ชนิด และแหล่งอาศัยของเชื้อรา *Papulaspora* sp. และระดับความเสียหายพี่พบปนเปื้อนในการเพาะเห็ดฟาง (*Volvariella volvacea*) เป็นการค้า

Species and Habitat of *Papulaspora* and damaging level of its contamination in commercial straw mushroom (*Volvariella volvacea*) cultivation

อภิรัชต์ สมฤทธิ์ ธารทิพย ภาสบุตร
สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ สุรีย์พร บัวอาจ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาชนิด และแหล่งอาศัยของเชื้อรา *Papulaspora* sp. และระดับความเสียหายพี่พบปนเปื้อนในการเพาะเห็ดฟาง (*Volvariella volvacea*) เป็นการค้า ได้ดำเนินการตั้งแต่เดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 ที่แปลงปลูกกล้วยไม้ของเกษตรกร และห้องทดลองของกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ได้ทำการ สำรวจ เก็บรวบรวมวัสดุเพาะเห็ดฟาง และกองวัสดุที่กำลังเพาะเห็ดฟาง และในชั้นวางวัสดุเพาะเห็ดฟางทั้งหมักจากฟางข้าว และ ทะลายปาล์ม พบเชื้อรามีสีน้ำตาล เห็นชัดเจนบนกองวัสดุเพาะ เชื้อรานี้จะเจริญเป็นกลุ่มเส้นใยสีขาวแน่นทึบ ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม มีลักษณะเป็นผงเล็ก ๆ ละเอียด ลักษณะที่มองเห็นนั้นคล้ายกับฝุ่นผงสีน้ำตาล ซึ่งก็คือสปอร์กลม ๆ เล็ก ๆ ของเชื้อราจำนวนมากนั่นเอง เม็ดกลมๆ ของสปอร์เชื้อนี้ เมื่อนำมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (compound microscope) พบว่า สปอร์ของเชื้อรามีผิวขรุขระ สีน้ำตาล รูปร่างกลมหรือรี คล้ายรูปทรงไข่ แต่ส่วนใหญ่มีรูปร่างทรงกลม เมื่อนำมาแยกเชื้อราให้ได้เชื้อบริสุทธิ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA แล้วจำแนกชนิด ได้เชื้อรา *Papulaspora* sp. จำนวน 6 ไอโซเลท เชื้อรานี้เจริญและสร้างเส้นใยได้เร็วบนอาหาร PDA และเร็วกว่าเชื้อเห็ดฟาง และเส้นใยสามารถคลุมทับบนเส้นใยเห็ดฟางได้ และพบว่าความเสียหายที่เกิดขึ้นในแต่ละกับกองเพาะเห็ดฟางที่พบเชื้อมีมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์

รหัสการทดลอง 01-39-54-02-01-00-02-54

คำนำ

ปัจจุบันประเทศไทยยังมีการเพาะเห็ดฟางในลักษณะการเพาะกองเตี้ย ซึ่งใช้วัสดุเกษตรที่หลงเหลือจากการเก็บผลลิตไปหมดแล้ว เช่น เปลือกมันสำปะหลัง เปลือกถั่วต่าง ๆ และที่นิยมกันมากคือการใช้ทะลายปาล์มน้ำมัยซึ่งหีบเอาน้ำมันออกจากผลปาล์มแล้ว แม้การเพาะเห็ดฟางด้วยทะลายปาล์มจะมีการหมักทะลายปาล์มก่อนประมาณ 1 สัปดาห์เพื่อให้เนื้อเยื่อทะลายปาล์มเปลี่ยนสภาพให้เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดฟาง ซึ่งกระบวนการหมักนี้มีข้อดีอีกอย่างคือจะมีเชื้อจุลินทรีย์ชอบร้อนบางชนิดเจริญได้ดี ช่วยในการย่อยสลาย และช่วยในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราบางชนิดที่เป็นอันตรายต่อเส้นใยเห็ดฟาง การเพาะเห็ดฟางด้วยทะลายปาล์มยังคงประสบปัญหาการปนเปื้อนจากราชนิด ลักษณะ และสีต่าง ๆ ที่มีผลต่อการหยุดชะงักการเจริญของเส้นใยเห็ดฟาง ทำให้เห็ดฟางไม่สร้างส่วนขยายพันธุ์หรือดอก ลักษณะเช่นนี้จะเกิดกับการเพาะเห็ดฟางกองเตี้ยโดยใช้วัสดุเกษตรอื่น ๆ ด้วย จากการเก็บรวมเชื้อราที่พบปนเปื้อนในการเพาะเห็ดฟางกองเตี้ยบ่อย ๆ มาวินิจฉัย พบว่ามีลักษณะสัณฐานที่ทำให้จำแนกได้เป็นเชื้อราสกุล *Papulaspora* แต่ยังไม่ทราบรายละเอียด ข้อมูลชัดเจนที่จะจำแนกชนิดได้เหมือนที่มีการศึกษาในต่างประเทศ ด้วยเหตุนี้ ประกอบกับการพบเชื้อราชนิดนี้ในการเพาะเห็ดฟางกองเตี้ยบ่อยครั้ง และบางครั้งพบในการเพาะเห็ดฟางในโรงเรือนที่ผลิตเป็นการค้าด้วย ทำให้ต้องวางแผนการศึกษา โดยเริ่มจาก การสำรวจรวบรวบตัวอย่างเชื้อราที่พบปนเปื้อนในการเพาะเห็ดฟางเป็นการค้า นำมาจำแนกชนิด (species) ของเชื้อราสกุล *Papulaspora* ศึกษาแหล่งอาศัยและวิธีการแพร่กระจายของเชื้อรา *Papulaspora* แต่ละไอโซเลทที่พบ และศึกษาหาข้อมูลลักษณะการเข้าทำลายและความเสียหายที่เกิดกับเห็ดฟาง เพื่อให้ข้อมูลและผลสรุปที่เป็นประโยชน์ต่อการวางแผนศึกษาหาวิธีการป้องกันกำจัดเชื้อราชนิดนี้อย่างมีประสิทธิภาพไม่ให้เกิดแพร่ระบาดทำความเสียหายอย่างใหญ่หลวงต่อการผลิตเห็ดฟางเป็นการค้าต่อไป

วิธีดำเนินการ

<u>1. การเก็บรวบรวม และแยกเชื้อรา *Papulaspora*</u>

เก็บรวบรวมวัสดุที่ใช้สำหรับเพาะเห็ดฟางแบบกองเตี้ย และวัสดุเพาะเห็ดฟางในโรงเรือน ได้แก่ ฟางข้าว ทะลายปาล์มน้ำมัน เปลือกถั่วเขียว และเปลือกหรือกากมันสำปะหลัง ที่พบกลุ่มเชื้อรา ลักษณะเส้นใยสีขาวแน่นทึบ คลุมด้วยผงเล็ก ๆ ละเอียด สีน้ำตาลเข้ม และไม่มีเส้นใยของเห็ดฟางเจริญอยู่บนบริเวณนี้ นำมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธีการดังนี้

1.1 วิธีเขี่ยเส้นใยหรือเม็ดสีน้ำตาลลงบนอาหาร PDA ที่หยดกรดแลคติก 25% เพื่อยับยั้งการเจริญปนเปื้อนของแบคทีเรีย % บ่มเชื้อที่อุณหภูมิประมาณ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

1.2. วิธี soil dilution plate โดยสับวัสดุเพาะที่มีขนาดใหญ่ให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม ใส่ในน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาตร 90 มิลลิกรัม เขย่าให้เข้ากันดี จะได้สารแขวนลอยระดับความเข้มข้น 1×10^{-1} ใช้ปิเปตที่อบฆ่าเชื้อดูดสารแขวนลอยจากระดับความเข้มข้น $1x10^{-1}$ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 90 มิลลิลิตร ทำซ้ำเช่นเดิมจนได้สารแขวนลอยของวัสดุเพาะที่ระดับความเข้มข้นสุดท้าย $1x10^{-5}$ ใช้ปิเปตที่อบฆ่าเชื้อแล้วดูดสารแขวนลอยจากระดับความเข้มข้น $1x10^{-3}$ $1x10^{-4}$ และ $1x10^{-5}$ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ในจานแก้วอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ความเข้มข้นละ 10 จาน บ่มเชื้อที่อุณหภูมิประมาณ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

<u>2. การจำแนกชนิดตัวอย่างเชื้อราที่พบบนวัสดุเพาะเห็ดฟาง</u>

นำมาตรวจสอบลักษณะการเจริญของโคโลนี และสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (400x) บันทึกภาพและรายละเอียดต่าง ๆ นำมาเปรียบเทียบกับข้อมูล รายงาน และเอกสารที่ได้มีการศึกษาจำแนกชนิดเชื้อรา *Papulaspora* มาก่อน

<u>3. ศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อรา *Papulaspora* บนอาหาร PDA</u>

ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเชื้อรา *Papulaspora* เจริญอยู่ 7 วัน มาวางตรงจุดกึ่งกลางอาหาร PDA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิประมาณ 28 องศาเซลเซียส วัดการเจริญของเส้นใยที่แผ่ออกมาหลังจากเลี้ยงเชื้อ 2 วัน เปรียบเทียบกับอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดฟางซึ่งเลี้ยงในอาหาร PDA และบ่มเชื้อที่อุณหภูมิเดียวกัน วิเคราะห์ผลที่ได้

<u>4. การศึกษาผลของเชื้อรา *Papulaspora* ที่มีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดฟาง</u>

การตรวจสอบผลการะทบด้วยวิธีการ Dual Culture : ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเชื้อรา *Papulaspora* เจริญอยู่ 7 วัน มาวางบนอาหาร PDA จากนั้น ใช้ cork borer ขนาดเดียวกันเจาะชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเห็ดฟางเจริญอยู่ นำมาวางในจานอาหาร PDA ให้ชิ้นวุ้นห่างจากชิ้นวุ้นที่มีเชื้อรา *Papulaspora* 2 เซนติเมตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิประมาณ 28 องศาเซลเซียส ตรวจสอบผลการเจริญของเชื้อเส้นใยเห็ดฟาง และเส้นใยเชื้อรา *Papulaspora* จากการทดสอบ 10 ซ้ำ (10 จานอาหาร)

เวลาและสถานที่

เวลา	**เริ่มต้น** ตุลาคม 2553 **สิ้นสุด** กันยายน 2555
สถานที่	กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และฟาร์มเพาะเห็ดฟางของเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ได้ทำการค้นคว้าเอกสารอ้างอิงทางวิชาการ วางแผนการทดลอง สำรวจ เก็บรวบรวมวัสดุเพาะเห็ดฟาง และกองวัสดุที่กำลังเพาะเห็ดฟาง และในชั้นวางวัสดุเพาะเห็ดฟางทั้งหมักจากฟางข้าว และ ทะลายปาล์ม

พบเชื้อรามีสีน้ำตาล เห็นชัดเจนบนกองวัสดุเพาะ เชื้อรานี้จะเจริญเป็นกลุ่มเส้นใยสีขาวแน่นทึบ ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม มีลักษณะเป็นผงเล็ก ๆ ละเอียด ลักษณะที่มองเห็นนั้นคล้ายกับฝุ่นผงสีน้ำตาล ซึ่งก็คือสปอร์กลม ๆ เล็ก ๆ ของเชื้อราจำนวนมากนั่นเอง เม็ดกลมๆ ของสปอร์เชื้อนี้ เมื่อนำมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (compound microscope) พบว่า สปอร์ของเชื้อรามีผิวขรุขระ สีน้ำตาล รูปร่างกลมหรือรี คล้ายรูปทรงไข่ แต่ส่วนใหญ่มีรูปร่างทรงกลม

เมื่อนำมาแยกเชื้อราให้ได้เชื้อบริสุทธิ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA แล้วจำแนกชนิด ได้เชื้อรา *Papulaspora* sp. จำนวน 6 ไอโซเลท เชื้อรานี้เจริญและสร้างเส้นใยได้เร็วบนอาหาร PDA และเร็วกว่าเชื้อเห็ดฟาง และเส้นใยสามารถคลุมทับบนเส้นใยเห็ดฟางได้ และพบว่าความเสียหายที่เกิดขึ้นในแต่ละกับกองเพาะเห็ดฟางที่พบเชื้อมีมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์

การดำเนินงานทดลองปีงบประมาณ พ.ศ. 2554 เป็นปีแรกของงานวิจัย จึงยังไม่ได้ผลการทดลองที่สมบูรณ์นัก ซึ่งรายละเอียดและหัวข้อการทดลองต่าง ๆ จะต้องดำเนินการต่อไปในปีงบประมาณ พ.ศ. 2555

สรุปผลการทดลอง

ได้ทำการ สำรวจ เก็บรวบรวมวัสดุเพาะเห็ดฟาง และกองวัสดุที่กำลังเพาะเห็ดฟาง และในชั้นวางวัสดุเพาะเห็ดฟางทั้งหมักจากฟางข้าว และ ทะลายปาล์ม พบเชื้อรามีสีน้ำตาล เห็นชัดเจนบนกองวัสดุเพาะ เชื้อรานี้จะเจริญเป็นกลุ่มเส้นใยสีขาวแน่นทึบ ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม มีลักษณะเป็นผงเล็ก ๆ ละเอียด ลักษณะที่มองเห็นนั้นคล้ายกับฝุ่นผงสีน้ำตาล ซึ่งก็คือสปอร์กลม ๆ เล็ก ๆ ของเชื้อราจำนวนมากนั่นเอง เม็ดกลมๆ ของสปอร์เชื้อนี้ เมื่อนำมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (compound microscope) พบว่า สปอร์ของเชื้อรามีผิวขรุขระ สีน้ำตาล รูปร่างกลมหรือรี คล้ายรูปทรงไข่ แต่ส่วนใหญ่มีรูปร่างทรงกลม เมื่อนำมาแยกเชื้อราให้ได้เชื้อบริสุทธิ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA แล้วจำแนกชนิด ได้เชื้อรา *Papulaspora* sp. จำนวน 6 ไอโซเลท เชื้อรานี้เจริญและสร้างเส้นใยได้เร็วบนอาหาร PDA และเร็วกว่าเชื้อเห็ดฟาง และเส้นใยสามารถคลุมทับบนเส้นใยเห็ดฟางได้ และพบว่าความเสียหายที่เกิดขึ้นในแต่ละกับกองเพาะเห็ดฟางที่พบเชื้อมีมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์

เอกสารอ้างอิง

วิจัย รักวิทยาศาสตร์. 2546. ราวิทยาเบื้องต้น. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. 351 หน้า.

Salunkhe, D. K., and S. S. Kadam. 1998. Handbook of vegetable science and technology: production, composition, storage and processing. Marcel Dekker, Inc. 270 Madison Avenue, New York, New York 10016. 721 p.