

ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยต่อการควบคุมโรคคราดำที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Aspergillus niger* ของเห็ดนางฟ้าภูฐาน (*Pleurotus pulmonarius*)

Efficacy of Essential Oils to Control Black Mold Disease Caused by *Aspergillus niger* in Grey Oyster Mushrooms (*Pleurotus pulmonarius*)

วัชรวิทย์ รัชมี¹ ปันณวิชญ์ เย็นจิตต์² ศรีณยา เพ่งผล² และวาริน อินทนา³
Watcharawit Rassami¹, Punyawich Yenjit², Sarunya Pengphol² and Warin Intana³

บทคัดย่อ

เชื้อรา *Aspergillus niger* เป็นสาเหตุของโรคคราดำที่สร้างความเสียหายต่อผลผลิตเห็ดนางฟ้า (*Pleurotus pulmonarius*) และสามารถสร้างสารก่อมะเร็งอะฟลาทอกซิน การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยในการควบคุมโรคคราดำของเห็ดนางฟ้าภูฐาน ผลการทดลองพบว่า น้ำมันหอมระเหยสะระแหน่ กานพลู อบเชย และมะนาว ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพสูงต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. niger* ที่ 89.18, 87.12, 85.64 และ 82.52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม การทดสอบผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของเห็ดนางฟ้าภูฐานพบว่าน้ำมันหอมระเหยสะระแหน่และอบเชย ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ รวมทั้งสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม (50% WP) ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ (2.0 กรัม/ลิตร ตามคำแนะนำบนฉลาก) มีผลกระทบต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเห็ดนางฟ้าภูฐานสูงที่ 32.14, 29.51 และ 27.78 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนน้ำมันหอมระเหยกานพลู มะนาว และกระเทียม มีผลกระทบต่ำที่ 17.56, 14.30 และ 11.14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การทดลองในระยะบ่มก้อนเชื้อและเปิดดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานพบว่าน้ำมันหอมระเหยสะระแหน่ กานพลู อบเชย และมะนาว ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคคราดำ *A. niger* สูงกว่าการใช้สารคาร์เบนดาซิม ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ การตรวจวัดผลผลิตเห็ดในช่วง 30 วัน พบว่าน้ำมันหอมระเหยมะนาวและกานพลูให้ผลผลิตเห็ดเท่ากับ 155.11 และ 150.96 กรัม/ถุง ซึ่งสูงกว่าการใช้สารคาร์เบนดาซิม (140.25 กรัมต่อถุง) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

คำสำคัญ: เห็ดนางฟ้า น้ำมันหอมระเหย โรคคราดำ ฉีดพ่นโดยตรง ผลผลิตเห็ด

Abstract

Aspergillus niger is the cause of black mold disease, which leads to yield loss in oyster mushroom (*Pleurotus pulmonarius*) production and produces an aflatoxin carcinogen. This study aimed to investigate the efficiency of essential oils in controlling black mold disease in grey oyster mushrooms. The results revealed that kitchen mint, cloves, cinnamon, and lemon essential oils at 5.0% concentration had a high efficacy to inhibit the mycelial growth of *A. niger* by 89.18, 87.12, 85.64 and 82.52%, when compared to controls. Testing of the effects of the essential oils on the growth of grey oyster mushrooms themselves indicated that kitchen mint and cinnamon essential oils at 5.0% concentration and carbendazim fungicide (50% WP) at 0.1% concentration (2.0 g/l of label-recommended rate) had high inhibitory effects on the growth of grey oyster mushrooms (32.14%, 29.51% and 27.78% respectively). However, the cloves, lemon and garlic essential oils showed lower tendencies to inhibit mushroom growth (17.56%, 14.30% and 11.14% respectively). Experiments done at the spawning and cropping stages of grey oyster mushroom growth found that kitchen mint, cloves, cinnamon and lemon essential oils at 5.0% concentration provided efficacies to control the black mold disease of *A. niger* that were higher than those found for 0.1% carbendazim. Mushroom yield for the 30-day period was determined and a key result was that cloves and lemon essential oils provided the yields of 155.11 and 150.96 g per bag, which were significantly higher than the yield recorded for carbendazim treatment, which was 140.25 g per bag.

Keywords: oyster mushroom, essential oil, black mold disease, direct spray, mushroom yield

¹ สาขาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี อ. เมือง จ. จันทบุรี 22000

² ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตรและเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์ อ. เมือง จ. นครสวรรค์ 60000

³ หน่วยวิจัยไม้ผลเขตร้อน สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ อ. ท่าศาลา จ. นครศรีธรรมราช 80161

¹ Department of Agricultural Technology, Faculty of Agricultural Technology, Rambhai Bami Rajabhat University, Muang, Chantaburi 22000

² Department of Agricultural Technology, Faculty of Agricultural Technology and Industrial Technology, Nakhon Sawan Rajabhat University, Muang, Nakhon Sawan 60000

³ The Tropical Fruit Research Unit, School of Agricultural Technology, Walailak University, Thasala, Nakhon Si Thammarat 80161

*Corresponding author, Email: punyawich.yenjit@gmail.com

คำนำ

เห็ดนางฟ้าภูฐาน (grey oyster mushroom) เป็นเห็ดที่มีคุณค่าทางโภชนาการโดยมีโปรตีนและวิตามินสูง สามารถเพาะได้ทุกภาคของประเทศไทยและสามารถเป็นอาชีพที่สร้างรายได้ให้แก่เกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงได้อย่างดี แต่การเพาะเห็ดในประเทศไทยมักประสบปัญหาการเข้าทำลายจากเชื้อราดำ *Aspergillus niger* ทั้งในระยะบ่มก้อนเชื้อเห็ด และระยะเปิดดอกสร้างความเสียหายต่อผลผลิตเห็ดเป็นจำนวนมาก อีกทั้งเชื้อรา *A. niger* สามารถสร้างสารพิษ (mycotoxins) หลายชนิดที่ก่อมะเร็งในมนุษย์ ได้แก่ อะฟลาทอกซิน (aflatoxin) โอคราตอกซิน (ochratoxin) และฟูโมนิซิน (fumonisins) (Soares et al., 2013) ซึ่ง Fadahunsi et al. (2013) รายงานการตรวจพบเชื้อรา *A. niger* บนดอกเห็ดถึง 20 เปอร์เซ็นต์ ของเชื้อราทั้งหมด และมักพบในวัสดุเพาะปลูกจึงยากต่อการป้องกันกำจัด (Metzger, 2008) สำหรับการป้องกันกำจัดเชื้อรา *A. niger* ที่ปฏิบัติกันทั่วไปคือการเลือกก้อนเชื้อเห็ดที่มีความแข็งแรง ไม่มีการปนเปื้อนจากเชื้อสาเหตุโรคราดำและการทำความสะอาดโรงเรือน (Fan et al., 2005) แต่ยังคงพบความเสียหายจากเชื้อรา *A. niger* ภายหลังการเปิดดอกอยู่เสมอ จำเป็นต้องเก็บก้อนเชื้อเห็ดที่เป็นโรคราดำทิ้งสำหรับสารเคมีสังเคราะห์ที่สามารถควบคุมโรคราดำและส่งผลกระทบต่อก้อนเชื้อเห็ดคือ เบนโนมิล (benomyl) และคาร์เบนดาซิม (carbendazim) แต่สารเคมีเหล่านี้เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคและเป็นสารก่อมะเร็งที่สลายตัวยาก สามารถตกค้างในดอกเห็ดได้นาน (Santa Cruz Biotechnology Inc., 2010) การผลิตเห็ดปลอดสารพิษสามารถทำได้โดยการใช้สัณฐานสมุนไพรรักษา เช่น น้ำคั้นกระเทียม ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* (บุญญาคู จิระวุฒิ และคณะ, 2558) สำหรับน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคของเห็ดได้คือน้ำมันหอมระเหยอบเชย ส้มขมิ้น สเปียร์มินต์ และไทม์ (Geösel et al., 2014) นอกจากนี้ Vorapunthu et al. (2016) พบว่ามีน้ำมันหอมระเหยจากอบเชย และสะระแหน่ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus* sp. ได้ดี และ Santos et al. (2017) แสดงให้เห็นว่าน้ำมันหอมระเหยอบเชย กานพลู และไทม์ มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคหลังการติดเชื้อรา *Lecanicillium fungicola* ของเห็ดแชมปิญอง จึงมีความเป็นไปได้สูงที่น้ำมันหอมระเหยเหล่านี้จะสามารถควบคุมโรคราดำของเห็ดนางฟ้าภูฐาน เพื่อลดการสูญเสียผลผลิตเห็ดและความปลอดภัยของผู้บริโภค

วิธีการศึกษา

การเตรียมเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐาน เชื้อสาเหตุโรค และน้ำมันหอมระเหย

เชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐาน: แยกเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐานจากดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานที่มีขนาดใหญ่ โดยการตัดเนื้อเยื่อดอกเห็ดและนำมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการแยกเชื้อเห็ดให้บริสุทธิ์อีกครั้ง โดยตัดบริเวณปลายเส้นใยที่ไม่มีเชื้อจุลินทรีย์อื่นปนเปื้อน จากนั้นย้ายไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน ก่อนเก็บเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

เชื้อสาเหตุโรคราดำ: แยกเชื้อรา *Aspergillus niger* จากก้อนเชื้อเห็ดที่เกิดโรคราดำโดยทำการเจือจางวัสดุเพาะจากก้อนเชื้อเห็ดติดโรคด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อเป็น 10^{-1} - 10^{-3} เท่า ดูดสารแขวนลอยเชื้อเห็ดปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร หยดและเกลี่ย (spread) ให้ทั่วบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์โดยเชื้อราที่เจริญจากหนึ่งสปอร์ (single spore isolation) มาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน ทำการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Diba et al., 2007) ก่อนเก็บเชื้อราไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

น้ำมันหอมระเหย 100 เปอร์เซ็นต์ จากสะระแหน่ (*Mentha cordifolia* Opiz.) กานพลู (*Syzygium aromaticum* L.) อบเชยไทย (*Cinnamomum bejolghota* Sweet) ตะไคร้ (*Cymbopogon citratus* Stapf.) มะนาว (*Citrus aurantifolia* Swing.) และกระเทียม (*Allium sativum* L.) จากบริษัท เคมีภัณฑ์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด

ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราดำ

เจาะชั้นวุ้นเชื้อรา *A. niger* ที่มีอายุ 7 วันด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร แล้วย้ายชั้นวุ้นของเชื้อราวางตรงกลางจานอาหาร PDA บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 วัน จากนั้นจึงนำชั้นกระดาษ (กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ที่ถูกตัดด้วยที่เจาะกระดาษ) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว จุ่มในน้ำมันหอมระเหย ความเข้มข้น 5.0 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ (เจือจางน้ำมันหอมระเหยด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อและเติมสารลดแรงตึงผิวทวิน-20 อัตรา 1.0 เปอร์เซ็นต์) เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีคาร์เบนดาซิม (50% WP) ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ (2.0 กรัม/ลิตร ตามคำแนะนำบนฉลาก) แล้วนำมาวางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อให้ห่างจากปลายเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรค 2.0 เซนติเมตร จำนวน 4 จุด ในแนวกากบาท ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ (ซ้ำละ 3 จานแก้ว) วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design

(CRD) บ่มจานแก้วทดสอบไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน จึงวัดรัศมีโคโลนีของเชื้อรา *A. niger* และคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (ทวิน-20 อัตรา 1.0 เปอร์เซ็นต์) โดยใช้สูตรดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (\%)} = \frac{A - B}{A} \times 100$$

เมื่อ A คือ รัศมีโคโลนีของราสาเหตุโรคในกรรมวิธีควบคุม และ B คือ รัศมีโคโลนีของราสาเหตุโรคในกรรมวิธีทดสอบ
ผลกระทบของน้ำมันหอมระเหยต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐาน

เจาะขึ้นวุ้นเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐาน *Pleurotus pulmonarius* ที่มีอายุ 7 วัน ด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร แล้วย้ายชิ้นวุ้นของเชื้อเห็ดวางตรงกลางจานอาหาร PDA บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน จากนั้นจึงนำขึ้นกระดาษ (กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ที่ถูกตัดด้วยที่เจาะกระดาษ) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว จุ่มในน้ำมันหอมระเหยความเข้มข้น 5.0 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ (เจือจางน้ำมันหอมระเหยด้วยน้ำและเติมสารลดแรงตึงผิวทวิน-20 อัตรา 1.0 เปอร์เซ็นต์) เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีคาร์เบนดาซิม (50% WP) ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ (2.0 กรัม/ลิตร ตามคำแนะนำบนฉลาก) แล้วนำมาวางบนจานเชื้อให้ห่างจากปลายเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรค 2.0 เซนติเมตร จำนวน 4 จุด ในแนวกากบาท ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ (ซ้ำละ 3 จานแก้ว) วางแผนการทดลองแบบ CRD บ่มจานแก้วทดสอบไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน จึงวัดรัศมีเส้นใยของเชื้อเห็ด *P. pulmonarius* และคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (ทวิน-20 อัตรา 1.0 เปอร์เซ็นต์) โดยใช้สูตรข้างต้น

ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยในการควบคุมโรคราดำบนก้อนเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐานในระยะบ่มก้อนเชื้อ

ปลูกเชื้อรา *A. niger* หลังการเติมเชื้อเมล็ดข้าวฟ่างเป็นเวลา 7 วัน โดยฉีดพ่นสารแขวนลอยสปอร์ความเข้มข้น 1×10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 3 มิลลิลิตรต่อก้อน ลงบนก้อนเชื้อบริเวณปากถุง บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นนำน้ำมันหอมระเหย ความเข้มข้น 5.0 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ (เจือจางด้วยน้ำนิ่งที่เติมสารลดแรงตึงผิวทวิน-20 อัตรา 1.0 เปอร์เซ็นต์) ฉีดพ่นลงบนก้อนเชื้อบริเวณปากถุง ปริมาณ 5 มิลลิลิตรต่อก้อน ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ (ซ้ำละ 5 ก้อนเชื้อเห็ด) วางแผนการทดลองแบบ CRD บ่มก้อนเชื้อเห็ดทดสอบต่ออีกเป็นเวลา 14 วัน จึงประเมินพื้นที่การเกิดโรคโดยให้คะแนน 0 ถึง 5 0 คือ ไม่เกิดโรคราดำ, 1 คือ พื้นที่เกิดโรคราดำ 1-20 เปอร์เซ็นต์, 2 คือ พื้นที่เกิดโรคราดำ 21-40 เปอร์เซ็นต์, 3 คือ พื้นที่เกิดโรคราดำ 41-60 เปอร์เซ็นต์, 4 คือ พื้นที่เกิดโรคราดำ 61-80 เปอร์เซ็นต์ และ 5 คือ พื้นที่เกิดโรคราดำ 81-100 เปอร์เซ็นต์ และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในแต่ละกรรมวิธีโดยใช้สูตรดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (\%)} = \frac{\text{Sum (N x S)}}{(T \times M)} \times 100$$

เมื่อ N คือ จำนวนก้อนเห็ดที่ติดโรคในแต่ละระดับคะแนน, S คือ ระดับคะแนนต่าง ๆ (0, 1, 2, 3, 4, 5), T คือ จำนวนก้อนเชื้อทั้งหมดเท่ากับ 5 และ M คือ ระดับคะแนนสูงสุดเท่ากับ 5 (Shah et al., 2013) จากนั้นคำนวณเปอร์เซ็นต์การควบคุมโรคเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (ทวิน-20 อัตรา 1.0 เปอร์เซ็นต์) ตามสูตรดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การควบคุมโรค (\%)} = \frac{A - B}{A} \times 100$$

เมื่อ A คือ การเกิดโรคในกรรมวิธีควบคุม และ B คือ การเกิดโรคในกรรมวิธีทดสอบ

ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยในการควบคุมโรคราดำบนก้อนเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐานในระยะเปิดดอก

เปิดก้อนเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐานแล้วทำการปลูกเชื้อรา *A. niger* บริเวณปากถุงโดยฉีดพ่นสารแขวนลอยสปอร์ความเข้มข้น 1×10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 3 มิลลิลิตรต่อก้อน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน จากนั้นนำน้ำมันหอมระเหยความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ (เจือจางด้วยน้ำนิ่งที่เติมสารลดแรงตึงผิวทวิน-20 อัตรา 1.0 เปอร์เซ็นต์) ฉีดพ่นลงบนก้อนเชื้อบริเวณปากถุง ปริมาณ 6 มิลลิลิตรต่อก้อน ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ (ซ้ำละ 5 ก้อนเชื้อเห็ด) วางแผนการทดลองแบบ CRD บันทึกน้ำหนักสดของผลผลิตต่อก้อนเชื้อเห็ด ในช่วงเวลา 30 วัน ประเมินพื้นที่การเกิดโรคบนก้อนเชื้อเห็ดหลังการเปิดดอกเป็นเวลา 30 วัน คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและคำนวณเปอร์เซ็นต์การควบคุมโรคเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (ทวิน-20 อัตรา 1.0 เปอร์เซ็นต์) ตามสูตรข้างต้น

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance: ANOVA) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ด้วยโปรแกรมสถิติ SPSS เวอร์ชัน 16

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ลักษณะเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐาน เชื้อสาเหตุโรค และน้ำมันหอมระเหย

เชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐานที่แยกได้จากดอกเห็ดตัวอย่าง มีความแข็งแรงและเจริญเติบโตรวดเร็วบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ส่วนเชื้อราดำ *Aspergillus niger* ที่แยกได้จากก้อนเห็ดเกิดโรคมักมีลักษณะสีน้ำตาลของเส้นใยและสปอร์ตรงตามรายงานของ Diba et al. (2007) น้ำมันหอมระเหยสะระแหน่ กานพลู อบเชยไทย มะนาว ตะไคร้ และกระเทียม จากบริษัท เคมีภัณฑ์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด มีความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่มีสารสำคัญคือ menthol, limonene, neomenthol กานพลูมีสารสำคัญคือ eugenol, trans-caryophyllene, alpha-humulene, iso-eugenol และ caryophyllene oxide และอบเชยมีสารสำคัญคือ methyl cinnamate, trans-cinnamaldehyde, 1,8-cineole, limonene, pinene และ camphene ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. niger* ได้ (ภัสสนันท์ หิรัญ และคณะ, 2553) ส่วนน้ำมันหอมระเหย มะนาวประกอบด้วยสารต่าง ๆ ได้แก่ d-limonene, alpha-bergapten, bergapten, terpinen-4-ol, alpha-pinene, geraniol, linalool, terpineol, camphene และ bergapten มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียโรคผิวหนัง น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้มีสารสำคัญ ได้แก่ สาร citral และ myrcene มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราสาเหตุของโรคผิวหนัง เช่น กลาก เกื้อน ได้ และสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยกระเทียม ได้แก่ allicin, allyl sulfide และ allyl disulfide ซึ่งมีฤทธิ์ต้านเชื้อรา *A. niger* (มหาวิทยาลัยมหิดล, 2561)

ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราดำ

ผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใยของเชื้อรา *A. niger* บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า น้ำมันหอมระเหย สะระแหน่ กานพลู อบเชย และมะนาว ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงที่ 89.18, 87.12, 85.64 และ 82.52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าสารเคมีคาร์เบนดาซิม ความเข้มข้น 0.15 เปอร์เซ็นต์ ที่ยับยั้งได้ 80.30 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่ความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ น้ำมันหอมระเหยสะระแหน่ กานพลู อบเชย และมะนาว สามารถยับยั้งได้เท่ากับ 57.75, 48.59, 45.33 และ 41.20 ตามลำดับ ในขณะที่น้ำมันหอมระเหยกระเทียม ความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ มีการยับยั้งต่ำสุดที่ 30.96 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.01$) สอดคล้องกับการทดลองของ Vorapunthu et al. (2016) ที่พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. tubingensis* เมื่อเทียบกับน้ำมันหอมระเหยจากอบเชยและกานพลู ส่วน ธัญญาวิน ชูวัฒนวิรุณ และคณะ (2560) พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากอบเชยความเข้มข้นต่ำที่สุดคือ 25,000 ppm หรือ 2.5 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus* spp. ได้ และน้ำมันหอมระเหยจากกานพลูและอบเชยสามารถยับยั้งเชื้อ *Aspergillus* spp. ได้สูงกว่าน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัส (สายสมร ลำลอง และ พงษ์นรินทร์ ยอดสิงห์, 2559) ส่วนการทดลองนี้พบว่าน้ำมันหอมระเหยสะระแหน่ กานพลู อบเชย มะนาว และตะไคร้ ความเข้มข้น 2.5 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. niger* ได้สูงกว่าน้ำมันหอมระเหยกระเทียม (Table 1 และ Figure 1)

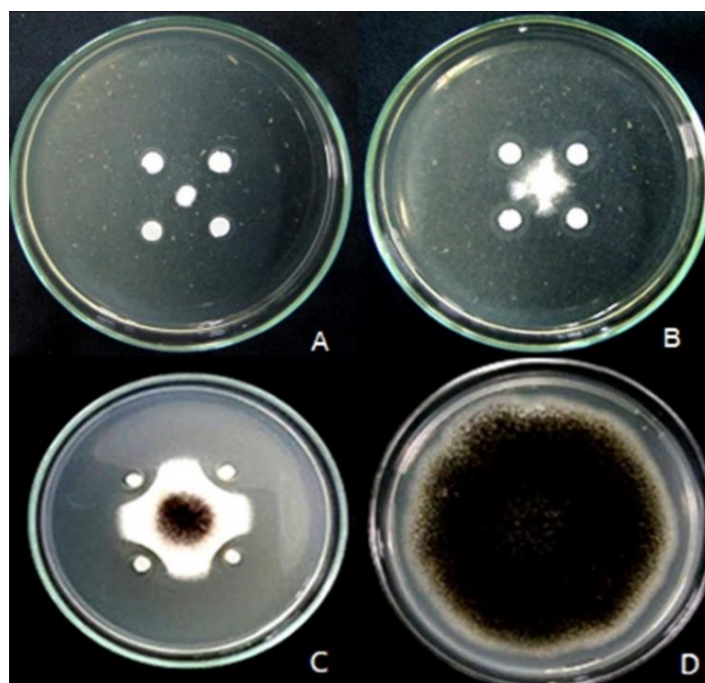
ผลกระทบของน้ำมันหอมระเหยต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐาน

ผลกระทบของน้ำมันหอมระเหยต่อการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐานบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าน้ำมันหอมระเหยสะระแหน่ ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ มีผลกระทบต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐานสูงสุดที่ 32.14 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ น้ำมันหอมระเหยอบเชย ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ และสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม ความเข้มข้น 0.15 เปอร์เซ็นต์ ที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐานเท่ากับ 29.51 และ 27.78 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่น้ำมันหอมระเหยกานพลู มะนาว และกระเทียม มีผลกระทบต่อการยับยั้งเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐานต่ำที่ 17.56, 14.30 และ 11.14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.01$) ส่วนที่ความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ น้ำมันหอมระเหยสะระแหน่ อบเชย ตะไคร้ กานพลู มะนาว และกระเทียม มีผลกระทบต่อการยับยั้งเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐานเท่ากับ 15.97, 13.90, 9.54, 8.66, 7.14 และ 5.28 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 1 และ Figure 2) ซึ่ง Geösel et al. (2014) พบว่าน้ำมันหอมระเหยอบเชยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อโรคสูงแต่ให้ผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดสูง สำหรับ จรงค์ศักดิ์ พุ่มนวน และคณะ (2557) รายงานว่า น้ำมันหอมระเหยจากกานพลู ความเข้มข้น 6.0 เปอร์เซ็นต์ มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดฟาง เห็ดหูหนู และเห็ดหอมในช่วง 20.8-33.8 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในการทดลองนี้ น้ำมันหอมระเหยจากกานพลู ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐานเท่ากับ 17.59 เปอร์เซ็นต์ และ Regnier and Combrinck (2010) พบว่าน้ำมันหอมระเหยตะไคร้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคของเห็ดแชมปิญอง แต่มีผลกระทบต่อการเห็ดประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสาร citral ในตะไคร้เป็นพิษอย่างรุนแรงต่อเชื้อเห็ด

Table 1 Effects of essential oils to inhibit mycelial growth of *Aspergillus niger* black mold and *Pleurotus pulmonarius* mushroom.

Essential oils	Concentration (%)	Growth inhibition of <i>A. niger</i> (%) ^{1/}	Growth inhibition of <i>P. pulmonarius</i> (%) ^{1/}
Kitchen mint (<i>Mentha cordifolia</i>)	5.00	89.18a	32.14a
	2.50	57.75f	15.97f
Clove (<i>Syzygium aromaticum</i>)	5.00	87.12ab	17.56e
	2.50	48.59g	8.66ij
Cinnamon (<i>Cinnamomum bejolghota</i>)	5.00	85.64b	29.51b
	2.50	45.33h	13.90g
Lemon glass (<i>Cymbopogon citratus</i>)	5.00	78.66d	19.07d
	2.50	38.89j	9.54i
Lemon (<i>Citrus aurantifolia</i>)	5.00	82.52c	14.30fg
	2.50	41.20i	7.14j
Garlic (<i>Allium sativum</i>)	5.00	62.25e	11.14h
	2.50	30.96k	5.28k
Carbendazim 50% WP (2.0 g/l)	0.10	80.30cd	27.78c
Control (Tween-20)	1.00	0.00l	0.00l

^{1/} Mean values within the same columns followed by the same letter are not significantly different according to the Duncan's New Multiple Range Test ($P \leq 0.01$).

**Figure 1** Efficacy of essential oils at 5.0% concentration to inhibit mycelial growth of *Aspergillus niger*, (A) kitchen mint, (B) clove, (C) lemon and (D) control.

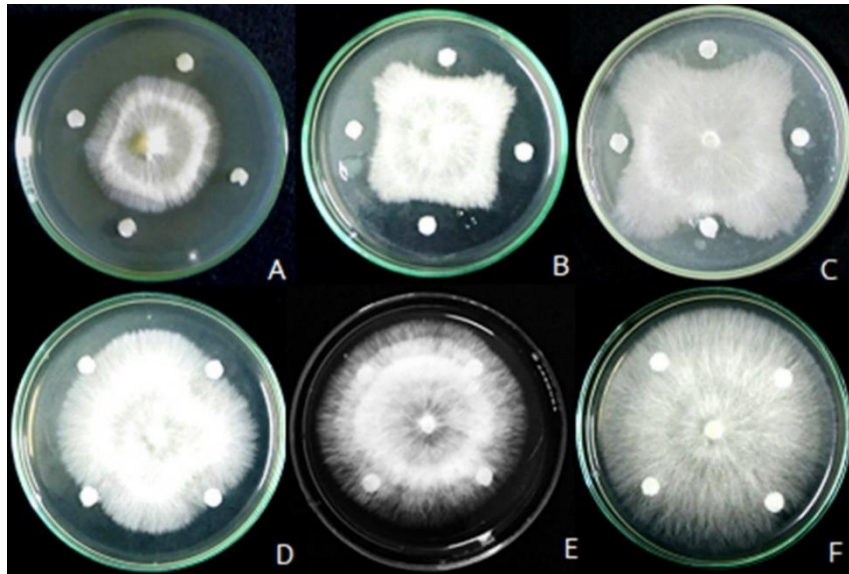


Figure 2 Effects of essential oils at 5% concentration to inhibit mycelial growth of *Pleurotus pulmonarius* mushroom, (A) kitchen mint, (B) cinnamon, (C) lemon grass, (D) lemon, (E) garlic and (F) control.

ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยในการควบคุมโรคคราดำบนก้อนเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐานในระยะบ่มก้อนเชื้อ

ผลการควบคุมโรคคราดำ *A. niger* บนก้อนเชื้อเห็ดในระยะบ่มก้อนเชื้อเห็ด พบว่า น้ำมันหอมระเหยสะระแหน่ ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพสูงสุดที่ 87.04 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ น้ำมันหอมระเหยกานพลู อบเชย และมะนาว ควบคุมโรคคราดำได้เท่ากับ 85.91, 82.56 และ 80.30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 2 และ Figure 3) ซึ่งสูงกว่าการใช้สารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม (50% WP) ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ (2.0 กรัม/ลิตร ตามคำแนะนำบนฉลาก) ที่ควบคุมได้ 78.12 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่ความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่า น้ำมันหอมระเหยสะระแหน่ กานพลู อบเชย มะนาว ตะไคร้ และกระเทียม สามารถควบคุมโรคคราดำได้เพียง 48.25, 43.42, 37.45, 39.33, 36.85 และ 28.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 2) ซึ่ง Santos et al. (2017) แสดงให้เห็นว่า น้ำมันหอมระเหยอบเชย และกานพลู ความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคหลังการติดเชื้อราสาเหตุโรค dry bubble ของเห็ดแชมปิญอง

Table 2 Efficacy of essential oils to control black mold disease of grey oyster mushroom in spawning stage.

Essential oils	Concentration (%)	Black mold control (%) ^{1/}
Kitchen mint (<i>Mentha cordifolia</i>)	5.00	87.04a
	2.50	48.25f
Clove (<i>Syzygium aromaticum</i>)	5.00	85.91ab
	2.50	43.42g
Cinnamon (<i>Cinnamomum bejolghota</i>)	5.00	82.56b
	2.50	37.45i
Lemon glass (<i>Cymbopogon citratus</i>)	5.00	73.12d
	2.50	36.85i
Lemon (<i>Citrus aurantifolia</i>)	5.00	80.30bc
	2.50	39.33h
Garlic (<i>Allium sativum</i>)	5.00	57.48e
	2.50	28.50j
Carbendazim 50% WP (2.0 g/l)	0.10	78.12c
Control (Tween-20)	1.00	0.00k

^{1/} Mean values within the same columns followed by the same letter are not significantly different according to the Duncan's New Multiple Range Test ($P \leq 0.05$).



Figure 3 Effect of essential oils at 5.0% concentration on controlling black mold disease in cropping stage, (A) kitchen mint, (B) clove, (C) garlic, (D) lemon and (E) control.

ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยต่อการควบคุมโรคราดำในโรงเรือนเพาะเห็ด

น้ำมันหอมระเหยสะระแหน่ ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคราดำที่เกิดจาก *A. niger* สูงสุดที่ 82.51 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ การใช้น้ำมันหอมระเหยกานพลู อบเชย และมะนาว ควบคุมโรคได้ที่ 80.74, 78.95 และ 80.88 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 3) ซึ่งสูงกว่าการใช้สารเคมีคาร์เบนดาซิม (50% WP) ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ (2 กรัม/ลิตร ตามคำแนะนำบนฉลาก) สำหรับการให้ผลผลิตเห็ดนางฟ้าในช่วง 30 วัน พบว่า การใช้น้ำมันหอมระเหยมะนาว และกานพลูให้ผลผลิตเห็ดเท่ากับ 155.11 และ 150.96 กรัมต่อก่อน ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าการใช้สารเคมีคาร์เบนดาซิม ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ที่ให้ผลผลิตเท่ากับ 140.25 กรัมต่อก่อน ในขณะที่กรรมวิธีที่ควบคุม (ทวิน-20) ให้ผลผลิตเท่ากับ 104.00 กรัมต่อก่อน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 3) ทั้งนี้เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยมะนาวและกานพลู มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. niger* สูง และส่งผลกระทบต่ออาการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐาน ต่ำกว่าน้ำมันหอมระเหยสะระแหน่ อบเชย ตะไคร้ และสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม ซึ่ง Regnier and Combrinck (2010) พบว่า น้ำมันหอมระเหยที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคของเห็ดสูง และมีผลกระทบต่อเชื้อเห็ดต่ำ มีแนวโน้มให้ผลผลิตเห็ดสูงกว่าการควบคุมโรคโดยใช้สารกำจัดเชื้อรา

Table 3 Effect of essential oils at 5.0% concentration on controlling black mold disease and the yield of grey oyster mushroom during 30 days in cropping stage.

Essential oils	Black mold control (%) ^{1/}	Yields (g per bag) ^{1/}
Kitchen mint (<i>Mentha cordifolia</i>)	82.51a	137.78d
Clove (<i>Syzygium aromaticum</i>)	80.74ab	150.96b
Cinnamon (<i>Cinnamomum bejolghota</i>)	78.95b	138.89d
Lemon glass (<i>Cymbopogon citratus</i>)	75.56c	120.67e
Lemon (<i>Citrus aurantifolia</i>)	77.88b	155.11a
Garlic (<i>Allium sativum</i>)	59.55d	116.22f
Carbendazim 50% WP (2.0 g/l with 0.1% c.)	74.48c	140.25c
Control (Tween-20 at 1.0% c.)	0.00e	104.00g

^{1/} Mean values within the same columns followed by the same letter are not significantly different according to the Duncan's New Multiple Range Test ($P \leq 0.05$).

สรุปผลการศึกษา

น้ำมันหอมระเหยจากานพลูและมะนาว ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรคราดำของเห็ดนางฟ้าภูฐานที่เกิดจากเชื้อรา *Aspergillus niger* และเนื่องจากน้ำมันหอมระเหยจากานพลูและมะนาวส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐานต่ำ จึงให้ผลผลิตเห็ดที่สูงกว่าการใช้สารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาทดลองกับเชื้อสาเหตุโรคของเห็ดชนิดอื่น ๆ เพื่อให้เกิดความคุ้มค่าในการนำไปใช้ควบคุมโรคเห็ดได้หลากหลายขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- จรงค์ศักดิ์ พุ่มนวน, กนิษฐา บุญนาค, ธนาภรณ์ ดวงภา, พรหมมาศ คุณกาญจน์ และอำมร อินทร์สังข์. 2557. ผลของน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอม กานพลู และโหระพาต่อการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดฟาง เห็ดหูหนู และเห็ดหอม. *แก่นเกษตร* 42(3) (พิเศษ): 876-881.
- ธัญญาวาริน ชูวัฒนวรกุล, พิษณุภรณ์ สุวรรณกฎ, สมจินตนา ทวีพานิชย์ และสายสมร ล้าลอง. 2560.ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราของน้ำมันหอมระเหยอบเชยต่อเชื้อรา *Penicillium citrinum* และ *Aspergillus flavus* ที่แยกได้จากยางแผ่นในพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานี.
- วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม 36(3): 392-398.
- บุญญวดี จิระวุฒิ, เนตรา สมบูรณ์แก้ว, สุพี วนศิริกุล, อัศวพร ศรีจุฑา และอมรา ชินภูติ. 2558. การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* และลดปริมาณสารแอฟลาทอกซินโดยสารออกฤทธิ์จากกระเทียม. *วารสารวิชาการเกษตร* 33(1): 15-28.
- ภัสชนันท์ หิรัญ, อรพิน เกิดชูชื่น และณัฏฐา เลหากุลจิตต์. 2553. การยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus* spp. โดยน้ำมันหอมระเหยจากานพลูและอบเชย. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร* 41(พิเศษ): 21-24.
- มหาวิทยาลัยมหิดล. 2561. พืชสมุนไพร. <http://www.medplant.mahidol.ac.th/pubhealth/allium.html> (10 เมษายน 2562).
- สายสมร ล้าลอง และพงษ์นรินทร์ ยอดสิงห์. 2559. การใช้ น้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทยในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่พบบนแผ่นยางพารา. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี* 18(1): 30-38.
- Diba, K., Kordbacheh, P., Mirhendi, S. H., Rezaie, S., and Mahmoudi, M. 2007. Identification of *Aspergillus* 227 species using morphological characteristics. *Pakistan Journal of Medical Sciences* 23(6): 867-872.
- Fadahunsi, I., Ayansina, D., and Okunrotifa, A. 2013. Biocontrol of mushroom spoilage fungi and aflatoxin evaluation during storage. *Nature and Science* 11(7): 7-13.
- Fan, L., Pan, H., Wu, Y., and Kwon, H. 2005. Pest and disease management in Shiitake bag cultivation. *Mushroom Growers Handbook 2-Shiitake cultivation*. <http://www.fungifun.org/mushworld/Shiitake-Mushroom-Cultivation> (5 January 2016).
- Geösel, A., Szabó, A., Akan, O., and Szarvas, J. 2014. Effect of essential oils on mycopathogens of *Agaricus bisporus*. In *Proceedings of the 8th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products (ICMBMP8)*, M. Singh, ed. Vol. I & II, pp.530-535. New Delhi: ICAR-Directorate of Mushroom Research.
- Metzger, B. 2008. *Aspergillus niger* Tiegh. In *Mushroom Observer*. http://mushroomobserver.org/name/show_name/15030?_js=on&_new=true (16 May 2016).
- Regnier, T., and Combrinck, S. 2010. *In vitro* and *in vivo* screening of essential oils for the control of wet bubble disease of *Agaricus bisporus*. *South African Journal of Botany* 76: 681-685.
- Santa Cruz Biotechnology, Inc. 2010. Carbendazim. Material safety data sheet. <http://datasheets.scbt.com/sc-211014.pdf> (4 January 2016).
- Santos, T. L., Belan, L. L., Zied, D. C., Dias, E. S., and Alves, E. 2017. Essential oils in the control of dry bubble disease in white button mushroom. *Crop Protection* 47(5): 1-7.
- Shah, S., Nasreen, S., and Kousar, S. 2013. Efficacy of fungicides against *Trichoderma* spp. causing green mold disease of oyster mushroom (*Pleurotus sajor-caju*). *Research Journal of Microbiology* 8(1): 13-24.
- Soares, C., Calado, T., and Venâncio, A. 2013. Mycotoxin production by *Aspergillus niger* aggregate strains isolated from harvested maize in three Portuguese regions. *Revista Iberoamericana de Micologia* 30(1): 9-13.
- Vorapunthu, S., Nuangmek, W., Suwannarach, N., and Pithakpol, W. 2016. Efficiency of fumigation with volatile from clove, cinnamon and pepper mint essential oil on fungi growth inhibition of water hyacinth handicraft product. *Khon Kaen Agriculture Journal* 44(Supplement): 205-211.

วันรับบทความ (Received date) : 14 เม.ย. 62

วันแก้ไขบทความ (Revised date) : 23 มิ.ย. 62

วันตอบรับบทความ (Accepted date) : 12 พ.ย. 62