บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

เห็ดเป็นอาหารประเภทหนึ่งที่ชาวไทยนิยมรับประทานกันทั่วไป นอกจากมีรสชาติดีแล้วยังมีคุณค่าอาหารสูง ประกอบด้วยโปรตีน เกลือแร่ แคลเซียม ฟอสฟอรัส เหล็ก และวิตามินต่าง ๆ สามารถนำมาปรุงเป็นอาหารได้หลายชนิด และมีคุณสมบัติทางยารักษาโรคบางอย่างได้ ผู้ที่รับประทานเห็ดเป็นประจำจะทำให้กรดไขมันในเส้นเลือดไม่สูงหรือต่ำเกินไป จึงเหมาะสำหรับผู้ที่เป็นโรคไขมันในเส้นเลือดสูง โรคหัวใจ โรคความดัน และยังมีคุณสมบัติในการต่อต้านมะเร็งบางชนิด (บุญส่ง วงศ์เกรียงไกร, 2540) การเพาะเห็ดทำมานานแล้วในประเทศไทย แต่เดิมนั้นเพาะเฉพาะเห็ดฟาง ในปัจจุบันการเพาะเห็ดได้ก้าวหน้าขึ้น นอกจากเห็ดฟางแล้ว ยังมีเห็ดเป๋าฮื้อ เห็ดนางฟ้า เห็ดหูหนู เห็ดกระดุม และเห็ดหอม (สุเนตรา ภาวิจิตร และคณะ, 2531)

ปัจจุบันมีการปรับปรุงการเพาะเห็ดโดยการใช้เทคโนโลยีต่าง ๆ มากขึ้น ทำให้เพาะได้ง่าย กรรมวิธีไม่ยุ่งยาก ใช้อุปกรณ์น้อย ต้นทุนการผลิตต่ำไม่ต้องอาศัยแรงงานจำนวนมาก ใช้วัสดุเศษเหลือใช้ทางการเกษตรมาใช้เพาะได้หลายอย่าง เช่น ฟางข้าว ผักตบชวา ทลายปาล์มน้ำมัน และเปลือกถั่วต่าง ๆ (บุญส่ง วงศ์เกรียงไกร, 2540) ประเทศไทยมีสภาพภูมิอากาศแบบร้อนชื้น ทำให้เหมาะสมสำหรับการเพาะเห็ดได้ตลอดทั้งปี จึงมีผู้หันมาประกอบอาชีพเพาะเห็ดจำหน่ายในตลาดเป็นจำนวนมากและทำรายได้ให้แก่เกษตรกร นอกจากนี้ประชาชนส่วนใหญ่มีความต้องการเห็ดต่าง ๆ มาบริโภคกันมากขึ้น ดังนั้นโอกาสของผู้เพาะเห็ดที่จะยึดอาชีพนี้เป็นอาชีพหลักและอาชีพรองก็ย่อมมีมากขึ้นไปด้วย (บรรณ บูรณชนบท, 2541) แต่มักจะพบปัญหาเรื่องโรค ซึ่งโรคที่สำคัญได้แก่ โรคราเขียว โรคราขาวนวล นอกจากนี้ยังพบไร มด ปลวก และไส้เดือนฝอยที่เข้าทำลายและทำให้ผลผลิตเห็ดลดลง (เกษตรสันทัด, 2532)

โรคราเขียว (green mold disease) เกิดจากเชื้อ *Trichoderma* spp. เป็นโรคที่สำคัญของเห็ด โดยเชื้อจะเข้าทำลายเห็ดอย่างรวดเร็ว ทำให้การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดผิดปกติ การระบาดของราเขียวทำให้เกิดความเสียหายในระดับเศรษฐกิจ (จิระเดช แจ่มสว่าง, 2539) ปัจจุบันโรคราเขียวของเห็ดจัดว่าเป็นโรคที่สำคัญที่สุดของการเพาะปลูกเห็ดเพื่อการค้าในประเทศไทย เนื่องจากราเขียวเป็นราที่เจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว สร้างสปอร์ได้มาก ระบาดและทำความเสียหายกับเห็ดทุกระยะ คือระยะทำเชื้อ ทำถุงก้อนเชื้อ และระยะเพาะเห็ด (Chen *et al.*, 1999b.)

ในประเทศไทยพบว่าราเขียวระบาดทำความเสียหายให้กับเห็ดเพาะเลี้ยงทุกชนิด ทั้งที่เพาะในถุงพลาสติก เพาะกลางแจ้งและเพาะในโรงเรือน ราเขียวที่พบได้แก่ *Trichoderma harzianum*, *T. harmatum*, *T. aureoviride* และ *T. virens* (*Gliocladium virens*) (ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน, 2542) ศักรินทร์ บวรดิเรกลาภ (2539) รายงานว่าเชื้อราเขียวหลายชนิดปนเปื้อนในผลผลิตเห็ดฟางที่จำหน่ายคือ *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. pseudokoningii*, *T. longibrachiatum* ส่วนในจังหวัดสงขลาพบว่าราเขียวระบาดอย่างหนักทำให้ผลผลิตเห็ดลดลงมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ (กองบรรณาธิการ, 2544)

ในปัจจุบันยังไม่มีวิธีการควบคุมโรคราเขียวอย่างมีประสิทธิภาพ การป้องกันกำจัดราเขียวโดยใช้สารเคมีทำได้ยาก เนื่องจากมีพิษต่อเส้นใยเห็ดและผู้บริโภค ทำให้เกษตรกรหาวิธีกำจัดโรคด้วยตนเอง เช่น การใช้จุลินทรีย์ EM ฉีดพ่นถุงก้อนเชื้อเห็ด และการใช้ปุ๋ยหมักชีวภาพรดก้อนเชื้อเห็ด และจากการศึกษาของ Singh และ Singh (2001) พบว่าแบคทีเรียบางชนิดเช่น *Bacillus* sp. ที่อาศัยร่วมกับเห็ดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Trichoderma* บางชนิดได้ นอกจากนี้ *Pseudomonas* sp. ที่พบในกองวัสดุเพาะเห็ดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Trichoderma* spp. และแบคทีเรียชนิดนี้ยังกระตุ้นให้เห็ดสร้างดอกอีกด้วย

ดังนั้นจึงได้ทำการวิจัยเพื่อหาเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Trichoderma* spp. เพื่อเป็นแนวทางในการนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์มาใช้ประโยชน์ในการควบคุมโรคราเขียวของเห็ดโดยชีววิธีต่อไป

การตรวจเอกสาร

1. เชื้อ *Trichoderma* spp.

Trichoderma spp. จัดเป็นพวก Mitosporic Ascomycetes เป็นเชื้อราชั้นสูงที่พบได้ทั่วไปในดิน เศษซากพืช และวัสดุอินทรีย์ตามธรรมชาติ เช่น ท่อนไม้ผุพัง เป็นพวก saprophytic fungi มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการสร้างโครงสร้างสืบพันธุ์ 2 ชนิด คือคอนิเดีย และ คลามายโดสปอร์ การเจริญเป็นไปอย่างรวดเร็ว (Beyer *et al.*, 2001) จัดเป็นเชื้อราปฏิปักษ์สามารถผลิตเอนไซม์หลายชนิด เช่น cellulases, chitinase และ laminarinase (β -(1,3)-glucanase) เป็นต้น (Elad *et al.*, 1981) สามารถผลิตสารปฏิชีวนะ (antibiotics) หรือสารชีวพิษเพื่อหยุดยั้งหรือทำลายเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งสารที่เชื้อ *Trichoderma* spp. สร้างขึ้นมามี 3 กลุ่ม (Eveleigh, 1985) คือ

สารกลุ่ม trichothecenes ได้แก่สาร trichodermin และ 2,3-epoxytrichodermin มีฤทธิ์ในการขัดขวางกระบวนการทำงานของเอนไซม์ peptidyl transferase ในเชื้อสาเหตุโรคพืช และยังมีผลในการช่วยส่งเสริมการเจริญของพืชด้วย

สารกลุ่ม cyclic peptides ได้แก่ alamethicine (antibiotic U-22324), trichotoxin, trichopolyns และ trichozianines สารกลุ่มนี้มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งที่เป็น prokaryotes และ eukaryotes โดยไปทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เซลล์จุลินทรีย์แตกสลาย (lysis)

สารกลุ่ม isocyanide ได้แก่ trichoyiridin สารในกลุ่มนี้เกิดได้บางสภาวะ มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในกระเพาะสัตว์เคี้ยวเอื้องที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลส ทำให้เกิดอันตรายต่อสัตว์เคี้ยวเอื้องที่ได้รับสารนี้เข้าไปจากการกินอาหาร

สุภาพร อวรัญ (2537) รายงานว่า *T. harzianum* สามารถนำมาใช้ควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิด เช่น *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium* และ *Phytophthora* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรครากเน่าโคนเน่าของพืชผัก ไม้ดอกไม้ประดับ และไม้ผลต่าง ๆ (ศูนย์อารักขาพืช, 2546)

สัณฐานวิทยาของเชื้อ *Trichoderma* spp.

Gams และ Bissett (1998) บรรยายลักษณะโครงสร้างเชื้อ *Trichoderma* spp. ไว้ดังนี้

โคโลนี (colony) ลักษณะโคโลนีจะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว เส้นใยเริ่มต้นถูกฝังลงในเนื้อเยื่อแล้วค่อย ๆ แพร่กระจายปกคลุมออกไปทั่วบริเวณ ลักษณะคล้ายขนสัตว์หรือเส้นใยคล้ายใยแมงมุม อาจไม่มีสีหรือมีสีเหลือง สีน้ำตาลเหลือง สีแดงเข้ม และสีเขียวเหลือง ส่วนมากมีกลิ่นแรงหรือกลิ่นอ่อน ๆ

คอนิดิโอฟอร์ (conidiophore) แตกกิ่งก้านจากกิ่งก้านหลัก เป็นช่องว่างอย่างเป็นระเบียบ และแตกแขนงต่อเนื่องไปเรื่อย ๆ จนถึงปลายสุด กิ่งแขนงที่แตกออกมีลักษณะแตกต่างกัน อาจเป็นอันเดียวหรืออยู่เป็นคู่ ลักษณะโค้งยาวหรือเป็นคลื่นหยัก และจะสร้างไฟอะไลด์จากปลายเส้นใยในอากาศ

คอนิเดีย (conidia) สปอร์ของ *Trichoderma* เป็นเซลล์เดียว โดยทั่วไปมีสีเขียวหรือสีอื่น ๆ เช่น สีเทา สีน้ำตาล ผนังเรียบถึงขรุขระ โค้งเข้าข้างในหรือนูนออกมาจากผนังชั้นนอก ลักษณะเป็นครึ่งวงกลม รูปไข่ วงรี ยาว หรือรูปกรวยสั้น ๆ

คลามายโดสปอร์ (chlamydospore) พบกระจายทั่วไปบริเวณเส้นใยที่แตกแขนงหรือเกิดที่ปลายบนกิ่งก้านซึ่งแตกสั้น ๆ ของเส้นใยเจริญ ลักษณะทรงกลม หรือรูปไข่ ไม่มีสีถึงมีสีค่อนข้างเหลืองหรือเขียวอ่อน ผนังเรียบและค่อนข้างหนา

เส้นใย (vegetative hyphae) มีลักษณะใส ผนังเรียบ กว้างประมาณ 1-10 ไมโครเมตร บางครั้งอาจมีสีเหลืองในเส้นใยที่เจริญเติบโตผิดปกติ

2. โรคราเขียวของเห็ด

2.1 ความสำคัญและความเสียหายทางเศรษฐกิจ

โรคราเขียว เกิดจากเชื้อ *Trichoderma* spp. ทำความเสียหายอย่างรุนแรงต่อเห็ดกระดุม การระบาดเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยสปอร์ของ *Trichoderma* จะเข้าทำลายเส้นใยเห็ด หลังจากเห็ดกระดุมเริ่มสร้างเส้นใยเพียง 2-5 สัปดาห์ ทำให้เส้นใยเห็ดมีอาการผิดปกติ (Seaby, 1987) ราเขียวที่สำคัญคือ *Trichoderma harzianum* พบในวัสดุเพาะเห็ด ปุ๋ยหมักและดินที่ใช้ปิดผิวหน้า (casing) เชื้อราเขียวเข้าทำลายวัสดุเพาะในถุงเห็ดและกระบะเพาะเห็ด โดยลักษณะเริ่มแรกเส้นใยเชื้อมีสีขาว ต่อมาสร้างสปอร์สีเขียวและเจริญลุกลามปกคลุมวัสดุเพาะอย่างรวดเร็ว เส้นใยของเชื้อ *T. harzianum* เข้าเกาะกินเส้นใยเห็ดกระดุมพร้อมทั้งสร้างเอนไซม์ย่อยสลายเส้นใย ส่งผลให้เห็ดไม่สามารถออกดอกได้ (Beyer *et al.*, 2001)

Sinden และ Hauser (1953) รายงานว่า การระบาดของโรคครั้งแรกเกิดขึ้นในประเทศไอร์แลนด์ และประเทศในแถบทวีปอเมริกาเหนือ ในปี ค.ศ. 1985 มีรายงานว่าเชื้อ *Trichoderma* spp. ที่ทำให้เกิดโรคกับเห็ดกระดุม (*Agaricus bisporus*) ทำให้เห็ดมีอาการเน่าเสีย เกิดจากเชื้อ *T. koningii* ซึ่งติดมากับวัสดุเพาะเห็ด (Staunton, 1987) หลังจากนั้นพบว่าในปี ค.ศ. 1996 เกิดการระบาดในประเทศเนเธอร์แลนด์และเยอรมัน (Sharma *et al.*, 1999) และการระบาดในประเทศสกอตแลนด์และอังกฤษ ทำให้เกิดความเสียหายประมาณ 30 ล้านดอลลาร์ (Seaby, 1998)

Romaine และคณะ (1996) รายงานว่า การแพร่ระบาดของเชื้อ *Trichoderma* spp. จะเพิ่มมากขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงตามจำนวนสปอร์ของเชื้อ จำนวนสปอร์มากทำให้อัตราความรุนแรงของการเกิดโรคมาก ระดับความรุนแรงของโรคส่งผลต่ออุตสาหกรรมผลิตเห็ด โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *T. harzianum*

ปี ค.ศ. 1990 พบว่าเกิดการระบาดของโรคราเขียวในทวีปยุโรป ทำให้เกิดความเสียหาย 10 ล้านดอลลาร์ ความเสียหายต่ออุตสาหกรรมการผลิตเห็ด คิดเป็นมูลค่าประมาณ 3-4 ล้านดอลลาร์ ในประเทศอังกฤษและประเทศไอร์แลนด์ (Fletcher, 1997)

ในช่วง 1 ปี (ค.ศ.1994-1995) Grogan และคณะ (1996) รายงานว่า *T. hamatum* ทำความเสียหายต่อการผลิตเห็ดอย่างมากในประเทศอินเดีย นอกจากนี้ยังมีรายงาน ความเสียหายประมาณ 20 ล้านดอลลาร์ ในรัฐเพนซิลวาเนีย ประเทศสหรัฐอเมริกา ในช่วง ค.ศ. 1995-1997 (Ospina-Giraldo, 1997)

Ospina-Giraldo และคณะ (1997) รายงานว่าในประเทศญี่ปุ่น *T. viride* ผลิตสารพิษและเอนไซม์ย่อยสลายเส้นใยเห็ดกระดุม ทำให้เห็ดเกิดอาการแห้งตาย มีบาดแผลที่ก้านดอกและหมวกเห็ด และทำลายเห็ดอย่างรุนแรง (Seaby, 1998)

จากการศึกษาถึง metabolites ของ *T. harzianum* ต่อการเจริญของเห็ดกระดุมบนอาหารเลี้ยงเชื้อโดยดูปฏิกิริยาของรัศมีการสร้างโคโลนีของเชื้อเห็ด พบว่าเชื้อจะผลิตสารระเหยซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ด (Mumpuni *et al.*, 1998)

2.2 การจำแนกสายพันธุ์เชื้อสาเหตุ

Seaby (1987) จำแนก *T. harzianum* ออกเป็น 4 biotype โดยใช้รูปแบบของแถบดีเอ็นเอ มาวิเคราะห์และจำแนกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สอดคล้องกับงานทดลองของนักวิทยาศาสตร์หลายกลุ่ม ที่พบว่าเชื้อ *T. harzianum* มี 4 biotype คือ Th1, Th2, Th3 และ Th4 (Muthumeenakshi *et al.*, 1997; Ospina-Giraldo *et al.*, 1997; Castle *et al.*, 1998; Ospina-Giraldo *et al.*, 1999; Chen *et al.*, 1999b.) โดย biotype Th2 และ Th4 เป็นสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรครุนแรงกับเห็ด ส่วน Th1 และ Th3 ไม่ทำให้เกิดความเสียหายกับเห็ดมากนัก (Seaby, 1998; Castle *et al.*, 1998) จากการทดลองเบื้องต้นพบว่า *T. harzianum* biotype Th2 ที่ปนเปื้อนในวัสดุเพาะปลูก 45 กิโลกรัม ทำให้การผลิตเห็ดลดลง 12-46 เปอร์เซ็นต์ จากการจำแนก *Trichoderma* โดยอาศัยลักษณะสัณฐานวิทยาและชีวโมเลกุลมา พบว่า 40 เปอร์เซ็นต์ ของเชื้อ *Trichoderma* ที่ทำความเสียหายต่อเห็ดเป็น *T. harzianum* biotype Th2 และ Th4 (Castle *et al.*, 1998)

Romaine และคณะ (1996) รายงานว่า *T. harziaum* biotype Th4 เป็นสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคมากที่สุดในรัฐเพนซิลวาเนีย และเป็นสายพันธุ์เดียวกันกับที่ทำให้เกิดความเสียหายต่อ

อุตสาหกรรมผลิตเห็ด แต่ไม่ได้เป็นสายพันธุ์เดียวกันที่นำมาใช้ในการควบคุมโรคพืช

Ospina-Giraldo และคณะ (1999) รายงานว่า *T. harzianum* สายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคอย่างรุนแรงในทวีปยุโรป คือ biotype Th2 และสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดความเสียหายในอเมริกาเหนือคือ Th4

Hermosa และคณะ (2000) รายงานว่า *T. harzianum* biotype Th2 และ Th4 เป็นสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรครุนแรงในเห็ดกระดุม และไม่มีความสัมพันธ์เกี่ยวข้องทางพันธุกรรม กับเชื้อ *T. harzianum* ที่นำมาใช้ทดสอบการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี

Rinker และ Alan (2002) รายงานว่าโรคราเขียวที่ทำความเสียหายต่อฟาร์มเห็ดในประเทศอังกฤษ คือ biotype Th2 และเป็นสายพันธุ์เดียวกันที่ทำให้เกิดโรครุนแรงในรัฐอัลเบอร์ตา รัฐออนตาริโอ ประเทศแคนาดา และรัฐเพนซิลวาเนีย ประเทศสหรัฐอเมริกา และเป็นชนิดเดียวกันที่ระบาดในประเทศโคลัมเบีย

2.3 การติดเชื้อและการแพร่ระบาด

การติดเชื้อ *Trichoderma* spp. ของเห็ดกระดุมเกิดได้จากหลายสาเหตุดังต่อไปนี้ (Seaby, 1987)

ก. การติดเชื้อจากอนุภาคดิน ดินหรือผงฝุ่นจากสนามหญ้าที่เป็นแหล่งของส่วนประกอบวัสดุเพาะเห็ด เชื่อว่าลมจะพัดเอาผงฝุ่นซึ่งเป็นพาหะนำเชื้อ *Trichoderma* ไปยังปล่องระบายอากาศไปสู่เครื่องจักรกลในการบรรจุถุง

ข. การปนเปื้อนจากเสื้อผ้า สปอร์ของเชื้อ *Trichoderma* อาจติดไปกับเสื้อผ้าของคนงาน ทำให้เกิดการปนเปื้อนจากสปอร์เชื้อ เสื้อผ้าเป็นแหล่งสำคัญสำหรับการเข้าทำลายของเชื้อราในฟาร์มเพาะเห็ด เพราะขณะที่คนงานเปิดถุงพลาสติกสปอร์อาจติดไปกับเสื้อผ้าเนื่องจากเกิดไฟฟ้าสถิตย์ทำให้เกิดการแพร่ระบาดของเชื้อได้

ค. สัตว์พาหะเช่นไรแดง (red pepper mites, *Pygmephorus mesembrinae)* ดูดกินน้ำเลี้ยงจากเชื้อ *Trichoderma* และเข้าไปทำลายผิวบริเวณถุงวัสดุเห็ด ทำให้เกิดการปนเปื้อน ซึ่งยากแก่การมองเห็น ไรจึงเป็นพาหะทำให้เกิดการแพร่กระจายและการระบาดของเชื้ออย่างรุนแรง นอกจากนี้ยังพบว่า หนู และแมลงหวี่ทำให้เกิดการปนเปื้อนโดยเชื้อติดไปกับ ขน ขา และปีก

ง. เชื้อราในอากาศ การระบายอากาศบริเวณกองไม้ที่ทับถมกันบริเวณโรงเรือน ทำให้เกิดการปนเปื้อนจากเชื้อ *Trichoderma* รวมทั้งถุงเห็ดที่ถูกเชื้อเข้าทำลายและนำออกจากโรงเรือนไปทิ้งบริเวณใกล้ ๆ สปอร์ของเชื้ออาจปนเปื้อนในอากาศได้

จ. เชื้อราเข้าทำลายเชื้อเห็ด การใช้เชื้อเห็ดไม่บริสุทธิ์มีเชื้อราปนเปื้อน เมื่อนำมาเพาะทำให้เกิดการระบาดของเชื้อรา

ฉ. เชื้อราเข้าทำลายบริเวณผิวหน้าของเชื้อเห็ด การเพาะโดยใช้วิธีการใส่เชื้อแบบโรยที่ผิวหน้า ทำให้ผิวหน้าแปลงเพาะมีธาตุอาหารของวัสดุทำเชื้อหลงเหลืออยู่มาก เป็นช่องทางทำให้เชื้อราเขียวปนเปื้อนได้ นอกจากนี้ยังดึงดูดให้ไรและหนูเป็นพาหะนำสปอร์เชื้อมาปนเปื้อน

ช. วัสดุเพาะถุงเห็ดถูกปนเปื้อนจากวิธีการปฏิบัติ ปุ๋ยหมักใหม่ที่จะนำมาเพาะเห็ดอาจมีเชื้อ *Trichoderma* ปนเปื้อนอยู่ หากเกิดการสัมผัสปุ๋ยหมักใหม่ที่จะนำมาเพาะเห็ดหลังจากสัมผัสปุ๋ยหมักเก่าที่เพาะเห็ดแล้วซึ่งมีเชื้อปนเปื้อนอยู่ เป็นเหตุให้เชื้อ *Trichoderma* เข้าทำลายวัสดุเพาะเชื้อเห็ดได้ ซึ่งเป็นตัวการสำคัญที่ทำให้เกิดการระบาดของเชื้อ *Trichoderma*

ซ. การปนเปื้อนจากเครื่องจักรกล เครื่องมือการเกษตร และรถบรรทุก เครื่องจักรกล เครื่องมือการเกษตร มักปนเปื้อนสปอร์เชื้อ *Trichoderma* เพราะการทำความสะอาดไม่ทั่วถึง ส่วนรถบรรทุกเป็นแหล่งสะสมเชื้อในการทำให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อ

2.4 การป้องกันและควบคุมโรคราเขียวของเห็ด

การป้องกันและการควบคุมโรคราเขียวที่มีประสิทธิภาพ ได้แก่

2.4.1 วิธีเขตกรรม (cultural practices) ทำได้ 2 ส่วน คือ การควบคุมวัสดุเพาะเห็ดและการควบคุมเห็ดช่วงเจริญเติบโต (Seaby, 1987)

ก. การควบคุมวัสดุเพาะเห็ด

1. บริเวณพื้นที่บรรจุถุงต้องปิดล้อมอย่างมิดชิด ช่องระบายลมมีเท่าที่จำเป็นเท่านั้น

2. เครื่องจักรกลบรรจุถุงเห็ดต้องคลุมด้วยพลาสติกและต้องเปลี่ยนพลาสติกคลุมทุกสัปดาห์

3. เสื้อผ้าคนงานต้องผ่านการอบฆ่าเชื้อ เพื่อทำลายสปอร์ที่ติดบริเวณเสื้อผ้าก่อนและหลังสวมใส่

4. คนงานบรรจุถุงเห็ดเมื่อเสร็จงานแล้วต้องไม่กลับมาสัมผัสกับถุงเพาะเห็ดอีก

5. พื้นที่บรรจุเห็ด ประกอบด้วย ดาดฟ้า และปล่องระบายอากาศ ต้องทำความสะอาดด้วยฟอร์มาลดีไฮด์ และจุ่มเท้าก่อนเข้าโรงงานทุกครั้ง

6. กล่องเก็บเชื้อเห็ดต้องวางบนชั้นวางและทำความสะอาดถุงพลาสติกที่ใช้คลุมทุกครั้ง และหลังทำความสะอาดต้องฆ่าเชื้อด้วยสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ หรือใช้ความร้อนอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน

7. การเปิดปล่องไฟระบายอากาศต้องระมัดระวังไม่ให้มีการปนเปื้อนได้

8. เส้นใยเห็ดต้องเก็บในห้องอุณหภูมิต่ำและระมัดระวังไม่ให้หนูเข้ามาในโรงเรือน ดูแลรักษาความสะอาดปลอกหุ้มเครื่องมือที่ใช้เปิดปากถุง

9. ถุงพลาสติกเมื่อนำมาห่อหรือคลุมวัสดุเพาะเห็ดแล้วไม่นำกลับมาใช้อีก ถ้าไม่ผ่านการอบฆ่าเชื้อ

10. รถบรรทุกก่อนเข้าในโรงเรือนต้องทำความสะอาดด้วยฟอร์มาลดีไฮด์ ตรงตำแหน่งวางถุงวัสดุเพาะเห็ด

ข. การควบคุมในช่วงเห็ดเจริญเติบโต

1. เสื้อผ้าคนงานต้องฆ่าเชื้อโดยการอบแห้งก่อนนำมาใช้ และต้องดูแลรักษาความสะอาดของร่างกาย เช่น มือ เท้า ก่อนเข้าโรงเรือนทุกครั้ง

2. ผิวเครื่องจักรกลก่อนและหลังสัมผัสถุงเชื้อเห็ดต้องทำการฆ่าเชื้อหลังเสร็จภาระกิจ

3. การสัมผัสวัสดุเพาะเห็ดต้องเกิดน้อยที่สุดในช่วง 2 สัปดาห์แรกเมื่อเส้นใยเห็ดเริ่มเจริญและในช่วงที่มีการระบาด เพื่อป้องกันการกระจายตัวเชื้อจากถุงหนึ่งไปยังอีกถุงหนึ่งได้

4. เครื่องวัดอุณหภูมิต้องฆ่าเชื้อและจำกัดอุณหภูมิในโรงเรือนไม่ให้เกิน 25 องศาเซลเซียส

5. รองเท้าต้องจุ่มฆ่าเชื้อเมื่อมีการเคลื่อนย้ายจากโรงเรือนหนึ่งไปยังอีกโรงเรือนหนึ่ง

6. ควรมีการกรองอากาศด้วยแผ่น polythene บริเวณทางเดินเข้าออกของประตู

7. ต้องจัดการไม่ให้มีหนูในโรงเรือน ควรกำจัดหนูโดยวิธีใช้เหยื่อล่อ

8. ผิวภายนอกของเส้นใยเห็ดต้องถูกสัมผัสน้อยที่สุดและคลุมด้วยพลาสติกที่ฆ่าเชื้ออย่างต่อเนื่องตลอดเวลาที่มีการระบาด

9. อุปกรณ์และเครื่องมือต่าง ๆ บรรจุกล่องที่ผ่านการฆ่าเชื้อเพื่อป้องกันเชื้อในอากาศมาปนเปื้อน

10. บรรจุภัณฑ์ของเครื่องพ่นน้ำหรือน้ำยาฆ่าเชื้อต้องเก็บรักษาไม่ให้มีการปนเปื้อนจากผงฝุ่นก่อนนำเข้าสู่โรงเรือน

11. เชื้อที่เข้าทำลายเห็ดเมื่อแยกได้ควรฉีดพ่นด้วยฟอร์มาลิน และควรปิดด้วย polythene ขนาดใหญ่บริเวณปากถุง

12. ถังขยะควรวางไว้ตำแหน่งที่ไกลจากโรงเรือนและไกลจากทางเดิน

13. หลังจากโรงเรือนว่างจากการเพาะเห็ดควรอบฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ หรือใช้สารฆ่าเชื้อทำความสะอาดโรงเรือน

2.4.2 การใช้สารเคมี (chemical control)

Bhatt และ Singh (2002) รายงานว่าการใช้สารเคมี Bavistin สามารถควบคุมเชื้อ *Trichoderma* spp. ในฟาร์มเห็ดทางตอนใต้ของประเทศอินเดีย สารกำจัดเชื้อราที่นิยมใช้กันมากได้แก่ carbendazim, benomyl และ thiabendazole จากรายงานการทดลองพบว่า carbendazim มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคราเขียวได้ถึง 84 เปอร์เซ็นต์ thiabendazole 77 เปอร์เซ็นต์ และ benomyl 58 เปอร์เซ็นต์ cabendazim เป็นสารกำจัดเชื้อราที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางและปริมาณสารพิษตกค้างมีปริมาณค่อนข้างต่ำ คือ 1 มิลลิกรัมของสารออกฤทธิ์ต่อเห็ด 1 กิโลกรัม อย่างไรก็ตามปัจจุบันพบว่าเชื้อราสามารถต้านทานต่อสารเคมีได้ (Grogan *et al.*, 1997) การนำสารเคมีมาใช้ต้องใช้อย่างระมัดระวังและต้องใช้ควบคู่ไปกับการควบคุมโดยวิธีทำความสะอาดแปลงปลูก (sanitation) การควบคุมโรคจึงจะประสบความสำเร็จมากขึ้น (Grogan *et al.*, 1996)

2.4.3 การใช้พันธุ์ต้านทาน

จากการศึกษาของ Anderson และคณะ (2002) พบว่าเห็ดกระดุม สายพันธุ์สีขาวเป็นสายพันธุ์ต้านทานต่อเชื้อ *Trichoderma* spp. มากกว่าสายพันธุ์สีน้ำตาล

2.5 แนวทางการใช้แบคทีเรียควบคุมโรคราเขียว

Stanek (1974b.) ได้ทำการศึกษาจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ร่วมกับเห็ด บริเวณผิวหน้าเส้นใยเห็ด และวัสดุเพาะเห็ด ได้แก่ *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Bacillus* และ *Serratia* พบว่า จุลินทรีย์
เหล่านี้มีคุณสมบัติ ในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและวิตามินบางชนิด ซึ่งมีผลกระตุ้นให้เส้นใยเห็ดเจริญดีขึ้น นอกจากแบคทีเรียแล้วยังมีจุลินทรีย์อื่น ๆ เช่น เชื้อรา สามารถชักนำให้เห็ดสร้างตุ่มดอกเห็ดได้มากขึ้น Salas และ Hancock (1972) ทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อ *Penicillium oxalicum* กับ *Mycena citricolor* พบว่าเชื้อ *P. oxalicum* สามารถชักนำให้เส้นใยเชื้อ *M. citricolor* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุโรค American leaf spot ของกาแฟ สร้างตุ่มเห็ดมากขึ้น

Hume และ Hayes (1974) ทำการศึกษาปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างเห็ดกระดุม ที่เจริญร่วมกับเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas putida* ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเส้นใยเห็ดไปสู่ระยะที่สร้างดอกในห้องปฏิบัติการพบว่า เชื้อ *P. putida* สามารถกระตุ้นให้เห็ดสร้างตุ่มดอกจำนวนมากขึ้นเมื่อเส้นใยเห็ดเจริญเข้าใกล้เชื้อแบคทีเรีย

Romaine และคณะ (1996) รายงานว่า แบคทีเรียบางชนิดเช่น *Bacillus* sp. ที่อาศัยร่วมกับเห็ด สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อ *Trichoderma* spp. ที่ทำให้เกิดโรคในเห็ดกระดุม

Singh และ Singh (2001) ศึกษาแบคทีเรียที่แยกได้จากกระบะเพาะเห็ดกระดุมพบแบคทีเรียพวก fluorescent Pseudomonads ไอโซเลท Cllb และ Cvla สามารถควบคุมปริมาณเชื้อ *Trichoderma* spp.

Curto และ Favelli (1974) รายงานว่า การฉีดพ่นแบคทีเรียปฏิปักษ์ลงบนเส้นใยเห็ดก่อนการออกดอก 1 สัปดาห์ พบว่าจำนวนเส้นใยเห็ดหนาแน่นมากขึ้น ระยะเวลาในการออกดอกของเห็ดในรุ่นที่ 1 เร็วกว่าการไม่ฉีดพ่นแบคทีเรีย และผลผลิตรวมของเห็ดเพิ่มขึ้นประมาณ 20-30 เปอร์เซ็นต์ ในอนาคตการนำแบคทีเรียมาใช้ควบคุมเชื้อ *Trichoderma* spp. สาเหตุโรคราเขียวในเห็ด จะเป็นแนวทางหนึ่งของการควบคุมโดยชีววิธี

วัตถุประสงค์

1. เพื่อให้ทราบจำนวนชนิด (species) ของเชื้อ *Trichoderma* spp. ที่เป็นสาเหตุโรคของเห็ด
2. เพื่อหาเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีผลยับยั้งและควบคุม *Trichoderma* spp. ในเห็ด