Ng (2004) พบ antifungal peptide ชนิดใหม่ในเห็ดนางรมหลวง (*Pleurotus eryngii*) คือสาร eryngin มีขนาด 10 kDa ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช *Fusarium oxysporum* และ *M. arachidicola* ได้ในระดับดี Chu *et al.* (2005) ศึกษา antifungal peptide ในเห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*) พบ antifungal peptide pleurostrin ที่มีขนาด 7 kDa นำสารที่แยกบริสุทธิ์ได้มาทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคพืช *F. oxysporum*, *M. arachidicola* และ *P. piricola* พบว่าสาร pleurostrin สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชทั้ง 3 ชนิดได้ในระดับดี Wang and Ng (2006) แยก antifungal protein ganodermin จากเห็ดหลินจือ (*Ganoderma lucidum*) มีขนาด 15 kDa

สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืช *B. cinerea*, *F. oxysporum* และ *P. piricola* ได้ในระดับดี

การใช้สารเคมีกำจัดเชื้อราในการลดหรือป้องกันความเสียหายของการเพาะปลูกพืชและผลผลิตทางการเกษตรจากการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ยังคงเป็นที่นิยมและใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน แม้ว่าวิธีการดังกล่าวยังคงมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อราสาเหตุของโรคพืช อย่างไรก็ตามการใช้สารเคมีอย่างต่อเนื่องก็ส่งผลเสียและผลกระทบตามมาหลายประการ เช่น การทำให้เชื้อราสาเหตุของโรคพืชเกิดการต้านทานต่อสารเคมีที่ใช้ จนทำให้สารเคมีชนิดนั้นๆไม่สามารถควบคุมเชื้อสาเหตุของโรคพืชได้อีกต่อไป การตกค้างของสารเคมีที่ใช้ทั้งบนพืช ตลอดจนสภาพแวดล้อม อันส่งผลเสียต่อสุขภาพของมนุษย์และระบบนิเวศวิทยา ดังนั้นการศึกษาและค้นหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compounds) จากสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ เช่น พืช สัตว์ หรือจุลินทรีย์ ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญหรือการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคพืช จึงเป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับการลดความเสียหายของพืชจากการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคพืช และลดผลกระทบด้านต่างๆที่เกิดจากการใช้สารเคมีในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชให้ตกเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ชนิดหนึ่ง ปัจจุบันมีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับการค้นหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดมาใช้ประโยชน์ พบว่าเห็ดกินได้หลายชนิดสามารถผลิตสาร antifungal ซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ดี ดังนั้นการศึกษาและค้นหาสาร antifungal จากเห็ดกินได้ที่เลือกมาทำการศึกษา 5 ชนิด ได้แก่ เห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*), เห็ดนางรมหลวง (*Pleurotus eryngii*), เห็ดหลินจือ (*Ganoderma lucidum*), เห็ดหอม (*Lentinula edodes*) และเห็ด *Oudemansiella mucida* โดยอาศัยเทคนิคทางชีวโมเลกุล ในการแยกบริสุทธิ์สาร (purification) การทดสอบประสิทธิภาพของสารที่แยกได้ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชในระดับห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลอง การค้นหาฮีนและโคลนยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารเพื่อสร้าง recombinant clone ตลอดจนการเพิ่มปริมาณสารที่ได้ให้มีปริมาณมากเพียงพอ เพื่อที่จะนำสาร antifungal ที่สกัดแยกจากเห็ดกินได้ นำมาใช้ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชโดยตรง หรือพัฒนาและผลิตสารที่ได้ ให้อยู่ในรูปสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชทางการค้าต่อไปในอนาคต

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

1 รวบรวมและเลี้ยงตัวอย่างเห็ด และเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่นำมาทดสอบ

1. เห็ดกินได้ที่นำมาใช้ในการศึกษา 6 ชนิด 10 ตัวอย่าง จากศูนย์รวบรวมเชื้อพันธุ์เห็ด กรมวิชาการเกษตร ได้แก่ เห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*)

เห็ดนางรมหลวง (*Pleurotus eryngii*)

เห็ดหลินจือ (*Ganoderma lucidum*) เบอร์ 1 และ 2

เห็ดหอม (*Lentinula edodes*) เบอร์ 4 และ 5

เห็ดยานางิ (*Agrocybe cylindracea*) เบอร์ 1 และ 2

เห็ดอูดิมาน (*Oudemansiella spp.*) เบอร์ 1 และ 3

นำเชื้อพันธุ์เห็ดมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (Potato Dextrose Agar) เพื่อใช้ในการทดลอง

2. เชื้อราสาเหตุโรคพืชที่นำมาทดสอบ 4 ชนิด 7 ไอโซเลต ได้แก่

เชื้อรา *Alternaria* sp. ไอโซเลต KKU และ *A. brassicolar* ไอโซเลต สอพ. สาเหตุโรคใบจุดคะน้า

เชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลต KKU และ *C. gleosporioides* ไอโซเลต สอพ. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก

เชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ไอโซเลต KKU และ สอพ. สาเหตุโรคเหี่ยวเหืองของมะเขือเทศ

เชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ไอโซเลต KKU สาเหตุโรคเน่าคอดิน

รวบรวมและเลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคพืชบนอาหาร PDA เพื่อใช้ในงานทดลอง

2 ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อเห็ดต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืช

1. วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) โดยมีชนิดของเชื้อเห็ด 10 กรรมวิธี ทำการทดลอง 5 ซ้ำ เลี้ยงเชื้อเห็ดทิ้ง 10 ชนิด บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิ 28 °C เป็นเวลา 7-10 วัน สำหรับเชื้อราสาเหตุโรคพืช เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิ 28 °C เป็นเวลา 3-5 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร เจาะเส้นใยของเชื้อเห็ดที่นำมาทดสอบมาวางห่างจากขอบด้านหนึ่งของจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 2.5 เซนติเมตร บ่มที่อุณหภูมิ 28 °C เป็นเวลา 4-5 วัน นำเชื้อราสาเหตุโรคพืชมาวางตรงข้ามกันในแนวเส้นผ่านศูนย์กลางให้ห่างกันประมาณ 5 เซนติเมตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28 °C หลังจากเชื้อทดสอบสัมผัสกัน บันทึกผลโดยวัดการเจริญเติบโตของเส้นใยจากระยะทางของเส้นใยเชื้อทั้ง 2 ชนิด การคำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพของเชื้อเห็ดในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราโรคพืช (Percent inhibition of radial growth- PIRG) โดยใช้สูตรคำนวณดังนี้

$$PIRG = ((R_c - R_t) / R_c) \times 100$$

R_c = ค่าเฉลี่ยของรัศมีการเจริญของเชื้อราโรคพืชในกรรมวิธีควบคุม

R_t = ค่าเฉลี่ยของรัศมีการเจริญของเชื้อราโรคพืช

2. หลังจากเส้นใยของเชื้อเห็ดและเชื้อราสาเหตุโรคพืชเจริญมาสัมผัสกัน บันทึกประสิทธิภาพของเชื้อเห็ดในการคลุมทับเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช percent overgrow (POG) โดยใช้สูตรคำนวณคือ

$$POG = ((C_1 - C_2) / D) \times 100$$

C₁ = ค่าเฉลี่ยของรัศมีเส้นใยเชื้อเห็ดที่คลุมทับเส้นใยเชื้อราโรคพืชในวันที่ทำการศึกษา

C₂ = ค่าเฉลี่ยของรัศมีเส้นใยเชื้อเห็ดที่คลุมทับเส้นใยเชื้อราโรคพืชในวันก่อนทำการศึกษา

D = ช่วงระยะเวลาที่ใช้ในการศึกษามีหน่วยเป็นวัน

3 การสกัดสารสกัดหยาบ (crude extract) จากเส้นใยเห็ด

1. เลี้ยงเส้นใยเห็ดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน เมื่อครบกำหนดตัดเส้นใยเห็ดบริเวณรอบนอกสุดด้วย cork borer เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร ถ่ายเชื้อเห็ดลงในอาหารเหลว PDB (Potato Dextrose Broth) ปริมาณ 100 มล. บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 วัน เมื่อครบกำหนดนำไปกรองแยกด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วนำเส้นใยเห็ดแช่ในเอทานอล 40% เก็บรักษาไว้ที่ตู้เย็นอุณหภูมิ 4 °c จนกว่าจะนำมาใช้

2. การสกัดสารสกัดหยาบ (crude extract) จากเส้นใยเชื้อเห็ด ด้วยเอทานอล 40% ใช้วิธีการสกัดแบบการแช่อยู่ (maceration) นำตัวอย่างเส้นใยเห็ดที่แช่ในเอทานอล 40% ที่เก็บรักษาไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 °c นานเป็นเวลา 1 เดือน นำเส้นใยเห็ดมากรองด้วยผ้าขาวบาง แล้วนำส่วนของเหลวกรอง (filtrate) ไปทำการระเหยเอทานอล 40% ด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนที่อุณหภูมิ 40 ความดัน 240 เมกะปาสกาล สารสกัดหยาบที่ได้เก็บไว้ในขวดสีชาฆ่าเชื้อและเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 °c จนกว่าจะนำมาใช้

4 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดแต่ละชนิด ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช

1. วางแผนการทดลองแบบ 5x5 factorial in CRD โดยมีสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ด 5 ชนิด แต่ละชนิดมี 5 กรรมวิธี ทำการทดลอง 5 ซ้ำ แต่ละซ้ำมี 3 ซ้าย่อย เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคพืช 4 ชนิด 7 ไอโซเลต (ข้อ 2.) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิ 28 °c เป็นเวลา 3-4 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร เจาะเส้นใยของเชื้อสาเหตุโรคพืชมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ใหม่ตรงกลางจาน บ่มที่อุณหภูมิ 28 °c เป็นเวลา 3-4 วัน จนเส้นใยเชื้อสาเหตุโรคพืชเจริญ 1 ใน 3 บนผิวอาหาร

2. นำสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดแต่ละชนิด มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 0.25, 0.5, 0.75, 1 เท่า และใช้น้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อเป็นชุดควบคุม (control) นำแผ่น paper disc ผ่านการฆ่าเชื้อ แล้วหยดสารสกัดหยาบ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร วางบนผิวอาหาร PDA จากข้อ 4.1 โดยวางรอบเส้นใยเชื้อสาเหตุโรคพืช ห่างจากขอบเส้นใยประมาณ 1 ซม. นำจานเลี้ยงเชื้อทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 °c เวลา 48 ชั่วโมง ตรวจสอบและบันทึกผลการทดลองโดยบันทึกความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืชได้ และขนาดรัศมีของการยับยั้ง (inhibition zone) จากขอบแผ่น paper disc ถึงปลายเส้นใยเชื้อราโรคพืช

5 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดกินได้ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช บนพืชทดสอบ ในระดับโรงเรือนทดลอง

สารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดกินได้ 2 ชนิด ได้แก่ เห็ดหลินจือ เบอร์ 2 และเห็ดอูดิมาน เบอร์ 3 ทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ แต่ละซ้ำมี 3 ซ้าย่อย โดยมีปัจจัย คือความเข้มข้นสารสกัดหยาบจากเห็ด : น้ำสะอาดหนึ่งฆ่าเชื้อ จำนวน 2

อัตรา คือ 1:1, 1:2 และชุดควบคุมใช้น้ำสะอาดนิ่งฆ่าเชื้อ รวมเป็น 3 ชุดการทดลอง ทดสอบบนพืช ทดสอบ ก่อนปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืชชนิดต่างๆ ดังนี้

1. เชื้อรา *Alternaria brassicola* สาเหตุโรคใบจุดคะน้า

ฉีดพ่นสารสกัดหยาบจากเห็ดแต่ละชนิด ที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาณ 25 มิลลิลิตร บนผิวใบ ต้นคะน้าอายุ 10-14 วัน หลังจากนั้น 1 วัน ปลูกเชื้อรา *A. brassicola* บนผิวใบต้นคะน้า

2. เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก

แช่ผลพริกในสารละลายสารสกัดหยาบจากเห็ดแต่ละชนิด ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที ก่อนปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนผลพริก

3. เชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองมะเขือเทศ

จุ่มรากต้นกล้ามะเขือเทศ อายุ 14-20 วัน ด้วยสารสกัดหยาบจากเห็ดแต่ละชนิด ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที ก่อนย้ายลงปลูกในกระถาง หลังจากนั้น 1 วัน ปลูกเชื้อรา *F. oxysporum* ลงดินปลูกต้นมะเขือเทศ ด้วยสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา *F. oxysporum* ความเข้มข้น 10^7 สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาณ 25 มิลลิลิตร/ต้น รดลงบนดินปลูก

4. เชื้อรา *Sclerotium rolfsii* สาเหตุโรคโคนเน่า

ย้ายต้นกล้ามะเขือเทศ อายุ 14-20 วัน ลงในกระถางปลูก แล้วรดสารสกัดหยาบจากเห็ดแต่ละชนิด ที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาณ 25 มิลลิลิตร ลงบริเวณรอบโคนต้นกล้า หลังจากนั้น 1 วัน ปลูกเชื้อรา *S. rolfsii* ลงบนดินปลูกต้นมะเขือเทศ ด้วยสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา *S. rolfsii* ความเข้มข้น 10^7 สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาณ 25 มิลลิลิตร/ต้น รดลงบนดินปลูก

3.6 การวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบต่างๆในสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ด

3.6.1 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในสารสกัดหยาบ

ใช้วิธี Kjeldahl method (AOAC13) ซึ่งตัวอย่างสาร 0.2 กรัม ใส่ลงในหลอด Kjeldahl เติม Mixed catalyst (CuSO_4 0.1 กรัม, NaSO_4 2 กรัม, conc. H_2SO_4 25 กรัม) นำไปย่อยบน digestion block โดยให้ความร้อนอ่อนๆจนกระทั่งหมดฟอง แล้วจึงเพิ่มความร้อนที่อุณหภูมิ 400°C จนกระทั่งสารละลายใส และทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นเติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร นำหลอดย่อยต่อเข้ากับเครื่องกลั่น เติม 45% NaOH 40 มิลลิลิตร นำ receiving flask ที่ใส่ 4% boric acid อยู่ 25 มิลลิลิตร และเติม indicator แล้ว ใส่อรงรับสารละลายที่กลั่นได้ ไทเทรตสารละลายที่กลั่นได้ด้วย 0.1N HCl จนกระทั่งสีของสารละลายเปลี่ยนเป็นสีม่วงอมชมพู จากนั้นหาปริมาณไนโตรเจน และคำนวณหาปริมาณโปรตีนจากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ Nitrogen (g/100 g)} = \frac{1.401 \times [\text{mlS} - \text{mlB}] \times \text{Conc.HCl (N)}}{\text{Weight of sample (g)}}$$

mlS = ปริมาณกรด HCl ที่ใช้ไทเทรตกับตัวอย่าง

mlB = ปริมาณกรด HCl ที่ใช้ไทเทรตกับ blank

Conc.HCl = ความเข้มข้นของสารละลายกรดมาตรฐาน HCl

ปริมาณโปรตีน (g/100 g) = เปอร์เซ็นต์ Nitrogen \times 6.25

3.6.2 วิเคราะห์หาปริมาณความชื้น

อบถ้วยอะลูมิเนียมเปล่าในตู้อบไฟฟ้า ที่อุณหภูมิ 105 °c เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบ ใส่ลงในโถดูดความชื้น จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะเท่ากับอุณหภูมิห้อง แล้วจึงชั่งน้ำหนัก ทำซ้ำจนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งสองครั้งไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม จากนั้นชั่งตัวอย่างให้ได้ น้ำหนัก 1-3 กรัม ใส่ลงในภาชนะหาความชื้นซึ่งทราบน้ำหนัก นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 °c เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่โถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนักภาชนะพร้อมตัวอย่าง จากนั้นนำกลับไปเข้าตู้อบ และทำซ้ำจนได้ผลต่างของน้ำหนักทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม และคำนวณหาปริมาณความชื้นจากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ปริมาณความชื้น} = \frac{W2 - W3}{W2 - W1} \times 100$$

$W1$ = น้ำหนักถ้วยอะลูมิเนียมเปล่า

$W2$ = น้ำหนักถ้วยอะลูมิเนียมเปล่า + น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบแห้ง

$W3$ = น้ำหนักถ้วยอะลูมิเนียมเปล่า + น้ำหนักตัวอย่างหลังอบแห้ง

3.6.3 วิเคราะห์ปริมาณเยื่อใย

นำตัวอย่างใส่ลงใน crucible จากนั้นตวงสาร 1.25% H_2SO_4 200 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องย่อยเมื่อสารเดือดปรับความร้อนลง จับเวลา 30 นาที เมื่อครบถ่ายตัวอย่างลงใส่ผ้ากรอง ล้างด้วยน้ำร้อน 1 ลิตร แล้วถ่ายตัวอย่างลงใน crucible ตามเดิม ตวงสาร 1.25% $NaOH$ 200 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องย่อยเมื่อสารเดือดปรับความร้อนลง จับเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลาถ่ายตัวอย่างลงใน crucible ตามเดิม และล้างตัวอย่างด้วยน้ำร้อนจนหมดต่าง ใช้น้ำร้อนประมาณ 1,500 มิลลิลิตร นำไปอบจนแห้งที่อุณหภูมิ 105 °c เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำ crucible ออกมาใส่โถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นจากนั้นชั่งน้ำหนัก จดบันทึก จากนั้นนำ crucible ที่ชั่งน้ำหนักแล้วเข้าไปในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 °c นาน 2 ชั่วโมง จากนั้นเปิดฝาเตาเผา รอให้ถ้วยเย็นลง แล้วนำใส่โถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็น แล้วชั่งน้ำหนัก crucible จดบันทึก คำนวณหาปริมาณเยื่อใยจากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์เยื่อใย} = \frac{W2 - W3}{W} \times 100$$

$W2$ = น้ำหนัก crucible + น้ำหนักตัวอย่างหลังการอบ

$W3$ = น้ำหนัก crucible + น้ำหนักตัวอย่างหลังการเผา

W = น้ำหนักตัวอย่าง

3.6.4 วิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC13)

ชั่งตัวอย่างประมาณ 2 กรัม ลงในถ้วยกระเบื้องเคลือบ เเผาบนเตาไฟฟ้า จนหมดควัน นำไปเผาที่อุณหภูมิ 550 °c จนกระทั่งได้เถ้าสีเทาอ่อนหรือสีขาวสม่ำเสมอ นำออกจากเตาเผา เก็บในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง ชั่งน้ำหนักและบันทึกผล จากนั้นทำซ้ำจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ (ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งสองครั้งไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม) หาค่าเฉลี่ยและบันทึกผล คำนวณหาปริมาณเถ้าจากสูตร

$$\text{ร้อยละของปริมาณเถ้า (\%)} = \frac{(W2 - W1) \times 100}{W}$$

W1 = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบเปล่า

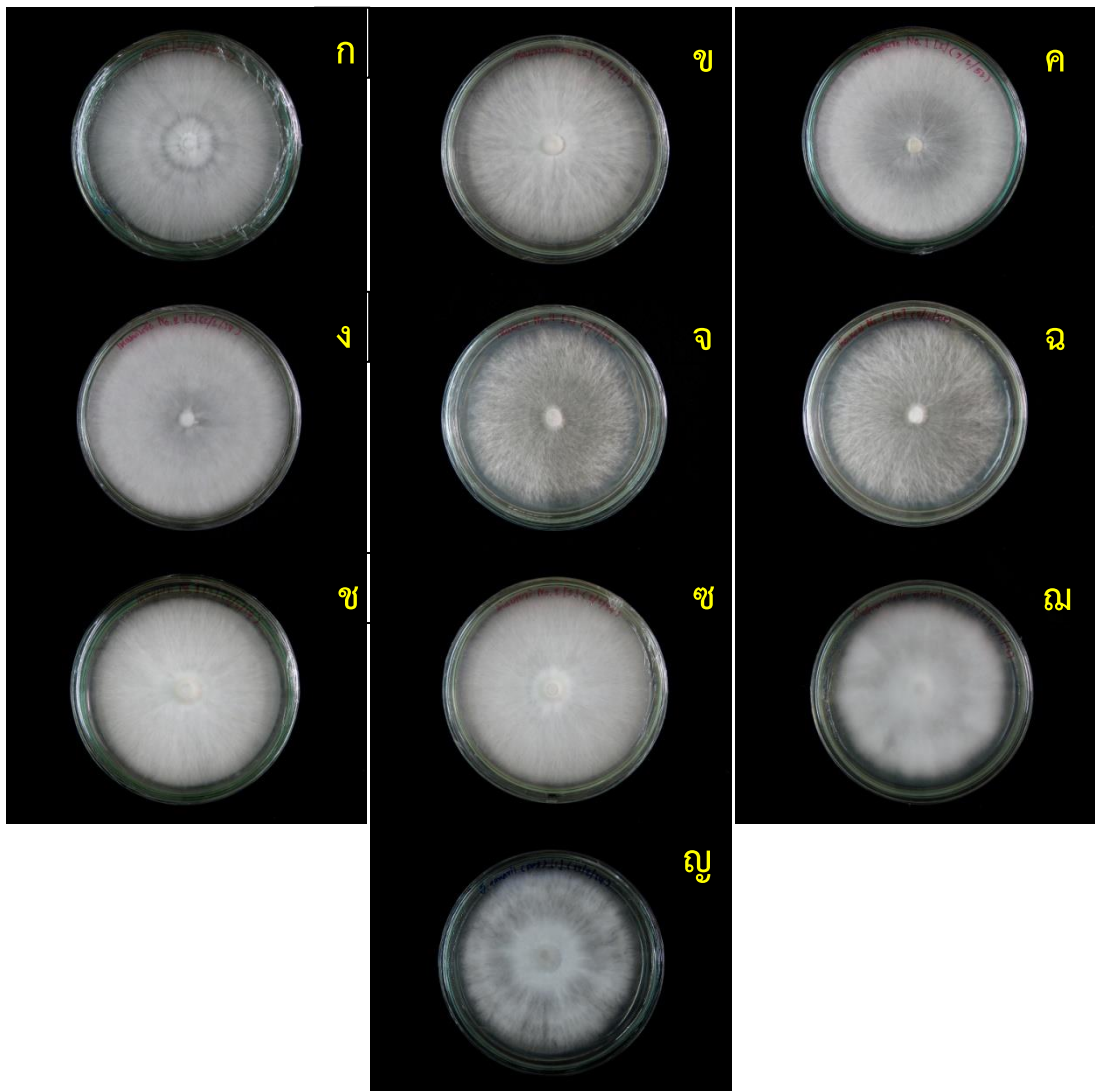
W2 = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบ + เถ้า

W = น้ำหนักตัวอย่าง

ผลการวิจัย (Results)

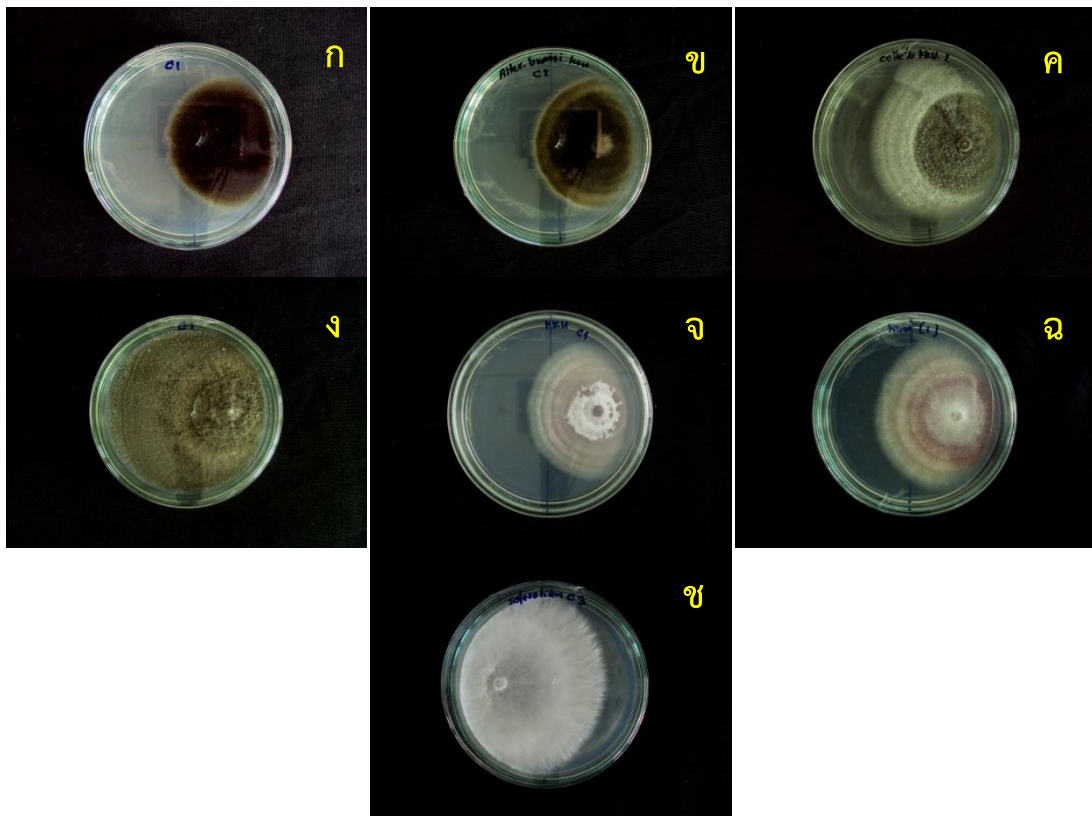
1. รวบรวมและเลี้ยงตัวอย่างเห็ด และเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่นำมาทดสอบ

เห็ดกินได้ที่นำมาใช้ในการศึกษา 6 ชนิด 10 ตัวอย่าง จากศูนย์รวบรวมเชื้อพันธุ์เห็ด กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 1 เส้นใยเชื้อเห็ดนางรม (ก.) เห็ดนางรมหลวง (ข.) เห็ดหลินจือ เบอร์ 1 (ค.) เห็ดหลินจือ เบอร์ 2 (ง.) เห็ดหอม เบอร์ 4 (จ.) เห็ดหอม เบอร์ 5 (ฉ.) เห็ดยานางิ เบอร์ 1 (ช.) เห็ดยานางิ เบอร์ 2 (ซ.) เห็ดอูดิมาน เบอร์ 1 (ฅ.) และเห็ดอูดิมาน เบอร์ 3 (ญ.) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

เชื้อราสาเหตุโรคพืชที่นำมาทดสอบ 4 ชนิด 7 ไอโซเลต ได้แก่ เชื้อรา *Alternaria* sp. ไอโซเลต KKU และ *A. brassicolar* ไอโซเลต สอพ. สาเหตุโรคใบจุดคะน้า เชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลต KKU และ *C. gleosporioides* ไอโซเลต สอพ. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก เชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ไอโซเลต KKU และ สอพ. สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศ และเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ไอโซเลต KKU สาเหตุโรคโคนเน่า

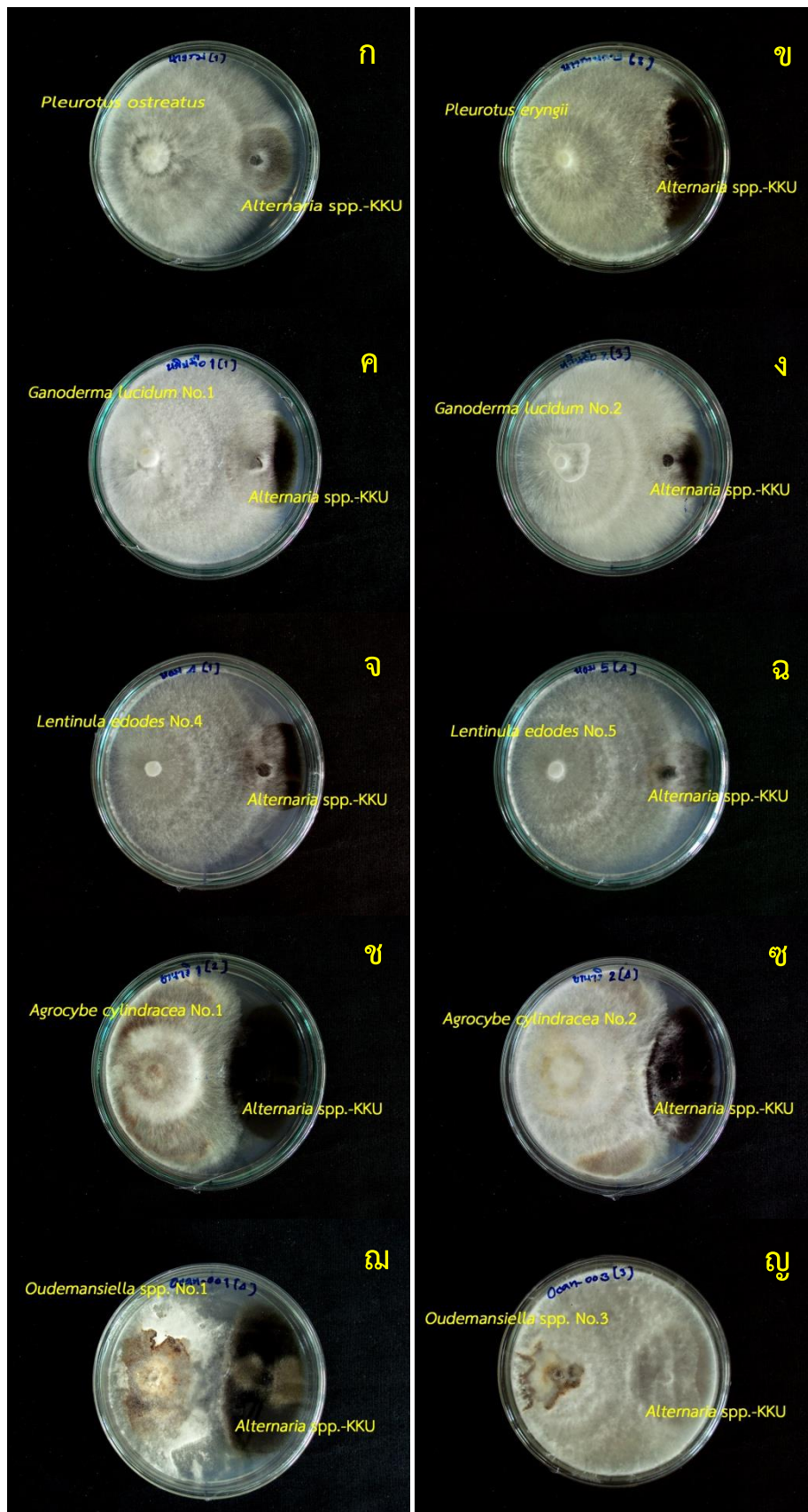


ภาพที่ 2 เส้นใยเชื้อราโรคพืช เชื้อรา *Alternaria* spp. ไอโซเลต KKU (ก.) เชื้อรา *A. brassicolar* ไอโซเลต สอพ. (ข.) เชื้อรา *Colletotrichum* spp. ไอโซเลต KKU (ค.) เชื้อรา *C. gleosporioides* ไอโซเลต สอพ. (ง.) เชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ไอโซเลต KKU (จ.) เชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ไอโซเลต สอพ. (ฉ.) และเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ไอโซเลต KKU (ช.) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

2. ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อเห็ดต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืช

4.2.1 การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* spp. ไอโซเลต KKU พบว่าเห็ดหอม เบอร์ 5, เห็ดหอม เบอร์ 4, เห็ดหลินจือ เบอร์ 2 และเห็ดนางรม สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* spp. ไอโซเลต KKU ได้ 58.288 เปอร์เซ็นต์, 57.216 เปอร์เซ็นต์, 56.146 เปอร์เซ็นต์ และ 50.802 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในส่วนประสิทธิภาพการเจริญคลุมทับเส้นใยของเชื้อรา *Alternaria* spp. ไอโซเลต KKU นั้น เห็ดนางรม, เห็ดหลินจือ เบอร์ 2, เห็ดหลินจือ เบอร์ 1 และเห็ดอดูติมาน เบอร์ 3 มีเปอร์เซ็นต์การเจริญคลุมทับเท่ากับ 54.000 เปอร์เซ็นต์, 42.284 เปอร์เซ็นต์, 41.140 เปอร์เซ็นต์ และ 30.572 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ในขณะที่ เห็ดยานางิ เบอร์ 1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* spp. ไอโซเลต KKU น้อยที่สุด เพียง 34.756 เปอร์เซ็นต์ อีกทั้งไม่สามารถเจริญคลุมทับเส้นใยของเชื้อราโรคพืชได้ แสดงในตารางที่ 1 (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 การยับยั้งการเจริญเชื้อรา *Alternaria* spp. ไอโซเลต KKU ของเชื้อเห็ดนางรม (ก.) เห็ดนางรมหลวง (ข.) เห็ดหลินจือ เบอร์ 1 (ค.) เห็ดหลินจือ เบอร์ 2 (ง.) เห็ดหอม เบอร์ 4 (จ.) เห็ดหอม เบอร์ 5 (ฉ.) เห็ดยานางิ เบอร์ 1 (ช.) เห็ดยานางิ เบอร์ 2 (ซ.) เห็ดอูตึมาน เบอร์ 1 (ณ.) และเห็ดอูตึมาน เบอร์ 3 (ญ.)

ตารางที่ 1 การควบคุมเชื้อรา *Alternaria* spp. ไอโซเลต KKU ด้วยเห็ด 10 ชนิด

เชื้อเห็ด	%การยับยั้งการเจริญเชื้อรา <i>Alternaria</i> spp. ^{1/}	%การเจริญคลุ่มทับเส้นใยเชื้อรา <i>Alternaria</i> spp. ^{1/}	ลักษณะการเจริญของเส้นใย ^{2/}
เห็ดนางรม	50.802 bc	54.000 a	***
เห็ดนางรมหลวง	37.434 fg	16.296 d	***
เห็ดหลินจือ เบอร์ 1	41.710 def	41.140 b	***
เห็ดหลินจือ เบอร์ 2	56.146 ab	42.284 b	***
เห็ดหอม เบอร์ 4	57.216 ab	28.856 c	***
เห็ดหอม เบอร์ 5	58.288 a	27.426 c	***
เห็ดยานางิ เบอร์ 1	34.756 g	0.000 ^{3/}	**
เห็ดยานางิ เบอร์ 2	41.174 efg	0.000 ^{3/}	**
เห็ดอูตึมาน เบอร์ 1	45.452 cde	0.000 ^{3/}	**
เห็ดอูตึมาน เบอร์ 3	48.128 cd	30.572 c	***

^{1/}ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

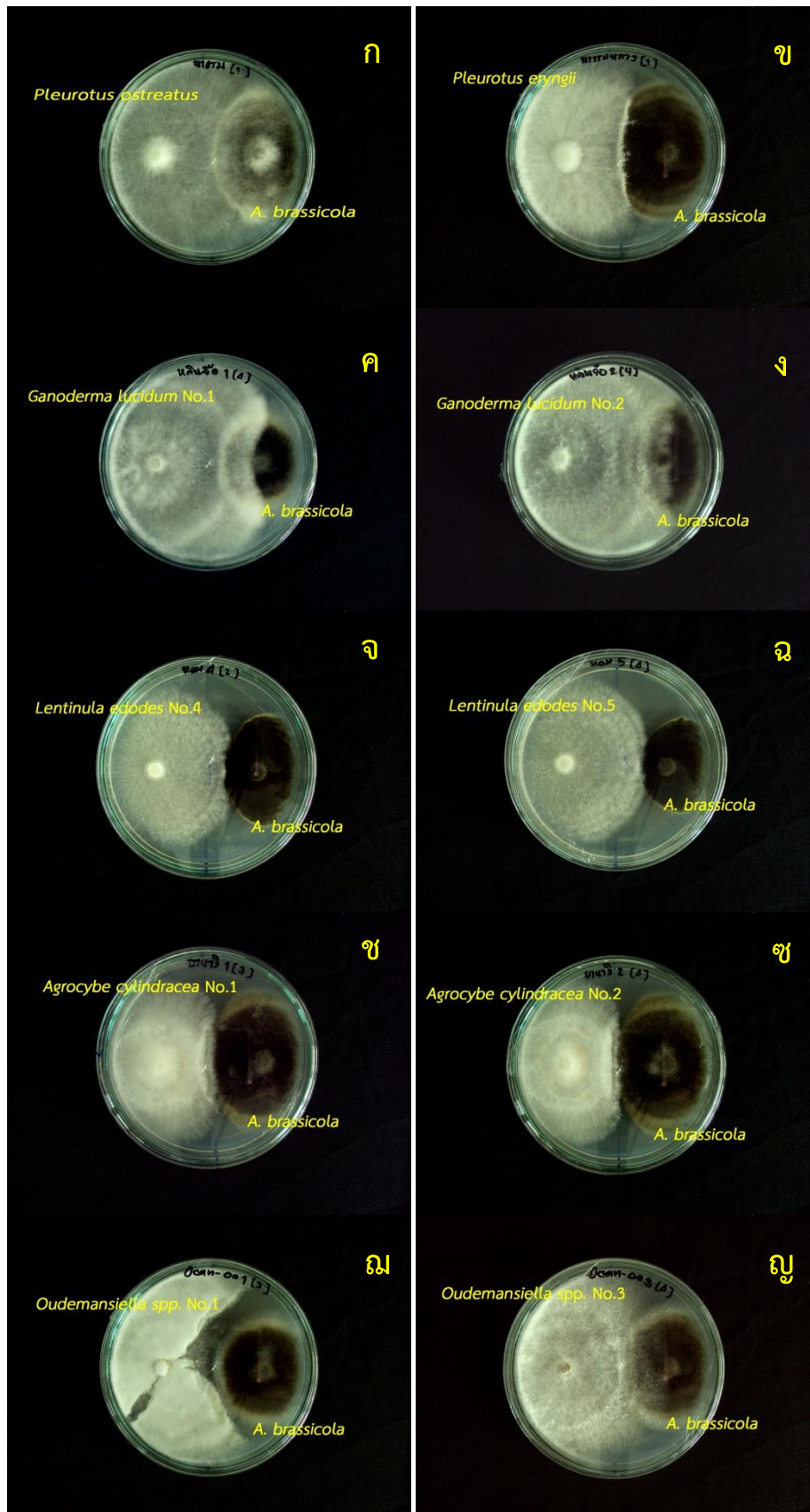
^{2/} *** เชื้อเห็ดสามารถเจริญคลุ่มทับเส้นใยเชื้อราโรคพืชได้

** เชื้อเห็ดและเชื้อราโรคพืชไม่สามารถเจริญบนโคโลนีของต่างฝ่ายได้

* เชื้อราโรคพืชเจริญคลุ่มทับเส้นใยเชื้อเห็ด

^{3/}เนื่องจากเชื้อเห็ดไม่มีการเจริญคลุ่มทับเส้นใยเชื้อราโรคพืช จึงไม่ได้นำมาวิเคราะห์ทางสถิติ

2.2 การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. brassicola* ไอโซเลต สอพ. พบว่าเห็ดหอม เบอร์ 5, เห็ดหอม เบอร์ 4, เห็ดหลินจือ เบอร์ 2 และเห็ดหลินจือ เบอร์ 1 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. brassicola* ไอโซเลต สอพ. ได้ 66.326 เปอร์เซ็นต์, 60.804 เปอร์เซ็นต์, 48.746 เปอร์เซ็นต์ และ 45.728 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในส่วนประสิทธิภาพการเจริญคลุ่มทับเส้นใยของเชื้อรา *A. brassicola* ไอโซเลต สอพ. นั้น เห็ดนางรม, เห็ดหลินจือ เบอร์ 2, เห็ดอูตึมาน เบอร์ 1 และเห็ดอูตึมาน เบอร์ 3 มีเปอร์เซ็นต์การเจริญคลุ่มทับเท่ากับ 71.002 เปอร์เซ็นต์, 67.670 เปอร์เซ็นต์, 50.338 เปอร์เซ็นต์ และ 50.334 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้พบว่าแม้เห็ดหอม เบอร์ 5 และ เบอร์ 4 จะมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. brassicola* ไอโซเลต สอพ. ที่สูง แต่กลับมีความสามารถในการเจริญคลุ่มทับเส้นใยของเชื้อราโรคพืชที่ค่อนข้างน้อย ในขณะที่เห็ดอูตึมานเบอร์ 1 และ 3 แม้มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืชที่น้อย แต่กลับมีความสามารถในการเจริญคลุ่มทับเส้นใยของเชื้อราโรคพืชที่ค่อนข้างสูง แสดงในตารางที่ 2 (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 การยับยั้งการเจริญเชื้อรา *A. brassicola* ไอโซเลต สอพ. ของเชื้อเห็ดนางรม (ก.) เห็ดนางรมหลวง (ข.)
 เห็ดหลินจือ เบอร์ 1 (ค.) เห็ดหลินจือ เบอร์ 2 (ง.) เห็ดหอม เบอร์ 4 (จ.) เห็ดหอม เบอร์ 5 (ฉ.) เห็ดยานางิ เบอร์ 1
 (ช.) เห็ดยานางิ เบอร์ 2 (ซ.) เห็ดอูติมาน เบอร์ 1 (ฌ.) และเห็ดอูติมาน เบอร์ 3 (ญ.)

ตารางที่ 2 การควบคุมเชื้อรา *A. brassicola* ไอโซเลต สอพ. ด้วยเห็ด 10 ชนิด

เชื้อเห็ด	%การยับยั้งการเจริญ เชื้อรา <i>A. brassicola</i> ^{1/}	%การเจริญคลุมทับเส้นใย เชื้อรา <i>A. brassicola</i> ^{1/}	ลักษณะการ เจริญของเส้นใย ^{2/}
เห็ดนางรม	42.712 e	71.002 a	***
เห็ดนางรมหลวง	46.234 cd	0.000 ^{3/}	**
เห็ดหลินจือ เบอร์ 1	45.728 d	40.338 c	***
เห็ดหลินจือ เบอร์ 2	48.746 c	67.670 a	***
เห็ดหอม เบอร์ 4	60.804 b	0.000 ^{3/}	**
เห็ดหอม เบอร์ 5	66.326 a	11.002 d	***
เห็ดยานางิ เบอร์ 1	42.712 e	0.000 ^{3/}	**
เห็ดยานางิ เบอร์ 2	41.206 ef	0.000 ^{3/}	**
เห็ดอูดิมาน เบอร์ 1	40.200 ef	50.338 b	***
เห็ดอูดิมาน เบอร์ 3	39.194 f	50.334 b	***

^{1/}ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

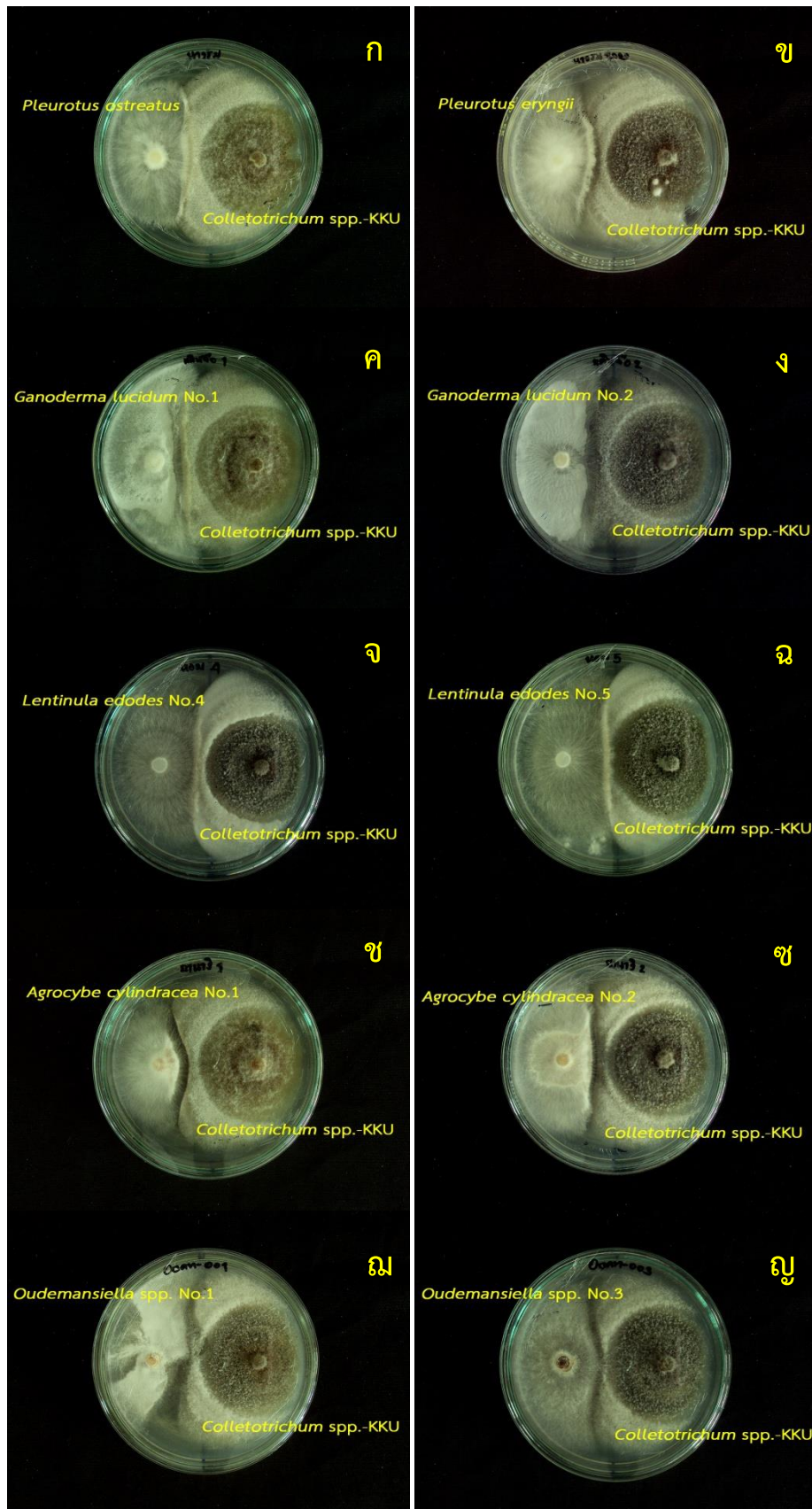
^{2/} *** เชื้อเห็ดสามารถเจริญคลุมทับเส้นใยเชื้อราโรคพืชได้

** เชื้อเห็ดและเชื้อราโรคพืชไม่สามารถเจริญบนโคโลนีของต่างฝ่ายได้

* เชื้อราโรคพืชเจริญคลุมทับเส้นใยเชื้อเห็ด

^{3/}เนื่องจากเชื้อเห็ดไม่มีการเจริญคลุมทับเส้นใยเชื้อราโรคพืช จึงไม่ได้นำมาวิเคราะห์ทางสถิติ

2.3 การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ไอโซเลต KKU พบว่าเห็ดหลินจือ เบอร์ 2, เห็ดนางรม, เห็ดหลินจือ เบอร์ 1 และเห็ดอูดิมาน เบอร์ 3 มีเปอร์เซ็นต์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ไอโซเลต KKU ได้ 59.134 เปอร์เซ็นต์, 57.142 เปอร์เซ็นต์, 56.810 เปอร์เซ็นต์ และ 53.490 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้มีเพียงเห็ดนางรม, เห็ดอูดิมาน เบอร์ 3 และเห็ดหลินจือ เบอร์ 1 เท่านั้น ที่มีความสามารถเจริญคลุมทับเส้นใยของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ไอโซเลต KKU ได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเจริญคลุมทับ เท่ากับ 33.338 เปอร์เซ็นต์, 9.338 เปอร์เซ็นต์ และ 7.004 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงในตารางที่ 3 (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 การยับยั้งการเจริญเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ไอโซเลต KCU ของเชื้อเห็ดนางรม (ก.) เห็ดนางรมหลวง (ข.) เห็ดหลินจือ เบอร์ 1 (ค.) เห็ดหลินจือ เบอร์ 2 (ง.) เห็ดหอม เบอร์ 4 (จ.) เห็ดหอม เบอร์ 5 (ฉ.) เห็ดยานางิ เบอร์ 1 (ช.) เห็ดยานางิ เบอร์ 2 (ชู.) เห็ดอูติมาน เบอร์ 1 (ฌ.) และเห็ดอูติมาน เบอร์ 3 (ญ.)

ตารางที่ 3 การควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ไโอโซเลต KKU ด้วยเห็ด 10 ชนิด

เชื้อเห็ด	%การยับยั้งการเจริญเชื้อรา <i>Colletotrichum</i> spp. ^{1/}	%การเจริญคลุ่มทับ เส้นใยเชื้อรา <i>Colletotrichum</i> spp. ^{1/}	ลักษณะการเจริญ ของเส้นใย ^{2/}
เห็ดนางรม	57.142 ab	33.338 a	***
เห็ดนางรมหลวง	53.158 c	0.000 ^{3/}	**
เห็ดหลินจือ เบอร์ 1	56.810 b	7.004 b	***
เห็ดหลินจือ เบอร์ 2	59.134 a	0.000 ^{3/}	**
เห็ดหอม เบอร์ 4	48.836 d	0.000 ^{3/}	**
เห็ดหอม เบอร์ 5	49.834 d	0.000 ^{3/}	**
เห็ดยานางิ เบอร์ 1	47.838 d	0.000 ^{3/}	**
เห็ดยานางิ เบอร์ 2	49.168 d	0.000 ^{3/}	**
เห็ดอูดิมาน เบอร์ 1	49.834 d	0.000 ^{3/}	**
เห็ดอูดิมาน เบอร์ 3	53.490 c	9.338 b	***

^{1/}ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

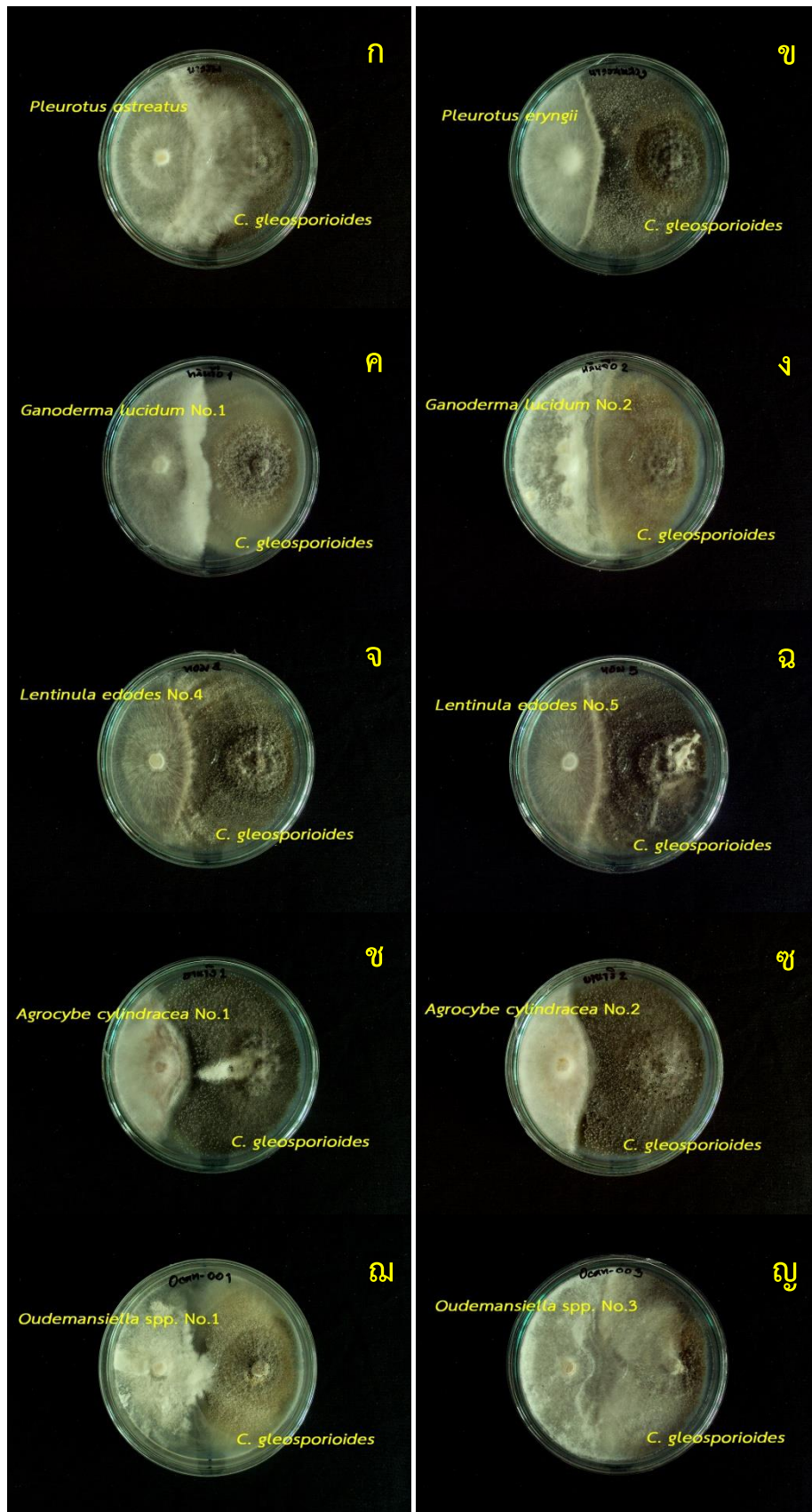
^{2/} *** เชื้อเห็ดสามารถเจริญคลุ่มทับเส้นใยเชื้อราโรคพืชได้

** เชื้อเห็ดและเชื้อราโรคพืชไม่สามารถเจริญบนโคโลนีของต่างฝ่ายได้

* เชื้อราโรคพืชเจริญคลุ่มทับเส้นใยเชื้อเห็ด

^{3/}เนื่องจากเชื้อเห็ดไม่มีการเจริญคลุ่มทับเส้นใยเชื้อราโรคพืช จึงไม่นำมาวิเคราะห์ทางสถิติ

2.4 การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gleosporioides* ไโอโซเลต สอพ. พบว่าเห็ดนางรม, เห็ดหอม เบอร์ 5, เห็ดอูดิมาน เบอร์ 1 และเห็ดหลินจือ เบอร์ 2 มีความสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gleosporioides* ไโอโซเลต สอพ. ได้ 53.952 เปอร์เซ็นต์, 52.492 เปอร์เซ็นต์, 52.220 เปอร์เซ็นต์ และ 52.198 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่เห็ดอูดิมาน เบอร์ 3 และเห็ดนางรม มีความสามารถเจริญคลุ่มทับเส้นใยของเชื้อรา *C. gleosporioides* ไโอโซเลต สอพ. ได้ดีกว่าเห็ดชนิดอื่นๆ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเจริญคลุ่มทับ เท่ากับ 20.856 เปอร์เซ็นต์ และ 18.570 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงในตารางที่ 4 (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 การยับยั้งการเจริญเชื้อรา *C. gleosporioides* ไอโซเลต สอพ. ของเชื้อเห็ดนางรม (ก.) เห็ดนางรมหลวง (ข.) เห็ดหลินจือ เบอร์ 1 (ค.) เห็ดหลินจือ เบอร์ 2 (ง.) เห็ดหอม เบอร์ 4 (จ.) เห็ดหอม เบอร์ 5 (ฉ.) เห็ดยานางิ เบอร์ 1 (ช.) เห็ดยานางิ เบอร์ 2 (ซ.) เห็ดอูดิมาน เบอร์ 1 (ฅ.) และเห็ดอูดิมาน เบอร์ 3 (ญ.)

ตารางที่ 4 การควบคุมเชื้อรา *C. gleosporioides* ไอโซเลต สอพ. ด้วยเห็ด 10 ชนิด

เชื้อเห็ด	%การยับยั้งการเจริญ เชื้อรา <i>C. gleosporioides</i> ^{1/}	%การเจริญคลุมทับ เส้นใยเชื้อรา <i>C. gleosporioides</i> ^{1/}	ลักษณะการเจริญ ของเส้นใย ^{2/}
เห็ดนางรม	53.952 a	18.570 a	***
เห็ดนางรมหลวง	50.734 bcd	0.000 ^{3/}	**
เห็ดหลินจือ เบอร์ 1	51.320 bc	6.570 b	***
เห็ดหลินจือ เบอร์ 2	52.198 abc	9.428 b	***
เห็ดหอม เบอร์ 4	51.320 bc	0.000 ^{3/}	**
เห็ดหอม เบอร์ 5	52.492 ab	0.000 ^{3/}	**
เห็ดยานางิ เบอร์ 1	51.026 bcd	0.000 ^{3/}	**
เห็ดยานางิ เบอร์ 2	49.266 d	0.000 ^{3/}	**
เห็ดอูดิมาน เบอร์ 1	52.200 abc	6.858 b	***
เห็ดอูดิมาน เบอร์ 3	50.146 cd	20.856 a	***

^{1/}ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

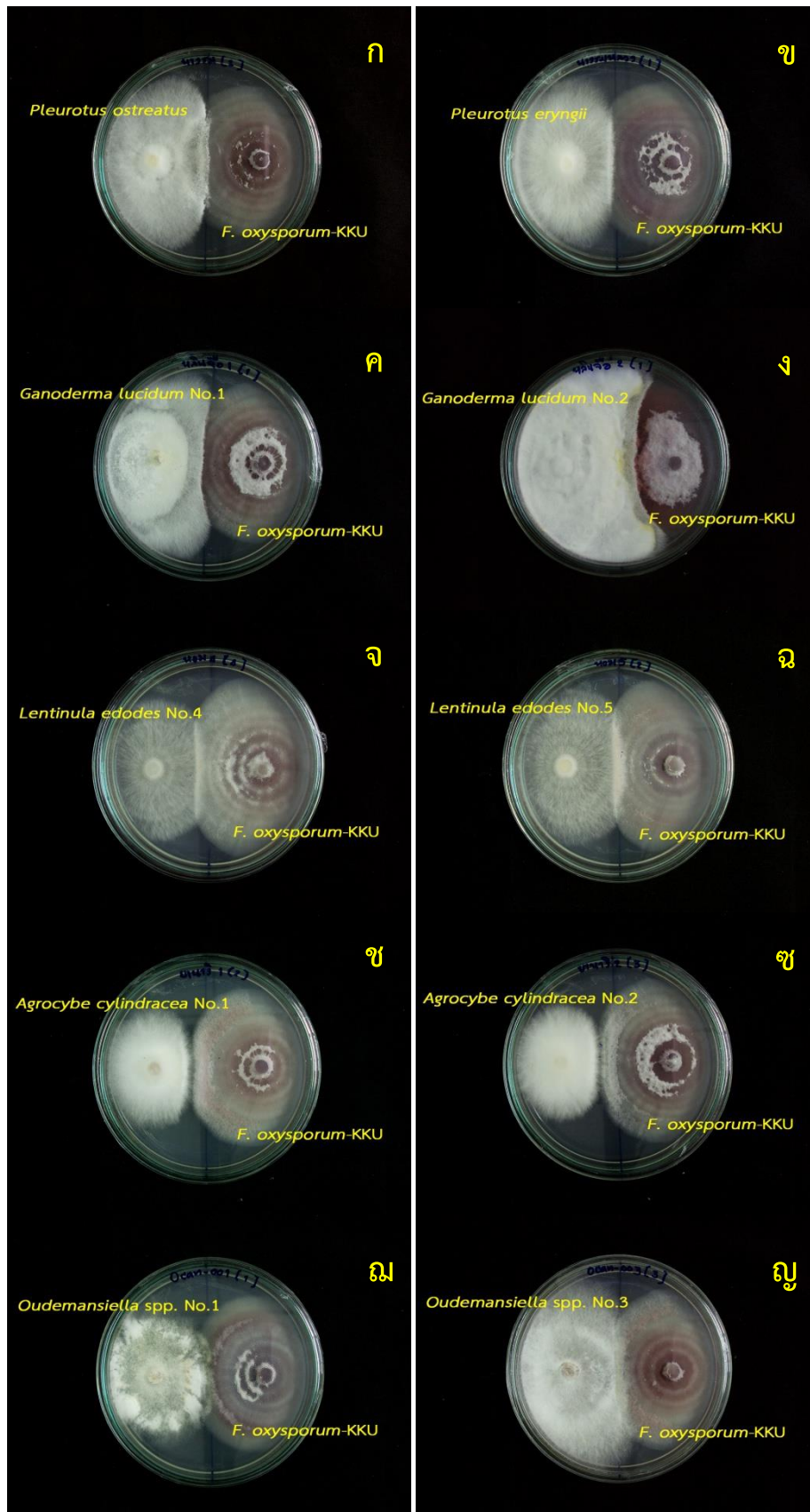
^{2/} *** เชื้อเห็ดสามารถเจริญคลุมทับเส้นใยเชื้อราโรคพืชได้

** เชื้อเห็ดและเชื้อราโรคพืชไม่สามารถเจริญบนโคโลนีของต่างฝ่ายได้

* เชื้อราโรคพืชเจริญคลุมทับเส้นใยเชื้อเห็ด

^{3/}เนื่องจากเชื้อเห็ดไม่มีการเจริญคลุมทับเส้นใยเชื้อราโรคพืช จึงไม่นำมาวิเคราะห์ทางสถิติ

4.2.5 การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Fol) ไอโซเลต KKU พบว่าเห็ดหลินจือ เบอร์ 2, เห็ดหอม เบอร์ 5 และเห็ดหลินจือ เบอร์ 1 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา Fol ไอโซเลต KKU ได้ 58.456 เปอร์เซ็นต์, 52.204 เปอร์เซ็นต์ และ 51.470 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในส่วนประสิทธิภาพการเจริญคลุมทับเส้นใยของเชื้อรา Fol ไอโซเลต KKU นั้น เห็ดนางรม และเห็ดอูดิมาน เบอร์ 3 มีเปอร์เซ็นต์การเจริญคลุมทับเชื้อรา Fol ไอโซเลต KKU ได้ดีที่สุด เท่ากับ 35.800 เปอร์เซ็นต์ และ 32.600 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงในตารางที่ 5 (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 การยับยั้งการเจริญเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ไอโซเลต KKU ของเชื้อเห็ดนางรม (ก.) เห็ดนางรมหลวง (ข.) เห็ดหลินจือ เบอร์ 1 (ค.) เห็ดหลินจือ เบอร์ 2 (ง.) เห็ดหอม เบอร์ 4 (จ.) เห็ดหอม เบอร์ 5 (ฉ.) เห็ดยานางิ เบอร์ 1 (ช.) เห็ดยานางิ เบอร์ 2 (ซ.) เห็ดอูดิมาน เบอร์ 1 (ณ.) และเห็ดอูดิมาน เบอร์ 3 (ญ.)

ตารางที่ 5 การควบคุมเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Fol) ไอโซเลต KKU ด้วยเห็ด 10 ชนิด

เชื้อเห็ด	%การยับยั้งการเจริญ เชื้อรา Fol ^{1/}	%การเจริญคลุมทับเส้นใย เชื้อรา Fol ^{1/}	ลักษณะการ เจริญของเส้นใย ^{2/}
เห็ดนางรม	32.350 d	35.800 a	***
เห็ดนางรมหลวง	44.850 c	8.000 cd	***
เห็ดหลินจือ เบอร์ 1	51.470 b	5.600 d	***
เห็ดหลินจือ เบอร์ 2	58.456 a	7.000 d	***
เห็ดหอม เบอร์ 4	44.850 c	13.200 b	***
เห็ดหอม เบอร์ 5	52.204 b	12.200 bc	***
เห็ดยานางิ เบอร์ 1	42.644 c	1.400 e	***
เห็ดยานางิ เบอร์ 2	41.912 c	1.400 e	***
เห็ดอูดิมาน เบอร์ 1	44.444 c	9.600 bcd	***
เห็ดอูดิมาน เบอร์ 3	43.014 c	32.600 a	***

^{1/}ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

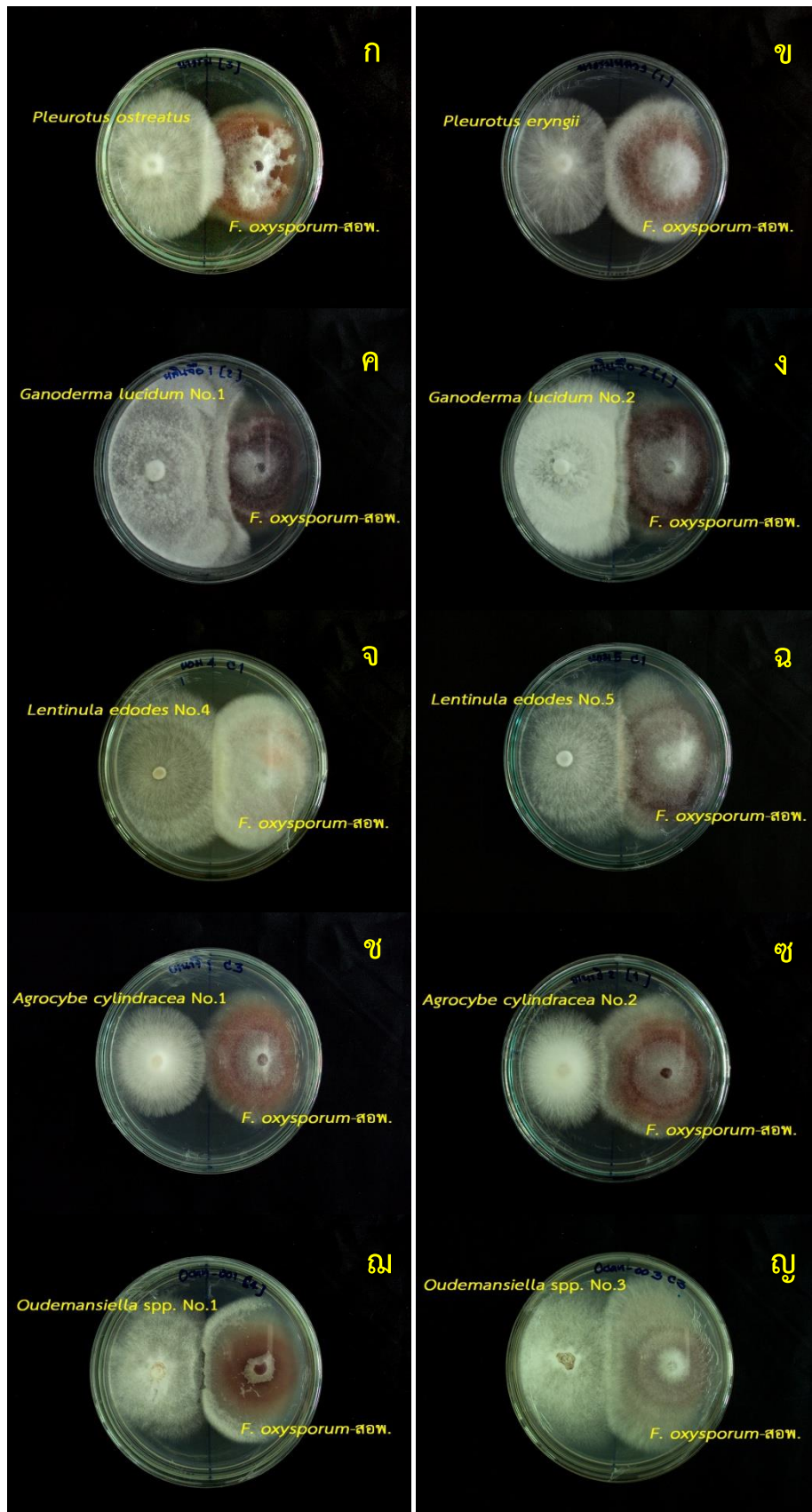
^{2/} *** เชื้อเห็ดสามารถเจริญคลุมทับเส้นใยเชื้อราโรคพืชได้

** เชื้อเห็ดและเชื้อราโรคพืชไม่สามารถเจริญบนโคโลนีของต่างฝ่ายได้

* เชื้อราโรคพืชเจริญคลุมทับเส้นใยเชื้อเห็ด

^{3/}เนื่องจากเชื้อเห็ดไม่มีการเจริญคลุมทับเส้นใยเชื้อราโรคพืช จึงไม่นำมาวิเคราะห์ทางสถิติ

2.6 การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ไอโซเลต สอพ. พบว่าเห็ดหลินจือ เบอร์ 1, เห็ดหลินจือ เบอร์ 2 และเห็ดนางรม มีเปอร์เซ็นต์ความสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา Fol ไอโซเลต สอพ. ได้ 69.876 เปอร์เซ็นต์, 67.390 เปอร์เซ็นต์ และ 61.490 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในส่วนประสิทธิภาพการเจริญคลุมทับเส้นใยของเชื้อรา Fol ไอโซเลต สอพ. นั้น เห็ดนางรม และเห็ดหอม เบอร์ 4 มีความสามารถในการเจริญคลุมทับเส้นใยเชื้อราโรคพืช เท่ากับ 29.800 เปอร์เซ็นต์ และ 21.400 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้มีเพียงเห็ดยานางิ เบอร์ 1 และ เบอร์ 2 เท่านั้นที่ไม่สามารถเจริญคลุมทับเส้นใยเชื้อรา Fol ไอโซเลต สอพ. ได้ แสดงในตารางที่ 6 (ภาพที่ 8)



ภาพที่ 8 การยับยั้งการเจริญเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ไอโซเลต สอพ. ของเชื้อเห็ดนางรม (ก.) เห็ดนางรมหลวง (ข.) เห็ดหลินจือ เบอร์ 1 (ค.) เห็ดหลินจือ เบอร์ 2 (ง.) เห็ดหอม เบอร์ 4 (จ.) เห็ดหอม เบอร์ 5 (ฉ.) เห็ดยานางิ เบอร์ 1 (ช.) เห็ดยานางิ เบอร์ 2 (ฌ.) เห็ดอูดิมาน เบอร์ 1 (ฉ.) และเห็ดอูดิมาน เบอร์ 3 (ญ.)

ตารางที่ 6 การควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Fol) ไอโซเลต สอพ. ด้วยเห็ด 10 ชนิด

เชื้อเห็ด	%การยับยั้งการเจริญ เชื้อรา Fol ^{1/}	%การเจริญคลุมทับเส้นใย เชื้อรา Fol ^{1/}	ลักษณะการ เจริญของเส้นใย ^{2/}
เห็ดนางรม	61.490 b	29.800 a	***
เห็ดนางรมหลวง	55.590 de	6.800 b	***
เห็ดหลินจือ เบอร์ 1	69.876 a	7.000 b	***
เห็ดหลินจือ เบอร์ 2	67.390 a	5.000 b	***
เห็ดหอม เบอร์ 4	58.694 bcd	21.400 a	***
เห็ดหอม เบอร์ 5	59.938 bc	9.400 b	***
เห็ดยานางิ เบอร์ 1	52.176 ef	4.000 b	***
เห็ดยานางิ เบอร์ 2	50.368 f	0.000 ^{3/}	**
เห็ดอูดิมาน เบอร์ 1	56.830 cd	0.000 ^{3/}	**
เห็ดอูดิมาน เบอร์ 3	56.522 cd	4.600 b	***

^{1/}ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

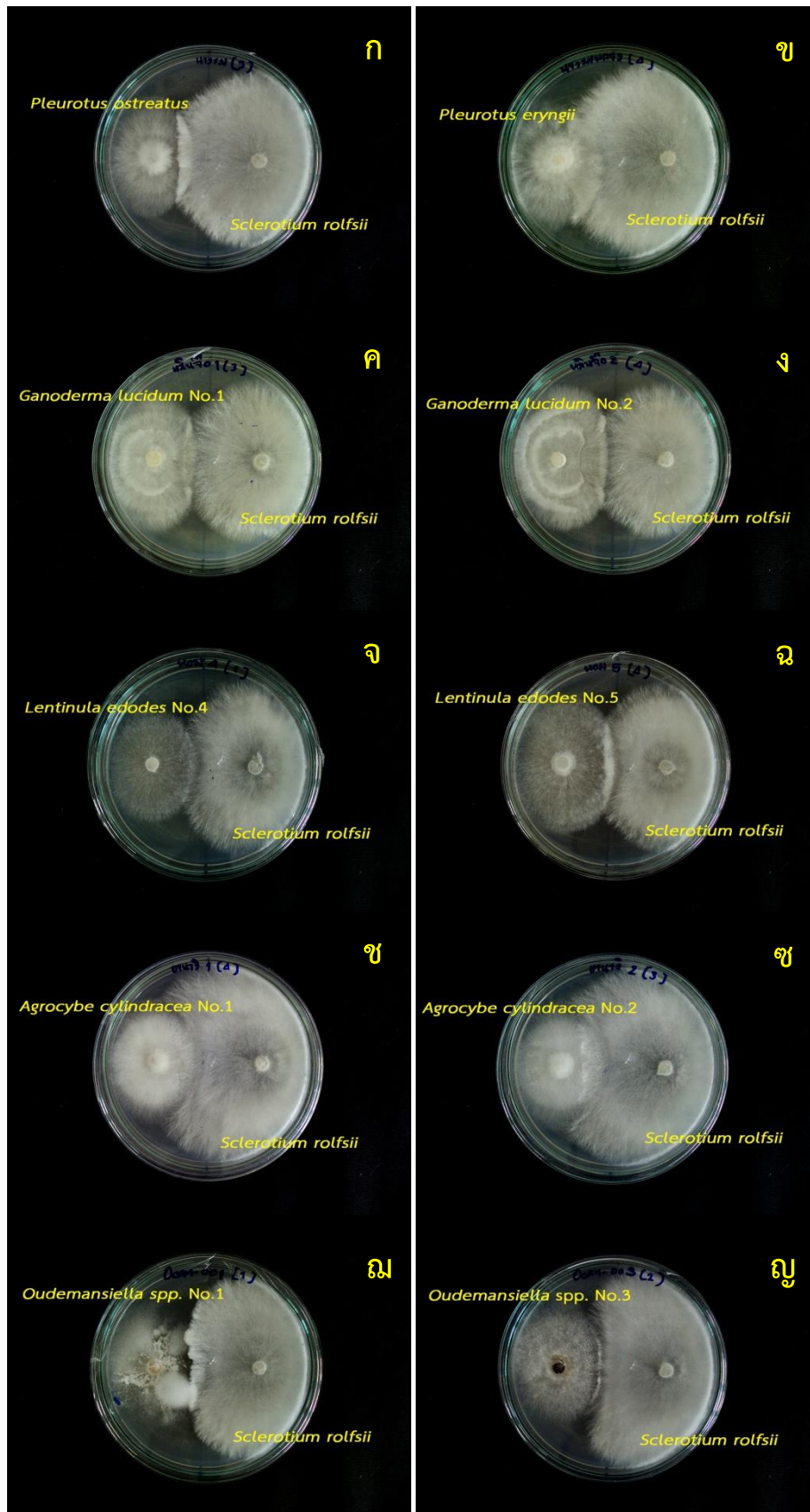
^{2/} *** เชื้อเห็ดสามารถเจริญคลุมทับเส้นใยเชื้อราโรคพืชได้

** เชื้อเห็ดและเชื้อราโรคพืชไม่สามารถเจริญบนโคโลนีของต่างฝ่ายได้

* เชื้อราโรคพืชเจริญคลุมทับเส้นใยเชื้อเห็ด

^{3/}เนื่องจากเชื้อเห็ดไม่มีการเจริญคลุมทับเส้นใยเชื้อราโรคพืช จึงไม่นำมาวิเคราะห์ทางสถิติ

2.7 การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ไอโซเลต KKU พบว่าเห็ดหลินจือ เบอร์ 2 และเห็ดอูดิมาน เบอร์ 3 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *S. rolfsii* ไอโซเลต KKU ได้สูงที่สุด คือ 55.554 เปอร์เซ็นต์ และ 52.046 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้พบว่าไม่มีเชื้อเห็ดชนิดใดเลยที่สามารถเจริญคลุมทับเส้นใยของเชื้อรา *S. rolfsii* ไอโซเลต KKU ได้ อีกทั้งพบว่าเมื่อเวลาผ่านไปเส้นใยเชื้อรา *S. rolfsii* ไอโซเลต KKU จะเจริญคลุมทับเส้นใยเชื้อเห็ดทุกชนิด แสดงในตารางที่ 7 (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 การยับยั้งการเจริญเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ไอโซเลต KKU ของเชื้อเห็ดนางรม (ก.) เห็ดนางรมหลวง (ข.) เห็ดหลินจือ เบอร์ 1 (ค.) เห็ดหลินจือ เบอร์ 2 (ง.) เห็ดหอม เบอร์ 4 (จ.) เห็ดหอม เบอร์ 5 (ฉ.) เห็ดยานางิ เบอร์ 1 (ช.) เห็ดยานางิ เบอร์ 2 (ซ.) เห็ดอูดิมาน เบอร์ 1 (ณ.) และเห็ดอูดิมาน เบอร์ 3 (ญ.)

ตารางที่ 7 การควบคุมเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ไอโซเลต KKU ด้วยเห็ด 10 ชนิด

เชื้อเห็ด	%การยับยั้งการเจริญ เชื้อรา <i>S. rolfsii</i> ^{1/}	%การเจริญคลุมทับเส้นใย เชื้อรา <i>S. rolfsii</i> ^{1/}	ลักษณะการ เจริญของเส้นใย ^{2/}
เห็ดนางรม	38.888 d	0.000 ^{3/}	*
เห็ดนางรมหลวง	9.942 f	0.000 ^{3/}	*
เห็ดหลินจือ เบอร์ 1	40.936 d	0.000 ^{3/}	*
เห็ดหลินจือ เบอร์ 2	55.554 a	0.000 ^{3/}	*
เห็ดหอม เบอร์ 4	40.056 d	0.000 ^{3/}	*
เห็ดหอม เบอร์ 5	40.936 d	0.000 ^{3/}	*
เห็ดยานางิ เบอร์ 1	28.068 e	0.000 ^{3/}	*
เห็ดยานางิ เบอร์ 2	43.568 cd	0.000 ^{3/}	*
เห็ดอูดิมาน เบอร์ 1	46.784 bc	0.000 ^{3/}	*
เห็ดอูดิมาน เบอร์ 3	52.046 ab	0.000 ^{3/}	*

^{1/}ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

^{2/} *** เชื้อเห็ดสามารถเจริญคลุมทับเส้นใยเชื้อราโรคพืชได้

** เชื้อเห็ดและเชื้อราโรคพืชไม่สามารถเจริญบนโคโลนีของต่างฝ่ายได้

* เชื้อราโรคพืชเจริญคลุมทับเส้นใยเชื้อเห็ด

^{3/}เนื่องจากเชื้อเห็ดไม่มีการเจริญคลุมทับเส้นใยเชื้อราโรคพืช จึงไม่ได้นำมาวิเคราะห์ทางสถิติ

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพของเห็ด 6 ชนิด 10 ตัวอย่าง ในการยับยั้งการเจริญและความสามารถในการเจริญคลุมทับเชื้อราสาเหตุโรคพืช 4 ชนิด 7 ไอโซเลต โดยเมื่อแบ่งกลุ่มของเชื้อเห็ดที่นำมาศึกษาตามสกุล (Order) ของเห็ด จะแบ่งได้เป็น 5 สกุล คือ *Pleurotus* คือ เห็ดนางรมและเห็ดนางรมหลวง, *Ganoderma* คือ เห็ดหลินจือ เบอร์ 1 และ 2, *Lentinula* คือ เห็ดหอม เบอร์ 4 และ 5, *Agrocybe* คือ เห็ดยานางิ เบอร์ 1 และ 2, และ *Oudemansiella* คือ เห็ดอูดิมาน เบอร์ 1 และ 3 ได้เปรียบเทียบเชื้อเห็ดแต่ละชนิดในแต่ละสกุลที่มีประสิทธิภาพที่ดีในการยับยั้งการเจริญและความสามารถในการเจริญคลุมทับเชื้อราสาเหตุโรคพืช แสดงในตารางที่ 8, 9, 10, 11, 12 จากนั้นคัดเลือกมา 1 ชนิด รวม 5 ชนิด คือ เห็ดนางรม, เห็ดหลินจือ เบอร์ 2, เห็ดหอม เบอร์ 5, เห็ดยานางิ เบอร์ 2 และเห็ดอูดิมาน เบอร์ 3 เพื่อนำไปสกัดสารสกัดยับยั้งจากเส้นใยต่อไป

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญและความสามารถในการเจริญกลุ่มทับเชื้อราสาเหตุโรคพืช ระหว่างเห็ดนางรม และเห็ดนางรมหลวง

เชื้อราโรคพืช	เห็ดนางรม		เห็ดนางรมหลวง	
	%การยับยั้ง	%การเจริญ	%การยับยั้ง	%การเจริญ
	การเจริญ	กลุ่มทับ	การเจริญ	กลุ่มทับ
<i>Alternaria</i> spp. (KKU)	50.802	54.000	37.434	16.296
<i>A. brassicola</i> (สอพ.)	42.712	71.002	46.234	-
<i>Colettotrichum</i> spp. (KKU)	57.142	33.338	53.158	-
<i>C. gleosporioides</i> (สอพ.)	53.952	50.743	18.570	-
<i>F. oxysporum</i> (KKU)	32.350	44.850	35.800	8.000
<i>F. oxysporum</i> (สอพ.)	61.490	55.590	29.800	6.800
<i>Sclerotium rolfsii</i> (KKU)	38.888	-	9.942	-

ตารางที่ 9 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญและความสามารถในการเจริญกลุ่มทับเชื้อราสาเหตุโรคพืช ระหว่างเห็ดหลินจือ เบอร์ 1 และเบอร์ 2

เชื้อราโรคพืช	เห็ดหลินจือ เบอร์ 1		เห็ดหลินจือ เบอร์ 2	
	%การยับยั้ง	%การเจริญ	%การยับยั้ง	%การเจริญ
	การเจริญ	กลุ่มทับ	การเจริญ	กลุ่มทับ
<i>Alternaria</i> spp. (KKU)	41.710	41.140	56.146	42.284
<i>A. brassicola</i> (สอพ.)	45.728	40.338	48.746	67.670
<i>Colettotrichum</i> spp. (KKU)	56.810	7.004	59.134	-
<i>C. gleosporioides</i> (สอพ.)	51.320	6.570	52.198	9.428
<i>F. oxysporum</i> (KKU)	51.470	5.600	58.456	7.000
<i>F. oxysporum</i> (สอพ.)	69.876	7.000	67.390	5.000
<i>Sclerotium rolfsii</i> (KKU)	40.936	-	55.554	-

ตารางที่ 10 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญและความสามารถในการเจริญกลุ่มทับเชื้อราสาเหตุโรคพืช ระหว่างเห็ดหอม เบอร์ 4 และเบอร์ 5

เชื้อราโรคพืช	เห็ดหอม เบอร์ 4		เห็ดหอม เบอร์ 5	
	%การยับยั้ง	%การเจริญ	%การยับยั้ง	%การเจริญ
	การเจริญ	กลุ่มทับ	การเจริญ	กลุ่มทับ
<i>Alternaria</i> spp. (KKU)	57.216	28.856	58.288	27.426
<i>A. brassicola</i> (สอพ.)	60.804	-	66.326	11.002
<i>Colettotrichum</i> spp. (KKU)	48.836	-	49.834	-
<i>C. gleosporioides</i> (สอพ.)	51.320	-	52.492	-
<i>F. oxysporum</i> (KKU)	44.850	13.200	52.204	12.200
<i>F. oxysporum</i> (สอพ.)	58.694	21.400	59.938	9.400
<i>Sclerotium rolfsii</i> (KKU)	40.056	-	40.936	-

ตารางที่ 11 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญและความสามารถในการเจริญกลุ่มทับเชื้อราสาเหตุโรคพืช ระหว่างเห็ดยานางิ เบอร์ 1 และเบอร์ 2

เชื้อราโรคพืช	เห็ดยานางิ เบอร์ 1		เห็ดยานางิ เบอร์ 2	
	%การยับยั้ง	%การเจริญ	%การยับยั้ง	%การเจริญ
	การเจริญ	กลุ่มทับ	การเจริญ	กลุ่มทับ
<i>Alternaria</i> spp. (KKU)	34.756	-	41.174	-
<i>A. brassicola</i> (สอพ.)	42.712	-	41.206	-
<i>Colettotrichum</i> spp. (KKU)	47.838	-	49.168	-
<i>C. gleosporioides</i> (สอพ.)	51.026	-	49.266	-
<i>F. oxysporum</i> (KKU)	42.644	1.400	41.912	1.400
<i>F. oxysporum</i> (สอพ.)	52.176	4.000	50.368	-
<i>Sclerotium rolfsii</i> (KKU)	28.068	-	43.568	-

ตารางที่ 12 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญและความสามารถในการเจริญคลุมทับเชื้อราสาเหตุโรคพืช ระหว่างเห็ดอูดิมาน เบอร์ 1 และเบอร์ 3

เชื้อราโรคพืช	เห็ดอูดิมาน เบอร์ 1		เห็ดอูดิมาน เบอร์ 3	
	%การยับยั้ง	%การเจริญ	%การยับยั้ง	%การเจริญ
	การเจริญ	คลุมทับ	การเจริญ	คลุมทับ
<i>Alternaria</i> spp. (KKU)	45.452	-	48.128	30.572
<i>A. brassicola</i> (สอพ.)	40.200	50.338	39.194	50.334
<i>Coletotrichum</i> spp. (KKU)	49.834	-	53.490	9.338
<i>C. gleosporioides</i> (สอพ.)	52.200	6.858	50.146	20.856
<i>F. oxysporum</i> (KKU)	44.444	9.600	43.014	32.600
<i>F. oxysporum</i> (สอพ.)	56.830	-	56.522	4.600
<i>Sclerotium rolfsii</i> (KKU)	46.784	-	52.046	-

3. ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ด ต่อกำยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช

จากการทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดนางรม, เห็ดหลินจือ เบอร์ 2, เห็ดหอม เบอร์ 5, เห็ดยานางิ เบอร์ 2 และเห็ดอูดิมาน เบอร์ 3 ที่ระดับความเข้มข้น 0.25, 0.5, 0.75 และ 1 เท่า ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืช 7 ชนิด คือ *Alternaria* spp. ไอโซเลต KKU, *A. brassicola* ไอโซเลต สอพ., *Colletotrichum* spp. ไอโซเลต KKU, *C. gleosporioides* ไอโซเลต สอพ., *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ไอโซเลต KKU, *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ไอโซเลต สอพ. และ *Sclerotium rolfsii* ไอโซเลต KKU พบว่าสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดนางรม, เห็ดหอม เบอร์ 5 และเห็ดยานางิ เบอร์ 2 ที่ทุกระดับความเข้มข้น ไม่มีผลต่อกำยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืชชนิดใด (แสดงในตารางที่ 13, 14, 15, 16, 17 และ 18) ในขณะที่สารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดทั้ง 5 ชนิด ที่ทุกระดับความเข้มข้น ไม่มีผลต่อกำยั้งการเจริญของเชื้อรา *S. rolfsii* ไอโซเลต KKU แสดงในตารางที่ 19

การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* spp. ไอโซเลต KKU พบว่า ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดที่ 0.75 เท่า มีเพียงสารสกัดจากเส้นใยเห็ดอูดิมานเบอร์ 3 ที่มีผลต่อกำยั้งการเจริญของเชื้อรา โดยมีค่าเฉลี่ยของขนาดรัศมีการยับยั้ง เท่ากับ 1.59 มิลลิเมตร และที่ระดับความเข้มข้น 1 เท่า สารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดอูดิมาน เบอร์ 3 และเห็ดหลินจือ เบอร์ 2 มีค่าเฉลี่ยของขนาดรัศมีการยับยั้ง เท่ากับ 2.30 และ 2.09 มิลลิเมตร ตามลำดับ แสดงในตารางที่ 13 (ภาพที่ 11) การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. brassicola* ไอโซเลต สอพ. สารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดหลินจือ เบอร์ 2 และเห็ดอูดิมาน เบอร์ 3 ที่ระดับความเข้มข้น 0.75 เท่า มีค่าเฉลี่ยของขนาดรัศมีการยับยั้ง เท่ากับ 1.07 และ 1.03 มิลลิเมตร และที่ความเข้มข้น 1 เท่า ค่าเฉลี่ยของขนาดรัศมีการยับยั้ง เท่ากับ 1.72 และ 1.48 มิลลิเมตร แสดงในตารางที่ 14 (ภาพที่ 12)

การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ไอโซเลต KKU สารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดอูดิมาน เบอร์ 3 และเห็ดหลินจือ เบอร์ 2 ที่ระดับความเข้มข้น 0.75 เท่า มีค่าเฉลี่ยของขนาดรัศมีการยับยั้ง เท่ากับ 1.08 และ 0.98 มิลลิเมตร และที่ความเข้มข้น 1 เท่า ค่าเฉลี่ยของขนาดรัศมีการยับยั้ง เท่ากับ 1.68 และ 1.35 มิลลิเมตร ตามลำดับ แสดงในตารางที่ 15 ในขณะที่การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gleosporioides* ไอโซเลต สอพ. สารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดอูดิมาน เบอร์ 3 และเห็ดหลินจือ เบอร์ 2 ที่ระดับความเข้มข้น 1 เท่า เท่านั้นที่มีผลต่อการยับยั้ง โดยมีค่าเฉลี่ยของขนาดรัศมีการยับยั้ง เท่ากับ 1.65 และ 1.25 มิลลิเมตร ตามลำดับ แสดงในตารางที่ 16

การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ไอโซเลต KKU พบว่า สารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดอูดิมาน เบอร์ 3 และเห็ดหลินจือ เบอร์ 2 ที่ระดับความเข้มข้น 1 เท่า มีค่าเฉลี่ยของขนาดรัศมีการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืช เท่ากับ 2.02 และ 1.38 มิลลิเมตร ตามลำดับ แสดงในตารางที่ 17 (ภาพที่ 13) ในส่วนการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ไอโซเลต สอพ. สารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดอูดิมาน เบอร์ 3 และเห็ดหลินจือ เบอร์ 2 ที่ระดับความเข้มข้น 1 เท่า มีค่าเฉลี่ยของขนาดรัศมีการยับยั้ง เท่ากับ 1.50 และ 1.18 มิลลิเมตร ตามลำดับ แสดงในตารางที่ 18 (ภาพที่ 14)



ภาพที่ 10 สารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดนางรม (ก.) เห็ดหลินจือ เบอร์ 2 (ข.) เห็ดหอม เบอร์ 5 (ค.) เห็ดยานางิ เบอร์ 2 (ง.) และเห็ดอูดิมาน เบอร์ 3 (จ.)

ตารางที่ 13 ขนาดรัศมีการยับยั้ง (mm) การเจริญของเชื้อรา *Alternaria* spp. ไอโซเลต KKU จากสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ด 5 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัดหยาบ จากเส้นใยเห็ด	ระดับความเข้มข้น (เท่า)				
	0.25	0.5	0.75	1.0	น้ำนิ่งฆ่าเชื้อ (control)
เห็ดนางรม	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
เห็ดหลินจือ เบอร์ 2	0.00	0.00	0.00	2.09 b	0.00
เห็ดหอม เบอร์ 5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
เห็ดยานางิ เบอร์ 2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
เห็ดอูดิมาน เบอร์ 3	0.00	0.00	1.59 a	2.30 a	0.00

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

ตารางที่ 14 ขนาดรัศมีการยับยั้ง (mm) การเจริญของเชื้อรา *A. brassicola* ไอโซเลต สอพ. จากสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ด 5 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัดหยาบ จากเส้นใยเห็ด	ระดับความเข้มข้น (เท่า)				
	0.25	0.5	0.75	1.0	น้ำนิ่งฆ่าเชื้อ (control)
เห็ดนางรม	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
เห็ดหลินจือ เบอร์ 2	0.00	0.00	1.07 a	1.72 a	0.00
เห็ดหอม เบอร์ 5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
เห็ดยานางิ เบอร์ 2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
เห็ดอูดิมาน เบอร์ 3	0.00	0.00	1.03 a	1.48 b	0.00

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

ตารางที่ 15 ขนาดรัศมีการยับยั้ง (mm) การเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ไอโซเลต KKU จากสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ด 5 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัดหยาบ จากเส้นใยเห็ด	ระดับความเข้มข้น (เท่า)				น้ำนิ่งฆ่าเชื้อ (control)
	0.25	0.5	0.75	1.0	
เห็ดนางรม	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
เห็ดหลินจือ เบอร์ 2	0.00	0.00	0.98 b	1.35 b	0.00
เห็ดหอม เบอร์ 5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
เห็ดยานางิ เบอร์ 2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
เห็ดอูติมาน เบอร์ 3	0.00	0.00	1.08 a	1.68 a	0.00

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

ตารางที่ 16 ขนาดรัศมีการยับยั้ง (mm) การเจริญของเชื้อรา *C. gleosporioides* ไอโซเลต สอพ. จากสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ด 5 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัดหยาบ จากเส้นใยเห็ด	ระดับความเข้มข้น (เท่า)				น้ำนิ่งฆ่าเชื้อ (control)
	0.25	0.5	0.75	1.0	
เห็ดนางรม	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
เห็ดหลินจือ เบอร์ 2	0.00	0.00	0.00	1.25 b	0.00
เห็ดหอม เบอร์ 5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
เห็ดยานางิ เบอร์ 2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
เห็ดอูติมาน เบอร์ 3	0.00	0.00	0.00	1.65 a	0.00

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

ตารางที่ 17 ขนาดรัศมีการยับยั้ง (mm) การเจริญของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ไอโซเลต KKU จากสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ด 5 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัดหยาบ จากเส้นใยเห็ด	ระดับความเข้มข้น (เท่า)				
	0.25	0.5	0.75	1.0	น้ำนิ่งฆ่าเชื้อ (control)
เห็ดนางรม	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
เห็ดหลินจือ เบอร์ 2	0.00	0.00	0.00	1.38 b	0.00
เห็ดหอม เบอร์ 5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
เห็ดยานางิ เบอร์ 2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
เห็ดอูดิมาน เบอร์ 3	0.00	0.00	0.00	2.02 a	0.00

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

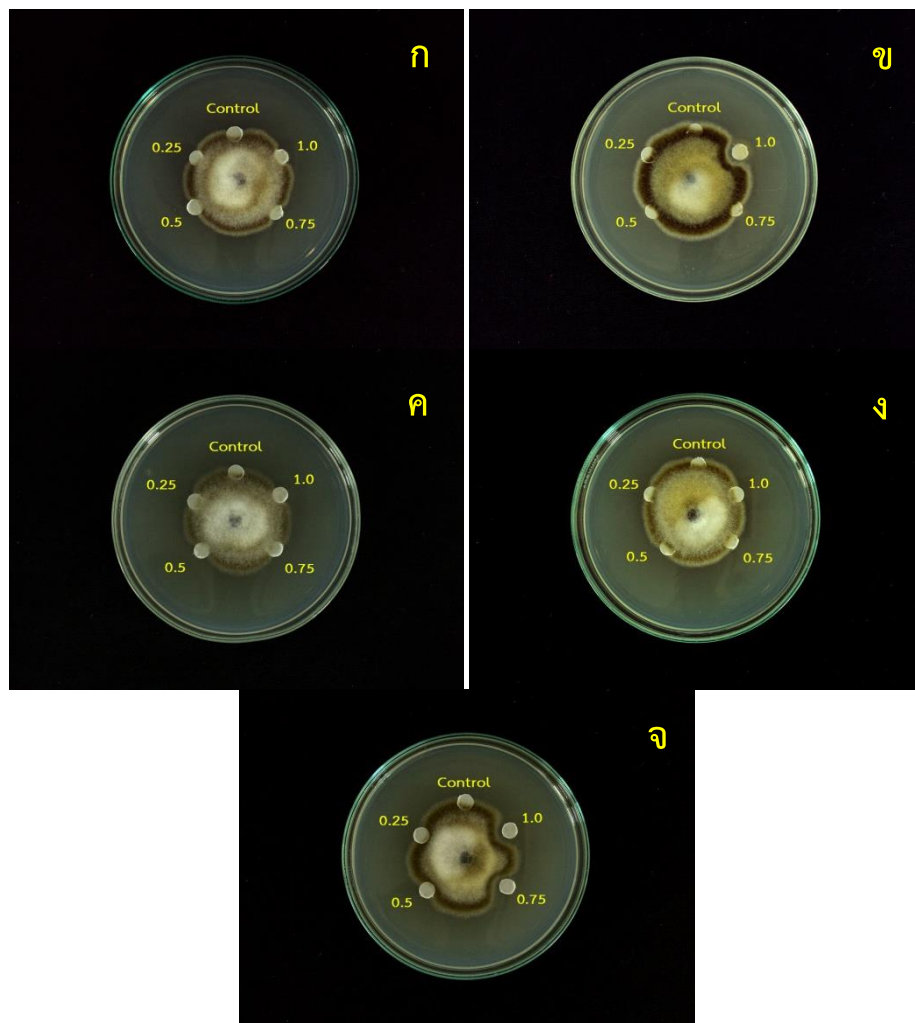
ตารางที่ 18 ขนาดรัศมีการยับยั้ง (mm) การเจริญของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ไอโซเลต สอพ. จากสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ด 5 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัดหยาบ จากเส้นใยเห็ด	ระดับความเข้มข้น (เท่า)				
	0.25	0.5	0.75	1.0	น้ำนิ่งฆ่าเชื้อ (control)
เห็ดนางรม	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
เห็ดหลินจือ เบอร์ 2	0.00	0.00	0.00	1.18 b	0.00
เห็ดหอม เบอร์ 5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
เห็ดยานางิ เบอร์ 2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
เห็ดอูดิมาน เบอร์ 3	0.00	0.00	0.00	1.50 a	0.00

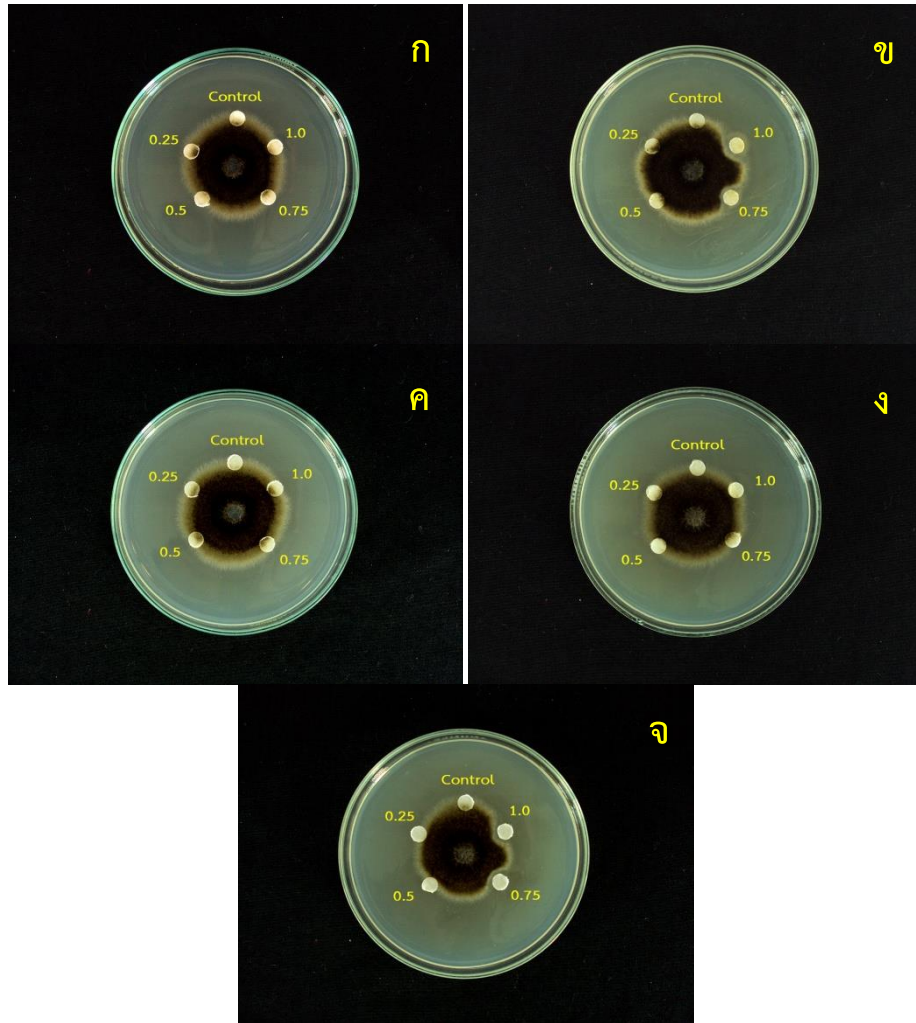
ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

ตารางที่ 19 ขนาดรัศมีการยับยั้ง (mm) การเจริญของเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ไอโซเลต KKU จากสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ด 5 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

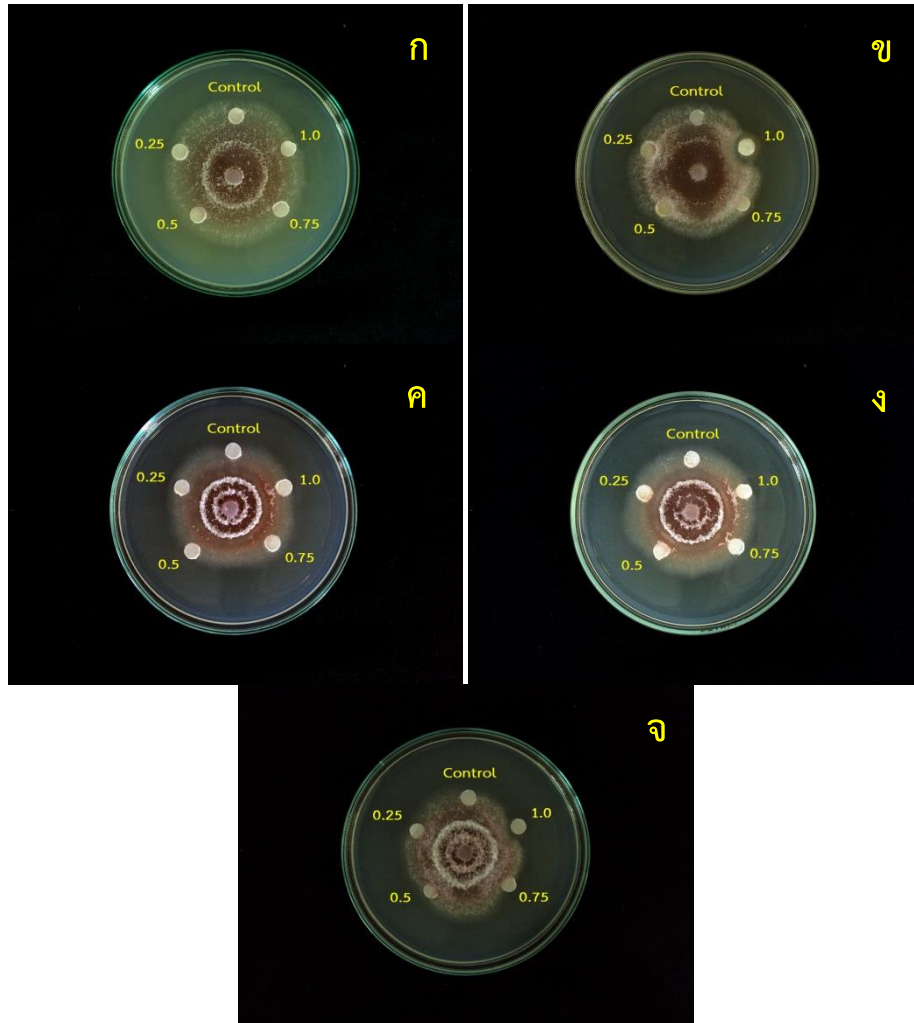
สารสกัดหยาบ จากเส้นใยเห็ด	ระดับความเข้มข้น (เท่า)				น้ำนิ่งฆ่าเชื้อ (control)
	0.25	0.5	0.75	1.0	
เห็ดนางรม	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
เห็ดหลินจือ เบอร์ 2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
เห็ดหอม เบอร์ 5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
เห็ดยานางิ เบอร์ 2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
เห็ดอูดิมาน เบอร์ 3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00



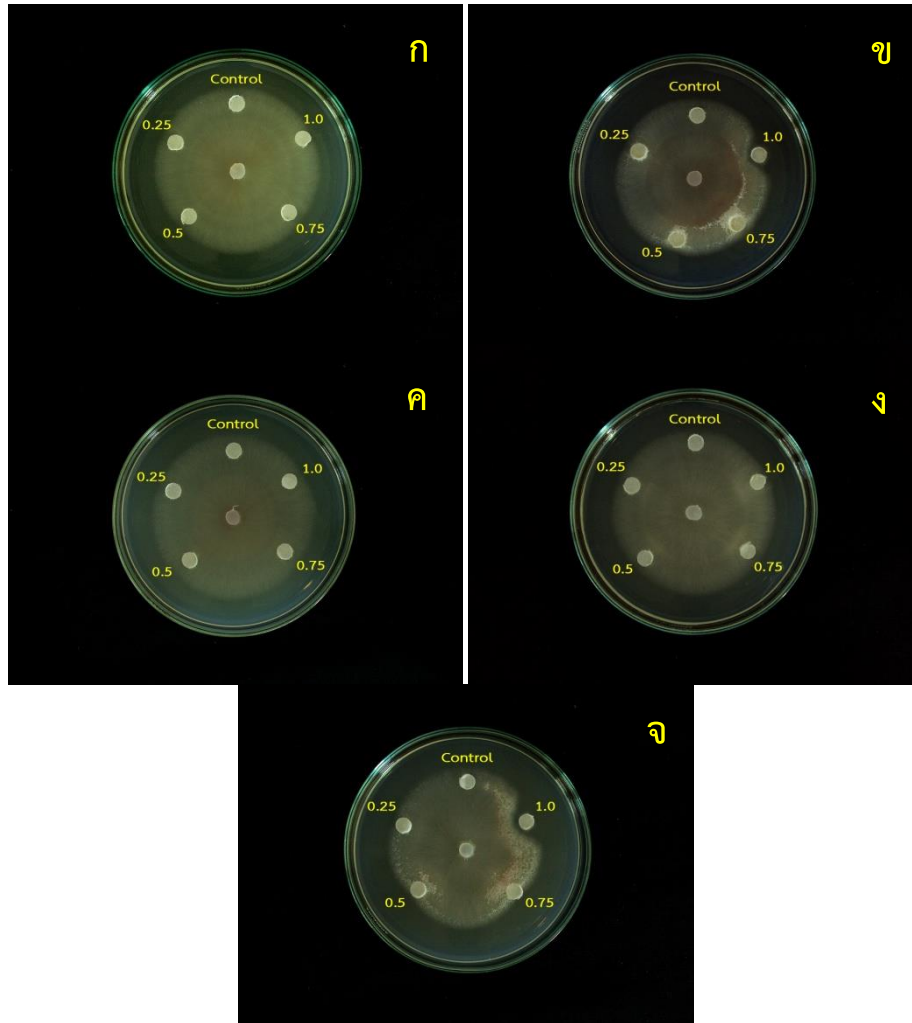
ภาพที่ 11 การยับยั้งการเจริญเชื้อรา *Alternaria*. spp. ไอโซเลต KKU ของสารสกัดหยาบที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของเชื้อเห็ดนางรม (ก.) เห็ดหลินจือ เบอร์ 2 (ข.) เห็ดหอม เบอร์ 4 (ค.) เห็ดยานางิ เบอร์ 2 (ง.) และ เห็ดอูดิมาน เบอร์ 3 (จ.)



ภาพที่ 12 การยับยั้งการเจริญเชื้อรา *A. brassicola* ไอโซเลต สอพ. ของสารสกัดหยาบที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของเชื้อเห็ดนางรม (ก.) เห็ดหลินจือ เบอร์ 2 (ข.) เห็ดหอม เบอร์ 4 (ค.) เห็ดยานางิ เบอร์ 2 (ง.) และ เห็ดอูคูนิมาน เบอร์ 3 (จ.)



ภาพที่ 13 การยับยั้งการเจริญเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ไอโซเลต KCU ของสารสกัดหยาบที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของเชื้อเห็ดนางรม (ก.) เห็ดหลินจือ เบอร์ 2 (ข.) เห็ดหอม เบอร์ 4 (ค.) เห็ดยานางิ เบอร์ 2 (ง.) และ เห็ดอูคูนิมาน เบอร์ 3 (จ.)



ภาพที่ 14 การยับยั้งการเจริญเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ไอโซเลต สอพ. ของสารสกัดหยาบที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของเชื้อเห็ดนางรม (ก.) เห็ดหลินจือ เบอร์ 2 (ข.) เห็ดหอม เบอร์ 4 (ค.) เห็ดยานางิ เบอร์ 2 (ง.) และ เห็ดอูดิมาน เบอร์ 3 (จ.)

4. ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดกินได้ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช บนพืชทดสอบ ในระดับโรงเรือนทดลอง

เมื่อนำสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดหลินจือ เบอร์ 2 และเห็ดอูดิมาน เบอร์ 3 มาเจือจางที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ : น้ำนิ่งฆ่าเชื้อ ที่อัตรา 1:1, 1:2 และใช้น้ำสะอาดนิ่งฆ่าเชื้อ เป็นชุดควบคุม ทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 4 ชนิดบนพืชทดสอบ ในระดับโรงเรือนทดลอง พบว่าต้นคะน้าที่ได้รับการพ่นสารสกัดหยาบจากเห็ด 2 ชนิด ทั้ง 2 อัตรา ก่อนทำการปลูกเชื้อรา *Alternaria brassicicola* บนผิวใบต้นคะน้า ยังคงแสดงอาการของโรค โดยบริเวณที่ปลูกเชื้อจะเกิดเป็นแผลจุดเล็กๆสีน้ำตาลและค่อยๆเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มถึงดำ เช่นเดียวกับต้นคะน้าที่ได้รับการพ่นใบด้วยน้ำสะอาดนิ่งฆ่าเชื้อที่เป็นชุดควบคุม การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก พบว่า ผลพริกทั้งที่ได้รับการจุ่มแช่ในสารสกัดหยาบจากเห็ด 2 ชนิด ทั้ง 2 อัตรา และในชุดควบคุม ยังคงแสดงอาการเกิดแผลสีน้ำตาลบนผิวผลพริกบริเวณที่ได้รับการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* เช่นกัน ในการทดสอบการ

ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในต้นมะเขือเทศนั้น พบว่าต้นมะเขือเทศทั้งที่ได้รับการจุ่มรากด้วยสารสกัดหยาบจากเห็ด 2 ชนิด ทั้ง 2 อัตรา และในชุดควบคุม ก่อนการปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ต้นมะเขือเทศแสดงอาการใบเหลืองและเหี่ยว โดยเริ่มจากใบล่างขึ้นมา การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* สาเหตุโรคโคนเน่าของมะเขือเทศ พบว่าต้นมะเขือเทศทั้งที่ได้รับสารสกัดหยาบจากเห็ด 2 ชนิด ทั้ง 2 อัตรา และในชุดควบคุม ยังคงแสดงอาการของโรคโคนเน่า โดยพบแผลสีน้ำตาลบริเวณโคนต้นมะเขือเทศ และต่อมาลำต้นจะหักพับลง

จากการนำสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดหลินจือ เบอร์ 2 และเห็ดอูดิมาน เบอร์ 3 มาทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ทั้ง 4 ชนิดบนพืชทดสอบในระดับโรงเรือนทดลอง ซึ่งไม่สามารถควบคุมการเกิดโรคชนิดใดได้เลย โดยพืชทดสอบยังคงแสดงอาการของโรคเช่นเดียวกับในต้นพืชชุดควบคุม ทั้งนี้อาจเป็นด้วยที่สารสกัดหยาบที่สกัดได้จากเส้นใยเห็ดทั้ง 2 ชนิดมีปริมาณค่อนข้างน้อยมาก จนไม่สามารถที่จะใช้สารสกัดในระดับความเข้มข้นสูง และในปริมาณที่มากกว่าต่อการทดสอบได้ และเมื่อนำมาเจือจางด้วยน้ำสะอาดนิ่งฆ่าเชื้อ เพื่อให้ให้ได้ปริมาณสารที่เพิ่มขึ้นเพื่อเพียงพอต่อการทดสอบ ก็ยิ่งทำให้ความเข้มข้นของสารสกัดยิ่งน้อยลง อีกทั้งปริมาณการใช้สารสกัดหยาบต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืชบนพืชทดสอบในแต่ละการทดลอง ใช้ในปริมาณน้อยจนเกินไป เมื่อเทียบกับปริมาณของเชื้อราโรคพืชที่ใช้ในการปลูกเชื้อในแต่ละการทดลอง จนไม่สามารถมีผลต่อการควบคุมหรือยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชบนพืชทดสอบชนิดใดได้ หรือรูปแบบของการนำสารสกัดหยาบจากเห็ดมาใช้ในสภาพโรงเรือนทดลองยังไม่เหมาะสม สารสกัดหยาบอาจอาจมีการเสื่อมสภาพหรือเสียคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช บนพืชทดสอบไป

5. การวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบต่างๆในสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ด

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบต่างๆ ในสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ด 5 ชนิดพบว่า สารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดหลินจือ เบอร์ 2 และ เห็ดอูดิมาน เบอร์ 3 มีปริมาณโปรตีนที่สูงกว่าในเห็ดชนิดอื่น ที่ 18.67 เปอร์เซ็นต์ และ 17.32 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปริมาณเยื่อใยนั้นในเห็ดหลินจือ เบอร์ 2 มีอยู่สูงที่สุด คือ 21.76 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เห็ดดยานางิ เบอร์ 2 มีปริมาณต่ำสุดที่ 9.52 เปอร์เซ็นต์ ในส่วนของปริมาณเถ้า พบว่าเห็ดหลินจือ เบอร์ 2 มีปริมาณสูงสุดที่ 12.20 เปอร์เซ็นต์ และพบปริมาณน้อยที่สุดในเห็ดดยานางิ เบอร์ 2 มีปริมาณ 4.82 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้พบว่าปริมาณความชื้นอยู่ในปริมาณที่สูงจากการวิเคราะห์จากเส้นใยเห็ดทุกชนิด โดยในสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดดยานางิ เบอร์ 2 มีปริมาณสูงสุดที่ 74.60 เปอร์เซ็นต์ แสดงในตารางที่ 20

ตารางที่ 20 ปริมาณองค์ประกอบต่างๆในสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ด 5 ชนิด

สารสกัดหยาบเส้นใยเห็ด	องค์ประกอบที่ทำการวิเคราะห์ (%)			
	โปรตีน	เยื่อใย	เถ้า	ความชื้น
เห็ดนางรม	15.64	18.74	7.20	54.34
เห็ดหลินจือ เบอร์ 2	18.67	21.76	12.20	51.02
เห็ดหอม เบอร์ 5	15.34	17.33	7.10	53.32
เห็ดยานางิ เบอร์ 2	11.32	9.52	4.82	74.60
เห็ดอูดิมาน เบอร์ 3	17.32	16.23	6.34	70.84

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อเห็ด 6 ชนิด 10 ตัวอย่าง จากศูนย์รวบรวมเชื้อพันธุ์เห็ดฯ กรมวิชาการเกษตร ได้แก่ เห็ดนางรม, เห็ดนางรมหลวง, เห็ดหลินจือ เบอร์ 1 และ เบอร์ 2, เห็ดหอม เบอร์ 4 และ เบอร์ 5, เห็ดยานางิ เบอร์ 1 และ เบอร์ 2 และเห็ดอูดิมาน เบอร์ 1 และ เบอร์ 3 ในการยับยั้งการเจริญและความสามารถในการเจริญคลุมทับเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืช 4 ชนิด 7 ไอโซเลต ได้แก่ เชื้อรา *Alternaria* spp. ไอโซเลต KKU, *A. brassicolar* ไอโซเลต สอพ., *Colletotrichum* spp. ไอโซเลต KKU, *C. gleosporioides* ไอโซเลต สอพ., *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ไอโซเลต KKU, *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ไอโซเลต สอพ. และ *Sclerotium rolfsii* ไอโซเลต KKU ทำการทดสอบโดยวิธี Dual culture พบว่า เห็ดแต่ละชนิดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืชในแต่ละชนิดที่แตกต่างกัน เชื้อเห็ดบางชนิดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญในราโรคพืชชนิดหนึ่งดีมาก แต่อาจมีประสิทธิภาพไม่ดีในการยับยั้งกับในราโรคพืชชนิดหนึ่ง เช่น เห็ดหอม เบอร์ 5 มีประสิทธิภาพที่ดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* spp. ไอโซเลต KKU และ *A. brassicolar* ไอโซเลต สอพ. แต่กลับมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ไอโซเลต KKU เป็นต้น ในทางกลับกันเชื้อเห็ดบางชนิดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญในราโรคพืชชนิดหนึ่งได้ไม่ดี แต่อาจมีประสิทธิภาพที่ดีในการยับยั้งกับในราโรคพืชชนิดหนึ่ง ในขณะที่เชื้อเห็ดบางชนิดทั้งประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญและเจริญคลุมทับเชื้อราโรคพืช บางชนิดมีเพียงแค่ความสามารถในการยับยั้งการเจริญเท่านั้น อีกทั้งในเห็ดสกุลเดียวกันก็อาจมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเชื้อราโรคพืชในชนิดเดียวกันที่แตกต่างกันได้ เช่น เห็ดนางรม และเห็ดนางรมหลวง ต่างก็เป็นเห็ดในสกุล *Pleurotus* แต่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Alternaria* spp. ที่ค่อนข้างแตกต่างกันมาก หรือ เห็ดอูดิมาน เบอร์ 1 และ เบอร์ 3 เป็นเห็ดในสกุล *Oudemansiella* แต่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ไอโซเลต สอพ. ที่ค่อนข้างแตกต่างกัน เป็นต้น ดังนั้นในขั้นตอนการทดสอบนี้จะเป็นการช่วยคัดเลือกและพิจารณาตัดสินใจในเบื้องต้นว่าจะนำเชื้อเห็ดชนิดใดที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพ มาใช้ประโยชน์ในการควบคุมเชื้อราโรคพืชชนิดหนึ่งๆ ให้เกิดผลที่สุด

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ด 5 ชนิด ที่ได้ทำการคัดเลือกจากผลการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อเห็ดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืช พบว่า สารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ด

นางรม, เห็ดหอม เบอร์ 5 และเห็ดยานางิ เบอร์ 2 ที่ทุกระดับความเข้มข้น ไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืชชนิดใดได้ มีเพียงสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ด หลินจือ เบอร์ 2 และเห็ดอูดิมาน เบอร์ 3 ที่ระดับความเข้มข้น 0.75 หรือ 1 เท่า เท่านั้น ที่มีผลในการยับยั้งการเจริญเชื้อราโรคพืช แต่ทั้งนี้ก็มีประสิทธิภาพที่แตกต่างกันในแต่ละเชื้อราโรคพืชที่นำมาทดสอบ ซึ่งจากการทดสอบในขั้นนี้ทำให้เห็นได้ว่าแม้เชื้อเห็ดบางชนิดจะมีประสิทธิภาพที่ดีในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืช เมื่อทดสอบด้วยวิธี Dual culture แต่สารสกัดหยาบจากเห็ดชนิดนั้นๆ อาจไม่มีผลใดๆเลยในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืช เช่น เห็ดนางรม และเห็ดหอม เบอร์ 5 เป็นต้น ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่ากลไกการยับยั้งของเชื้อเห็ดอาจจะไม่ได้เกิดจากสารที่ผลิตมาจากเส้นใยของเชื้อเห็ด ซึ่งจากการทดสอบในขั้นนี้ พบว่าสารสกัดหยาบที่ได้จากเห็ดหลินจือ เบอร์ 2 และเห็ดอูดิมาน เบอร์ 3 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืช ในระดับห้องปฏิบัติการได้ ซึ่งมีแนวโน้มในการนำมาใช้ยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชในสภาพธรรมชาติได้ แต่ว่าเมื่อนำมาใช้ทดสอบจริงแล้วกลับยังไม่ได้ผล ต้นพืชทดสอบที่ได้รับสารสกัดหยาบจากเห็ดทั้ง 2 ชนิด ก่อนทำการปลูกเชื้อราโรคพืชลงบนพืชทดสอบ พบว่าเมื่อเวลาผ่านไปต้นพืชทดสอบยังคงแสดงอาการของโรคพืชเช่นเดียวกับต้นพืชทดสอบที่เป็นชุดควบคุม ทั้งนี้อาจขึ้นอยู่กับรูปแบบของการนำมาใช้หรือการคงคุณสมบัติของสารสกัดหยาบที่ได้เพื่อให้นำมาใช้ได้ผลจริงในสภาพธรรมชาติ จึงเป็นงานที่นักวิจัยต้องศึกษาและทดสอบเพิ่มเติมต่อไป และการระบุกลุ่มของสารสำคัญที่ได้ด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุลต่อไป ตลอดจนวิจัยหารูปแบบของการนำมาใช้ที่เหมาะสม รวมถึงการผลิตให้ได้สารในปริมาณที่มาก ในท้ายที่สุดได้ผลิตภัณฑ์สารสกัดทางชีวภาพจากเห็ดที่จะสามารถนำมาใช้ได้ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชต่อไป

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

การศึกษาถึงประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ด ต่อการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช นั้น ยังคงอยู่ในระดับของสกัดหยาบเท่านั้น ซึ่งจากการศึกษาเห็นได้ว่าสารสกัดหยาบที่ได้จากเห็ดบางชนิด มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืช ในระดับห้องปฏิบัติการได้ โดยมีแนวโน้มในการนำมาใช้ยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชในสภาพธรรมชาติได้ หากแต่เมื่อนำมาใช้จริงแล้วกลับยังไม่ได้ผล ทั้งนี้อาจขึ้นอยู่กับรูปแบบของการนำมาใช้หรือการคงคุณสมบัติของสารสกัดหยาบที่ได้ เพื่อให้นำมาใช้ได้ผลจริงในสภาพธรรมชาติ จึงเป็นงานที่นักวิจัยต้องศึกษาและทดสอบเพิ่มเติม การระบุกลุ่มสารสำคัญที่ได้ด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุลต่อไป ตลอดจนค้นคว้าและวิจัยหารูปแบบของการนำมาใช้ที่เหมาะสม รวมถึงการผลิตให้ได้สารในปริมาณที่มาก จนท้ายที่สุดได้ผลิตภัณฑ์สารสกัดทางชีวภาพจากเห็ดที่จะสามารถนำมาใช้ได้ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช และแนะนำสู่เกษตรกรเพื่อใช้แทนสารเคมีที่ใช้ควบคุมราโรคพืชกันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสาขาวิชาโรคพืชวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์เชื้อราสาเหตุโรคพืช *Alternaria* spp., *Colletotrichum* spp. และ *Sclerotium rolfsii* ไอโซเลต KKU เพื่อใช้ในการวิจัย

ขอขอบคุณคุณมนัสวี สุริยะวานากุล ที่ให้ความอนุเคราะห์เชื้อราสาเหตุโรคพืช *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ไอโซเลต KKU เพื่อใช้ในการวิจัย

ขอขอบคุณคุณอภิรัชต์ สมฤทธิ์ นักวิชาการโรคพืชชำนาญการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ที่ให้ความอนุเคราะห์เชื้อราสาเหตุโรคพืช *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ไอโซเลต สอพ. เพื่อใช้ในการวิจัย

ขอขอบคุณคุณพจนนา ตระกูลสุขรัตน์ นักวิชาการโรคพืชชำนาญการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ที่ให้ความอนุเคราะห์เชื้อราสาเหตุโรคพืช *Alternaria brassicola* และ *Colletotrichum gleosporioides* ไอโซเลต สอพ. เพื่อใช้ในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง (References)

- Anke, T., H.J. Hecth, G. Schramm, and W. Steglich. 1979. Antibiotics from basidiomycetes. IX¹) Oudemansin, an antifungal antibiotic from *Oudemansiella mucida* (Schrader ex Fr.) Hoehnel (Agaricales). The Journal of Antibiotics 32(11): 1112-1117.
- Agrios, G.N. 2005. Plant pathology. Academic Press: London.
- Becker, W.F., G.W. Jagow, T. Anke, and W. Steglich. 1981. Oudemansin, strobilurin A, strobilurin B and myxothiazol: new inhibitors of the bc1 segment of the respiratory chain with an E-β-methoxyacrylate system as common structural element. FEBS Letters 132(2): 329-333.
- Brimner, T.A., and G.J. Boland. 2003. A review of non-target effects of fungi used to biologically control plant diseases. Agr. Ecosyst. Environ. 100: 3-16.
- Chu, K.T., L. Xia, and T.B. Ng. 2005. Pleurostrin, an antifungal peptide from oyster mushroom. Peptides 26: 2098-2103.
- Gbolagade, J., L. Kigigha, and E. Ohimain. 2007. Antagonistic effect of extracts of some Nigerian higher fungi against selected pathogenic microorganisms. American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci. 2(4): 364-368.
- Guo, Y., H. Wang, and T.B. Ng. 2005. Isolation of trichogin, an antifungal protein from fres fruiting bodies of the edible mushroom *Tricholoma giganteum*. Peptides 26: 575-580.
- Imtiaj, A., and T.S. Lee. 2007. Screening of antibacterial and antifungal activities from Korean wild mushrooms. World Journal of Agricultural Sciences 3(3): 316-321.
- Iwalokun, B.A., U.A. Usen, A.A. Otunba, and D.K. Olukoya. 2007. Comparative phytochemical evaluation, antimicrobial and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus*. African Journal of Biotechnology 6(15): 1732-1739.
- Jagadish, L.K., V.V. Krishnan, R. Shenbhagaraman, and V. Kaviyaran. 2009. Comparitive study on the antioxidant, anticancer and antimicrobial property

- of *Agaricus bisporus* (J. E. Lange) imbach before and after boiling. African Journal of Biotechnology 8 (4): 654-661.
- Jonathan, S.G., and I.O. Fasidi. 2003. Antimicrobial activities of two Nigerian edible macro-fungi *Lycoperdon pusillum* (Bat. Ex.) and *Lycoperdon giganteum* (Pers.). African Journal of Biomedical Research 6: 85-90.
- Lindequist, U., T.H. Niedermeyer, and W.D. Julich. 2005. The pharmacological potential of mushrooms. Evid Based Complement Alternat Med. 2: 285-299.
- Montesinos, E. 2007. Antimicrobial peptides and plant disease control. FEMS Microbiology Letters 270: 1-11.
- Ng, T.B. 2004. Peptides and proteins from fungi. Peptides 25: 1055-1073.
- Ngai, P.H.K., and T.B. Ng. 2003. Lentin, a novel and potent antifungal protein from shitake mushroom with inhibitory effects on activity of human immunodeficiency virus-1 reverse transcriptase and proliferation of leukemia cells. Life Sciences 73: 3363-3374.
- Pacumbaba, R.P.,C.a. Beyl, and R.O. Pacumbaba Jr. 1999. Shitake mycelial leachate suppresses growth of some bacterial species and symptoms of bacterial wilt of tomato and lima bean in vitro. Plant Disease 83: 20-23.
- Piero, R.M.D., N.A. Wulff, and S.F. Pascholati. 2006. Partial purification of elicitors from *Lentinula edodes* basidiocarps protecting cucumber seedlings against *Colletotrichum lagenarium*. Brazilian Journal of Microbiology 37: 175-180.
- Prapagdee, B., C. Kuekulvong, and S. Mongkolsuk. 2008. Antifungal potential of extracellular metabolites produced by *Streptomyces hygroscopicus* against Phytopathogenic fungi. Int. J. Biol. Sci. 4: 330-337.
- Rosa, L.H., K.M.G. Machado, C.C. Jacob, M. Capelari, C.A. Rosa, and C.L. Zani. 2003. Screening of Brazilian basidiomycetes for antimicrobial activity. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro 98(7): 967-974.
- Wang, H., and T.B. Ng. 2004. Eryngin, a novel antifungal peptide from fruiting bodies of the edible mushroom *Pleurotus eryngii*. Peptides 25: 1-5.
- Wang, H., and T.B. Ng. 2006. Ganodermin, an antifungal protein from fruiting bodies of the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*. Peptides 27: 27-30.