เชื้อราเอนโดไฟท์จากพื้นที่ชายฝั่ง อ.ท่าใหม่ จ.จันทบุรี: กิจกรรมการควบคุมการเจริญของเชื้อราที่สร้างสารไมโคทอกซิน

Mangrove endophytic fungi from costal area of Thamai, Chanthaburi: antagonistic activities in vitro against mycotoxigenic fungi

สุพรรณิการ์ สมใจเพ็ง[1*] และ ปัณฑิตา ทาเอื้อ[1]

Supunnika Somjaipeng[1*] and Panthita Ta-uea[1]

บทคัดย่อ: ราเอนโดไฟท์หลายชนิดสามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในพืชและช่วยป้องกันพืชอาศัยดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะสามารถคัดแยกเชื้อราที่มีกิจกรรมที่เป็นปฏิปักษ์จากพืชตัวอย่าง วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาศักยภาพของเชื้อราเอนโดไฟท์ต่อการควบคุมการเจริญของเชื้อราที่สร้างสารไมโคทอกซิน *Aspergillus* sp. (6 ไอโซเลท) และ *Penicillium* sp. (8 ไอโซเลท) ที่คัดแยกได้จากเมล็ดข้าว เมื่อทำการทดสอบการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่คัดแยกได้จากพืชป่าชายเลนต่อการควบคุมการเจริญของเชื้อราที่สร้างสารไมโคทอกซินด้วยวิธี dual-culture พบว่ามีเพียง 6 ไอโซเลทที่มีกิจกรรมการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ โดยส่วนมากมีการเจริญปกคลุมเชื้อราทดสอบ ส่งผลให้อัตราการเจริญของเส้นใยและพื้นที่เส้นใยของเชื้อราทดสอบลดลง การเจริญของเส้นใยเฉลี่ยของเชื้อรา *Aspergillus* sp. ลดลงมากกว่า 65% และในเชื้อรา *Penicillium* ประมาณ 50% โดยเชื้อราเอนโดไฟท์ E-49 เป็นเชื้อราปฏิปักษ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Penicillium* sp. P-3 ได้ 73.43% และเชื้อราเอนโดไฟท์ E-56 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Aspergillus* sp. A-6 ได้ 77.13%

คำสำคัญ: การควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี, การยับยั้งการเจริญ, ข้าว, ราเอนโดไฟท์, *Aspergillus*, *Penicillium*

ABSTRACT: As fungal endophytes have been reported as producers of anti-phytopathogenic substances defending its host against parasites, thus the screening of fungal endophytes with antagonistic activity is possible. The objective in this study was to investigate the biological control potential of endophytic fungi against mycotoxigenic *Aspergillus* sp. (6 isolates) and *Penicillium* sp. (8 isolates). All isolated of endophytic fungi were examined for antagonistic effects against mycotoxigenic fungi in dual-culture assays, only 6 isolates exhibited antagonistic activity. These showed that most of mycotoxigenic fungi is intermingled and overgrown by antagonist candidates, which in turn decreased the radial growth rate and total hypha area of mycotoxigenic fungi significantly. An average reduction in growth of *Aspergillus* sp. was observed up to 65% whereas *Penicillium* sp. was inhibited by 50%. Endophytic fungi E-49 exhibited an antagonism against *Penicillium* sp. P-3, by 73.43% where isolate E- 56 resulted in 77.13% growth inhibition of *Aspergillus* sp. A-6.

Keywords: *Aspergillus*, biocontrol, endophytic fungi, growth inhibition, *Penicillium*, rice

[1] สาขาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และศิลปศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี จันทบุรี
Division of Agricultural Technology, Faculty of Science and Arts Burapha University, Chanthaburi Campus, Chanthaburi

* Corresponding author: supunnika@buu.ac.th

บทนำ

จากการเปลี่ยนแปลงรูปแบบการผลิตพืชอาหารเป็นแบบระบบอินทรีย์ เพื่อมุ่งเน้นให้ได้พืชวัตถุดิบในการผลิตอาหารที่ปลอดภัยตรงกับความต้องการของผู้บริโภคที่เพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้การศึกษาและการพัฒนาเกี่ยวกับชีวภัณฑ์ควบคุมศัตรูพืชเพิ่มขึ้นเป็นอย่างมากมาโดยตลอด เพื่อควบคุมโรคและแมลงที่อาจเกิดขึ้นได้ทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวโดยไม่ใช้สารเคมี การปนเปื้อนของเชื้อราในพืชอาหารหลักเป็นหนึ่งในปัญหาที่ประเทศในเขตร้อนเช่นประเทศไทยพบมาโดยตลอด และก่อให้เกิดปัญหาทั้งทางด้านคุณภาพของพืชอาหาร สุขภาพของผู้บริโภคและเศรษฐกิจได้ โดยเชื้อราในสกุล *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. และ *Fusarium* sp. เป็นเชื้อราสกุลหลักที่มีรายงานการตรวจพบในพืชอาหารหลักหลายชนิด เช่นข้าวโพด ถั่วลิสง ข้าวสาลี และข้าว และเป็นที่ทราบกันดีว่าเชื้อราทั้ง 3 สกุลนี้เป็นกลุ่มเชื้อราที่มีบทบาทสำคัญ มีความสามารถสร้างสารไมโคทอกซินได้หลายชนิดที่มีผลต่อสัตว์มีกระดูกสันหลังรวมทั้งคนถึงแม้จะได้รับในความเข้มข้นต่ำก็ตาม (สุพรรณิการ์ และ ปัณฑิตา, 2559; Tonon et al., 1997; Trung et al., 2001; Park et al., 2005; Makun et al., 2007; Nguyen et al., 2007) ดังนั้นหนึ่งในวิธีที่จะช่วยลดการปนเปื้อนของสารไมโคทอกซินในพืชอาหารคือการลดการเจริญของเชื้อราที่สร้างสารไมโคทอกซินในพืชอาหาร ซึ่งสามารถทำได้หลายวิธีรวมถึงการใช้เชื้อจุลินทรีย์เช่นเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราเป็นเชื้อปฏิปักษ์ในการควบคุมการเจริญ (Palumbo et al., 2010; Tsitsigiaanis et al., 2012; Thanh et al., 2014; Samsudin and Magan, 2016)

เชื้อราเอนโดไฟท์เป็นเชื้อราที่มีการศึกษาอย่างมากและมีการประยุกต์ใช้ในหลายด้าน เนื่องจากมีความสามารถในการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้หลายชนิดเช่นสารต้านมะเร็ง เอนไซม์ และสารต้านจุลชีพเป็นต้น (Petrini et al., 1992; Tan and Zou, 2001; Kumala et al., 2007; Gangadevi and Muthumary, 2008; Li et al., 2008; Kumaran et al., 2008) นอกจากนี้ยังมีการประยุกต์ใช้เชื้อราเอนโดไฟท์ในการเกษตรด้วยเช่น ช่วยสนับสนุนการเจริญเติบโตของพืช การเพิ่มผลผลิต การเพิ่มความสามารถในการต้านทางความเครียดทางกายภาพ และการควบคุมโรคพืชด้วยชีววิธี (Redman et al., 2001; Waller et al., 2005; Shankar-Naik et al., 2009; Abdul Latif et al., 2011; Waqas et al., 2012; Khan et al., 2013; Radhakrishnan et al., 2013; Villamizar-Gallardo et al., 2017)

พื้นที่ชายฝั่งในเขตศูนย์การศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบน จ.จันทบุรี เป็นพื้นที่ที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง จึงมีรายงานเกี่ยวกับการคัดแยกจุลินทรีย์และเชื้อราเอนโดไฟท์จากพืชป่าชายเลนในพื้นที่ดังกล่าวอย่างต่อเนื่อง (Chaneprasert, 2009; Khrueayu and Pilantanapak, 2012; Tanakulpakorn et al., 2012) แต่พบว่ามีข้อมูลค่อนข้างน้อยเกี่ยวกับการศึกษาการใช้เชื้อราเอนโดไฟท์ที่คัดแยกได้จากพื้นที่ป่าชายเลนนี้ เพื่อเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ในการควบคุมการเจริญของเชื้อราที่สร้างสารไมโคทอกซิน ดังนั้นจึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจที่งานวิจัยนี้จะศึกษาถึงศักยภาพของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่คัดแยกได้จากพืชป่าชายเลนในพื้นที่ดังกล่าวเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำไปใช้ในการศึกษาเกี่ยวกับชีวภัณฑ์ควบคุมศัตรูพืชอื่นต่อไป วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่คัดแยกได้จากพืชป่าชายเลนต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราที่สร้างสารไมโคทอกซิน *Aspergillus* sp. และ *Penicillium* sp. ที่คัดแยกได้จากเมล็ดข้าวเปลือก

วิธีการศึกษา

การคัดแยกเชื้อราเอนโดไฟท์

เชื้อราเอนโดไฟท์ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ได้จากการคัดแยกเชื้อราจากตัวอย่างพืชป่าชายเลนจากศูนย์การศึกษาและพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบน อ.ท่าใหม่ จ.จันทบุรี (N 12° 34.283 E 101° 54.017) จากพืชตัวอย่างทั้งหมด 19 สปีชีส์ 14 วงศ์โดยนำตัวอย่างพืชป่าชายเลนที่ได้ทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยน้ำประปาเพื่อกำจัดสิ่งสกปรกที่ติดมา กำจัดใบทิ้งและตัดกิ่งพืชตัวอย่างให้มีขนาดความยาวประมาณ 10 เซนติเมตร ทำการฆ่าเชื้อที่ผิวพืชในสภาวะปลอดเชื้อโดยทำการจุ่มกิ่งพืชตัวอย่างในสารละลายเอทานอลเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 5 วินาที หลังจากนั้นล้างกิ่งตัวอย่างด้วยน้ำกลั่น 1-2 นาที (3 รอบ) (Kumaran et al; 2009) ทำการตัดตัวอย่างพืชให้มีขนาดท่อนสั้นมีความยาวประมาณ 1 เซนติเมตรและตัดตามแนวยาวโดยใช้ใบมีดที่ฆ่าเชื้อแล้ว นำชิ้นตัวอย่างพืชที่ได้วางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA (malt extract agar) บ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 25°C ตรวจสอบ

การเจริญของเส้นใยเชื้อราเอนโดไฟท์ที่เจริญออกมาจากพืชตัวอย่างทุกวัน แยกปลายเจริญของเส้นใยเชื้อราเอนโดไฟท์โดยดูจากความแตกต่างทางสัณฐานวิทยา นำมาเลี้ยงลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA ใหม่เพื่อให้ได้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ ทำการกำหนดหมายเลขและเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

สายพันธุ์เชื้อราที่สร้างสารไมโคทอกซิน

เชื้อราที่สร้างสารไมโคทอกซินที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้คือเชื้อรา *A. flavus* จำนวน 6 สายพันธุ์ (A-4, A-6, A-7, A-17, A-20 และ A-23) เชื้อรา *Penicillium* sp. จำนวน 8 สายพันธุ์ (P-1, P-2, P-3, P-13, P-19, P-24, P-25 และ P-29) ที่คัดแยกได้จากเมล็ดข้าวในเขต จ. จันทบุรี, จ. ตราด และ จ.นครราชสีมา

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเอนโดไฟท์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่สร้างสารไมโครทอกซิน

การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่คัดแยกนี้ใช้วิธี dual culture โดยเชื้อเริ่มต้นของเชื้อราเอนโดไฟท์และเชื้อราที่สร้างสารไมโคทอกซินที่ใช้ในการศึกษาเตรียมได้โดย เพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหาร MEA บ่มที่ 30°C เป็นเวลา 7 วัน ใช้ cork borer ที่ฆ่าเชื้อแล้วเจาะอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเส้นใยเชื้อราเจริญนำ mycelium agar plug ที่ได้ (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5 มม.) วางลงบนอาหารอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA โดยให้เชื้อราทดสอบวางห่างกัน 4 เซนติเมตร และวางห่างจากด้านข้างของจานเพาะเลี้ยงประมาณ 2 เซนติเมตร ชุดควบคุมมีเฉพาะ agar plug ของเชื้อราที่สร้างสารไมโคทอกซินเพียงอย่างเดียว บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 7 วัน ทำจำนวน 3 ซ้ำ ทำการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางใน 2 ทิศทางทุกวันเพื่อคำนวณหาค่ารัศมีของโคโลนีเชื้อราที่ทำการทดสอบ โดยอัตราการเจริญของเส้นใยในแนวรัศมีคำนวณได้จากสมการถดถอยเชิงเส้น (Lahlai et al., 2006) และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใย (percent inhibition of radial growth: PIRG) คำนวณได้จาก

$$PIRG\,(\%) = \frac{R_1 - R_2}{R_1} \times 100$$

เมื่อ R_1 คือรัศมีของเส้นใยเชื้อราที่สร้างสารไมโคทอกซินในชุดควบคุม, R_2 คือรัศมีของเส้นใยเชื้อราที่สร้างสารไมโคทอกซินในชุดทดสอบที่มีการเจริญร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม Minitab 16 (Minitab, Inc., USA) เมื่อข้อมูลที่ได้จากการทดลองมีการกระจายของข้อมูลแบบปกติจะทำการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) และใช้วิธีการทดสอบแบบ Tukey's multiple comparison test เพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย

ผลการศึกษา

จากตัวอย่างพืชป่าชายเลนทั้งหมด 19 สปีชีส์ 14 วงศ์ สามารถคัดแยกเชื้อราเอนโดไฟท์ได้ทั้งหมด 62 ไอโซเลท ชนิดพืช และชนิดวงศ์มีผลต่อจำนวนของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่คัดแยกได้ ($P<0.05$) โดยต้นหยีทะเล (*Derris indica* Lamk. Benn.) เป็นพืชตัวอย่างที่สามารถคัดแยกเชื้อราเอนโดไฟท์ได้มาก จากการคัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟท์ที่มีความสามารถเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ต่อเชื้อราที่สร้างสารไมโคทอกซินทั้งสองสกุล *Aspergillus* sp. และ *Penicillium* sp. เบื้องต้นพบว่ามีเพียง 6 ไอโซเลทที่มีความสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรามากกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่คัดแยกได้เบื้องต้นทั้งหมด 6 ไอโซเลท (E-3, E-14, E-24, E-34, E-49 และ E-56) ต่อความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราที่สร้างสารไมโคทอกซิน *Aspergillus* sp. จำนวน 6 ไอโซเลท และ *Penicillium* sp. จำนวน 8 ไอโซเลท ด้วยวิธี dual culture (Figure 1) เชื้อราที่สร้างสารไมโทคทอกซินทั้งสองสกุลถูกยับยั้งการเจริญของเส้นใยในระดับที่แตกต่างกัน ($P<0.05$)

เชื้อราเอนโดไฟท์แต่ละไอโซเลทมีความสามารถในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อแต่ละสายพันธุ์ของเชื้อราที่ทดสอบแตกต่างกัน โดยพบว่าเชื้อราเอนโดท์ E-49 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Penicillium* sp. P-3 ได้สูงสุดเท่ากับ 73.43%ส่วนเชื้อราเอนโดไฟท์ E-56 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Aspergillus* sp. A-6 ได้สูงที่สุดเท่ากับ 77.13% (Figure 2) และเมื่อรวมข้อมูลเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. ไม่ว่าจะเป็นไอโซเลทใดก็ตามสามารถถูกยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ง่าย (PIRG=65%) เมื่อ

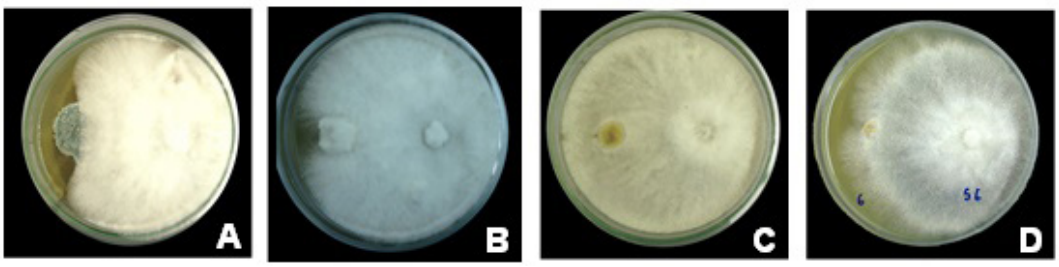

Figure 1 Dual-culture assays showing colony interactions of mycotoxigenic *Aspergillus* sp. and *Penicillium* sp. and antagonists candidates. (A) *Penicillium* sp. P-3 vs E-24, (B) *Aspergillus* sp. A-7 vs E-34, (C) *Aspergillus* sp. A-17 vs E-4 and (D) *Aspergillus* sp. A-6 vs E-56.

เปรียบเทียบกับเชื้อรา *Penicillium* sp. (PIRG=50%) เชื้อราเอนโดไฟท์ E-56 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus* sp. มากที่สุดไม่ว่าจะเป็นสายพันธุ์ใดก็ตาม (P>0.05) ในขณะที่การเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Penicillium* sp. ถูกยับยั้งได้ง่ายโดยเชื้อราเอนโดไฟท์ E-49 (P>0.05) (Figure 3) เมื่อศึกษาเปรียบเทียบระหว่างอัตราการเจริญรวมของเชื้อราที่สร้างสารไมโคทอกซินชุดควบคุม และที่มีการเจริญร่วมกับเชื้อราเอนโดไฟท์ปฏิปักษ์ พบว่าอัตราการเจริญรวมของเส้นใยเชื้อราที่สร้างสารไมโคทอกซินทั้ง *Aspergillus* sp. และ *Penicillium* sp. ที่มีการเจริญร่วมกับเชื้อราเอนโดไฟท์ปฏิปักษ์มีความแตกต่างกันกับจากชุดควบคุม (P<0.05) โดยเชื้อราเอนโดไฟท์ E-56 ทำให้อัตราการเจริญรวมของเส้นใยเชื้อรา *Aspergillus* sp. ต่ำที่สุด (1.29±0.80 mm/d; P>0.05) และเชื้อราเอนโดไฟท์ E-49 ทำให้อัตราการเจริญรวมของเส้นใยเชื้อรา *Penicillium* sp. ต่ำที่สุด (1.94±0.43 mm/d; P>0.05) จากข้อมูลพื้นที่เส้นใยของเชื้อราที่สร้างสารไมโคทอกซินในชุดควบคุม และเมื่อมีการเจริญร่วมกับเชื้อราเอนโดไฟท์ปฏิปักษ์ (Figure 4) พบว่าเป็นไปในทิศทางเดียวกันโดยมีความแตกต่างกับชุดควบคุม (P<0.05) เชื้อราเอนโดไฟท์ E-56 เมื่อเจริญร่วมเชื้อรา *Aspergillus* sp. และเชื้อรา *Penicillium* sp. พบว่าสามารถลดขนาดพื้นที่เส้นใยโดยเฉลี่ยมากที่สุด

สรุปและวิจารณ์

การคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพเป็นเชื้อปฏิปักษ์ในการควบคุมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โดยใช้เทคนิค dual-culture assays มีมาอย่างยาวนานโดยเฉพาะอย่างยิ่งในการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นปฏิปักษ์กับเชื้อราที่ปนเปื้อนในอาหาร (Pana et al., 2004; Magan and Aldred, 2007; Ekundayo et al., 2015) รวมทั้งการศึกษาในครั้งนี้ด้วยเช่นกันที่ต้องการคัดแยกเชื้อราเอนโดไฟท์

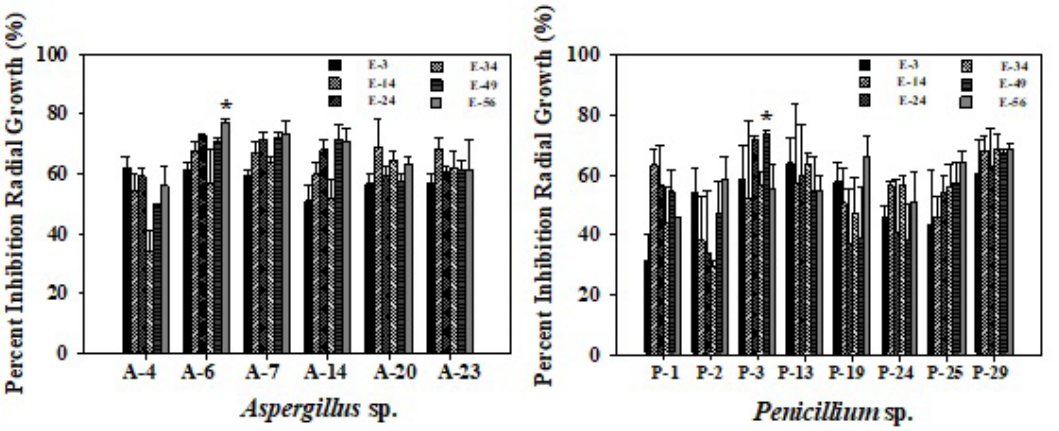

Figure 2 Antagonistic potential of endophytic fungi isolates against mycotoxigenic fungi on MEA.

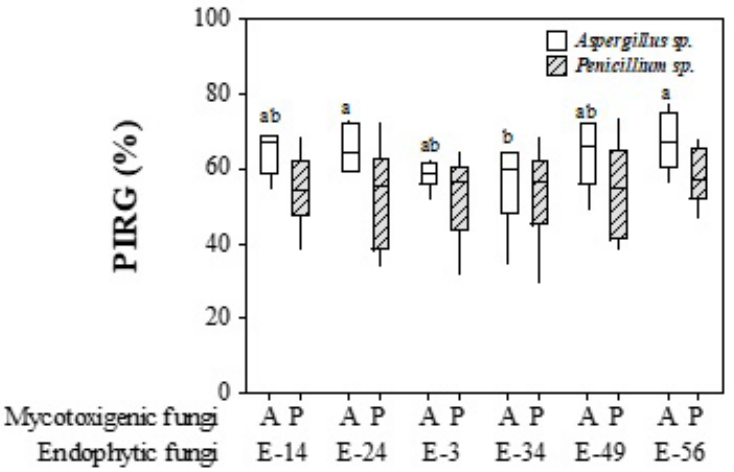

Figure 3 Box plot shows the percent inhibition radial growth of combined data of *Aspergillus* sp. (A) and *Penicillium* sp. (P) in the response to the antagonists fungal endophytes (E). Boxes labelled with the different letter indicate significant difference following Tukey's multiple comparison test.

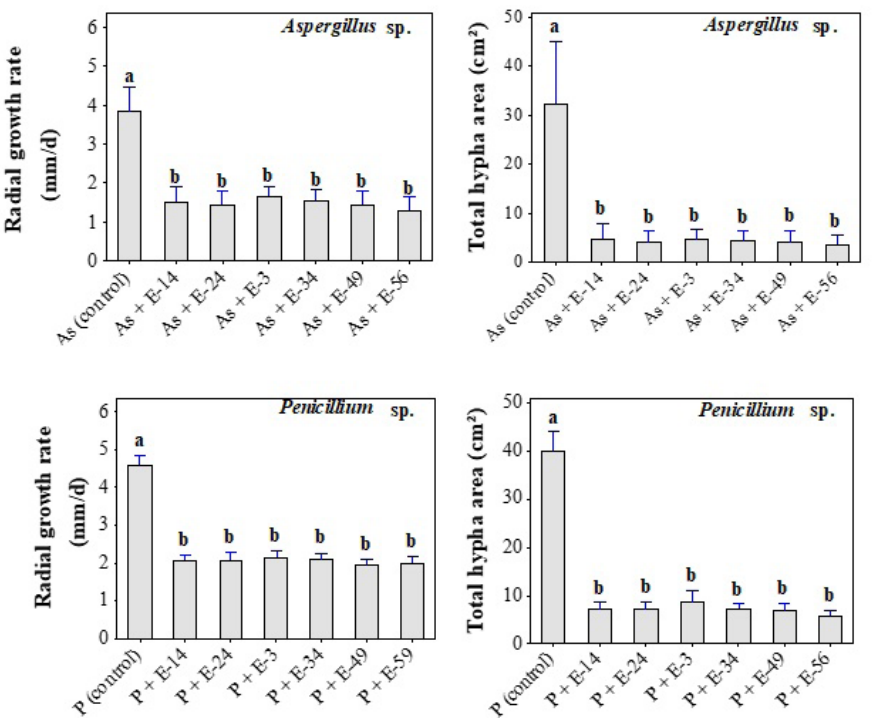

Figure 4 The radial growth rates (mm/day) and total hypha area (cm^2) of combined data *Aspergillus* sp. (As) and *Penicillium* sp. (P) co-cultivated with the antagonist fungal endophytes (E) at 30°C (0.99 a_w) on MEA. Bars indicate standard error. Different letters indicate significant difference ($P<0.05$) by Tukey's multiple comparison test.

ที่มีความสามารถเป็นเชื้อปฏิปักษ์ในการควบคุมการเจริญของเชื้อราที่สร้างสารไมโคทอกซินที่คัดแยกได้จากเมล็ดข้าว การใช้ข้อมูลทั้งอัตราการเจริญเติบโตของเส้นใย และพื้นที่ของเส้นใยเชื้อราที่สร้างสารไมโคทอกซิน (*Aspergillus* sp. และ *Penicillium* sp.) พบว่ามีความเป็นไปได้ที่จะสามารถบอกถึงศักยภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ เพื่อดูว่าสามารถลดอัตราการเจริญของเส้นใยและพื้นที่ของเส้นใยได้หรือไม่และอาจจะสามารถลดหรือควบคุมการสร้างสารไมโคทอกซินได้ด้วย และจากผลที่ได้จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการใช้ข้อมูลเกี่ยวกับอัตราการเจริญของเส้นใยร่วมกับข้อมูลพื้นที่เส้นใยเชื้อรา สามารถช่วยเพิ่มความเข้าใจเกี่ยวกับประสิทธิภาพของเชื้อปฏิปักษ์ในการควบคุมอัตราการการเจริญของเชื้อราให้มากยิ่งขึ้น รวมทั้งช่วยในการตัดสินใจในการเลือกใช้เชื้อราปฏิปักษ์ได้ดีมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เฉพาะค่า PIRG เพียงอย่างเดียว โดยรูปแบบของปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราเอนโดไฟท์ปฏิปักษ์ที่คัดแยกได้กับเชื้อราที่สร้างสารไมโคทอกซินที่พบมากที่สุดในการศึกษานี้คือ เชื้อราปฏิปักษ์มีการเจริญของเส้นใยปกคลุมเชื้อราที่ต้องการควบคุม โดยที่อัตราการเจริญของเชื้อราปฏิปักษ์ไม่เปลี่ยนแปลงหรือลดลงเมื่อเจริญบนโคโลนีของเชื้อราทดสอบ (dominance of one species upon contact ; Index of dominance = 4/0) (Magan and Lacey, 1984; Ramarkrishna et al., 1993; Fakhrunnisa et al., 2006; Magan and Aldred, 2007) ซึ่งเป็นอีกรูปแบบปฏิสัมพันธ์ที่เชื้อปฏิปักษ์ใช้ในการตอบสนองเมื่อมีการเจริญร่วมกับเชื้อราทดสอบ ซึ่งสามารถเปลี่ยนแปลงไปตามการเปลี่ยนแปลงปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมเช่น อุณหภูมิและ a_w (Magan et al., 2010; Giorni et al., 2014) กลไกที่เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ใช้ในการควบคุมการเจริญของเชื้อราที่สร้างสารไมโคทอกซินมีด้วยกันหลายแบบเช่น การสัมผัสกันระหว่างเส้นใยของเชื้อรา การแย่งใช้สารอาหาร การสร้างสารยับยั้งการเจริญ (Adejumo et al., 1999; Keininger et al., 1999; Kullnig et al., 2000; Thanaboripat, 2002; Brunner et al., 2003; Dorner et al., 2003; Damann, 2014) อัตราการเจริญของเชื้อราปฏิปักษ์เพียงอย่างเดียวไม่ได้เป็นเกณฑ์พิจารณาหลักต่อความสามารถในการแข่งขัน แต่ยังมีปัจจัยอื่นที่มีผลด้วย เช่นอิทธิพลร่วมของสภาวะแวดล้อมเช่น water activity (a_w) อุณหภูมิ pH รวมทั้งการใช้สารอาหารหลัก (Magan et al., 2003; Pana et al., 2004; Magan and Aldred, 2007; Giorni et al., 2009; Giorni et al., 2014; Ekundayo et al., 2015; Medina et al., 2017) เช่นการใช้เชื้อยีสต์เป็นเชื้อปฏิปักษ์ในการควบคุมการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus* section *Flavi* พบว่าเชื้อยีสต์สามารถแข่งขันกับเชื้อราได้เนื่องจากสามารถเจริญที่สภาวะที่ a_w และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญและการสร้างสารอะฟลาทอกซินของเชื้อรา (Gqaleni et al., 1996) หรือแม้กระทั่งการเปลี่ยนแปลงค่า a_w สามารถส่งผลต่อรูปแบบการตอบสนองต่อของเชื้อปฏิปักษ์ต่อเชื้อราที่ต้องการควบคุมด้วยเช่นกัน (Penna et al., 2004) เชื้อรา *A. flavus* ที่ใช้ในการทดลองนี้มีสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญที่อุณหภูมิ 30°C และที่ 0.95 a_w (Somjaipeng and Ta-uea, 2016) หากมีการเปลี่ยนแปลงอุณภูมิและ a_w มีความเป็นไปได้ว่ารูปแบบการตอบสนองของเชื้อราปฏิปักษ์อาจเปลี่ยนแปลงไปจากผลการทดลองที่ได้ ทั้งนี้สภาวะที่ใช้ในการทดลองมีระดับ a_w (0.99 a_w) แตกต่างจากค่า a_w ที่เหมาะสมในการเจริญและการสร้างสารไมโคทอกซิน ซึ่งโดยทั่วไปเชื้อรา *A. flavus* จะสามารถเจริญได้ช่วง a_w ที่กว้างและทนต่อ a_w ต่ำได้ ดังนั้นในการคัดเลือกเชื้อปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพจำเป็นต้องมีการพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมซึ่งจะทำให้ได้ผลการตอบสนองที่ดีเมื่อมีการนำไปประยุกต์ใช้ในสภาวะจริง

โดยสรุปแล้วการศึกษาในครั้งนี้นอกจากจะเป็นการคัดแยกเชื้อราเอนโดไฟท์ที่มีกิจกรรมของเชื้อราปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Aspergillus* sp. และ *Penicillium* sp. ที่สร้างสารไมโคทอกซินที่พบในเมล็ดข้าวเปลือกแล้ว ยังมีการทดสอบการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเอนโดไฟท์ในการยับยั้งการเจริญเชื้อราทดสอบ จากความรู้ที่ได้สามารถรวบรวมเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการจัดการเพื่อลดความเสี่ยงของการปนเปื้อนของเชื้อรา *Aspergillus* sp. และ *Penicillium* sp. ในเมล็ดข้าวเปลือก ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้ทั้งในขั้นตอนก่อนการเก็บเกี่ยวและหลังการเก็บเกี่ยวเมล็ดข้าวเพื่อลดการแพร่กระจายของเชื้อราและประยุกต์ใช้ในพืชอาหารอื่นต่อไป โดยอาจต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในเพื่อเพิ่มความเข้าใจเกี่ยวกับการตอบสนองของเชื้อราต่อสภาวะเครียดภายใต้สภาวะจริงมากยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

ปัณฑิตา ทาเอื้อ และ สุพรรณิการ์ สมใจเพ็ง. 2559. ผลกระทบของ water activity และอุณหภูมิต่อระยะ lag phase และอัตราการเจริญของเชื้อรา aflatoxigenic *Aspergillus flavus* ที่คัดแยกได้จากเมล็ดข้าว. แก่นเกษตร 44 ฉบับพิเศษ 1: 1104-1111

Abdul Latif, K., M. Hamayun, N. Ahmad, J. Hussain, S. M. Kang, Y. H. Kim, M. Adnan, D. S. Tang, M. Waqas, R. Radhakrishnan, Y. H. wang and I. Lee. 2011. Salinity stress resistance offered by endophytic fungal interaction between *Penicillium minioluteum* LHL09 and *Glycine max*.L., J. of Microbiol. Biotechnol. 21: 893-902.

Adejumo, T. O., T. Ikotun and D. A. Florin. 1999. Biological control of *Protomycopsis phaseoli*, the causal agent of leaf snut of Cowpea. J. of Phytopathol. 147:371-375.

Brunner, K., C. K. Peterbauer, R. L. Mach, M. Lorito, S. Zeilinger and R. L. Kubicek. 2003. The Nacetylgucosaminedase of *Trichoderma atoviride* is essential for chitinase induction by citin of and major relevance to biocontrol. Curr. Genet. 43:289-295.

Damann Jr, K. E. 2015. Atoxigenic *Aspergillus flavus* biological control of aflatoxin contamination: what is the mechanism?. World mycotoxin j. 8(2):235-244.

Dorner, J. W., R. J. Cole, W. J. Connick, D. J. Daigle, M. R. McGuire and B. S. Shasha. 2003. Evaluation of biological control for mulations to reduce aflatoxin contamination in peanuts. Biol. control. 26:318-324.

Ekundayo, E. A., B. E. Boboye and F. C. Adetuyo. 2015. In vitro antifungal efficacies of maize associated microorganisms. Adv. Microbiol. 5:258-268.

Fakhrunnisa, M., H. Hashmi and A. Ghaffar. 2006. In vitro interaction of *Fusarium* spp. With the other fungi. Pak. J. Bot. 38(4):1317-1322.

Gangadevi, V. And J. Muthumary. 2008. Isolation of *Colletotrichum gloeosporioides*, a Novel Endophytic Taxol-producing Fungus from the Leaves of Medicinal Plant *Justicia gendarussa*. Mycologia. Balc. 5:1-4.

Giorni, P., N. Magan, and P. Battlani. 2009. Environmental factors modify carbon nutrional patterns and niche overlap between *Aspergillus flavus* and *Fusarium verticillioides* strains from maize. Int. j. Food Microbiol. 130:213-218.

Giorni, P., S. Formenti, T. Bertuzzi, N. Magan, and P. Battlani. 2014. Influence of water activity and anti-fungal compounds on development and competitiveness of *Fusarium verticillioides*. Phytopathol. Mediterr. 53(3):459-469.

Gqaleni, N., J. E. Smith and G. Gettinby. 1996. The production of cyclopiazonic acid by *Penicillium commune* and cyclopiazonic and aflatoxin by *Aspergillus flavus* as affected by water activity and temperature on maize grains. Mycopathologia. 136:103-108.

Khan, A. L. And I. J. Lee. 2013. Endophytic *Penicillium funiculosum* LHL06 Secretes Gibberllin That Reprograms *Glycine max* L. growth during copper stress. BMC Plant Biol. 13(86):1-14

Kullnig, C., R. L. Mach, M. Lorioto and C. P. Kubicek. 2000. Enzyme diffusion from *Trichoderma atroviridae* to *Rhizoctonia solani* is perequisite for triggering of *Trichoderma* ech42 gene expression before mycoparasittic control. Appl. Environ. Microbiol. 66:2232-2234.

Kumala, S., R. Utji, P. Sudarmono and L. B. S. Kardono. 2007. Cytotoxic secondary metabolites from fermentation broth of *Brucea javanica* endophytic fungus 1.2.11. Res. J. Microbiol. 2:625-631.

Li, C. T., Y. Li, Q. J. Wang and C. K. Sung. 2008. Taxol production by *Fusarium arthrosporioides* isolated from Yew, *Taxus cuspidate.* Microbiol. Biotechnol. 27:454-458.

Naik, B. S., J. Shashikala and Y. L. Krishnamurthy. 2009. Study on the diversity of endophytic communities from rice (*Oryza sativa* L.) and their antagonistic activities in vitro. Microbiol. Res. 164:290-296.

Magan, N. And J. Lacey. 1984. The effect of water activity, temperature and substrate on interactions between field and storage fugi. T. Brit. Mycol. Soc. 82:83-93.

Magan, N., R. Hope, V. Cairns and D. Aldred. 2003. Post-harvest fungal ecology: Impact of fungal growth and mycotoxin accumulation in stored grain. Eur. J. Plant Pathol. 109:723-730.

Magan, N., D. Aldred, R. Hope and D. Mitchell. 2010. Environmental factors and interaction with mycobiota of grain and grapes: effects on growth, deoxynivalenol and ochratoxin production by *Fusarium cumorum* and *Aspergillus carbonarius*. Toxin. 2:353-366.

Medina, A., S. Mohale, P. N, I. Samsudin, A. Rodriguez-Sixtos, A. Rodriguez and N. Magan. 2017. Biocontrol of mycotoxins: dynamic and mechanisms of action. Curr. Opin. Food Sci. 17:41-48.

Palumbo, J. D., T. L. O'Keeffe, A. Kattan, H.K. Abbas and B. Johnson. 2010. Inhibition of *Aspergillus flavus* in soil by antagonistic *Pseudomonas* strains reduces the pothetial for airborne spore dispersal. Phytophatology. 100(6):532-538.

Penna, M. L., A. Nesci and M. Etcheverry. 2004. In vitro studies on the potential for biological control on *Aspergillus* section *Flavi* by *Kluyveromyces* spp. Lett. Appl. Microbiol. 38:257-264.

Petrini, O., T. N. Sieber, L. Toti and O. Viret. 1992. Ecology, metabolite production, and substrate utilization in endophytic fungi. Nat. Toxins. 1(3):185-196.

Radhakrishnan, R., A. L. Khan and I. J. Lee. 2013. Endophytic fungal pre-treatments of seeds alleviates salinity stress effects in soybean plants. J. Microbiol. 51:850-857.

Ramakrishna, N., J. Lancey and J. E. 1993. Effect of water activity and temperature on the growth of fungi interacting on barley grain. Mycol. Res. 97(11):1393-1402.

Redman, R. S., D. Dunigan, and R. J. Rodriguez. 2001. Fungal symbiosis from mutualism to parasitism: who controls the outcome, host or invader? Plant Pathol. 151:705-716.

Samsudin, N. I. P. N. and Magan. 2016. Efficacy of potential biocontrol agents for control of *Fusarium verticilliodes* and fumonisin B1 under different environmental conditions. World Mycotoxin J. 9(2):205-213.

Somjaipeng, S. and P. Ta-uea. 2016. Evaluation of the effect of water activity and temperature on lag phase and growth rate of aflatoxigenic *Aspergillus* section *Flavi* strains isolated from stored rice grain. Agric. Agric. Sci. Procedia. 11:38-45.

Tan, R. X. and W. X. Zou. 2001. Endophyte: a rich source of functional metabolites. Nat. Pro. Rep.18:448-459.

Thanaboripat, D. 2002. Importance of aflatoxins. KMITL Sci. J. 2:38-45.

Thanh, N. T., H. T. Nhung, N. T. Thuy, T. T. N. Lam, P. T. Giang, T. N. Lan, N. V. Viet and V. T. Man. 2014.The diversity and antagonistic ability of *Trichoderma* spp. on the *Aspergillus flavus* pathogen on peanut in North center of Vietnam. World J. Agric. Res. 2(6):291-295.

Tsitsigiannis, D. I., M. Dimakopoulou, P. P. Antonio and E. Tjamos. 2012. Biological control strathegies of mycotoxigenic fungi and associated mycotoxins in Mediterranean basin crops. Phytopathol. Mediterr. 51(1):158-174.

Villamizar-Gallardo, R. A., O. O. Ortiz-Rodriguez and J. W. Escobar. 2017. Symbiotic and endophytic fungi as biocontrols against cocoa (*Theobroma cacao* L.) phytopathogens. Summa. Phytopathol. 43(2):87-93.

Waller, F., B. Achatz, H. Baltruschat, J. Fodor, K. Becker, M. Fischer,T. Heier, R. Hückelhoven, C. Neumann, D. V. Wettstein, P. Franken, and H. H. Kogel, 2005. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 20:13386-13391

Waqas, M., A. L. Khan, M. Kamran, M. Hamayun, S. M. Kang, Y. H. Kim and I. J. Lee. 2012. Endophytic fungi produce gibberellins and indoleacetic acid and promotes host-plant growth during stress. Molecules. 17:10754-10773.