

สุธี คิตติ : การใช้วิธีทางชีวภาพ และกายภาพในการพัฒนาการผลิตสปอร์ของเชื้อรา
อาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (BIOTIC AND ABIOTIC APPROACHES TO DEVELOP METHOD
FOR ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI SPORE PRODUCTION) อาจารย์ที่ปรึกษา :
รองศาสตราจารย์ ดร.พรรณลดา ติตตะบุตร, 111 หน้า.

คำสำคัญ : อาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา/บรีเวบาซิลลัส สายพันธุ์ SUT47/บาซิลลัส เวเลเซนซิส สายพันธุ์
S141/แสงแอลอีดี/กรดไขมัน

ที่ผ่านมาได้มีการศึกษาวิธีการทั้งทางชีวภาพ และทางกายภาพเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการเพิ่ม
จำนวนสปอร์ของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (Arbuscular Mycorrhizal Fungi; AMF) เพื่อใช้
ผลิตเป็นหัวเชื้อปุ๋ยชีวภาพในการเกษตร โดยในบรรดาวิธีการทางชีวภาพ พบว่าการใช้แบคทีเรียที่มี
คุณสมบัติช่วยส่งเสริมการเจริญของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (Mycorrhization Helper
Bacteria; MHB) มาปลูกร่วมกับพืชอาศัย เป็นวิธีการที่สามารถเพิ่มจำนวนสปอร์ของเชื้อราได้ โดย
งานวิจัยนี้พบแบคทีเรียบางชนิดที่นอกจากจะมีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช
แล้ว (Plant Growth Promoting Rhizobacteria; PGPR) ยังมีผลเชิงบวกต่อการเจริญและการเพิ่ม
จำนวนของเชื้อราภายใต้ระบบการผลิตแบบใช้วัสดุปลูกพืชทั่วไปด้วย ทั้งนี้การค้นพบประการแรก
คือ สารที่ปลดปล่อยออกมา (secretion compounds) จากเชื้อแบคทีเรีย บรีเวบาซิลลัส สายพันธุ์
SUT47 (*Brevibacillus* sp. SUT47) เมื่อใช้ร่วมกันกับการปลูกเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาสาย
พันธุ์ *Acaulospora tuberculata* สามารถส่งเสริมการผลิตสปอร์ให้เพิ่มขึ้นในรากข้าวโพดได้ โดย
การใช้สารที่ปลดปล่อยออกมาจากเชื้อแบคทีเรียเข้มข้นที่ระดับ 360 มิลลิกรัม ร่วมกับการปลูกเชื้อรา
ให้ผลจำนวนการผลิตสปอร์มากที่สุดประมาณ 1,500 สปอร์ต่อต้น ในระยะเวลา 120 วัน หลังการ
ปลูกเชื้อ อย่างไรก็ตามการประยุกต์ใช้แบคทีเรียในรูปแบบเซลล์ที่มีชีวิตยังคงส่งเสริมการผลิตจำนวน
สปอร์ของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาที่สูงกว่า โดยให้จำนวนสปอร์มากกว่า 2,000 สปอร์ต่อต้น
ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับวิธีการใช้สารที่ปลดปล่อยออกมาจากแบคทีเรีย ประการที่
สอง พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. velezensis* S141 มีความสามารถในการส่งเสริมให้เชื้อราอาร์บัสคูลาร์
ไมคอร์ไรซาสายพันธุ์ *Rhizophagus irregularis* เมื่ออยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัย (symbiosis) กับ
ต้นถั่วโลตัส (*Lotus japonicus*) โดยการปลูกเชื้อแบคทีเรีย สายพันธุ์ S141 ร่วมกันนี้ ส่งผลเชิงบวก
ต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของเชื้อรา รวมถึงการเข้าครอบครองพื้นที่รากของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์
ไมคอร์ไรซา การเพิ่มจำนวนสปอร์ และการดูดซับธาตุอาหารของพืช ในลักษณะการมีปฏิสัมพันธ์
แบบไตรภาคี อย่างไรก็ตามเมื่อตรวจสอบกลไกความสัมพันธ์ที่เกิดขึ้น พบว่าฮอร์โมนพืชในกลุ่มออก
ซิน (indole-3-acetic acid; IAA) ที่แบคทีเรียสายพันธุ์นี้สามารถผลิตได้ ไม่ใช่กลไกหลักที่ทำให้เกิด
การส่งเสริมการอยู่ร่วมกันของพืช และเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา นอกจากนี้ยังเป็นที่น่าสนใจว่า

เชื้อแบคทีเรีย สายพันธุ์ S141 สามารถเข้าสู่ภายในเซลล์รากของพืช และอาศัยอยู่ภายในเนื้อเยื่อพืชได้ (endophytic bacteria) และยังพบว่าแบคทีเรียชนิดนี้สามารถกระตุ้นการแสดงออกของกลุ่มยีนเครื่องหมาย (marker genes) ในพืชที่สัมพันธ์กับการเข้าครอบครองรากของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในระยะแรก การดูดซับธาตุอาหารในพืช รวมทั้งกระตุ้นการแสดงออกของยีนในเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมวงจรการแบ่งเซลล์ของเชื้อราชนิดนี้อีกด้วย

ในงานวิจัยนี้ยังได้ศึกษาวิธีการทางกายภาพ ด้วยเทคโนโลยีการปลูกพืชโดยใช้แสงจาก Light Emitting Diode (LED) ที่อัตราความเข้มแสงเฉพาะของแสงสีแดงและสีฟ้าในอัตราส่วน 60:40 ที่ความเข้มแสงรวม 300 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ส่งเสริมการเข้าครอบครองพื้นที่รากของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในรากต้นข้าวโพด (*Zea mays* L.) การใช้แสง LED สามารถเร่งกระบวนการผลิตสปอร์ของเชื้อราในระบบการผลิตแบบใช้วัสดุปลูก โดยให้จำนวนสปอร์ประมาณ 1,500 สปอร์ต่อต้น ในระยะเวลา 90 วัน หลังการปลูกเชื้อ นอกจากนี้ การประยุกต์ใช้กรดไมริสติก ซึ่งเป็นกรดไขมันที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา ในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม (10-10,000 ไมโครกรัม) ร่วมกับการปลูกต้นข้าวโพด ส่งผลให้มีแนวโน้มจำนวนสปอร์ของเชื้อราที่ผลิตเพิ่มขึ้นเช่นกัน

ผลงานวิจัยที่ได้นี้สามารถใช้เป็นแนวทางวิธีการในการเพิ่มจำนวน และเร่งกระบวนการผลิตสปอร์ของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาโดยใช้ระบบวัสดุปลูกที่สามารถเพิ่มกำลังการผลิตในระดับใหญ่ได้ต่อไป นอกจากนี้ยังแสดงให้เห็นถึงบทบาทของแบคทีเรียในกลุ่มฟิซีฟิอารีในฐานะแบคทีเรียผู้ช่วยในการสนับสนุนการอยู่ร่วมกันระหว่างพืชและเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา ที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในวิธีการเกษตรแบบยั่งยืนได้อย่างมีศักยภาพต่อไป

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา 2566

ลายมือชื่อนักศึกษา สุธิ ศิธต์
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา P
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ว.ต้น
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ว.ต้น