ผลของอาหารเพาะเลี้ยงต่อการเจริญเติบโตของสปอร์เฟินชายผ้าสีดาเขากวางตั้ง (*Platycerium ridleyi*) ในสภาพปลอดเชื้อ

Effect of Culture Medium on Growth of *Platycerium ridleyi* Spores under *In Vitro* Culture

เยาวพา จิระเกียรติกุล*, ภาณุมาศ ฤทธิไชย, พรชัย หาระโคตร,
บุญญฤทธิ์ นิลวรณ์ และเจิมอรุณ อุทัยแจ่มศรีผล
สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120
Yaowapha Jirakiattikul*, Panumart Rithichai, Bhornchai Harakotr,
Boonyarit Nilvron and Jermaroon Autaijamsripon
Department of Agricultural Technology, Faculty of Science and Technology,
Thammasat University, Rangsit Centre, Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

บทคัดย่อ

เฟินชายผ้าสีดาเขากวางตั้ง (*Platycerium ridleyi* Christ) มีลักษณะสวยงาม และนิยมปลูกเป็นไม้ประดับ ไม่สามารถขยายพันธุ์ด้วยการแยกหน่อ การเพาะสปอร์ในสภาพปลอดเชื้อจะสามารถขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว ดังนั้นในการทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของอาหารสูตร ½ MS (Murashige & Skoog) และ MS ที่เติม 0, 0.2 และ 0.5 mg/l BA (6-benzylaminopurine) ต่อการเจริญเติบโตในระยะแกมีโทไฟต์ (gametophyte) ของสปอร์ในเฟินชายผ้าสีดาเขากวางตั้งเมื่อเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ จากการทดลองพบว่าความมีชีวิตของสปอร์ที่มีสีเขียวซึ่งบรรจุในอับสปอร์มีค่าสูง 76.81±15.41 ถึง 85.00±6.56 % หลังเพาะเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์ บนอาหารสูตร ½ MS และ MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (PGRs), ½ MS ที่เติม 0.2 mg/l BA และ MS ที่เติม 0.5 mg/l BA สปอร์ของเฟินชนิดนี้เริ่มพัฒนาเป็นโพรแทลลัสเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารนาน 6 สัปดาห์ โดยโพรแทลลัสเจริญเติบโตได้ดีบนอาหารสูตร ½ MS ที่ไม่เติม PGRs ซึ่งโพรแทลลัสที่พัฒนาบนอาหารสูตรดังกล่าวมีการพัฒนาของไรซอยด์หลังเพาะเลี้ยงนาน 24 สัปดาห์

คำสำคัญ : เฟิน; ชายผ้าสีดาเขากวางตั้ง; สปอร์; โพรแทลลัส; สูตรอาหาร MS

Abstract

Platycerium ridleyi Christ is an attractive staghorn fern and commonly cultivates as an ornamental plant. *P. ridleyi* is unable to propagate by dividing a small plantlet from a large one.

***ผู้รับผิดชอบบทความ :** yjirakia@tu.ac.th

Spore reproduction using *in vitro* culture is a reliable method that can be rapidly propagated. Therefore, the objective of this study was to investigate the effect of ½ MS and MS (Murashige & Skoog) medium supplemented with 0, 0.2 and 0.5 mg/l BA (6-benzylaminopurine) on gametophytic growth of *P. ridleyi* spore under aseptic culture. The results showed that spore viability which green spores contained in the sporangium were high at 76.81±15.41 to 85.00±6.56 % after spores were cultured on ½ MS and MS medium without plant growth regulator (PGRs), ½ MS medium supplemented with 0.2 mg/l BA and MS medium supplemented with 0.5 mg/l BA for 8 weeks. Prothallus development was first observed at 6 weeks after spore inoculation and further prothallus development occurred only on ½ MS medium without PGRs. Rhizoids were emerged from those prothalli developed on ½ MS medium without PGRs at 24 weeks after inoculation.

Keywords: fern; staghorn fern; spore; prothallus; MS medium

1. บทนำ

เฟินชายผ้าสีดาเขากวางตั้ง (*Platycerium ridleyi* Christ) เป็นเฟินที่มีลักษณะสวยงามแตกต่างจากเฟินชายผ้าสีดาชนิดอื่น ๆ [1] มีใบกาบเป็นแผ่นกลมหุ้มแนบกับผิวที่ยึดเกาะ ใบชายตั้งขึ้นและแตกง่ามคล้ายเขากวาง กลุ่มอับสปอร์เกิดในกระเปาะรูปช้อนคว่ำ ขอบเรียบ [2] มีการกระจายพันธุ์ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ในประเทศไทยพบในหลายจังหวัดทางภาคใต้ เช่น ระนอง นครศรีธรรมราช โดยขึ้นอยู่ตามยอดไม้สูงซึ่งได้รับแสงแดดจัด และอากาศถ่ายเทได้ดี โดยทั่วไปเฟินสามารถขยายพันธุ์ได้โดยการแยกหน่อและเพาะสปอร์ แต่เฟินชายผ้าสีดาเขากวางตั้งเป็นเฟินที่ไม่สามารถแตกหน่อได้ จึงต้องขยายพันธุ์ด้วยการเพาะสปอร์เพียงอย่างเดียว [1] ซึ่งการขยายพันธุ์ด้วยการเพาะสปอร์ทำได้ยากในสภาพธรรมชาติ เนื่องจากมีปัญหาของราและตะไคร่เกิดขึ้น มีแมลงรบกวน นอกจากนี้สปอร์มักไม่ค่อยงอก รวมถึงโพรแทลลัส (prothallus) ไม่เจริญเป็นเฟินต้นใหม่ในระยะสปอโรไฟต์ (sporophyte) [2] จากการที่เฟินชายผ้าสีดาเขากวางตั้งเป็นเฟินที่ได้รับความนิยม การขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนต้นทำได้ช้า และมีความเชื่อว่าเฟินป่าแข็งแรงกว่าเฟินปลูก จึงทำให้มีการเก็บเฟินชนิดนี้จากป่าธรรมชาติส่งมาขายในตลาดไม้ประดับจำนวนมาก ซึ่งอาจส่งผลให้เฟินชนิดนี้สูญพันธุ์จากป่าเมืองไทย [1]

ด้วยปัญหาดังกล่าว จึงมีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้เพื่อการขยายพันธุ์เฟินชนิดต่าง ๆ ที่มีความต้องการในตลาดสูง และขยายพันธุ์ได้ยากด้วยการเพาะเลี้ยงสปอร์ หรือเพาะเลี้ยงใบอ่อนในสภาพปลอดเชื้อ เช่น การเพาะเลี้ยงสปอร์เฟินมหาสดำ (*Cyathea podophylla* Cople.) [3], *Pteris tripartita* Sw [4] *Schizaea dichotoma* L. [5] และ *Pteridium esculentum* (G.Forst.) Cockayne [6] ส่วนการเพาะเลี้ยงใบอ่อนเฟินชายผ้าสีดาเขากวางตั้งในสภาพปลอดเชื้อก็ได้มีการรายงานการศึกษาโดย นัฐชัย [7] ซึ่งพบว่าเกิดกลุ่มยอดได้ดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงใบอ่อนบนอาหารสูตร ½ MS ที่ไม่เติม PGRs ในสภาพที่ได้รับแสงสีขาวหรือสีแดง อย่างไรก็ตาม การเพาะเลี้ยงสปอร์เฟินชายผ้าสีดาเขากวางตั้งในสภาพปลอดเชื้อยังไม่มีรายงานการศึกษา ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสูตรอาหาร MS และ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของสปอร์เฟินชายผ้าสีดาเขากวางตั้ง

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 พืชทดลอง

เก็บสปอร์เฟินชายผ้าสีดาเขากวางตั้งจากสวน Fern River Side ที่อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี ในเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2559 ซึ่งต้นแม่เฟินมีอายุประมาณ 4-5 ปี เก็บรักษาสปอร์ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C จนกว่าจะเริ่มทดลอง

2.2 อาหารเพาะเลี้ยง

อาหารเพาะเลี้ยง ใช้อาหารแข็งสูตร ½ MS และ MS ที่เติมน้ำตาลทราย 30 g/l และ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ ปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 5.6-5.8 นึ่งกำจัดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C แรงดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเทอาหารลงจานเพาะเลี้ยง จานละ 30 ml

2.3 การฟอกกำจัดเชื้อการเพาะเลี้ยง

ชั่งสปอร์เฟินหนัก 0.01 g แล้วฟอกกำจัดเชื้อของสปอร์เฟินในสารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 10 % (v/v) ที่เติม tween 20 1-2 หยด เขย่าขวดนาน 10 นาที แล้วกรองสปอร์ด้วยกระดาษกรอง จากนั้นล้างสปอร์ที่ติดอยู่บนกระดาษกรองด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งกำจัดเชื้อแล้วปริมาตร 100 ml 2 ครั้ง

2.4 ผลของอาหารเพาะเลี้ยงต่อการเจริญเติบโตของสปอร์เฟิน

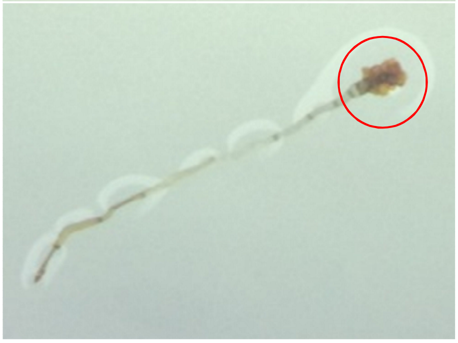
นำกระดาษกรองที่มีสปอร์ติดอยู่มาจุ่มในขวดน้ำกลั่นที่นึ่งกำจัดเชื้อแล้วปริมาตร 20 ml เพื่อให้สปอร์กระจายตัวในน้ำ แล้วหยดน้ำกลั่นที่มีสปอร์ปริมาตร 100 µl บนอาหารเพาะเลี้ยง 6 สูตร คือ ½ MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 0.2 และ 0.5 mg/l และ MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 0.2 และ 0.5 mg/l เมื่อหยดน้ำกลั่นที่มีสปอร์แล้วใช้ spreader glass เกลี่ยสปอร์ให้ทั่วอาหาร นำไปวางในห้องเพาะเลี้ยงที่ควบคุมอุณหภูมิ 25±2 °C ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) มี 6 สูตรอาหาร แต่ละสูตรอาหารมี 4 ซ้ำ แต่ละซ้ำมี 5 petri dish

2.5 การบันทึกผลการทดลอง

2.5.1 ความมีชีวิตของสปอร์เฟิน บันทึกจำนวนอับสปอร์ที่มีชีวิตโดยสปอร์ที่อยู่ภายในอับสปอร์ยังคงมีสีเขียว (รูปที่ 1ก) และจำนวนอับสปอร์ที่ไม่มีชีวิตโดยสปอร์ที่อยู่ภายในอับสปอร์มีสีน้ำตาล (รูปที่ 1ข) โดยส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereomicroscope ทุก ๆ 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ แล้วนำมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์

(ก)

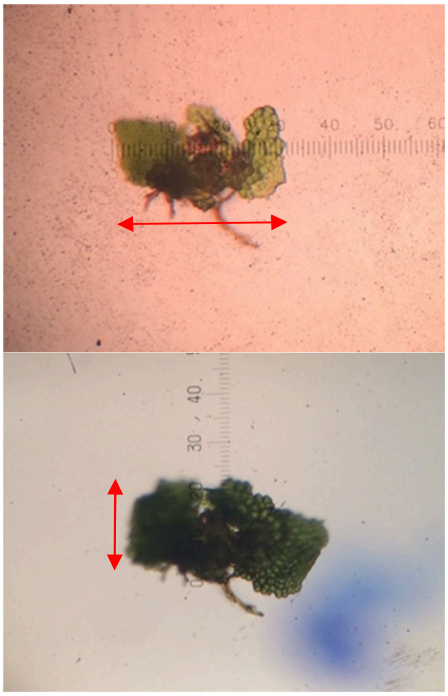
(ข)



รูปที่ 1 สปอร์เฟินชายผ้าสีดาเขากวางตั้ง (ก) มีชีวิต (ข) ไม่มีชีวิต

2.5.2 การเจริญเติบโตและการพัฒนาของโพรแทลลัสหลังเพาะเลี้ยงสปอร์แล้ว 8 สัปดาห์ บันทึกผลในสัปดาห์ที่ 8, 10, 12, 16 และ 20 โดยวัดความกว้างของโพรแทลลัส (รูปที่ 2ก) และความยาวของโพรแทลลัส (รูปที่ 2ข) ด้วย microscope scale พร้อม

บันทึกภาพลักษณะของสปอร์ และโพรแทลลัสเมื่อเพาะเลี้ยงนาน 2 ถึง 28 สัปดาห์



(ก)

(ข)

รูปที่ 2 ขนาดของโพรแทลลัส (ก) ความกว้าง (ข) ความยาว

2.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

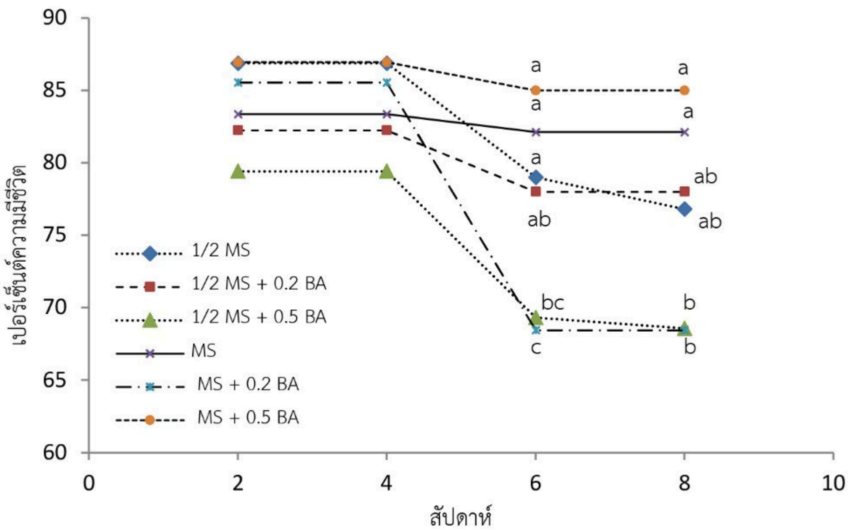
นำข้อมูลความมีชีวิตของสปอร์เฟินมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) ตามแผนการทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ด้วยโปรแกรม SAS ส่วนความกว้าง-ยาวของโพรแทลัสใช้ t-test เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย เนื่องจากมีโพรแทลลัสพัฒนาขึ้นบนอาหารเพียง 2 สูตร

3. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

3.1 ความมีชีวิตของสปอร์เฟิน

หลังจากเพาะเลี้ยงสปอร์เฟินชายผ้าสีดาเขากวางตั้งบนอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ พบว่าความมีชีวิตของสปอร์เฟินไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยความมีชีวิตอยู่ในช่วง 79.42±15.34 ถึง 86.95±5.38 % (รูปที่ 3) ส่วนในสัปดาห์ที่ 6 พบว่าความมีชีวิตสปอร์เฟินที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½ MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 mg/l (69.32±17.58 %) และ MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.2 mg/l (68.45±16.68 %) มีค่าน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับค่าดังกล่าวของสปอร์เฟินที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½ MS และ MS ที่ไม่เติม PGRs รวมทั้งอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 mg/l ที่มีความมีชีวิตเท่ากับ 79.00±10.27, 82.13±8.47 และ 85.00±6.56 % ตามลำดับ (รูปที่ 3) ในสัปดาห์ที่ 8 ความมีชีวิตของสปอร์เฟินที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½ MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 mg/l (68.58±17.80 %) และ MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.2 mg/l (68.45±16.68 %) ยังคงมีค่าน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับค่าดังกล่าวของสปอร์เฟินที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม PGRs (82.13±8.47 %) และ MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 mg/l (85.00±6.56 %) แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับความมีชีวิตของสปอร์เฟินที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½ MS ที่ไม่เติม PGRs (76.81±15.41 %) และ ½ MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.2 mg/l (78.00±9.95 %) จากการทดลองจะเห็นได้ว่าความมีชีวิตของสปอร์เฟินที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเกือบทุกสูตรลดลงมากในสัปดาห์ที่ 6 ยกเว้นอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต และ MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 mg/l ที่ความมีชีวิตลดลงเล็กน้อย อย่างไรก็ตาม ในสัปดาห์ที่ 8 ความมีชีวิตของสปอร์เฟินในทุกสูตรอาหารยังคงสูงมากกว่า 68 % (รูปที่ 3) โดยความมีชีวิตของสปอร์เฟินชายผ้าสีดาเขากวางตั้งจากการเพาะเลี้ยงใน

สภาพปลอดเชื้อนี้ใกล้เคียงกับรายงานของ Baskaran และคณะ [4] ที่ศึกษาเพาะเลี้ยงสปอร์เฟิน *P. tripartita* Sw. ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าสปอร์สามารถงอกได้ดีเท่ากับ 84 % เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีน้ำตาลซูโครส 70 g/l และ 79.33 % บนอาหารสูตร MS ที่มี pH อาหารเท่ากับ 5.7 แต่ในเฟิน *S. dichotoma* มีความงอกเพียง 34 % เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ¼ MS ที่เติมผงถ่าน 1 g [5] ดังนั้นจากการทดลองนี้สามารถกล่าวได้ว่าความมีชีวิตของสปอร์เฟินชายผ้าสีดาเขากวางตั้งมีค่าค่อนข้างสูงเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½ MS และ MS ที่ไม่เติม PGRs, ½ MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.2 mg/l และ MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 mg/l

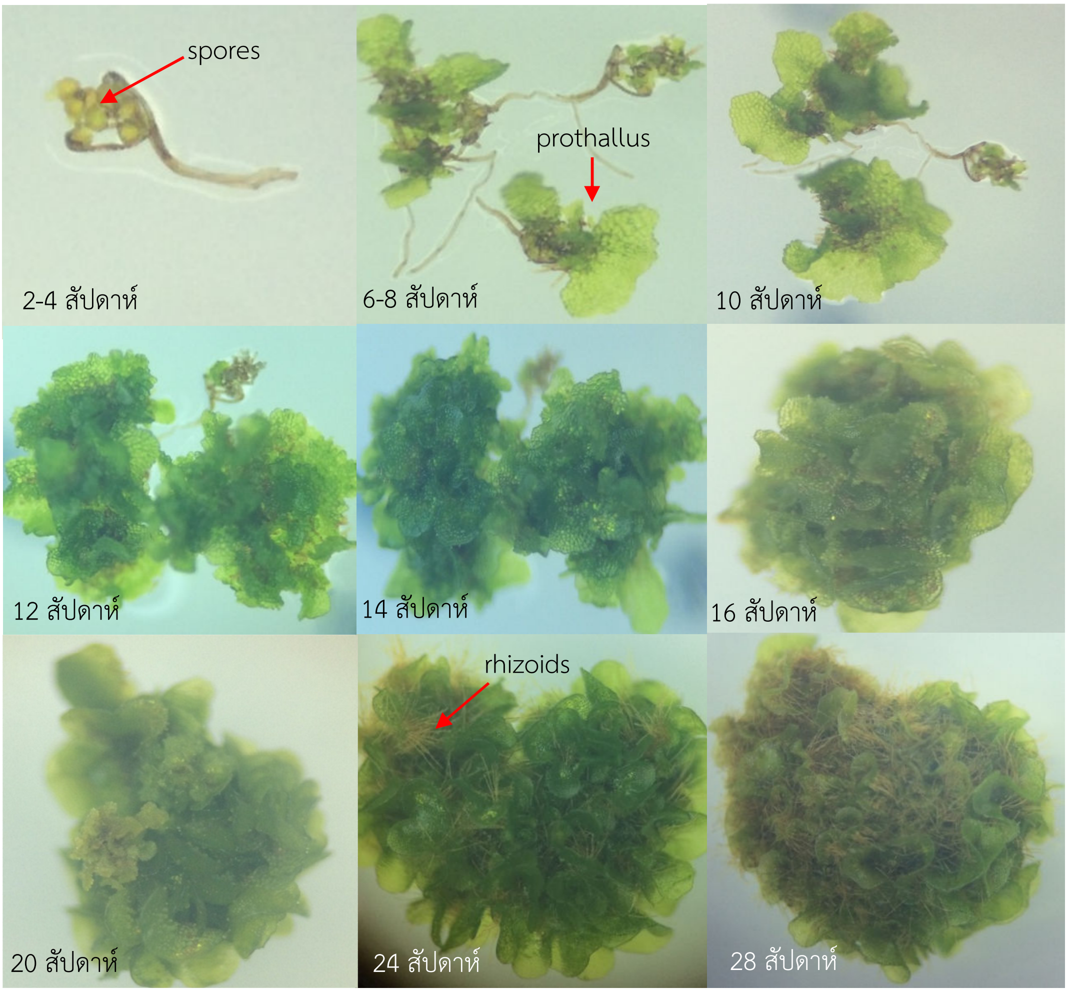


รูปที่ 3 เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของสปอร์เฟินชายผ้าสีดาเขากวางตั้งเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½ MS และ MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 0.2 0.5 mg/l เป็นเวลา 2-8 สัปดาห์

3.2 การเจริญเติบโตและการพัฒนาของโพรแทลลัส

การเพาะเลี้ยงสปอร์เฟินชายผ้าสีดาเขากวางตั้งบนอาหารแต่ละสูตร พบว่าในช่วง 2-4 สัปดาห์แรก สปอร์ที่อยู่ภายในอับสปอร์ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง แต่ในสัปดาห์ที่ 6 สปอร์มีการพัฒนาเป็นโพรแทลัสบนอาหารสูตร ½ MS ที่ไม่เติม PGRs (รูปที่ 4) และ MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 mg/l เพียง 2 สูตร เท่านั้น โดยในสัปดาห์ที่ 8, 10 และ 12 โพรแทลลัสที่พัฒนาบนอาหารสูตร ½ MS ที่ไม่เติม PGRs มีความกว้างเท่ากับ 1.56±0.78, 1.72±0.95 และ 1.90±1.39 mm ตามลำดับ (ตารางที่ 1 และรูปที่ 4) และมีความยาวเท่ากับ 1.27±0.39, 1.51±0.62 และ 1.62±0.91 mm ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ส่วนโพรแทลลัสที่พัฒนาบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 mg/l มีความกว้างเท่ากับ 1.73±0.33, 1.85±0.25 และ 1.87±0.23 mm ตามลำดับ (ตารางที่ 1) และมีความยาวเท่ากับ 1.47±0.23, 1.65±0.25 และ 1.69±0.26 mm ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ในสัปดาห์ที่ 12 พบว่าโพรแทลลัสที่พัฒนาบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 mg/l เริ่มตายโดยเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาล และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลในสัปดาห์ที่

16 ดังนั้น ในสัปดาห์ที่ 16 และ 20 จึงบันทึกความกว้างและยาวของโพรแทลลัสที่ยังคงมีสีเขียว และขยายขนาดเฉพาะบนอาหารสูตร ½ MS ที่ไม่เติม PGRs ซึ่งมีความกว้างเท่ากับ 1.94±0.98 และ 2.11±1.22 mm ตามลำดับ (ตารางที่ 1 และรูปที่ 4) และมีความยาวเท่ากับ 1.76±0.64 และ 1.80±0.80 mm ตามลำดับ (ตารางที่ 2) จากการศึกษาการเจริญเติบโตของโพรแทลลัสเฟินชายผ้าสีดาเขากวางตั้งในช่วง 8-20 สัปดาห์ของการเพาะเลี้ยง สามารถสรุปได้ว่าโพรแทลลัสของเฟินชนิดนี้สามารถเจริญเติบโตดีบนอาหารสูตร ½ MS ที่ไม่เติม PGRs สอดคล้องอาหารเพาะเลี้ยงสปอร์เฟิน *P. tripartita* Sw ในสภาพปลอดเชื้อที่รายงานโดย Baskaran และคณะ [4] พบว่าโพรแทลลัสของเฟินชนิดนี้มีความกว้างมากที่สุดเท่ากับ 0.85 และ 1.27 mm และมีความยาวมากที่สุดเท่ากับ 0.48 และ 0.51 mm เมื่อเพาะเลี้ยงสปอร์เฟินบนอาหารสูตร ½ MS ที่ไม่เติม PGRs โดยมีค่า pH อาหารเท่ากับ 5.7 และ 6.7 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าเฟินแต่ละชนิดจะมีขนาดของโพรแทลลัสที่แตกต่างกันเมื่อเจริญเติบโตในสภาพที่เหมาะสม



รูปที่ 4 การเจริญเติบโตของสปอร์เฟินชายผ้าสีดาเขากวางตั้งเมื่ออายุ 2-28 สัปดาห์บนอาหารสูตร ½ MS ที่ไม่เติม PGRs

ตารางที่ 1 ความกว้างของโพรแทลลัส (mm) ในสัปดาห์ที่ 8, 10, 12, 16 และ 20 หลังเพาะเลี้ยงสปอร์เฟินชายผ้าสีดาเขากวางตั้งบนอาหารสูตร ½ MS และ MS ที่เติม BA ความเข้มข้นต่าง ๆ

สูตรอาหาร		ความกว้างของโพรแทลลัส (mm) เมื่อเพาะเลี้ยงนาน (สัปดาห์)				
MS	BA (mg/l)	8	10	12	16	20
½	-	1.56±0.78	1.72±0.95	1.90±1.39	1.94±0.98	2.11±1.22
½	0.2	-	-	-	-	-
½	0.5	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-	-
1	0.2	-	-	-	-	-
1	0.5	1.73±0.33	1.85±0.25	1.87±0.23	-	-
t-test		ns	ns	ns	-	-

ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 2 ความยาวของโพรแทลลัส (mm) ในสัปดาห์ที่ 8, 10, 12, 16 และ 20 หลังเพาะเลี้ยงสปอร์เฟินชายผ้าสีดาเขากวางตั้งบนอาหารสูตร ½ MS และ MS ที่เติม BA ความเข้มข้นต่าง ๆ

สูตรอาหาร		ความยาวของโพรแทลลัส (mm) เมื่อเพาะเลี้ยงนาน (สัปดาห์)				
MS	BA (mg/l)	8	10	12	16	20
½	-	1.27±0.39	1.51±0.62	1.62±0.91	1.76±0.64	1.80±0.80
½	0.2	-	-	-	-	-
½	0.5	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-	-
1	0.2	-	-	-	-	-
1	0.5	1.47±0.23	1.65±0.25	1.69±0.26	-	-
t-test		ns	ns	ns	-	-

ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

นอกจากนี้ โพรแทลลัสเริ่มมีการพัฒนาของ rhizoid ซึ่งมีลักษณะเสมือนรากขึ้นหลังเพาะเลี้ยงนาน 24 สัปดาห์ และเห็น rhizoid ชัดเจนด้วยตาเปล่าหลังเพาะเลี้ยงนาน 28 สัปดาห์ (รูปที่ 4) ซึ่งผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า อาหารสูตร ½ MS หรือ MS ที่ลดความเข้มข้นลงครึ่งหนึ่งโดยไม่ต้องเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสปอร์เฟิน และการเจริญเติบโตของโพรแทลลัสเฟินชายผ้าสีดาเขากวางตั้ง โดยอาหารสูตร ½ MS ที่ไม่เติม PGRs นี้ได้มีรายงานว่าเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเฟินชนิดอื่นๆ ในสภาพปลอดเชื้อ เช่น โพรแทลลัสเฟิน *P. tripartita* Sw [4] และกลุ่มยอด

ของเฟินชายผ้าสีดาเขากวางตั้งที่พัฒนาจากชิ้นส่วนใบชาย [7] อย่างไรก็ตาม ในเฟินบางชนิดจำเป็นต้องเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของสปอโรไฟต์ เช่น *P. tripartita* Sw ที่พบว่าสปอโรไฟต์ของเฟินชนิดนี้สามารถเจริญเติบโตได้ดีบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA kinetin หรือ GA_3 ที่ความเข้มข้น 4 mg/l [8] หรือในเฟิน *Cyathea spinnlosa* ที่พบว่าอัตราการรอดของโพรแทลลัส อัตราการเกิดแกมีโทไฟต์ และจำนวนการเกิดใบอ่อนสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงโพรแทลลัสบนอาหารสูตร ¼ MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.1 mg/l [9] ดังนั้นจึงอาจจำเป็นต้องศึกษาเพิ่มเติมถึงสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสปอโรไฟต์ของเฟินชายผ้าสีดาเขากวางตั้งต่อไป

4. สรุปผลการทดลอง

สปอร์เฟินเริ่มพัฒนาเป็นโพรแทลลัสได้เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารนาน 6 สัปดาห์ โดยโพรแทลลัสเจริญเติบโตได้ดีบนอาหารสูตร ½ MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต และมีการพัฒนาของไรซอยด์ในสัปดาห์ที่ 24 ของการเพาะเลี้ยง

5. รายการอ้างอิง

[1] ภัทรา แสงดานุช, 2559, *Platycerium* เฟินชายผ้าสีดา, พิมพ์ครั้งที่ 1, บริษัทจรัลสนิทวงศ์การพิมพ์, กรุงเทพฯ, 111 น.

[2] ปิยเกษตร สุขสถาน และจารุพันธุ์ ทองแถม, 2554, บัญชีรายการทรัพย์สินชีวภาพเฟิน, พิมพ์ครั้งที่ 1, สำนักงานพัฒนาเศรษฐกิจจากฐานชีวภาพ, กรุงเทพฯ, 523 น.

[3] ประยงค์ คงนคร, 2557, การเจริญและพัฒนาของสปอร์เฟินมหาสดำโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ , ว.แก่นเกษตร 42: 609-614.

[4] Baskaran, X. R. , Jeyachandran, R. and Melghias, G. , 2014, *In vitro* spore germination and gametophytic growth development of a critically endangered fern *Pteris tripartita* Sw., Afr. J. Biotechnol. 13: 2350-2358.

[5] Cox, J. , Bhatia, P. and Ashwath, N. , 2003, *In vitro* spore germination of the fern *Schizaea dichotoma,* Sci. Hort. 97: 369-378.

[6] Willyams, D. and Daws, M. I. , 2014, Mass propagation of Austral Bracken Fern (*Pteridium esculentum)* sporophytes from *in vitro* gametophyte cultures, S. Afr. J. Bot. 91: 6-8.

[7] นัฐชัย แย้มพิกุลสกุล, 2551, การขยายโคลนเฟินชายผ้าสีดาเขากวางตั้ง (*Platycerium ridleyi*) ในสภาพปลอดเชื้อ, วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

[8] Baskaran, X.R., Geo, V.A.V., Rajan, K. and Jeyachandran, R. , 2015, Apogamous sporophyte development through spore reproduction of South Asia's critically endangered fern: *Pteris tripartita* Sw., Asia Pac. J. Reprod. 4: 135-139.

[9] อดิศักดิ์ การพึ่งตน สุจิรดา สอนพูด และปิยเกษตร สุขสถาน, 2556, ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพาะเลี้ยงเฟิน *Cyathea contaminans* (Wall.ex.Hook.) cople และ *Cyathea apinnlosa* Wall.ex.Hook ในสภาพปลอดเชื้อ, รายงานประจำปี 2556, องค์การสวนพฤกษศาสตร์กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, 11 น.