

## บทที่ 4 ผลการวิจัย

### ชีววิทยากล้วยไม้ลิ้นมังกร

กล้วยไม้ลิ้นมังกร มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ (*Habenaria rhodocheila* Hance) จัดอยู่ในวงศ์ Orchidaceae เป็นกล้วยไม้ดินและจัดอยู่ในสกุล *Habenaria* มีเขตการกระจายพันธุ์ตั้งแต่ จีน ลาว มาเลเซีย เวียดนาม ไทย และฟิลิปปินส์ (อบฉันทน์ ไทยทอง, 2543 : 86) พบได้ในช่วงฤดูฝนเท่านั้นซึ่งเป็นฤดูกาลเดียวที่เรามักจะพบกล้วยไม้ลิ้นมังกรออกดอกอยู่ตามบริเวณโชดหินใกล้ ๆ น้ำตก เพราะในช่วงฤดูแล้งกล้วยไม้ลิ้นมังกรจะพักหัวและกักเก็บสารอาหารจนกระทั่งถึงฤดูฝนในครั้งต่อไป โดยมีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ดังต่อไปนี้

ลำต้นและราก : เป็นกล้วยไม้ดิน มีหัวในดินแบบมันฝรั่ง ส่วนใหญ่เจริญขึ้นในแนวตั้งตรง และไม่มีการสะสมอาหารที่บริเวณลำต้น ลำต้นสั้นมีขนาดความยาว 10-20 เซนติเมตร ลำต้นยาวมีขนาดความยาว 20-50 เซนติเมตร (ภาพที่ 4.1 ข) ลักษณะรากเป็นรากอวบน้ำ มีจำนวน 3-5 ราก เรียงกระจายอยู่บริเวณรอบ ๆ ลำต้น มีสีน้ำตาลอ่อน ทำหน้าที่พุงลำต้น ดูดซึมน้ำและธาตุอาหารให้ส่วนต่าง ๆ (ภาพที่ 4.1 ค)

ใบ : ใบรูปรีแกมรูปขอบขนาน ปลายแหลม แผ่นใบบาง บางครั้งอาจพบแผ่นใบมีลาย ขอบใบมักจะเป็นคลื่นขนาน มีใบหลายใบมีการเรียงตัวกระจายรอบต้น ขนาดใบกว้าง 1.5-2.5 เซนติเมตร ยาว 9-15 เซนติเมตร ใบมีหน้าที่หลักในการสร้างอาหารจากการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช และมีการแลกเปลี่ยนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และออกซิเจน ควบคุมการคายน้ำของใบ (ภาพที่ 4.1 ง)

ดอก : ช่อดอกออกจากปลายยอด มีลักษณะเป็นช่อกระจุก ช่อดอกสูง 8-20 เซนติเมตร ดอกเกิดก่อนไปทางปลายช่อ จำนวนดอกในช่อ 2-11 ดอก ขนาดดอกกว้าง 1.5-2 เซนติเมตร ยาว 2.5-3.0 เซนติเมตร กลีบเลี้ยงบนเชื่อมติดกับกลีบดอกมีสีเขียว กลีบปากขนาดใหญ่ โคนกลีบเรียวเล็ก ด้านข้างเป็นแฉกแผ่ออกเป็นปีก ปลายกลีบแยกเป็นแฉกหางปลา ดอกมีสีแดงอมส้ม และเริ่มออกดอกในช่วงปลายเดือนสิงหาคม ทอยบานเป็นเวลา 1-2 สัปดาห์ (ภาพที่ 4.1 จ)

ฝัก : ฝักมีขนาดเล็กเป็นรูปกระสวย มีลักษณะตั้งตรง เริ่มติดฝักช่วงเดือนกันยายนจะมีสีเขียว ฝักเริ่มมีสีน้ำตาลอ่อนในช่วงเดือนตุลาคม และฝักแก่สมบูรณ์ในช่วงเดือนพฤศจิกายนเมื่อแก่เต็มที่จะมีสีน้ำตาลเข้มจะแตกตามแนวยาว 3 แนว ขนาดฝักมีความยาวประมาณ 2.7 เซนติเมตร ภายในฝักมีเมล็ดอยู่จำนวนมาก (ภาพที่ 4.1 ฉ)

เมล็ด : เมล็ดมีขนาดเล็กมาก น้ำหนักเบา ลักษณะเป็นผงละเอียดคล้ายฝุ่นผงจำนวนมากอาจมีถึงหลายล้านเมล็ดอยู่ภายในฝัก สามารถปลิวฟุ้งกระจายไปไกลด้วยลม แต่ภายในเมล็ดไม่มีอาหารสะสมและเอนโดสเปิร์มอยู่เลย เมื่อดูลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเมล็ดมีลักษณะเรียวยาว กว้าง 142.0-139.4 ไมโครเมตร ยาว 753.3-800.7 ไมโครเมตร เปลือกเมล็ดมีลักษณะเป็นร่างแห เอ็มบริโอมีรูปร่างคล้ายไข กว้าง 102.8-110.7 ไมโครเมตร ยาว 152.9-170.7 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4.1 ซ และภาพที่ 4.3)



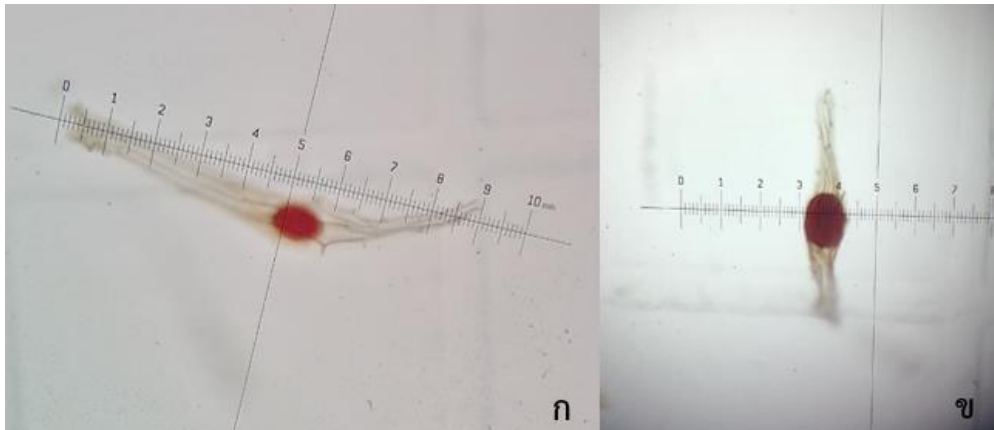
ภาพที่ 4.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกล้วยไม้ลิ้นมังกร

- ก. กล้วยไม้ลิ้นมังกรสีส้มที่เจริญบนโขดหินใกล้ ๆ น้ำตกในช่วงฤดูฝน
- ข. ลักษณะลำต้นของกล้วยไม้ลิ้นมังกร
- ค. ลักษณะรากของกล้วยไม้ลิ้นมังกร
- ง. ลักษณะใบของกล้วยไม้ลิ้นมังกร
- จ. ลักษณะดอกของกล้วยไม้ลิ้นมังกร ในช่วงเดือนสิงหาคม – เดือนตุลาคม
- ฉ. ลักษณะฝักของกล้วยไม้ลิ้นมังกร ในช่วงเดือนตุลาคม – เดือนพฤศจิกายน
- ข. เมล็ดของกล้วยไม้ลิ้นมังกร ลักษณะคล้ายฝุ่นผง

จากการสำรวจกล้วยไม้ลิ้นมังกรที่อาศัยอยู่ตามธรรมชาติในบริเวณอุทยานแห่งชาติน้ำตกพลิ้ว ตำบลพลิ้ว อำเภอแหลมสิงห์ จังหวัดจันทบุรี พบว่า กล้วยไม้ลิ้นมังกรส่วนใหญ่อาศัยอยู่บริเวณโขดหินใกล้ ๆ น้ำตกซึ่งมีความชุ่มชื้นอยู่ตลอดเวลา และมีมอสปกคลุมอยู่ กล้วยไม้ลิ้นมังกรที่พบในบริเวณอุทยานแห่งชาติน้ำตกพลิ้วมีจำนวนทั้งหมด 14 จุด (ภาพที่ 4.2) สามารถแบ่งออกเป็นบริเวณใหญ่ ๆ 2 บริเวณ ได้แก่ น้ำตกด้านบน และน้ำตกด้านล่าง บริเวณน้ำตกด้านบน เป็นบริเวณทางขึ้นไปสักการศาลเจ้าพ่อเขาสระบาป พีระมิต และอลงกรณ์เจดีย์ ซึ่งเป็นบริเวณที่พบกล้วยไม้ลิ้นมังกรเป็นจำนวนมาก



ภาพที่ 4.2 แสดงตำแหน่งที่พบกล้วยไม้ถิ่นม้งกรมตามธรรมชาติในอุทยานแห่งชาติน้ำตกพลิ้ว



ภาพที่ 4.3 ขนาดของเมื่อดักกล้วยไม้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 100 เท่า

- ก. การวัดความยาวของเมื่อดัก
- ข. การวัดความกว้างของเมื่อดัก

#### ความมีชีวิตของเมื่อดักกล้วยไม้ลีนมังกร

จากการศึกษาการทดสอบผลของการเก็บรักษาต่อความมีชีวิตและระยะพักตัวของเมื่อดักกล้วยไม้ลีนมังกร โดยนำเมื่อดักกล้วยไม้ลีนมังกรที่เก็บใน พ.ศ. 2561 และ 2562 ในเดือนพฤศจิกายน มาทดสอบความมีชีวิตโดยใช้สารละลายเตตระโซเลียมมาย้อมเมื่อดักเพื่อสังเกตการติดสีของเอ็มบริโอ จากนั้นนับจำนวนเมื่อดักที่มีชีวิต และไม่มีชีวิต (ภาพที่ 4.4) หาเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของเมื่อดักทุกเดือนเป็นระยะเวลา 12 เดือน พบว่า ในเดือนแรกเมื่อดักกล้วยไม้จะมีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตที่ต่ำที่สุด 8.82 เปอร์เซ็นต์และความมีชีวิตของเมื่อดักกล้วยไม้ค่อย ๆ เพิ่มขึ้นในเดือนถัด ๆ ไป ความมีชีวิตของเมื่อดักกล้วยไม้สูงสุดในเดือนที่ 4 คิดเป็น 84.32 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับความมีชีวิตของเมื่อดักกล้วยไม้ในเดือนที่ 3 5 6 7 8 9 และ 10 และเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตจะลดลงอีกครั้งเมื่อเข้าเดือนที่ 11 เป็นต้นไป และยังพบเมื่อดักไม่มีชีวิตสูงในสองเดือนนี้ (ตารางที่ 4.1)



ภาพที่ 4.4 ลักษณะการติดสีของเมื่อดักกล้วยไม้ลีนมังกร

- ก. เมื่อดักกล้วยไม้ที่ติดสีแดงของสารละลายเตตระโซเลียม เป็นเมื่อดักกล้วยไม้ที่มีชีวิต
- ข. เมื่อดักกล้วยไม้ไม่ติดสีแดงของสารละลายเตตระโซเลียม เป็นเมื่อดักกล้วยไม้ที่ไม่มีชีวิต
- ค. เมื่อดักกล้วยไม้ที่ไม่มีเอ็มบริโอ

ตารางที่ 4.1 เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของเมล็ดกล้วยไม้ลั่นม้งกรหลังการเก็บเกี่ยว

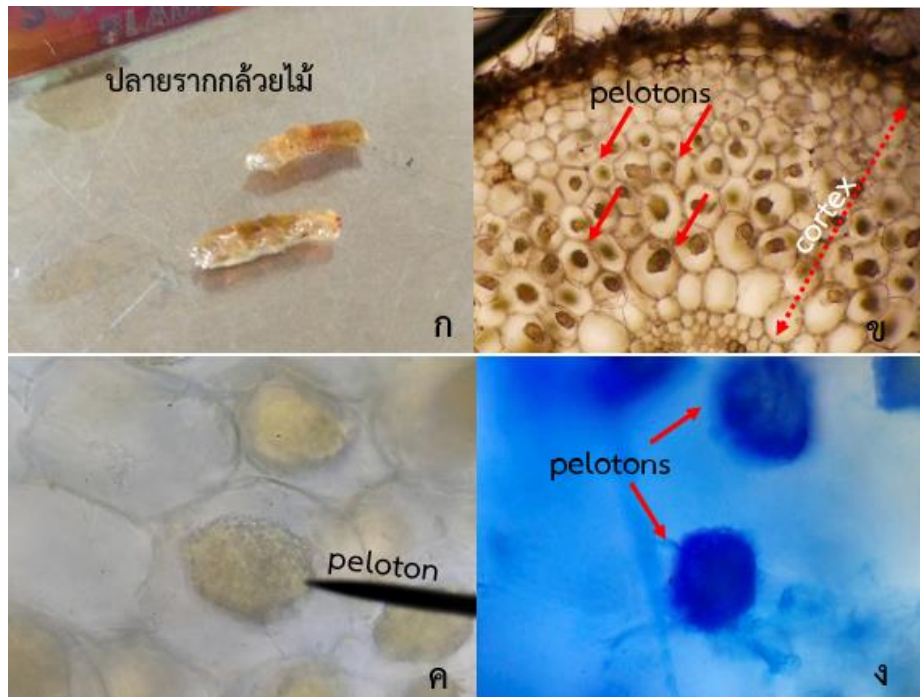
ระยะเวลา (เดือน)	ความมีชีวิตของเมล็ดกล้วยไม้ลั่นม้งกร (%)
1	8.82 ± 1.74e
2	17.16 ± 5.60d
3	81.54 ± 0.97a
4	84.32 ± 2.56a
5	78.97 ± 2.97ab
6	83.92 ± 2.02a
7	75.49 ± 2.85b
8	79.87 ± 2.18ab
9	81.36 ± 0.97ab
10	82.99 ± 5.34a
11	33.23 ± 4.81c
12	21.15 ± 1.74d

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีอักษรกำกับเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญจากการทดสอบ LSD (P<0.05)

#### ผลการคัดแยกและจำแนกรราไมคอร์ไรซาจากรากกล้วยไม้ลั่นม้งกร

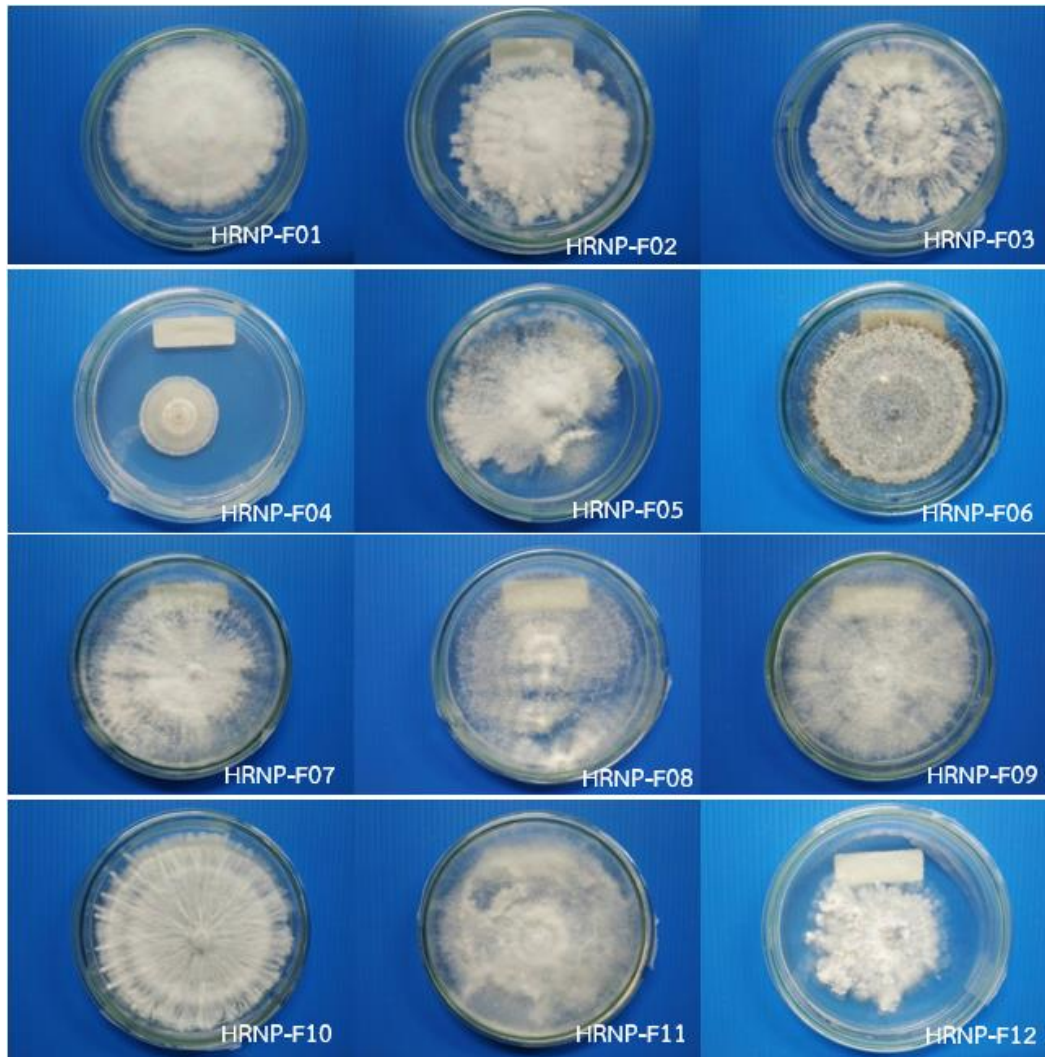
จากการสังเกตรากกล้วยไม้ลั่นม้งกรภาคตัดขวางภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบกลุ่มเส้นใยราสีเหลืองจนถึงสีน้ำตาลหรือพีโลตอน (peloton) อยู่กลางเซลล์ในบริเวณชั้นคอร์เทกซ์ของราก จัดเป็นราไมคอร์ไรซา แต่ไม่พบพีโลตอนในบริเวณกลุ่มท่อลำเลียง ดังภาพที่ 4.5

จากผลการแยกรราไมคอร์ไรซาจากรากกล้วยไม้ลั่นม้งกรที่แข็งแรงสมบูรณ์ในระยะออกดอกและระยะเจริญเติบโตทางลำต้น ให้คลอบคลุมบริเวณอุทยานแห่งชาติน้ำตกพลี้ว ทำการจำแนกรราไมคอร์ไรซาตามลักษณะการเจริญของโคโลนีนบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) พบราไมคอร์ไรซาจากรากกล้วยไม้ในระยะออกดอกจำนวน 26 ไอโซเลต และระยะการเจริญเติบโตทางลำต้นปรากฏลักษณะของโคโลนีที่แตกต่างกัน ดังภาพที่ 4.6 และ 4.7



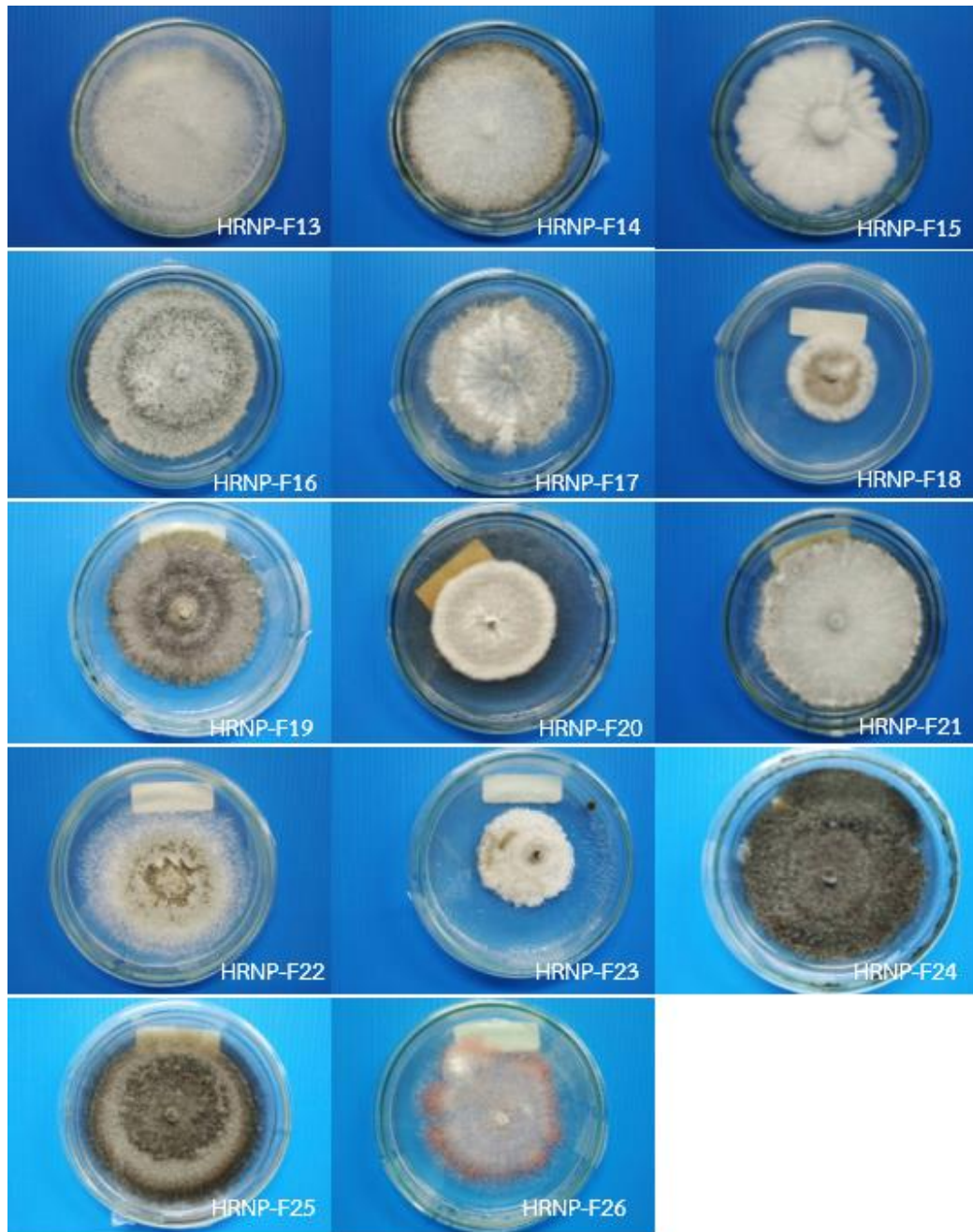
ภาพที่ 4.5 รากกล้วยไม้ล้มลุกและการเข้าอาศัยภายในรากภายใต้กล้องจุลทรรศน์  
 ก. ปลายรากกล้วยไม้ล้มลุกที่สุขภาพสมบูรณ์  
 ข. การเข้าอาศัยของราไมคอร์ไรซาบริเวณชั้นคอร์เท็กซ์ของราก กำลังขยาย 100 เท่า  
 ค. กลุ่มเส้นใยราหรือฟีโลตอน (peloton) ปลายเข็มชี้ กำลังขยาย 400 เท่า  
 ง. ฟีโลตอนย้อมสี lactophenol cotton blue กำลังขยาย 400 เท่า

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี



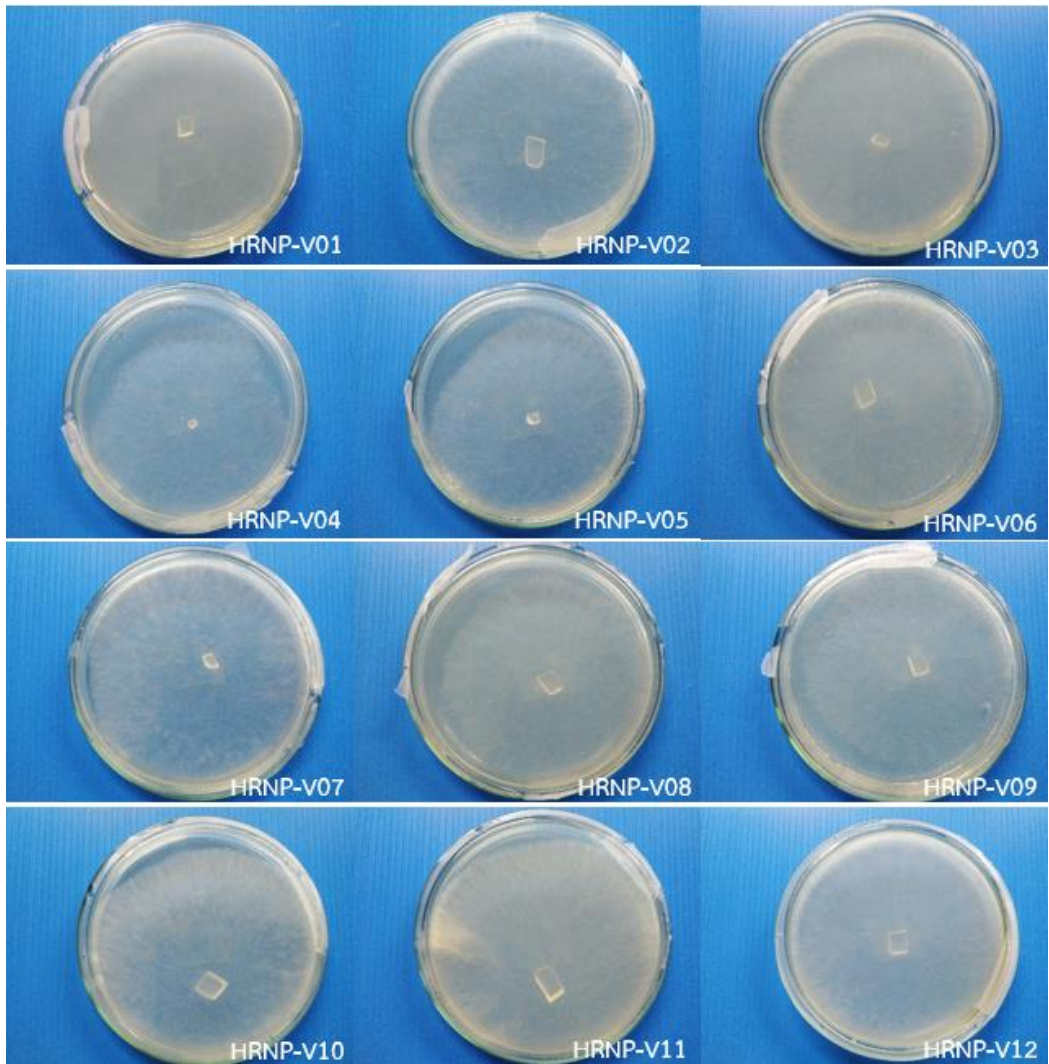
ภาพที่ 4.6 ลักษณะโคโลนีของราไมคอร์ไรซาที่แยกจากรากกล้วยไม้ลิ้นมังกร  
 ในระยะออกดอก บนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร PDA

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี



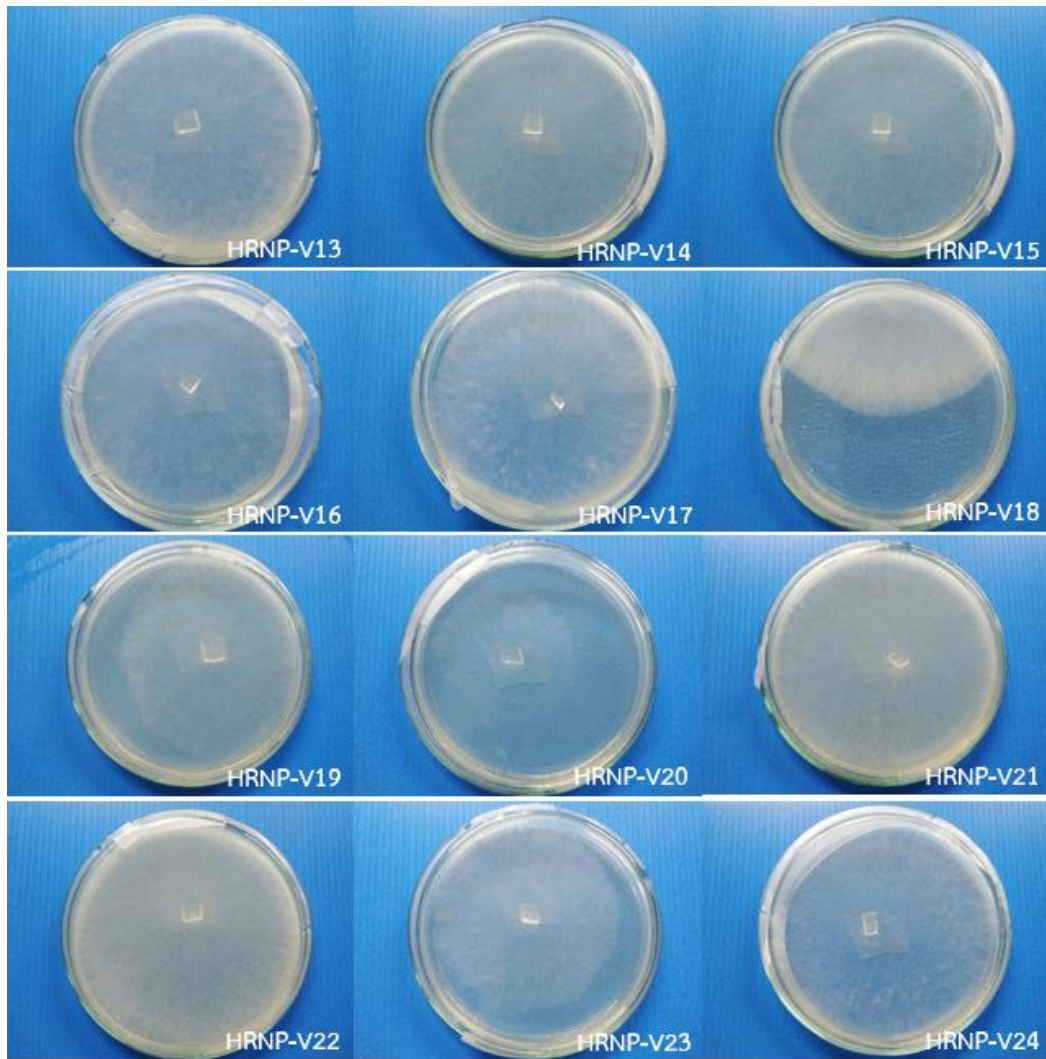
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี  
 ภาพที่ 4.6 ลักษณะโคโลนีของราไมคอร์ไรซาที่แยกจากรากกล้วยไม้ดินมังกร  
 ในระยะออกดอก บนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร PDA (ต่อ)





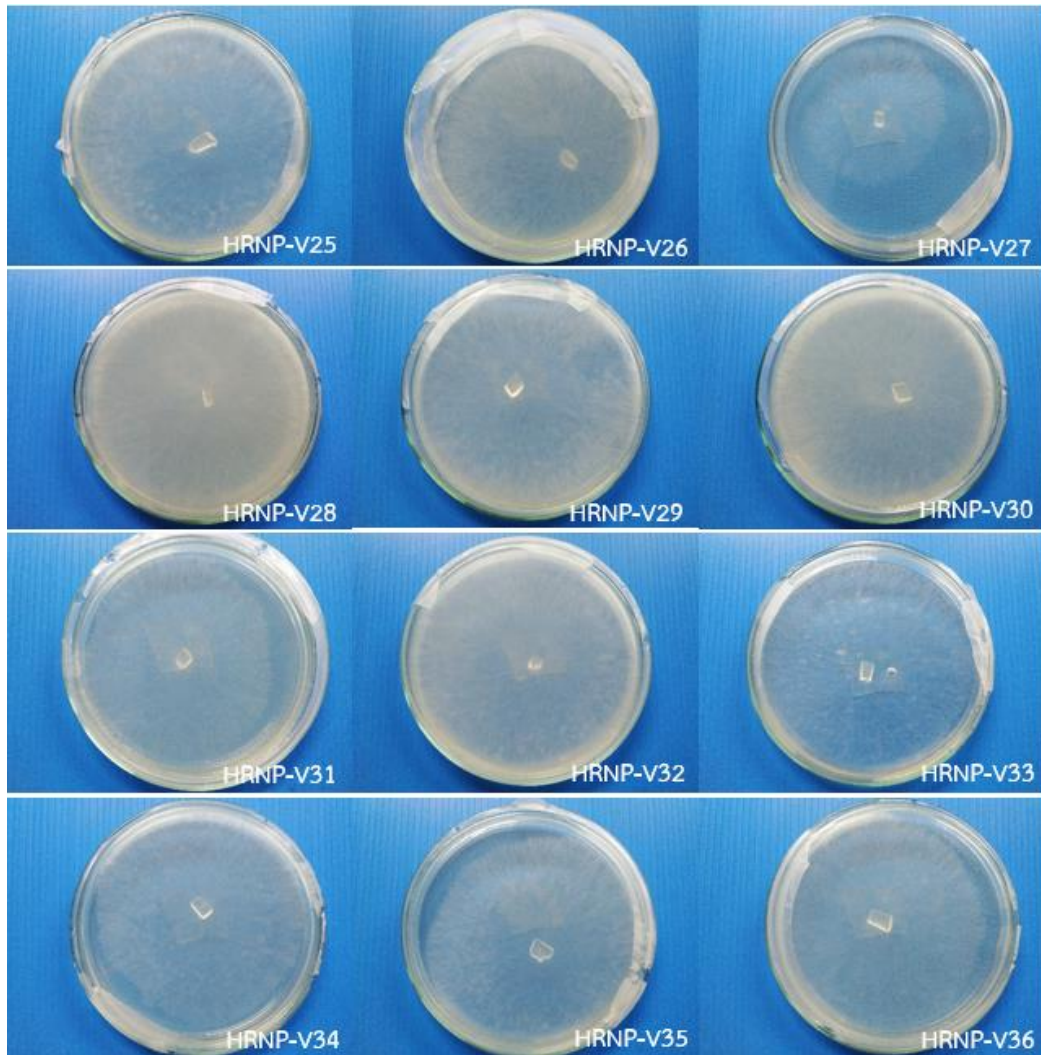
ภาพที่ 4.7 ลักษณะโคโลนีของราไมคอร์ไรซาที่แยกได้จากรากกล้วยไม้ลิ้นมังกร  
ในระยะเจริญเติบโตทางลำต้น บนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร PDA

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี



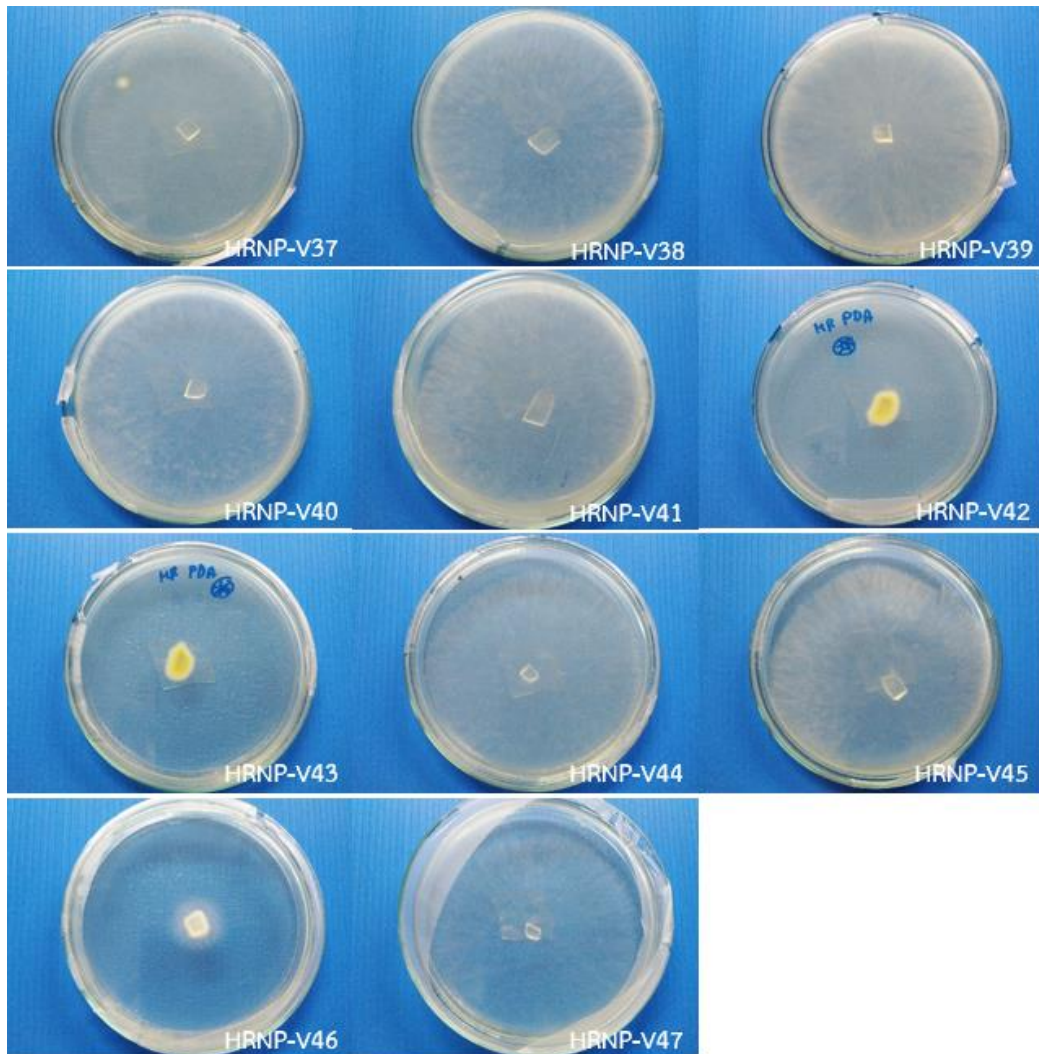
ภาพที่ 4.7 ลักษณะโคโลนีของราไมคอร์ไรซาที่แยกได้จากรากกล้วยไม้ลิ้นมังกร  
ในระยะเจริญเติบโตทางลำต้น บนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร PDA (ต่อ)

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี



ภาพที่ 4.7 ลักษณะโคโลนีของราไมคอร์ไรซาที่แยกได้จากรากกล้วยไม้ลั่นม้งกร  
ในระยะเจริญเติบโตทางลำต้น บนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร PDA (ต่อ)

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี



ภาพที่ 4.7 ลักษณะโคโลนีของราไมคอร์ไรซาที่แยกได้จากรากกล้วยไม้ลั่นมังกกร  
ในระยะเวลาเจริญเติบโตทางลำต้น บนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร PDA (ต่อ)

#### การจัดจำแนกชนิดของราไมคอร์ไรซาด้วยวิธีชีวโมเลกุล

ตัวอย่างที่ได้จากการเพิ่มขึ้นส่วนดีเอ็นเอที่ตำแหน่ง ITS ด้วยปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction ของราทั้ง 73 ไอโซเลต ส่งไปวิเคราะห์ลำดับเบสที่บริษัท ATGC ประเทศไทย จากนั้นเปรียบเทียบลำดับเบสที่ได้กับฐานข้อมูลใน GenBank ให้ผลวิเคราะห์ลำดับเบส ดังตารางที่ 4.2 ราไมคอร์ไรซาทั้งหมด 16 ชนิด แบ่งเป็นราไมคอร์ไรซาที่แยกจากรากกล้วยไม้ลั่นมังกกรในระยะออกดอก 11 ชนิด และระยะเจริญเติบโตทางลำต้น 5 ชนิด ดังนี้

ชนิดที่ 1 *Ganderma meredithae* เป็นราไมคอร์ไรซาที่แยกจากรากกล้วยไม้ลั่นมังกกรในระยะออกดอกจำนวน 1 ไอโซเลต ได้แก่ HRNP-F01 มีตำแหน่งเบสที่ตำแหน่ง ITS ใกล้เคียงที่สุดกับ *Ganderma meridithae* CBS271.88 มีค่าความเหมือน 94.25 เปอร์เซ็นต์

ชนิดที่ 2 *Albophoma yamanashiensis* เป็นราไมคอร์ไรซาที่แยกได้จากรากกล้วยไม้ลั่นมังกกรในระยะออกดอกจำนวน 1 ไอโซเลต ได้แก่ HRNP-F04 มีตำแหน่งเบสที่ตำแหน่ง ITS ใกล้เคียงที่สุดกับ *Albophoma yamanashiensis* JCM11844 มีค่าความเหมือน 97.82 เปอร์เซ็นต์

ชนิดที่ 3 *Ganoderma nasalanense* เป็นราไมคอร์ไรซาที่แยกได้จากรากกล้วยไม้ลั่นมังกกรในระยะออกดอกจำนวน 1 ไอโซเลต ได้แก่ HRNP-F05 มีตำแหน่งเบสที่ตำแหน่ง ITS ใกล้เคียงที่สุดกับ *Ganoderma nasalanense* GACP17060211 มีค่าความเหมือน 95.16 เปอร์เซ็นต์

ชนิดที่ 4 *Fusarium foetens* เป็นราไมคอร์ไรซาที่แยกได้จากรากกล้วยไม้ลั่นมังกกรในระยะออกดอกจำนวน 2 ไอโซเลต ได้แก่ HRNP-F06 และ HRNP-F26 มีตำแหน่งเบสที่ตำแหน่ง ITS ใกล้เคียงที่สุดกับ *Fusarium foetens* CBS11028 มีค่าความเหมือน 99.22 เปอร์เซ็นต์

ชนิดที่ 5 *Penicillium shearii* เป็นราไมคอร์ไรซาที่แยกได้จากรากกล้วยไม้ลั่นมังกกรในระยะออกดอกจำนวน 1 ไอโซเลต ได้แก่ HRNP-F02, HRNP-F03 และ HRNP-F07 มีตำแหน่งเบสที่ตำแหน่ง ITS ใกล้เคียงที่สุดกับ *Penicillium shearii* CBS290.48 มีค่าความเหมือน 100 เปอร์เซ็นต์

ชนิดที่ 6 *Aspergillus sydowii* เป็นราไมคอร์ไรซาที่แยกได้จากรากกล้วยไม้ลั่นมังกกรในระยะออกดอกจำนวน 9 ไอโซเลต ได้แก่ HRNP-F08, HRNP-F09, HRNP-F11, HRNP-F12, HRNP-F17, HRNP-F18, HRNP-F19, HRNP-F20 และ HRNP-F21 มีตำแหน่งเบสที่ตำแหน่ง ITS ใกล้เคียงที่สุดกับ *Aspergillus sydowii* CBS593.65 มีค่าความเหมือน 100 เปอร์เซ็นต์

ชนิดที่ 7 *Rostrohypoxylon terebratum* เป็นราไมคอร์ไรซาที่แยกได้จากรากกล้วยไม้ลั่นมังกกรในระยะออกดอกจำนวน 3 ไอโซเลต ได้แก่ HRNP-F10, HRNP-F13 และ HRNP-F14 มีตำแหน่งเบสที่ตำแหน่ง ITS ใกล้เคียงที่สุดกับ *Rostrohypoxylon terebratum* CBS119137 มีค่าความเหมือน 91.88 เปอร์เซ็นต์

ชนิดที่ 8 *Xylaria bambusicola* เป็นราไมคอร์ไรซาที่แยกได้จากรากกล้วยไม้ลั่นมังกกรในระยะออกดอกจำนวน 1 ไอโซเลต ได้แก่ HRNP-F15 มีตำแหน่งเบสที่ตำแหน่ง ITS ใกล้เคียงที่สุดกับ *Xylaria bambusicola* WSP205 มีค่าความเหมือน 96.12 เปอร์เซ็นต์

ชนิดที่ 9 *Halorosellinia krabiensis* เป็นราไมคอร์ไรซาที่แยกได้จากรากกล้วยไม้ลั่นมังกกรในระยะออกดอกจำนวน 1 ไอโซเลต ได้แก่ HRNP-F16 มีตำแหน่งเบสที่ตำแหน่ง ITS ใกล้เคียงที่สุดกับ *Halorosellinia krabiensis* MFLU17-2596 มีค่าความเหมือน 97.99 เปอร์เซ็นต์

ชนิดที่ 10 *Rhospalostroma brevistipitatum* เป็นราไมคอร์ไรซาที่แยกได้จากรากกล้วยไม้ลั่นมังกกรในระยะออกดอกจำนวน 3 ไอโซเลต ได้แก่ HRNP-F22, HRNP-F24 และ HRNP-F25 มีตำแหน่งเบสที่ตำแหน่ง ITS ใกล้เคียงที่สุดกับ *Rhospalostroma brevistipitatum* MFLU15-0007 มีค่าความเหมือน 97.47 เปอร์เซ็นต์

ชนิดที่ 11 *Barmaelia rappazii* เป็นราไมคอร์ไรซาที่แยกได้จากรากกล้วยไม้ลั่นมังกกรในระยะออกดอกจำนวน 1 ไอโซเลต ได้แก่ HRNP-F23 มีตำแหน่งเบสที่ตำแหน่ง ITS ใกล้เคียงที่สุดกับ *Barmaelia rappazii* CBS142771 มีค่าความเหมือน 89.92 เปอร์เซ็นต์

ชนิดที่ 12 *Ceriporia torpida* เป็นราไมคอร์ไรซาที่แยกได้จากรากกล้วยไม้ลั่นมังกกรในระยะเจริญเติบโตทางลำต้นจำนวน 41 ไอโซเลต ได้แก่ HRNP-V01, HRNP-V03-V30, HRNP-V32-V36,

HRNP-V38-V45 มีตำแหน่งเบสที่ตำแหน่ง ITS ใกล้เคียงที่สุดกับ *Ceriporia torpida* HMurdoch90 มีค่าความเหมือน 98.18 เปอร์เซ็นต์

ชนิดที่ 13 *Cyphellophora oxyspora* เป็นราไมคอร์ไรซาที่แยกได้จากรากกล้วยไม้ล้มลุกในม้งกรในระยะเจริญเติบโตทางลำต้นจำนวน 1 ไอโซเลต ได้แก่ HRNP-V02 มีตำแหน่งเบสที่ตำแหน่ง ITS ใกล้เคียงที่สุดกับ *Cyphellophora oxyspora* CBS698.73 มีค่าความเหมือน 99.78 เปอร์เซ็นต์

ชนิดที่ 14 *Jaapia argillacea* เป็นราไมคอร์ไรซาที่แยกได้จากรากกล้วยไม้ล้มลุกในม้งกรในระยะเจริญเติบโตทางลำต้นจำนวน 1 ไอโซเลต ได้แก่ HRNP-V31 มีตำแหน่งเบสที่ตำแหน่ง ITS ใกล้เคียงที่สุดกับ *Jaapia argillacea* CBS252.74 มีค่าความเหมือน 98.36 เปอร์เซ็นต์

ชนิดที่ 15 *Aspergillus terreus* เป็นราไมคอร์ไรซาที่แยกได้จากรากกล้วยไม้ล้มลุกในม้งกรในระยะเจริญเติบโตทางลำต้นจำนวน 1 ไอโซเลต ได้แก่ HRNP-V37 มีตำแหน่งเบสที่ตำแหน่ง ITS ใกล้เคียงที่สุดกับ *Aspergillus terreus* ATCC1012 มีค่าความเหมือน 100 เปอร์เซ็นต์

ชนิดที่ 16 *Grammothele hainanensis* เป็นราไมคอร์ไรซาที่แยกได้จากรากกล้วยไม้ล้มลุกในม้งกรในระยะเจริญเติบโตทางลำต้นจำนวน 2 ไอโซเลต ได้แก่ HRNP-V46 และ HRNP-V47 มีตำแหน่งเบสที่ตำแหน่ง ITS ใกล้เคียงที่สุดกับ *Grammothele hainanensis* BJFC0203451012 มีค่าความเหมือน 91.46 เปอร์เซ็นต์

#### ตารางที่ 4.2 การระบุชนิดราไมคอร์ไรซาที่แยกได้จากรากกล้วยไม้ล้มลุกโดยอาศัยลำดับเบสที่ตำแหน่ง ITS

รหัส	ราที่มีลำดับเบสใกล้เคียงที่สุด	Assession number	เปอร์เซ็นต์ความเหมือน (%)
HRNP-F01	<i>Ganoderma meredithae</i>	CBS271.88	94.25
HRNP-F04	<i>Albophoma yamanashiensis</i>	JCM11844	97.82
HRNP-F05	<i>Ganoderma nasalanense</i>	GACP17060211	95.16
HRNP-F06	<i>Fusarium foetens</i>	CBS11028	99.22
HRNP-F02	<i>Penicillium shearii</i>	CBS290.48	100.00
HRNP-F08	<i>Aspergillus sydowii</i>	CBS593.65	100.00
HRNP-F10	<i>Rostrophoxylon terebratum</i>	CBS119137	91.88
HRNP-F15	<i>Xylaria bambusicola</i>	WSP205	96.12
HRNP-F16	<i>Halorosellinia krabiensis</i>	MFLU17-2596	97.99
HRNP-F22	<i>Rhospalostroma brevistipitatum</i>	MFLU15-0007	97.47
HRNP-F23	<i>Barrmaelia rappaaii</i>	CBS142771	89.92
HRNP-V01	<i>Ceriporia torpida</i>	HMurdoch90	98.18
HRNP-V02	<i>Cyphellophora oxyspora</i>	HRNP-V02	99.78
HRNP-V31	<i>Jaapia argillacea</i>	CBS252.74	98.36
HRNP-V37	<i>Aspergillus terreus</i>	ATCC1012	100.00
HRNP-V46	<i>Grammothele hainaensis</i>	BJFC020345	91.46

### ผลชนิดและปริมาณธาตุในราไมคอร์ไรซา

การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณธาตุในราไมคอร์ไรซาที่แยกจากรากกล้วยไม้ลิ้นมังกรในระยะเจริญเติบโตทางลำต้นและระยะออกดอก จำนวน 73 ไอโซเลต ด้วยเทคนิคเอกซเรย์ฟลูออเรสเซนซ์พบว่า ราไมคอร์ไรซามีส่วนประกอบของธาตุฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) แคลเซียม (Ca) ซัลเฟอร์ (S) เหล็ก (Fe) ซิลิกอน (Si) ในปริมาณธาตุที่แตกต่างกัน ดังตารางที่ 4.3 และ 4.4

**ตารางที่ 4.3** ชนิดและปริมาณธาตุในราไมคอร์ไรซาในระยะออกดอกจำนวน 26 ไอโซเลต หน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์

รหัส	ชนิดและปริมาณธาตุ (%)					
	P	K	Ca	Fe	S	Si
HRNP-F01	8.56	43.43	28.43	1.26	6.64	11.38
HRNP-F02	12.17	43.48	22.43	0.31	6.87	14.56
HRNP-F03	8.35	74.62	0	0.39	4.38	12.14
HRNP-F04	18.34	62.96	0	0.54	7.99	10.13
HRNP-F05	9.8	39.02	19.56	0	6.23	25.39
HRNP-F06	10.23	49.17	21.4	1.16	4.14	13.38
HRNP-F07	14.12	32.09	25.99	2.98	1.78	13.95
HRNP-F08	6.95	42.44	23.26	0	4.97	22.04
HRNP-F09	11.09	54.37	0	0	5.69	28.4
HRNP-F10	11.71	68.32	0	0.71	3.59	15.27
HRNP-F11	9.69	46.68	26.28	0	0	17.35
HRNP-F12	3.87	30.35	26.23	0	6.09	33.12
HRNP-F13	12.67	63.86	0	0	3.53	16.35
HRNP-F14	7.13	45.99	31.48	0.69	0	13.32
HRNP-F15	5.89	82.41	0.27	0	4.75	6.66
HRNP-F16	11.35	51.94	16.67	0	4.83	14.93

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ตารางที่ 4.3 ชนิดและปริมาณธาตุในราไมคอร์ไรซาในระยะออกดอกจำนวน 26 ไอโซเลต (ต่อ)

รหัส	ชนิดและปริมาณธาตุ (%)					
	P	K	Ca	Fe	S	Si
HRNP-F17	11.58	77.44	0	0.98	3.15	6.81
HRNP-F18	10.75	63.72	0	0.69	5.49	18.64
HRNP-F19	11.46	34.69	16.23	1.33	9.38	25.33
HRNP-F20	11.4	60.11	0	1.06	5.85	19.14
HRNP-F21	8.22	38.38	33.8	0	4.22	15.34
HRNP-F22	7.59	60.77	0	0.55	2.35	28.24
HRNP-F23	10.14	46.8	14.82	0	0	28.23
HRNP-F24	15.23	53.87	0	0	7.81	22.96
HRNP-F25	10.43	47.34	13.25	0	5.15	23.72
HRNP-F26	13.71	52.16	0	0.97	4.97	27.91

ตารางที่ 4.4 ชนิดและปริมาณธาตุในราไมคอร์ไรซาในระยะเจริญเติบโตทางลำต้นจำนวน 47 ไอโซเลต หน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์

รหัส	ชนิดและปริมาณธาตุ (%)					
	P	K	Ca	Fe	S	Si
HRNP-V01	8.31	45.33	25.71	0.58	3.4	16.55
HRNP-V02	7.84	36.71	30.44	0	0	24.76
HRNP-V03	10.18	38.28	21.02	0	0	30.3
HRNP-V04	8.3	43.58	26.67	0	3.74	17.63
HRNP-V05	13.31	38.02	20.31	0	0	28.23
HRNP-V06	8.34	46.21	23.73	0	2.3	19.26
HRNP-V07	8.01	40.27	22.61	0.31	0	28.69
HRNP-V08	7.41	44.65	25.88	0.95	0	20.96
HRNP-V09	10.4	70.31	0	0.74	0	18.36
HRNP-V10	4.19	43.34	28.55	0	0	22.55
HRNP-V11	8.33	68.27	0	0	4.65	18.73



ตารางที่ 4.4 ชนิดและปริมาณธาตุในราไมคอร์ไรซาในระยะเจริญเติบโตทางลำต้นจำนวน 47 ไอโซเลต หน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ (ต่อ)

รหัส	ชนิดและปริมาณธาตุ (%)					
	P	K	Ca	Fe	S	Si
HRNP-V12	0.28	64.88	0	0	0	32.5
HRNP-V13	6.15	50.88	23	1.72	3.48	13.71
HRNP-V14	8.95	65.54	0	0.99	0	23.99
HRNP-V15	10.37	46.36	18.89	1.62	0	20.88
HRNP-V16	7.48	42.89	24.84	1.1	3.8	19.89
HRNP-V17	8.39	39.3	28.28	0	3.63	20.33
HRNP-V18	7.51	50.13	21.47	0	2.05	18.8
HRNP-V19	6.98	46.63	28.31	1.13	0	14.91
HRNP-V20	6.08	47.33	28.55	2.2	2.77	11.68
HRNP-V21	10.99	62.39	0	0.97	5.22	19.7
HRNP-V22	7.04	41.21	25.3	1.33	4.25	20.84
HRNP-V23	3.18	74.88	0	1.55	3.67	14.53
HRNP-V24	5.62	67.15	0	2.37	3.92	20.49
HRNP-V25	9.59	46.09	18.22	0.7	4.38	20.79
HRNP-V26	4.94	68.16	0	1.17	2.72	20.91
HRNP-V27	6.06	72.22	0	1.03	0	20.59
HRNP-V28	8.6	42.02	24.32	1.33	0	23.61
HRNP-V29	13.41	57.93	0	0	0	28.42
HRNP-V30	12.76	66.39	0	0	3.25	17.52
HRNP-V31	6.11	40.75	18.71	0	6.22	25.95
HRNP-V32	18.34	35.56	0	0	13.52	32.46
HRNP-V33	12.88	62.77	0	0.61	0	23.23

ตารางที่ 4.4 ชนิดและปริมาณธาตุในราไมคอร์ไรซาในระยะเจริญเติบโตทางลำต้นจำนวน 47 ไอโซเลต หน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ (ต่อ)

รหัส	ชนิดและปริมาณธาตุ (%)					
	P	K	Ca	Fe	S	Si
HRNP-V34	10.47	43.28	0	17.99	0.81	19.6
HRNP-V35	8.73	33.57	11.21	0	0	46.47
HRNP-V36	13.57	39.04	18.51	0	0	28.84
HRNP-V37	13.16	57.5	0	0	7.46	21.79
HRNP-V38	11.15	45.62	17.35	0	0	25.76
HRNP-V39	8.21	62.44	0	3.35	6.2	19.39
HRNP-V40	5.68	55.79	0	1.12	0	37.4
HRNP-V41	12.77	60.31	0	1.23	6.08	19.39
HRNP-V42	16.31	57.11	0	1.02	7.06	18.48
HRNP-V43	10.21	57.18	0	2.02	0	30.42
HRNP-V44	7.18	48.02	22.23	0	4.7	17.42
HRNP-V45	7.8	49.13	23.47	0.47	3.18	15.71
HRNP-V46	6.08	62.84	0	1.77	4.02	24.75
HRNP-V47	11.31	63.4	0	1.17	2.98	21.14

ตารางที่ 4.5 ปริมาณธาตุในราไมคอร์ไรซาที่แยกได้จากรากกล้วยไม้ลิ้นมังกร

ระยะกล้วยไม้	ปริมาณธาตุ (%)					
	P	K	Ca	S	Fe	Si
ออกดอก	10.48	52.55	12.31	4.61	0.52	18.64
เจริญเติบโตทางลำต้น	8.91	57.95	12.29	2.54	1.12	22.52

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณธาตุที่พบในราไมคอร์ไรซาในระยะออกดอกและระยะเจริญเติบโตทางลำต้น พบว่า ราไมคอร์ไรซาในระยะออกดอกมีปริมาณธาตุฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม ซัลเฟอร์ สูงกว่าในระยะเจริญเติบโตทางลำต้น แต่ราไมคอร์ไรซาในระยะเจริญเติบโตทางลำต้นกลับพบว่ามีปริมาณธาตุซิลิกอนสูง ปริมาณธาตุที่พบมากที่สุดในการมีปริมาณธาตุได้แก่ โพแทสเซียม รองลงมาคือ แคลเซียม และ ฟอสฟอรัส ตามลำดับ (ตารางที่ 4.5) สามารถลำดับการมีปริมาณธาตุแต่ละชนิดสูงสุด 3 ลำดับแรกของราไมคอร์ไรซาที่แยกได้ (ตารางที่ 4.6) และพบว่าราไมคอร์ไรซาไอโซเลต HRNP-V32 และไอโซเลต HRNP-F04 ตรวจพบทั้งธาตุฟอสฟอรัสและซิลิโคนในปริมาณสูง

ตารางที่ 4.6 ราไมคอร์ไรซาที่ให้ปริมาณธาตุสูงสุดสามลำดับแรก

ธาตุ	รหัส	ปริมาณ (%)
P	HRNP-F04	18.34
	HRNP-V32	18.34
	HRNP-V42	16.31
K	HRNP-F15	82.41
	HRNP-F17	77.44
	HRNP-V23	74.88
C	HRNP-F21	33.8
	HRNP-F14	31.48
	HRNP-V02	30.44
Fe	HRNP-V39	3.35
	HRNP-F07	2.98
	HRNP-V24	2.37
S	HRNP-V32	13.52
	HRNP-F04	7.99
	HRNP-F19	9.38
Si	HRNP-V35	46.47
	HRNP-V40	37.4
	HRNP-F12	33.12

#### ผลการคัดเลือกราไมคอร์ไรซาที่ผลิต IAA สูงสุด

การคัดเลือกเชื้อราไมคอร์ไรซาที่สามารถผลิตกรดอินโดล-3-อะซีติก (IAA) ด้วยวิธีบ่มในสภาพมืดเป็นเวลา 14 วัน จากการวิเคราะห์ปริมาณการผลิตกรดอินโดล-3-อะซีติกในระยะออกดอก ในอาหารสังเคราะห์สูตร Potato Dextrose Broth (PDB) ที่เติม L-tryptophan ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 14 วัน เพื่อวิเคราะห์ปริมาณการผลิตกรดอินโดล-3-อะซีติก (IAA) ผลการทดสอบพบว่า มี 20 ไอโซเลต ที่สามารถผลิตกรดอินโดล-3-อะซีติก (IAA) ในช่วงระหว่าง 0.39-6.84 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 4.7) โดยที่รา 6 ไอโซเลต ที่สามารถผลิตกรดอินโดล-3-อะซีติก (IAA) ได้มากกว่า 3.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้แก่ HRNP-F22, HRNP-F14, HRNP-F06, HRNP-F21, HRNP-F13 และ HRNP-F01 สามารถผลิตกรดอินโดล-3-อะซีติก (IAA) ได้สูงสุดเท่ากับ 6.84, 6.77, 6.04, 5.04, 3.60 และ 3.42 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นจึงนำราทั้ง 6 ไอโซเลตไปทดสอบการงอกของเมล็ดแบบสมชีพในการทดลองต่อไป

ตารางที่ 4.7 ปริมาณการผลิตกรดอินโดล-3-อะซีติก (IAA) โดยเชื้อราที่แยกได้จากระยะออกดอก ด้วยวิธีบ่มในที่ไม่มีแสง เป็นเวลา 14 วัน

ไอโซเลต	ปริมาณกรดอินโดล-3-อะซีติก (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
HRNP-F01	3.42±2.98
HRNP-F02	2.23±1.06
HRNP-F03	1.62±0.57
HRNP-F04	0.39±0.52
HRNP-F05	1.81±1.92
HRNP-F06	6.04±1.75
HRNP-F07	0.87±0.43
HRNP-F08	0.45±0.25
HRNP-F09	0.00±0.00
HRNP-F10	2.60±1.72
HRNP-F11	0.00±0.00
HRNP-F12	1.64±2.42
HRNP-F13	3.60±0.93
HRNP-F14	6.77±8.02
HRNP-F15	0.45±0.03
HRNP-F16	2.35±2.04
HRNP-F17	2.01±0.21
HRNP-F18	0.00±0.00
HRNP-F19	1.04±0.68
HRNP-F20	1.06±0.66
HRNP-F21	5.04±1.48
HRNP-F22	6.84±5.59
HRNP-F23	0.00±0.00
HRNP-F24	0.00±0.00
HRNP-F25	0.00±0.00
HRNP-F26	0.75±0.54

การคัดเลือกเชื้อราไมคอร์ไรซาที่สามารถผลิตกรดอินโดล-3-อะซีติก (IAA) ด้วยวิธีบ่มในสภาพมืดเป็นเวลา 14 วัน จากการวิเคราะห์ปริมาณการผลิตกรดอินโดล-3-อะซีติกในระยะเวลาเจริญเติบโตทางลำต้น ในอาหารสังเคราะห์สูตร Potato Dextrose Broth (PDB) ที่เติม L-tryptophan ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 14 วัน เพื่อวิเคราะห์ปริมาณการผลิตกรดอินโดล-3-อะซีติก (IAA) ผลการทดสอบพบว่า มี 43 ไอโซเลต ที่สามารถผลิตกรดอินโดล-3-อะซีติก (IAA) ในช่วงระหว่าง 0.10-6.38 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 4.8) โดยที่รา 6 ไอโซเลต ที่สามารถผลิตกรดอินโดล-3-อะซีติก (IAA) ได้มากกว่า 3.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้แก่ HRNP-V21, HRNP-V14, HRNP-V02, HRNP-V24, HRNP-V13 และ HRNP-V32 สามารถผลิตกรดอินโดล-3-อะซีติก (IAA) ได้สูงสุดเท่ากับ 6.38, 4.27, 3.98, 3.77, 3.46 และ 3.08 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นจึงนำราทั้ง 6 ไอโซเลตไปทดสอบการงอกของเมล็ดแบบสมชีพในการทดลองต่อไป

**ตารางที่ 4.8** ปริมาณการผลิตกรดอินโดล-3-อะซีติก (IAA) โดยเชื้อราที่แยกได้จากระยะเวลาเจริญเติบโตทางลำต้นด้วยวิธีบ่มในที่ไม่มีแสง เป็นเวลา 14 วัน

ไอโซเลต	ปริมาณกรดอินโดล-3-อะซีติก (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
HRNP-V01	0.14±0.03
HRNP-V02	3.98±2.94
HRNP-V03	0.08±0.03
HRNP-V04	0.10±0.07
HRNP-V05	0.41±0.09
HRNP-V06	0.35±0.40
HRNP-V07	0.37±0.12
HRNP-V08	0.22±0.19
HRNP-V09	0.79±0.89
HRNP-V10	0.41±0.14
HRNP-V11	0.00±0.00
HRNP-V12	1.43±0.86
HRNP-V13	3.46±0.99
HRNP-V14	4.27±1.82
HRNP-V15	1.60±0.81
HRNP-V16	1.02±0.25
HRNP-V17	1.79±0.56

ตารางที่ 4.8 ปริมาณการผลิตกรดอินโดล-3-อะซีติก (IAA) โดยเชื้อราที่แยกได้จากระยะเจริญเติบโตทางลำต้นด้วยวิธีปมในที่ไม่มีแสง เป็นเวลา 14 วัน (ต่อ)

ไอโซเลต	ปริมาณกรดอินโดล-3-อะซีติก (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
HRNP-V18	0.47±0.66
HRNP-V19	1.35±0.19
HRNP-V20	1.16±0.19
HRNP-V21	6.38±1.29
HRNP-V22	1.93±0.39
HRNP-V23	0.12±0.16
HRNP-V24	3.77±3.93
HRNP-V25	1.77±1.28
HRNP-V26	1.00±0.16
HRNP-V27	0.85±0.91
HRNP-V28	0.45±0.40
HRNP-V29	1.23±0.13
HRNP-V30	0.85±0.70
HRNP-V31	0.25±0.06
HRNP-V32	3.08±0.50
HRNP-V33	0.58±0.85
HRNP-V34	1.68±0.92
HRNP-V35	2.00±3.04
HRNP-V36	1.58±0.81
HRNP-V37	2.41±0.71
HRNP-V38	1.02±0.20
HRNP-V39	0.72±1.26
HRNP-V40	0.00±0.00
HRNP-V41	1.25±0.63
HRNP-V42	2.46±2.12
HRNP-V43	0.75±0.38
HRNP-V44	0.12±0.06
HRNP-V45	0.00±0.00
HRNP-V46	1.02±0.89
HRNP-V47	0.75±0.73

## การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ลีนมังกร

### การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ลีนมังกรในสภาพปลอดเชื้อ

เมล็ดกล้วยไม้ลีนมังกรที่เพาะเลี้ยงเมล็ดบนอาหารสังเคราะห์ 4 สูตร ได้แก่ Oat Meal Agar (OMA), Murashige & Skooge (MS), Vacin & Went (VW) และ Water Agar (WA; ชุดควบคุม) ให้เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดกล้วยไม้ลีนมังกร ดังตารางที่ 4.9 เมล็ดกล้วยไม้ลีนมังกรที่เพาะเลี้ยงเมล็ดบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS มีเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดกล้วยไม้เพิ่มขึ้นทุกเดือน และสูงสุด 94.70 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 4 เดือน เมื่อพิจารณาระยะเวลาพัฒนาการของเมล็ดกล้วยไม้ในเดือนที่ 4 พบว่า เมล็ดกล้วยไม้ส่วนใหญ่พัฒนาอยู่ในระยะที่ 2 คือ เอ็มบริโอขยายขนาด ต้นจนหลุดออกจากเปลือกหุ้มเมล็ด (73.86 เปอร์เซ็นต์) และระยะที่ 3 คือ โพรโตคอร์ม (12.09 เปอร์เซ็นต์) และโพรโตคอร์มพัฒนาพัฒนาเข้าสู่ระยะที่ 4 และระยะที่ 5 ในทั้งสองระยะพบน้อยกว่า 0.0001 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบเพียงระยะละ 3 ต้นเท่านั้น (ตารางที่ 4.10 และ ภาพที่ 4.8) แต่ในเดือนที่ 5-6 ต้นอ่อนกล้วยไม้ในระยะที่ 5 ไม่แตกใบใหม่ ใบเดิมที่ปรากฏยืดยาวและขยายขนาดเพียงเล็กน้อย

ตารางที่ 4.9 เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดกล้วยไม้ลีนมังกรที่เพาะเลี้ยงเมล็ดบนอาหารสังเคราะห์ 4 สูตร ในแต่ละเดือน เป็นระยะเวลา 4 เดือน

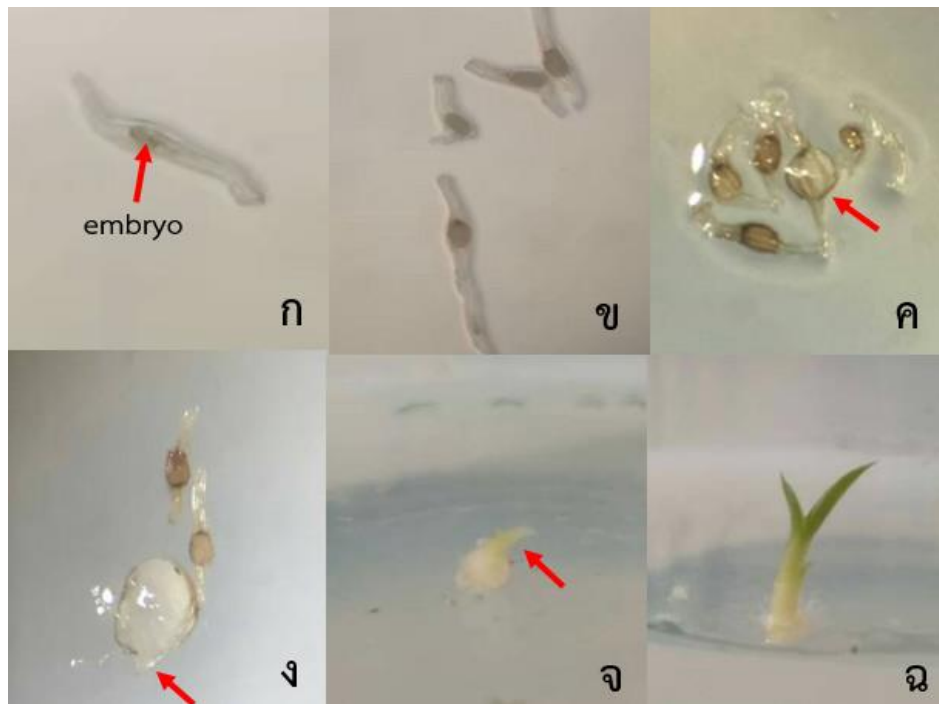
สูตรอาหารสังเคราะห์	การงอกของเมล็ดกล้วยไม้ลีนมังกร (%)			
	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4
Water Agar (WA)	37.90±4.77 <sup>c</sup>	41.28±8.34 <sup>b</sup>	56.60±15.77 <sup>b</sup>	76.87±2.95 <sup>c</sup>
Oat Meal Agar (OMA)	45.88±3.13 <sup>b</sup>	75.53±4.52 <sup>a</sup>	81.11±5.36 <sup>a</sup>	82.89±4.66 <sup>b</sup>
Murashige & Skooge (MS)	75.23±2.19 <sup>a</sup>	84.06±4.49 <sup>a</sup>	93.29±2.09 <sup>a</sup>	94.70±1.76 <sup>a</sup>
Vacin & Went (VW)	69.25±2.28 <sup>a</sup>	76.78±1.46 <sup>a</sup>	80.28±4.90 <sup>a</sup>	88.61±3.20 <sup>a</sup>

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่มีอักษรกำกับเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.10 เปอร์เซ็นต์ระยะพัฒนาการของเมล็ดกล้วยไม้ลีนมังกรที่เพาะเมล็ดบนอาหารสังเคราะห์ 4 สูตร ที่ระยะเวลา 4 เดือน

สูตรอาหารสังเคราะห์	ระยะพัฒนาการของเมล็ด (%)			
	ระยะที่ 0	ระยะที่ 1	ระยะที่ 2	ระยะที่ 3
Water Agar (WA)	23.81±2.02 <sup>a</sup>	42.86±8.54 <sup>a</sup>	33.33±5.13 <sup>c</sup>	0.00±0.00 <sup>c</sup>
Oat Meal Agar (OMA)	17.33±3.06 <sup>a</sup>	25.33±2.52 <sup>a</sup>	54.67±2.52 <sup>b</sup>	2.67±0.58 <sup>b</sup>
Murashige & Skooge (MS)	4.90±2.65 <sup>c</sup>	9.15±5.13 <sup>c</sup>	73.86±24.79 <sup>a</sup>	12.09±2.52 <sup>a</sup>
Vacin & Went (VW)	11.61±3.51 <sup>b</sup>	14.73±3.61 <sup>b</sup>	72.32±12.53 <sup>a</sup>	1.34±1.00 <sup>b</sup>

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่มีอักษรกำกับเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 4.8 การงอกและพัฒนาการของเมล็ดกล้วยไม้ลิ้นมังกรที่เพาะเลี้ยงเมล็ดบนอาหารสังเคราะห์ สูตร MS นาน 4 เดือน  
 ก. เอมบริโอมีชีวิตแต่ไม่งอก ปลายศรชี้ (ระยะที่ 0)  
 ข. เอมบริโอเริ่มบวม (ระยะที่ 1)  
 ค. เอมบริโอขยายขนาด จนต้นเปลือกหุ้มเมล็ดฉีกขาด ปลายศรชี้ (ระยะที่ 2)  
 ง. สร้างปลายยอดแหลม เรียกระยะโปรโตคอร์ม ปลายศรชี้ (ระยะที่ 3)  
 จ. โปรโตคอร์มปรากฏใบแรก ปลายศรชี้ (ระยะที่ 4)  
 ฉ. ใบแรกขยายขนาด ยืดยาว (ระยะที่ 5)

#### การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ลิ้นมังกรแบบสมชีพ

จากการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ลิ้นมังกรร่วมกับราไมคอร์ไรซาที่สามารถผลิตกรดอินโดล-3-อะซีติก (IAA) ได้มากกว่า 3.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม จำนวน 12 ไอโซเลต แบ่งเป็นราไมคอร์ไรซาในระยะออกดอก 6 ไอโซเลต และระยะเจริญเติบโตทางลำต้น 6 ไอโซเลต บนอาหารเพาะเลี้ยงสังเคราะห์สูตร Oat Meal Agar ที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส ในสภาพมืด นาน 4 เดือน พบว่า ราไมคอร์ไรซาทุกไอโซเลตกระตุ้นการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ลิ้นมังกรได้ สามารถกระตุ้นเมล็ดเข้าสู่ปลายระยะที่ 2 ยกเว้น HRNP-F01 และ HRNP-F21 ที่เส้นใยเจริญคลุมและเข้าทำลายเมล็ด (ภาพที่ 4.9 และ 4.10) เมล็ดที่เพาะร่วมราไมคอร์ไรซาในระยะออกดอกไอโซเลต HRNP-F22 มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุด 92.24 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างจากราไอโซเลต HRNP-F14, HRNP-F06 และ HRNP-F13 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนเมล็ดที่เพาะร่วมราไมคอร์ไรซาในระยะเจริญเติบโตทางลำต้น ไอโซเลต HRNP-V21 มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุด 97.35 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างจากราไอโซเลต HRNP-V02,



HRNP-V24, HRNP-V32, HRNP-V13 และ HRNP-V14 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดร่วมกับราไมคอร์ไรซาที่แยกจากรากกล้วยไม้ระยะเจริญเติบโตทางลำต้นสูงกว่าระยะออกดอก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.11)

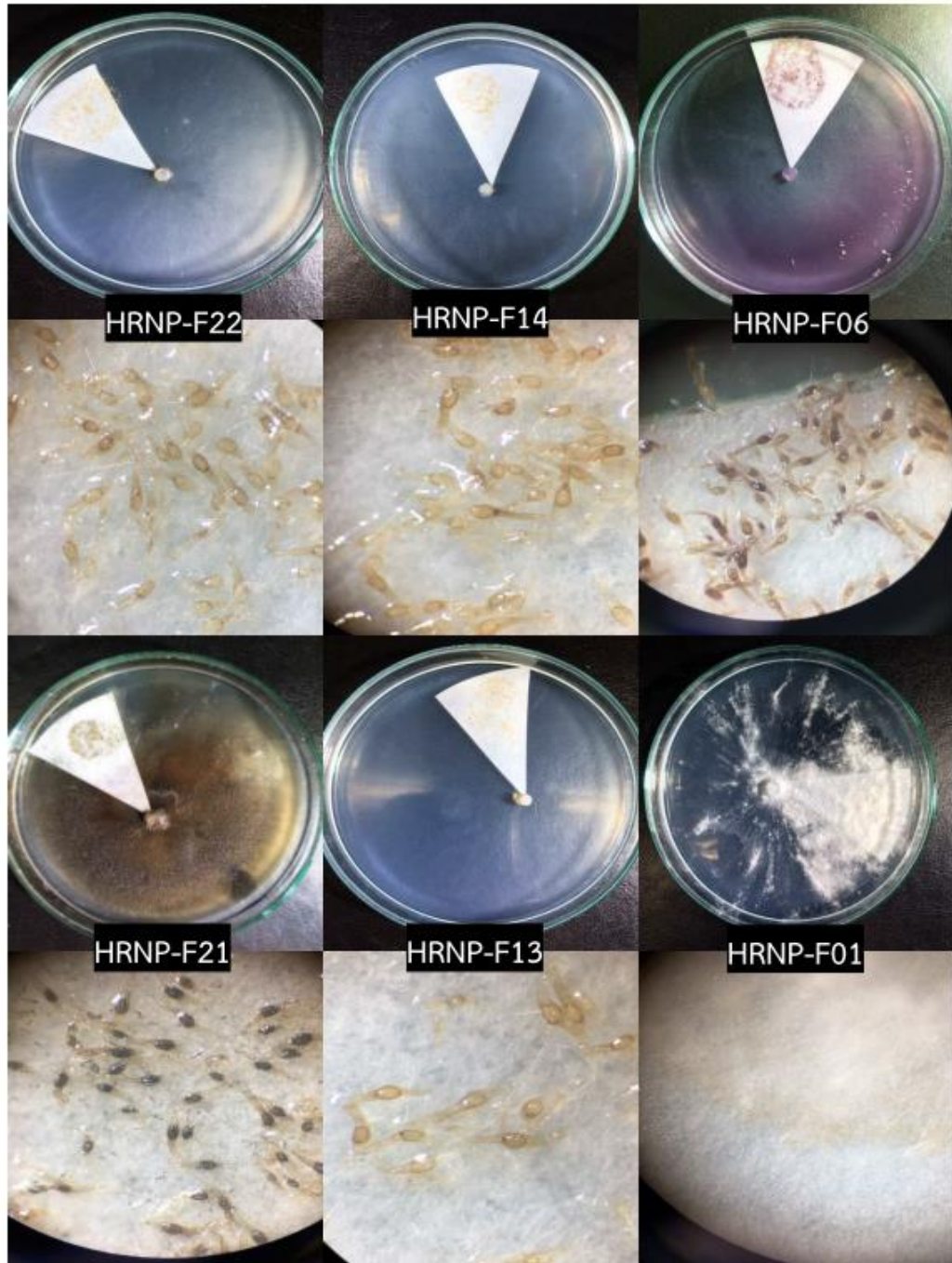
**ตารางที่ 4.11** เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดกล้วยไม้ลำต้นที่เพาะร่วมกับราไมคอร์ไรซาที่แยกได้จากรากกล้วยไม้ลำต้นที่ระยะออกดอกและระยะเจริญเติบโตทางลำต้นที่ระยะเวลา 4 เดือน

ระยะ	รหัส	ราที่มีลำดับเบสใกล้เคียงที่สุด	การงอกของเมล็ด (%)
ออกดอก	HRNP-F22	<i>Rhospalostroma brevistipitatum</i>	92.24±0.67 <sup>a</sup>
	HRNP-F14	<i>Rostrophoxylon terebratum</i>	89.25±1.09 <sup>b</sup>
	HRNP-F06	<i>Fusarium foetens</i>	88.29±1.46 <sup>b</sup>
	HRNP-F21	<i>Aspergillus sydowii</i>	0.00±0.00 <sup>d</sup>
	HRNP-F13	<i>Rostrophoxylon terebratum</i>	85.65±1.52 <sup>c</sup>
	HRNP-F01	<i>Ganoderma meredithae</i>	0.00±0.00 <sup>d</sup>
เจริญเติบโตทางลำต้น	HRNP-V21	<i>Ceriporia torpida</i>	97.35±0.56 <sup>a</sup>
	HRNP-V14	<i>Ceriporia torpida</i>	88.54±0.94 <sup>d</sup>
	HRNP-V02	<i>Cyphellophora oxyspora</i>	93.72±0.47 <sup>b</sup>
	HRNP-V24	<i>Ceriporia torpida</i>	94.81±0.74 <sup>b</sup>
	HRNP-V13	<i>Ceriporia torpida</i>	91.95±0.92 <sup>c</sup>
	HRNP-V32	<i>Ceriporia torpida</i>	93.64±1.49 <sup>b</sup>

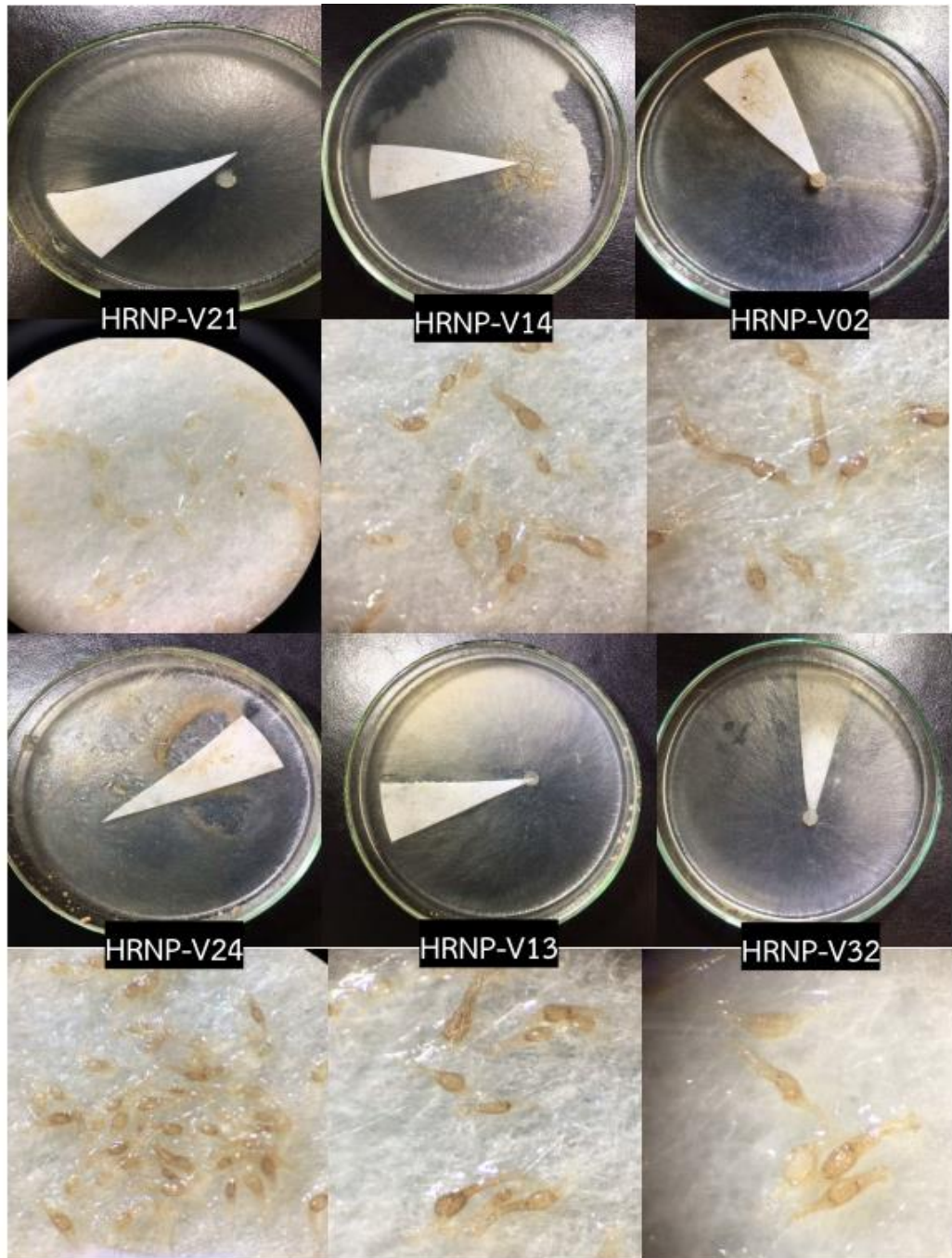
หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีอักษรกำกับเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่า การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อช่วยกระตุ้นการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ และส่งเสริมการพัฒนาของโปรโตคอร์มได้ดีกว่าการเพาะเลี้ยงเมล็ดร่วมกับราไมคอร์ไรซาที่แยกได้จากรากกล้วยไม้ต้นแม่

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี



ภาพที่ 4.9 เมล็ดกล้วยไม้ลีนมังกรเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร OMA ร่วมกับราไมคอร์ไรซา HRNP-F22, HRNP-F14, HRNP-F06, HRNP-F21, HRNP-F13 และ HRNP-F01 ที่แยกจากรากกล้วยไม้ลีนมังกรในระยะออกดอก



ภาพที่ 4.10 เมล็ดกล้วยไม้ลีนมังกรเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร OMA ร่วมกับราไมคอร์ไรซา HRNP-V21, HRNP-V14, HRNP-V02, HRNP-V24, HRNP-V13 และ HRNP-V32 ที่แยกจากรากกล้วยไม้ลีนมังกรในระยะเจริญเติบโตทางลำต้น

### ผลการฟื้นฟูประชากรกล้วยไม้ลั่นม้งรทั้งในและนอกถิ่นกำเนิด

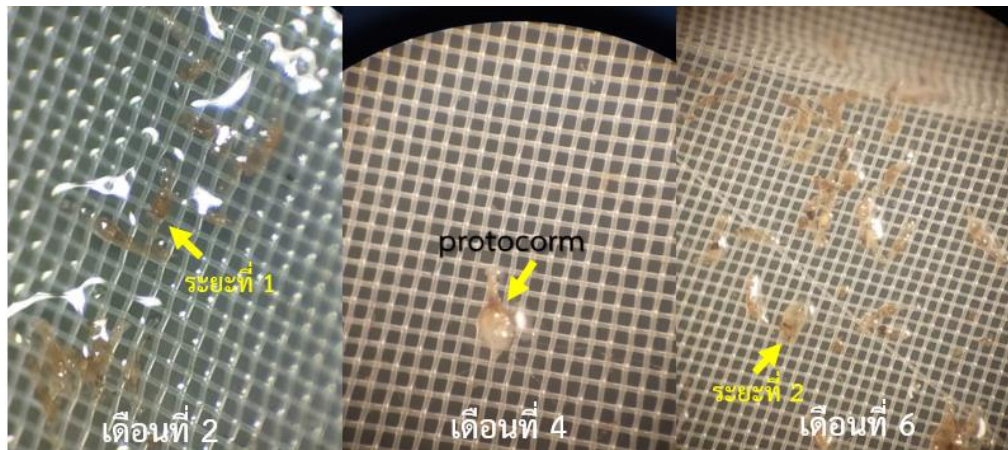
เนื่องจากในช่วงเวลาที่ทำการศึกษาการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ลั่นม้งรในถิ่นกำเนิดด้วยวิธี *in situ seed bating* ในอุทยานแห่งชาติน้ำตกพลิว มีน้ำป่าไหลหลากในช่วงฤดูฝนของทุกปี ตั้งแต่ พ.ศ. 2561 2562 และ 2563 ทำให้จำนวนกรอบตาข่าย nylon mesh บรรจุเมล็ดกล้วยไม้ สูญหายจำนวนมาก จึงเก็บกรอบตาข่าย nylon mesh ในเดือนที่ 2 เดือนที่ 4 และเดือนที่ 6 เดือนละ 10 กรอบเท่านั้น จากการตรวจสอบการงอกของเมล็ดและพัฒนาการของเมล็ดในระยะต่าง ๆ พบว่า เมล็ดกล้วยไม้ลั่นม้งรมีเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดเฉลี่ย 89.72 เปอร์เซ็นต์ โดยเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดสูงสุดในเดือนที่ 6 คิดเป็น 93.63 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดส่วนใหญ่พัฒนาอยู่ในระยะที่ 2 เอ็มบริโอขยายขนาด จนต้นเปลือกหุ้มเมล็ดฉีกขาด และสามารถพัฒนาไปสู่ระยะที่ 3 ได้ตั้งแต่เดือนที่ 4 แต่เมล็ดที่พัฒนาเป็นโปรโตคอร์มในตอนต้นของระยะที่ 3 พบได้น้อยมาก เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (ตารางที่ 4.12 และภาพที่ 4.11) และแยกพิโลตอนจากเมล็ดในระยะที่ 2 ได้ 10 ไอโซเลต บนอาหารสังเคราะห์สูตร PDA ดังภาพที่ 4.12

ตารางที่ 4.12 เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดและระยะพัฒนาการของเมล็ดกล้วยไม้ลั่นม้งรที่เพาะเมล็ดในถิ่นกำเนิดด้วยวิธี *in situ baiting*

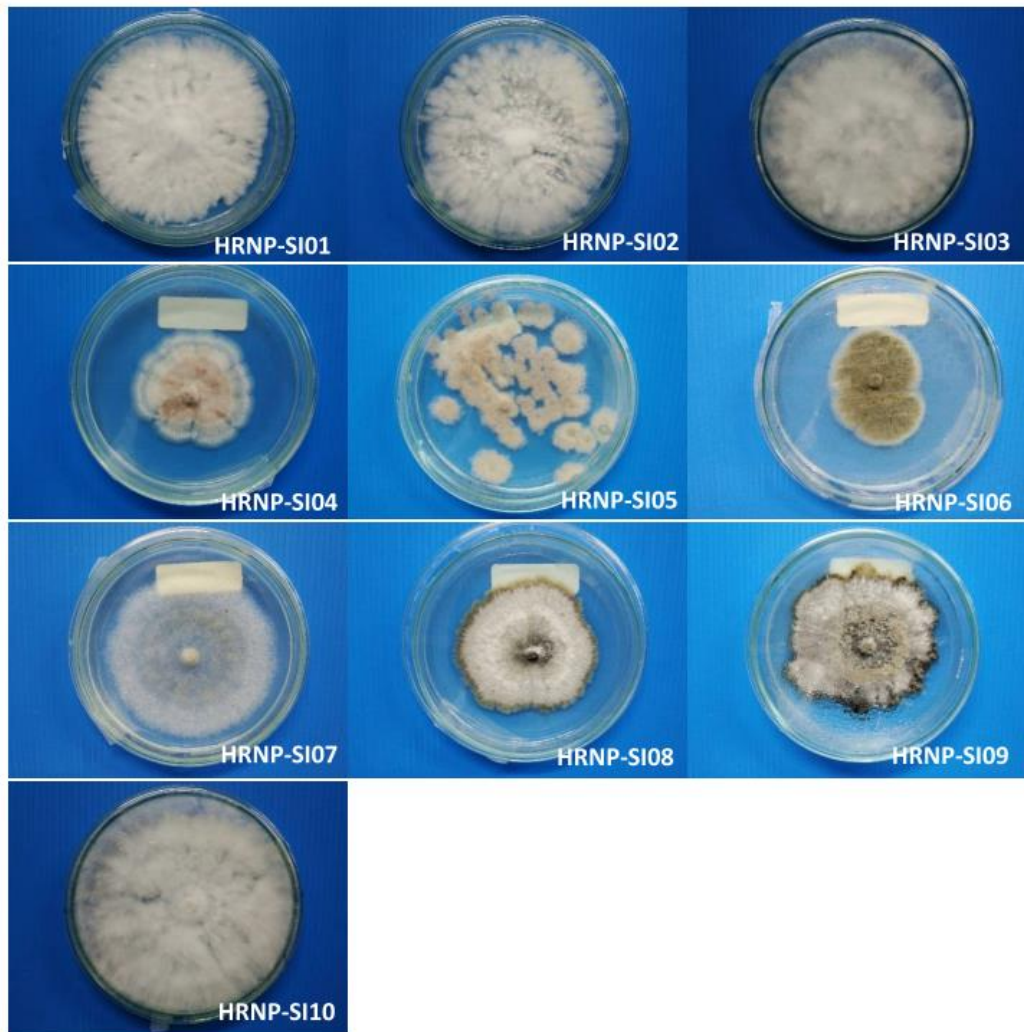
ระยะเวลา (เดือน)	การงอกของเมล็ด (%)	ระยะพัฒนาการของเมล็ด (%)			
		ระยะที่ 0	ระยะที่ 1	ระยะที่ 2	ระยะที่ 3
2	83.30±11.90 <sup>b</sup>	62.96±27.00 <sup>a</sup>	55.18±21.33 <sup>a</sup>	35.19±30.00 <sup>a</sup>	0.20±0.63 <sup>a</sup>
4	92.24±8.58 <sup>a</sup>	25.75±30.64 <sup>b</sup>	25.29±16.69 <sup>b</sup>	38.91±25.27 <sup>a</sup>	8.33±26.35 <sup>a</sup>
6	93.63±6.24 <sup>a</sup>	11.29±12.75 <sup>b</sup>	19.53±14.37 <sup>b</sup>	25.89±23.44 <sup>a</sup>	1.67±5.27 <sup>a</sup>

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีอักษรกำกับเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี



ภาพที่ 4.11 ลักษณะการงอกของเม็สดก้วยไม้ลั่นมังกกรที่ได้จากการเพาะเม็สดในถ้ำกำเนิดด้วยวิธี *in situ* baiting ในเดือนที่ 2 4 และ 6



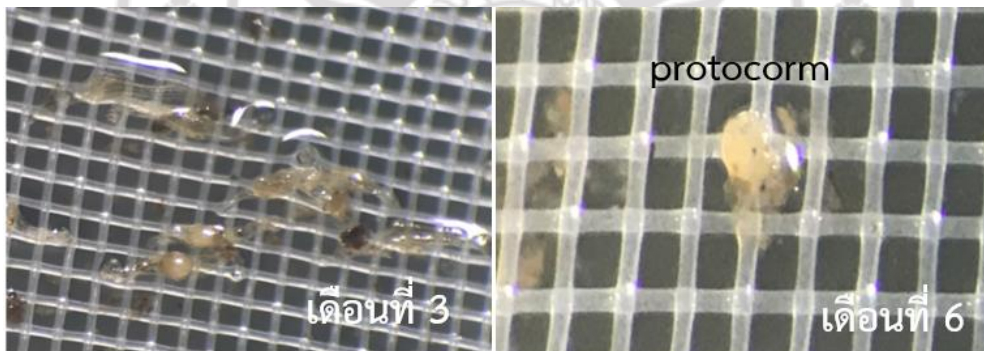
ภาพที่ 4.12 โคลนีราที่แยกได้จากโปรโตคอร์มกล้วยไม้ลั่นม้งการที่เพาะเมล็ดแบบนอกถิ่นกำเนิดด้วย *in situ* baiting บนอาหารสังเคราะห์สูตร PDA เป็นเวลา 7 วัน

เมื่อเก็บกรอบตาข่าย nylon mesh จากการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ลั่นม้งกรนอกถิ่นกำเนิดด้วยวิธี *ex situ* seed baiting ในเดือนที่ 3 และ เดือนที่ 6 พบว่า เมล็ดกล้วยไม้ลั่นม้งกรมีเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดเฉลี่ย 91.58 เปอร์เซ็นต์ โดยเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดสูงสุดในเดือนที่ 6 คิดเป็น 96.58 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดส่วนใหญ่พัฒนาอยู่ในระยะที่ 2 ออสมบริโอขยายขนาด จนต้นเปลือกหุ้มเมล็ดฉีกขาด และสามารถพัฒนาไปสู่ระยะที่ 3 ได้เดือนที่ 6 คิดเป็น 14.76 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.13 และภาพที่ 4.13) และแยกฟิโลตอนจากระยะโปรโตคอร์ม ได้ทั้งหมด 14 ไอโซเลต บนอาหารสังเคราะห์สูตร PDA ที่แตกต่างกัน ดังภาพที่ 4.14

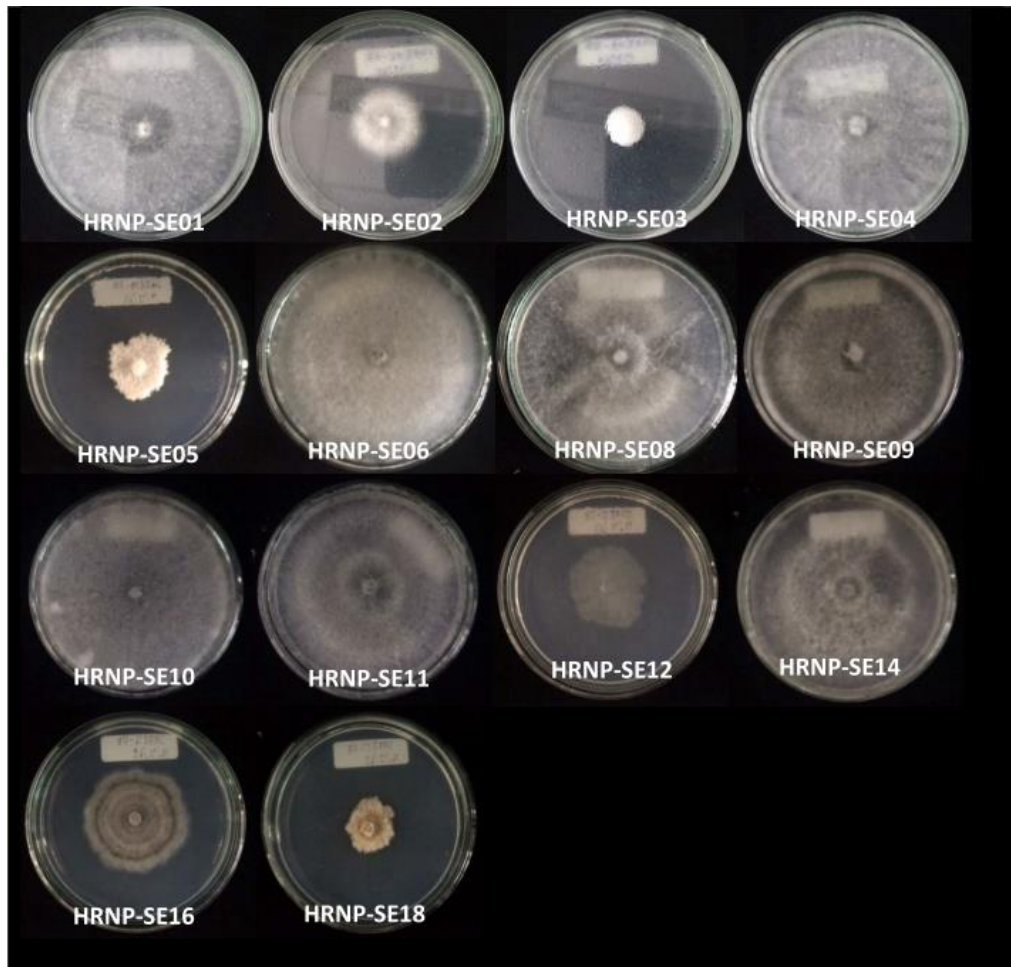
ตารางที่ 4.13 เปอร์เซ็นต์การรอกของเมล็ดและระยะพัฒนาการของเมล็ดกล้วยไม้ลั่นมังกกรที่เพาะ  
เมล็ดนอกถิ่นกำเนิดด้วยวิธี *ex situ* baiting

ระยะเวลา (เดือน)	การรอกของเมล็ด (%)	ระยะพัฒนาการของเมล็ด (%)			
		ระยะที่ 0	ระยะที่ 1	ระยะที่ 2	ระยะที่ 3
3	86.58±11.10	13.42±11.10	31.02±7.88	55.56±18.85	0.00±0.00
6	96.58±1.94	3.42±1.92	10.37±5.47	71.44±3.73	14.76±9.66
F	ns	ns	*	ns	ns

หมายเหตุ : ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 4.13 ลักษณะการรอกของเมล็ดกล้วยไม้ลั่นมังกกรที่ได้จากการเพาะเมล็ดในถิ่นกำเนิดด้วยวิธี  
*ex situ* baiting ในเดือนที่ 3 และ 6



ภาพที่ 4.14 โคลนราที่แยกได้จากโปรโตคอร์มกล้วยไม้ลีนมังกรที่เพาะเมล็ดแบบนอกถิ่นกำเนิดวิธี *ex situ* baiting บนอาหารสังเคราะห์สูตร PDA เป็นเวลา 7 วัน

เนื่องจากเมล็ดกล้วยไม้ลีนมังกรที่เก็บเกี่ยวในปี 2562 ไม่เพียงพอ จึงไม่สามารถนำมาเพาะเมล็ดร่วมกับราที่แยกจากโปรโตคอร์มทั้ง 14 ไอโซเลต ได้

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี