

การศึกษาราไมคอร์ไรซาเพื่อการอนุรักษ์กล้วยไม้

สาวตรี สระศรีรัตน์ และ อัญชิกา สวัสดิ์วินิช
องค์การสวนพฤกษศาสตร์ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

บทคัดย่อ

กล้วยไม้จะเจริญเติบโตอยู่รอดในสภาพธรรมชาติได้จะต้องพึ่งพาอาศัยราไมคอร์ไรซา โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการงอกและการพัฒนาของต้นอ่อน กล้วยไม้ที่โตแล้วส่วนใหญ่สามารถสร้างอาหารได้เองจากการสังเคราะห์ด้วยแสง ในขณะที่กล้วยไม้บางชนิดเป็นกลุ่มที่ไม่มีคลอโรฟิลล์ซึ่งจะต้องอาศัยอาหารจากราไมคอร์ไรซาไปตลอดชีวิต(myco-heterotrophic, holomycotrophic) ดังนั้นการศึกษาไมคอร์ไรซาในกล้วยไม้แต่ละชนิดจึงเป็นหนึ่งในปัจจัยสำคัญในการอนุรักษ์กล้วยไม้ ซึ่งประกอบไปด้วยการศึกษาความหลากหลายของไมคอร์ไรซาในกล้วยไม้ การแยกและเพาะเลี้ยงเชื้อรา การทดสอบเพาะเมล็ดกล้วยไม้ร่วมกับราไมคอร์ไรซา ตลอดจนการนำกล้วยไม้ที่เพาะร่วมกับราไมคอร์ไรซาที่เหมาะสมคืนสู่ป่าหรือพื้นที่ธรรมชาติ รวมถึงมีการศึกษาบทบาททางด้านนิเวศวิทยาและสรีรวิทยาของราไมคอร์ไรซาและกล้วยไม้ อันจะนำไปสู่การจัดการอนุรักษ์กล้วยไม้ที่เหมาะสมต่อไป

บทนำ

กล้วยไม้เป็นพืชที่มีความหลากหลายและมีการกระจายพันธุ์อย่างกว้างขวาง ด้วยความงามและความหลากหลายทำให้กล้วยไม้เป็นที่นิยม จึงมีการนำกล้วยไม้ป่ามาขายหรือมาเป็นต้นพันธุ์ในการผลิตเพื่อจำหน่ายเป็นปริมาณมากจนอาจเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ของกล้วยไม้ป่า ดังนั้นกล้วยไม้ป่าทุกชนิดจึงถูกจัดอยู่ในบัญชีแนบท้ายอนุสัญญาระหว่างประเทศว่าด้วยการค้าซึ่งชนิดพันธุ์พืชและสัตว์ป่าที่เสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ (CITES Appendix I or Appendix II) (<http://www.cites.org>) อย่างไรก็ตามการลดลงหรือการถูกเปลี่ยนแปลงแหล่งที่อยู่อาศัยของกล้วยไม้ยังเป็นสาเหตุสำคัญที่คุกคามการอยู่รอดของประชากรกล้วยไม้ป่า ดังนั้นจึงควรมีการอนุรักษ์นอกถิ่นที่อยู่อาศัยและขยายพันธุ์เพื่อเป็นแหล่งพันธุกรรมสำรอง สำหรับนำกล้วยไม้เหล่านี้กลับคืนสู่แหล่งธรรมชาติต่อไป (Dixon *et al.*, 2003)

ในธรรมชาติกล้วยไม้จะต้องอาศัยราไมคอร์ไรซาในการงอกและเจริญเติบโต โดยที่ราเหล่านั้นจะเป็นชนิดใด อยู่กับกล้วยไม้อย่างไร ในระยะเวลาานานเท่าใด ขึ้นอยู่กับชนิดและถิ่นที่อยู่อาศัยของกล้วยไม้กว่าหนึ่งร้อยปีก่อนที่ค้นพบความสัมพันธ์ระหว่างราไมคอร์ไรซากับกล้วยไม้ และการศึกษาในสาขาในกล้วยไม้ที่มีอยู่อย่างจำกัด การจะคำนึงถึงการอนุรักษ์กล้วยไม้นั้นคงเป็นไปได้ลำบาก ถึงแม้ว่าในปัจจุบันการพัฒนาเทคนิคและวิธีการเพาะขยายพันธุ์กล้วยไม้จากเมล็ดบนอาหารสังเคราะห์โดยไม่จำเป็นต้องใช้ราไมคอร์ไรซาจะประสบความสำเร็จเป็นอย่างดีในกล้วยไม้หลายชนิด ซึ่งน่าจะเป็นผลดีต่อการอนุรักษ์กล้วยไม้เหล่านั้น และเป็นหลักประกันได้ว่ากล้วยไม้เหล่านั้นจะไม่สูญพันธุ์ตราบเท่าที่การอนุรักษ์นอกถิ่นที่อยู่อาศัยยังคงอยู่ อย่างไรก็ตามหากราไมคอร์ไรซาของกล้วยไม้เหล่านั้นสูญหายไปจากธรรมชาตินั้นอาจ

หมายถึงการสูญพันธุ์ไปจากธรรมชาติของกล้วยไม้เหล่านั้นได้เช่นกัน เพราะถึงแม้ว่าจะมีกล้วยไม้ที่อนุรักษ์นอกถิ่นที่อยู่อาศัยไว้เป็นเชื้อพันธุ์สำรอง แต่กล้วยไม้ที่ปราศจากไมคอร์ไรซาเหล่านั้นจะสามารถนำคืนสู่ธรรมชาติและดำรงเผ่าพันธุ์ต่อไปได้อย่างไรเมื่อไม่มีราที่จะช่วยทำให้เมล็ดงอกและเจริญเติบโตต่อไปได้ ดังนั้นในการอนุรักษ์กล้วยไม้ นอกจากจะต้องอนุรักษ์ในส่วนของพืชแล้ว ยังควรที่จะอนุรักษ์ในส่วนของรากควบคู่กันไปด้วย

บทความนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อนำเสนอข้อมูลการศึกษารามิคอร์ไรซาเพื่อการอนุรักษ์กล้วยไม้โดยการรวบรวมเอกสารและกรณีศึกษาในต่างประเทศที่มีการใช้รามิคอร์ไรซาเพื่อการอนุรักษ์กล้วยไม้ รวมถึงการศึกษาเกี่ยวกับรามิคอร์ไรซาในกล้วยไม้ของประเทศไทย และการดำเนินงานของสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ในเรื่องดังกล่าว

รามิคอร์ไรซาในกล้วยไม้หรือออร์คิดไมคอร์ไรซา

ไมคอร์ไรซา (Mycorrhizas) เดิมหมายถึงราที่มีความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยอยู่ในรากพืช แต่เมื่อมีการศึกษามากขึ้นก็พบว่านอกจากในรากแล้วยังพบราดังกล่าวในส่วนอื่นด้วย โดยพบทั้งในพืชชั้นต่ำที่ไม่มีรากที่แท้จริงและพืชชั้นสูงที่มีรากและพบราในส่วนอื่น เช่น ต้น หรือเหง้าด้วย ดังนั้นไมคอร์ไรซาจึงหมายถึงความสัมพันธ์ระหว่างราและพืชซึ่งเกี่ยวข้องในกระบวนการดูดซึมธาตุอาหาร (Brundrett, 2002; Smith & Read, 2008) ความสัมพันธ์ของพืชและรามิคอร์ไรซามีความสำคัญอย่างยิ่งในทางนิเวศวิทยา โดยมีไมคอร์ไรซาหลายประเภทในพืชหลายชนิดหลายกลุ่มและแตกต่างกันในหลายระบบนิเวศน์ การจัดจำแนกและความสัมพันธ์แบบไมคอร์ไรซาสามารถอ่านเพิ่มเติมได้ใน Brundrett, 2004; Smith & Read, 2008 และ Imhof, 2009 รามิคอร์ไรซาในกล้วยไม้หรือออร์คิดไมคอร์ไรซามีความแตกต่างจากไมคอร์ไรซาอื่นๆคือสามารถพบได้ทั้งในราก หัว (tuber) ลำต้น ลำต้นใต้ดิน (rhizome) และในโปรโตคอร์ม (protocorm) ลักษณะของรามิคอร์ไรซาในกล้วยไม้จะเป็นกลุ่มเส้นใยขดอยู่ภายในเซลล์ ในชั้น cortex เรียกว่า peloton สามารถสังเคราะห์ผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ โดยจะพบลักษณะเป็นเม็ดกลมหรือรีสีเหลืองหรือส้มอ่อน (Rasmussen, 1995; Batty *et al.*, 2002; Dixon *et al.*, 2003; Smith & Read, 2008) ด้วยลักษณะที่แตกต่างดังกล่าวทำให้รามิคอร์ไรซาในกล้วยไม้ถูกจัดแยกจากไมคอร์ไรซาชนิดอื่นๆเป็นกลุ่มเฉพาะคือกลุ่มออร์คิดไมคอร์ไรซา (orchid mycorrhiza) (Rasmussen, 1995; Brundrett, 2004; Smith & Read, 2008; Imhof, 2009) รามิคอร์ไรซาในกล้วยไม้ส่วนใหญ่เป็น Basidiomycetes (Rasmussen, 2002; Deamaley, 2007) และมีน้อยมากที่เป็น Ascomycetes (Zettler *et al.*, 2003) กลุ่มที่พบมากเป็นราในสกุลจัดตั้ง *Rhizoctonia* หรือ *Rhizoctonia-like* ซึ่งมักพบเฉพาะระยะสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (anamorph) ลักษณะทางสัณฐานของราในกลุ่มนี้คือมีการแตกแขนงเส้นใยเป็นมุมฉากใกล้ผนังกัน (septum) และมีรอยคอดบริเวณที่เส้นใยแตกแขนง นอกจากนี้ยังมักพบเซลล์ที่มีลักษณะสั้นค่อนข้างกลมต่อกันคล้ายลูกบิดเรียกว่า moniloid cells ซึ่งเป็นลักษณะสำคัญในการจัดจำแนกควบคู่ไปกับการศึกษาจำนวนนิวเคลียส การเจริญและรวมตัวกันของเส้นใย (hyphal anastomosis) และลักษณะโคโลนี (colony) (Sneh *et al.*, 1991) ในการศึกษาารากลุ่ม

Rhizoctonia-like ของ Moore (1987) ได้รายงานสกุลในระยะสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (anamorphs) แทนสกุล *Rhizoctonia* คือ *Ceratohiza*, *Epulorhiza* (มีสองนิวเคลียส) และ *Moniliopsis* (มีหลายนิวเคลียส) โดยมีสกุลในระยะสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (teleomorphs) เป็น *Ceratobasidium*, *Tulasnella/Sebacina* และ *Thanatephorus/ Waitea* ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม สกุล *Rhizoctonia* นี้มีการใช้มานานและมีการศึกษา *Rhizoctonia solani* อย่างกว้างขวาง เนื่องจากราชนิดนี้เป็นสาเหตุของโรคพืชที่สำคัญ และยังมีรายงานว่า เป็นไมคอร์ไรซาในกล้วยไม้ จึงยังพบว่ามีการใช้ชื่อสกุล *Moniliopsis* เป็นสกุล *Rhizoctonia* ในหลายๆ เอกสาร (Sneh *et al.*, 1991) นอกจากนี้ Rhizoctonia-like แล้วยังพบรา basidiomycetes ที่เป็นผู้ย่อยสลาย เป็นกาฝาก หรือเป็น ectomycorrhiza อื่นๆ เช่น *Armillaria*, *Lentinula*, *Mycena*, *Serendipita* และ *Trametes* (Batt *et al.*, 2002; Rasmussen, 2002; Zettler *et al.*, 2003) ในปัจจุบันได้อาศัยเทคนิคทางชีวโมเลกุลและการสร้างแผนภูมิต้นไม้วิวัฒนาการ (phylogenetic tree) ช่วยในการจัดจำแนกและศึกษาความสัมพันธ์ทำให้มีข้อมูลที่สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ความสัมพันธ์ของราไมคอร์ไรซาและกล้วยไม้

กล้วยไม้เป็นพืชที่มีเมล็ดขนาดเล็กเป็นผงคล้ายฝุ่น ภายในไม่มีอาหารสะสมและใบเลี้ยงไม่เจริญ แต่มีเมล็ดจำนวนมากจากเป็นหมื่นถึงล้านเมล็ดต่อฝัก (Rasmussen 1995; Arditti & Ghani, 2000; Zettler *et al.*, 2003) การมีเมล็ดขนาดเล็กจำนวนมากทำให้สามารถกระจายพันธุ์ได้โดยลมและกระจายไปได้มาก แต่จะประสบความสำเร็จสามารถงอกเป็นกล้วยไม้ต้นใหม่ได้หรือไม่ขึ้นอยู่กับปัจจัยทางกายภาพและชีวภาพที่เหมาะสม โดยเฉพาะจะต้องมีราไมคอร์ไรซาที่สามารถทำให้เมล็ดกล้วยไม้ชนิดนั้นๆ งอกและเจริญเติบโตต่อไปได้ ราพวกนี้จะมีเส้นใยเจริญเข้าไปในเมล็ดและให้สารอาหารที่จำเป็นสำหรับการทำงานของกล้วยไม้ เช่น คาร์โบไฮเดรต กรดอะมิโน (amino acid) แร่ธาตุ (mineral nutrient) และบางทีอาจจะรวมถึงวิตามินด้วย (Rasmussen 2002; Gebauer & Meyer, 2003; Cameron *et al.* 2006; Dearnaley, 2007)

เป็นที่ทราบกันโดยทั่วไปว่าความสัมพันธ์ของไมคอร์ไรซาเป็นความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยที่ได้ประโยชน์ทั้งสองฝ่าย (mutualism) โดยส่วนใหญ่พืชและราจะมีการถ่ายทอดอาหารให้กัน พืชได้รับน้ำและแร่ธาตุจากราส่วนราได้รับอาหารจากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงจากพืชเช่น แป้งและน้ำตาล (Smith & Read, 2008) แต่สำหรับในกล้วยไม้ยังคงเป็นคำถามอยู่ว่าราได้รับอะไรจากพืชบ้าง จากหลักฐานที่ผ่านมาส่วนใหญ่จะมีการลำเลียงน้ำและอาหารจากฝักราไปยังกล้วยไม้ เนื่องจากกล้วยไม้จะย่อย pelotons ซึ่งเป็นราที่อยู่ในเซลล์กล้วยไม้ (Zettler *et al.*, 2003) ในกล้วยไม้ที่ไม่มีคลอโรฟิลล์ (achlorophyllous) กล้วยไม้จะต้องอาศัยอาหารจากราไมคอร์ไรซาไปตลอดชีวิตหรือที่เรียกว่า myco-heterotrophic (Batty *et al.*, 2002; Leake, 2004; Dearnaley, 2007; Smith & Read, 2008) หรือ holomycotrophic (Zettler, 2003) เพราะกล้วยไม้ที่ไม่สามารถสร้างอาหารเองได้ก็พึ่งพาการรับอาหารจากการสังเคราะห์ด้วยแสงแก่ราไม่ได้ อย่างไรก็ตาม Xu & Guo (2000) รายงานว่า หัว (tuber) ที่แก่หรือตายแล้วของ *Gastrodia elata* อาจเป็นแหล่งอาหารของรา *Armillaria mellea* ซึ่งเป็นไมคอร์ไรซาของกล้วยไม้ชนิดนี้ได้ นอกจากนี้กล้วยไม้ที่ไม่มีคลอโรฟิลล์จะได้รับอาหารจากรา

ไมคอร์ไรซาของกล้วยไม้ที่มันเองแล้วยังพบว่ามีการรับสารอาหารจากต้นไม้หรือพืชในบริเวณใกล้เคียงผ่านทาง arbuscular mycorrhizal (AM) หรือ ectomycorrhiza (ECM) ของพืชในบริเวณนั้น เรียกความสัมพันธ์แบบนี้ว่า epiparasitic (Batty *et al.*, 2002; Zettler *et al.*, 2003; Leake, 2004; Dearnaley, 2007; Smith & Read, 2008).

สำหรับในกล้วยไม้ที่มีคลอโรฟิลล์หรือสร้างอาหารเองได้ จากการศึกษาของ Hadley & Purves (1974) และ Alexander & Hadley (1985) ได้รายงานไว้ว่า เมื่อทดสอบราไมคอร์ไรซาในกล้วยไม้ *Goodgera repens* (L.)R.Br. ด้วย $^{14}\text{CO}_2$ พบว่าไม่สามารถตรวจวัดการส่งผ่าน คาร์บอนจากกล้วยไม้ไปยังราเลย ต่อมา Cameron *et al.* (2006) ได้ทดลองในลักษณะเดียวกันนี้อีกและสามารถตรวจวัดได้ว่า $^{14}\text{CO}_2$ ใน *G. repens* มีการส่งผ่านต่อไปยังราไมคอร์ไรซาของกล้วยไม้ที่มัน และยังพบอีกว่าในส่วนของเราที่มีการให้คาร์บอนกลับไปยังกล้วยไม้ที่โตและสามารถสังเคราะห์ด้วยแสงได้แล้ว (adult photosynthesis plants) ความแตกต่างของผลการทดลองดังกล่าวอาจเนื่องมาจากการทดลองครั้งหลังมีการจัดปัจจัยแวดล้อมเช่น อุณหภูมิ ความชื้น และแสงที่เหมาะสมกว่า ทำให้มีกิจกรรมทางสรีรวิทยาที่สูงกว่าในครั้งแรกจึงทำให้สามารถตรวจวัดผลได้ การศึกษาของ Cameron *et al.* (2006) นี้เป็นครั้งแรกที่พบว่ามีการส่งผ่านคาร์บอนจากกล้วยไม้ไปยังราไมคอร์ไรซา ซึ่งจะเป็แนวทางหรือหลักฐานที่สำคัญในการศึกษาความสัมพันธ์ของราไมคอร์ไรซาในกล้วยไม้ต่อไป (Dearnaley, 2007)

นิเวศวิทยาและความเฉพาะเจาะจง

กล้วยไม้เป็นพืชวงศ์ใหญ่มีจำนวนชนิดประมาณ 20,000 ถึง 35,000 ชนิด (Cribb *et al.*, 2003) มีการกระจายพันธุ์มากอยู่ในเขตร้อนซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นกล้วยไม้อิงอาศัย แต่การศึกษารามิคอร์ไรซาในกล้วยไม้มีมากในกล้วยไม้ดินเขตอบอุ่น ทั้งนี้อาจมีสาเหตุมาจากกล้วยไม้อิงอาศัยส่วนใหญ่สามารถเพาะเมล็ดบนอาหารสังเคราะห์โดยไม่มีไมคอร์ไรซาได้ดี หรืออาจจะเป็นเพราะว่านักวิจัยที่สนใจเกี่ยวกับไมคอร์ไรซาในกล้วยไม้ส่วนใหญ่อยู่ในประเทศเขตอบอุ่น ซึ่งผลจากการศึกษาพบว่าราไมคอร์ไรซาที่พบในกล้วยไม้ดินที่มีคลอโรฟิลล์ (chlorophyllous) สามารถพบได้ในพืชอื่นๆ ในถิ่นที่อยู่อาศัยเดียวกันกับกล้วยไม้ที่มัน จึงอาจสรุปได้ว่าในกล้วยไม้ดินที่มีคลอโรฟิลล์ อาจมีความจำเพาะหรืออาจจะไม่มีความจำเพาะระหว่างชนิดหรือสกุลของกล้วยไม้และชนิดหรือกลุ่มของราไมคอร์ไรซา (Rasmussen, 2002; Zettler *et al.*, 2003) ในทางตรงกันข้ามสำหรับกล้วยไม้ที่ไม่มีคลอโรฟิลล์ (achlorophyllous) มีแนวโน้มที่จะมีความจำเพาะระหว่างชนิดของราไมคอร์ไรซาและกล้วยไม้ (Taylor and Bruns 1999; Zettler *et al.*, 2003)

ในช่วงชีวิตของกล้วยไม้แต่ละชนิดอาจจะมีพบชนิดของไมคอร์ไรซาหลายชนิดในระยะการเจริญเติบโตช่วงต่างๆ เช่น ใน *Gastrodia elata* ซึ่งเป็นสมุนไพรมีการปลูกเพื่อการค้า จึงมีการศึกษาเกี่ยวกับราไมคอร์ไรซาเป็นอย่างดีและพบว่าในระยะที่เมล็ดกล้วยไม้ชนิดนี้จะต้องอาศัยรา *Mycena osmundicola* ในระยะต่อมาจะมีรา *Armillaria mellea* เข้ามาแทน ซึ่งรา *A. mellea* นี้มีการนำไปใช้ในการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการแยกหัวของ *G. elata* แต่รา *A. mellea* จะยับยั้งการงอกของเมล็ด (Xu &

Mu, 1990; Zettler *et al.*, 2003) และการศึกษาของ Sharma *et al.* (2003) พบว่าราที่แยกได้จาก protocorm ของกล้วยไม้ *Platanthera praeclara* สามารถทำให้เมล็ดงอกและเจริญต่อไปได้ ส่วนราที่แยกได้จากกล้วยไม้ที่เจริญเต็มที่แล้วสามารถทำให้เมล็ดงอกในระยะแรกแต่ไม่สามารถเจริญต่อไปจนสร้างใบได้ ข้อมูลในด้านการเปลี่ยนแปลงแทนที่ของราไมคอร์ไรซาและนิเวศวิทยาอื่นๆ ยังต้องมีการศึกษาอีกมาก โดยเฉพาะในบริเวณที่ยังไม่ค่อยมีการศึกษาเช่นในกล้วยไม้อิงอาศัยเขตร้อน เพื่อจะได้เห็นภาพเกี่ยวกับนิเวศวิทยาและความเฉพาะเจาะจงของราไมคอร์ไรซาในกล้วยไม้ได้ชัดเจนยิ่งขึ้น

เทคนิคและการจัดการ

การศึกษารามิคอร์ไรซาส่วนใหญ่เริ่มจากการแยกราจากกล้วยไม้ ในทางทฤษฎีควรจะแยก peloton จาก protocorm หรือกล้วยไม้ที่เพิ่งงอกเพื่อให้ได้ราที่ส่งเสริมการงอกอย่างแท้จริง แต่ในทางปฏิบัติทำได้ยาก เพราะ protocorm หรือกล้วยไม้ที่เพิ่งงอกมีขนาดเล็กสังเกตและจำแนกชนิดยาก ดังนั้นส่วนใหญ่จึงมีการแยกรามิคอร์ไรซาจากรากกล้วยไม้ที่โตแล้ว หรือหากต้องการแยกราจาก protocorm อาจใช้วิธีนำเมล็ดกล้วยไม้ใส่ในตาข่ายไนลอนหรือ plankton net และเข้ากรอบฟิล์มสไลด์แล้วนำไปฝังไว้บริเวณที่มีต้นกล้วยไม้นั้นขึ้นในสภาพธรรมชาติ หลังจากนั้นคอยติดตามผล เมื่อเมล็ดงอกจึงนำ protocorm หรือต้นอ่อนไปแยกเชื้อไมคอร์ไรซาต่อไป (Rasmussen & Whigham, 1993) โดยอาจแยกแต่ละ peloton ไปเพาะเลี้ยงโดยตรงหรือตัดชิ้นเนื้อเยื่อที่มี peloton ไปเพาะเลี้ยงให้เส้นใยเชื้อราเจริญขึ้นมาแล้วแยกเส้นใยราไปเลี้ยงต่อจนได้เชื้อพันธุ์บริสุทธิ์ ซึ่งวิธีการในการแยกและเพาะเลี้ยงมีหลายวิธีการแล้วแต่ความเหมาะสมและชนิดของกล้วยไม้ (Betty *et al.*, 2002; Zettler *et al.*, 2003)

การอนุรักษ์กล้วยไม้นอกถิ่นที่อยู่อาศัยรวมถึงการเก็บเชื้อพันธุ์ในระยะยาว โดยมีการเก็บเมล็ดกล้วยไม้และราไมคอร์ไรซาไว้ในไนโตรเจนเหลว (-196) เพื่อเป็นเชื้อพันธุ์สำรอง ซึ่งการเก็บเมล็ดกล้วยไม้ไว้ในไนโตรเจนเหลวสามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดกล้วยไม้บางชนิดได้ (Betty *et al.*, 2002) ก่อนการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์ควรมีการทดสอบว่าราชนิดหรือเชื้อพันธุ์ใดส่งเสริมการงอกของเมล็ดใด เพื่อว่าเมื่อมีความจำเป็นที่ต้องนำกล้วยไม้คืนสู่ธรรมชาติจะได้มีเชื้อพันธุ์ราที่เหมาะสมกับกล้วยไม้นั้นทำให้สามารถดำเนินการอนุรักษ์อย่างมีประสิทธิภาพได้ (Zettler, 1997)

กรณีศึกษาการใช้รามิคอร์ไรซาเพื่อการอนุรักษ์กล้วยไม้

นับตั้งแต่ Noel Bernard ค้นพบราที่ทำให้เมล็ดกล้วยไม้งอก การศึกษารามิคอร์ไรซาในกล้วยไม้ก็ดำเนินเรื่อยมาและมีบทบาทสำคัญต่อการอนุรักษ์กล้วยไม้ โปรแกรมการอนุรักษ์กล้วยไม้หลายชนิดประสบผลสำเร็จอย่างดีจากการนำกล้วยไม้ที่ได้จากการเพาะเมล็ดร่วมกับรามิคอร์ไรซากลับไปปลูกในถิ่นที่อยู่อาศัยตามธรรมชาติ เช่น *Cypripedium calceolus*, *Dactylorhiza fuchsii*, *D. praetermissa*, *Orchis laxiflora* และ *O. morio* ในประเทศสหราชอาณาจักร *Diuris fragrantissima* และ *D. purdiei* ในประเทศออสเตรเลีย และ *Platanthera ciliaris* ในประเทศแคนาดา (Betty *et al.*, 2002)

การศึกษานิเวศวิทยาและความสัมพันธ์ของราไมคอร์ไรซาในกล้วยไม้จะเป็นข้อมูลสำคัญต่อการอนุรักษ์กล้วยไม้ทั้งในถิ่นที่อยู่อาศัย (*in situ*) และนอกถิ่นที่อยู่อาศัย (*ex situ*) ตัวอย่างเช่น กล้วยไม้ที่มีความเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ในประเทศออสเตรเลีย *Rhizanthella gardneri* ซึ่งเป็นกล้วยไม้ที่ไม่มีคลอโรฟิลล์ ที่ทุกส่วนอยู่ใต้ดินแม้แต่ในช่วงที่มีดอกจนกระทั่งติดเมล็ด ซึ่งกล้วยไม้ *R. gardneri* นี้มีความสัมพันธ์แบบ epiparasitic กับราไมคอร์ไรซากลุ่ม Rhizoctonia-like ในสกุล *Thanatephorus* และ ต้น *Melaleuca uncinata* ซึ่งเป็นไม้มุ่มหรือไม้ต้นขนาดเล็กในวงศ์ชมพู่ (Myrtaceae) ดังนั้นกล้วยไม้ชนิดนี้จึงได้รับอาหารจากพืช *M. uncinata* โดยส่งผ่านมาทางรา ความรู้ดังกล่าวได้นำมาใช้ในการปลูกกล้วยไม้ *R. gardneri* ในระบบ *Melaleuca- Rhizoctonia- Rhizanthella* โดยการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ร่วมกับไมคอร์ไรซาในห้องปฏิบัติการแล้วจึงย้ายไปปลูกร่วมกับ *M. uncinata* ที่ใส่เชื้อไมคอร์ไรซาไว้แล้ว ซึ่งพบว่ากล้วยไม้สามารถเจริญเติบโตได้ดี และออกดอกได้เมื่อมีอายุประมาณ 15 เดือน (Betty *et al.*, 2002; Swarts & Dixon, 2009) เมื่อทำการปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ได้แล้วก็สามารถดำเนินการอนุรักษ์นอกถิ่นที่อยู่อาศัยได้ ส่วนการอนุรักษ์ในถิ่นที่อยู่อาศัยนั้น เนื่องจาก *R. Gardneri* อยู่ใต้ดินการสำรวจประชากรจึงทำได้ยาก อาจใช้การอนุรักษ์พื้นที่ที่มีต้น *M. uncinata* ซึ่งมีความสัมพันธ์กับราไมคอร์ไรซาร่วมกันกับ *R. Gardneri* เพื่อให้มั่นใจว่าจะยังคงมีถิ่นที่อยู่อาศัยที่เหมาะสมของ *R. Gardneri* และเป็นพื้นที่สำหรับการนำกล้วยไม้ชนิดนี้กลับคืนสู่ธรรมชาติต่อไปในอนาคตได้

การศึกษารามิคอร์ไรซากับกล้วยไม้ในประเทศไทย

ประเทศไทยเป็นหนึ่งในศูนย์กลางการกระจายพันธุ์ของกล้วยไม้เขตร้อน มีกล้วยไม้พื้นเมืองอยู่จำนวน 1,157 ชนิด (Nanakorn & Watthana, 2008) และยังมีการผลิตกล้วยไม้ลูกผสมอีกเป็นจำนวนมาก ทำให้ประเทศไทยเป็นหนึ่งในผู้ส่งออกกล้วยไม้รายใหญ่ของโลก การศึกษากล้วยไม้ในประเทศไทยส่วนใหญ่เป็นการศึกษาด้านอนุกรมวิธานและการปลูกเลี้ยง แต่การศึกษาด้านไมคอร์ไรซายังถือว่ามีน้อยมากเมื่อเทียบกับความหลากหลายของชนิดกล้วยไม้ที่มีในประเทศ จากการทบทวนเอกสารเกี่ยวกับการศึกษาในประเทศไทยพบว่า ในระยะแรกเป็นการศึกษาเกี่ยวกับการแยกและจัดจำแนกรามิคอร์ไรซาในกล้วยไม้ดินโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ดังในงานของ Kummung *et al.* (2000), Manoch *et al.* (2000) และ Athipunyakom *et al.* (2004a) ต่อมามีการศึกษาทั้งในกล้วยไม้ดินและ/หรือ กล้วยไม้อิงอาศัยซึ่งใช้การจัดจำแนกโดยลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมกับชีวโมเลกุลดังในงานของ Sasirat, *et al.* (2010) และ Taluengchit *et al.* (2010) และต่อมามีการเพิ่มเติมการวิเคราะห์แผนภูมิต้นกำเนิดวิวัฒนาการ (phylogenetic tree) ของไมคอร์ไรซาในกล้วยไม้ดินและกล้วยไม้อิงอาศัยที่ทำการศึกษาโดย Nontachaiyapoom *et al.* (2010) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ดิน *Spathoglottis plicata* ร่วมกับราไมคอร์ไรซาที่แยกได้โดย Athipunyakom *et al.* (2004b) รวมถึงการนำราไมคอร์ไรซาที่แยกได้จากกล้วยไม้อิงอาศัย *Dendrobium scabrilingue* มาส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดังกล่าวทั้งในห้องปฏิบัติการ (*in vitro*) โดย Sangthong & Smitamana (2002) และหลังจากนำกล้วยไม้ดอกแล้ว Smitamana & Sangthong (2002)

จะเห็นว่ามีการเพิ่มเทคนิคและเพิ่มมิติของการศึกษาไมคอร์ไรซาของกล้วยไม้ในประเทศไทยเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาและความก้าวหน้าของเทคโนโลยี แต่ก็ยังไม่ครอบคลุมทั้งชนิดของกล้วยไม้และพื้นที่ในภูมิภาคต่างๆของประเทศไทย อย่างไรก็ตามนอกจากข้อมูลจากเอกสารที่สืบค้นได้แล้วยังทราบจากเครือข่ายกล้วยไม้ไทยและการประชุมวิชาการต่างๆว่า ได้เริ่มมีการวิจัยเกี่ยวกับไมคอร์ไรซาในกล้วยไม้ในบางหน่วยงานและยังเป็นหัวข้อวิทยานิพนธ์หรือปัญหาพิเศษของนิสิตนักศึกษาในหลายสถาบัน ซึ่งเป็นเรื่องน่ายินดีที่จะได้มีข้อมูลที่เป็นองค์ความรู้ของประเทศเพิ่มเติมเพื่อประโยชน์ในการอนุรักษ์กล้วยไม้ไทยต่อไป

การดำเนินงานเกี่ยวกับราไมคอร์ไรซาในกล้วยไม้ของสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์

สวนพฤกษศาสตร์เป็นหนึ่งในหน่วยงานหลักที่มีบทบาทสำคัญในการอนุรักษ์กล้วยไม้ (Swarts & Dixon, 2009) ดังนั้นสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ องค์การสวนพฤกษศาสตร์ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ซึ่งอยู่ในประเทศที่มีความหลากหลายของกล้วยไม้สูงจึงมีหน้าที่หลักในการอนุรักษ์กล้วยไม้เช่นกัน โดยมีการสำรวจเก็บตัวอย่างศึกษาข้อมูลในธรรมชาติรวมถึงการรวบรวมอนุรักษ์กล้วยไม้พื้นเมืองนอกถิ่นที่อยู่อาศัยไว้ในโรงเรือน (living collection) และในห้องปฏิบัติการ (*in vitro* collection) เพื่อให้การอนุรักษ์กล้วยไม้ครบถ้วนสมบูรณ์ยิ่งขึ้นจึงได้ริเริ่มงานเกี่ยวกับไมคอร์ไรซาในกล้วยไม้ในปี พ.ศ. 2551 โดยเริ่มจากการศึกษาในกล้วยไม้ดิน ต่อมาได้มีการเสนอแผนงานวิจัยการอนุรักษ์กล้วยไม้แบบบูรณาการ- กรณีศึกษาฟ้ามุ่ย โดยประกอบไปด้วยโครงการศึกษาวิจัยในด้านต่างๆคือ 1) นิเวศวิทยา 2) ความหลากหลายทางพันธุกรรม 3) ไมคอร์ไรซา 4) การขยายพันธุ์ และ 5) การศึกษาอัตราการอยู่รอดหลังปล่อยฟ้ามุ่ยในสภาพถิ่นธรรมชาติ แผนงานดังกล่าวได้รับการสนับสนุนงบประมาณในปี 2553 ซึ่งคณะผู้วิจัยหวังว่าจะได้ผลงานวิจัยที่เป็นประโยชน์และเป็นแนวทางในการอนุรักษ์กล้วยไม้อื่นๆต่อไป

แผนระยะยาวสำหรับงานไมคอร์ไรซาในกล้วยไม้คือการศึกษาความหลากหลายและเก็บรักษาเชื้อพันธุ์ไมคอร์ไรซาร่วมกับการอนุรักษ์นอกถิ่นที่อยู่อาศัยแบบอื่นๆในระยะยาว เพื่อเป็นแหล่งเชื้อพันธุ์สำรอง (germplasm) โดยเฉพาะในกล้วยไม้ไทยที่เสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ และศึกษาการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ร่วมกับไมคอร์ไรซาที่เหมาะสมเพื่อนำกลับคืนสู่ธรรมชาติ รวมถึงการศึกษาในด้านอื่นๆประกอบตาม Guidelines for Re-introductions (IUCN, 1998) เพื่อรองรับภาวะที่โลกกำลังมีการเปลี่ยนแปลงและเผชิญกับวิกฤตการณ์ เช่น สภาวะโลกร้อน การเพิ่มขึ้นของชนิดพันธุ์ต่างถิ่น การลดลงหรือเสื่อมโทรมของพื้นที่ธรรมชาติ การใช้ทรัพยากรธรรมชาติอย่างเกินขอบเขตและปัญหามลพิษต่างๆ อันอาจนำมาซึ่งการสูญพันธุ์ของสิ่งมีชีวิตรวมทั้งกล้วยไม้ได้ การมีเชื้อพันธุ์สำรองจึงเป็นการสร้างภูมิคุ้มกันอีกวิธีหนึ่งและยังเป็นการดำเนินงานตามกลยุทธ์ทั่วโลกสำหรับการอนุรักษ์พืช (Global Strategy for Plant Conservation: GSPC) ในเป้าหมายที่ 8: 60% ของพืชที่เสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ มีการเก็บรักษาไว้ใน *ex situ* collection โดยเฉพาะในประเทศแหล่งกำเนิด และ 10% ของชนิดพันธุ์พืชดังกล่าวรวมอยู่ในโปรแกรมการนำกลับคืนสู่ธรรมชาติ (<http://www.cbd.int/gspc/>)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ดร. สันติ วัฒนานะ องค์การสวนพฤกษศาสตร์ ที่ชักชวนและผลักดันให้เพิ่มเติมงานไมคอร์ไรซาเข้าไปในงานอนุรักษ์กล้วยไม้ไทย ขอขอบคุณ ดร. สุริย์พร นนทชัยภูมิ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ผู้ร่วมวิจัย และ รศ. ดร. เลขา มาโนช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน ที่ปรึกษาโครงการศึกษารามิคอร์ไรซาในกล้วยไม้และผลต่อการงอกของกล้วยไม้ดินบางชนิดสำหรับความร่วมมือในการดำเนินงานรวมถึงการสนับสนุนการดำเนินงานเกี่ยวกับไมคอร์ไรซามาโดยตลอด

เอกสารอ้างอิง

- Alexander, C., & Hadley, G. (1985) Carbon movement between host and mycorrhizal endophyte during the development of the orchid *Goodyera repens* Br. *New Phytol* 101:657-665
- Arditti, J. & Ghani, A.K.A. (2000) Numerical and physical properties of orchid seeds and their biological implications. *New Physiologist* 145: 367-421.
- Athipunyakom, P., Manoch, L., & Piluek, C. (2004a) Isolation and identification of mycorrhizal fungi from eleven terrestrial orchids. *Kasetsart J (Nat Sci)* 38:216–228.
- Athipunyakom, P., Manoch, L., Piluek, C., Artjarayasripong, S., & Tragulrung, S. (2004b) Mycorrhizal fungi from *Spathoglottis plicata* and the use of these fungi to germinate seeds of *S. plicata* in vitro. *Kaset. J. Nat. Sci.* 38(1): 83-93.
- Batty, A.L., Dixson, K.W., Brundrett, M.C., & Sivasithamparam, K. (2002) Orchid conservation and mycorrhizal association. In *Microorganism in plant conservation and biodiversity*. pp. 195-226. Kluwer Academic Publishers.
- Brundrett, M.C. (2002) Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytologist* 154, 275-304.
- Brundrett, M.C. (2004) Diversity and classification of mycorrhizal associations. *Biol Rev Camb Philos Soc* 79:473–495.
- Cameron, D.D., Leake, J.R., & Read, D.J. (2006) Mutualistic mycorrhiza in orchids: evidence from plant-fungus carbon and nitrogen transfers in the green-leaved terrestrial orchids *Goodyera repens*. *New Phytol* 171: 405-416.
- Cribb, P.J., Kell, S.P., Dixon, K.W. & Barrett, R.L. (2003) Orchid conservation: a global perspective. In *Orchid Conservation* (Dixon, K.W. et al., eds), pp. 1–25, Natural History Publications, Sabah.
- Dearnaley, J.D.W. (2007) Further advances in orchid mycorrhizal research. *Mycorrhiza* 17:475–486.
- Dixon, K.W., Kell, S.P., Barrett, R.L. & Cribb, P.J. (eds) (2003) *Orchid conservation*. Natural History Publication, Sabah.

- Gebauer, G., & Meyer, M. (2003) N-15 and C-13 natural abundance of autotrophic and myco-heterotrophic orchids provides insight into nitrogen and carbon gain from fungal association. *New Phytol* 160: 209-223.
- Hadley, G., & Purves, S. (1974) Movement of ¹⁴Carbon from host to fungus in orchid mycorrhiza. *New Phytol* 73:475-482.
- Imhof, S. (2009) Arbuscular, ecto-related, orchid mycorrhizas—three independent structural lineages towards mycoheterotrophy: implications for classification? *Mycorrhiza* 19:357–363.
- IUCN (1998) *Guidelines for Re-introductions*. Rprepared by the IUCN/SSC Re-introduction Specialist Group. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK. 10 pp.
- Kummuang, N., Manoch, L., Piluek, C., & Athipunyakom, P. (2000) Isolation and Identification of Orchid Mycorrhizae. pp. 428- 435. In *The 38th Kasetsart University Annual Conference*, Kasetsart University, Bangkok. 1-4 Feb. 2000
- Leake, J.R. (2004) Myco-heterotroph/epiparasitic plant interactions with eccto-mycorrhizal and arbuscular mycorrhizal fungi. *Curr. Opin. Plant Biol.* 7: 422-428.
- Manoch, L., Athipunyakom, P. & Tanticharoen, M. (2000) *Rhizoctonia*-like fungi associated terrestrial orchids in Thailand, p. 63. In *The third International Symposium on Rhizoctonia (ISR 2000)*, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan (ROC), 17-20 August 2000.
- Moore R.T. (1987) The genera of *Rhizoctonia*-like fungi ;*Ascorhizoctonia*, *Ceratorhiza* gen.nov., *Moniliopsis* and *Rhizoctonia*. *Mycotaxon* 29: 91-99.
- Nanakorn, W. and Watthana, S. (2008) *Queen Sirikit Botanic Garden (Thai Native Orchids 1)*. Wanida Press, Chiang Mai, 312 pp.
- Nontachaiyapoom, S., Sasirat, S. & Manoch, L. (2010) Isolation and identification of rhizoctonia-like fungi from roots of three orchid genera, Paphiopedilum, Dendrobium, and Cymbidium, collected in Chiang Rai and Chiang Mai province of Thailand. *Mycorrhiza* (in press), doi:10.1007/s00572-010-0297-3.
- Rasmussen, H.N. (1995) *Terrestrial Orchids from Seed to Mycotrophic plant*. Cambridge University Press.
- Rasmussen, H.N. (2002) Recent developments in the study of orchid mycorrhiza. *Plant Soil* 244:149–163.
- Rasmussen, H.N., & Whigham, D.F. (1993) Seed ecology of dust seeds *in situ*: a new study technique and its application to terrestrial orchids. *American Journal of botany* 85: 829-834.
- Sangthong, S. & Smitamana, P. (2002) Screening of effective mycorrhizal fungi *for in vitro* grown *Dendrobium scabrilingue* Lindl. Plantlets. pp. 111. In *The first International Conference on Tropical and Subtropical Plant Diseases*. Chiang Mai, Thailand, Nov. 5-8, 2002.

- Sasirat, S., Nontachaiyapoom, S., Sawatwanich, A. & Manoch, L. (2010) Mycorrhizal Symbionts of Some Terrestrial Orchids in Queen Sirikit Botanic Garden. p. 148. In *The 4th Botanical Conference of Thailand*. Chiang Mai, Thailand, Mar. 24-26, 2010.
- Sharma, J., Zettler, L.W., & Van Sambeek J.W. (2003) A survey of mycobionts of federally threatened *Platanthera praelara* (Orchidaceae). *Symbiosis* 34:145-155.
- Smitamana, P. & Sangthong, S. (2002) Screening for effective mycorrhizal fungi for promoting growth of *Dendrobium scabrilingue* Lindl. Plantlets. p. 32 In *The 14th Annual Meeting of the Thai society for Biotechnology: Biotechnology for Better Living in the New Economy*. Khon Kaen, Thailand, Nov. 12-15, 2002.
- Smith, S.E. & Read, D.J. (2008) *Mycorrhizal symbiosis*, 3rd edn. Academic, San Diego.
- Sneh, B., Burpee, L. & Ogoshi, A. (1991) *Identification of Rhizoctonia species*. APS Press. Minnesota.
- Swarts, N.D., & Dixon, K.W. (2009) Perspectives on orchid conservation in botanic gardens. *Trends Plant Sci* 14:590–593.
- Taluengchit, A., Watthana, S., Hyde, K.D., & Nontachaiyapoom, S. (2010) Isolation and identification of endophytic fungi from roots of *Chiloschista* and *Schoenorchis* (Orchidaceae) p. 165. In *The 4th Botanical Conference of Thailand*. Chiang Mai, Thailand, Mar. 24-26, 2010
- Taylor, D.L. & Bruns, T.D. (1999) Population, habitat and genetic correlates of mycorrhizal specialization in the “cheating” orchids *Corallorhiza maculata* and *C. mertensiana*. *Molecular Ecology* 8: 1719-1732
- Xu, J.T. & Guo, S.X. (2000). Retrospect on the research of the cultivation of *Gastrodia elata* Bl., a rare traditional Chinese medicine. *Chinese Medical Journal of Botany* 73: 862-866.
- Xu, J.T., Mu, C. (1990) The relation between growth of *Gastrodia elata* protocorms and fungi. *Acta Bot Sin* 32:26-31.
- Zettler, L.W. (1997) Orchid-fungal symbiosis and its value in conservation. *McIlvainea*, 13 : 40-45.
- Zettler, L.W., Sharma, J. & Rasmussen, F.N. (2003) Mycorrhizal Diversity. In *Orchid conservation* (Dixon, K.W. et al., eds), pp. 205-226. Natural History Publication, Sabah.