

การใช้ราเอนโดไฟต์ *Colletotrichum* sp. ลดความเป็นพิษของโซเดียมคลอไรด์ ต่อต้นกล้าข้าวโพด

Use of Endophytic fungi *Colletotrichum* sp. to Alleviate Sodium chloride Toxicity on Corn Seeding

วิไลลักษณ์ โคมพันธุ์^{1*}, เจนจิรา เดชพงศ์¹, สุธาสินี เวียงวงษ์²

Wilailuck Khompun^{1*}, Janejira Dechpong¹, Sutasinee Wiangwong²

¹สาขาวิชาชีววิทยาและเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์

¹Department of Biology and Biotechnology, Faculty of Science and Technology,
Nakhon Sawan Rajabhat University

²หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์

²Bachelor of Science Program in Biology, Faculty of Science and Technology,
Nakhon Sawan Rajabhat University

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาผลของน้ำเลี้ยงราเอนโดไฟต์ *Colletotrichum* sp. ต่อการเจริญของต้นกล้าข้าวโพดที่ปลูกในดินที่รดด้วยโซเดียมคลอไรด์ ซึ่งราเอนโดไฟต์นี้ เมื่อตรวจวิเคราะห์ลำดับเบสบริเวณ internal transcribed spacer (ITS) ด้วย ITS1 และ ITS4 พบว่ามีความคล้ายคลึงกับ *Colletotrichum gloeosporioides* (100% identity) โดยการศึกษาครั้งนี้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ส่วน คือ (1) การทดสอบผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อความสามารถในการสร้างกรดอินโดลอะซิติก (IAA) ของ *Colletotrichum* sp. พบว่า ปริมาณการสร้าง IAA ของ *Colletotrichum* sp. ลดลงเมื่อความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เพิ่มสูงขึ้น โดยโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 500 มิลลิโมลาร์ *Colletotrichum* sp. สร้าง IAA ได้มากที่สุด และไม่แตกต่างกับที่ไม่เติมโซเดียมคลอไรด์ (553.17 ± 7.74 และ 597.72 ± 38.22 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ) (2) การทดสอบผลของน้ำเลี้ยง *Colletotrichum* sp. ต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวโพด ซึ่งแบ่งการทดลองออกเป็น 4 ชุดการทดลอง คือ 1) รดน้ำกลั่น 2) รดน้ำเลี้ยงรา จำนวน 2 ครั้ง 3) รดโซเดียมคลอไรด์ 1,000 มิลลิโมลาร์ และ 4) รดโซเดียมคลอไรด์ 1,000 มิลลิโมลาร์ และเติมน้ำเลี้ยงรา 2 ครั้ง ซึ่งการรดด้วยโซเดียมคลอไรด์จะรดเมื่อข้าวโพดมีอายุ 5 วัน ส่วนน้ำเลี้ยงรารดเมื่อข้าวโพดมีอายุ 7 และ 14 วัน พบว่า น้ำเลี้ยงรา *Colletotrichum* sp. ช่วยเพิ่มความยาวรากของข้าวโพดได้เท่ากันโดยการรดโซเดียมคลอไรด์ 1,000 มิลลิโมลาร์ และเติมน้ำเลี้ยงรา 2 ครั้ง ข้าวโพดมีความยาวรากยาวกว่าต้นที่รดด้วยโซเดียมคลอไรด์ 1,000 มิลลิโมลาร์ เพียงอย่างเดียว และข้าวโพดที่รดน้ำเลี้ยงรา 2 ครั้ง มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี และคลอโรฟิลล์ทั้งหมดมากที่สุด ส่วนการรดโซเดียมคลอไรด์และเติมน้ำเลี้ยงรา 2 ครั้ง ข้าวโพดมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เพิ่มสูงขึ้นกว่าข้าวโพดที่รดโซเดียมคลอไรด์เพียงอย่างเดียว แต่ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี และคลอโรฟิลล์ทั้งหมด ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

คำสำคัญ: กรดอินโดลอะซิติก ความเป็นพิษของโซเดียมคลอไรด์ ต้นกล้าข้าวโพด ราเอนโดไฟต์

* Corresponding author : wililuck.k@nsru.ac.th

Abstract

This research aimed to study the effect of the endophytic fungi culture filtrate of *Colletotrichum* sp. on corn seedling growth in soils watered once with sodium chloride (NaCl) solution. The endophytic fungi used in the experiment were *Colletotrichum* sp. were identified as *Colletotrichum gloeosporioides* (100% identity) by sequencing the internal transcribed spacer (ITS) regions ITS1 and ITS4. The experiment was divided into two parts. (1) The effect of NaCl on indoleacetic acid (IAA) production by *Colletotrichum* sp. was studied. The results showed that the IAA concentration produced by *Colletotrichum* sp. decreased when increasing NaCl concentration. *Colletotrichum* sp. was able to produce the highest IAA concentration in 500 mM NaCl concentration, which was not significantly different to the control without NaCl added (553.17 ± 7.74 and 597.72 ± 38.22 mg/L, respectively). (2) The effect of *Colletotrichum* sp. culture filtrate on the growth of corn seedlings was studied and divided into four treatments: distilled water, fungal culture filtrate watered twice, 1000 mM NaCl and 1000 mM NaCl with fungal culture filtrate watered twice. NaCl was watered to the soil on day 5 after corn germination, and fungal culture filtrate was watered on day 7 and 14 after germination. The results showed that *Colletotrichum* sp. culture filtrate only increased root length of corn seedlings. The root length of corn watered with 1000 mM NaCl and fungal culture filtrate was higher than corn watered with 1000 mM NaCl only. The content of chlorophyll a, chlorophyll b, and total chlorophyll in corn leaves watered with fungal culture filtrate was higher than other treatments. However, corn watered with 1000 mM NaCl with fungal culture filtrate had a higher chlorophyll a content than corn watered with 1000 mM NaCl only. For chlorophyll b and total chlorophyll content in corn leaves, there were no statistically significant differences ($P \leq 0.05$) between the treatment watered with NaCl only and the treatment watered with 1000 mM NaCl + fungal culture filtrate.

Keywords: Indoleacetic acid, Sodium chlorine toxicity, Corn seeding, Endophytic fungi

1. บทนำ

ดินเค็มเป็นดินที่มีเกลือละลายอยู่ในดินมาก ส่วนใหญ่เป็นเกลือโซเดียมที่เป็นสารประกอบของโซเดียม (Na^+) และคลอรีน (Cl^-) ซึ่งเป็นพิษต่อพืช ประเทศไทยนอกจากพื้นที่ติดกับทะเล และพื้นที่ของภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่พบดินเค็มแล้ว บริเวณพื้นที่ภาคกลางพบดินเค็มเช่นกัน โดยพบได้บริเวณพื้นที่ของจังหวัด นครปฐม สุพรรณบุรี กาญจนบุรี อ่างทอง สิงห์บุรี และชัยนาท เป็นต้น สาเหตุของดินเค็มบริเวณพื้นที่ภาคกลาง มาจากบริเวณพื้นที่ดังกล่าวเคยมีน้ำทะเลท่วม หรือมีการบุกรุกของน้ำเค็มเมื่อเกิดน้ำทะเลหนุน จึงก่อให้เกิดการทับถมของตะกอนน้ำทะเลและตะกอนน้ำกร่อยอยู่ใต้ตะกอนน้ำจืดจึงส่งผลให้เกิดดินเค็ม (กองวิจัยและ

พัฒนาการจัดการที่ดิน, มปป.) โดยดินมีโครงสร้างทางด้านกายภาพและทางเคมีที่เปลี่ยนแปลงไป (Anbumalar and Ashokumar, 2016) จนส่งผลให้พืชมีการเจริญเติบโตที่ผิดปกติไปจากเดิมเนื่องจากความเค็มมีผลทำให้รากของพืชมีการเจริญลดลง พืชดูดน้ำได้น้อยลงจนส่งผลให้พืชเกิดอาการขาดน้ำ และเกิดการสะสมไอออนที่เป็นพิษ โดยเฉพาะไอออนของเกลือ และก่อให้เกิดความไม่สมดุลของธาตุอาหารพืช จนส่งผลในการยับยั้งการเจริญของพืช (Takemura et al., 2000) ถ้าพืชมีการสะสมเกลือในปริมาณมากเกินไปผลทำให้ลำต้นแคระแกร็น ใบเหี่ยว ใบแห้งตายเป็นจุด หรือเกิดการไหม้ของใบบริเวณขอบใบ (Whiting et al., 2010) นอกจากนี้ยังยับยั้งการออกดอกและเมล็ด ตลอดจนมีผลทำให้เมล็ดงอกช้า หรือมีอัตราการงอกของเมล็ดต่ำ (อิทธิพร เงินหมื่น, 2556) ดังนั้นเมื่อมีการเพาะปลูกหรือปลูกพืชบริเวณพื้นที่ดินเค็ม เกษตรกรจึงประสบกับปัญหาที่พืชไม่เจริญเติบโตลำต้นแคระแกร็น จนส่งผลให้ปริมาณผลผลิตที่ได้ลดลงจึงหันมาหาวิธีหรือแนวทางในการแก้ไขปัญหา ซึ่งแนวทางที่ใช้ในการแก้ไขปัญหานั้นพบได้ในปัจจุบัน เช่น การปลูกพืชทนเค็ม หรือการปรับปรุงคุณภาพดินโดยใช้ปุ๋ยพืชสด เป็นต้น (Arunin and Pongwichian, 2015) อย่างไรก็ตามการใช้จุลินทรีย์เพื่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชถือเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชที่ปลูกในสภาวะดินเค็มได้ โดยจุลินทรีย์มีบทบาทช่วยในการรักษาภาวะธำรงดุลของไอออน เพิ่มระดับของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการทำลายอนุมูลอิสระอันเนื่องมาจากสภาวะเครียด เป็นต้น (Panet et al., 2019) มีรายงานวิจัยพบว่า กรดอินโดลอะซิติกที่สร้างจากรา *Trichoderma longibrachiatum* T6 สามารถส่งเสริมการเจริญของข้าวสาลี (*Triticum aestivum* L.) ที่ปลูกภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ได้ โดยช่วยลดความเป็นพิษจากไอออนที่ไปรบกวนภาวะธำรงดุลของไอออนในเซลล์พืช และช่วยลดความรุนแรงที่เกิดจากโซเดียมคลอไรด์นอกจากนี้ *T. longibrachiatum* T6 ยังช่วยลดระดับการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์เอทิลีนและเพิ่มระดับการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์กรดอินโดลอะซิติกบริเวณรากของข้าวสาลี ตลอดจนช่วยลดการสะสมโซเดียมไอออนและเพิ่มการดูดซึมโพแทสเซียมไอออนบริเวณยอดและรากของข้าวสาลี (Zhang et al., 2019) ดังนั้นราเป็นหนึ่งในกลุ่มจุลินทรีย์ที่น่าสนใจ โดยเฉพาะราเอนโดไฟต์ (Endophytic fungi) นิยมนำมาใช้ประโยชน์โดยนำมาประยุกต์ใช้ในด้านเกษตรเป็นอย่างมาก และไม่ก่อให้เกิดผลเสียกับสิ่งแวดล้อม ราเอนโดไฟต์เป็นราที่อาศัยอยู่ร่วมกับพืชโดยไม่ก่อให้เกิดโรคต่อพืชและสามารถช่วยป้องกันการเข้าทำลายของราก่อโรคพืช สร้างสารที่ช่วยเร่งการเจริญเติบโตของพืช หรือสารที่มีประโยชน์ทางการเกษตร หรือทางการแพทย์ ตลอดจนช่วยให้พืชสามารถเจริญได้ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ดินเค็ม แห้งแล้ง เป็นต้น (Bacon, 1977) ราที่อาศัยอยู่ร่วมกับพืชพวกไมคอร์ไรซาและราเอนโดไฟต์สามารถช่วยให้พืชที่ไปอาศัยอยู่ทนทานต่อเกลือได้ และช่วยให้ผลผลิตได้รับความเสียหายลดลงด้วยเช่นกัน (Rodriguez et al., 2008) ดังรายงานวิจัยของ Waller et al. (2005) พบว่า *Piriformospora indica* เป็นราเอนโดไฟต์ที่อาศัยอยู่บริเวณรากของพืช ช่วยบรรเทาความเครียดจากเกลือแก่ข้าวบาร์เลย์ได้ โดย *P. indica* สามารถสร้างกรดอินโดลอะซิติก ซึ่งส่งผลต่อรากให้มีการเจริญของรากเพิ่มขึ้น และป้องกันการสูญเสียน้ำเนื่องจากสภาวะเครียดได้ (Baltruschat et al., 2008) นอกจากนี้มีการศึกษาความสามารถของราเอนโดไฟต์ชนิดอื่น ๆ เช่น *Paecilomyces formosus* LHL10 สามารถสร้างกรดอินโดลอะซิติกได้ และส่งเสริมการเจริญของแตงกวาที่ปลูกในดินเค็ม โดยมีความยาวยอด น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้น (Abdul et al., 2012) *Piriformospora indica* DMS 11827 ช่วยเพิ่มความยาวราก

ความยาวยอด น้ำหนักของต้น และปริมาณคลอโรฟิลล์ของข้าวโพด (ปัฐยาวัติ แปะคำ และคณะ, 2559) *Fusarium culmorum* คัดแยกได้จากหญ้า *Leymus mollis* ชักน้ำให้มะเขือเทศมีความทนทานต่อเกลือได้ที่มีความเข้มข้น 300-500 มิลลิโมลาร์ (Rodriguez et al., 2008) และ *Penicillium minioluteum* สามารถชักนำให้หัวเห็ดมีความทนทานต่อความเค็มได้เช่นกัน (Khan et al., 2011) ดังนั้นในการวิจัยนี้จึงมีความสนใจที่จะนำราเอนโดไฟต์ *Colletotrichum* sp. ที่คัดแยกได้จากรางจืดมาใช้ประโยชน์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งเราดังกล่าวได้มีการทดสอบการเจริญเบื้องต้นในระดับห้องปฏิบัติการแล้วพบว่ามีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนได้ดีตลอดจนสามารถเจริญและสร้างเส้นใยได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมโซเดียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้น 500 และ 1,000 มิลลิโมลาร์ ส่วนพืชที่เลือกใช้ในการทดลองในครั้งนี้เลือกเป็นข้าวโพดจัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่นิยมปลูกเป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะบริเวณพื้นที่ลุ่มใกล้แม่น้ำ ซึ่งจังหวัดนครสวรรค์และพื้นที่ใกล้เคียง เช่น อุทัยธานี ชัยนาท เป็นต้น เป็นพื้นที่ลุ่มมีแม่น้ำไหลผ่าน จึงมีการปลูกข้าวโพดเป็นจำนวนมาก ประกอบกับในอนาคตกว่าพื้นที่ดินเค็มเกิดขยายวงกว้างอาจจะส่งผลต่อการปลูกข้าวโพด ทำให้ผลผลิตลดลงหรือได้ผลผลิตที่ไม่มีคุณภาพขึ้นผู้วิจัยจึงเกิดแนวคิดที่นำราเอนโดไฟต์นี้มาทดสอบการส่งเสริมการเจริญของข้าวโพดปลูกในดินที่รดด้วยโซเดียมคลอไรด์ในระดับโรงเรือน เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการนำราเอนโดไฟต์ไปประยุกต์ใช้กับพืชที่ปลูกในพื้นที่ดินเค็มจริงต่อไป

2. วัตถุประสงค์การวิจัย

2.1 เพื่อทดสอบผลของโซเดียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการสร้างกรดอินทรีย์ของราเอนโดไฟต์ *Colletotrichum* sp.

2.2 เพื่อทดสอบผลของน้ำเลี้ยงราเอนโดไฟต์ *Colletotrichum* sp. ต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวโพดที่ปลูกในดินที่รดโซเดียมคลอไรด์

3. วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 ราเอนโดไฟต์ที่ใช้ในการทดลองคือ *Colletotrichum* sp. เป็นราที่ไวต่อลักษณะ โคมพันธ์ และคณะ (2563) ได้ทำการคัดแยกมาจากรางจืด จากพื้นที่อำเภอลำลูกเกด จังหวัดชุมพร ซึ่งการคัดแยกและส่งตัวอย่างเพื่อจัดจำแนกสายพันธุ์ ณ สำนักงานวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีทางชีวภาพ (Biotechnology research and development office; BIRDO) ด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล โดยตรวจวิเคราะห์ลำดับเบสบริเวณ ITS (Internal Transcribe Spacer) ของ DNA ทั้งสาย Forward (ITS1) และ Reverse (ITS4) ด้วยเครื่องอ่านลำดับเบสอัตโนมัติ จากนั้นนำข้อมูลลำดับเบสที่ได้เปรียบเทียบกับฐานข้อมูลของ GenBank ของ National Center for Biotechnology information (NCBI) พบว่า มีความคล้ายคลึงกับ *Colletotrichum gloeosporioides* ร้อยละ 100

3.2 ทดสอบการสร้างกรดอินทรีย์ในอาหาร PDB ที่ผสมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ

เพาะเลี้ยงราเอนโดไฟต์ *Colletotrichum* sp. บนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) บ่มที่อุณหภูมิห้อง (30-34 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 5 วัน จากนั้นจะบริเวณขอบโคโลนีด้วยที่เจาะจุกคอร์กขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร จำนวน 5 ชิ้น ใส่ลงในอาหาร Potato dextrose broth (PDB) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่ผสมทริปโต

แผนความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 500 1,000 1,500 และ 2,000 มิลลิโมลาร์ ทำการทดลองความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ เชยาด้วยเครื่องเขยาที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (30-34 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 6 วัน นำน้ำเลี้ยงราที่เลี้ยงในอาหารที่ผสมทริปโตเฟน และโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยแต่ละความเข้มข้นใช้ปริมาตรละ 10 มิลลิลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที นำส่วนใสด้านบนปริมาตร 2 มิลลิลิตร ไปทดสอบกับสารละลาย Salkowski's ปริมาตร 4 มิลลิลิตร และกรดออร์โทสฟอริก จำนวน 1-2 หยด เพื่อการสร้างกรดอินโดลอะซิติก ถ้ามีการสร้างกรดอินโดลอะซิติกสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีชมพู-แดง ตามปริมาณกรดอินโดลอะซิติกที่สร้างได้ จากนั้นนำสารละลายไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร และนำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับสารละลายกรดอินโดลอะซิติกมาตรฐาน เพื่อคำนวณหาปริมาณกรดอินโดลอะซิติกที่ราเอนโดไฟต์สร้างขึ้น

3.3 การทดสอบผลของน้ำเลี้ยงราเอนโดไฟต์ *Colletotrichum* sp. ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพดที่ปลูกในดินที่มีโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 1,000 มิลลิโมลาร์

3.3.1 เพาะเลี้ยงราเอนโดไฟต์ *Colletotrichum* sp. บนอาหาร PDA จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิห้อง (30-34 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 5 วัน ทำการเจาะบริเวณขอบโคโลนีด้วยที่เจาะจุลศรึกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร จำนวน 5 ชิ้น ใส่ลงในอาหาร PDB ที่ผสมทริปโตเฟนที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 70 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขยาความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (30-34 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 6 วัน นำน้ำเลี้ยงราที่ได้มาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเก็บส่วนใสของน้ำเลี้ยงราไปใช้ในขั้นตอนต่อไป

3.3.2 การเตรียมดิน เก็บตัวอย่างดินจากสวนพฤกษศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ 80 พรรษา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์ (ย่านมัทรี) มาล้างฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที จำนวน 3 รอบ จากนั้นแบ่งดินใส่กระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10.5 เซนติเมตร กระถางละ 400 กรัม จำนวน 20 กระถาง จากนั้นเตรียมเมล็ดข้าวโพด ซึ่งเมล็ดข้าวโพดที่ใช้ในการทดลองเป็นเมล็ดพันธุ์ทางการค้า คือ ข้าวโพดหวานลูกผสมสายพันธุ์ จัมโบ้ สวิท F1 บริษัท อีสท์ เวสท์ จำกัด และเลือกเฉพาะเมล็ดข้าวโพดที่สมบูรณ์มาใช้ในการทดลอง โดยการแช่น้ำและเลือกเฉพาะเมล็ดที่จมน้ำ จากนั้นแช่น้ำสะอาดทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำเมล็ดเพาะลงในกระถางที่เตรียมไว้ จำนวน 3 เมล็ดต่อกระถาง จนข้าวโพดมีอายุ 5 วัน

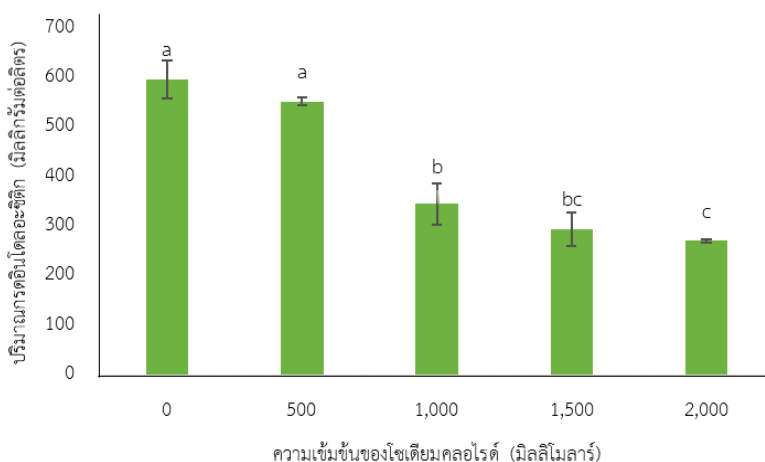
3.3.3 จากการทดลองวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) มีระยะเวลาในการทดลอง 15 วัน การทดลองแบ่งเป็น 4 ชุดการทดลอง คือ 1) รดน้ำกลั่นตลอดการทดลอง ปริมาตร 20 มิลลิลิตร 2) รดน้ำเลี้ยงรา จำนวน 2 ครั้ง ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เมื่อข้าวโพดมีอายุ 7 และ 14 วัน 3) รดโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 1000 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 30 มิลลิลิตร และ 4) รดโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 1000 มิลลิโมลาร์ และเติมน้ำเลี้ยงราจำนวน 2 ครั้ง โดยการรดโซเดียมคลอไรด์ ปริมาตร 30 มิลลิลิตร จะรดเมื่อข้าวโพดมีอายุ 5 วัน แต่ละชุดการทดลองทำการทดลองชุดละ 5 กระถาง เมื่อข้าวโพดอายุครบ 15 วัน เก็บผลความยาวยอด ความยาวราก น้ำหนักสดยอด น้ำหนักสดยราก น้ำหนักแห้งยอด น้ำหนักแห้งราก ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี และคลอโรฟิลล์ทั้งหมดตามวิธีของ Huang et al. (2004)

3.4 สถิติที่ใช้ในการทดลอง

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างชุดการทดลองด้วย One-Way ANOVA และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละคู่ด้วย LSD โดยกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

4. ผลการวิจัย

จากการทดสอบการสร้างกรดอินโดลอะซิติกของราเอนโดไฟต์ *Colletotrichum* sp. ในอาหาร PDB ที่ผสมทริโตนความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 6 วัน พบว่า ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่เพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการสร้างกรดอินโดลอะซิติกของราเอนโดไฟต์ *Colletotrichum* sp. ลดลง โดยสร้างกรดอินโดลอะซิติกสูงที่สุดในอาหารที่ผสมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 500 มิลลิโมลาร์ (553.17 ± 7.74 มิลลิกรัมต่อลิตร) ซึ่งไม่แตกต่างกับที่ไม่ผสมโซเดียมคลอไรด์ (597.72 ± 38.22 มิลลิกรัมต่อลิตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) รองลงมาอาหารที่ผสมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1,000 1,500 และ 2,000 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ (346.81 ± 41.07 , 295.37 ± 32.96 และ 272.04 ± 3.30 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ) (ภาพที่ 1) ผู้วิจัยเลือกใช้โซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 1,000 มิลลิโมลาร์ ในการทดลองขั้นถัดไปเนื่องจากเป็นความเข้มข้นที่เชื้อราสามารถทนและสร้างกรดอินโดลอะซิติกได้ ตลอดจนไม่ส่งผลกระทบต่อข้าวโพดจนทำให้ข้าวโพดไม่สามารถเจริญเติบโตได้ โดยผู้วิจัยได้ทดสอบเบื้องต้นถึงความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่นำมาใช้ในการทดลอง พบว่าโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 1,500 และ 2,000 มิลลิโมลาร์ ส่งผลกระทบต่อข้าวโพด โดยส่งผลทำให้ข้าวโพดไม่เจริญเติบโต เกิดอาการใบไหม้เป็นสีน้ำตาล และตายในที่สุด



ภาพที่ 1 ปริมาณการสร้างกรดอินโดลอะซิติกของราเอนโดไฟต์ *Colletotrichum* sp. ในอาหารที่ผสมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 500 1,000 1,500 และ 2,000 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 6 วัน
ตัวอักษรภาษาอังกฤษแตกต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ของปริมาณกรดอินโดลอะซิติกจากราเอนโดไฟต์ในอาหารที่ผสมโซเดียมคลอไรด์แตกต่างกัน

เมื่อนำน้ำเลี้ยงราเอนโดไฟต์ *Colletotrichum* sp. มาทดสอบกับข้าวโพดที่ปลูกในดินที่รดโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1,000 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 15 วัน โดยรดด้วยโซเดียมคลอไรด์ เมื่อข้าวโพดมีอายุ 5 วัน และรดน้ำเลี้ยงรา เมื่อข้าวโพดมีอายุ 7 และ 14 วัน พบว่า น้ำเลี้ยงราเอนโดไฟต์ *Colletotrichum* sp. ไม่สามารถส่งเสริมการเจริญของรากและยอดข้าวโพดได้ ไม่ว่าจะรดหรือไม่รดโซเดียมคลอไรด์ โดยมีความยาวยอด น้ำหนักสดยอด น้ำหนักสตราก น้ำแห้งยอด และน้ำแห้งราก น้อยกว่าหรือไม่แตกต่างกับการรดด้วยน้ำกลั่นตลอดการทดลอง และรดด้วยโซเดียมคลอไรด์เพียงเดียว ยกเว้น ความยาวราก พบว่า การรดโซเดียมคลอไรด์และเติมน้ำเลี้ยงราจำนวน 2 ครั้ง (21.54 ± 2.16 เซนติเมตร) ช่วยให้ข้าวโพดมีความยาวรากเพิ่มสูงขึ้นกว่าข้าวโพดที่รดด้วยโซเดียมคลอไรด์เพียงอย่างเดียว (12.62 ± 2.12 เซนติเมตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ดังตารางที่ 1 และดังภาพที่ 2 และ ข้าวโพดที่รดโซเดียมคลอไรด์เพียงอย่างเดียวมีลักษณะเป็นสีน้ำตาลเกือบทั้งหมด แต่ข้าวโพดที่รดโซเดียมคลอไรด์และเติมน้ำเลี้ยงราจำนวน 2 ครั้ง ใบมีลักษณะใบเป็นสีน้ำตาลเช่นกัน แต่มีบางส่วนที่เป็นสีเขียว ดังภาพที่ 3

การศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์ของข้าวโพด พบว่า ดินที่ไม่รดโซเดียมคลอไรด์ แต่รดน้ำเลี้ยงรา จำนวน 2 ครั้ง มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี และคลอโรฟิลล์ทั้งหมดมากที่สุด (31.36 ± 1.45 , 13.64 ± 2.01 และ 44.99 ± 3.40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และข้าวโพดที่ปลูกในดินที่รดโซเดียมคลอไรด์ พบว่า การรดโซเดียมคลอไรด์และเติมน้ำเลี้ยงรา จำนวน 2 ครั้ง ช่วยให้ข้าวโพดมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เพิ่มสูงขึ้นเท่ากับ 22.45 ± 1.10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมากกว่าข้าวโพดที่รดโซเดียมคลอไรด์เพียงอย่างเดียว (19.06 ± 2.48 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ส่วนคลอโรฟิลล์ บี และคลอโรฟิลล์ทั้งหมดมีปริมาณไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 การเจริญของยอดข้าวโพดแต่ละชุดการทดลองเมื่อศึกษาเป็นระยะเวลา 15 วัน

ชุดการทดลอง	ยอด		
	ความยาว(ซม.)	น้ำหนักสด (กรัม)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)
รดน้ำกลั่น	25.62 ± 1.93^a	0.71 ± 0.27^a	0.056 ± 0.08^n
รดน้ำเลี้ยงรา 2 ครั้ง	22.14 ± 1.02^b	0.62 ± 0.27^a	0.054 ± 0.03^n
รดโซเดียมคลอไรด์ (1,000 มิลลิโมลาร์)	8.74 ± 1.50^c	0.24 ± 0.04^b	0.049 ± 0.00^n
รดโซเดียมคลอไรด์ + น้ำเลี้ยงรา 2 ครั้ง	8.70 ± 1.01^c	0.24 ± 0.04^b	0.052 ± 0.00^a

ตัวอักษรภาษาอังกฤษแตกต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ในการเจริญของข้าวโพดแต่ละชุดการทดลอง และ n หมายถึง ข้อมูลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

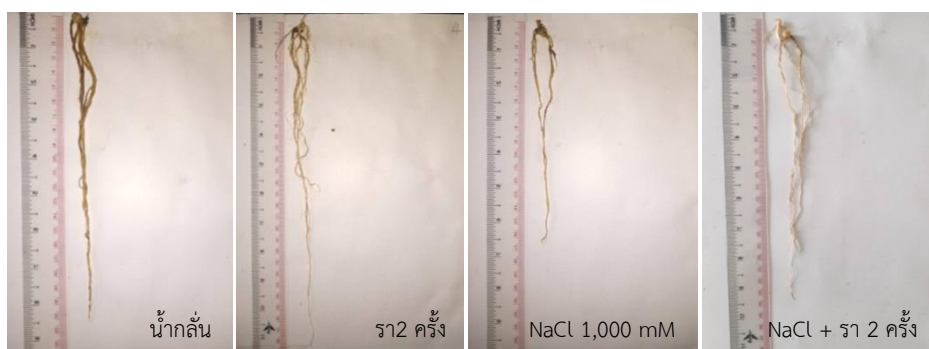
ตารางที่ 2 การเจริญของรากข้าวโพดแต่ละชุดการทดลองเมื่อศึกษาเป็นระยะเวลา 15 วัน

ชุดการทดลอง	ราก		
	ความยาว(ซม.)	น้ำหนักสด (กรัม)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)
รดน้ำกลั่น	25.32 ±2.13 ^a	0.278 ±0.10 ^a	0.048 ±0.01 ^a
รดน้ำเลี้ยงรา 2 ครั้ง	23.84 ±0.89 ^{ab}	0.210 ±0.04 ^b	0.042 ±0.00 ^{ab}
รดโซเดียมคลอไรด์ (1,000 มิลลิโมลาร์)	12.62 ±2.12 ^c	0.160 ±0.02 ^b	0.033 ±0.00 ^b
รดโซเดียมคลอไรด์ + น้ำเลี้ยงรา 2 ครั้ง	21.54 ±2.16 ^b	0.184 ±0.06 ^b	0.043 ±0.00 ^{ab}

ตัวอักษรภาษาอังกฤษแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ในการเจริญของข้าวโพดแต่ละชุดการทดลอง



ภาพที่ 2 ลักษณะการเจริญของยอดข้าวโพดในแต่ละชุดการทดลอง เมื่อศึกษาเป็นระยะเวลา 15 วัน



ภาพที่ 3 ลักษณะการเจริญของรากข้าวโพดแต่ละชุดการทดลอง เมื่อศึกษาเป็นระยะเวลา 15 วัน

ตารางที่ 3 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี และคลอโรฟิลล์ทั้งหมดของข้าวโพดที่ปลูกในแต่ละชุดการทดลอง เมื่อศึกษาเป็นระยะเวลา 15 วัน

ชุดการทดลอง	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิตร)		
	คลอโรฟิลล์ เอ	คลอโรฟิลล์ บี	คลอโรฟิลล์ทั้งหมด
รดน้ำกลั่น	20.11 ±0.84 ^{bc}	5.71 ±0.78 ^c	25.82 ±1.61 ^b
รดน้ำเลี้ยงรา 2 ครั้ง	31.36 ±1.45 ^a	13.64 ±2.01 ^a	44.99 ±3.40 ^a
รดโซเดียมคลอไรด์ (1,000 มิลลิโมลาร์)	19.06 ±2.48 ^c	7.65 ±1.22 ^{bc}	26.71 ±3.67 ^b
รดโซเดียมคลอไรด์ + น้ำเลี้ยงรา 2 ครั้ง	22.45 ±1.10 ^b	8.57 ±0.76 ^b	31.02 ±1.85 ^b

ตัวอักษรภาษาอังกฤษแตกต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ของปริมาณคลอโรฟิลล์แต่ละชนิดของข้าวโพดแต่ละชุดการทดลอง

5. อภิปรายผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

ราเอนโดไฟต์ *Colletotrichum* sp. ที่ใช้ในการทดลองมีความคล้ายคลึงกับรา *Colletotrichum gloeosporioides* ร้อยละ 100 ซึ่งเป็นราที่ก่อให้เกิดโรคแอนแทรคโนสในพืช แต่มีรายงานวิจัยที่มีการนำ *Colletotrichum gloeosporioides* มาใช้ทดสอบเกี่ยวกับการเจริญเติบโตของพืช ดังรายงานวิจัยของ ณัฏฐา สุวัฒน์ชาติ และคณะ (2565) ศึกษาการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องกุหลาบเหลืองโคราชในสภาพปลอดเชื้อด้วยสารสกัดราเอนโดไฟต์ ซึ่งหนึ่งในราเอนโดไฟต์ที่ใช้ คือ *Colletotrichum gloeosporioides* พบว่าสามารถสร้างกรดอินโดอะซิดิกได้สูงที่สุด และสามารถทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องกุหลาบเหลืองโคราชมีความยาวของใบมากที่สุด และรายงานของทศพล นำนปัส (2559) นำกรดอินโดอะซิดิกที่ผลิตจากราในสกุล *Colletotrichum* ซึ่งคัดแยกจากต้นกาแฟสายพันธุ์ระบิแก้ว มาทดสอบเพื่อศึกษาการเจริญของพืช พบว่ากรดอินโดอะซิดิกสร้างจาก *Colletotrichum* sp. CMU-A109 สามารถกระตุ้นการยืดยาวของเนื้อเยื่อ coleoptiles ของข้าว ข้าวโพด และข้าวไรย์ได้ ตลอดจนช่วยเพิ่มร้อยละของน้ำหนัก การงอก ความยาวราก และน้ำหนักของข้าวโพดได้ เมื่อทดสอบสัณฐานวิทยาและอนุวิธานพบว่า *Colletotrichum* sp. CMU-A109 มีความคล้ายคลึงกับ *Colletotrichum gloeosporioides* ร้อยละ 100

ราเอนโดไฟต์สามารถสร้างกรดอินโดอะซิดิก ในอาหาร PDB ที่ผสมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 500 มิลลิโมลาร์ ได้มากที่สุด และเมื่อความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เพิ่มมากขึ้นมีผลทำให้ราเอนโดไฟต์สร้างกรดอินโดอะซิดิกลดลง เนื่องจากความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่เพิ่มสูงขึ้นมีผลทำให้เกิดการสะสม Na^+ และ Ca^{2+} ซึ่งมีความเป็นพิษต่อเซลล์มากขึ้น โดยสามารถทำลายโปรตีน ไขมัน และ DNA ได้ ตลอดจนส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์ต่าง ๆ ในกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ โดย Na^+ และ Ca^{2+} จะไปยับยั้งเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยาของการแลกเปลี่ยนไอออนของ Mg^{2+} และ Cl^- ในวิถีของการสังเคราะห์กรดอะมิโน ทริบิโตแพน ดังนั้นเมื่อราสังเคราะห์กรดอะมิโนทริบิโตแพนลดลงจึงส่งผลต่อการสังเคราะห์กรดอินโดอะซิดิก เนื่องจากกรดอะมิโนทริบิโตแพนเป็นสารตั้งต้นหลักสำหรับกระบวนการดังกล่าว ซึ่งเชื่อว่าราจะสังเคราะห์

กรด อินโดลอะซิติกโดยผ่านวิถีของการเปลี่ยนเป็นสารตัวกลาง ได้แก่ indole-3-acetamide (IAM) หรือ indole-3-pyruvic acid (IPyA) ดังนั้นเมื่อราสังเคราะห์กรดอะมิโนทริปโตแฟนที่เป็นสารตั้งต้นหลักได้น้อยลง จึงส่งผลทำให้ปริมาณกรดอินโดลอะซิติกที่เกิดขึ้นจากการเปลี่ยนกรดอะมิโนทริปโตแฟนเป็นสารตัวกลาง จนได้เป็นกรดอินโดลอะซิติกลดลงไปด้วย (Hana, 2002; Kumla et al., 2020)

นอกจากกระบวนการสังเคราะห์กรดอินโดลอะซิติกแล้วรามีการปรับตัวให้สามารถทนต่อความเค็มโดยการรักษาสมดุลแรงดันออสโมติกทั้งภายในและภายนอกเซลล์ ด้วยการเพิ่มการดูดน้ำเพื่อรักษาระดับความเข้มข้นของ Na^+ ภายในเซลล์ให้ต่ำกว่าระดับที่เป็นอันตรายต่อเซลล์ (สโรชา ประสงค์ผลชัย, 2559; Ana et al., 2014) เมื่อราสัมผัสกับเกลือในช่วง 1,000 – 1,500 มิลลิโมลาร์ เกิดการสะสมของน้ำตาลและคาร์โบไฮเดรตอื่น ๆ ภายในเซลล์เป็น 2 เท่า ของสภาวะปกติเพื่อรักษาแรงดันออสโมติกภายในเซลล์ ทำให้ราหยุดการเจริญเมื่อราหยุดการเจริญเพื่อการสะสมอาหารเอาไว้ กระบวนการสร้างสารต่าง ๆ ซึ่งรวมไปถึงกรดอินโดลอะซิติกจึงลดลง (Catia et al., 2017)

น้ำเลี้ยงราเอนโดไฟต์ *Colletotrichum* sp. ไม่สามารถส่งเสริมการเจริญของราก และยอดข้าวโพดได้ โดยมีความยาวยอด น้ำหนักสดยอด น้ำหนักสตราก น้ำแห้งยอด และน้ำแห้งราก น้อยกว่าหรือไม่แตกต่างกับชุดการทดลองที่รดด้วยน้ำกลั่นตลอดการทดลอง และรดด้วยโซเดียมคลอไรด์เพียงเดียว แต่การรดโซเดียมคลอไรด์ร่วมกับน้ำเลี้ยงราจำนวน 2 ครั้ง ช่วยให้ข้าวโพดมีความยาวรากเพิ่มสูงขึ้นกว่าข้าวโพดที่รดด้วยโซเดียมคลอไรด์เพียงอย่างเดียวได้ นอกจากนี้การรดน้ำเลี้ยงราเพียงอย่างเดียวจำนวน 2 ครั้ง ยังช่วยส่งเสริมการสร้างคลอโรฟิลล์แก่ข้าวโพด โดยทำให้ข้าวโพดมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี และคลอโรฟิลล์ทั้งหมดมากที่สุดและการรดโซเดียมคลอไรด์ร่วมกับราจำนวน 2 ครั้ง ช่วยให้ข้าวโพดมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เพิ่มสูงขึ้น มากกว่าข้าวโพดที่รดโซเดียมคลอไรด์เพียงอย่างเดียว ซึ่งจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการรดด้วยโซเดียมคลอไรด์ไม่สามารถส่งเสริมการเจริญของราก และยอดข้าวโพดได้ อาจจะเนื่องจากพืชตกอยู่ในสภาวะเครียดเกลือที่เกิดจากการมีโซเดียมไอออนในดินมากจึงส่งผลกระทบต่อกระบวนการทางสรีระวิทยาของพืช เช่น ลดความสามารถในการดูดน้ำและแร่ธาตุของราก ยับยั้งการสังเคราะห์ด้วยแสง ยับยั้งการสังเคราะห์ฮอร์โมนพืช และยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชโดยบริเวณรากจะได้รับผลกระทบจากสภาวะดังกล่าวเป็นอันดับแรก จากนั้นส่วนอื่น ๆ จะได้รับผลกระทบในลำดับถัดมา แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ระดับความเข้มข้น และระยะเวลาในการสัมผัสกับเกลือด้วยเช่นกัน (ชนิษฐา สมตระกูล และวราภรณ์ญฉาย, 2563) หากพืชได้รับโซเดียมคลอไรด์ ในปริมาณที่สูงส่งผลต่อปริมาณน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งลดลง เนื่องจากดินที่มีปริมาณโซเดียมคลอไรด์มาก มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของแรงดันออสโมติกบริเวณรากของพืช โดยรากพืชเมื่อสัมผัสกับสารละลายเกลือที่มีความเข้มข้นสูงจะมีผลทำให้ค่าศักย์ศักย์ของน้ำในดินลดลง ดังนั้นพืชจึงดูดน้ำไปใช้ประโยชน์ได้น้อยลง ส่งผลให้พืชเกิดสภาวะขาดน้ำ และทำให้ภาวะอับราดของไอออนภายในเซลล์ถูกทำลายจึงทำให้พืชขาดอาหารที่จำเป็น เช่น โพแทสเซียม แคลเซียมไนเตรต เป็นต้น จากดินเข้าสู่เซลล์ได้ลดลง ตลอดจนเกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ เนื่องจากการสะสมไอออนบางชนิด เช่น โซเดียม คลอรีน โบรอน เป็นต้น มากเกินไปจนส่งผลกระทบต่อการทำงานของเซลล์ ทำให้การเจริญเติบโตลดลงและอาจจะตายได้ในพื้นที่ที่สุด (Ketehouli et al., 2019; Machado and Serralheiro, 2017; สุมาลี ชูกำแพง, 2555) นอกจากนี้ยังเป็นการยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนที่มีความจำเป็นต่อการ

เจริญเติบโตของพืช ตลอดจนมีผลทำให้เอนไซม์เสื่อมสภาพ และทำลายคลอโรฟิลล์ โดยยับยั้งการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ หรือส่งผลต่อการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ เนื่องจากโซเดียมคลอไรด์ทำให้ปริมาณกรดอัลฟาไลโปอิก (Alpha lipoic acid; ALA) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในกระบวนการสร้างคลอโรฟิลล์ในใบพืชลดลง และยังกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์คลอโรฟิลเลส (Chlorophyllase) จึงส่งผลให้เกิดการสลายของคลอโรฟิลล์ (Conceicao, 2004) ดังนั้นปริมาณคลอโรฟิลล์ของข้าวโพดที่ปลูกในชุดการทดลองที่รดโซเดียม คลอไรด์จึงลดลง แต่การรดโซเดียมคลอไรด์ร่วมกับน้ำเลี้ยงรากจำนวน 2 ครั้ง ช่วยให้ข้าวโพดมีความยาวรากและมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอเพิ่มสูงขึ้น ส่วนการรดน้ำเลี้ยงรากเพียงอย่างเดียวจำนวน 2 ครั้ง ช่วยส่งเสริมการสร้างคลอโรฟิลล์แก่ข้าวโพดอาจจะเนื่องมาจากราเอนโดไฟต์เป็นราที่สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชด้วยการสร้างฮอโมนพืชเพื่อช่วยในการเจริญเติบโตของพืชเช่นราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากกล้วยไม้ *Vanda cristata* สามารถสังเคราะห์กรดอินโดอะซิติกที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืชได้ (Chand et al, 2020) ซึ่งกรดอินโดอะซิติกเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน ที่มีผลต่อการควบคุมและตอบสนองลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืช เมื่อพืชได้รับความเข้มข้นที่เหมาะสมจะมีผลกระตุ้นการแบ่งเซลล์ของเนื้อเยื่อเจริญ โดยเฉพาะบริเวณปลายรากและช่วยให้เซลล์บริเวณปลายรากเกิดการยืดยาวขึ้น (ณัฏฐา สุวพรรณชาติ และคณะ, 2565; Abdul et al., 2012) นอกจากนี้ในสภาวะเครียดจากความเค็มพบว่าราเอนโดไฟต์มีกลไกหลายอย่างที่สนับสนุนการเจริญเติบโตของพืชภายใต้สภาวะความเค็ม เช่น การสร้างฮอโมนกระตุ้นการเจริญ การเพิ่มการดูดน้ำและสารอาหาร การเพิ่มการสังเคราะห์ด้วยแสง และการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น (Redman et al., 2001) โดยกรดอินโดอะซิติกที่ราสร้างขึ้นช่วยลดความเป็นพิษจากไอออนที่ไปรบกวนภาวะธำรงดุลของไอออนในเซลล์พืชได้ (ชนิษฐา สมตระกูล และวารภรณ์ ฉุยฉาย, 2563) ดังรายงานวิจัยของ Zhang et al. (2019) พบว่ารา *Trichoderma longibrachiatum* T6 ช่วยลดระดับการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์เอทิลีน ซึ่งเป็นฮอโมนที่ควบคุมการเจริญและพัฒนาการของพืช และเพิ่มระดับการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์กรด อินโดอะซิติกที่รากของข้าวสาลี ดังนั้นการรดโซเดียมคลอไรด์ร่วมกับน้ำเลี้ยงรากจำนวน 2 ครั้ง จึงส่งผลให้ข้าวโพดมีความยาวรากเพิ่มสูงขึ้นมากกว่าข้าวโพดที่รดด้วยโซเดียมคลอไรด์เพียงอย่างเดียว นอกจากนี้การรดด้วยโซเดียมคลอไรด์และเติมน้ำเลี้ยงรากจำนวน 2 ครั้ง ช่วยเพิ่มปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ได้ดีกว่าการรดด้วยโซเดียมคลอไรด์เพียงอย่างเดียว สอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Abdul et al., (2012) นำรา *Paecilomyces formosus* LHL10 ที่มีความสามารถในการสร้างกรดอินโดอะซิติกมาส่งเสริมการเจริญของแตงกวาที่ปลูกในดินเค็ม พบว่า แตงกวาที่ได้เชื้อมีปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มสูงขึ้นมากกว่าชุดการทดลองที่ไม่ได้รับเชื้อ และรายงานวิจัยของปัฐยาวัติ แปะคำ และคณะ (2559) ที่ศึกษาเกี่ยวกับผลของการใช้ราเอนโดไฟต์ต่อการเจริญของเมล็ดและต้นข้าวโพด พบว่าราเอนโดไฟต์ *Piriformospora indica* DMS 11827 ส่งผลให้เมล็ดข้าวโพดมีความยาวรากของเมล็ดที่งอกมากกว่าชุดควบคุมที่ไม่มีราเอนโดไฟต์ และเมื่อศึกษาการเจริญของต้นข้าวโพดพบว่า ต้นข้าวโพดในกระถางปลูกด้วยราเอนโดไฟต์มีความยาวรากและมีปริมาณคลอโรฟิลล์มากกว่าชุดควบคุมที่ไม่มีเชื้อรากด้วยเช่นกัน นอกจากนี้ดินที่รดน้ำเลี้ยงรากเพียงอย่างเดียว ส่งเสริมให้ข้าวโพดมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี และคลอโรฟิลล์ทั้งหมดมากที่สุด เนื่องจากราเอนโดไฟต์ *Colletotrichum* sp. สามารถผลิตสารเมตาบอไลต์ที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของพืชออกมาในอาหารเลี้ยงรากได้ซึ่งกรดอินโดอะซิติกเป็นสารเมตาบอไลต์ตัวหนึ่งที่ราสามารถสร้างได้ โดยกรด

อินโดลอะซิติกที่สร้างขึ้นมีผลไปกระตุ้นการสร้างคลอโรฟิลล์ เอ และบี นอกจากนี้ในอาหารเหลวเลี้ยงรากอาจจะไม่ได้มีเฉพาะกรดอินโดลอะซิติกเพียงอย่างเดียว แต่มีสารอินทรีย์อื่น ๆ ปนอยู่ด้วยจึงทำให้สามารถกระตุ้นการเจริญและการสร้างรากตัวของพืชได้ (วรารณณ์ ฉุยฉาย และคณะ, 2555) ดังรายงานของ Hernández-Rodríguez et al. (2010) พบว่า กรดอินโดลอะซิติกช่วยเพิ่มปริมาณรงควัตถุ อัตราการสังเคราะห์แสง และการสะสมของน้ำตาล เช่น กลูโคส ฟรุคโตส และน้ำตาลที่ละลายได้ทั้งหมดในพืช

6. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์ที่สนับสนุนอุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการทำวิจัยในครั้งนี้

7. เอกสารอ้างอิง

- กองวิจัยและพัฒนาการจัดการที่ดิน กรมพัฒนาที่ดิน. *ดินเค็ม*. (มปป.) http://www.ddd.go.th/Web_Soil/Page.htm.
- ชนิษฐา สมตระกูล และ วรารณณ์ ฉุยฉาย. (2563). การส่งเสริมการเจริญของพืชเศรษฐกิจที่ปลูกในดินที่ได้รับผลกระทบจากเกลือโดยจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เอซีซีทีอะมิเนส. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรธานี*, 8(2), 1-14. <https://ph01.tci-thaijo.org/index.php/scudru/article/view/240510>.
- ณัฐฐา สุวัณณาชาติ, สายใจ ปอสูงเนิน และ ชีระ ธรรมวงศา. (2565). ผลของสารสกัดราเอนโดไฟต์ต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องกุหลาบเหลืองโคราชในสภาพปลอดเชื้อ. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*, 27(1), 467-480. <https://science.buu.ac.th/ojs246/index.php/sci/article/download/3971/3466>.
- ทศพล นำปนัส. (2559). การผลิต Indole-3-acetic acid โดยราเอนโดไฟต์สกุล *Colletotrichum* ที่แยกได้จากต้นกาแฟสายพันธุ์อะราบิก้า และผลต่อการเจริญของพืช. [รายงานวิจัยปริญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต]. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ปริญญาวดี แสงคำ, รัตติกาล ไชยเมืองยอง และ อัจฉริยา ชมเชย. (2559). ผลของเชื้อราเอนโดไฟต์ที่สร้าง Indole acetic acid (IAA) ต่อการเจริญของเมล็ดและต้นข้าวหอมมะลิ (KDML105). *การประชุมวิชาการและนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 7* (หน้า 2904 – 2917). เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่.
- วรารณณ์ ฉุยฉาย, นันธพร ศิลป์สมบุรณ์ และ ชนิษฐา สมตระกูล. (2555). ผลของแบคทีเรียที่สังเคราะห์กรดอินโดลอะซิติกที่คัดแยกจากวัชพืชต่อการเจริญเติบโตระยะต้นกล้าของพืชเศรษฐกิจ. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี*. 14(4), 22-28. <https://www.thaiscience.info/journals/Article/JSUU/10887075.pdf>.
- วิไลลักษณ์ โคมนพันธ์, วรารณณ์ ฉุยฉาย และ นิสิต ชำนาญเพชร. (2563). ผลของไกลโฟเซตต่อการเจริญการงอกของสปอร์และการสร้างกรดอินโดลอะซิติกของราเอนโดไฟต์ที่คัดแยกจากรางจืด (*Thunbergia laurifolia* Linn.). *วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก*, 13(1), 102-110. <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/researchjournal2rmutto/article/download/244661/167224/841325>.

- สโรชา ประสงค์ผลชัย. (2559). ศักยภาพของราที่แยกได้จากนาเกลือต่อการยับยั้งราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสและคุณสมบัติทางเทคโนโลยีชีวภาพบางประการ.[รายงานวิจัยปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต]. มหาวิทยาลัยบูรพา.
- สุมาลี ชูกำแพง. (2555). พืชในสภาวะเครียดเกลือ. *วารสารพฤกษศาสตร์ไทย*, 4(1), 15-24.
- อริภัทร เงินหมื่น. (2556). ผลของความเค็มต่อลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ของพืชทนเค็มบางชนิดที่พบภายในพื้นที่นาทุ่งรัง. [วิทยานิพนธ์ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต]. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- Abdul, L.K., Muhammad, H., Sang-Mo, K., Yoon-Ha, K., Hee-Young, J. Joong-Hwan, L. & In-Jung, L. (2012). Endophytic fungal association via gibberellins and indole acetic acid can improve plant growth under abiotic stress: an example of *Paecilomyces formosus* LHL10. *BMC Microbiology*, 12(3), 1-14. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-12-3>.
- Ana, P., Metka, L., Tilen, K., Anja, K., Jania, Z., Cene, G. & Nina, G.C. (2014). Adaptation to high salt concentrations in halotolerant/halophilic fungi: an molecular perspective. *Frontiers in Microbiology*, 5, 1-12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00199>.
- Anayat, R.M., Husna, S., Pravej A. & Shamsul, H. (2020). Foliar spray of Auxin/IAA modulates photosynthesis, elemental composition, ROS localization and antioxidant machinery to promote growth of *Brassica juncea*. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 26(12), 2503–2520. <https://doi.org/10.1007/s12298-020-00914-y>.
- Anbumalar, S & Ashokumar, P. (2016). Effect of halobacterium in promoting the plant growth. *International Journal of Science and Research*, 5(9), 934-938. <https://www.ijsr.net/archive/v5i9/ART20161734.pdf>.
- Arunin, S. & Pongwichian, P.(2015). Salt-affected soils and management in Thailand. *Bulletin of the society of sea water science*, 69, 319-325. <https://doi.org/10.11457/swsj.69.319>.
- Bacon, C.W., Porter, J.K., Robbins, J.D. & Luttrell, E.S. (1977). Epichloë typhina from toxic tall fescue grasses. *Applied and Environmental Microbiology*, 34, 576- 581. <https://doi.org/10.1128/aem.34.5.576-581.1977>.
- Baltruschat, H., Fodor, J., Harrach, B.D., Niemczyk, E., Barna, B., Gullner, G., Janeczko, A., Kogel, K.H., Schäfer, P., Schwarczinger, I., Zuccaro, A., Skoczowski, A.(2008). Salt tolerance of barley induced by the root endophyte *Piriformospora indica* is associated with a strong increase in antioxidants. *New Phytologist*, 180(2), 501-510. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02583.x>.
- Chand, K., Shah, S., Sharma, J., Paudel, M.R., & Pant, B. (2020). Isolation, characterization, and plant growthpromoting activities of endophytic fungi from a wild orchid *Vanda cristata*. *Plant Signaling & Behavior*, 15(5), 1-8. <https://doi.org/10.1080/15592324.2020.1744294>.

- Conceicao, V.S. (2004). Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. *Journal of Scientia Horticulturae*, 103(1), 93-99. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2004.04.009>.
- Hana, H. (2002). Gibberellin and auxin production by plant root-fungi and their biosynthesis under salinity – calcium interaluminum interaction. *Rostlinna Vyroba*, 48(3), 101-106. <https://www.agriculturejournals.cz/pdfs/pse/2002/03/03.pdf>.
- Huang, X.D., El Alawi, Y., Penrose, D.M., Glick, B.R. & Greenberg, B.M. (2004). Response of three grass species to creosote during phytoremediation. *Environmental Pollution*, 130(3), 453-463. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2003.12.018>.
- Ketehouli T., Carthe K.F.I., Noman M. Wang F.W., Li X.W. & Li H.Y. (2019). Adaptation of Plants to Salt Stress: Characterization of Na⁺ and K⁺ Transporters and Role of CBL Gene Family in Regulating Salt Stress Response. *Agronomy*, 9(11), 1-32. <https://doi.org/10.3390/agronomy9110687>.
- Khan, A.L., Hamayun, M., Kim, Y., Kang, S.M. & Lee, S.U. (2011). Ameliorative symbiosis of endophyte (*Penicillium funiculosum* LHL06) under salt stress elevated plant growth of *Glycine max* L. *Plant Physiol Biochem*, 49(8), 852-861. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.03.005>.
- Kumla, J., Suwannarach, N., Matsui, K. & Lumyong, S. (2020). Biosynthetic pathway of indole-3-acetic acid in ectomycorrhizal fungi collected from northern Thailand. *PLOS ONE*, 15(1), e0227478. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227478>.
- Machado, R.M.A. & Serralheiro, R.P. (2017). Soil salinity: effect on vegetable crop growth management practices to prevent and mitigate. *Horticulturae*, 3(30), 1-13. <https://doi.org/10.3390/horticulturae3020030>.
- Pan, J., Peng, F., Xue, X., You, Q., Zhang, W., Wang, T. & Huang C. (2019). The growth promotion of two salt-tolerant plant groups with PGPR inoculation: a meta-analysis. *Sustainability*, 11(378), 1-14. <https://doi.org/10.3390/su11020378>.
- Redman, R.S., Dunigan, D. & Rodriguez, R.J. (2001). Fungal Symbiosis from Mutualism to Parasitism: Who Controls the Outcome, Host or Invader?. *The New Phytologist*, 151(3), 705-716. <https://doi.org/10.1046/j.0028-646x.2001.00210.x>.
- Rodriguez, R.J., Henson, J., Van Volkenburgh, E., Hoy, M., Wright, L., Beckwith, F., Kim, Y.O. & Redman, R.S. (2008). Stress tolerance in plants via habitat-adapted symbiosis. *International Society for Microbial Ecology Journal*, 2, 404-416. <https://doi.org/10.1038/ismej.2007.106>.

- Hernandez-Rodríguez, A., Heydrich-Pérez, M., Diallo, B., El Jaziri, M. & Vandeputte, O. (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. <https://doi.org/10.1007/s10725-009-9433-5>.
- Takemura, T., Hanagata, N., Sugihara, K., Baba, S., Karube, I. & Dubinsky, Z. (2000). Physiological and biochemical responses to salt stress in the mangrove, *Bruguiera gymnorhiza*. *Aquatic Botany*, 68(1), 15-28. [https://doi.org/10.1016/S0304-3770\(00\)00106-6](https://doi.org/10.1016/S0304-3770(00)00106-6).
- Venâncio, C., Pereira, R., Freitas, A.C., Rocha-Santos, T.A.P., Costa, J.P., Duarte, A.C. & Lopes, I. (2017). Salinity induced effects on the growth rates and mycelia composition of basidiomycete and zygomycete fungi. *Environmental Pollution*, 231(2), 1633-1641. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.09.075>.
- Waller, F., Achatz, B., Baltruschat, H., Fodor, J., Becker, K., Fischer, M., Heier, T., Hückelhoven, R., Neumann, C., Wettstein, D.V., Franken, P. & Kogel, K.H. (2005). The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *PNAS*, 102(38), 13386–13391. <https://doi.org/10.1073/pnas.0504423102>.
- Whiting, D., Card, A., & Wilson, C. (2010). *Saline soils*. USA: Colorado State University Extension.
- Zhang, S., Gan, Y. & Xu, B. (2019). Mechanisms of the IAA and ACC deaminase producing strain of *Trichoderma longibrachiatum* T6 in enhancing wheat seedling tolerance to NaCl stress. *BMC Plant Biology*, 19(22), 1-18. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1618-5>.