ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ผลของเชื้อราเอนโดไมคอร์ไรซาต่อการเจริญเอื้องแซะและลูกผสม

ชื่อผู้เขียน นางสาวสุกัญญา แสงทอง

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

รศ. ดร. ประสาทพร สมิตะมาน ประธานกรรมการ
ผศ. ดร. อำพรรณ พรมศิริ กรรมการ
อ. เกวลิน คุณาศักดากุล กรรมการ

บทคัดย่อ

กล้วยไม้สกุลหวายชนิดเอื้องแซะ เป็นกล้วยไม้พื้นเมืองที่พบในแถบประเทศไทย และพม่า ปัจจุบันพบจำนวนน้อยลงมากจนถือว่าเป็นไม้หายากและต้องห้ามในการเก็บจากป่า ดังนั้นเพื่อเป็นการทดแทนจึงมีโครงการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการเพื่อปล่อยคืนสู่ป่า แต่พบปัญหาในด้านการมีชีวิตรอดที่ค่อนข้างต่ำจึงต้องการใช้เชื้อราเอนโดไมคอร์ไรซามาทดสอบผลการเจริญ โดยรวบรวมเชื้อไมคอร์ไรซาจากรากกล้วยไม้ในเขต 4 จังหวัดภาคเหนือ คือ จังหวัดเชียงใหม่ จากอำเภอพร้าว อำเภอแม่แตง อำเภอสารภี อำเภอเชียงดาว อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดลำปาง จาก อำเภอห้างฉัตร จังหวัดเชียงราย จาก อำเภอแม่สาย จังหวัดแม่ฮ่องสอน จาก อำเภอแม่สะเรียง มาแยกเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ได้เชื้อราทั้งหมดจำนวน 678 ไอโซเลท แบ่งเป็น 20 กลุ่ม คือ *Xylaria, Fusarium, Nodulosporium, Phomopsis, Pleiocheata, Rhizoctonia, Aureobasidium, Gelasinospora, Nigrospora, Colletotrichum, Geotrichum,* Ascomycetes 1, Ascomycetes 2, Mycelia sterilia 1, Mycelia sterilia 2, Mycelia sterilia 3, Mycelia sterilia 4, Mycelia sterilia 5, Mycelia sterilia 6 และ Mycelia sterilia 7 สุ่มเชื้อราในแต่ละกลุ่มจำนวนทั้งสิ้น 60 ไอโซเลท มาทดลองเลี้ยงร่วมกับต้นกล้วยไม้เอื้องแซะ พบว่าเชื้อรา *Xylaria* ไอโซเลท 1MT6/1 และ 1MT3/3 มีผลต่อการเพิ่มจำนวนของลำลูกกล้วยและจำนวนใบ ตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เชื้อรา *Rhizoctonia* ไอโซเลท DO5/1 และ 3MT3/2 และเชื้อ *Xylaria* ไอโซเลท YA4 และ 2MA26/2 มีผลต่อการรอดชีวิต การเพิ่มจำนวนราก และความสูงอย่างมีนัย

สำคัญทางสถิติ และเชื้อทั้ง 4 ไอโซเลทมีผลต่อการเจริญของเอื้องแซะลูกผสม CEP, CWR01 และ CYBB แตกต่างกัน โดยเชื้อ *Rhizoctonia* และ *Xylaria* อื่น ๆ ไม่ให้ผลอย่างใดต่อต้นกล้ากล้วยไม้ที่ทดสอบ สำหรับเชื้อ *Fusarium* spp. พบว่าเชื้อที่มีเส้นใยสีเข้ม (แดง ชมพูและม่วง) จะให้ผลต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตได้ดีกว่ากลุ่มที่มีสีอ่อน (เหลืองและขาว) นอกจากนี้พบว่าเชื้อ *Rhizoctonia* และ *Xylaria* ไอโซเลทอื่น ไม่มีผลต่อการเจริญของกล้วยไม้

การเปรียบเทียบลายพิมพ์ DNA ของเชื้อ *Rhizoctonia* ไอโซเลท DO5/1 และ 3MT3/2 เปรียบเทียบกับไอโซเลทที่ไม่มีผลต่อการเจริญ คือ ไอโซเลท 2MT12/2 และ YA1 เชื้อ *Xylaria* ไอโซเลท 2MA26/2 และ YA4 เปรียบเทียบกับไอโซเลทที่ไม่มีผลต่อการเจริญ คือ ไอโซเลท 2MA31/3 และ MA5/2 เชื้อ *Fusarium* ไอโซเลท 3NC7 เปรียบเทียบกับ 2CD14/2 โดยการเตรียม DNA ตามวิธีของ Lee and Taylor (1990) แล้วนำมาทำ RAPD ด้วย primer ขนาด 10 เบส พบว่า สำหรับเชื้อ *Rhizoctonia* primer ที่ให้ปฏิกิริยาได้ดีจำนวน 8 primers คือ A01 A09 A11 B10 B12 B18 C16 และ D12 โดยให้แถบ DNA ทั้งหมด 16, 24, 14, 20, 23, 20, 18 และ21 ตามลำดับ ส่วน primer ที่ให้ปฏิกริยาได้ดีกับเชื้อ *Xylaria* คือ A09, A17 และD13 ที่ให้แถบทั้งหมด 8, 13 และ22 แถบ ตามลำดับ และ primer ที่ให้ปฏิกริยาดีกับเชื้อ *Fusarium* คือ A05, A13, A18, B04 และ B11 ซึ่งแสดงแถบทั้งหมด 23, 18, 13, 12 และ 18 ตามลำดับ ซึ่งสามารถแสดงความแตกต่างของเชื้อได้ชัดเจน ผลการศึกษาความแตกต่างของเชื้อซึ่งได้จากการเปรียบเทียบลายพิมพ์ DNA โดยใช้เทคนิค RAPD ให้ผลสอดคล้องกับความแตกต่างทางลักษณะสัณฐานของเชื้อ

Thesis Title Effect of Endomycorrhizal Fungus on Growth of *Dendrobium scabrilingue* Lindl. and its Hybrids

Author Miss Sukanya Sangthong

M.S Biotechnology

Examining Committee

Assoc. Prof. Dr. Prasartporn Smitamana	Chairman
Assist. Prof. Dr. Ampan Bhromsiri	Member
Lect. Kaewalin Kunasakdakul	Member

Abstract

Dendrobium scabrilingue Lindl. is a native orchid of Thailand and Myanmar, which is now considered as the rare one and does not allow to collect from the habitats. In order to increase the population, the micro-propagation is used, however the low survival rate of the plantlet is found. Use of endomycorrhiza to increase the survival and growth rates was purposed in this study. Orchid roots were collected from eight locations from the five upper north provinces of Thailand; Chiang Mai (from Phrao, Mae Tang, Sarapee, Chiang Dao and Doi Saket districts), Lam Pang (from Hang Chatt district), Chiang Rai (from Mae Sai district) and Mae Hong Son (from Mae Sa-riang district). Fungi from the orchids' roots were isolated using Potato Dextrose Agar (PDA). Total numbers of 678 isolates had been obtained which could be divided into 20 groups; *Xylaria, Fusarium, Xylaria, Nodulosporium, Phomopsis, Pleiocheata, Rhizoctonia, Aureobasidium, Gelasinospora, Nigrospora, Colletotrichum, Geotrichum,* Ascomycetes 1, Ascomycetes 2, Mycelia sterilia1, Mycelia sterilia 2, Mycelia sterilia 3, Mycelia sterilia 4, Mycelia sterilia 5, Mycelia sterilia 6 and Mycelia sterilia 7. Sixty isolates from the obtainable fungi were sampling and inoculated to *Den. scabrilingue* plantlets. Plantlets inoculated with *Xylaria* isolates 1MT6/1 and 1MT3/3 showed the significant increase of psuedobulb and leaf

number respectively, while the *Rhizoctonia* isolates DO5/1 and 3MT3/2 and the *Xylaria* isolates YA4 and 2MA26/2 inoculated plantlets gave significantly increase of survival rate, root number and height. These four isolates had different effects on the *Den. scabrilingue* hybrids (CEP, CWR01 and CYBB). The other *Rhizoctonia* and *Xylaria* showed no effect on the tested plantlets. Moreover, the dark color *Fusarium* isolates (red, pink, and purple) also showed a higher survival percentage than light color ones (yellow and white).

The DNA fingerprint of the effective and the non effective isolates as following; *Rhizoctonia* (DO5/1, 3MT3/2 with YA1, 2MT12/2), *Xylaria* (2MA26/2, YA4 with 2MA31/3, MA5/2), *Fusarium* (3NC7 with 2CD14/2) were compared by using the DNA isolation method described by Lee and Taylor (1990) and the random amplified polymorphism DNA (RAPD) technique using 10- random nucleotides primers, eight primers A01, A09, A11, B10, B12, B18, C16 and D12 could produced 16, 24, 14, 20, 23, 20, 18 and 21 RAPD bands respectively in *Rhizoctonia*. Three primers (A09, A17 and D13) were suitable for the *Xylaria* isolates identification which produced 8, 13 and 22 RAPD bands respectively. For the distinction of the *Fusarium* isolates 5 primers; A05, A13, A18, B04 and B11, were selected which could produce 23, 18, 13, 12 and 18 RAPD bands respectively. The result of fungal isolate differentiation by RAPD analysis was corresponded to those by morphological characterization.