บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ลักษณะทั่วไปของกล้วยไม้ลิ้นมังกร

ประเทศไทยมีการค้นพบกล้วยไม้สกุล *Habenaria* ตามธรรมชาติแล้วจำนวน 46 ชนิด (Kurzweil, 2009 : 10) กล้วยไม้ลิ้นมังกร (*Habenaria rhodocheila* Hance) ชื่ออื่นได้แก่ ปัดแดง สังหิน เป็นกล้วยไม้ล้มลุก อายุหลายปี ต้นสั้นลำต้นมีรากสะสมอาหารอยู่ใต้ดิน มักขึ้นเป็นกอขนาดใหญ่ สูงได้ถึง 30 เซนติเมตร ใบลายมีลายจุดประ เรียวยาว ดอกมักเกิดค่อนไปทางปลายช่อ ดอกออกเป็นช่อๆ ละประมาณ 15 ดอก กลีบดอกขนาดเล็กสีเขียว ปากดอกยื่นออกมาเป็นพูคล้ายลิ้นมังกร พูกลางแยกออกเป็น 2 แฉกสี ดอกมีความหลากหลายตั้งแต่สีเหลือง สีชมพู จนถึงสีส้ม ดอกมีขนาด 1.5-3.0 เซนติเมตร ทยอยบานนาน 1-2 สัปดาห์ ในสภาพธรรมชาติพบกล้วยไม้ชนิดนี้บนพื้นดินที่ชุ่มชื้น หรือพื้นหินใกล้น้ำตก ออกดอกในฤดูฝนระหว่างเดือนกันยายน-ตุลาคม (อบฉันท์ ไทยทอง, 2543 : 86) มีการกระจายพันธุ์ตั้งแต่จีน ลาว เวียดนาม มาเลเซีย และฟิลิปปินส์ เนื่องจากสีของดอกมีความหลากหลายจึงทำให้พบกล้วยไม้ลิ้นมังกรมีสีแตกต่างกันไปตามสภาพภูมิประเทศ กล้วยไม้ลิ้นมังกรสีชมพูและสีส้มพบได้ที่อุทยานแห่งชาติภูเรือ จังหวัดเลย (อนุพันธ์ กงบังเกิด และคณะ, 2550 : 53) กล้วยไม้ลิ้นมังกรสีชมพู พบได้ที่อุทยานแห่งชาติภูหินร่องกล้า จังหวัดพิษณุโลก (ปกรณ์ ทิพย์ศรี และฉัตรชัย เงินแสงสรวย, 2551 : 663) สำหรับที่อุทยานแห่งชาติน้ำตกพลิ้ว จังหวัดจันทบุรี พบกล้วยไม้ลิ้นมังกรสีชมพูอมส้ม หรือสีโอรส มีลำต้นสูง 10-50 เซนติเมตร รากค่อนข้างอวบน้ำ มีลักษณะเป็นกระเปาะเจริญแนบบนหินหรือบนเปลือกต้นไม้ 3-4 ราก เจริญรอบ ๆ ลำต้น ใบสีเขียวหรือสีน้ำตาล เป็นรูปรีแกมรูปขอบขนาน ปลายแหลม แผ่นใบบาง ขอบใบเป็นคลื่นขนาน บางครั้งอาจพบแผ่นใบมีลายหรือจุดประสีขาวกระจายทั่วแผ่นใบ (อบฉันท์ ไทยทอง, 2543 : 87) ดังภาพที่ 2.1

ภาพที่ 2.1 กล้วยไม้ลิ้นมังกรเจริญอยู่บนก้อนหินที่มีความชุ่มชื้น

บทบาทของราออร์คิดไมคอร์ไรซาในการส่งเสริมการงอกของเมล็ดกล้วยไม้

เมล็ดกล้วยไม้มีขนาดเล็กมากเมื่อเทียบกับเมล็ดพืชดอกในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว คล้ายฝุ่นผง บางชนิดมีจำนวนมากกว่า 2 ล้านเมล็ด น้ำหนักเบาเพียง 0.31-24 ไมโครกรัม อาศัยลมช่วยในการกระจายเมล็ดพันธุ์ เมล็ดประกอบด้วยเยื่อหุ้มเมล็ด (testa) และเอ็มบริโอ ไม่มีอาหารสะสมหรือไม่มีเอนโดสเปิร์ม (Cameron, Leake & Read, 2006 : 408) ในสภาพธรรมชาติเมล็ดกล้วยไม้มีโอกาสในการงอกและเจริญเป็นต้นใหม่ค่อนข้างยาก จำเป็นต้องอาศัยสารอาหารจากภายนอกเพื่อสนับสนุนให้เอ็มบริโอพัฒนาไปเป็นโปรโตคอร์มได้มากขึ้น ส่วนใหญ่แล้วเมล็ดกล้วยไม้ในธรราชาติยังคงต้องอาศัยราออร์คิดไมคอร์ไรซาเพื่อการงอกของเมล็ดในระยะแรก โดยส่วนใหญ่ราออร์คิดไมคอร์ไรซาจะเข้าสู่เอ็มบริโอโดยผ่านเซลล์ซัสเพนเซอร์ (suspensor cell) ที่อยู่บริเวณฐานของเอ็มบริโอ ขณะที่ราออร์คิดไมคอร์ไรซาบางชนิดจะเข้าสู่เอ็มบริโอโดยผ่านเซลล์ชั้นนอกที่คล้ายราก เรียกว่าไรซอยด์ (rhizoid) ของโปรโตคอร์ม และกระจายไปยังเซลล์อื่น ๆ ยกเว้นเนื้อเยื่อเจริญส่วนปลายยอด ด้วยเส้นใยรามีขนาดเล็กและบาง จึงไม่ส่งผลกระทบต่อผนังเซลล์ทั้งรูปร่างและความหนาที่เปลี่ยนแปลง โดยปกติเส้นใยราจะอยู่เฉพาะในเซลล์ของโปรโตคอร์ม แต่จะไม่ปรากฏในเซลล์ผิว (epidermis) ซึ่งสันนิษฐานว่าชั้นเซลล์ผิวไม่มีคุณสมบัติในการย่อยสลายเส้นใยรา ซึ่งเป็นกลไกสำคัญในการรับสารอาหารของพืชให้อาศัย (host) ความสัมพันธ์ระหว่างราและรากพืช เรียกว่า (mycorrhiza) ดังนั้นความสัมพันธ์ระหว่างราและรากกล้วยไม้ จึงเรียกว่า ราออร์คิดไมคอร์ไรซา (orchid mycorrhizal fungi) ความสัมพันธ์ดังกล่าวเป็นแบบพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน (mutualism) (Zettler, Sharma, & Rasmussen, 2003 : 226) โดยเฉพาะกล้วยไม้ดินจำเป็นต้องอาศัยคาร์โบไอเดรตจากราออร์คิดไมคอร์ไรซาที่บริเวณรากต้นแม่ เพื่อกระตุ้นการงอกของเมล็ดและการพัฒนาไปเป็นโปรโตคอร์มอยู่ใต้ดินไม่สามารถสังเคราะห์ด้วยแสงได้ ราออร์คิดไมคอร์ไรซาจะได้รับแป้ง โปรตีน และวิตามินต่าง ๆ จากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงเมื่อกล้วยไม้เจริญเติบโตขึ้นโดยผ่านทางรากกล้วยไม้ ราออร์คิดไมคอร์ไรซามีบทบาทที่สำคัญต่อทุกช่วงชีวิตของกล้วยไม้ โดยปกติแล้วกล้วยไม้แต่ละชนิดมีราออร์คิดไมคอร์ไรซาหลายชนิดที่อาศัยอยู่ภายในชั้นคอร์เทกซ์ เนื่องจากราไมคอร์ไรซาแต่ละชนิดมีความสามารถในการเจริญในสภาวะแวดล้อมของระบบนิเวศที่แตกต่างกัน และกล้วยไม้เองอาจมีการปรับเปลี่ยนราไมคอร์ไรซาที่อาศัยอยู่ภายในชั้นคอร์เทกซ์นั้น เพื่อการปรับตัวให้อยู่รอดตามสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป ในบางครั้งพบว่าราที่ไม่ใช่ราออร์คิดไมคอร์ไรซาบางชนิดสามารถกระตุ้นการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ได้ แต่โปรโตคอร์มไม่สามารถพัฒนาเป็นต้นสมบูรณ์ได้ ราไมคอร์ไรซาที่สามารถส่งเสริมการเจริญของโปรโตคอร์มและพัฒนาเป็นต้นสมบูรณ์ได้ จัดเป็นราไมคอร์ไรซาที่เข้ากันได้กับกล้วยไม้ (fully compatible) (Bonnardeaux et al., 2007 : 60) Tsavkelova et al. (2007 : 75) รายงานว่า endophytics bacteria ที่แยกได้จากรากกล้วยไม้ดินชนิด *Paphiopedilum appletonianum* และกล้วยไม้อิงอาศัยชนิด *Pholidota articulate* สามารถผลิต IAA และกระตุ้นการเกิดรากในต้นถั่วดำได้ สันนิษฐานได้ว่าราออร์คิดไมคอร์ไรซาที่รากอาจมีส่วนช่วยในการผลิต IAA ซึ่งเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มออกซิน (auxins) มีคุณสมบัติกระตุ้นการยืดยาวของเซลล์ จุดกำเนิดราก และกระตุ้นการงอกของเมล็ด อีกทั้งยังช่วยป้องกันอันตรายจากโรคพืช ชนิดอื่น (Tsavkelova, et al., 2007 : 60) Chutima and Lumyong (2012 : 36) รายงานว่า ราออร์คิดไมคอร์ไรซาที่แยกจากรากกล้วยไม้ *Spathoglosttis affinits*, *Paphiopedilum bellatulum* และ *Phaius*

tankervilleae ที่มีประสิทธิภาพในการผลิต IAA สูงสุด 3 อันดับแรก ได้แก่ไอโซเลท CMU-AU 006 จัดเป็นราชนิด *Coleetotrichum gloeosporioides*ไอโซเลท CMU-SLP 007 และ CMU-NUT 013 จัดเป็นราสกุล*Tulasnella* ซึ่งทั้ง 3 ไอโซเลทผลิต IAA ได้ 243.56, 155.63 และ 104.03 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้ยังสามารถช่วยเพิ่มจำนวนรากในต้นถั่วดำ กระตุ้นการงอกของเมล็ดและเพิ่มความยาวของยอดและรากในข้าวโพด และช่วยให้โคลีออปไทด์ของข้าวยืดยาวขึ้นได้ แสดงให้เห็นว่านอกจากราออร์คิดไมคอร์ไรซาเหล่านี้จะช่วยให้เมล็ดกล้วยไม้งอกแบบสมชีพแล้ว ยังมีศักยภาพในการผลิต IAA ได้อีกด้วยจะเห็นได้ว่าการศึกษาถึงความสัมพันธ์ของการผลิต IAA ในราออร์คิดไมคอร์ไรซายังมีอยู่น้อยมาก มีเพียงการศึกษาในเอนโดไฟติกแบคทีเรียจากรากกล้วยไม้และราเอคโตไมคอร์ไรซาเท่านั้น ถึงแม้ว่าปัจจุบันจะมีเทคนิคที่สามารถเพาะเลี้ยงและขยายพันธุ์กล้วยไม้หลายชนิดในเชิงพาณิชย์ด้วยอาหารสังเคราะห์ในสภาพปลอดเชื้อ แต่กลับประสบปัญหาเรื่องอัตราการรอดต่ำหลังย้ายออกปลูก สำหรับกล้วยไม้ดินกลับยังคงต้องการราออร์คิดไมคอร์ไรซาในการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตตลอดชั่วชีวิต จึงพัฒนาเทคนิคการเพาะเมล็ดกล้วยไม้โดยการเลียนแบบการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ในธรรมชาติ กล่าวคือ การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ร่วมกับราออร์คิดไมคอร์ไรซาหรือเรียกว่าการเพาะเมล็ดกล้วยไม้แบบสมชีพ (symbiotic seed germination) (Yam & Arditti, 2009 : 4) ณมนรัก คำฉัตร, อรรถกร คำฉัตร และอาทร สกุลวรกิจ (2555 : 1) รายงานว่า ราออร์คิดไมคอร์ไรซาไอโซเลต RBRU 001, RBRU 002 และ RBRU 003 ช่วยกระตุ้นการงอกของเมล็ดและพัฒนาโปรโตคอร์มในกล้วยไม้กะเรกะร่อนปากเป็ด (*Cymbidium finlaysonianum*) โดยไอโซเลท RBRU 001 (*Tulasnella* sp.) ให้เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดสูงถึง83 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 4 เดือน และพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มได้สูงถึง 92.8 เปอร์เซ็นต์ Khamchatra et al. (2016b : 76) รายงานว่า เมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารีอินทนนท์ (*Paphiopedilum villosum*) ที่เพาะเลี้ยงร่วมกับราออร์คิดไมคอร์ไรซาไอโซเลท PVCP001 (*Tulasnella* sp.) ที่แยกได้จากรากกล้วยไม้ชนิดเดียวกันนี้ มีเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดและการพัฒนาไปเป็นต้นอ่อนสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์แบบปลอดเชื้อ และเพาะเลี้ยงร่วมกับราออร์คิดไมคอร์ไรซาไอโซเลทอื่น

งานวิจัยส่วนใหญ่ยังคงมุ่งเน้นการเพาะเมล็ดกล้วยไม้แบบสมชีพทั้งในธรรมชาติและห้องปฏิบัติการ ซึ่งใช้ระยะเวลานานและยากต่อการทำความเข้าใจในความสัมพันธ์ระหว่างทั้งราออร์คิดไมคอร์ไรซากับเมล็ดกล้วยไม้เป้าหมาย แม้ว่าเรายอมรับกันว่าราออร์คิดไมคอร์ไรซาช่วยจัดการธาตุอาหารในดินและหิน และปลดปล่อยสารอาหารในรูปพร้อมใช้ให้แก่กล้วยไม้ Dickie et al. (2013 : 11) แสดงให้เห็นว่าการย่อยสลายของธาตุอาหารบริเวณผิวหน้าดินหรือหิน อาจเกิดจากกรดที่สร้างจากปลายเส้นใยของราเอ็กโตไมคอร์ไรซา พืชจึงสามารถใช้ธาตุอาหารโดยผ่านทางเส้นใยของราเอ็กโตไมคอร์ไรซาที่อยู่บริเวณรอบ ๆ ราก การหาความสัมพันธ์ของการรับส่งอาหารระหว่างราออร์คิดไมคอร์ไรซาและกล้วยไม้ นิยมตรวจสอบด้วย $^{14}CO_2$ พบว่า ไม่สามารถตรวจสอบวัดการส่งผ่านคาร์บอนจากกล้วยไม้ *Goodgera repens* (Alexander and Hadley, 1985 : 657) แต่เมื่อ Cameron et al. (2006 : 405) ได้ทำการทดสอบด้วยวิธีเดียวกันนี้ กลับพบการส่งผ่านคาร์บอนจากกล้วยไม้ *G. repens* ไปยังราไมคอร์ไรซา และจากราไมคอร์ไรซาไปยังกล้วยไม้ที่สามารถสังเคราะห์ด้วยแสงได้ ซึ่งสามารถใช้เป็นหลักฐานสำคัญในการศึกษาความสัมพันธ์ของราไมคอร์ไรซาในกล้วยไม้ได้ นอกจากนี้ยังสามารถนำเทคนิคเอกซเรย์ฟลูออเรสเซนต์ (X-ray fluorescent) ซึ่งเป็นเทคนิคการวิเคราะห์ชนิด

ของธาตุและปริมาณธาตุในสารตัวอย่าง โดยอาศัยหลักการที่อิเล็กตรอนในวงโคจรของอะตอมเปลี่ยนระดับชั้นที่มีพลังงานสูงไปยังชั้นที่มีพลังงานต่ำกว่าและคายพลังงานออกมาในรูปของรังสีเอกซ์ที่มีพลังงานจำเพาะ (characteristic X-ray) ของแต่ละธาตุอิเล็กตรอนในวงโคจรของอะตอม ค่าที่ได้ออกมานั้นจะแสดงเป็นกราฟที่บอกปริมาณและชนิดของธาตุที่พบในราไมคอร์ไรซาและทำการศึกษากลุ่มของราไมคอร์ไรซาโดยการทดลองเลี้ยงเชื้อราบนอาหารสังเคราะห์แล้วนำมาคัดแยกโดยวิธีทางสัณฐานวิทยา จะสามารถคัดเลือกราที่มีส่วนประกอบของธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองและราที่เป็นประโยชน์ต่อการเพาะเมล็ดกล้วยไม้แบบพึ่งพาอาศัยกัน Chen et al. (2018 : 257) ใช้เทคนิคเทคนิคเอกซเรย์ฟลูออเรสเซนต์ศึกษาความสามารถของการดูดซับแคดเมียม (Cd) ในราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา พบว่า ราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาดูดซับแคดเมียมในปริมาณสูงและไม่เคลื่อนย้ายแคดเมียมไปยังพืชอาศัย ชี้ให้เห็นว่าราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซามีความสามารถในการดูดซับแคดเมียม และช่วยให้พืชอาศัยทนต่อการปนเปื้อนของโลหะหนัก

การเพาะเมล็ดกล้วยไม้แบบสมชีพ

การเพาะเมล็ดกล้วยไม้แบบสมชีพแบ่งออกเป็น 4 วิธี ได้แก่

1) การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในถิ่นกำเนิด (*in situ*) โดยการใส่เมล็ดไว้ในผ้าไนลอน หรือตาข่ายแพลงก์ตอนที่มีความถี่น้อยกว่า 20 ไมโครเมตร อัดเข้ากรอบสไลด์และฝังดินบริเวณถิ่นอาศัยตามธรรมชาติของกล้วยไม้ Khamchatra et al. (2016a : 9) รายงานว่า เทคนิคการใช้เมล็ดกล้วยไม้เหลืองจันท์ล่อราออร์คิดไมคอร์ไรซาในถิ่นกำเนิดให้เปอร์เซ็นต์การงอกต่ำ แต่ได้ราออร์คิดไมคอร์ไรซาที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ด เมื่อนำราที่ดักจับได้และนำมาจำแนกจะได้ทั้งราออร์คิดไมคอร์ไรซา ได้แก่ *Tulasnella violea*, *Epulorhiza repen* และ *Trichosporiella multisporum* และราเอน-โดไฟต์ ได้แก่ *Beauvaria* sp. และ *Fusarium* sp. ที่อาจมีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโตและการรอดชีวิตของเมล็ดกล้วยไม้ที่งอกในสภาพธรรมชาติ แสดงให้เห็นว่าการงอกของเมล็ดในถิ่นกำเนิดโดยใช้เทคนิคนี้สามารถได้ราออร์คิดไมคอร์ไรซาที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ได้

2) การเพาะเมล็ดกล้วยไม้นอกถิ่นกำเนิด (*ex situ*) วิธีคล้ายกับการเพาะเมล็ดในแหล่งกำเนิด แต่แยกเอาอินทรียวัตถุ เช่น มอส ใบไม้ที่ทับถม และดินชั้นบนจากดินตัวอย่างที่เก็บจากธรรมชาติบริเวณที่กล้วยไม้อาศัย และใช้เมล็ดล่อ ราออร์คิดไมคอร์ไรซา เหมาะสำหรับศึกษาความหลากหลายชนิดและความจำเพาะเจาะจงระหว่างราออร์คิดไมคอร์ไรซาและกล้วยไม้ในธรรมชาติ

3) การเพาะเมล็ดในหลอดทดลอง (*in vitro*) โดยการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ร่วมกับราออร์คิดไมคอร์ไรซาบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อยืนยันว่าราที่แยกได้จากชั้นคอร์เทกซ์ของรากหรือโปรโตคอร์มของกล้วยไม้ สามารถพัฒนากระตุ้นการงอกของเมล็ดและส่งเสริมการเจริญพัฒนาของโปรโตคอร์มของกล้วยไม้ชนิดเดียวกัน และใช้ศึกษาความจำเพาะเจาะจงระหว่างราออร์คิดไมคอร์ไรซากับกล้วยไม้ได้

4) การเพาะเมล็ดนอกหลอดทดลอง (*ex vitro*) วิธีคล้ายกับการเพาะเมล็ดแบบสมชีพในหลอดทดลองตรงที่ต้องมีราออร์คิดไมคอร์ไรซาบริสุทธิ์ แต่แตกต่างกันตรงที่วัสดุเพาะเป็นวัสดุธรรมชาติทั่วไป โดยการปลูกเชื้อราออร์คิดไมคอร์ไรซาในวัสดุเพาะ และนำเมล็ดมาโปรยหรือนำเมล็ดใส่ในผ้าไนลอนที่อัดกรอบสไลด์ สอดไว้ใต้วัสดุเพาะปลูกเชื้อ วิธีนี้ลดการใช้เครื่องมือและสารเคมีสามารถทำนอกห้องปลอดเชื้อได้ (สุรีย์พร นนทชัยภูมิ, 2556 : 827)

Brundrett et al. (2003 : 1210) ได้พยายามพัฒนาเทคนิคการใช้เมล็ดกล้วยไม้ดินสกุล *Monnadenia*, *Microtis*, *Caladenia*, *Pterostylis* และ *Diuris* ล่อราออร์คิดไมคอร์ไรซาทั้งแบบในถิ่นกำเนิดและนอกถิ่นกำเนิดในประเทศออสเตรเลีย พบว่าเมล็ดกล้วยไม้ให้เปอร์เซ็นต์การงอกไม่แตกต่างกัน และทั้งสองเทคนิคสามารถจับราที่เข้ากันได้กับกล้วยไม้ในแต่ละชนิด เพียงแต่เทคนิคการใช้เมล็ดล่อนอกถิ่นกำเนิดในระยะเวลาในการงอกของเมล็ดมากกว่า

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ปิยนุช ปิยะตระกูล และ พิมพ์ใจ อาภาวัชรุตม์ (2547 : 230) พบว่า เมล็ดกล้วยไม้ดินลิ้นมังกรที่อายุฝัก 7 สัปดาห์ งอกบนอาหารเหลวสูตร CMU1 ได้เร็วและมีเปอร์เซ็นต์การงอกมากที่สุด 2.46 เปอร์เซ็นต์ หลังการเพาะเป็นเวลา 12 และขนาดของโปรโตคอร์มใหญ่กว่าเมล็ดจากฝักอายุ 5 และ 6 สัปดาห์

แพรวระวี แสงมณี, อรวรรณ ฉัตรสีรุ้ง และ ณัฐา โพธาภรณ์. (2555 : 237) ได้การศึกษาผลของวัสดุเพาะเมล็ดและไมคอร์ไรซาต่อปริมาณการงอกของกล้วยไม้ดินบางชนิด พบว่า เมล็ดของเอื้องดินใบหมากสามารถงอกได้ในวัสดุเพาะเมล็ดทุกชนิด (สแฟกนัมมอส กระเช้าสีดาแห้ง ใบก้ามปู ปุ๋ยหมัก และขุยมะพร้าว) ทั้งที่มีการปลูกเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลต DFR 001 เชื้อราไอโซเลต DAR 004 และไอโซเลต DTR 001 และที่เพาะในสภาพปลอดเชื้อ แต่ในขณะที่ไม่พบการงอกของเมล็ดลิ้นมังกรสีชมพูและเอื้องไผ่

ปาริชาติ สถิตธรรมพนา และ ดุสิต อธินุวัฒน์ (2555 : 180) ได้ศึกษาประสิทธิภาพแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ใหม่ TU-Orga1 ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคขอบใบแห้งของข้าว โดยนำแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ใหม่ที่แยกจากดินบริเวณรอบรากข้าว ได้แก่ TU-Orga1 ที่ได้จากการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ มาประเมินประสิทธิภาพการส่งเสริมการเจริญเติบโตพืชโดยเพิ่มการสร้าง indole-3-acetic acid (IAA) และยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งที่เกิดจากแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. Oryzae (Xoo) เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมี bacbicure (Canoron) พบว่า การคลุกเมล็ดข้าวพันธุสุพรรณบุรี 2 ด้วย TU-Orga1 (106 CFU/ml) มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นใหม่ข้าวมีปริมาณ IAA สะสมเพิ่มขึ้นสูงสุด 1.75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ ส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้าข้าว อายุ 14 วัน ให้มีความสูงต้น 8.7 เซนติเมตร ความยาวราก 5.2 เซนติเมตร และน้ำหนักสด 28.3 มิลลิกรัม นอกจากนี้ยังมีระดับการยับยั้งเชื้อ Xoo สูงสุด 11.3 มิลลิเมตร ขณะที่ bacbicure มีระดับการยับยั้งเชื้อ Xoo 8.2 มิลลิเมตร เมื่อนำ TU-Orga1 ไปทดสอบประสิทธิภาพใน การควบคุมโรคขอบใบแห้งภายใต้สภาพเรือนทดลอง ทั้งในลักษณะคลุกเมล็ด (106 CFU/ml) และพ่นใบ (108 CFU/ml) 2 ครั้ง เมื่อข้าวอายุ 14 และ 28 วัน และปลูกเชื้อ Xoo เมื่อข้าวอายุ 30 วัน เปรียบเทียบใช้กับสารเคมี

พรพิมล อธิปัญญาคม และคนอื่น ๆ (2555 : 336) ได้แยกได้จากตัวอย่างรากกล้วยไม้ดินและกล้วยไม้อิงอาศัยจำนวน 9 ชนิด ได้ราจำนวน 22 ไอโซเลต สามารถเจริญเติบโตบนอาหาร oat meal agar ได้เพียง 4 ไอโซเลต คือ *Ceratorhiza goodyerae-repentis*, *Epulorhiza calendulina, Epulorhiza repens* และ *Tulasnella* sp. เมื่อนำเมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองกระบี่เพาะเมล็ดร่วมกับราทั้ง

4 ไอโซเลต พบว่า รา *E. calendulina* มีศักยภาพในการกระตุ้นให้เมล็ดงอกได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลา 21 วัน และสามารถพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ 58 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลา 120 วัน

จีรวัฒน์ นามบุตร และคนอื่น ๆ (2556 : 1) ศึกษาการเพาะเมล็ดกล้วยไม้เหลืองจันทบูร แบบพึ่งพาอาศัยในธรรมชาติ โดยนำเมล็ดกล้วยไม้เหลืองจันทบูรวางบนผ้าไนลอนเมชพับทบกันอัดเข้ากรอบสไลด์ และนำไปวางล่อราบริเวณรากกล้วยไม้เหลืองจันทบูรที่เกาะอาศัยอยู่บนต้นไม้ที่มีอายุไม่ต่ำกว่า 10 ปีอยู่ภายในสวนผลไม้ พบว่า เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดสูงถึง 92.34 % สามารถจัดจำแนกราด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่มราที่มีลักษณะคล้าย Rhizoctonia ที่มีรายงานว่าเป็นราไมคอร์ไรซาในระยการสืบพันธ์แบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ เป็นกลุ่มราที่มีจำนวนนิวเคลียส 2 นิวเคลียส (binucleate *Rhizoctonia* spp.) และมีจำนวนนิวเคลียสมากกว่า 2 นิวเคลียส (multinucleate *Rhizoctonia* spp.) คือราในสกุล *Ceratorhiza* และ *Tulasnella* สำหรับกลุ่มราอื่นๆ ได้แก่ ราในสกุล *Beaurveria, Colletottichum*, *Fusarium* และ *Trichosporiella*

กัลยา เกาะกากลาง และคนอื่น ๆ (2557 : 1) ได้ศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้ลูกผสมสกุลลิ้นมังกรและสกุลว่านอึ่งโดยการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า สูตรอาหารที่เหมาะสมในการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้ลูกผสมลิ้นมังกร (*Habenaria rhodocheila* Hance.) หลังจากเพาะเมล็ดบนอาหารแข็งสูตร VW ดัดแปลง เป็นระยะเวลา 4 เดือน พบว่าอาหารแข็งสูตร VW ดัดแปลง ที่มีการเติมน้ำมะพร้าวปริมาณ 50 - 150 มิลลิลิตร/ลิตร ร่วมกับการเติม peptone 1 กรัม/ลิตร ให้ผลดี คือ เมล็ดมีการงอก สามารถเจริญไปเป็นโปรโตคอร์มและพัฒนาไปเป็นต้นอ่อนได้

ศศิธร ประทุมชาติ (2557 : 1) การคัดแยกและจัดจำแนกราไมคอร์ไรซาในรากกล้วยไม้เหลืองจันทบูรพบว่า สามารถคัดแยกเชื้อราจากรากกล้วยไม้ได้ทั้งหมด 15 ไอโซเลท และสามารถจัดจำแนกได้ออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ได้แก่ กลุ่มราที่มีลักษณะคล้าย *Rhizoctonia* มีจำนวนนิวเคลียส 2 นิวเคลียส (binucleate *Rhizoctonia* spp.) คือราสกุล *Epulorhiza* และ *Tulasnella* กลุ่มราที่มีลักษณะคล้าย *Rhizoctonia* มีจำนวนนิวเคลียสมากกว่า 2 นิวเคลียส (multinucleate *Rhizoctonia* spp.) คือรา *Rhizoctonia* solani สำหรับกลุ่มราอื่น ๆ ได้แก่ ราในสกุล *Fusarium, Aspergillus*, *Alternaria* และ *Cladosporium* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคพืช

เรืองวุฒิ ชุติมา และรำไพ โกฏสืบ (2557 : 28) ได้ศึกษาการสำรวจและการใช้ประโยชน์จากเชื้อราไมคอร์ไรซาจากกล้วยไม้ของไทยบางชนิด เพื่อการอนุรักษ์และเกษตรกรรม มีรายงานว่าเชื้อราไมคอร์ไรซาจากกล้วยไม้ บางชนิดสามารถผลิต IAA ได้ ซึ่งงานวิจัยนี้ได้ตรวจพบ และรายงานการผลิต IAA จากเชื้อราที่แยกได้จากรากกล้วยไม้ *Dendrobium lindleyi, D. chysotoxum, D. thyrsiflorum* และ *Vanda densisoniana* ซึ่ง IAA ที่ผลิตได้นี้สามารถส่งเสริมการงอก เพิ่มความยาวราก และการเจริญของต้นอ่อนข้าวโพดได้เช่นเดียวกับสารละลาย IAA มาตรฐาน ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ว่าการผลิต IAA ของเชื้อราไมคอร์ซานั้นอาจเป็นส่วนหนึ่งในการส่งเสริมการเจริญของพืชได้อีกทางหนึ่ง

วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ และดุสิต อธินุวัฒน์ (2557 : 196) ได้ศึกษาฮอร์โมนพืชที่ผลิตได้จาก *Pseudomonas fluorescens* SP007s ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของคะน้าอินทรีย์ การส่งเสริมการเจริญเติบโตพืชด้วยจุลินทรีย์ที่อยู่บริเวณรอบรากพืชด้วยกลไกลโดยตรงของจุลินทรีย์ในการผลิต

ฮอร์โมนพืช ได้แก่ indole-3-acetic acid (IAA) และ gibberellins (GA_3) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของฮอร์โมนพืช IAA และ GA3 ซึ่งผลิตจากเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomons fluorescens* SP007s ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตพืช ในระบบการผลิตคะน้าอินทรีย์ พบว่า เชื้อปฏิปักษ์ SP007s สามารถผลิต IAA และ GA_3 ได้ปริมาณมากในอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient glucose broth เท่ากับ 47.5 และ 54.7 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากการตรวจสอบด้วยวิธี high-performance liquid chromatography (HPLC) ซึ่งภายใต้ห้องปฏิบัติการและสภาพไร่ พบว่าเชื้อปฏิปักษ์ SP007s สามารถผลิตและปลดปล่อย IAA และ GA_3 ที่มีประสิทธิภาพส่งเสริมเปอร์เซ็นต์การงอก การเจริญของต้นกล้าคะน้า ได้เท่ากับฮอร์โมนสังเคราะห์ IAA และGA_3 ส่งผลให้พืชมีการดูดสารอาหารและน้ำได้ดีขึ้น

อัจฉรียา ชมเชย (2559 : ก) ได้ศึกษาคุณสมบัติการสร้างสารส่งเสริมการเจริญของพืชในกลุ่มกรดอินโดลอะซีติก (IAA) ในอาหารเหลว Czapak dox medium ที่เติม L-tryptophane ความเข้มข้น 0.2 กรัมต่อลิตร ของเชื้อราเอนโดไฟต์ที่แยกจากต้นข้าวจำนวน 42 ไอโซเลท พบ 14 ไอโซลทที่มีสามารถผลิตกรดอินโดลอะซิติกได้มากกว่า 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยไอโซเลทที่สามารถผลิตกรดอินโดลอะซิติกได้สูงสุด 3 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท MW-8, MW-1 และ MT-1 โดยสามารถผลิตได้ปริมาณ 5.9 - 19.4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเชื้อราเอนโดไฟต์ทั้ง 3 ไอโซเลตอยู่ในกลุ่ม *Fusarium sp.* MW-8, *Penicilium sp.* MW-1 และ *Eurotium sp.* MT-1 ตามลำดับ และพบว่าเชื้อราเอนโดไฟต์ไม่มีผลต่อการงอกของเมล็ดข้าวหอมมะลิ แต่ค่าความยาวยอด ความยาวราก และดัชนีความแข็งแรงของเมล็ดข้าวขาวดอกมะลิ 105 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (P <0. 05) โดยเมล็ดข้าวที่เพาะร่วมกับเชื้อรา MW-8 มีค่าความยาวยอดและความยาวรากของเมล็ดข้าวเฉลี่ยสูงที่สุดเท่ากับ 4.51 เซนติเมตรและ 6.19 เซนติเมตรตามลำดับ

Khamchatra (2015 : 1) ได้คัดแยกและจัดจำแนกราไมคอร์ไรซาจากรากกล้วยไม้รองเท้านารีอินทนนท์ พบว่า ราไมคอร์ไรซาที่แยกได้สามารถกระตุ้นการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารีอินทนนท์ให้เจริญเติบโตเป็นต้นอ่อนและสามารถย้ายปลูกได้โดยที่มีอัตราการรอดสูง และราไมคอร์ไรซาที่มีประสิทธิภาพสูงได้แก่ ราในสกุล *Tulasnella*

Khamchatra et al. (2016a: 8) นำเทคนิคการใช้เมล็ดล่อราออร์คิดไมคอร์ไรซาในถิ่นกำเนิดเป็นการทดสอบการงอกของเมล็ดกล้วยไม้เหลืองจันทบูรซึ่งเป็นกล้วยไม้อิงอาศัยที่ถูกคุกคามในท้องถิ่น เพื่อหาเชื้อราที่ส่งเสริมการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ พบว่า เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดต่ำสุด 0.1% ซึ่งอยู่ในระยะที่ 3 โดยมีจำนวนโปรโตคอร์มที่เกิดขึ้นทั้งหมด 7 โปรโตคอร์ม ซึ่งทำการคัดแยกเชื้อราได้ทั้งหมด 6 ไอโซเลต พบเชื้อรา 3 ไอโซเลต ที่มีลักษณะคล้ายราในสกุล *Rhizoctonia* มีจำนวนนิวเคลียส 2 นิวเคลียส ที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราที่คัดแยกได้อยู่ในระยะการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ได้แก่ *Tulasnella violea*, *Epulorhiza repen* (ระยะการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศของ *Tulasnella*) และ *Trichosporiella multisporum* และเชื้อราอีก 3 ไอโซเลตเป็นเชื้อราในสกุล *Beauvaria* และ *Fusarium*