

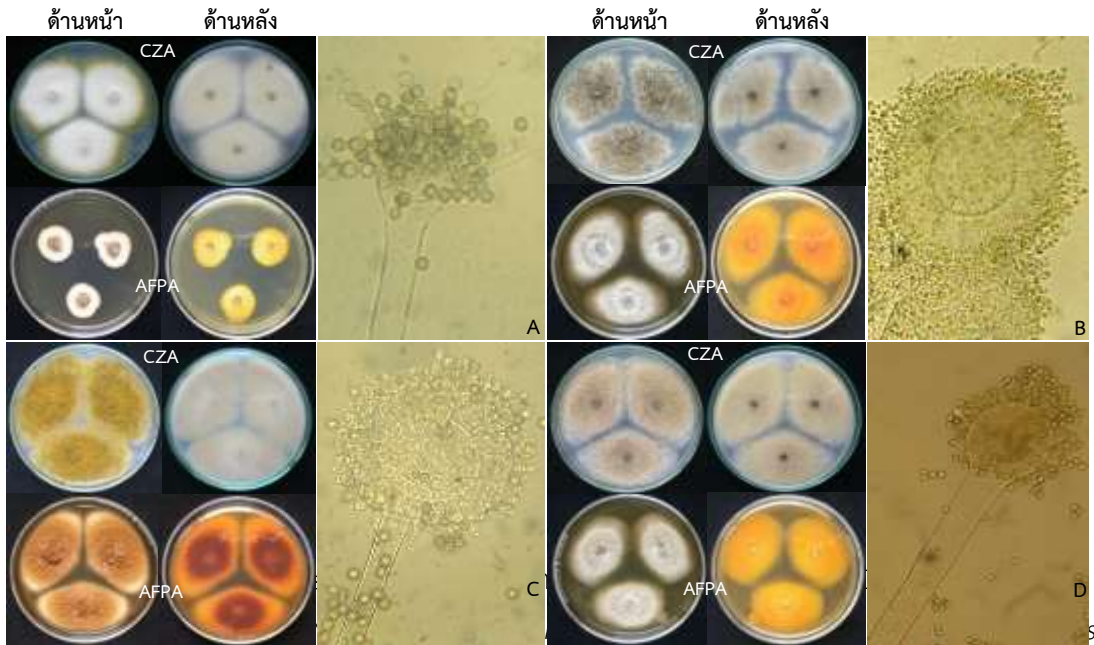
**การคัดเลือกเชื้อราปฏิปักษ์ *Aspergillus* สายพันธุ์ที่ไม่สร้างสารพิษ**  
**ในการควบคุมเชื้อราและสารแอฟลาทอกซิน**  
**อัจฉราพร ศรีจูดานู อมรา ชินภูติ สุพี วนศิริรากุล และมัทนา วานิชย์**  
**กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร**

แอฟลาทอกซิน (Aflatoxins) พบครั้งแรกในปี ค.ศ. ๑๙๖๐ จัดเป็นสารพิษพวกทุติยภูมิ (secondary metabolite) ที่สร้างโดยเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยวสกุล *Aspergillus* ได้แก่ *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. tamarii* และ *A. nomius* ซึ่งพบได้ทั้งในดิน เศษซากพืช อากาศ และในโรงเก็บผลผลิต เชื้อราเหล่านี้จะสร้างสารพิษเมื่อมีอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์เหมาะสม แอฟลาทอกซินที่พบตามธรรมชาติมี ๔ รูป คือ AFB<sub>๑</sub>, AFB<sub>๒</sub>, AFG<sub>๑</sub> และ AFG<sub>๒</sub> โดย AFB<sub>๑</sub> จะมีความเป็นพิษสูงสุด สถาบันวิจัยโรคมะเร็งนานาชาติ (International Association Research Cancer) ได้จัดให้แอฟลาทอกซินเป็นสารก่อมะเร็งกลุ่มที่ ๑ ซึ่งมีผลก่อให้เกิดมะเร็งกับสัตว์มีกระดูกสันหลังทุกชนิด รวมทั้งมนุษย์ การปนเปื้อนแอฟลาทอกซินในผลิตผลเกษตร นอกจากส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภคแล้ว ยังกระทบการส่งออกสินค้าเกษตรไปยังประเทศต่าง ๆ ในแต่ละประเทศได้กำหนดค่า Maximum Level (ML) ของแอฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในผลิตผลเกษตรและผลิตภัณฑ์แตกต่างกัน เช่น สหภาพยุโรป ๔ ไมโครกรัม/กิโลกรัม สหรัฐอเมริกา ๒๐ ไมโครกรัม/กิโลกรัม ญี่ปุ่น ๑๐ ไมโครกรัม/กิโลกรัม และประเทศไทย ๒๐ ไมโครกรัม/กิโลกรัม การปนเปื้อนของเชื้อราที่สร้างแอฟลาทอกซิน สามารถเกิดขึ้นได้ทุกขั้นตอนการผลิต ตั้งแต่การเก็บเกี่ยวผลิตผลเกษตร ระหว่างการเก็บรักษา และการขนส่ง ดังนั้น เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค จึงต้องมีการควบคุมและป้องกันสารพิษที่เกิดตามธรรมชาติอย่างมีประสิทธิภาพ

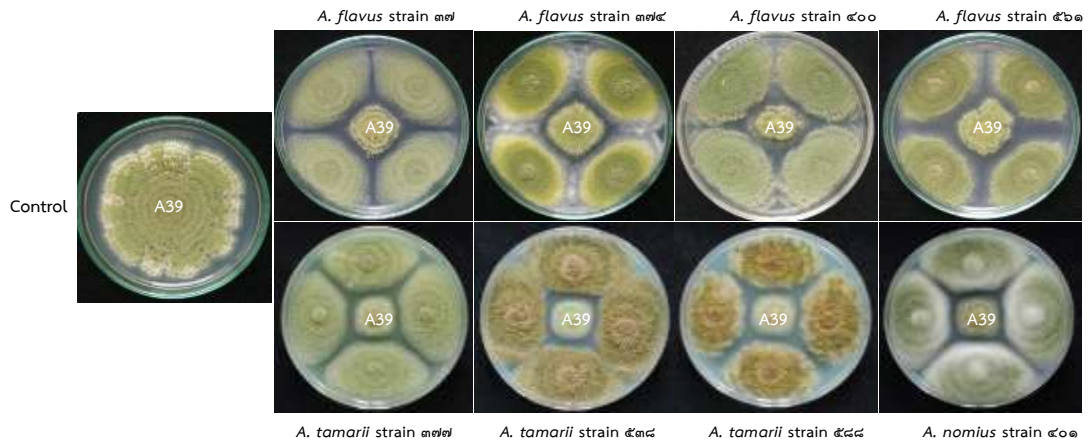
เชื้อราสกุล *Aspergillus* จัดอยู่ในกลุ่ม Hyphomycetes หรือ Fungi imperfecti เป็นกลุ่มเชื้อราที่พบเพียงสภาวะการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (anamorph) แต่มีบางสายพันธุ์มีรูปแบบการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (teleomorph) ปัจจุบันสามารถจัดจำแนกได้มากกว่า ๒๕๐ ชนิด (Varga and Samson, ๒๐๐๘) มีทั้งสีดำ (section *Nigri*) เช่น *A. carbonarius* และ *A. niger* และสีเหลือง (section *Flavi*) เช่น *A. parasiticus* และ *A. flavus* โดยแอฟลาทอกซินมักสร้างโดยเชื้อราสีเหลืองเป็นส่วนใหญ่ แต่ยังมีเชื้อราสีเหลืองอีกหลายชนิด ที่เป็นประโยชน์มีบทบาทสำคัญในอุตสาหกรรมการผลิตอาหาร การผลิตกรดอินทรีย์ หรือเอนไซม์ เช่น *A. sojae* และ *A. oryzae* รายงานของ Ehrlich *et al.* (๒๐๐๖) พบว่า มีเชื้อราสีเหลือง ได้แก่ *A. pseudotamarii*, *A. flavus* และ *A. nomius* สายพันธุ์ที่สร้างสารพิษในดินพื้นที่เกษตรสูงกว่า ๕๑.๖๖% เชื้อราเหล่านี้สามารถเจริญเติบโตและสร้างสารพิษได้ดีในเขตร้อนชื้น รวมทั้งประเทศไทย การจัดจำแนกชนิดเชื้อรา รวมถึงลักษณะทางสัณฐานวิทยา แหล่งอาศัย แหล่งแพร่กระจาย และชีววิทยา จึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง เพื่อให้ได้ข้อมูลและผลสรุปที่เป็นประโยชน์ ตลอดจนวางแผนนำเชื้อราสีเหลืองเหล่านี้มาใช้ในการควบคุมเชื้อราและสารพิษโดยชีววิธี

ประเทศแอฟริกา โดยองค์กร International Institute of Tropical Agriculture (Cotty, ๒๐๐๖) ซึ่งประสบปัญหาการปนเปื้อนแอฟลาทอกซิน มีการวิจัยนำเชื้อราสกุล *Aspergillus* สายพันธุ์ที่ไม่สร้างสารพิษมาแก้ปัญหาการปนเปื้อนเชื้อราและสารพิษ พบว่า เชื้อราในกลุ่มนี้เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่มีการค้นพบและได้แสดงศักยภาพในการควบคุมที่ดีที่สุด มีกลไกรบกวนการสร้างเอนไซม์ที่จำเป็นต่อกระบวนการสร้างสารพิษ สามารถสร้างสารปฏิชีวนะ และเอนไซม์ ยับยั้งหรือทำลายเส้นใยของเชื้อราชนิดเดียวกันแต่เป็นสายพันธุ์ที่สร้างสารพิษ กลไกการควบคุมนี้เป็นลักษณะแข่งขันแย่งพื้นที่การเจริญเติบโต (competitive exclusion) ซึ่งมีความเฉพาะเจาะจงต่อเชื้อราเป้าหมายสูง ตลอดจนมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ผ่านการทดสอบจาก U.S. Environmental

Protection Agency ประเทศสหรัฐอเมริกา อนุญาตให้ใช้เชื้อดังกล่าวในกระบวนการผลิตพืช ได้แก่ ข้าวโพด ถั่วลิสง มะเดื่อฝรั่ง ฝ้าย และพิสทาชิโอ เป็นที่ยอมรับและนำไปใช้ในประเทศที่พัฒนาแล้ว ประเทศไทยยังไม่มี การนำเชื้อราสกุล *Aspergillus* ใช้ในการควบคุมเชื้อราที่สร้างแอฟลาทอกซิน การศึกษานี้จึงพัฒนาเอาวิธีการควบคุมแบบชีววิธี โดยการคัดเลือกเชื้อรา *Aspergillus* สายพันธุ์ที่ไม่สร้างสารพิษมาประยุกต์ใช้ เพื่อให้เกษตรกรได้มีทางเลือกในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช



ผลการจำแนกชนิดของเชื้อรา *Aspergillus* section *Flavi* ที่เจริญบนอาหาร CZA และ จำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า เชื้อราในกลุ่มนี้มีลักษณะฟูคล้ายกำมะหยี่ โดยเชื้อราเปรียบเทียบในการทดลองนี้ คือ *A. oryzae* TISTR๓๐๑๙ ซึ่งโคนิเดียม เฮด มีสีขาวยครีมไม่ สร้างสเคลอโรเทียม โคลนิจเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ AFPA มีลักษณะเจริญเติบโตช้า และด้านหลังสร้าง จีบสีครีม เวสซิเคิลรูปร่าง pyriform การจัดเรียงตัวของสเทอริกมาแบบ uniseriate (ภาพ ๑A) ส่วนเชื้อรา *A. flavus* (ภาพ ๑B) และเชื้อรา *A. nomius* (ภาพ ๑D) โคลนิจเจริญบนอาหาร AFPA ลักษณะฟูคล้ายกำมะหยี่ สีส้ม ด้านหลังจับสีส้ม บางไอโซเลทสร้างสเคลอโรเทียมเม็ดใหญ่สีขาวหรือดำ โคนิเดียม มีรูปร่างทรงกลมถึงรูปไข่ ผิวไม่เรียบ สร้างโคนิเดียมต่อกันเป็นสายยาว โคนิเดียม เฮด สีเหลืองปนเขียวเมื่ออายุน้อย แต่เมื่ออายุมากขึ้นอาจกลายเป็นสีน้ำตาล ลักษณะเชื้อราทั้งสองชนิด แตกต่างกันที่รูปร่างเวสซิเคิล โดยเชื้อรา *A. flavus* สร้างเวสซิเคิลรูปร่าง globose สเทอริกมาส่วน ใหญ่เป็นแบบ biseriate ในขณะที่เชื้อรา *A. nomius* สร้างเวสซิเคิลรูปร่าง pyriform การจัดเรียง ตัวสเทอริกมาแบบ uniseriate ส่วนเชื้อรา *A. tamarii* โคลนิจเจริญบนอาหาร AFPA ลักษณะฟูคล้าย กำมะหยี่ เป็นวงสีส้ม ด้านหลังจับสีน้ำตาล รูปร่างโคนิเดียมทรงกลมถึงรูปไข่ผิวไม่เรียบ โคนิเดียม เฮด สีน้ำตาลส้ม ผิวของโคนิเดียมฟู สีเขียว เวสซิเคิล รูปร่าง globose หรือ pyriform สเทอริกมาเรียงตัวแบบ uniseriate บางไอโซเลทสร้างสเคลอโรเทียมสีดำหรือน้ำตาล (ภาพ ๑C)



ภาพที่ ๒ ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Aspergillus* section *Flavi* สายพันธุ์ที่ไม่สร้างสารพิษ ขณะเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่สภาวะ ๓๐ °C เป็นเวลา ๗ วัน

ผลการทดลองนี้ สามารถคัดเลือกเชื้อรา *Aspergillus* section *Flavi* สายพันธุ์ที่ไม่สร้าง แอฟลาทอกซิน จำนวน ๘ สายพันธุ์ คือ ๓๗, ๓๗๔, ๓๗๗, ๔๐๐, ๔๐๑, ๕๓๘, ๕๖๑ และ ๕๘๘ พบว่า ทุกสายพันธุ์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* สายพันธุ์ที่สร้างสารพิษ (A๓๙) ค่าเฉลี่ย การยับยั้งการเจริญ ๔๖.๕, ๔๖.๙, ๔๕.๖, ๔๗.๙, ๔๗.๕, ๔๔.๐, ๔๔.๑ และ ๔๕.๕% ตามลำดับ นอกจากนี้ ยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแอฟลาทอกซิน ปี ๑ ในอาหารเหลวได้ ๙๙.๒, ๙๖.๗, ๙๙.๑, ๑๐๐, ๑๐๐, ๑๐๐, ๙๙.๑ และ ๙๙.๑% ตามลำดับ ผลการจัดจำแนกชนิด พบว่า เป็นเชื้อรา *A. flavus* จำนวน ๔ สายพันธุ์ (๓๗, ๓๗๔, ๔๐๐ และ ๕๖๑) เชื้อรา *A. tamaraii* จำนวน ๓ สายพันธุ์ (๓๗๗, ๕๓๘ และ ๕๘๘) และเชื้อรา *A. nomius* จำนวน ๑ สายพันธุ์ (๔๐๑) โดยเป็นเชื้อราที่แยกได้จากดินข้าวโพด และดินอ้อย แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ *Aspergillus* สายพันธุ์ที่ไม่สร้างสารพิษ ซึ่งสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมเชื้อราสายพันธุ์ที่สร้างสารพิษ ทำให้แอฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์เกษตรและผลิตภัณฑ์ลดลง เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคโดยตรง