

ราดาร์กเซฟเตทเอ็นโดไฟท์และราอาร์บัสคูลาร์ไมคอไรซา
ในพืชอาหารบางชนิดที่ปลูกในจังหวัดลำปาง

Dark Septate Endophytic and Arbuscular Mycorrhizal Fungi
in Some Food Crops Grown in Lampang Province

จารุณี มีชัย*

Charunee Meechoui¹

สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา

Agricultural Technology Research Institute, Rajamangala University of Technology Lanna

วันที่รับบทความ 5 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2557

วันที่ตอบรับตีพิมพ์ 26 พฤศจิกายน พ.ศ. 2557

บทคัดย่อ

ทำการสำรวจการเข้าอยู่อาศัยในรากพืชของราดาร์กเซฟเตทเอ็นโดไฟท์ (dark septate endophytic fungi, DSE fungi) และราอาร์บัสคูลาร์ไมคอไรซา (arbuscular mycorrhiza fungi, AM fungi) จากตัวอย่างพืชอาหาร 8 ชนิด คือ ผักโขม เมล็ด ข้างฟาง ข้าวฟ่างหางหมา ข้าวโพด ถั่วลิสง ถั่วแดง ถั่วดำ และถั่วสอ ที่ปลูกที่สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร จังหวัดลำปาง เก็บตัวอย่างในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ 2553 ผลการสำรวจพบว่าในพืช 8 ชนิดที่ศึกษา มีพืช 7 ชนิด ที่พบว่ามี การเข้าอยู่อาศัยในรากของ DSE fungi และในพืช 4 ชนิดที่มี DSE fungi เข้าอยู่อาศัยนั้นมีความสัมพันธ์กับ AM fungi ร่วมด้วย พืชที่พบ การเข้าอยู่อาศัยของ DSE fungi เพียงอย่างเดียวมี 3 ชนิด คือ ผักโขมเมล็ด ข้างฟางและข้าวฟ่างหางหมา การเข้าอยู่อาศัยใน รากพืชของ DSE fungi อยู่ในระหว่าง 9.29-62.96 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการเข้าอยู่อาศัยในรากของ AM fungi อยู่ระหว่าง 28.70- 63.89 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างกันไปตามชนิดพืช ในรายงานนี้ได้เสนอลักษณะโครงสร้างทางสัณฐานวิทยาของ DSE fungi ในราก พืชไว้ด้วย จากผลการศึกษา พบว่า พืช 3 ชนิด คือ ผักโขมเมล็ด ข้างฟาง และข้างฟ่างหางหมา ซึ่งเป็นพืชทนแล้งสูง มีการเข้า อยู่อาศัยของ DSE fungi ได้ค่อนข้างดี ดังนั้น ในอนาคตควรจะได้มีการศึกษาถึงการตอบสนองและความสัมพันธ์ของพืช โดยเฉพาะพืชทนแล้งต่อ DSE fungi ในแหล่งนิเวศต่างๆ ต่อไป

คำสำคัญ : ราดาร์กเซฟเตทเอ็นโดไฟท์ ราอาร์บัสคูลาร์ไมคอไรซา พืชอาหาร จังหวัดลำปาง

*Corresponding author. E-mail: charunee.rmutl@gmail.com

Abstract

The incidence and root colonization of dark septate endophytic fungi (DSE fungi) and arbuscular mycorrhizal fungi (AM fungi) of 8 food crops species; grain amaranth, sorghum, foxtail millet, corn, peanut, kidney bean, black gram and cowpea; collected from Agricultural Technology Research Institute at Lampang Province during February 2010 were investigated. The survey indicated that 7 of the 8 plant species examined were associated with DSE fungi. In addition, 4 DSE fungal plant species were also associated with AM fungi. Three plant species (grain amaranth, sorghum and foxtail millet) had only DSE fungal colonization but lacked AM fungal association. The extent of root colonization was found in ranging from 9.29 % to 62.96 % for DSE fungi and 28.70% to 63.89% for AM fungi in the different plant species. DSE fungal morphology in plant root is presented in this report. Remarkably, DSE fungal colonization was abundantly found in 3 species of drought tolerant plant including grain amaranth, sorghum and foxtail millet. So, the effect of DSE fungi on the response of drought tolerant plant and diversity of plant grown in drought condition will be studied in the future experiment.

Keywords : dark septate endophytic fungi, arbuscular mycorrhizal fungi, food crops, Lampang province

บทนำ

ราดาร์กเซฟเทเพนโดไฟท์ (dark septate endophytic fungi, DSE fungi) คือ กลุ่มของเชื้อราเส้นใยมีผนังกันเป็นเชื้อราที่อาจสร้าง conidia หรือเป็นเชื้อรากลุ่ม ascomycetous ที่ไม่สร้างสปอร์ (sterile ascomycetous fungi) มักสร้างรงควัตถุสีดำที่มีเมลานินเป็นส่วนประกอบ สามารถเข้าอยู่อาศัยในเซลล์รากพืชหรืออยู่ระหว่างเซลล์รากพืช บางครั้งเส้นใยสามารถอัดรวมตัวกันเป็นโครงสร้างที่เรียกว่า microsclerotia ภายในเซลล์รากพืช โดยปกติแล้ว DSE fungi ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายและไม่ก่อโรคต่อพืชเจ้าบ้าน (Jumpponen & Trappe, 1998) แม้ว่าพบ DSE fungi เข้าอยู่อาศัยในรากพืชหลากหลายชนิดอย่างกว้างขวาง แต่ยังมีคำถามถึงข้อสงสัยขั้นพื้นฐานอย่างมากมาย เช่น DSE fungi จัดเป็นไมคอร์ไรซากลุ่มหนึ่งได้หรือไม่ (Jumpponen, 2001)

กลุ่ม DSE fungi นี้เดิมจัดอยู่ในพวกที่เรียกกันว่า Mycelium radices atrovirens ซึ่งหมายถึงกลุ่มเชื้อราที่ไม่สร้างเซลล์สปอร์ เส้นใยมีผนังกัน สามารถเข้าอยู่อาศัยในรากพืชหลายชนิด (Richard & Fortin, 1973) บทบาทหน้าที่และความสำคัญของ DSE fungi ยังไม่ชัดเจน เมื่อเทียบกับราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (arbuscular mycorrhizal fungi, AM fungi) ซึ่งเป็นราเอนโดไฟท์พวกเอนโดไมคอร์ไรซาที่มีประโยชน์ต่อพืชเจ้าบ้านโดยเฉพาะอย่างยิ่งในเรื่องของการช่วยดูดซึมธาตุอาหารบางชนิด

ความแตกต่างของโครงสร้างของ DSE fungi ภายในเซลล์รากพืช กับโครงสร้างของ AM fungi มีดังนี้ คือ AM fungi เป็นราชั้นต่ำกลุ่มเส้นใยไม่มีผนังกัน เมื่อเข้าอยู่อาศัยในรากพืช มักสร้างโครงสร้างที่เรียกว่า arbuscule และ vesicle จึงทำให้แยกได้จาก DSE fungi ได้ชัดเจนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ การแพร่กระจายของ DSE fungi พบได้กว้างขวางเช่นเดียวกับ AM fungi โดยสามารถพบได้ทั้งในเขตร้อนและเขตอบอุ่น สามารถเข้าอยู่อาศัยในรากพืชหลากหลายชนิด เช่น พืชไร่ (Muthukumar & Temilselvi, 2010) พืชสมุนไพร (Zubek & Blaszkowski, 2009) และพืชยืนต้นอื่นๆ (Uma et al., 2012) และยังสามารถพบได้ใน

สภาพแวดล้อมที่กว้างขวาง แต่ความเด่นของ DSE fungi คือ มักพบได้มากในสภาพ strong abiotic stress โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสภาพแห้งแล้ง Knapp *et al.*, (2012) ได้รายงานถึงการเสนอสมมุติฐาน จากหลายรายงานวิจัย ถึงความสัมพันธ์ของ DSE fungi กับภาระหนักของพืช

ความสัมพันธ์ของ DSE fungi กับพืชยังไม่ทราบชัดเจน แต่คาดว่าน่าจะคล้ายคลึงกับความสัมพันธ์ของ AM fungi กับพืช มีรายงานอยู่บ้าง ในเรื่องของความเป็นประโยชน์ต่อพืชเจ้าบ้าน เช่น Newsham, (1999) ได้ทดลองพบว่า DSE fungi ให้ผลบวกต่อการเจริญเติบโตต่อหญ้าอาหารสัตว์ชนิดหนึ่ง Jumpponen, (2001) ได้รวบรวมรายงานเกี่ยวกับผลของ DSE fungi ต่อพืชเจ้าบ้าน และได้เสนอความคิดเห็นว่า DSE fungi น่าจะจัดกลุ่มเข้าเป็นพวกไมคอร์ไรซาได้ โดยเฉพาะในกรณีความสัมพันธ์แบบซิมไบโอซิสกับพืช

การจำแนกชนิดของเชื้อรากลุ่ม DSE fungi ยังค่อนข้างยากในทางปฏิบัติเนื่องจาก ถึงแม้จะเพาะเลี้ยงในรูปเชื้อบริสุทธิ์ได้ แต่เส้นใยไม่ค่อยสร้างโครงสร้างสืบพันธุ์ มีน้อยมากที่สร้างโคนเดียและสปอร์ ทำให้ส่วนใหญ่ยังไม่ทราบชนิดของเชื้อ แต่ต่อมาเมื่อเทคนิคทางชีวโมเลกุลพัฒนาขึ้น การจำแนกเชื้อบริสุทธิ์จึงเป็นไปได้มากขึ้น เชื้อบริสุทธิ์ของ DSE fungi ที่เป็นเอนโดไฟท์ในพืชบางชนิด ที่ทราบชนิดแล้ว ได้แก่ *Chloridium paucisporum*, *Leptodontidium orchidicola*, *Phialocephala dimorphospora*, *Phialocephala fortinii* และ *Phialophora finlandia* (Jumpponen & Trappe, 1998)

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจการเข้าอยู่อาศัยของ DSE fungi และ AM fungi ในรากพืชชนิดต่างๆ 8 ชนิด ได้แก่ ผักโขมเมล็ด ข้าวฟ่าง ข้าวฟ่างหางหมา ข้าวโพด ถั่วลิสง ถั่วแดง ถั่วดำและถั่วสอ ที่เก็บตัวอย่างที่สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร จังหวัดลำปาง ในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ 2553

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการวิจัย

ตัวอย่างพืชและระยะเวลาปลูก ตัวอย่างพืชที่ใช้ในการศึกษาเป็นพืชที่ปลูกเพื่อสังเกตและรวบรวมพันธุ์ที่สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร จังหวัดลำปาง จาก 2 แหล่งทดสอบ คือ 1) พืชไร่จากการปลูกรวบรวมและทดสอบพันธุ์ในแปลงปลูกมี 4 ชนิด ได้แก่ ผักโขมเมล็ด ข้าวฟ่าง ข้าวฟ่างหางหมาและข้าวโพด 2) พืชตระกูลถั่วจากการรวบรวมและทดสอบพันธุ์ในดินในถังซีเมนต์ มี 4 ชนิด ได้แก่ ถั่วลิสง ถั่วแดง ถั่วดำและถั่วสอ ปลูกระหว่างปลายเดือนตุลาคม 2552 ถึงเดือนมีนาคม 2553 ซึ่งช่วงเป็นช่วงที่ภูมิอากาศค่อนข้างเย็นและแห้งแล้งของภาคเหนือตอนบน ทำการเก็บตัวอย่างในช่วงระยะเวลาการเจริญเติบโตของพืชช่วงดอกเริ่มแก่ คือช่วงกลางเดือนกุมภาพันธ์ 2553 แปลงปลูกพืชไร่แต่ละชนิดมีพื้นที่ขนาด 3x3 เมตร ถึงซีเมนต์ที่ปลูกพืชตระกูลถั่วมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 80 ซม. สูง 40 ซม. พืชที่ปลูกเป็นการปลูกแบบธรรมชาติ ไม่มีการปลูกเชื้อใดๆ ไม่มีการใส่ปุ๋ย ไม่มีการฉีดยาฆ่าแมลง และไม่ฉีดยากำจัดวัชพืช มีเพียงการให้น้ำแบบปกติและกำจัดวัชพืชโดยการถอนเท่านั้น ภาพที่ 1 แสดงภาพพืชที่ใช้ในการศึกษาเก็บตัวอย่าง

ข้อมูลสภาพพื้นที่และสภาพภูมิอากาศของพื้นที่ปลูก สถานที่ปลูก สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร จังหวัดลำปาง ตำแหน่งที่ตั้งคือ Latitude: 18°21' N Longitude: 99°36' E มีความสูงจากระดับน้ำทะเล 270 เมตร เนื้อดิน (Soil texture) เป็น sandy clay loam (S:Si:Cl = 61.3:30.0:8.7) ข้อมูลภูมิอากาศในช่วงปลูกได้แสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ข้อมูลตรวจอากาศที่สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร จังหวัดลำปาง เดือนตุลาคม 2552 ถึง มีนาคม 2553

วันเวลา	อุณหภูมิอากาศเฉลี่ย (°C)		ความชื้นอากาศเฉลี่ย (%)		ปริมาณฝนรวม รายเดือน (มม.)
	สูงสุด	ต่ำสุด	สูงสุด	ต่ำสุด	
ต.ค. 2552	35.32	28.19	71.74	41.77	59.20
พ.ย. 2552	33.33	23.30	70.67	33.37	ไม่มีฝน
ธ.ค. 2552	31.52	19.00	70.00	16.58	ไม่มีฝน
ม.ค. 2553	32.81	20.61	73.65	24.84	ไม่มีฝน
ก.พ. 2553	37.68	20.71	73.50	15.96	ไม่มีฝน
มี.ค. 2553	38.52	22.29	73.87	18.10	21.40

การเก็บตัวอย่างพืชและการเตรียมราก เก็บตัวอย่างพืชชนิดละ 3 ต้น ล้างรากด้วยน้ำประปาจนดินหลุดหมด โดยสุ่มใช้รากต้นละ 3 ชั้นราก รวม 9 ชั้นรากต่อชนิดพืช ตัดรากออกเป็นท่อนชั้นราก ยาวชั้นละ 1 ซม. นำมาย้อมสีเพื่อศึกษาการเข้าอยู่อาศัยของเชื้อราในราก โดยทำให้รากใสด้วยการต้มชั้นรากใน 10 % KOH ในอ่างน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง ล้างด้วยกรดไฮโดรคลอริกเจือจาง จากนั้นย้อมสีด้วย 0.05 % trypan blue ใน lactophenol (Phillips & Hayman, 1970)

การประเมินเปอร์เซ็นต์การเข้าอยู่อาศัยในรากของเชื้อรา ทำโดยวิธี Magnified intersection methods ตามวิธีของ McGonigle *et al.*, (1990) ซึ่งเป็นวิธีการประเมินจำนวนการเข้าอยู่อาศัยในรากของ AM fungi ส่วนการประเมินการเข้าอยู่อาศัยของ DSE fungi ใช้วิธีเดียวกับการตรวจนับ AM fungi ของ McGonigle *et al.*, (1990) โดยการนับทั้งโครงสร้างของ DSE fungi และ AM fungi ไปพร้อมๆกันในสไลด์เดียวกัน การตรวจนับทำโดยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ยี่ห้อ Carl Zeiss รุ่น Axio Imager A1 กำลังขยาย 200 เท่า จากตัวอย่างราก 9 ชั้นรากต่อชนิดพืช ซึ่งย้อมสีแล้ว นำมาวางบนกระจกสไลด์ 3 แผ่นๆละ 3 ชั้นราก แต่ละชั้นราก สุ่มตรวจนับชั้นรากละ 12 ฟิวด์กล้องจุลทรรศน์ ซึ่งจะได้ 108 ฟิวด์กล้องจุลทรรศน์ต่อชนิดพืช บันทึกค่าเป็นบวกหรือลบ เมื่อพบหรือไม่พบโครงสร้างของ DSE fungi และ AM fungi ตามแนว cross hair intersect ของรากในแต่ละฟิวด์กล้องจุลทรรศน์ที่สุ่มตรวจ โครงสร้างของ DSE fungi ที่ตรวจได้แก่ conidia, microsclerotia และ septate hyphae ส่วนโครงสร้างของ AM fungi ได้แก่ arbuscule vesicle hyphae และ hyphal coil คำนวณเปอร์เซ็นต์การเข้าอยู่อาศัยของ DSE fungi และ AM fungi จากสัดส่วนฟิวด์กล้องจุลทรรศน์ที่ให้ผลบวกต่อฟิวด์กล้องจุลทรรศน์ทั้งหมดที่ตรวจนับ คูณด้วย 100 บันทึกผลและคำนวณหาค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์การเข้าอยู่อาศัย และค่า standard error ของค่าเฉลี่ยลงในตารางบันทึกข้อมูล



ภาพที่ 1 พืชตัวอย่างที่ใช้ศึกษาการเข้าอยู่อาศัยของ DSE fungi และ AM fungi แปลงปลูกผักโขมเมล็ด (1a) ข้าวฟ่าง (1b) กลุ่มพืชไร่ในแปลงปลูก (1c) และพืชตระกูลถั่วที่ปลูกในดินถึงซีเมนต์ (1d)

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

ตารางที่ 2 แสดงการเข้าอยู่อาศัยในรากพืชของ DSE fungi และ AM fungi ในพืชไร่ 4 ชนิด คือ ผักโขมเมล็ด ข้าวฟ่าง ข้าวฟ่างหอมและข้าวโพด ที่ปลูกในสภาพแปลง ที่สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร จังหวัดลำปาง สรุปได้ว่า พืชไร่ทั้ง 4 ชนิด ที่ศึกษา พบการเข้าอยู่อาศัยของ DSE fungi ได้ทั้ง 4 ชนิด ซึ่งในบรรดาทั้งพืชไร่ทั้ง 4 ชนิดที่ศึกษา มีเพียงข้าวโพดเพียงชนิดเดียวที่พบทั้ง DSE fungi และ AM fungi

ตารางที่ 3 แสดงการเข้าอยู่อาศัยในรากพืชของ DSE fungi และ AM fungi ในพืชตระกูลถั่ว 4 ชนิด ดังนี้ คือ ถั่วลิสง ถั่วแดง ถั่วดำและถั่วสอ ที่ปลูกในดินในถึงซีเมนต์ ที่สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร จังหวัดลำปาง พืชตระกูลถั่วทั้ง 4 ชนิด ที่ปลูกในงานทดลองนี้ พบการเข้าอยู่อาศัยของ AM fungi ได้ดีทั้ง 4 ชนิด ส่วนการเข้าอยู่อาศัยของ DSE fungi พบได้ทุกชนิดในพืชตระกูลถั่วที่ศึกษา ยกเว้นในถั่วลิสง

โดยพืชทั้ง 8 ชนิด พบว่าการเข้าอยู่อาศัยในรากของ DSE fungi อยู่ในระหว่าง 9.29-62.96 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการเข้าอยู่อาศัยในรากของ AM fungi อยู่ระหว่าง 28.70-63.89 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นอยู่กับชนิดพืชที่ศึกษา

เมื่อพิจารณาในแต่ละพืชแล้ว ผักโขมเมล็ด หรือ grain amaranth พบว่า มีการเข้าอยู่อาศัยของ DSE fungi ได้ถึง 62.96 % แต่ไม่พบการเข้าอยู่อาศัยของ AM fungi (ตารางที่ 2) ซึ่งโดยปกติแล้ว พืชในวงศ์ Amaranthaceae จัดเป็นพวก non-mycorrhiza plant (Tester *et al.*, 1987) การที่ผักโขมเมล็ดเป็นพืชอาศัยที่เหมาะสมต่อ DSE fungi อาจเป็นเพราะผักโขมเมล็ดจัดเป็นพืชทนแล้งสูงและชอบอากาศเย็น (Graham, 2010) และสอดคล้องกับการทดลองของ Steven *et al.*, (2010) ที่ไม่พบการเข้าอยู่อาศัยของ AM fungi แต่พบ DSE fungi ใน *Amaranthus* sp. ในเขตที่ลุ่มน้ำขังของเท็กซัสตะวันออก

ข้าวฟ่างและข้าวฟ่างหางหมา ให้ผลคล้ายคลึงกัน คือ พบการเข้าอยู่อาศัยของ DSE fungi ได้ดี แต่ไม่พบการเข้าอยู่อาศัยของ AM fungi (ตารางที่ 2) ซึ่งตรงข้ามกับผลการทดลองของ Muthukumar & Temilselvi (2010) ที่พบ AM fungi แต่ไม่พบ DSE fungi จากการที่ ผลการทดลองครั้งนี้ไม่พบ AM fungi ในข้าวฟ่างและข้าวฟ่างหางหมา อาจเป็นเพราะสภาพที่ปลูกทดลองเป็นช่วงแล้งและอากาศเย็น เหมาะต่อการเข้าอยู่อาศัยของ DSE fungi มาก ซึ่งคาดว่าเมื่อมีการเข้าอยู่อาศัยของ DSE fungi ได้มากและเข้าอยู่ก่อนในช่วงเริ่มต้น คาดว่าทำให้การเข้าอยู่อาศัยของ AM fungi เกิดขึ้นได้ยากขึ้น ถึงแม้ปกติแล้วข้าวฟ่างจะเป็นพืชอาศัยที่ดีของ AM fungi ก็ตาม

ข้าวโพด เป็นพืชเพียงชนิดเดียวที่ปลูกในสภาพไร่ในการทดลองนี้ ที่พบการเข้าอยู่อาศัยทั้ง DSE fungi และ AM fungi (ตารางที่ 2) โดยปกติแล้ว ข้าวโพดเป็นพืชที่มีการเข้าอยู่อาศัยของ AM fungi ได้ดี นิยมใช้เป็นพืชอาศัยในการผลิตกล้าเชื้อ AM fungi และเป็นที่ยอมรับกันโดยธรรมชาติแล้วข้าวโพดมีความทนแล้งน้อยกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มข้าวฟ่าง จึงทำให้การเข้าอยู่อาศัยของ AM fungi ในรากข้าวโพดเป็นไปได้มาก และจากการทดลองนี้ จึงคาดว่ากรที่ข้าวโพดที่ปลูกในสภาพแล้งและเย็น ทำให้การเข้าอยู่อาศัยของ DSE fungi เกิดขึ้นได้ด้วย อย่างไรก็ตาม ผลนี้แตกต่างจากผลการทดลองของ Muthukumar & Temilselvi (2010) ที่ไม่พบ DSE fungi ในข้าวโพด

พืชตระกูลถั่วทั้ง 4 ชนิดในสภาพที่ปลูกนี้ ดูเหมือนจะเหมาะสมต่อการเข้าอยู่อาศัยของ AM fungi ได้ดี โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ถั่วลิสงพบการเข้าอยู่อาศัยของ AM fungi ได้ถึง 63.89 เปอร์เซ็นต์ แต่ถั่วทุกชนิดในการทดลองนี้ พบการเข้าอยู่อาศัยของ DSE fungi ได้ มากบ้างน้อยบ้าง ยกเว้น ถั่วลิสงไม่พบการเข้าอยู่อาศัยของ DSE fungi (ตารางที่ 3) ซึ่งคาดว่า รากของถั่วลิสง มีความชื้นค่อนข้างสูง จึงไม่เหมาะต่อการเข้าอยู่อาศัยของ DSE fungi ซึ่งผลดังกล่าวสอดคล้องกับผลการสำรวจของ Muthukumar & Temilselvi (2010) ซึ่งพบการเข้าอยู่อาศัยของ AM fungi ในถั่วลิสง แต่ไม่พบการเข้าอยู่อาศัยของ DSE fungi ที่ปลูกในประเทศอินเดีย แต่ Zhang *et al.*, (2011) พบการเข้าอยู่อาศัยของ DSE fungi ในถั่วลิสงที่ปลูกในเขตตะวันตกในประเทศจีน นอกจากนี้ผลการสำรวจของ Muthukumar & Temilselvi (2010) ในถั่ว *Vigna mungo* ซึ่งเป็นชื่อพ้องของถั่วดำ (*Phasecolus mungo* L.) ให้ผลสอดคล้องกันคือ พบทั้ง AM fungi และ DSE fungi

นอกจากนี้ยังพบว่า พืชตระกูลถั่วทั้ง 4 ชนิด ซึ่งเป็นพืชใบเลี้ยงคู่ ที่ปลูกในดินถึงซีเมนต์ ในการทดลองนี้ มีแนวโน้มเหมาะสมต่อการเข้าอยู่อาศัยของ AM fungi ได้ดี (ตารางที่ 3) ในขณะที่ พืชกลุ่มพืชไร่ซึ่งเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ที่ปลูกในสภาพแปลงในการทดลองนี้ มีแนวโน้มเหมาะสมต่อการเข้าอยู่อาศัยของ DSE fungi ได้ค่อนข้างดี ยกเว้นในข้าวโพด ที่มีการเข้าอยู่อาศัยของ AM fungi ได้ดีกว่า (ตารางที่ 2) ซึ่งสอดคล้องกับผลการสำรวจการเข้าอยู่อาศัยของเชื้อราในรากของพืชในที่ลุ่มโดย Weishampel & Bedford (2006) พบว่า AM fungi เข้าอยู่อาศัยมากในรากพืชกลุ่มใบเลี้ยงคู่มากกว่า DSE fungi ในขณะที่พืชใบเลี้ยงเดี่ยวให้ผลตรงข้าม

โครงสร้างเฉพาะของ DSE fungi ในรากพืช คือ microsclerotia ที่เกิดจากเส้นใยแบบมีผนังกันมารวมตัวกัน สำหรับ microsclerotia ที่พบในการทดลองนี้มีรูปร่างหลายรูปแบบ แม้ในพืชชนิดเดียวกัน อาจมีได้มากกว่าหนึ่งรูปแบบ ดังแสดง

ตัวอย่างในภาพที่ 2-5 และมีทั้งพวกที่สีคล้ำมาก ซึ่งโดยปกติเกิดจากสีของเมลานิน ไปจนถึงพวกที่มีสีเกือบใส ในการทดลองนี้ โครงสร้าง microsclerotia พบได้ในพืชทุกชนิดที่มีการเข้าอยู่อาศัยของ DSE fungi (ตารางที่ 2 และ ตารางที่ 3) โครงสร้าง microsclerotia ที่พบในงานวิจัยนี้มีรูปแบบคล้ายคลึงกับรายงานวิจัยต่างๆ เช่น Barrow (2003) และ Zhang et al., (2010) เป็นต้น นอกจากนี้ Zhang et al., (2010) ยังได้เสนอสมมุติฐานว่า การที่เส้นใยของ DSE fungi มีปริมาณของไขมันและเมลานินในเส้นใยเป็นปริมาณมาก อาจทำให้พืชสมุนไพรที่ชื่อ *Lycium barbarum* L. ที่เขาศึกษาในเขตแห้งแล้งของจีน มีความทนแล้งเพิ่มมากขึ้น

โครงสร้างพิเศษอื่นที่เป็นส่วนหนึ่งของ DSE fungi ที่พบ ได้แก่ โครงสร้างที่คล้าย *cheiroid conidia* โดยพบในเฉพาะในรากของผักโขมเมล็ดเท่านั้น แสดงในภาพที่ 2 (2b และ 2d) ซึ่งยังไม่มีรายงานอื่นสนับสนุน อย่งไรก็ดี ในรายงานนี้ได้เน้นโครงสร้างที่คล้าย *cheiroid conidia* รวมเข้ากับ DSE fungi ด้วย (ตารางที่ 2)

โครงสร้างพิเศษอีกรูปแบบหนึ่งของราเอ็นโดไฟท์ ในรายงานนี้ คือ โครงสร้างที่คล้ายกับ *moniliform hyphae* ซึ่งพบในรากพืชตระกูลถั่ว โดยพบมากในรากถั่วแดง ซึ่งในรายงานนี้ ไม่ได้เน้นรวมเข้ากับ DSE fungi เนื่องจาก โครงสร้างดังกล่าวพบเฉพาะในรากอ่อน และไม่เข้าอยู่ในเซลล์รากพืช แต่เนื่องจากโครงสร้างดังกล่าวพบได้บ่อยและมีลักษณะที่น่าสนใจจึงได้แสดงภาพตัวอย่างไว้ในรายงานนี้ด้วย (ภาพที่ 6)

แนวทางการศึกษาต่อไปที่เสนอแนะในรายงานนี้ คือ ควรศึกษาถึงผลของราเอ็นโดไฟท์ต่อพืชอาศัยและการประยุกต์ใช้ประโยชน์ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง DSE fungi เนื่องจากเป็นราที่สามารถเพาะเลี้ยงเป็นเชื้อบริสุทธิ์ได้ ในขณะที่ AM fungi เพาะเลี้ยงเป็นเชื้อบริสุทธิ์ไม่ได้ ดังนั้น DSE fungi น่าจะมีศักยภาพในการนำไปใช้ประโยชน์ได้ง่าย

ตารางที่ 2 Root colonization of dark septate endophytic and arbuscular mycorrhizal fungi of some field crops

Taxon	name	DSE colonization (%)			AM colonization (%)		
		conidia	microsclerotia	total DSE	arbuscule	vesicle	total AM
Amaranthaceae	ผักโขมเมล็ด (grain amaranth) <i>Amaranthus cruentus</i> L.	18.52* ±2.62	13.89 ±2.27	62.96 ±4.72	0	0	0
Gramineae	ข้าวฟ่าง (sorghum) <i>Sorghum bicolor</i> (L.) Moench	0	6.48 ±1.31	53.71 ±2.62	0	0	0
Gramineae	ข้าวฟ่างหางหมา (foxtail millet) <i>Setaria italica</i> (L.) P. Beauv.	0	20.37 ±4.72	59.26 ±9.17	0	0	0
Gramineae	ข้าวโพด (corn) <i>Zea mays</i> L.	0	1.85 ±1.31	9.26 ±4.63	17.56 ±3.46	23.15 ±2.62	61.11 ±11.45

หมายเหตุ : ค่าแสดงในตารางเป็นค่า mean value ± standard error; * เป็น conidia แบบที่คล้ายคลึงกับ cheiroid conidia

DSE = dark septate endophytic fungi, total DSE = รวมการเข้าอยู่อาศัยของ microsclerotia, conidia และ septate hyphae; AM = arbuscular mycorrhizal fungi, total AM = รวมการเข้าอยู่อาศัยของ arbuscule, vesicle, hyphae และ hyphal coil

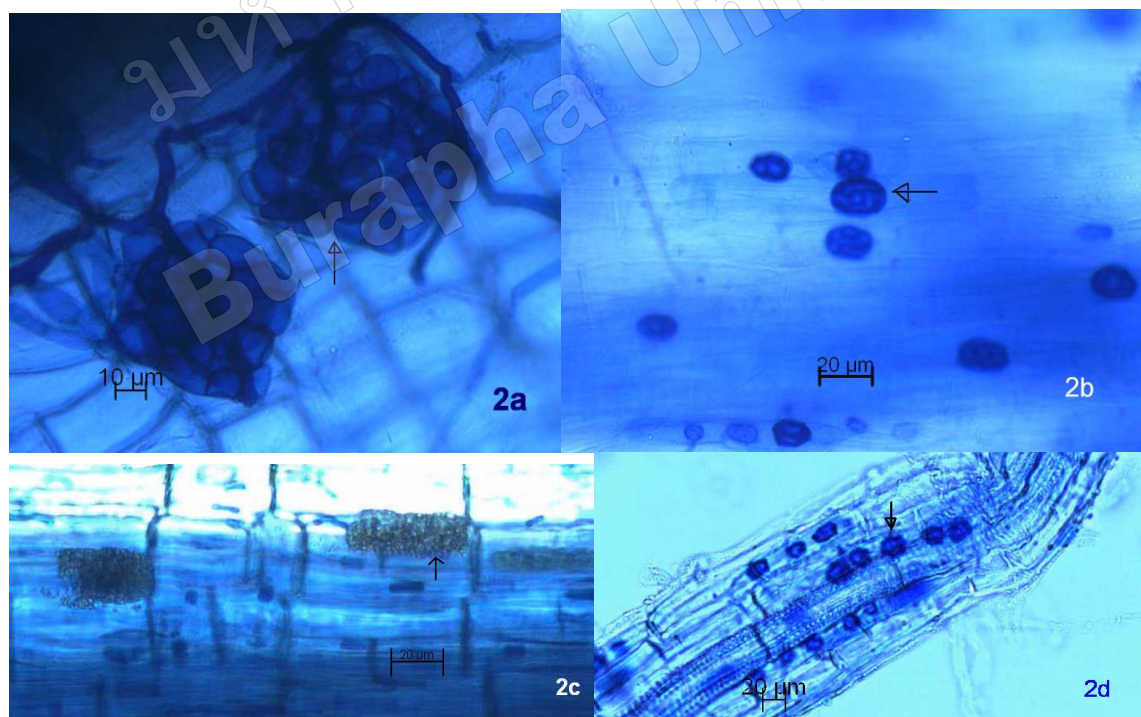
ตารางที่ 3 Root colonization of dark septate endophytic and arbuscular mycorrhizal fungi of some legumes

Taxon	name	DSE colonization (%)			AM colonization (%)		
		conidia	microsclerotium	total DSE	arbuscule	vesicle	total AM
Fabaceae	ถั่วลิสง (peanut) <i>Arachis hypogaea</i> L.	0	0	0	0	60.19 ±4.72	63.89 ±3.93
Fabaceae	ถั่วแดง (kidney bean) <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	0	12.04 ±1.31	23.15 ±2.62	2.78 ±2.27	35.18 ±2.62	39.81 ±5.71
Fabaceae	ถั่วดำ (black gram) <i>Phaseolus mungo</i> L.	0	10.19 ±3.46	28.70 ±8.58	2.78 ±2.27	22.22 ±2.27	28.70 ±5.71
Fabaceae	ถั่วลันเตา (cowpea) <i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp	0	4.47 ±1.55	11.11 ±6.00	0	42.59 ±9.16	51.85 ±11.64

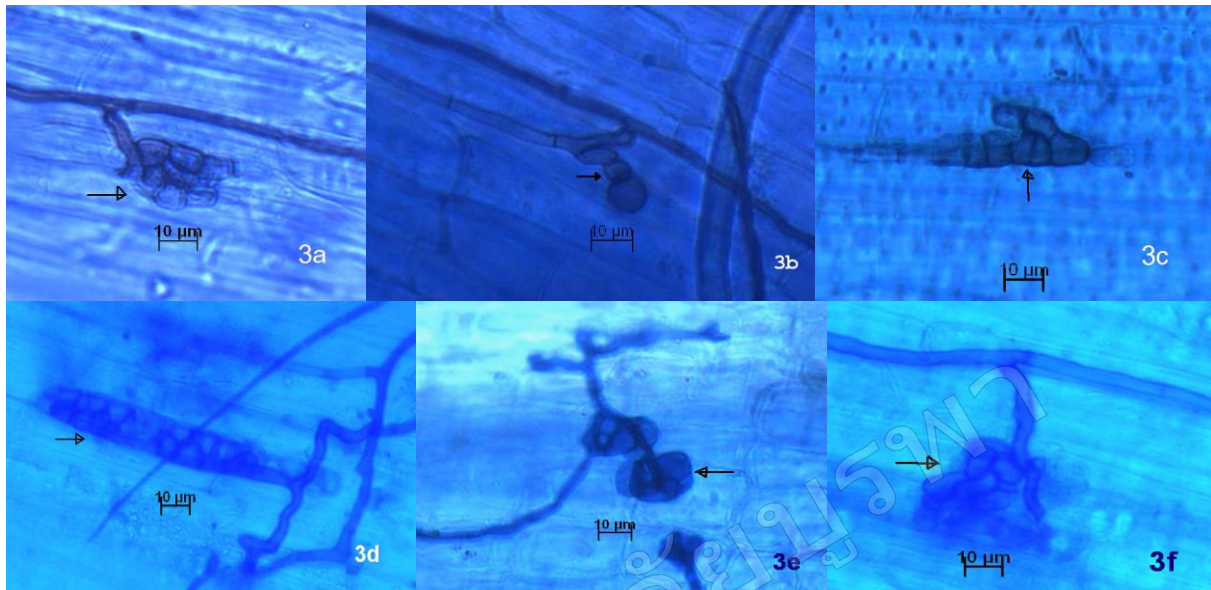
หมายเหตุ : ค่าแสดงในตารางเป็นค่า mean value ± standard error;

DSE = dark septate endophytic fungi, total DSE = รวมการเข้าอยู่อาศัยของ microsclerotia, conidia และ septate

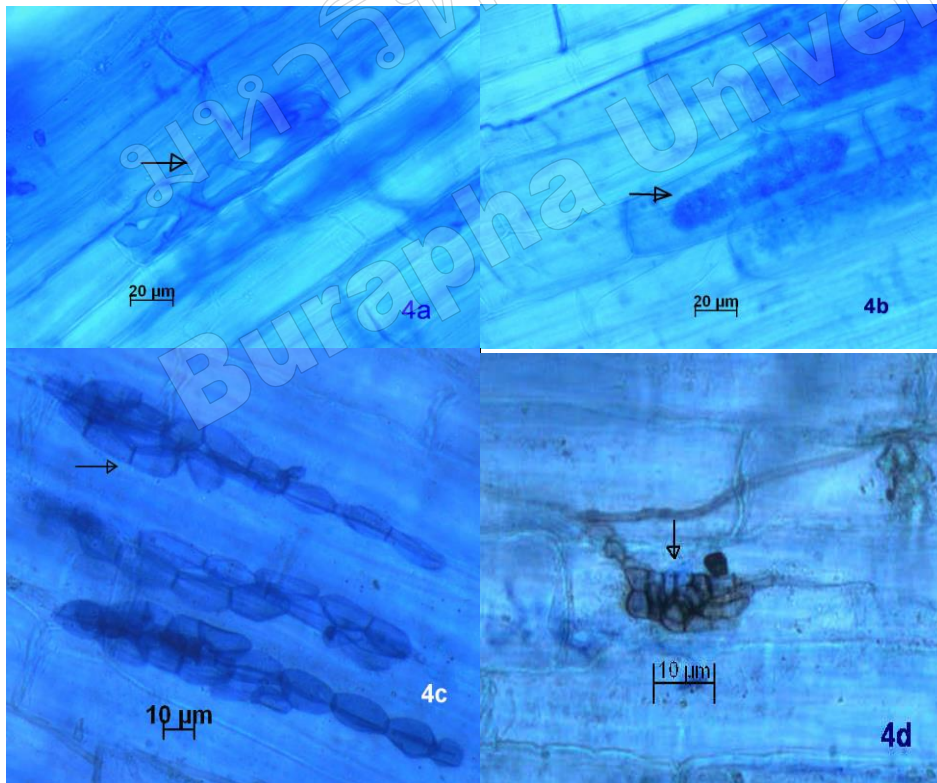
hyphae; AM = arbuscular mycorrhizal fungi, total AM = รวมการเข้าอยู่อาศัยของ arbuscular, vesicle, hyphae และ hyphal coil



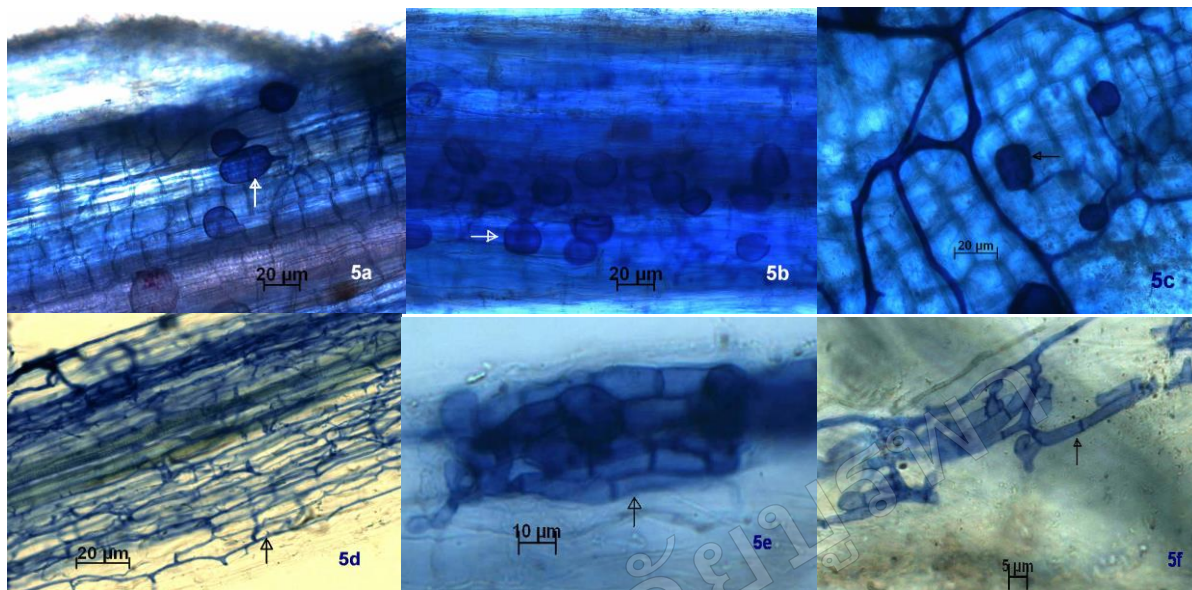
ภาพที่ 2 โครงสร้างของ DSE fungi ในรากผักโขมเมล็ด (Amaranthus cruentus L.) ลูกศรชี้แสดงโครงสร้าง microsclerotium (2a และ 2c) และโครงสร้างที่คล้าย cheiroid conidia (2b และ 2d)



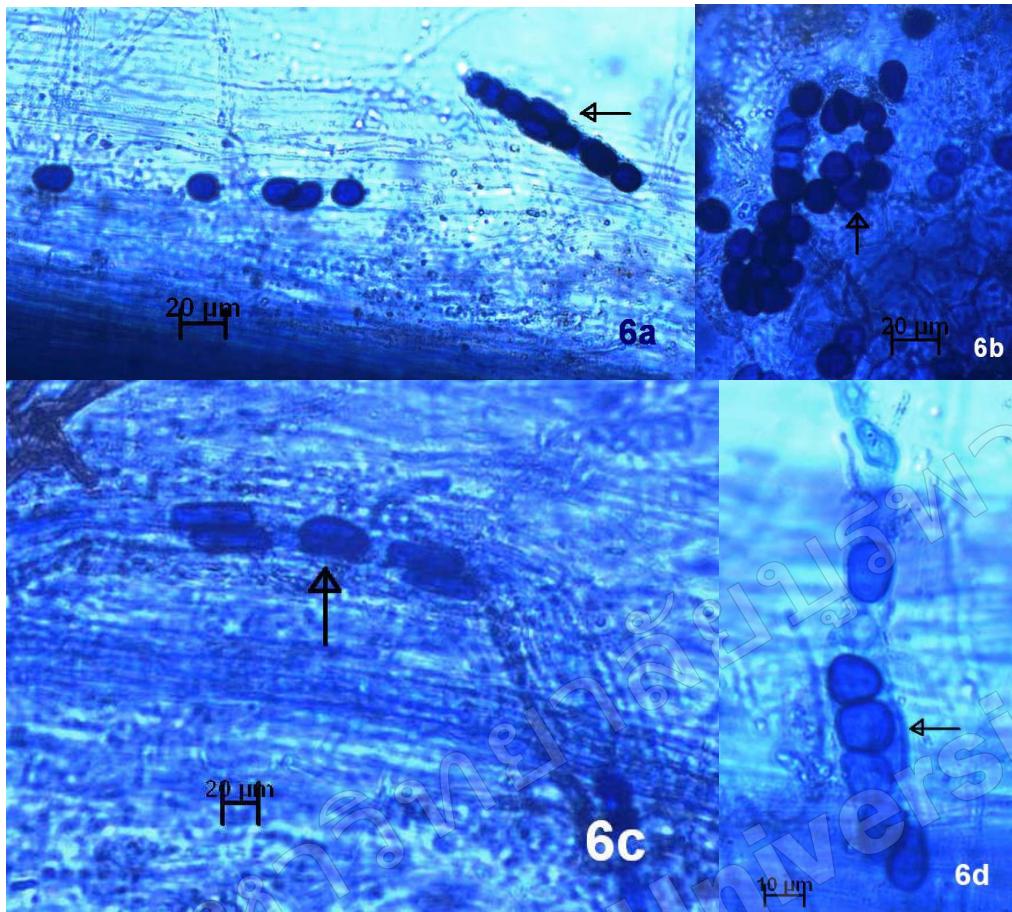
ภาพที่ 3 โครงสร้าง microsclerotium ของ DSE fungi ภาพ 3a-3d พบในรากข้าวฟ่าง (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) (ลูกศรชี้) ภาพ 3e-3f พบในรากข้าวฟ่างหางหมา (*Setaria italica* (L.) P. Beauv.) (ลูกศรชี้)



ภาพที่ 4 โครงสร้างของเชื้อราในรากข้าวโพด (*Zea mays* L.) ลูกศรชี้แสดง hyphal coil (4a) และ arbuscule (4b) ของ AM fungi และ microsclerotium (4c และ 4d) ของ DSE fungi



ภาพที่ 5 โครงสร้างของเนื้อรากในรากพืชตระกูลถั่ว ลูกศรชี้แสดง vesicle ของ AM fungi ในรากถั่วแดง (*Phaseolus vulgaris* L.) (5a) ถั่วลิสง (*Arachis hypogaea* L.) (5b) และถั่วสอ (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) (5c) กลุ่มของเส้นใย AM fungi ในรากถั่วสอ (5d) microsclerotium (5e) และ septate hyphae (5f) ของ DSE fungi ในรากถั่วดำ (*Phaseolus mungo* L.)



ภาพที่ 6 โครงสร้างราเอ็นโดไฟท์ที่พบในรากถั่วแดง (*Phaseolus vulgaris* L.) ซึ่งมีลักษณะคล้าย moniliform hyphae (ลูกศรชี้) ซึ่งไม่ได้นับรวมเข้ากับ DSE fungi (6a-6d)

สรุปผลการวิจัย

1. การเข้าอยู่อาศัยในรากพืชของเชื้อราทั้งสองกลุ่มในสภาพการทดลองครั้งนี้ 8 ชนิด ได้แก่ ผักโขมเมล็ด ข้าวฟ่าง ข้าวฟ่างหางหมา ข้าวโพด ถั่วลิสง ถั่วแดง ถั่วดำและถั่วสอ พบว่าการเข้าอยู่อาศัยในรากของ DSE fungi อยู่ในระหว่าง 9.29-62.96 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการเข้าอยู่อาศัยในรากของ AM fungi อยู่ระหว่าง 28.70-63.89 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้ ขึ้นอยู่กับชนิดพืชที่ศึกษา

2. DSE fungi สามารถเข้าอยู่อาศัยในรากพืชที่ศึกษาได้ทุกชนิด ยกเว้นถั่วลิสง ส่วนผักโขมเมล็ดเป็นพืชที่มีการเข้าอยู่อาศัยของ DSE fungi ได้ดี ส่วนข้าวฟ่างและข้าวฟ่างหางหมาพบการเข้าอยู่อาศัยของ DSE fungi ได้ค่อนข้างดี ในการทดลองครั้งนี้ พืชที่ไม่พบการเข้าอยู่อาศัยในรากของ AM fungi โดยพบเฉพาะการเข้าอยู่อาศัยของ DSE fungi มี 3 ชนิด ได้แก่ ผักโขมเมล็ด ข้าวฟ่าง และข้าวฟ่างหางหมา ส่วนพืชที่พบการเข้าอยู่อาศัยร่วมกันทั้ง DSE fungi และ AM fungi มี 4 ชนิด ได้แก่ ข้าวโพด ถั่วแดง ถั่วดำและถั่วสอ

3. โครงสร้างเฉพาะของ DSE fungi คือ microsclerotia พบได้ในพืชทั้ง 7 ชนิดที่พบว่ามีการเข้าอยู่อาศัยของ DSE fungi โดยพบได้มากกว่าหนึ่งรูปแบบในพืชชนิดเดียวกัน นอกจากนี้ ในรากผักโขมเมล็ด ยังพบโครงสร้างที่มีลักษณะคล้าย cheiroid conidia ด้วย

4. พืช 3 ชนิด คือ ผักโขมเมล็ด ข้างฟาง และข้างฟางหางหมา ซึ่งจัดเป็นพืชทนแล้งสูง มีการเข้าอยู่อาศัยของ DSE fungi ได้ค่อนข้างดี ดังนั้น ในอนาคตควรจะได้มีการศึกษาเพิ่มเติมถึงการตอบสนองของพืชโดยเฉพาะพืชทนแล้งต่อ DSE fungi ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

การทดลองนี้ สำเร็จลุล่วงไปได้ ผู้วิจัยขอขอบคุณ อาจารย์ คณะนักศึกษาฝึกงานและผู้ช่วยวิจัยและปฏิบัติการ และหน่วยงานสถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร ที่มีส่วนช่วยเหลือในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Barrow, J.R. (2003). Atypical morphology of dark septate fungal root endophytes of *Bouteloua* in arid southwest USA rangelands. *Mycorrhiza*. 13, 239-247.
- Grahame, M.W. (2010). *Grain amaranth production and effect of soil amendments in Uganda*. Master's thesis, Sustainable Agriculture, Graduate Theses and dissertations, Graduate College. Iowa State University.
- Jumpponen, A. (2001). Dark septate endophytes - are they mycorrhizal? *Mycorrhiza*. 11, 207-211.
- Jumpponen, A., & Trappe, J.M. (1998). Dark septate endophytes: a review of facultative biotrophic root colonizing fungi. *New Phytol*. 140, 295-310.
- Knapp, D.G., Pintye, A., & Kovacs, G.M. (2012). The dark side is not fastidious-dark septate endophytic fungi of native and invasive plants of semiarid sandy areas. *PLoS ONE* 7:e32570.
- McGonigle, T.P., Miller, M.H., Evans, D.G., Fairchild, G.L., & Swan, J.A. (1990). A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol*. 115, 495-501.
- Muthukumar, T., & Temilselvi, V. (2010). Occurrence and morphology of endorhizal fungi in crop species. *Trop. Subtrop Agroecosyst*. 12, 593-604.
- Newsham, K.K. (1999). *Phialophora graminicola*, a dark septate fungus, is a beneficial associate of the grass *Vulpia ciliata* ssp. *ambigua*. *New Phytol*. 144, 517-524.
- Phillips, J.M., & Hayman, D.S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55, 158-160.
- Richard. L, & Fortin, A. (1973). The identification of mycelium radice atrovirens (*Phialocephala dimorphospora*). *Can. J. of Bot.* 5, 2247-3348.

- Steven, K.J., Wellner, M.R., & Acevedo, M.F. (2010). Dark septate endophyte and arbuscular mycorrhizal status of vegetation colonizing a bottomland hardwood forest after a 100 year flood. *Aquat. Bot.* 92, 105-111.
- Tester, M., Smith, S.E. & Smith, F.E. (1987). The phenomenon of "nonmycorrhizal" plants. *Can. J. Bot.* 65, 419-431.
- Weishampel, P.A., & Bedford, B.L. (2006). Wetland dicots and monocots differ in colonization by arbuscular mycorrhizal fungi and dark septate endophytes. *Mycorrhiza*. 16, 495-502.
- Uma, E., Sathiyadash, K., J. Loganathan, T., Loganathan, J., & Muthukumar, T. (2012). Tree species as hosts for arbuscular mycorrhizal and dark septate endophyte fungi. *J. of Forest. Res.* 23, 641-649.
- Zhang, H., Tang, M., Chen, H., Wang, Y., & Ban, Y. (2010). Arbuscular mycorrhizas and dark septate endophytes colonization status in medical plant *Lycium barbarum* L. in arid Northwestern China. *African J. of Microbiol. Res.* 4, 1914-1920.
- Zhang Y., Li, T., Li, L., & Zhao, Z. (2011). The colonization of plants by dark septate endophytes (DSE) in the valley-type savanna of Yunnan, southwest China. *African J. of Microbiol. Res.* 5, 5540-5547.
- Zubek S., & Blaszkowski, J. (2009). Medical plants as a hosts of arbuscular mycorrhizal fungi and dark septate endophytes. *Phytochem Rev.* 8, 571-580.