

การสำรวจและการแยกเชื้อราไมคอร์ไรซาจากกล้วยไม้ดินสกุล
Spathoglottis ที่ปลูกในกระถาง

INVESTIGATION AND ISOLATION OF MYCORRHIZAL FUNGI FROM
TERRESTRIAL ORCHID GENUS *SPATHOGLOTTIS* GROWN IN POT

ธีราพร จันทรศรี¹ อัปสรสวรรค์ ใจบุญ¹ กิรติ ตันเรื่อน¹ พิสิษฐ์ พูลประเสริฐ¹
รัตนทิพร ลำอางค์² รำไพ โกฏสิปป³ และเรืองวุฒิ ชูติมา^{1,3*}

Theeraporn Junsri¹, Apsonsawan Jaiboon¹, Keerati Tanruean¹, Pisit Poolprasert¹,
Rattiphorn Sumang², Rampai Kodsueb³ and Ruangwut Chutima^{1,3*}

¹สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

²สาขาวิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

³สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

¹Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Rajabhat Pibulsongkram University

²Department of Physics, Faculty of Science and Technology, Rajabhat Pibulsongkram University

³Department of Microbiology, Faculty of Science and Technology, Rajabhat Pibulsongkram University

*corresponding author e-mail: ruangwut@psru.ac.th

(Received: 29 September 2020 ; Revised: 23 November 2020; Accepted: 08 December 2020)

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจความสัมพันธ์แบบไมคอร์ไรซา และแยกเชื้อราไมคอร์ไรซาจากกล้วยไม้ดินสกุล *Spathoglottis* ที่ปลูกในกระถางเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการพัฒนาเป็นหัวเชื้อ และใช้ส่งเสริมการเจริญสำหรับกล้วยไม้ดินที่ปลูกในกระถาง โดยการสุ่มตัวอย่างรากกล้วยไม้ดินสกุล *Spathoglottis* ที่ปลูกในกระถาง จำนวน 3 ต้น จากนั้นย้อมสีรากด้วยทริปแทนบลูความเข้มข้นร้อยละ 0.05 โดยมวลต่อปริมาตร ผลการทดลองพบว่ารากกล้วยไม้ทั้ง 3 ต้นมีโครงสร้างของเพอไลตอนซึ่งมีลักษณะขดเป็นกลุ่มของเส้นใยเชื้อราไมคอร์ไรซาอยู่ภายในชั้นคอร์เทกซ์ของราก เมื่อทำการแยกเชื้อราจากรากกล้วยไม้ทั้ง 3 ต้น พบว่า สามารถแยกเชื้อราได้ทั้งหมด 6 ไอโซเลท ซึ่งเชื้อราที่แยกได้นี้สามารถเพาะเลี้ยงเป็นเชื้อบริสุทธิ์ได้ในห้องปฏิบัติการโดยไม่ต้องเพาะเลี้ยงร่วมกับพืชเจ้าบ้าน และจากการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาเบื้องต้น ทั้งลักษณะของโคโลนีบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และลักษณะของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า เชื้อราที่แยกได้ทั้งหมดจัดอยู่ในกลุ่มราชั้นสูงเนื่องจากเส้นใยมีผนังกัน และพบการสร้างสปอร์ 5 ไอโซเลท ยกเว้นเชื้อราไอโซเลท SPGT 006 ที่ไม่พบการสร้างสปอร์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar

(PDA) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงแสดงให้เห็นว่ากล้วยไม้ดินสกุล *Spathoglottis* ที่ปลูกในกระถางนั้นมี ความสัมพันธ์แบบไมคอร์ไรซาเกิดขึ้นได้เช่นเดียวกับกล้วยไม้ในธรรมชาติ และเชื้อราที่แยกได้ สามารถเพาะเลี้ยงเป็นเชื้อราบริสุทธิ์ได้ในห้องปฏิบัติการ ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้สำหรับการวิจัย และพัฒนาต่อยอดเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อราไมคอร์ไรซาสำหรับกล้วยไม้ดินในกระถางต่อไป

คำสำคัญ: กล้วยไม้ดิน เพลไลตอน ไมคอร์ไรซา

Abstract

This research aims to investigate the mycorrhizal relationship and isolate mycorrhizal fungi from terrestrial orchid, genus *Spathoglottis*, which grown in pot to use as basically data for development of fungal inoculum and enhancing growth of terrestrial orchid grown in pot. The roots of 3 *Spathoglottis* orchids were corrected, randomly and stained with 0.05% w/v trypan blue. The results showed that the peloton structures, coil of fungal hypha, were found in cortex root tissues of all 3 orchid plants. In addition, 6 fungal isolates were isolated from roots of these 3 orchid samples and all fungal isolates were able to culture in laboratory without host plant. The fungal morphological study, including of fungal colony on agar media and characterization of hypha under microscope, revealed that all fungal isolated belonged to higher fungi due to septate hypha were found. Moreover, 5 fungal isolates were found spore formation after cultured on Potato dextrose agar (PDA) while fungal isolate SPGT 006 was not found spore formation. This research indicated that the mycorrhizal relationship was found in terrestrial orchid, genus *Spathoglottis*, grown in pot and all isolated fungi were able to culture in laboratory without their host plants. Therefore, these results are possibility for further study to develop mycorrhizal inoculum for terrestrial orchid grown in pot.

Keywords: Terrestrial orchid, Peloton, Mycorrhiza

บทนำ

กล้วยไม้ เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวส่วนใหญ่มีการกระจายพันธุ์อยู่ในเขตร้อน และเขตอบอุ่น ในประเทศไทยมีประมาณ 176 สกุล 1,157 ชนิด สามารถจำแนกกล้วยไม้ตามลักษณะการอยู่อาศัยออกเป็นกล้วยไม้อิงอาศัยที่เกาะอาศัยตามต้นไม้ใหญ่ และกล้วยไม้ดินซึ่งขึ้นอยู่บนพื้นดิน (ครุฑิต, 2550; ทศนัย, 2560; อภรณ์, 2556) ปัจจุบันมีการนำกล้วยไม้มาเพาะขยายพันธุ์ โดยการใช้อาหารสังเคราะห์ในสภาวะปลอดเชื้อเพื่อลดอัตราเสี่ยงต่อการสูญเสียพันธุ์ของกล้วยไม้

(Chutima et al., 2011; Khamchatra et al., 2016) อย่างไรก็ตามการอยู่รอดของกล้วยไม้ในสภาวะแวดล้อมตามธรรมชาตินั้นจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องพึ่งพาเชื้อราไมคอร์ไรซาโดยเฉพาะกล้วยไม้ดินจึงส่งผลให้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในห้องปฏิบัติการทำได้ยากกว่ากล้วยไม้อิงอาศัย (Chutima et al., 2011; Guimareães et al., 2013)

การอยู่รอดของกล้วยไม้ในธรรมชาตินั้นขึ้นอยู่กับเชื้อราที่อาศัยในดินและอยู่ร่วมกับรากกล้วยไม้โดยมีความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยกัน เรียกความสัมพันธ์แบบนี้ว่าความสัมพันธ์แบบไมคอร์ไรซา และรากกลุ่มนี้เรียกว่าเชื้อราไมคอร์ไรซา (เรืองวุฒิ หทัยชนก และอรพินธ์, 2561; อบจัตต์, 2549) ทั้งนี้ผลจากงานวิจัยได้ชี้ให้เห็นว่ารากไมคอร์ไรซาช่วยส่งเสริมการงอกของเมล็ดกล้วยไม้และการเจริญของต้นอ่อน กล้วยไม้หลายชนิดต้องการรากไมคอร์ไรซาตั้งแต่ระยะเริ่มงอกของเมล็ดจนถึงออกดอก โดยเชื้อราไมคอร์ไรซาจะเข้าอาศัยร่วมกับรากกล้วยไม้ และสร้างโครงสร้างเพลโลตอน (Peloton) ซึ่งมีลักษณะเป็นกลุ่มของเซลล์ใยราอยู่ในชั้นคอร์เทกซ์ (Cortex) ของรากเพื่อใช้ในการแลกเปลี่ยนสารอาหารกับกล้วยไม้ (Chutima et al., 2011; Suarez & Kottke, 2016; Swarts & Dixon, 2009) ทั้งนี้การศึกษาเชื้อราเอนโดไฟต์และเชื้อราไมคอร์ไรซาจากรากกล้วยไม้บางชนิดยังพบว่าเชื้อราดังกล่าวสามารถสร้างฮอร์โมนส่งเสริมการเจริญของพืชในกลุ่ม Indole-3-acetic acid (IAA) ได้ (Chutima & Lumyoung, 2012; Kodsueb & Lumyoung, 2017) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าเชื้อราไมคอร์ไรซายังช่วยส่งเสริมการให้พืชดูดน้ำและอาหารได้ดีขึ้น ทำให้พืชและระบบรากมีความทนทานต่อเชื้อก่อโรคพืช (Trappe, 2004; Wu, Huang & Chang, 2011) และยังช่วยให้พืชทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมมากขึ้น เช่น ความแห้งแล้ง ดินในสภาวะเป็นกรด (เกตุศนธ์, 2560; Brundrett et al., 1996) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาที่สนับสนุนว่าการใช้เชื้อราไมคอร์ไรซาร่วมกับการปลูกกล้วยไม้นั้นจะช่วยส่งเสริมการเจริญของกล้วยไม้ได้ดียิ่งขึ้น (ปวรวิศ, อรรวรณ และณัฐา, 2557; Chutima et al., 2011; Wu, Huang & Chang, 2011)

กล้วยไม้สกุล *Spathoglottis* เป็นกล้วยไม้ดินสกุลหนึ่งที่พบได้ทั่วไปทั้งในธรรมชาติและมีการเพาะปลูกเป็นไม้ดอกเพื่อความสวยงาม ซึ่งประเทศไทยจัดเป็นพืชไม้ดอกเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่ง เนื่องจากเป็นกล้วยไม้ที่ให้ดอกสวยงาม และมีความหลากหลาย ทั้งด้านสีของดอกและสายพันธุ์ ในบางสายพันธุ์สามารถออกได้ตลอดทั้งปี จึงนิยมปลูกลงกระถางเป็นไม้ประดับเกือบทั่วทุกภาคของประเทศไทย (เพ็ญลักษณ์ และคณะ, 2558) นอกจากนี้ยังมีรายงานการแยกเชื้อและใช้เชื้อราไมคอร์ไรซาจากกล้วยไม้ดินสกุลนี้จากแหล่งธรรมชาติเพื่อส่งเสริมการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ได้อีกด้วย (Aewsakul et al., 2013; Athipunyakom et al., 2004) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งสำรวจความสัมพันธ์แบบไมคอร์ไรซา และแยกเชื้อราไมคอร์ไรซาจากกล้วยไม้ดินสกุล *Spathoglottis* ที่ปลูกในกระถาง เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการพัฒนาเป็นหัวเชื้อ และใช้ส่งเสริมการเจริญสำหรับกล้วยไม้ดินที่ปลูกในกระถาง

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การสำรวจเชื้อราไมคอร์ไรซาจากตัวอย่างรากกล้วยไม้ดิน โดยการย้อมรากกล้วยไม้เพื่อตรวจหาโครงสร้างเพลโลตอน (Peloton)

สำรวจเชื้อราไมคอร์ไรซา โดยคัดเลือกรากกล้วยไม้ดินที่สมบูรณ์จากรากกล้วยไม้ *Spathoglottis* ที่ปลูกในกระถาง 3 ต้น ได้จากเกษตรกรในพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก โดยสุ่มมาตัวอย่างละ 2–3 ราก ล้างรากด้วยน้ำให้สะอาด แล้วล้างโดยเปิดน้ำไหลผ่าน (Running tap water) นาน 60 นาที ตัดรากให้มีความยาวประมาณ 3 เซนติเมตร นำไปแช่ในสารละลาย KOH ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยมวลต่อปริมาตร (%w/v) แล้วนำไปนึ่งในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นนำรากที่ได้ไปแช่ในทริปแทนบลูความเข้มข้น 0.05 %w/v แล้วนำไปนึ่งในหม้อความดันไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที นำรากที่ได้ไปตรวจดูโครงสร้างของเพลโลตอนภายใต้กล้องจุลทรรศน์

2. การแยกเชื้อราไมคอร์ไรซาบริสุทธิ์จากตัวอย่างรากกล้วยไม้ดิน

ทำการแยกเชื้อราไมคอร์ไรซาบริสุทธิ์จากตัวอย่างรากกล้วยไม้ดินตามวิธีที่ดัดแปลงจาก Chutima et al. (2011) โดยสุ่มคัดเลือกรากกล้วยไม้ดินที่มีลักษณะสมบูรณ์ ล้างรากด้วยน้ำให้สะอาด แล้วล้างโดยเปิดน้ำไหลผ่าน (Running tap water) นาน 60 นาที ตัดรากให้มีความยาวประมาณ 3 เซนติเมตร ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยปริมาตร: สารละลายโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้นร้อยละ 5.25 โดยปริมาตร: น้ำกลั่นฆ่าเชื้อแล้วในอัตราส่วน 1 : 1 : 1 โดยปริมาตร นาน 2 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง แล้วตัดส่วนหัวและส่วนท้ายของรากทิ้งเล็กน้อย จากนั้นตัดรากแบ่งเป็นชิ้น ความยาวชิ้นละประมาณ 0.5 เซนติเมตร นำชิ้นส่วนที่ตัดได้ไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ¼PDA แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดตรวจดูการเจริญของเส้นใยเชื้อราที่งอกออกจากชิ้นส่วนรากทุกๆ 2 วัน หยิบปลายเส้นใยเชื้อราที่เจริญออกจากชิ้นส่วนรากกล้วยไม้ไปวางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ใหม่ จนกระทั่งได้เชื้อบริสุทธิ์ เก็บรักษาเชื้อราบริสุทธิ์บนอาหารเลี้ยง PDA (PDA slant) และในสารละลายกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 20 โดยปริมาตร ที่ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ศึกษาต่อไป

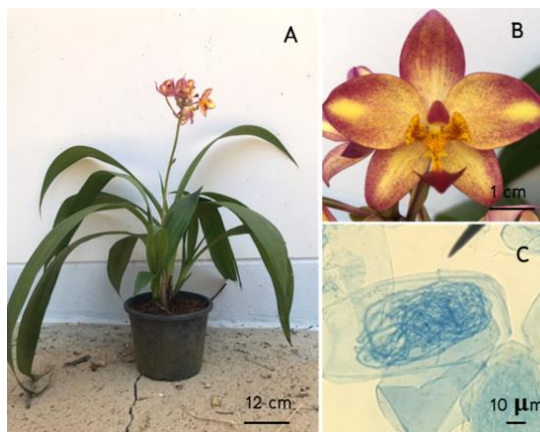
3. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราที่แยกได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และภายใต้กล้องจุลทรรศน์

เพาะเลี้ยงเชื้อราที่แยกได้บนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน ตรวจดูลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ ลักษณะของโคโลนีบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ การสร้างสปอร์และลักษณะของเส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เช่น ลักษณะการมีผนังกันของเส้นใย และลักษณะการแตกกิ่งของเส้นใย บันทึกลักษณะที่ได้เพื่อเก็บเป็นข้อมูลในการศึกษาต่อไป

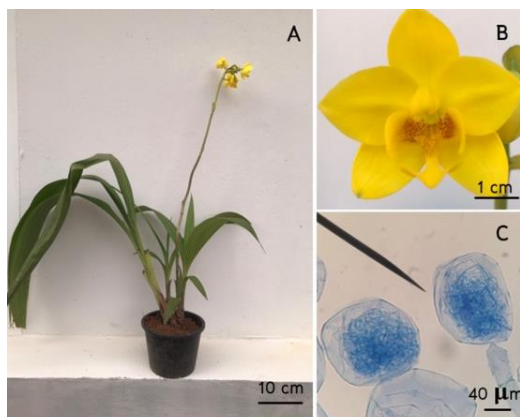
ผลการวิจัย

1. การสำรวจเชื้อราไมคอร์ไรซาจากตัวอย่างกล้วยไม้ดิน โดยการย้อมรากกล้วยไม้เพื่อตรวจหาโครงสร้างเพลโลตอน

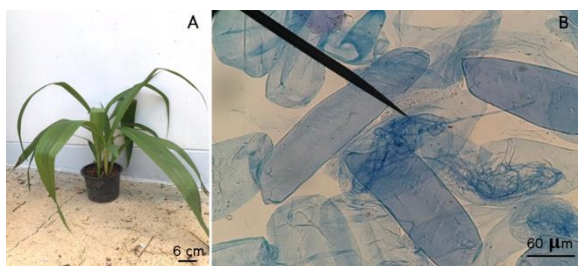
จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างกล้วยไม้ดินสกุล *Spathoglottis* พบว่า ตรวจพบโครงสร้าง Peloton ซึ่งเป็นกลุ่มของขดเส้นใยเชื้อราไมคอร์ไรซากกล้วยไม้ที่อยู่ในชั้นคอร์เทกซ์ของรากกล้วยไม้ทั้ง 3 ต้น ดังภาพที่ 1–3 ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการมีความสัมพันธ์แบบไมคอร์ไรซาของกล้วยไม้ดินตัวอย่างทั้ง 3 ต้น



ภาพที่ 1 ลักษณะกล้วยไม้ดินสกุล *Spathoglottis* sp.1 ลำต้นและช่อดอก (A) ดอก (B) และเพลโลตอนภายในเซลล์รากหลังย้อมด้วยทริปแทนบลูความเข้มข้น 0.05 %w/v ได้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า (C)



ภาพที่ 2 ลักษณะกล้วยไม้ดินสกุล *Spathoglottis* sp.2 ลำต้นและช่อดอก(A) ดอก (B) และเพลโลตอนภายในเซลล์รากหลังย้อมด้วยทริปแทนบลูความเข้มข้น 0.05 %w/v ได้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า (C)



ภาพที่ 3 ลักษณะกล้วยไม้ดินสกุล *Spathoglottis* sp.3 ลำต้น (A) และ เฟลโลโตมภายในเซลล์ราก หลังย้อมด้วยทริปแฟนบลูความเข้มข้น 0.05 %w/v ได้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า (B)

2. การแยกเชื้อราไมคอร์ไรซาบริสุทธิ์จากตัวอย่างรากกล้วยไม้ดิน

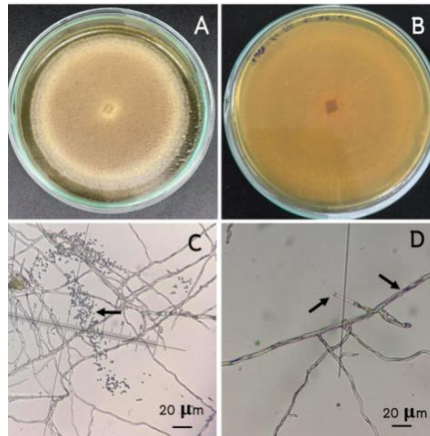
ในการศึกษาครั้งนี้สามารถแยกเชื้อราบริสุทธิ์จากรากกล้วยไม้ดินสกุล *Spathoglottis* และเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ได้ในห้องปฏิบัติการโดยไม่ต้องเพาะเลี้ยงร่วมกับพืชเจ้าบ้าน ทั้งหมด 6 ไอโซเลท ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 เชื้อราที่แยกได้จากตัวอย่างรากกล้วยไม้ดินสกุล *Spathoglottis*

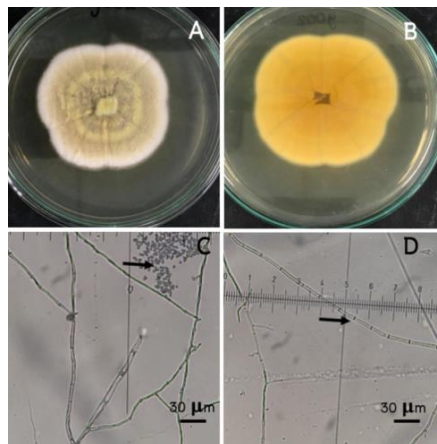
ไอโซเลท เชื้อรา	ลักษณะโคโลนี	ผนัง เส้นใย	สปอร์
SPGT 001	โคโลนีแบนราบสีชมพู ปลายขอบโคโลนีมีสีขาว	พบ	พบ ลักษณะเม็ดกลม
SPGT 002	โคโลนีแบนราบสีน้ำตาล ปลายขอบโคโลนีมีสีขาว	พบ	พบ ลักษณะเม็ดกลม
SPGT 005	โคโลนีฟูสีขาว	พบ	พบ ลักษณะเม็ดกลมต่อกันเป็นสาย
SPGT 006	โคโลนีฟูสีขาว	พบ	ไม่พบ
SPGT 007	โคโลนีฟูสีขาวและอัดแน่น	พบ	พบ ลักษณะเป็นท่อนสั้น
SPGT 008	โคโลนีสีชมพู ปลายขอบโคโลนีมีสีขาว	พบ	พบ ลักษณะเม็ดกลมต่อกันเป็นสาย

3. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราที่แยกได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และภายใต้กล้องจุลทรรศน์

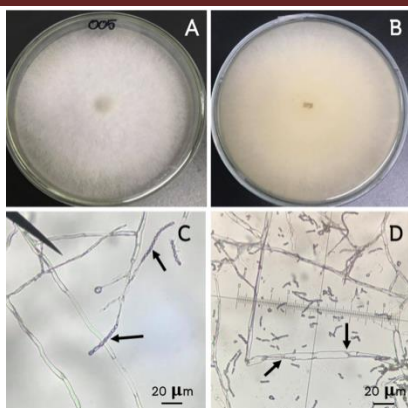
จากการศึกษาพบว่าเชื้อราที่แยกได้ทั้งหมดจัดอยู่ในกลุ่มราชั้นสูงเนื่องจากเส้นใยมีผนัง และพบการสร้างสปอร์ 5 ไอโซเลท ยกเว้นเชื้อราไอโซเลท SPGT 006 ที่ไม่พบการสร้างสปอร์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ดังตารางที่ 1 และภาพที่ 4–9



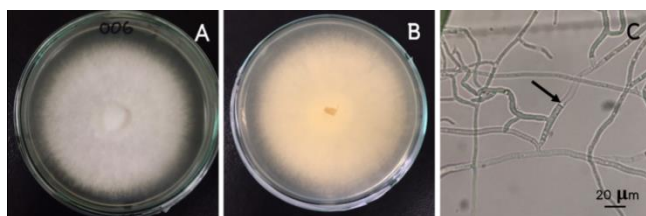
ภาพที่ 4 ลักษณะโคโลนีเชื้อราไอโซเลท SPGT 001 เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ด้านหน้าและด้านหลัง (A และ B) ลักษณะสปอร์ (C, ลูกศรชี้) และเส้นใยราแบบมีผนังกันภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า (D, ลูกศรชี้)



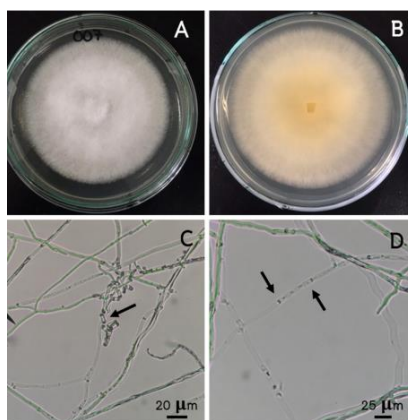
ภาพที่ 5 ลักษณะโคโลนีเชื้อราไอโซเลท SPGT 002 เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ด้านหน้าและด้านหลัง (A และ B) ลักษณะสปอร์ (C, ลูกศรชี้) และเส้นใยราแบบมีผนังกันภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า (D, ลูกศรชี้)



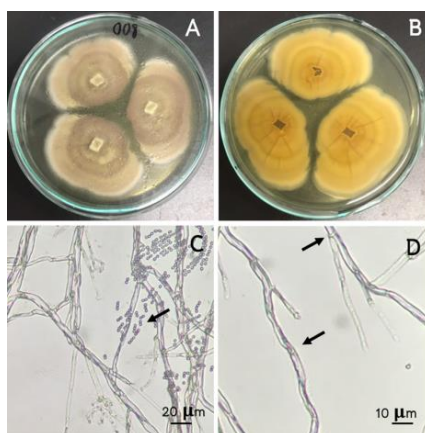
ภาพที่ 6 ลักษณะโคโลนีเชื้อราไอโซเลท SPGT 005 เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ด้านหน้าและด้านหลัง (A และ B) ลักษณะสปอร์ (C, ลูกศรชี้) และเส้นใยราแบบมีผนังกันภายในใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า (D, ลูกศรชี้)



ภาพที่ 7 ลักษณะเชื้อราไอโซเลท SPGT 006 เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ด้านหน้าและด้านหลัง (A และ B) และเส้นใยราแบบมีผนังกันภายในใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า (C, ลูกศรชี้)



ภาพที่ 8 ลักษณะโคโลนีเชื้อราไอโซเลท SPGT 007 เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ด้านหน้าและด้านหลัง (A และ B) ลักษณะสปอร์ (C, ลูกศรชี้) และเส้นใยราแบบมีผนังกันภายในใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า (D, ลูกศรชี้)



ภาพที่ 9 ลักษณะโคโลนีเชื้อราไอโซเลท SPGT 008 เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ด้านหน้าและด้านหลัง (A และ B) ลักษณะสปอร์ (C, ลูกศรชี้) และเส้นใยแบบมีผนังกันภายในใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า (D, ลูกศรชี้)

อภิปรายผล

จากการศึกษาและสำรวจความสัมพันธ์แบบไมคอร์ไรซาในกล้วยไม้ดินสกุล *Spathoglottis* ทั้ง 3 ต้น ที่เพาะปลูกไว้ในกระถาง สามารถตรวจพบโครงสร้างเพอไลตอนของเชื้อราไมคอร์ไรซา กล้วยไม้ ซึ่งมีลักษณะเป็นเส้นใยที่ขดเป็นกลุ่มอยู่ภายในเนื้อเยื่อชั้นคอร์เทกซ์ของราก จึงเป็นตัวบ่งชี้ที่สำคัญซึ่งแสดงให้เห็นว่ากล้วยไม้ดินตัวอย่างที่ทำการศึกษานั้นมีความสัมพันธ์แบบไมคอร์ไรซาเกิดขึ้นได้เช่นเดียวกับกล้วยไม้ที่อาศัยอยู่ในแหล่งธรรมชาติซึ่งมีรายงานการตรวจพบเพอไลตอนและการเข้าอยู่ของเชื้อราไมคอร์ไรซา (Chutima et al., 2011; McKendrick, 2002; Smith & Read, 2008; Swart & Dixon, 2009; Wrigth et al., 2009) และเช่นเดียวกับรายงานการสำรวจและแยกเชื้อราไมคอร์ไรซาจากรากกล้วยไม้นางอ้ว (Pecteilis susannae) เอื้องผึ้ง (*Dendrobium lindleyi*) และรองเท้านารีคางคก (*Paphiopedilum callosum*) ที่ได้ตรวจพบโครงสร้างเพอไลตอนในรากกล้วยไม้เช่นกัน (ชลาลักษณ์, 2561; เรืองวุฒิ หทัยชนก และอรพินธ์, 2561; Chutima et al., 2011) ในการตรวจพบครั้งนี้ยังสามารถอธิบายถึงความสัมพันธ์แบบไมคอร์ไรซานั้นเกิดขึ้นได้ในกล้วยไม้ทั่วไปทั้งในแหล่งที่อยู่อาศัยตามธรรมชาติและที่เพาะเลี้ยงในกระถาง และยังบ่งชี้ถึงความสำคัญของราไมคอร์ไรซาที่มีต่อกล้วยไม้ได้เป็นอย่างมาก ดังงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่รายงานถึงความสัมพันธ์ระหว่างกล้วยไม้และเชื้อราไมคอร์ไรซาที่จำเป็นจะต้องอาศัยอยู่ร่วมกัน และกล้วยไม้หลายชนิดจะไม่สามารถงอกจากเมล็ด หรือเจริญเติบโตได้ไม่เท่าที่ควรหากขาดการเข้าอยู่ของเชื้อราไมคอร์ไรซา (Chutima et al., 2011; Sathiyadash et al., 2012; Smith & Read, 2008; Suarez & Kottke, 2016; Swart & Dixon, 2009) นอกจากนี้นักวิจัยนี้ได้แยกเชื้อราจาก

รากกล้วยไม้ได้ทั้งหมด 6 ไอโซเลท ซึ่งจัดเป็นกลุ่มของราชั้นสูง (Higher fungi) ทั้งหมด สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่รายงานเชื้อไมคอร์ไรซาที่แยกได้จากกล้วยไม้จะจัดอยู่ในกลุ่มของราชั้นสูง และอยู่ในไฟลัม *Basidiomycota* (เรืองวุฒิ หทัยชนก และอรพินธ์, 2561; Athipunyakom, Manoch & Piluek, 2004; Chutima et al., 2011; Sangthong, 2002) ทั้งนี้เชื้อราที่แยกได้ยังสามารถเพาะเลี้ยงเป็นเชื้อบริสุทธิ์ได้ในห้องปฏิบัติการโดยไม่จำเป็นต้องเพาะเลี้ยงร่วมกับกล้วยไม้หรือพืชเจ้าบ้าน โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อพื้นฐานสำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อราทั่วไป (นฤมล, 2562) และสามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิห้อง จึงมีความเหมาะสมสำหรับการพัฒนาเพื่อการใช้ประโยชน์จากเชื้อดังกล่าวโดยเฉพาะการผลิตหัวเชื้อราไมคอร์ไรซาสำหรับกล้วยไม้ดิน และสามารถใช้เป็นต้นแบบการศึกษาในขั้นต่อไปได้ อย่างไรก็ตามเชื้อราไมคอร์ไรซายังมีข้อจำกัดบางประการ เนื่องจากเชื้อราบางชนิดจะมีความจำเพาะกับกล้วยไม้เจ้าบ้าน เป็นผลให้กล้วยไม้ต่างชนิดกัน หรือต่างถิ่นอาศัยกันจะไม่สามารถใช้เชื้อราไมคอร์ไรซาบางชนิดร่วมกันได้ (Otero et al., 2007; Wu Huang & Chang, 2011) ดังนั้นทั้งเชื้อราที่แยกได้จากงานวิจัยนี้จึงมีความเหมาะสมในการศึกษาเพื่อการส่งเสริมการเจริญของกล้วยไม้ และพัฒนาเพื่อผลิตเป็นหัวเชื้อราไมคอร์ไรซาสำหรับกล้วยไม้ดินสกุล *Spathoglottis* ซึ่งเป็นที่นิยมเพาะเลี้ยงในกระถางทั่วไปและยังสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญสำหรับการวิจัยและพัฒนาต่อยอดเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อราไมคอร์ไรซาสำหรับกล้วยไม้ดินที่ปลูกในกระถางต่อไป

สรุปผลการวิจัย

จากการสำรวจเชื้อราไมคอร์ไรซาในรากกล้วยไม้ดินสกุล *Spathoglottis* ทั้ง 3 ต้น ตรวจพบโครงสร้างของเพลโลตอนในรากทุกต้น ซึ่งเป็นโครงสร้างที่สำคัญของกลุ่มเชื้อราไมคอร์ไรซาในกล้วยไม้แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์แบบไมคอร์ไรซาซึ่งสามารถเกิดขึ้นได้ในกล้วยไม้ดินที่เพาะเลี้ยงในกระถางเช่นเดียวกับกล้วยไม้ดินในแหล่งอาศัยธรรมชาติ ทั้งนี้เชื้อราที่แยกได้จากรากกล้วยไม้ทั้งหมดจัดอยู่ในกลุ่มของราชั้นสูง พบเส้นใยแบบมีผนังกันและพบการสร้างสปอร์ 5 ไอโซเลท ไม่พบการสร้างสปอร์ 1 ไอโซเลท และเชื้อราที่แยกได้ทั้งหมดสามารถเพาะเลี้ยงได้ในห้องปฏิบัติการโดยไม่ต้องเพาะเลี้ยงร่วมกับพืชเจ้าบ้าน จึงมีความเป็นไปได้ที่พัฒนาเป็นหัวเชื้อไมคอร์ไรซาสำหรับกล้วยไม้ดินสกุล *Spathoglottis* ที่ปลูกในกระถาง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณงบประมาณด้านวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม กลุ่ม Basic Research Fund ปีงบประมาณ 2564 และสาขาวิชาชีววิทยา จุลชีววิทยา เทคโนโลยีชีวภาพ และฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม ที่ได้สนับสนุนการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- เกตุสุนทร มณีวรรณ. (2560). ผลของราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาที่แยกจากดินเค็มต่อการเจริญเติบโตของพืช. **แก่นเกษตร**, 45, 985–990.
- ครรชิต ธรรมศิริ. (2550). **เทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้**. กรุงเทพฯ: อัมรินทร์พรินต์ติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง.
- ชลาลักษณ์ ราชนารินทร์. (2561). **ราเอนโดไฟท์ที่แยกได้รากกล้วยไม้ดินบางชนิดในประเทศไทยและศักยภาพในการส่งเสริมการงอกของเมล็ดกล้วยไม้**. (วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารบัณฑิต). มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, สาขาจุลชีววิทยาประยุกต์.
- ทัศนัย ปัญจันทร์สิงห์. (2560). **ความหลากหลายของกล้วยไม้ในศูนย์การศึกษาสามพรามมหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี**. อุดรธานี: มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี.
- นฤมล เกื้อนกุล. (2562). การใช้ผลของพืชบางชนิดทดแทนมันฝรั่งในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อฟิตีเอ. **PSRU Journal of Science and Technology**, 4(3), 27–36.
- ปวริศ ใจคำ, อรวรรณ ฉัตรสีรุ่ง, และณัฐก โพธารณณ์. (2557). ผลของไมคอร์ไรซากล้วยไม้และหินฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลซาเบนาเรีย. **แก่นเกษตร**, 42(3), 484–489.
- เพ็ญลักษณ์ ชูดี, สปัน ไม้ดัดจันทร์, อำนวน อรรถจักรง, และสมพร เจริญรุ่งเรือง. (2558). **ทดสอบพันธุ์กล้วยไม้สกุลสเปโทกลอติส** (รายงานผลการวิจัยประจำปี). เชียงราย: ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร.
- เรืองวุฒิ ชูติมา, หทัยชนก ทูเรียน, และอรพินธ์ รุ่งเรือง. (2561). สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อราไมคอร์ไรซากล้วยไม้เพื่อผลิตหัวเชื้อไมคอร์ไรซาอย่างง่าย. **Rajabhat Journal of Sciences, Humanities and Social Sciences**, 19(1), 167–175.
- อบฉัตร ไททอง. (2549). **กล้วยไม้เมืองไทย**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ บ้านและสวน.
- อาภรณ์ อุดมคิลปะ. (2556). **พืชอนุรักษ์ในบัญชีไซเตสกล้วยไม้ป่าในผืนป่าตะวันตก**. กรุงเทพฯ: ชุมชมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.
- Aewsakul, N., Maneesorn, D., Serivichyaswat, P., Taluengjit, A. & Nontachaiyapoom, S. (2013). *Ex vitro* symbiotic seed germination of *Spathoglottis plicata* Blume on common orchid cultivation substrates. **Scientia Horticulturae**, 160, 238–242.
- Athipunyakom, P., Manoch, L. & Piluek, C. (2004). Isolation and identification of mycorrhizal fungi from eleven terrestrial orchids. **Kasetsart Journal (Natural Science)**, 38, 216–228.
- Attipunyakom, P., Manoch, L., Piluek, C., Artjaripong, S. & Tragulrung, S. (2004). Mycorrhizal fungi from *Spathoglottis plicata* and the use of these fungi to germinate seeds of *S. plicata* *in vitro*. **Kasetsart Journal (Natural Science)**, 37, 83–93.
- Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T. & Malajczuk, N., (1996). **Working with mycorrhizas in forestry and agriculture**. Canberra: Pirie Printers.
- Chutima, R., Dell, B., Vessabutr, S., & Lumyong, S. (2011). Endophytic fungi from *Pecteilis susannae* (L.) Rafin (Orchidaceae) a threatened terrestrial orchid in Thailand. **Mycorrhiza**, 21(3), 221–229.

- Chutima, R. & Lumyong, S. (2012). Production of indole-3-acetic acid by Thai native orchid-associated fungi. **Symbiosis**, **56**(1), 35–44.
- Guimareães, F.A.R., Pereira, M.C., Felicio, C.D.S., Torres, F.D.P., Oliverira, S.F. & Veloso, T.G.R. (2013). Symbiotic propagation of seedlings of *Cyrtopodium glutiniferum* Raddi (Orchidaceae). **Acta Botanica Brasilica**, **27**(3), 590–596.
- Khamchatra, N., Dixon, K., Chayamarit, K., Apisitwanich, S. & Tantiwiwat, S. (2016). Using *in situ* seed baiting technique to isolate and identify endophytic and mycorrhizal fungi from seed of a threatened epiphytic orchid, *Dendrobium friedericksianum* Rchb.f. (Orchidaceae). **Agriculture and Natural Resources**, **50**, 8–13.
- Kodsueb, R. & Lumyong, S. (2017). The first report of *Aschersonia placenta* Berk. on mulberry field in Thailand and effect of plant extracts to the growth of the fungus. **Rajabhat Journal of Sciences, Humanities and Social Sciences**, **18**, 187–200.
- McKendrick, S.L., Leake, J.R., Taylor, D.L. & Read, D.J. (2002). Symbiotic germination and development of the mycoheterotrophic orchid *Neottianthus-avis* in nature and its requirement for locally distributed *Secacina* spp. **New Phytologist**, **154**, 233–247.
- Otero, J.T., Flanagan, N.S., Herre, E.A., Ackerman, J.D. & Bayman, P. (2007). Widespread mycorrhizal specificity correlates to mycorrhizal function in the neotropical, epiphytic orchid *Lonopsis utricularioides* (Orchidaceae). **American Journal of Botany**, **94**(12), 944–1950.
- Sangthong, S. (2002). **Effect of Endomycorrhizal Fungus on Growth of *Dendrobium scabrilingue* Lindl. and its Hybrids**. (Master's thesis). Chiang Mai University.
- Sathiyadash, K., Muthukumar T., Uma E. & Pandey, R.R. (2012). Mycorrhizal association and morphology in orchids. **Journal of Plant Interactions**, **7**(3), 238–247.
- Smith, S.E. & Read, D.J. (2008). **Mycorrhizal Symbiosis**. (3rd ed.). San Diego: Academic Press.
- Suarez P.I. & Kottke I. (2016). Main fungal partners and different levels of specificity of orchid mycorrhizae in the tropical mountain forests of Ecuador. **Lankesteriana**, **16**(2), 299–305.
- Swarts N.D. & Dixon K.W. (2009). Terrestrial orchid conservation in the age of extinction. **Annals of Botany**, **104**, 543–556.
- Trappe J.M. (2004). A.B. Frank and mycorrhizae: the challenge to evolutionary and ecologic theory. **Mycorrhiza**, **15**, 543–281.
- Wu, P.H., Huang, D.D. & Chang, D.C.N. (2011). Mycorrhizal symbiosis enhances *Phalaenopsis* orchid's growth and resistance to *Erwinia chrysanthemi*. **African Journal of Biotechnology**, **10**(15), 10095–10100.
- Wright, M., Cross, R., Dixon, K., Huynh, T., Lawrie, A., Nesbitt, L., Prichard, A., Swarts, N., & Thomson, R. (2009). Propagation and reintroduction of *Caladenia*. **Australian Journal of Botany**, **57**, 373–387.