# 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

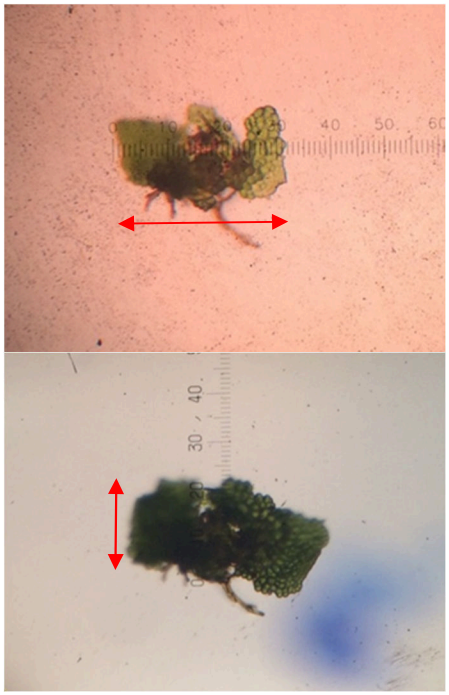
(ก)

(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**

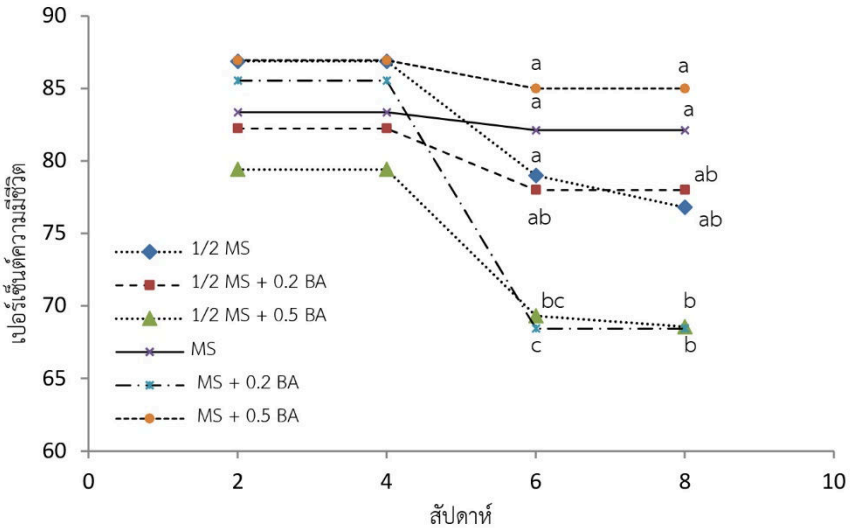
นำข้อมูลความมีชีวิตของสปอร์เฟินมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) ตามแผนการทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ด้วยโปรแกรม SAS ส่วนความกว้าง-ยาวของโพรแทลลัสใช้ t-test เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย เนื่องจากมีโพรแทลลัสพัฒนาขึ้นบนอาหารเพียง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

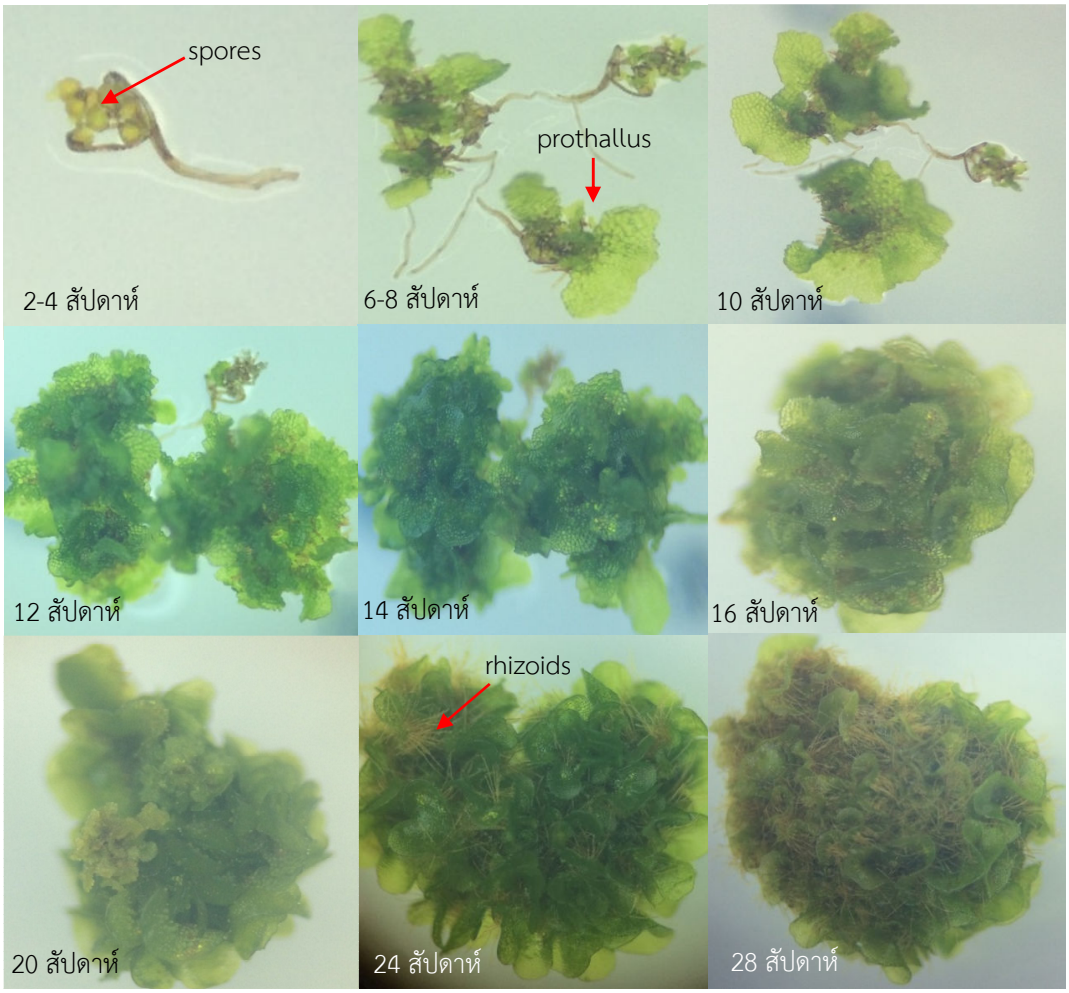



**รูปที่ 3** เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของสปอร์เฟินชายผ้าสีดาเขากวางตั้งเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½ MS และ MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 0.2 0.5 mg/l เป็นเวลา 2-8 สัปดาห์

### 3.2 การเจริญเติบโตและการพัฒนาของโพรแทลลัส

การเพาะเลี้ยงสปอร์เฟินชายผ้าสีดาเขากวางตั้งบนอาหารแต่ละสูตร พบว่าในช่วง 2-4 สัปดาห์แรก สปอร์ที่อยู่ภายในอับสปอร์ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง แต่ในสัปดาห์ที่ 6 สปอร์มีการพัฒนาเป็นโพรแทลลัสบนอาหารสูตร 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.