

บทนำ

รามูลสัตว์ (coprophilous fungi) เป็นราที่มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุในธรรมชาติ สปอร์ของรากลุ่มนี้มีความทนทานต่อกระบวนการย่อยอาหารในกระเพาะสัตว์ สามารถงอกเจริญเป็นเส้นใยและสร้างสปอร์ได้เมื่อสัตว์ถ่ายมูลออกมา (Bell 1983, 2005) รามูลสัตว์หลายชนิดสร้างสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ยับยั้งการเจริญของราและแบคทีเรียหลายชนิด เช่นรา *Coniochaeta saccardo* จากมูลหนู (lemming dung) ในทวีปยุโรป สร้างสาร coniochaetone A และ B ซึ่งออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของรา *Candida albicans* สาเหตุโรค candidiasis ในคน (Wang et al., 1995) ส่วนรา *Ascodesmis sphaerospora* จากมูลวัว (bison dung) สร้างสาร arugosin F ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* และ *Staphylococcus aureus* สาเหตุโรคหนองฝีในคนและสัตว์ (Hein et al., 1998) ราวางชนิดที่พบจากมูลสัตว์และมีรายงานพบในดินเช่น *Chaetomium cupreum*, *C. globosum*, *Sordaria fimicola*, *Arthrotrichum oligospora*, *Paecilomyces lilacinus* และ *Trichoderma harzianum* ได้มีรายงานการนำมาใช้ควบคุมโรคพืชทางชีววิธี (Chamswang et al., 2001; Dewan et al., 1994; Soyong, 2004; Watanabe, 1991) นอกจากนี้ยังมีรายงานการค้นพบรา *Podospora* สายพันธุ์ใหม่จากมูลสัตว์ (Wang, 2000; Chang and Wang, 2005) และมีรายงานการนำรามูลสัตว์สายพันธุ์ที่ไม่สร้างสปอร์ไปยับยั้งการเจริญของพยาธิในคน (Ondeyka et al. 1998)

การศึกษารามูลสัตว์ในประเทศได้มีงานวิจัยโดย van Brummelen (1967, 1969, 1977) ศึกษารา ascomycetes บนมูลสัตว์ชนิดต่างๆพบราหลายชนิด ได้แก่ *Ascobolus siamensis*, *A. demangei*, *Saccobolus minimus*, *S. thaxteri*, *S. truncatus*, *S. succineus* sp. nov. และ *Leptokalpion albicans* Rogers et al. (1998) รายงานรา *Podosordaria elephati* ในมูลช้างจากจังหวัดฉะเชิงเทรา Manoch et al. (1999) รายงานรามูลสัตว์ในกลุ่ม ascomycetes 19 ชนิดจากมูลสัตว์ 12 ตัวอย่างในเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าห้วยขาแข้ง จังหวัดอุทัยธานี และอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ จังหวัดนครราชสีมา Somrithipol (2004) ได้รวบรวมการศึกษารามูลสัตว์พบจำนวน 130 ชนิดจากมูลสัตว์ชนิดต่างๆในประเทศไทย Jeamjitt et al. (2007a) ศึกษาความหลากหลายและการแพร่กระจายของราจากมูลสัตว์จำนวน 13 ชนิด ได้แก่ มูลแก้ง กระบือ อุฐ วัว กวาง ละมั่ง ช้าง กระตัง พะ ม้า กระต่าย หนู และคางคก จากแหล่งต่างๆ 18 จังหวัด แยกราโดยวิธี moist chamber, soil plate, dilution plate, alcohol และ heat treatment ศึกษาการจำแนกชนิดโดยเพาะเลี้ยงรบนอาหารร่วน ใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาศึกษาสปอร์และส่วนขยายพันธุ์อื่นๆจากกล้องจุลทรรศน์แบบ compound และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด จำแนกราคือได้ 57 สกุล 67 ชนิด ได้แก่ Zygomycetes (7 สกุล 7 ชนิด) Ascomycetes (19, 27) Hyphomycetes

(26, 29) Coelomycetes (4, 4) และ Basidiomycetes (1,1) พบราที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อนในประเทศไทย ได้แก่ *Ascobolus albidus*, *Ascodesmis sphaerospora*, *Cercophora silvatica*, *Gelasinospora brevispora*, *Podosordaria leporina*, *Sporormiella minima* และ *Zopfiella latipes* นอกจากนี้ Jeamjitt *et al.* (2007b) ศึกษาการเป็นปฏิปักษ์ของรา *Sordaria fimicola* กับราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิดในห้องปฏิบัติการพบว่ารา *S. fimicola* ยับยั้งการเจริญของรา *Alternaria alternata*, *Curvularia lunata*, *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum capsici* และ *Pestalotiopsis guepinii*

รา ascomycetes เป็นรากลุ่มใหญ่ที่พบมากและแพร่กระจายอยู่ทั่วโลก (Kirk *et al.*, 2001) เนื่องจากประเทศไทยตั้งอยู่ในภูมิประเทศเขตร้อนชื้น ความหลากหลายของราจึงเกิดได้มาก ดังนั้นจึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจในการศึกษาความหลากหลายของราจุลินทรีย์ในกลุ่ม ascomycetes เนื่องจากราในกลุ่มนี้สร้างสารที่เป็นประโยชน์ สามารถนำมาใช้ควบคุมโรคพืชทางชีววิธี และสามารถยับยั้งราแบคทีเรีย และพยาธิ ที่ทำให้คนและสัตว์เป็นโรค นอกจากนี้จากการศึกษาการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและอนุชีววิทยาโมเลกุล มีแนวโน้มว่าจะพบราสายพันธุ์ใหม่ที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อนหรือราที่สร้างสารทุติยภูมิชนิดใหม่ที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตรและการแพทย์

วัตถุประสงค์

- 1) แยกและจำแนกชนิดราจุลินทรีย์ที่เก็บจากแหล่งต่างๆ ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และเปรียบเทียบความหลากหลายของราจุลินทรีย์ที่เก็บจากแหล่งต่างๆ
- 2) ศึกษาการยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช ในห้องปฏิบัติการและเรือนปลูกพืชทดลอง

วิธีการทดลอง

1. สํารวจและเก็บตัวอย่าง

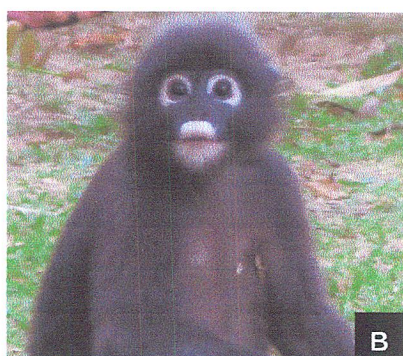
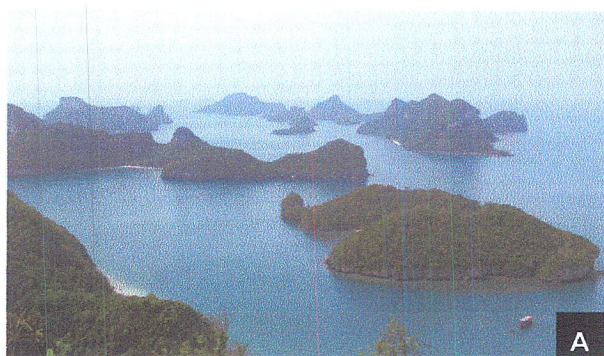
เก็บตัวอย่างราจุลินทรีย์ 6 ชนิด ได้แก่ มูลกิ้ง มุลช้าง มุลวัว มุลควาย มุลค่างแว่นถิ่นใต้ และมูลนก รวม 76 ตัวอย่างจากอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ จ. นครราชสีมา เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าภูหลวง จ. เลย และ อุทยานแห่งชาติห้วยเกาะอ่างทอง จ. สุราษฎร์ธานี โดยนำมาแยกเชื้อราด้วยวิธีต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ (ภาพที่ 1-3)



ภาพที่ 1 มุลข้าง (A) และ มุลแก้ง (B) เก็บจากอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ จ. นครราชสีมา



ภาพที่ 2 เก็บตัวอย่างจากเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าภูหลวง จ. เลย (A) มุลแก้ง (B-C) และ มุลข้าง (D)



ภาพที่ 3 อุทยานแห่งชาติหมู่เกาะอ่างทอง จ. สุราษฎร์ธานี (A) และ ค่างแว่นถิ่นใต้ (B)

2. วิธีการแยกรามูลสัตว์

2.1 Moist Chamber Method (Bell, 1983; Jeamjitt, 2007)

นำมูลสัตว์วางบนจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 ซม. ที่อบฆ่าเชื้อ วางจานเลี้ยงเชื้อในกล่องพลาสติกใสที่มีฝาปิด วางกระดาษทิชชูภายในกล่องและหยดน้ำกลั่นลงบนกระดาษ บ่มเชื้อไว้บริเวณที่มีแสงแดดส่องถึงที่อุณหภูมิ 28 °C เป็นเวลา 2-3 วัน นำมาตรวจดูเชื้อรา ได้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo ใช้เข็มเขี่ย ย้ายสปอร์หรือ fruiting body ของเชื้อรา วางบนสไลด์ ตรวจสอบดูโครงสร้างภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound จำแนก ชนิดของเชื้อรา และบันทึกภาพ และใช้เข็มเขี่ย ย้ายเชื้อรา มาเลี้ยงบนอาหาร 1/2 PDA (มันฝรั่ง 100 กรัม, dextrose 10 กรัม, วัน 15 กรัม, น้ำกลั่น 1 ลิตร ที่ผสม streptomycin เก็บสายพันธุ์บริสุทธิ์เชื้อราเพื่อนำมาศึกษาต่อไป

2.2 Soil dilution plate method_ (Barron, 2547)

ชั่งมูล 10 กรัม ใส่ในน้ำกลั่นที่หนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 90 มล. (หรือใช้ 0.15% water agar) เขย่าให้เข้ากัน ใช้ pipette ดูดสารละลายดินเข้มข้น 10^{-1} ปริมาตร 10 มล. ใส่ในขวดน้ำกลั่นที่หนึ่งฆ่าเชื้อ 90 มล. ดูดสารละลายความเข้มข้น 10^{-2} มา 10 มล. ใส่ในขวดน้ำกลั่นปริมาตร 90 มล. ทำเป็น series ไปจนได้สารละลายปริมาตร 10^{-4} และ 10^{-5} ใช้ pipette ดูดสารละลายแต่ละความเข้มข้นของอนุภาคมูลใส่ลงในจานเลี้ยงเชื้อจานละ 1 มล. เทอาหาร glucose ammonium nitrate agar, GAN ที่มีส่วนประกอบของ rose bengal และ streptomycin (Gochenaour, 1964) หรือใช้ 3% malt extract agar + streptomycin นำไปบ่มในที่มืด ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน ใช้เข็มเขี่ยย้ายโคโลนีของรามาลีเลี้ยงใน slant PDA เพื่อเก็บเป็นเชื้อบริสุทธิ์ไว้ใช้ศึกษาต่อไป

2.3 Soil plate method (Warcup, 1950)

ใช้ microspatula ตักมูลประมาณ 0.0005-0.015 กรัม ใส่ในจานเลี้ยงเชื้อ แล้วเททับด้วยอาหารวุ้น GAN แล้วดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.2

2.4 Alcohol treatment method (Warcup และ Baker, 1963; Manoch *et al.*; 2004)

ชั่งมูล 0.3 กรัม ใส่ในหลอดทดสอบที่อบฆ่าเชื้อ เดิม ethyl alcohol 65 % ลงไป ประมาณ 2 ใน 3 ของหลอด เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 10-15 นาที ริน alcohol ทิ้ง ใช้ microspatula ตักมูลใส่ในจานเลี้ยงเชื้อ เททับด้วยอาหารวุ้น GAN ดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.2

2.5 Heat treatment method (Warcup และ Baker, 1963; Manoch *et al.*; 2004)

ชั่งมูล 0.3 กรัม ใส่ในหลอดทดสอบที่อบฆ่าเชื้อแล้ว ใส่ น้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วนำไปใส่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 60-80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-15 นาที รินน้ำทิ้ง ใช้ microspatula ตักมูลใส่ในจานเลี้ยงเชื้อ เททับด้วยอาหารวุ้น GAN ดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.2

3. เก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อรา (Manoch *et al.*, 2004)

นำเชื้อบริสุทธิ์ (pure culture) ของราที่จำแนกชนิดเรียบร้อยแล้วมาทำการเก็บรักษาด้วยวิธีต่าง ๆ ได้แก่ soil culture, liquid paraffin, กระจกกรอง และบน slant PDA เก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ที่ Kasetsart University Fungal Collection (KUFC) ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. ศึกษาการจำแนกชนิดเชื้อรา (Bell, 1983, 2005; Lundqvist, 1972; Richardson and Watling, 1997)

การจำแนกชนิดโดยลักษณะทางสัณฐานวิทยา เตรียมตัวอย่างและถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบ stereo, compound และ SEM

5. การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (Manoch *et al.*, 2004)

โดยคัดเลือกราที่แยกได้จากรามูลสัตว์ ที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ร่วมกับราสาเหตุโรคพืช เช่น *Alternaria*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Pestalotiopsis*, *Colletotrichum*, *Rhizoctonia* เป็นต้น บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน ในห้องปฏิบัติการ และทดสอบในเรือนปลูกพืชทดลอง

ผลและวิจารณ์

ความหลากหลายของรา coprophilous ascomycetes

ผลการศึกษาราคoprophilous ascomycetes จากมูลสัตว์ 6 ชนิดได้แก่ มูลกิ้ง มูลช้าง มูลวัว มูลควาย มูลค่างแว่นถิ่นใต้ และมูลนก รวม 76 ตัวอย่างจากอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ จ. นครราชสีมา เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าภูหลวง จ. เลย และ อุทยานแห่งชาติหมู่เกาะอ่างทอง จ. สุราษฎร์ธานี พบราจำนวน 69 สายพันธุ์ (isolates) จำแนกได้ 18 สกุล (genera) 25 ชนิด (species) ได้แก่ *Ascodesmis macrospora*, *Ascobolus albidus*, *Cercophora* sp., *Chaetomium cupreum*, *C. globosum*, *Chaetomium* sp., *Coprotus* sp.1, *Coprotus* sp.2, *Emericella nidulans*, *E.variecolor*, *Eupenicillium parvum*, *Eupenicillium* sp., *Eurotium amstelodami*, *Gelasinospora brevispora*, *G. indica*, *Hamigera avellanea*, *Neosartorya fischeri*, *Podospora setosa*, *Saccobolus glaber*, *Sordaria fimicola*, *Sporormiella minima*, *Talaromyces bacillisporus*, *T. flavus*, *Thielavia terricola* และ *Xylaria* sp. (ตารางที่ 1)

จากการศึกษาพบว่าวิธี moist chamber method สามารถแยกราได้มากที่สุด รองลงมาได้แก่ alcohol treatment , heat treatment, soil plate method และ dilution plate method เมื่อพิจารณาจำนวนสายพันธุ์ราที่พบจากแหล่งที่เก็บทั้ง 3 แห่งได้แก่ อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ จ. นครราชสีมา เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าภูหลวง จ. เลย และ อุทยานแห่งชาติหมู่เกาะอ่างทอง จ. สุราษฎร์ธานี พบว่าสามารถแยกราจากมูลกิ้งได้จำนวนสายพันธุ์มากที่สุดคือ 27 สายพันธุ์ รองลงมาได้แก่ มูลช้าง มูลควาย มูลวัว มูลค่างแว่นถิ่นใต้ และมูลนก จำนวน 19, 11, 7, 3 และ 2 สายพันธุ์ ตามลำดับ โดยจำนวนสายพันธุ์ของราที่พบมีความสัมพันธ์กับปริมาณตัวอย่างมูลของสัตว์แต่ละชนิด โดยมูลกิ้งมีจำนวนตัวอย่างที่นำมาศึกษามากที่สุดคือ 22 ตัวอย่าง รองลงมาได้แก่ มูลช้าง มูลควาย มูลวัว มูลค่างแว่นถิ่นใต้ และมูลนก จำนวน 17, 13, 9, 8 และ 7 ตัวอย่าง ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ราที่พบบนมูลกิ้ง มูลช้าง มูลวัว และมูลควาย ที่เก็บตัวอย่างจากอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ จ. นครราชสีมา มีจำนวน 31 สายพันธุ์ จำแนกเป็น 13 สกุล 14 ชนิด ได้แก่ *Ascobolus albidus*, *Chaetomium globosum*, *Emericella nidulans*, *Eupenicillium parvum*, *Eupenicillium* sp., *Eurotium amstelodami*, *Hamigera avellanea*, *Neosartorya fischeri*, *Saccobolus glaber*, *Sordaria fimicola*, *Sporormiella minima*, *Talaromyces bacillisporus*, *T. flavus* และ *Xylaria* sp. (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ภา coprophilous ascomycetes ที่พบบนมูลสัตว์จากอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าภูหลวง และ อุทยานแห่งชาติหมู่เกาะอ่างทอง

Fungal species	Number of fungal isolates									Total isolate
	Khao Yai National Park				Phu Luang Wildlife Sanctuary		Mu Ko Angthong National Park			
	Barking deer (12) [#]	Elephant (10) [#]	Cow (9) [#]	Buffalo (8) [#]	Barking deer (10) [#]	Elephant (7) [#]	Buffalo (5) [#]	Dusky Leaf Monkey (8) [#]	Bird (7) [#]	
<i>Ascobolus albidus</i> *	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Ascodesmis macrospora</i> *	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
<i>Cercophora</i> sp.***	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
<i>Chaetomium cupreum</i> ***	-	-	-	-	-	2	1	-	-	3
<i>Chaetomium globosum</i> ***	2	-	1	-	1	1	-	1	-	6
<i>Chaetomium</i> sp.	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1
<i>Coprotus</i> sp.1*	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
<i>Coprotus</i> sp.2*	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
<i>Emericella nidulans</i> **	1	-	-	-	-	-	-	-	1	2
<i>Emericella varicolor</i> **	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
<i>Eupenicillium parvum</i> **	1	-	-	-	1	-	1	1	-	4
<i>Eupenicillium</i> sp. **	1	-	-	1	2	-	-	-	-	4
<i>Eurotium amstelodami</i> **	1	-	-	-	-	1	-	-	-	2
<i>Gelasinospora brevispora</i> ***	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
<i>Gelasinospora indica</i> ***	-	-	-	-	1	1	-	-	-	2
<i>Hamigera avellanea</i> **	1	2	-	-	1	-	1	-	-	5
<i>Neosartorya fischeri</i> **	-	-	1	1	1	-	1	-	-	4

ตารางที่ 1 (ต่อ)

Fungal species	Number of fungal isolates									Total isolate
	Khao Yai National Park				Phu Luang Wildlife Sanctuary		Mu Ko Angthong National Park			
	Barking deer (12) [#]	Elephant (10) [#]	Cow (9) [#]	Buffalo (8) [#]	Barking deer (10) [#]	Elephant (7) [#]	Buffalo (5) [#]	Dusky Leaf Monkey (8) [#]	Bird (7) [#]	
<i>Podospora setosa</i> ***	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
<i>Saccobolus glaber</i> *	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Sordaria fimicola</i> ***	1	-	2	-	1	1	1	-	-	6
<i>Sporormiella minima</i> ***	3	1	2	-	1	2	-	1	-	10
<i>Talaromyces bacillisporus</i> **	1	2	-	-	-	-	-	-	-	3
<i>Talaromyces flavus</i> **	2	-	-	1	1	-	1	-	1	6
<i>Thielavia terricola</i> ***	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1
<i>Xylaria</i> sp. ***	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1
Total isolate	14	7	7	3	13	12	8	3	2	69
% Occurrence	20.29	10.15	10.15	4.35	18.84	17.39	11.59	4.35	2.89	100

Remark: # the number of sample indicated in brackets

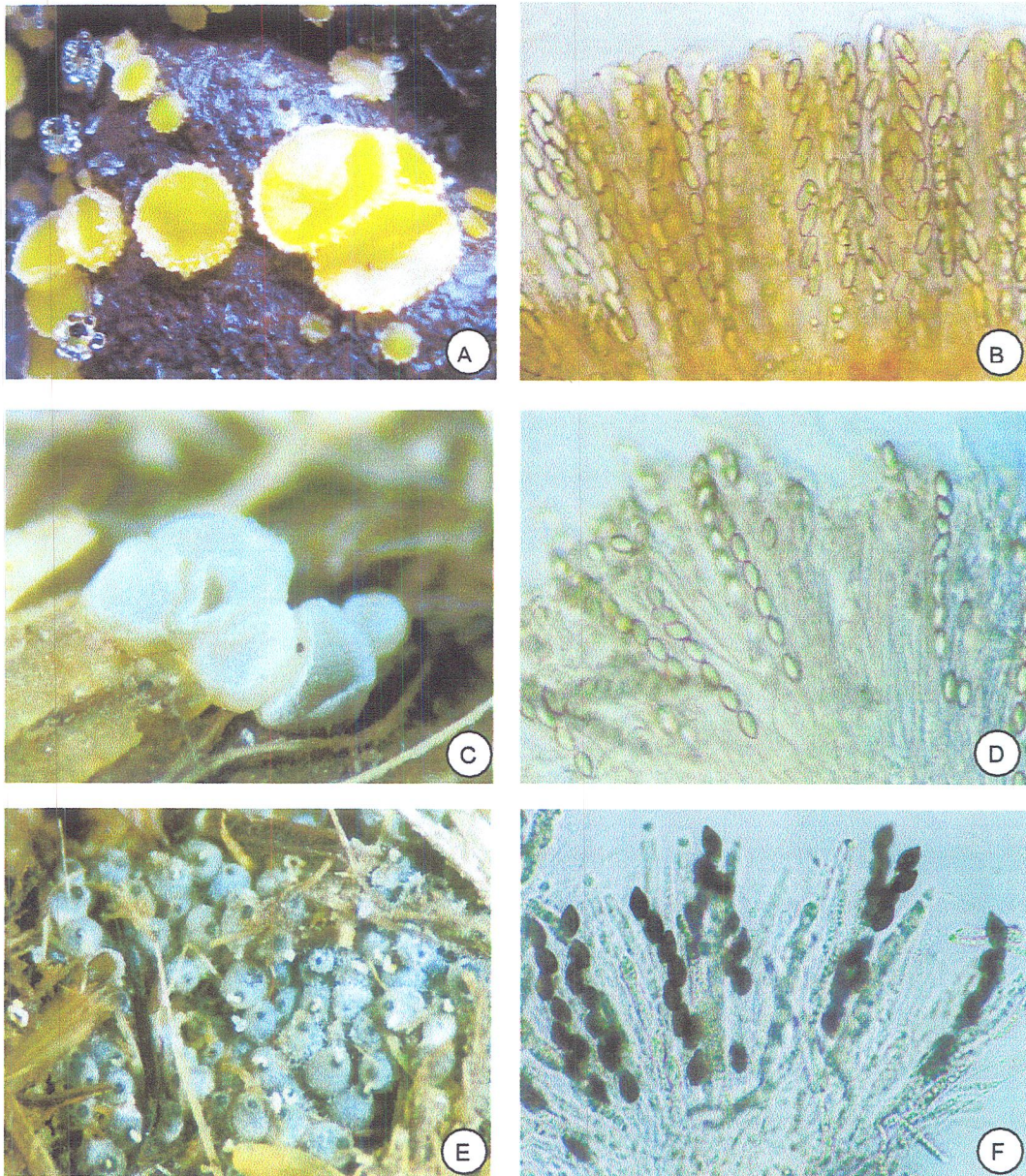
* Class Discomycetes, ** Class Plectomycetes, *** Class Pyrenomycetes

ราที่พบบนมูลกิ้ง และมูลช้าง ที่เก็บตัวอย่างจากเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าภูหลวง จ. เลย พบรา 25 สายพันธุ์ จำแนกเป็น 15 สกุล 20 ชนิด ได้แก่ *Ascodesmis macrospora*, *Chaetomium cupreum*, *C. globosum*, *Cercophora* sp., *Coprotus* sp.1, *Coprotus* sp.2, *Emericella varicolor*, *Eupenicillium parvum*, *Eupenicillium* sp. *Eurotium amstelodami*, *Gelasinospora brevispora*, *G. indica*, *Hamigera avellanea*, *Neosartorya fischeri*, *Podospora setosa*, *Sordaria fimicola*, *Sporormiella minima*, *Talaromyces flavus* และ *Thielavia terricola* (ตารางที่ 1)

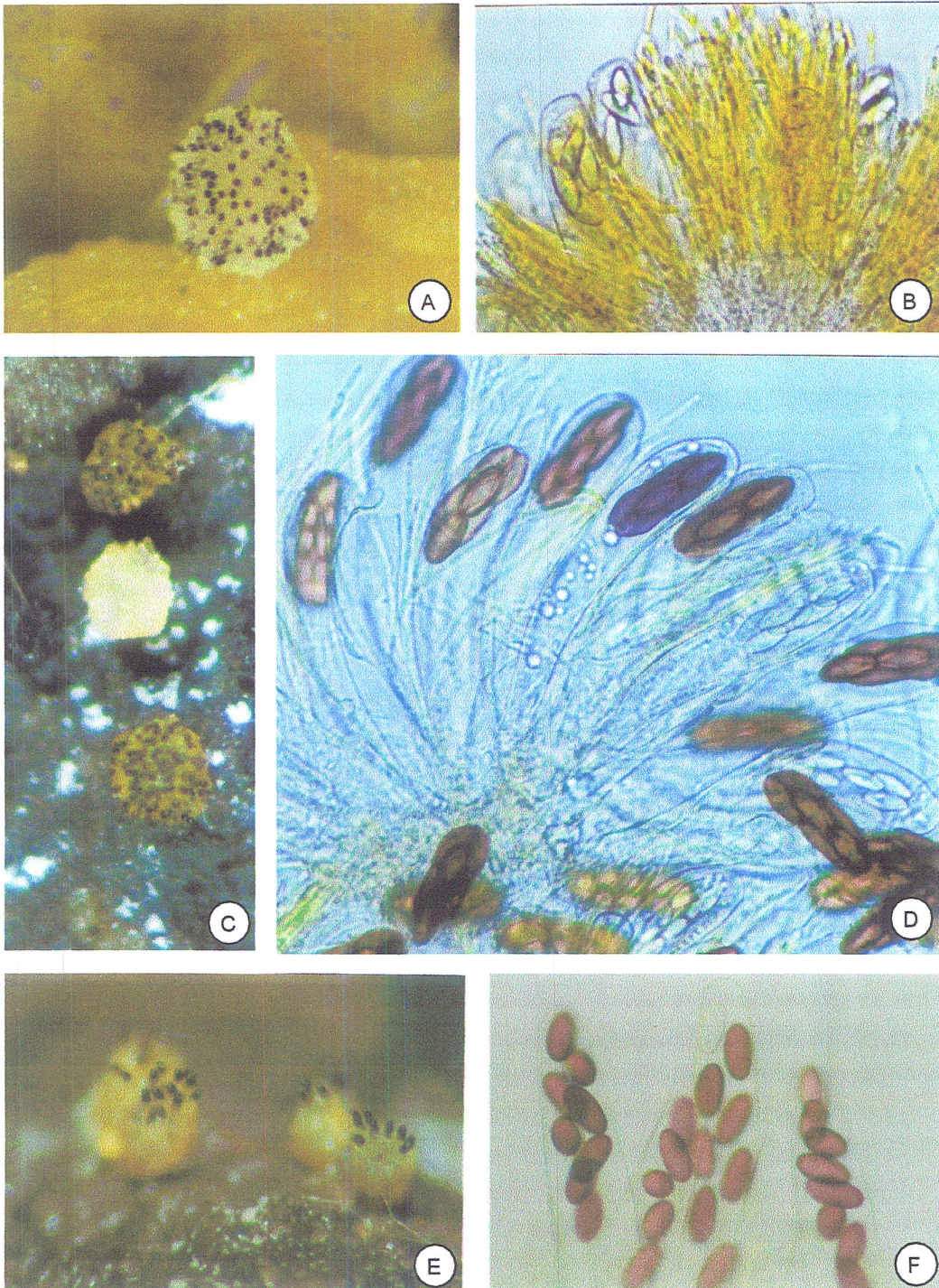
ราที่พบบนมูลควาย มูลค้างแวนถิ่นใต้ และมูลนก ที่เก็บตัวอย่างจากอุทยานแห่งชาติหมู่เกาะอ่างทอง จ. สุราษฎร์ธานี พบรา 13 สายพันธุ์ จำแนกเป็น 9 สกุล 11 ชนิด ได้แก่ *Chaetomium cupreum*, *C. globosum*, *Chaetomium* sp., *Emericella nidulans*, *Eupenicillium parvum*, *Hamigera avellanea*, *Neosartorya fischeri*, *Sordaria fimicola*, *Sporormiella minima*, *Talaromyces flavus* และ *Thielavia terricola* (ตารางที่ 1)

รา *Chaetomium globosum*, *Eupenicillium parvum*, *Eupenicillium* sp., *Eurotium amsterodami*, *Hamigera avellanea*, *Neosartorya fischeri*, *Sordaria fimicola*, *Sporormiella minima*, *Talaromyces bacillisporus* และ *T. flavus* เป็นราที่พบได้บนมูลหลายชนิดที่เก็บจากแหล่งต่างๆ โดยรา *Sporormiella minima* พบจำนวนมากที่สุดคือ 10 สายพันธุ์ รองลงมาคือ *Sordaria fimicola* (6 สายพันธุ์) และ *Chaetomium globosum* (6 สายพันธุ์) (ตารางที่ 1)

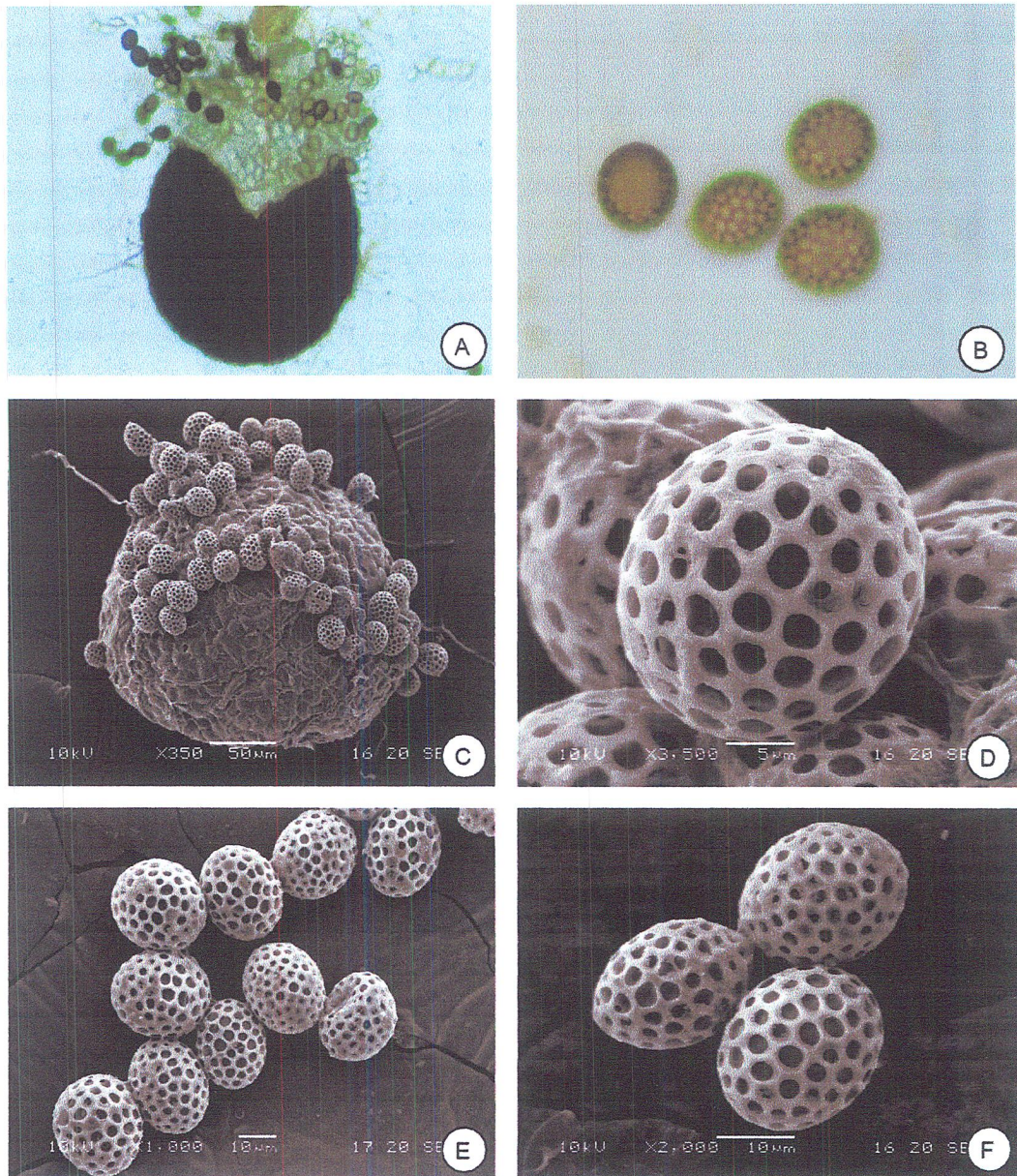
รา coprophilous ascomycetes ที่มีรายงานพบครั้งแรกในประเทศไทยจากการศึกษาค้นคว้านี้ ได้แก่ *Podospora setosa* แยกได้จากมูลช้าง ที่เก็บในช่วงที่มีอากาศหนาวเย็น จากเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าภูหลวง จ. เลย โดยมีรายงานว่า *P. setosa* ใช้ในการศึกษาด้านอนุชีวโมเลกุล ribosomal protein electrophoretical และ immunological method (Goff and Begueret, 2004) นอกจากนี้ Van Geel et al. (2007) ได้รายงานการศึกษา ascospores ของรา coprophilous *Sordaria*, *Sporormiella* และ *Podospora* ในการเพื่อบ่งบอกอายุของฟอสซิลพืชและสัตว์ในยุคโบราณ



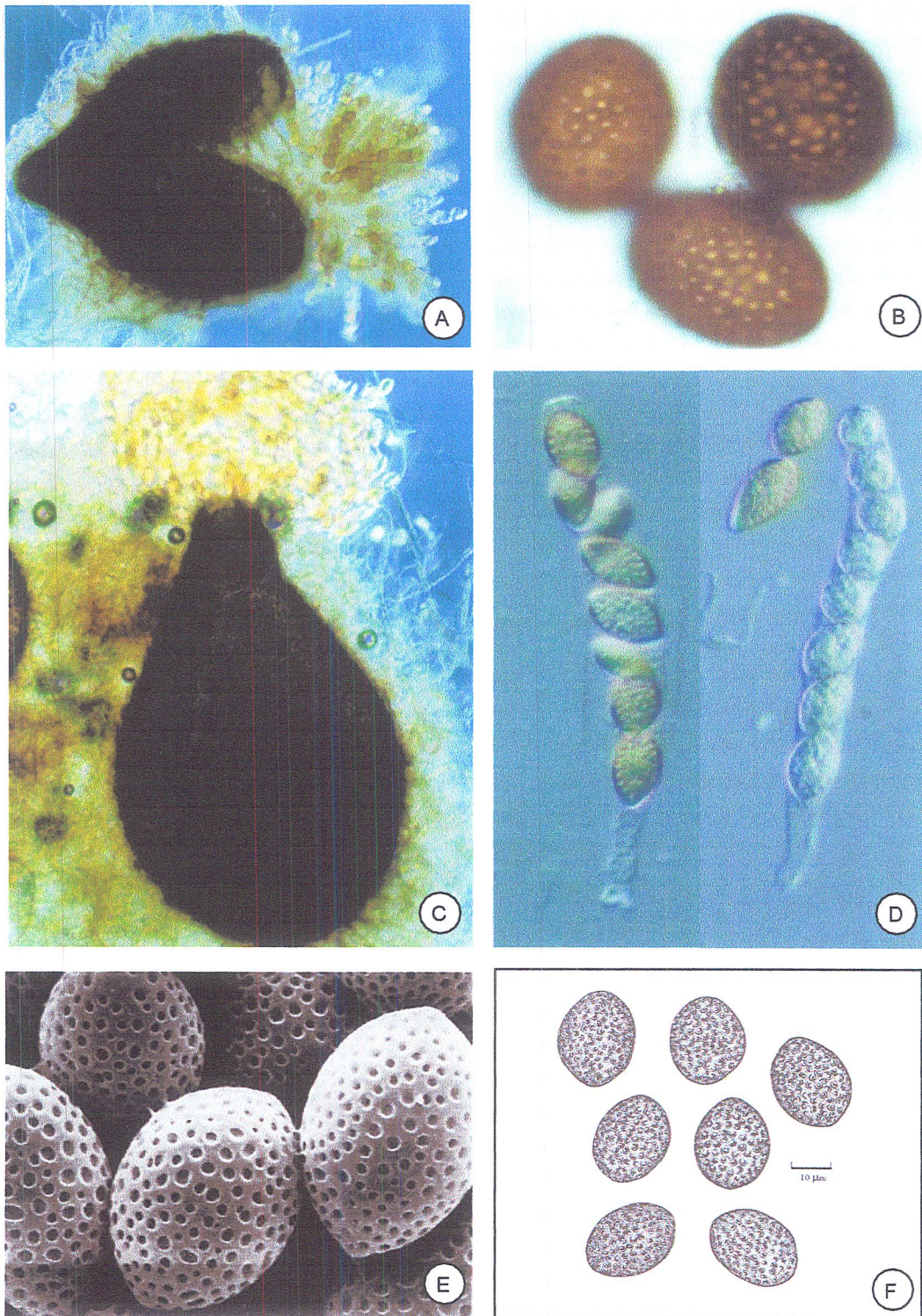
ภาพที่ 4 ภาพถ่ายจาก stereo and light microscope แสดง ascomata, asci และ ascospores ของรา *Coprotus* sp.1 (A-B), *Coprotus* sp. 2 (C-D) และ *Cercophora* sp. (E-F)



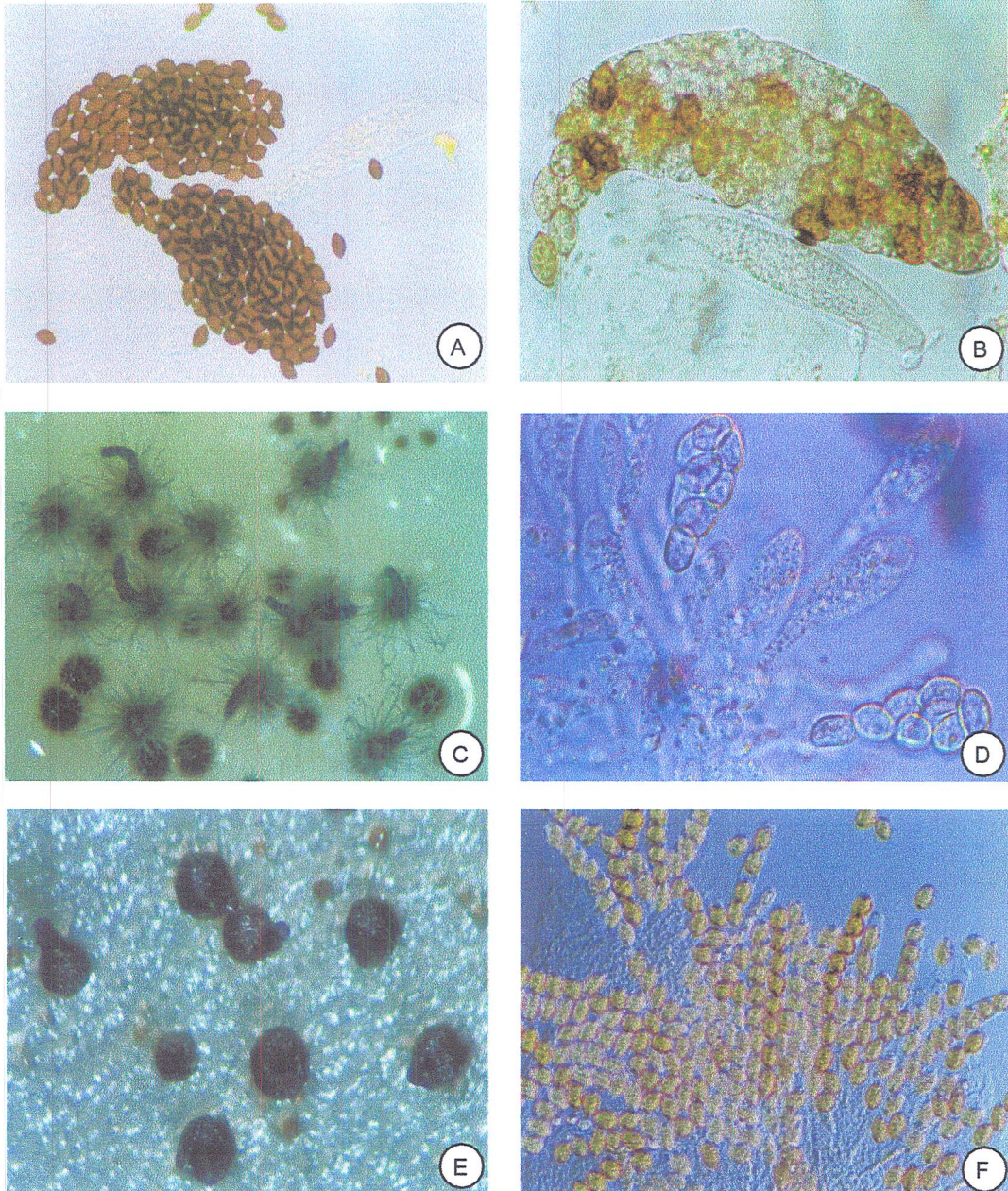
ภาพที่ 5 *Saccobolus glaber* ภาพถ่ายจาก stereo microscope แสดง ascomata, asci และ ascospores (A, C) ภาพถ่ายจาก light microscope แสดง asci และ ascospores (B, D) *Ascobolus albidus* (E-F)



ภาพที่ 6 *Gelasinospora indica* ภาพถ่าย ascomata, asci และ ascospores จาก light microscope (A-B) และ SEM photomicrographs (C-F)



ภาพที่ 7 *Gelasinospora brevispora* ภาพถ่าย ascomata , asci และ ascospores จาก light microscope (A-D) , SEM photomicrographs (E) และ camera lucida drawing (F)



ภาพที่ 8 ภาพถ่ายแสดง ascomata , asci และ ascospores จาก light and stereo microscope ของรา *Podospora setosa* (A-B) , *Chaetomium globosum* (C-D) และ *Sordaria fimicola* (E-F)

การเป็นปฏิปักษ์ของรา coprophilous ascomycetes ต่อราสาเหตุโรคพืช

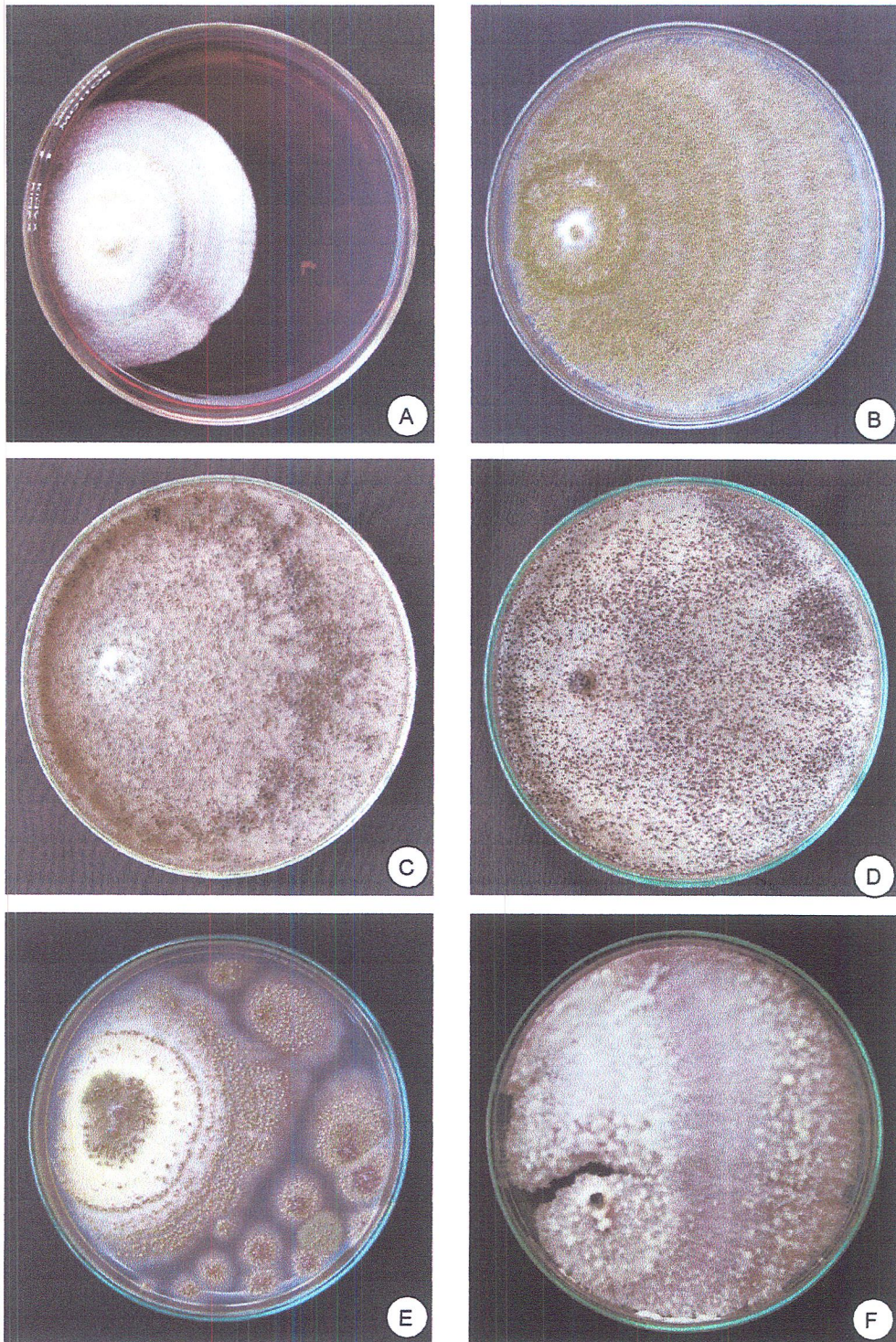
คัดเลือกรา coprophilous ascomycetes ที่แยกได้จากมูลสัตว์ จำนวน 6 สายพันธุ์ (ตารางที่ 2) เพื่อใช้ในการทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ต่อราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิด (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 2 รา coprophilous ascomycetes ที่ใช้ในการทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ต่อราสาเหตุโรคพืช

No.	KUFC	Fungal species	Dung	Location
1	7359	<i>Chaetomium cupreum</i>	elephant	Phu Luang Wildlife Sanctuary, Loei
2	7377	<i>Chaetomium globosum</i>	barking deer	Khao Yai National Park, Nakhon Ratchasima
3	5645	<i>Gelasinospora brevispora</i>	barking deer	Phu Luang Wildlife Sanctuary, Loei
4	6344	<i>Gelasinospora indica</i>	barking deer	Phu Luang Wildlife Sanctuary, Loei
5	5707	<i>Emericella varicolor</i>	barking deer	Phu Luang Wildlife Sanctuary, Loei
6	6345	<i>Hamigera avellanea</i>	elephant	Khao Yai National Park, Nakhon Ratchasima

ตารางที่ 3 ราสาเหตุโรคพืชที่ใช้ในการทดสอบ

No.	Plant pathogenic fungi	Host plant
1	<i>Phytophthora palmivora</i>	<i>Durio zibethinus</i> (durian)
2	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Solanum lycopersicum</i> (tomato)
3	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Pyrus pyrifolia</i> (pear)
4	<i>Curvularia lunata</i>	<i>Zea mays</i> (corn)
5	<i>Helminthosporium maydis</i>	<i>Zea mays</i> (corn)
6	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	<i>Capsicum annuum</i> (chili)
7	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	<i>Mangifera indica</i> (mango)
8	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Oryza sativa</i> (rice)
9	<i>Sclerotium rolfsii</i>	<i>Colocasia esculenta</i> (taro)



ภาพที่ 9 โคลนีสของรา coprophilous ascomycetes ที่ใช้ในการทดสอบ: *Chaetomium cupreum* (A), *C. globosum* (B), *Gelasinospora brevispora* (C), *G. indica* (D), *Emericella varicolor* (E) และ *Hamigera avellanea* (F)

ผลการทดลองพบว่ารา coprophilous ascomycetes 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Gelasinospora brevispora* และ *Gelasinospora indica* แยกได้จากมูลกิ้ง ในเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าภูหลวง จ. เลย ให้ผลในการยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืชที่สูงสุด โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *Heminthosporium maydis* สาเหตุโรคใบไหม้ข้าวโพด และ *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งมากกว่า 80% กล่าวคือ รา *G. brevispora* มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งรา *H. maydis* และ *F. oxysporum* เท่ากับ 85.12% และ 82.98% ตามลำดับ เช่นเดียวกับ รา *G. indica* ที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งรา *H. maydis* และ *F. oxysporum* เท่ากับ 85.95% และ 82.27% ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า รา *G. brevispora* และ *G. indica* ยังสามารถยับยั้งรา *Alternaria alternate* สาเหตุโรคผลเน่าของสาลี่ได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 72.70% และ 72.44% ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

เป็นที่น่าสังเกตว่ารา *G. brevispora* และ *G. indica* นอกจากจะยับยั้งการเจริญของรา *H. maydis*, *F. oxysporum* และ *A. alternate* ได้ดีแล้ว ราทั้งสองชนิดนี้ยังสามารถยับยั้งการเจริญของรา *Phytophthora palmivora*, *Curvularia lunata* และ *Colletotrichum gloeosporioides* โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งมากกว่า 50% แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของรา *Lasiodiplodia theobromae*, *Rhizoctonia solani* และ *Sclerotium rolfsii* ได้ (ตารางที่ 4) เนื่องจากเส้นใยของราโรคพืชทั้ง 3 ชนิดนี้มีการเจริญอย่างรวดเร็ว และเจริญคลุมทับโคโลนียของรา *G. brevispora* และ *G. indica* ได้ทั้งหมด

สามารถยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืชที่ใช้ทดสอบทั้ง 5 สายพันธุ์ได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ โดยสามารถยับยั้งรา *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวของกล้วยไม้ได้ดีที่สุดคือ 82.98 และ 82.27 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รองลงมาได้แก่ *Alternaria alternata* (72.70 และ 72.44 เปอร์เซ็นต์) และ *Curvularia lunata* (63.05 และ 62.50 เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่ 4)

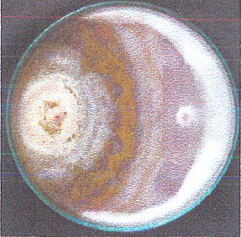


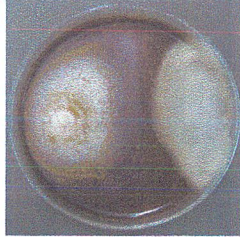
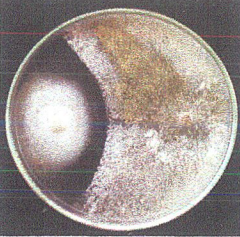
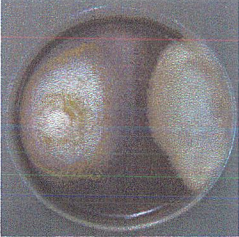
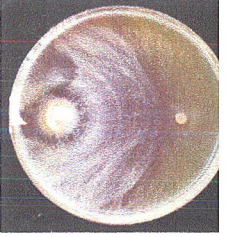
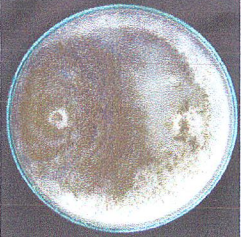



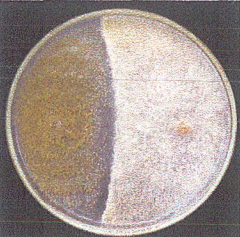








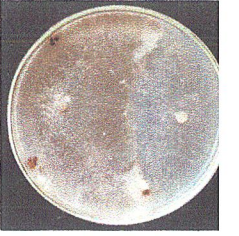
ราที่น่าสนใจอีกชนิดหนึ่งได้แก่รา *Emericella varicolor* ซึ่งเป็น perfect state ของรา *Aspergillus* species ที่แยกได้จากมูลกิ้ง ในเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าภูหลวง จ. เลย สามารถยับยั้งการเจริญของรา *H. maydis* ได้มากถึง 85.12% แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืชชนิดอื่นที่ใช้ในการทดลอง (ตารางที่ 4)

ราที่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืชได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้อยกว่า 50% ได้แก่ *Chaetomium cupreum*, *C. globosum* และ *Hamigera avellanea* (ตารางที่ 4)



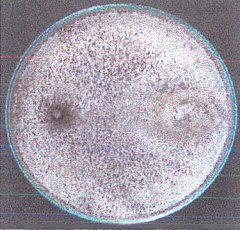
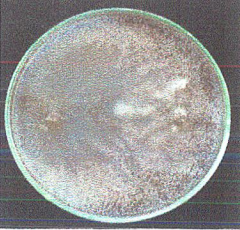

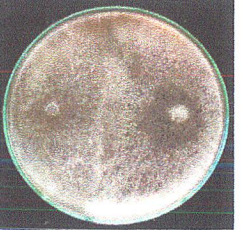
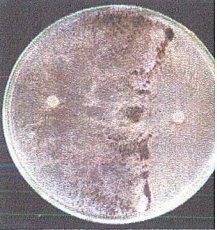

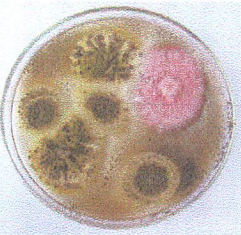
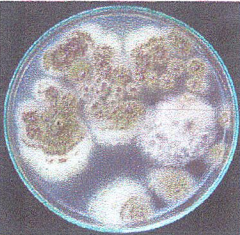
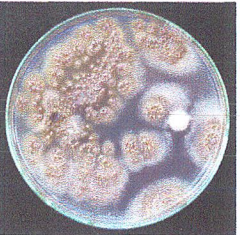





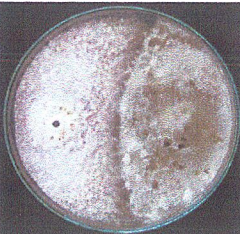


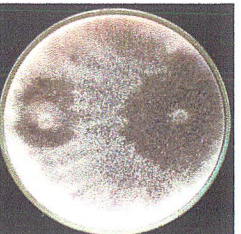
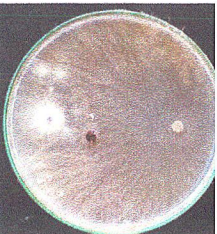
ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืชโดยเชื้อราปฏิปักษ์ coprophilous ascomycetes ในห้องปฏิบัติการ

No.	KUFC	Fungal species	% inhibition of plant pathogens								
			<i>Phytophthora</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Curvularia</i>	<i>Helminthosporium</i>	<i>Colletotrichum</i>	<i>Lasiodiplodia</i>	<i>Rhizoctonia</i>	<i>Sclerotium</i>
1	7359	<i>Chaetomium cupreum</i>	40.63	34.04	19.29	17.00	26.45	67.66	15.15	0	0
2	7377	<i>Chaetomium globosum</i>	29.69	28.37	23.56	20.12	48.75	64.01	24.24	0	0
3	5645	<i>Gelasinospora brevispora</i>	57.51	<u>82.98</u>	<u>72.70</u>	63.05	<u>85.12</u>	58.04	28.48	0	0
4	6344	<i>Gelasinospora indica</i>	57.87	<u>82.27</u>	<u>72.44</u>	62.50	<u>85.95</u>	62.13	33.33	37.58	0
5	5707	<i>Emericella varicolor</i>	21.88	50.35	62.27	57.45	<u>85.12</u>	12.48	33.33	24.61	0
6	6345	<i>Hamigera avellanea</i>	13.44	61.70	23.56	23.12	44.63	11.02	18.18	0	0

ตารางที่ 5 การทดสอบโดยใช้รา coprophilous ascomycetes ในการเป็นปฏิปักษ์ต่อราสาเหตุโรคพืช

Coprophilous ascomycetes	Efficacy of coprophilous ascomycetes to inhibit mycelial growth of plant pathogenic fungi <i>in vitro</i>						
	<i>Phytophthora</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Helminthosporium</i>	<i>Colletotrichum</i>	<i>Lasiodiplodia</i>	<i>Rhizoctonia</i>
<i>C. cupreum</i>							
<i>C. globosum</i>							
<i>G. brevispora</i>							

ตารางที่ 5 (ต่อ)

Coprophilous ascomycetes	Efficacy of coprophilous ascomycetes to inhibit mycelial growth of plant pathogenic fungi <i>in vitro</i>						
	<i>Phytophthora</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Helminthosporium</i>	<i>Colletotrichum</i>	<i>Lasiodiplodia</i>	<i>Rhizoctonia</i>
<i>G. indica</i>							
<i>E. varicolor</i>							
<i>H. avellanea</i>							

สรุป

พบรา coprophilous ascomycetes จากมูลสัตว์ 6 ชนิด จำนวน 76 ตัวอย่างจากอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ จ. นครราชสีมา เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าภูหลวง จ. เลย และ อุทยานแห่งชาติหมู่เกาะอ่างทอง จ. สุราษฎร์ธานี พบราจำนวน 69 สายพันธุ์ จำแนกได้ 18 สกุล 25 ชนิด ได้แก่ *Ascodesmis macrospora*, *Ascobolus albidus*, *Cercophora* sp., *Chaetomium cupreum*, *C. globosum*, *Chaetomium* sp., *Coprotus* sp.1, *Coprotus* sp.2, *Emericella nidulans*, *E.variecolor*, *Eupenicillium parvum*, *Eupenicillium* sp., *Eurotium amstelodami*, *Gelasinospora brevispora*, *G. indica*, *Hamigera avellanea*, *Neosartorya fischeri*, *Podospora setosa*, *Saccobolus glaber*, *Sordaria fimicola*, *Sporormiella minima*, *Talaromyces bacillisporus*, *T. flavus*, *Thielavia terricola* และ *Xylaria* sp. ราที่พบมากที่สุดคือ *S. minima* รองลงมา *S. fimicola* และ *C. globosum* ราที่มีรายงานพบครั้งแรกในประเทศไทยจากการศึกษาค้นคว้านี้ได้แก่ *P. setosa* แยกได้จากมูลช้าง ในเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าภูหลวง จ. เลย

การศึกษากการเป็นปฏิปักษ์ต่อราสาเหตุโรคพืช พบว่ารา *G. brevispora* และ *G. indica* แยกได้จากมูลก้าง ในเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าภูหลวง จ. เลย สามารถยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืชได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งรา *Heminthosporium maydis* สาเหตุโรคใบไหม้ข้าวโพด และ *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ มากกว่า 80% และยับยั้งการเจริญของรา *Alternaria alternate* สาเหตุโรคผลเน่าของสาลี่ ได้มากกว่า 70% รา *E. variecolor* สามารถยับยั้งการเจริญของรา *H. maydis* ได้มากกว่า 80 % เช่นกัน ในขณะที่รา *C. cupreum*, *C. globosum* และ *H. avellanea* ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืชได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้อยกว่า 50%

ข้อเสนอแนะ

ในส่วนข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคต ข้าพเจ้ามีความประสงค์จะทดสอบประสิทธิภาพของรา *Gelasinospora brevispora* และ *G. indica* ต่อไป โดยศึกษาความเป็นไปได้ในการนำราชนิดนี้ไปใช้ในสภาพแปลงปลูก รวมถึงความเป็นไปได้ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากจุลินทรีย์ในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี และนำราที่แยกได้เป็นสายพันธุ์บริสุทธิ์แล้วมาทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นปฏิปักษ์ต่อราสาเหตุโรคพืชต่อไป เพื่อเพิ่มทางเลือกในการใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ และเป็นการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรธรรมชาติให้คุ้มค่า