

ผลของราเอนโดไฟต์ที่สร้างกรดอินโดลอะซิติกต่อการเติบโตของต้นกล้ากระเจี๊ยบเขียว ในดินที่ปนเปื้อนไกลโฟเสต

Effects of Indoleacetic Acid-Producing endophytic Fungi on Growth of Okra Seedling in Glyphosate-Contaminated Soil

ปิยะ ยงจอหอ, วราภรณ์ ฉุยฉาย และ วิไลลักษณ์ โคมพันธุ์*

สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์ อ.เมือง จ.นครสวรรค์ 60000

*Email: wililuck_12@hotmail.com

บทคัดย่อ

ศึกษาผลของราเอนโดไฟต์ที่สร้างกรดอินโดลอะซิติก (IAA) ต่อการเติบโตของกระเจี๊ยบเขียวที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนไกลโฟเสต 40 มิลลิโมลต่อกิโลกรัม โดยราเอนโดไฟต์ที่สามารถสร้าง IAA ได้ คือ Bb6 และ Bb7 สร้าง IAA ได้ 1.40×10^{-3} และ 0.56×10^{-3} โมลาร์ ตามลำดับ ซึ่งราเอนโดไฟต์ทั้งสองสายพันธุ์นั้นเมื่อจัดจำแนกชนิดแล้วพบว่าเป็น *Corynespora cassiicola* และ *Colletotrichum gloeosporioides* ตามลำดับ จากนั้นนำเมล็ดของกระเจี๊ยบเขียวมากระตุ้นด้วยน้ำเลี้ยงราเอนโดไฟต์ คือ 1) แช่ด้วยน้ำกลั่นและรดด้วยน้ำประปา (T1) 2) แช่ด้วยอาหารเหลวเลี้ยงราและรดด้วยน้ำประปา (T2) 3) แช่ด้วยน้ำกลั่นและรดด้วยอาหารเหลวเลี้ยงรา เมื่อเมล็ดเริ่มงอก 1 ครั้ง (T3) 4) แช่และรดด้วยอาหารเหลวเลี้ยงรา เมื่อเมล็ดเริ่มงอก 1 ครั้ง (T4) 5) แช่ด้วยอาหาร PDB ผสมทริปโตเฟน 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (PDB+T) และรดด้วยน้ำประปา (T5) และ 6) แช่ด้วยน้ำกลั่นและรดด้วยอาหาร PDB+T เมื่อเมล็ดเริ่มงอก 1 ครั้ง (T6) เมล็ดจากแต่ละแบบนำไปเพาะทั้งในดินที่ปนเปื้อนและไม่ปนเปื้อนไกลโฟเสต ปลูกเป็นเวลา 13 วัน พบว่า ในดินที่ปนเปื้อนไกลโฟเสต อาหารเหลวเลี้ยง *C. cassiicola* ไม่สามารถส่งเสริมการเจริญของกระเจี๊ยบเขียวได้ แต่การแช่ด้วยอาหารเหลวเลี้ยงราและรดด้วยน้ำประปาการแช่และรดด้วยอาหารเหลวเลี้ยงรา และการแช่ด้วยอาหาร PDB+T และรดด้วยน้ำประปาทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์เอของกระเจี๊ยบเขียว ที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนไกลโฟเสตไม่แตกต่างกับดินที่ไม่ปนเปื้อนไกลโฟเสต เมื่อเปรียบเทียบการกระตุ้นเมล็ดกระเจี๊ยบเขียวในดินที่ปนเปื้อนไกลโฟเสตเพียงอย่างเดียว พบว่าช่วยส่งเสริมการสร้างคลอโรฟิลล์เอ และคลอโรฟิลล์บีได้ โดยการกระตุ้นเมล็ดด้วยการแช่และรดด้วยอาหารเหลวเลี้ยงรา ทำและการแช่ด้วยอาหารเหลวเลี้ยงราและรดด้วยน้ำประปา ในขณะที่ *C. gloeosporioides* ไม่ส่งเสริมการเติบโตของยอดราก และการสร้างคลอโรฟิลล์ของกระเจี๊ยบเขียวได้ ดังนั้นอาหารเหลวเลี้ยง *C. gloeosporioides* ไม่สามารถส่งเสริมการเจริญของกระเจี๊ยบเขียว แต่อาหารเหลวเลี้ยง *C. cassiicola* สามารถป้องกันการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ เอ ของกระเจี๊ยบเขียวที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนไกลโฟเสต 40 มิลลิโมลต่อกิโลกรัม ได้

คำสำคัญ: ความเป็นพิษต่อพืช ราเอนโดไฟต์ สารกำจัดวัชพืช ออกซิน

Abstract

The effect of indoleacetic acid (IAA) produced by endophytic fungi, Bb6 and Bb7, on okragrowth in 40 mmol/kg glyphosate contaminated soil was studied. The IAA concentrations produced by Bb6 and Bb7 were 1.40×10^{-3} and 0.56×10^{-3} M, respectively and these endophytic fungi were identified as *Corynespora cassiicola* and *Colletotrichum gloeosporioides*. There were 6 for seed induction; 1) imbibed with distilled water and irrigated with tap water (T1) 2) imbibed with fungal medium and irrigated with tap water (T2) 3) imbibed with distilled water and watered once with fungal medium after germination (T3) 4) imbibed and watered once with fungal

medium after germination (T4) 5) imbibed with containing tryptophan 2 mg/ml (PDB+T) and irrigated with tap water (T5) 6) imbibed with distilled water and watered once with PDB+T after germination (T6). Seeds from each induction were sown in both soils for 13 days. In glyphosate-contaminated soil, *C. cassicola* medium did not affect plant growth but chlorophyll a contents were not different in T2, T4 and T5 when compared with non-contaminated soil and seedling from T2 and T4 increased chlorophyll a and b contents in leaves. For *C. gloeosporioides*, all methods did not enhance any growth of okra seedling. Seed induction with *C. cassicola* medium could protect chlorophyll a content in glyphosate-contaminated soil.

Keywords: Phytotoxicity; Endophytic fungi; Herbicide; Auxin

บทนำ

สารกำจัดวัชพืชที่เกษตรกรนิยมใช้กันมากคือ ไกลโฟเสต มีชื่อทางการค้าว่า ราวด์อัฟ (Roundup) [1] จากรายงานการนำเข้าสารเคมีทางการเกษตร พบว่าประเทศไทยมีการนำเข้าสารกำจัดวัชพืชมากถึง 106,860 ตัน คิดเป็นมูลค่าสูงถึง 11,294 ล้านบาท [2] ดังนั้นเมื่อมีการใช้สารกำจัดวัชพืช โดยเฉพาะไกลโฟเสตเป็นจำนวนมากจึงทำให้เกิดการตกค้างในดิน แหล่งน้ำหรือเศษซากพืช ซึ่งในเศษซากพืชจะตกค้างได้นานถึง 170 วัน [3] โดยมีรายงานพบการตกค้างของไกลโฟเสต และกรดอะมิโนเมทิลฟอสฟอริก (Aminomethylphosphosphoric acid) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายไกลโฟเสตในดินของประเทศบราซิลสูงถึง 35 – 1,502 และ 299 – 2,256 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ [4] ในประเทศสหรัฐอเมริกาพบการตกค้างของไกลโฟเสตและกรดอะมิโนเมทิลฟอสฟอริก ในลำธารและระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานบำบัดน้ำเสียในระดับความเข้มข้น 2.2 และ 3.9 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ [5] การตกค้างของไกลโฟเสตส่งผลต่อการเติบโตของพืชหลายประการที่สำคัญ คือ ไกลโฟเสตจะไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 5-enolpyruvylshikimic acid-3-phosphate synthase (EPSPS) ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์กรดอะมิโนที่มีหมู่อะโรมาติกเป็นองค์ประกอบและ การสังเคราะห์สารในกลุ่มฟีนอลิก [6] ลดปริมาณคลอโรฟิลล์ [7] และลดระดับของธาตุอาหาร เช่น เหล็ก แคลเซียม แมงกานีส และแมกนีเซียมในใบ [8] ซึ่งส่งผลต่อผลผลิตทางการเกษตรของพืชเศรษฐกิจในระยะยาวได้ การใช้จุลินทรีย์ที่ผลิตกรดอินโดลอะซีติก (IAA) ได้ โดยเฉพาะ

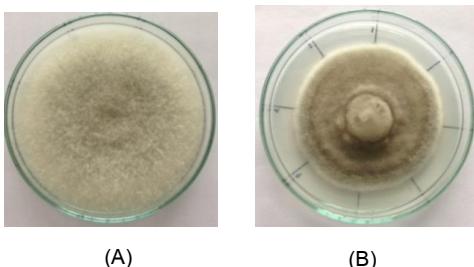
แบคทีเรียในการส่งเสริมการเติบโตของพืชในสภาวะที่มีการปนเปื้อนสารมลพิษได้มีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง ข้อดีของออกซินในการเพิ่มความทนทานและความสามารถในการฟื้นฟูสภาพแวดล้อมของพืชนั้นได้แก่ การกระตุ้นการเจริญที่ปลายรากทำให้มีพื้นที่ผิวรากเพิ่มขึ้นซึ่งส่งผลให้เพิ่มความสามารถในการลำเลียงธาตุอาหารหรือดูดซึมสารมลพิษรวมทั้งการหลั่งสารจากรากพืชด้วย [9] นอกจากแบคทีเรีย เชื้อราหลายชนิดสามารถสร้าง IAA ได้เช่นกัน โดยเฉพาะราในสกุล *Fusarium*, *Rhizopus*, *Aspergillus* และ *Trichoderma* เป็นต้น [10] ราเอนโดไฟต์เป็นเชื้อราอีกกลุ่มหนึ่งที่สามารถสร้าง IAA ได้ โดยรายงานวิจัยของ Chutima and Lumyong (2012) [11] พบว่า ราเอนโดไฟต์ที่คัดแยกจากรากของกล้วยไม้สามารถสร้าง IAA ที่ส่งเสริมการเติบโตของรากและยอดของต้นกล้วยไม้ นอกจากนี้ยังส่งเสริมการงอกของเมล็ดข้าวโพด และเพิ่มความยาวของรากของข้าวโพดได้ อย่างไรก็ตามการใช้ราเอนโดไฟต์ส่งเสริมการเติบโตของพืชในสภาวะที่มีการปนเปื้อนสารมลพิษนั้นยังไม่มีการศึกษา โดยเฉพาะเชื้อราที่สามารถส่งเสริมการเติบโตของพืชในสภาวะปนเปื้อนสารมลพิษได้ นอกจากจะทนทานต่อสารมลพิษได้แล้วจะต้องสามารถส่งเสริมการเติบโตของพืชในสภาวะที่มีการปนเปื้อนได้ด้วย ดังนั้นการศึกษานี้จึงนำราเอนโดไฟต์ที่ทดสอบเบื้องต้นแล้วว่าสามารถเจริญและสร้าง IAA ในอาหารเหลวที่ผสมไกลโฟเสตได้มาทดสอบการส่งเสริมการเติบโตของกระเจี๊ยบเขียวทั้งในสภาวะที่ปนเปื้อนและไม่ปนเปื้อนไกลโฟเสต โดยเปรียบเทียบระหว่างวิธีการที่กระเจี๊ยบเขียวสัมผัสกับราเอนโดไฟต์ต่างกัน ซึ่งข้อมูลที่ได้นี้จะเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรใน

การเพิ่มผลผลิตทางการเกษตรทั้งในสภาวะที่มีและไม่มี
การปนเปื้อนไกลโฟเสตต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

ราเอนโดไฟต์ที่ใช้ในการวิจัย

ราเอนโดไฟต์ที่ใช้ในการวิจัยคัดแยกจากส่วน
ใบรางจืดเก็บตัวอย่างจากพื้นที่อำเภอลำสนธิ จังหวัด
ชุมพร คัดแยกโดยตัดใบให้มีขนาด 5×5 มิลลิเมตร ฟอก
ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 3 นาที แช่
ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 5% เป็นเวลา 3 นาที
และแช่ในแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 1 นาที ล้างด้วยน้ำ
กลั่นที่ปลอดเชื้อ จำนวน 3 ครั้งๆ ละ 1 นาที เก็บน้ำล้าง
ชิ้นส่วนพืชครั้งสุดท้าย มาเกลี่ยลงบนผิวหน้าอาหาร
PDA เพื่อใช้สำหรับคัดกรองราเบื้องต้น นำชิ้นส่วนใบวาง
ลงบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิห้อง (35-37 องศา
เซลเซียส) คัดแยกราที่แทงเส้นใยออกมาจากชิ้นส่วน
ของพืช โดยราที่คัดแยกออกมานี้จะต้องไม่ซ้ำกับราที่พบ
ในน้ำล้างชิ้นส่วนพืช จากนั้นทดสอบเบื้องต้นพบ
ราเอนโดไฟต์ที่สามารถเจริญและสร้าง IAA ในอาหาร
เหลวที่ผสมไกลโฟเสตความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ ได้
คือ Bb6 และ Bb7 เมื่อตรวจวิเคราะห์ลำดับเบสบริเวณ
internal transcribed spacer (ITS) พบว่า Bb6 คือ
Corynespora cassicola และ Bb7 คือ *Colletotrichum*
gloeosporioides (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 ลักษณะของ *C. cassicola* (A) และ

C. gloeosporioides (B)

การเตรียมอาหารเหลวเลี้ยงราเอนโดไฟต์ที่สร้าง กรดอินโดลอะซิติก

เลี้ยงราทั้งสองชนิดในอาหาร potato dextrose
broth ผสมทริปโตเฟนความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อ
มิลลิลิตร (PDB+T) โดยใช้ที่เจาะจุกคอร์กขนาดเส้นผ่าน
ศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะบริเวณขอบโคโลนีของรา
จำนวน 5 ชิ้น ใส่ลงในอาหาร PDB+T เขย่าที่ความเร็ว
150 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง (31-34 องศาเซลเซียส)
เป็นเวลา 13 วัน จากนั้นปั่นเหวี่ยงความเร็ว 1,409×g
เป็นเวลา 30 นาทีและเก็บส่วนใสด้านบนมาตรวจวัด
ปริมาณ IAA ในอาหารเหลวเลี้ยงราด้วยวิธีการวัดสี
(Colorimetric assay) โดยดูดส่วนใส 2 มิลลิลิตรหยดกราด
ออร์โธฟอสฟอริก 2 หยด เติม Salkowski reagent 4
มิลลิลิตร จากนั้นดูการเปลี่ยนแปลงของสี ถ้าเกิดสีชมพู
แสดงว่ามีการสร้าง IAA จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืน
แสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร เพื่อเปรียบเทียบกับ
สารละลาย IAA มาตรฐาน (5-100 มิลลิกรัมต่อ
มิลลิลิตร) [12] และนำอาหารเหลวเลี้ยงราไปใช้ใน
ขั้นตอนต่อไป

การเตรียมดินที่ปนเปื้อนไกลโฟเสต

เตรียมดินสำหรับเพาะเมล็ดโดยแบ่งดิน
ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ไม่ผสมไกลโฟเสต และ
กลุ่มที่ 2 ผสมไกลโฟเสต (ไกลโฟเสต 48 มีสารออกฤทธิ์
36 เปอร์เซ็นต์; บริษัท มอนซานโต้ ไทยแลนด์ จำกัด)
ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลต่อกิโลกรัม ซึ่งดินแต่ละชนิดใส่
กระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10.5
เซนติเมตร จำนวน 30 กระถางๆ ละ 350 กรัม

การทดสอบผลของอาหารเหลวเลี้ยงราที่สร้างกรด อินโดลอะซิติกต่อการเติบโตของกระเจี๊ยบเขียว

จากการทดสอบเบื้องต้นโดยนำเมล็ดพืช
มาเพาะในดินที่ผสมไกลโฟเสตที่ความเข้มข้น 10-50
มิลลิโมลต่อกิโลกรัม เป็นเวลา 5 วัน พบว่า กระเจี๊ยบ
เขียวสามารถทนต่อไกลโฟเสตที่ความเข้มข้น 10-40
มิลลิโมลต่อกิโลกรัม ได้ จึงนำกระเจี๊ยบเขียวมาทดสอบ
กับน้ำเลี้ยงราเอนโดไฟต์ โดยวางแผนการทดลองแบบ
สุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design:
CRD) 2 ปัจจัย 2x6 คือ ระดับ การปนเปื้อนไกลโฟเสต 2
ระดับ (0 และ 40 มิลลิโมลต่อกิโลกรัม) และวิธีการกระตุ้น

เมล็ดด้วย IAA จากราเอนโดไฟต์ ซึ่งแบ่งออกเป็น 6 ระดับ คือ

1) แช่ด้วยน้ำกลั่นและรดด้วยน้ำประปา ตลอดระยะเวลาการทดสอบ (T1)

2) แช่ด้วยอาหารเหลวเลี้ยงราและรดด้วยน้ำประปาตลอดระยะเวลาการทดสอบ (T2)

3) แช่ด้วยน้ำกลั่นและรดด้วยอาหารเหลวเลี้ยงราเมื่อเมล็ดเริ่มงอก 1 ครั้ง (T3)

4) แช่และรดด้วยอาหารเหลวเลี้ยงรา เมื่อเมล็ดเริ่มงอก 1 ครั้ง (T4)

5) แช่ด้วยอาหาร PDB ผสมทริปโตเฟน ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (PDB+T) และรดด้วยน้ำประปาตลอดระยะเวลาการทดสอบ (T5)

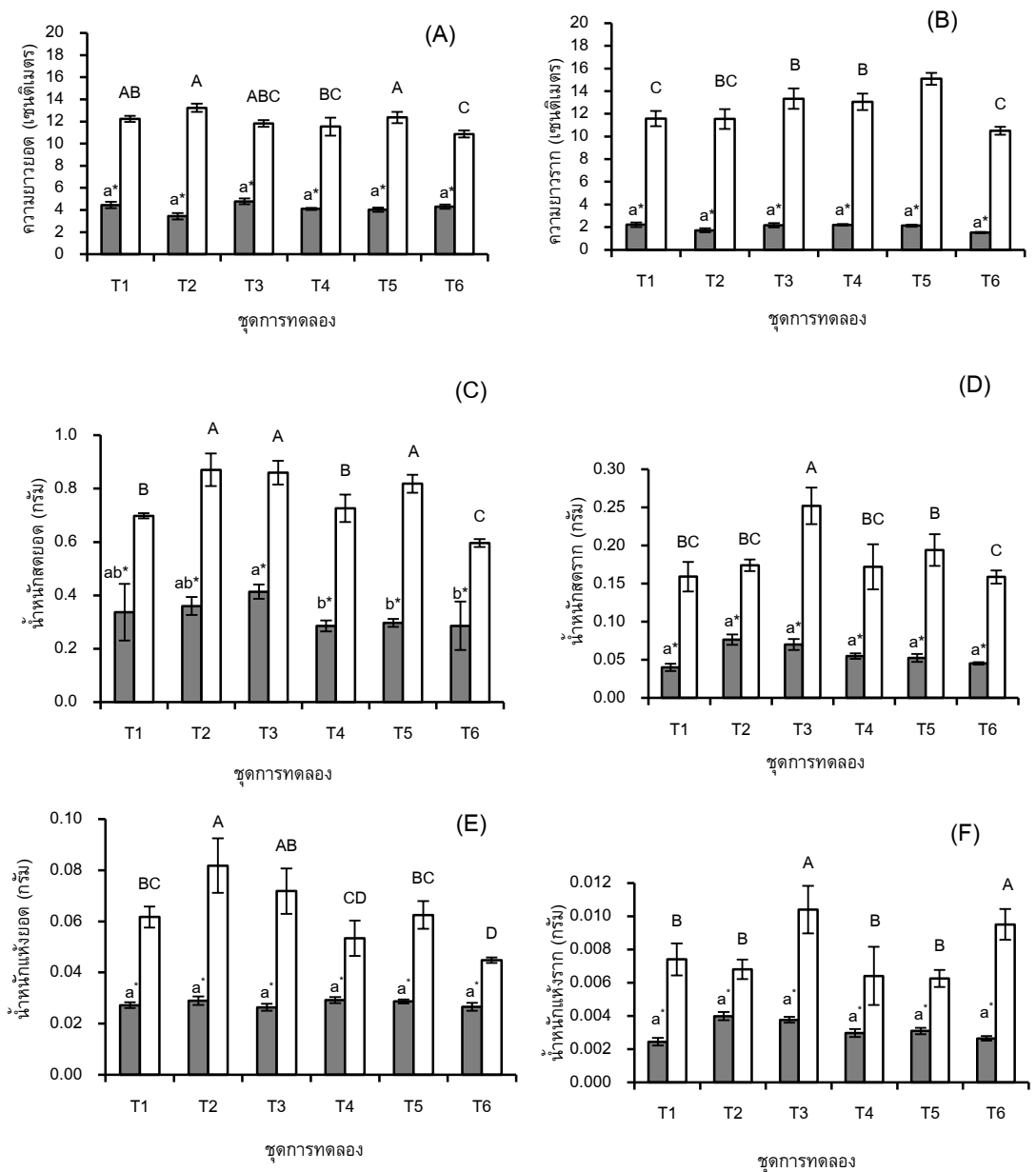
6) แช่ด้วยน้ำกลั่นและรดด้วยอาหาร PDB+T เมื่อเมล็ดเริ่มงอก 1 ครั้ง (T6)

ฆ่าเชื้อที่ผิวของเมล็ดกระเจี๊ยบเขียว (บริษัท อีสท์เวสต์ ซีด จำกัด จ.นนทบุรี) ด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) และล้างออกด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ จากนั้นนำเมล็ดแช่ในน้ำกลั่น หรือ PDB+T หรืออาหารเหลวเลี้ยงราตามที่กำหนดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำเมล็ดเพาะลงในดินทั้ง 2 กลุ่ม รดน้ำทุกวัน ยกเว้นชุดการทดลองที่มีการรดด้วย PDB+T หรืออาหารเหลวเลี้ยงรา เมื่อเมล็ดเริ่มงอกรดด้วย PDB+T หรืออาหารเหลวเลี้ยงราปริมาณ 30 มิลลิลิตร 1 ครั้ง จากนั้นรดน้ำเป็นปกติทุกวัน เป็นเวลา 13 วัน ในแต่ละชุดการทดลองทำการทดลอง 5 ซ้ำๆ ละ 3 เมล็ดเมื่อครบกำหนดบันทึกความยาวยอดและราก น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งของยอดและราก และปริมาณคลอโรฟิลล์ ตามวิธีของ [13] วิเคราะห์ความแปรปรวนด้วย Two way-ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยรายคู่ด้วย LSD โดยโปรแกรม Microsoft Office Excel

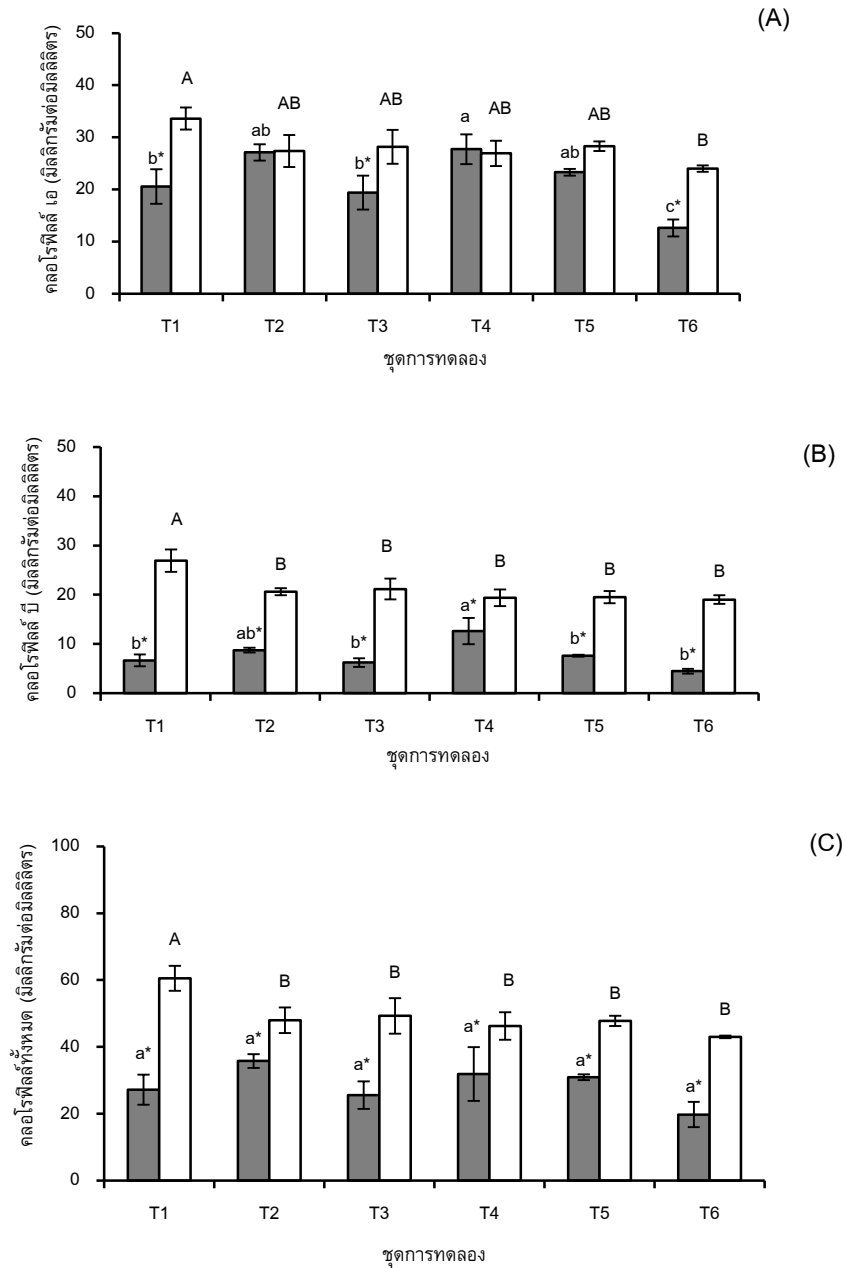
ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

ผลของอาหารเหลวเลี้ยง *Corynespora cassiicola* ต่อการเติบโตของกระเจี๊ยบเขียว

จากการตรวจวัดปริมาณ IAA ในอาหารเหลวเลี้ยงรา พบว่า สามารถสร้าง IAA ได้ 1.40×10^{-3} โมลาร์ และผลของอาหารเหลวเลี้ยงราต่อการเติบโตของกระเจี๊ยบเขียว พบว่า ในดินที่ปนเปื้อนไกลโฟเสตความเข้มข้น 40 มิลลิโมลต่อกิโลกรัมการกระตุ้นเมล็ดด้วยอาหารเหลวเลี้ยงราไม่สามารถส่งเสริมความยาว น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งของยอดและราก ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี และปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดของกระเจี๊ยบเขียวได้เมื่อเปรียบเทียบกับดินที่ไม่ปนเปื้อนไกลโฟเสต ยกเว้นปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ พบว่า การแช่ด้วยอาหารเหลวเลี้ยงราและรดด้วยน้ำประปา การแช่และรดด้วยอาหารเหลวเลี้ยงรา และการแช่ด้วยอาหาร PDB+T และรดด้วยน้ำประปาทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของกระเจี๊ยบเขียวที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนไกลโฟเสตไม่แตกต่างกับดินที่ไม่ปนเปื้อนไกลโฟเสตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบการกระตุ้นเมล็ดกระเจี๊ยบเขียวในดินที่ปนเปื้อนไกลโฟเสตเพียงอย่างเดียว พบว่าอาหารเหลวเลี้ยงราช่วยส่งเสริมการสร้างคลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ บี ได้ โดยการกระตุ้นเมล็ดด้วยการแช่และรดด้วยอาหารเหลวเลี้ยงราทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ บี เพิ่มขึ้น ซึ่งปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เพิ่มขึ้นกว่าทุกชุดการทดลอง แต่ไม่แตกต่างกับการแช่ด้วยอาหารเหลวเลี้ยงราและรดด้วยน้ำประปา กับการแช่ด้วยอาหาร PDB+T และรดด้วยน้ำประปาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์ บี เพิ่มขึ้นกว่าทุกชุดการทดลอง แต่ไม่แตกต่างกับการแช่ด้วยอาหารเหลวเลี้ยงราและรดด้วยน้ำประปาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (รูปที่ 2 และ 3)



รูปที่ 2 ผลของอาหารเหลวลี้ยง *C. cassicola* ต่อความยาวยอด (A) ความยาวราก (B) น้ำหนักยอด (C) น้ำหนักราก (D) น้ำหนักแห้งยอด (E) และน้ำหนักแห้งราก (F) ของกระเจี๊ยบเขียวที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนไกลโฟเสต (■) และไม่ปนเปื้อนไกลโฟเสต (□) และตัวอักษรต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ของกระเจี๊ยบเขียวภายในแต่ละชุดการทดลองและเครื่องหมาย * แสดงความแตกต่างของกระเจี๊ยบเขียวที่กระตุ้นด้วยชุดการทดลองเดียวกันในดินที่ปนเปื้อนไกลโฟเสตและไม่ปนเปื้อนไกลโฟเสตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

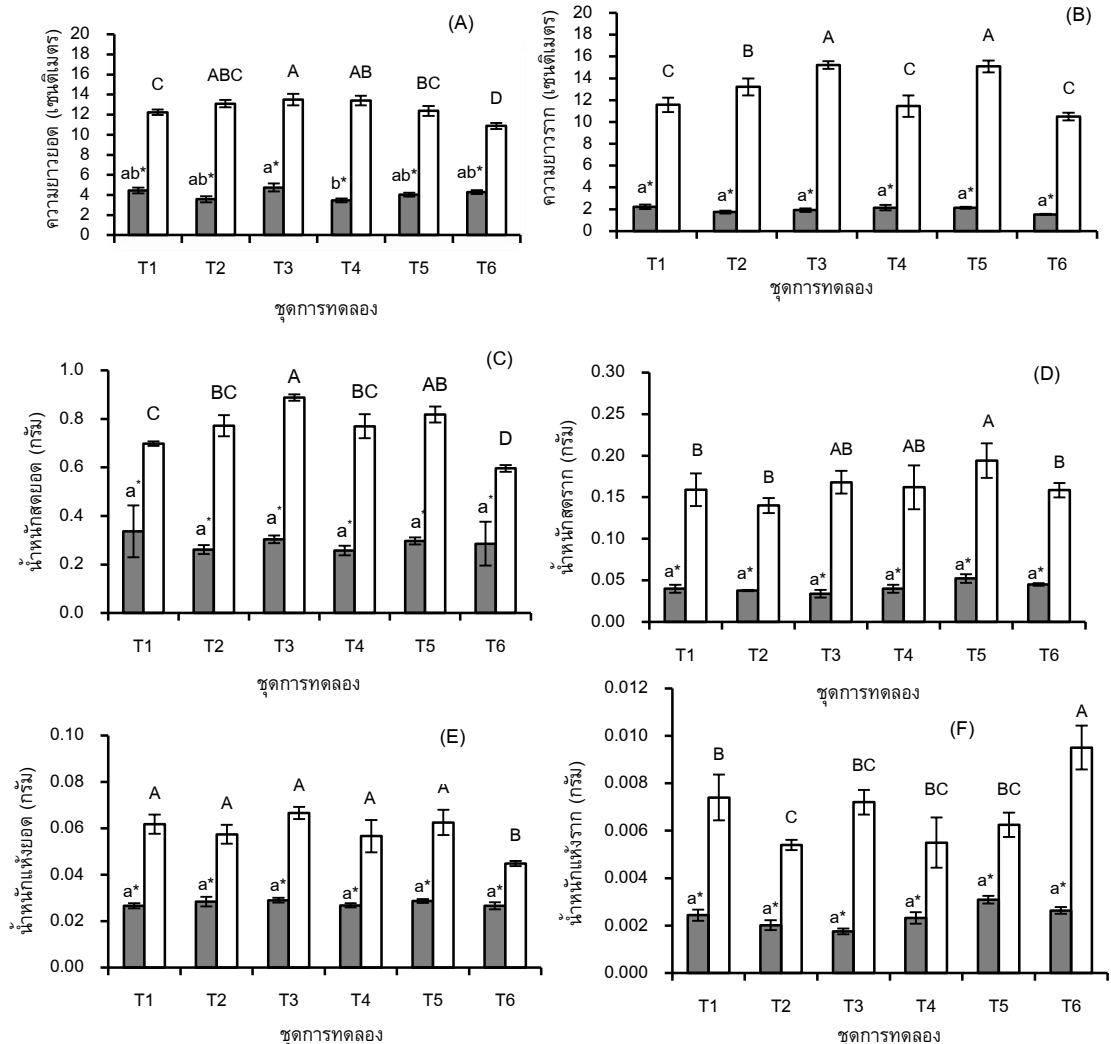


รูปที่ 3 ผลของอาหารเหลือเลี้ยง *C. cassiicola* ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (A) และปริมาณคลอโรฟิลล์ บี (B) และคลอโรฟิลล์ทั้งหมด (C) ของกระเจียวเขียวที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนไกลโฟเสต (■) และไม่ปนเปื้อนไกลโฟเสต (□) ตัวอักษรต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ของกระเจียวเขียวภายในแต่ละชุดการทดลองและเครื่องหมาย * แสดงความแตกต่างของกระเจียวเขียวที่กระตุ้นด้วยชุดการทดลองเดียวกันในดินที่ปนเปื้อนไกลโฟเสตและไม่ปนเปื้อนไกลโฟเสตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

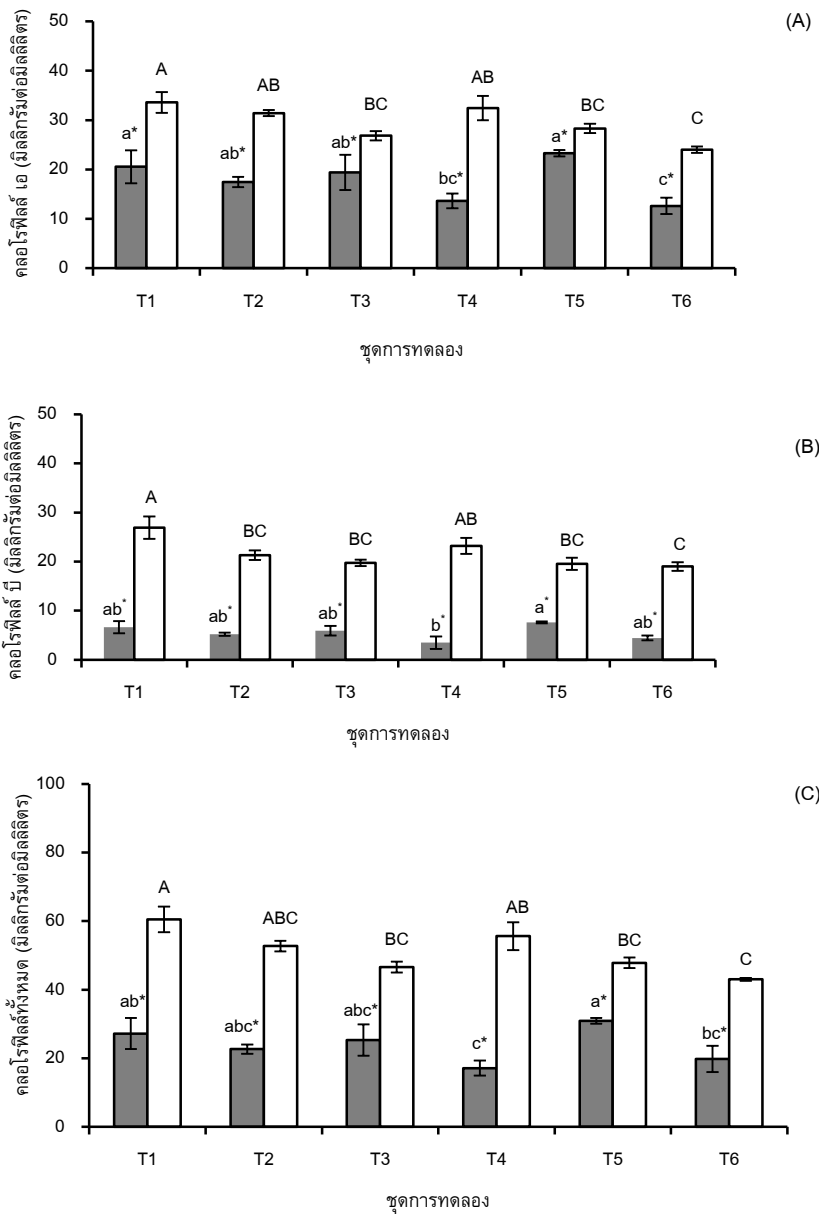
ผลของอาหารเหลวเลี้ยง *Colletotrichum gloeosporioides* ต่อการเติบโตของกระเจี๊ยบเขียว

จากการตรวจวัดปริมาณ IAA ในอาหารเหลวเลี้ยงรา *C. gloeosporioides* พบว่า สามารถสร้าง IAA ได้ 0.56×10^{-3} โมลาร์ และ ผลของ IAA จาก *C. gloeosporioides* ต่อการเติบโตของกระเจี๊ยบเขียว

พบว่า ในดินที่ปนเปื้อนไกลโฟเสต การกระตุ้นด้วยอาหารเหลวเลี้ยงรา *C. gloeosporioides* ไม่ส่งเสริมการเติบโตของยอดและราก และการสร้างคลอโรฟิลล์ของกระเจี๊ยบเขียวได้ นอกจากนี้ยังทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์ บี และคลอโรฟิลล์ทั้งหมดลดลง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (รูปที่ 4 และ 5)



รูปที่ 4 ผลของอาหารเหลวเลี้ยง *C. gloeosporioides* ต่อความยาวยอด (A) ความยาวราก (B) น้ำหนักสดยอด (C) น้ำหนักสดราก (D) น้ำหนักแห้งยอด (E) และน้ำหนักแห้งราก (F) ของกระเจี๊ยบเขียวที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนไกลโฟเสต (■) และไม่ปนเปื้อนไกลโฟเสต (□) ตัวอักษรต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ของกระเจี๊ยบเขียวที่ภายในแต่ละชุดการทดลองและเครื่องหมาย * แสดงความแตกต่างของกระเจี๊ยบเขียวที่กระตุ้นด้วยชุดการทดลองเดียวกันในดินที่ปนเปื้อนไกลโฟเสตและไม่ปนเปื้อนไกลโฟเสตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)



รูปที่ 5 ผลของอาหารเหลวเลี้ยง *C. gloeosporioides* ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (A) ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี (B) และ ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด (C) ของกระเจี๊ยบเขียวที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนไกลโฟเสต (■) และไม่ปนเปื้อน ไกลโฟเสต (□) ตัวอักษรต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ของกระเจี๊ยบเขียว ภายในแต่ละชุดการทดลองและเครื่องหมาย * แสดงความแตกต่างของกระเจี๊ยบเขียวที่กระตุ้นด้วยชุดการ ทดลองเดียวกันในดินที่ปนเปื้อนไกลโฟเสตและไม่ปนเปื้อนไกลโฟเสตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

IAA เป็นออกซินธรรมชาติที่พบในเนื้อเยื่อพืช และมีผลต่อการเติบโตของพืชนั้น อยู่ที่ 10^{-9} โมลาร์ สำหรับราก และ 10^{-5} โมลาร์ สำหรับยอด ถ้าสูงกว่านี้จะยับยั้งการเติบโตของยอดและราก [13] และการกระตุ้นเมล็ดด้วยออกซินสังเคราะห์จะส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ ดังเช่นในกรณีของการแช่เมล็ดผักกวางตุ้งในสารละลายกรดอินโดลิวไทริก (IBA) 10 มิลลิกรัมต่อลิตรแล้วเพาะในดินที่ปนเปื้อนลินเดน 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมจะทำให้หน้าหนักสตรของรากมากกว่าต้นที่มาจากเมล็ดที่แช่ในสารละลาย IBA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร [14] นอกจากนี้ IAA ธรรมชาติที่ผลิตโดยราเอนโดไฟต์สามารถส่งเสริมการเติบโตของพืชได้เช่นเดียวกัน การแช่เมล็ดค่น้ำด้วยอาหารเหลวเลี้ยงราเอนโดไฟต์ *Heteroconium chaetopira* ที่แยกได้จากกะหล่ำปลีพบว่าช่วยให้ค่น้ำเติบโตได้สมบูรณ์ แข็งแรง และช่วยเพิ่มน้ำหนักสดและแห้งของยอดได้ [15]

อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาที่พบว่า อาหารเหลวเลี้ยงราทั้งสองชนิดไม่สามารถส่งเสริมการเติบโตของต้นกล้ากระเจียวเขียวได้โดยอาหารเหลวเลี้ยง *C. gloeosporioides* ไม่สามารถส่งเสริมการสร้างคลอโรฟิลล์ได้ อาจเนื่องจากระดับของ IAA ในอาหารเหลวเลี้ยง *C. gloeosporioides* นั้นต่ำกว่าอาหารเหลวเลี้ยง *C. cassicola* จึงเป็นไปได้ที่ว่าปริมาณของ IAA นั้นไม่เพียงพอต่อการกระตุ้นการเติบโตของกระเจียวเขียวในดินที่ปนเปื้อนไกลโฟเสตแต่อาหารเหลวเลี้ยง *C. cassicola* ทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของกระเจียวเขียวที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนไกลโฟเสต ไม่แตกต่างกับดินที่ไม่ปนเปื้อนไกลโฟเสต เมื่อแช่ด้วยอาหารเหลวเลี้ยงราและรดด้วยน้ำประปาการแช่และรดด้วยอาหารเหลวเลี้ยงราและการแช่ด้วยอาหาร PDB+T และรดด้วยน้ำประปาเมื่อเปรียบเทียบการกระตุ้นเมล็ดกระเจียวเขียวในดินที่ปนเปื้อนไกลโฟเสตเพียงอย่างเดียว พบว่าอาหารเหลวเลี้ยง *C. cassicola* ช่วยส่งเสริมการสร้างคลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ บีได้ โดยการกระตุ้นเมล็ดด้วยการแช่และรดด้วยอาหารเหลวเลี้ยงรา และการแช่ด้วยอาหารเหลวเลี้ยงราและรดด้วยน้ำประปา ซึ่ง IAA นี้ เคยมีรายงานว่าช่วยรักษาระดับของรงควัตถุในทานตะวันใต้เมื่อเจริญในดินที่มีการปนเปื้อนของทองแดง 80 ไมโครโมล [16] ในขณะที่เมื่อไม่ได้ใช้สาร

ควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ไกลโฟเสตจะส่งผลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ของกระเจียวเขียว ซึ่งความเป็นพิษของไกลโฟเสตต่อปริมาณคลอโรฟิลล์นี้มีรายงานทั้งในพืชและสาหร่าย เช่น ไกลโฟเสตที่ตกค้างในดินทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ทุกชนิดลดลง เมื่อนำแตงกวาไปปลูกในดินและผสมหญ้าที่ได้รับไกลโฟเสต [3] และสาหร่าย *Scenedesmus quadricauda* Berb. 6 14 มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ลดลงถึง 64 เปอร์เซ็นต์ เมื่อสัมผัสกับไกลโฟเสตความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร [7]

ความแตกต่างของการออกฤทธิ์ของสารควบคุมการเจริญเติบโตในสภาวะที่มีและไม่มีสารมลพิษที่แตกต่างนั้น เคยมีรายงานในกรณีของการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตสังเคราะห์ เช่น การแช่เมล็ดแตงกวาในสารละลายกรดแนฟทาไลน์อะซีติก (NAA) 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร แล้วเพาะในทรายที่ปนเปื้อนเอนโดซัลแฟน ซัลเฟต 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมจะมีระดับคลอโรฟิลล์ เอ และ บี ในใบสูงกว่าต้นที่เพาะในทรายที่ไม่ปนเปื้อน [17] จึงเป็นไปได้ว่า ในการวิจัยครั้งนี้กระเจียวเขียวที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนไกลโฟเสตมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และบี เพิ่มขึ้นเนื่องจาก IAA ที่สร้างขึ้นจากราไปกระตุ้นการสร้างคลอโรฟิลล์ เอ และบี แต่อย่างไรก็ตามในอาหารเหลวเลี้ยงราอาจจะไม่ได้มีเฉพาะ IAA เพียงอย่างเดียว แต่มีสารอินทรีย์อื่นๆ ปนอยู่ด้วยจึงทำให้ราต่างชนิดกันสามารถสร้าง IAA ได้ในปริมาณที่แตกต่างกัน [18] ดังรายงานของ Hernan-Rodriguez *et al.* [19] ได้วิเคราะห์องค์ประกอบของส่วนใสจากอาหารเลี้ยง *Burkholderia capacia* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สร้าง IAA ได้ พบว่า นอกจาก IAA แล้ว ยังพบสารประกอบฟีนอลิกอื่นๆ เช่น กรดซาลิไซลิก เป็นต้น และเมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของข้าวโพด พบว่า การใช้ส่วนใสของอาหารเหลวเลี้ยง *B. capacia* ทำให้การเจริญของรากข้าวโพดดีกว่าการกระตุ้นด้วย IAA ระหว่างความเข้มข้น 10-70 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร ดังนั้น การออกฤทธิ์ที่แตกต่างระหว่างเชื้อราต่างชนิดกัน อาจเกิดจากปริมาณสารอินทรีย์อื่นๆที่เชื้อราสร้างขึ้นระหว่างการเจริญหรือจากปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารอินทรีย์เหล่านั้นกับ IAA ซึ่งจำเป็นต้องศึกษาในรายละเอียดต่อไป

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การกระตุ้นเมล็ดกระเจี๊ยบเขียวด้วยอาหารเหลวเลี้ยงราเอนโดไฟต์ที่คัดแยกจากใบของรางจืด และสามารถสร้าง IAA ได้ไม่สามารถส่งเสริมการเจริญของต้นกล้ากระเจี๊ยบเขียวที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนไกลโฟเสตได้ แต่อาหารเหลวเลี้ยง *C. cassiicola* สามารถป้องกันการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ เอ ของต้นกล้ากระเจี๊ยบเขียวได้ ดังนั้นแหล่งที่มาของราเอนโดไฟต์มีความสำคัญมากต่อการนำราเอนโดไฟต์มาใช้ประโยชน์ในการส่งเสริมการเจริญของพืชที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนไกลโฟเสต โดยควรคัดแยกราเอนโดไฟต์จากพืชมีรายงานว่าทนต่อไกลโฟเสตหรือคัดแยกจากพืชที่เติบโตในบริเวณที่มีการปนเปื้อนของไกลโฟเสตในสถานที่จริง เพื่อให้สามารถทนต่อสภาวะที่มีการปนเปื้อนของไกลโฟเสต และสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์ที่สนับสนุนสถานที่สำหรับการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- [1] ทศพล พรพรหม. 2554. **สารกำจัดวัชพืช: หลักการและกลไกการทำลาย**. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์.
- [2] สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2556. **ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าสารกำจัดศัตรูพืช**. http://www.oae.go.th/ewt_news.php?nid=146&filename=index. 25 กรกฎาคม.
- [3] วราภรณ์ ฉุยฉาย, นันทพร ธรรมทูล และชนิษฐา สมตระกูล. 2555. "ความเป็นพิษของไกลโฟเซตที่ตกค้างในดิน และซากพืชต่อการเจริญระยะต้นกล้าของแตงกวา". **วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร**. 30(1): 25-32.

- [4] Aparicio, V. C. *et al.* 2013. "Environmental Fate of Glyphosate and Aminomethylphosphonic acid in Surface Waters and Soil of Agricultural Basins". **Chemosphere**. 93: 1866-1873.
- [5] Kolpin, D. W. *et al.* 2006. "Urban Contribution of Glyphosate and Its Degrade AMPA to Streams in the United States". **Science of the Total Environment**. 354: 191-197.
- [6] Tesfamariam, T. *et al.* 2009. "Glyphosate in the Rhizosphere-Role of Waiting Times and Different Glyphosate Binding Forms in Soils for Phytotoxicity to Non-target plants". **European Journal of Agronomy**. 31: 126-132.
- [7] Wong, P. K. 2000. "Effect of 2,4-D, Glyphosate and Paraquat on Growth, Photosynthesis and Chlorophyll –a Synthesis of *Scenedesmus quadricauda* Berb 614". **Chemosphere**. 41: 177-182.
- [8] Cakmak, I. *et al.* 2009. "Glyphosate Reduced Seed and Leaf Concentrations of Calcium, Manganese, Magnesium, and Iron in Non- Glyphosate Resistant Soybean". **European journal of Agronomy**. 31: 114-119.
- [9] ชนิษฐา สมตระกูล และวราภรณ์ ฉุยฉาย. 2554. "บทบาทของแบคทีเรียกลุ่มส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในการฟื้นฟูสภาพแวดล้อมด้วยพืช". **วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม**. 7(13): 87-103.
- [10] Ma, Y. *et al.* 2011. "Plant Growth Promoting Rhizobacteria and Endophytes Accelerate Phytoremediation of Metalliferous Soils". **Biotechnology Advances**. 29: 248-258.

- [11] Chutima, R. and Lumyong, S. 2012. "Production of Indole-3-Acetic Acid by Thai Native Orchid-Associated Fungi". **Symbiosis**. 56: 35-44.
- [12] Tsavkelova, E. *et al.* 2012. "Identification and Functional Characterization of Indole-3-Acetamide-Mediated IAA Biosynthesis in Plant-Associated *Fusarium* species". **Fungal Genetics and Biology**. 49: 48-57.
- [13] Huang, X. *et al.* 2004. "Response of Three Grass Species to Creosote During Phytoremediation". **Environmental Pollution**. 130: 453-363.
- [14] Somtrakoon, K., and Kruatrachue, M. 2014. "Effect of Alpha 3 Naphthalene Acetic Acid and Thidiazuron on Seedling of Economic Crops Grown in Endosulfan Sulfate-Spiked Sand". **Environmental Biology**. 35: 1021 – 1030.
- [15] Tanimoto, E. 2005. "Regulation of Root Growth by Plant Hormones-Roles for Auxin and Gibberellin". **Critical Reviews in Plant Sciences**. 24: 249 – 265.
- [16] Tiwari, L. R., Johri, B. N. and Tandem, S. W. 1993. "Studies Endophytic Fungi Isolated from Cabbage to The Growth of Kale". **Scientia Horticultura**. 62: 129-133.
- [17] Ouzoundidou, G. and Ilias, I. 2005. "Hormone-Induced Protection of Sunflower Photosynthetic Apparatus Against Copper Toxicity". **Biologia Plantarum**. 49(2): 223-228.
- [18] วราภรณ์ จุ้ยฉาย, นันทพร ศิลป์สมบูรณ์ และ ชนิษฐา สมตระกูล. 2555. "ผลของแบคทีเรียที่สังเคราะห์กรดอินโดลอะซีติกที่คัดแยกจากวัชพืชต่อการเจริญเติบโตระยะต้นกล้าของพืชเศรษฐกิจ". วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 14(4): 22-28.
- [19] Hernan-Rodriguez, *et al.* 2010. "Cell-free culture medium of *Burkholderia capacia* improves seed germination and seedling growth in maize (*Zea mays*) and rice (*Oryza sativa*).". **Plant Growth Regulation**. 60: 191-197