ผลของสารควบคุม การเจริญเติบโตต่อ การเพาะเลี้ยงเฟิน *Cyathea contaminans* (Wall. ex. Hook.) Copel. และ *Cyathea spinnlosa* Wall. ex. Hook. ในสภาพปลอดเชื้อ

โครงการขยายพันธุ์เฟินหายากและเฟินเฉพาะถิ่นของไทยบางชนิดในสภาพปลอดเชื้อเพื่อการอนุรักษ์

บทคัดย่อ

จากการศึกษาผลของสารควบคุม การเจริญเติบโตต่อ การเพาะเลี้ยงเฟิน *Cyathea contaminans* (Wall. ex. Hook.) Copel. และ *Cyathea spinnlosa* Wall. ex. Hook. ในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำโปรธัลลัสของเฟินทั้ง 2 ชนิด มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร ¼ MS ที่มีฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2, 4 – D ที่ระดับความเข้มข้น 0 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และในแต่ละสิ่งทดลองเติมน้ำตาล 15 กรัมต่อลิตร ปรับ pH เท่ากับ 5.5 พบว่าในเฟิน *C. contaminans* การไม่เติมฮอร์โมนหรือเติมฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร อัตราการรอดของโปรธัลลัส และอัตราการเกิดแกมีโทไฟต์ สูงที่สุดคือ อัตรารอดร้อยละ 100 อัตราการเกิดแกมีโทไฟต์ร้อยละ 100 ส่วนในเฟิน *C. spinnlosa* ฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร อัตราการรอดของโปรธัลลัส และอัตราการเกิดแกมีโทไฟต์ และจำนวนการเกิดใบอ่อน สูงที่สุดคือ อัตรารอดร้อยละ 100 อัตราการเกิดแกมีโทไฟต์ร้อยละ 100 และจำนวนการเกิดใบ 3.4 ใบ

ตรวจเอกสาร

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Cyathea contaminans* (Wall. ex. Hook.) Copel.
ชื่อไทย: หัวอ้ายเป็ด (ภาคกลาง)
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: ลำต้นสูง 2 – 4 เมตร เกล็ด สีน้ำตาลอ่อนยาว 2 เซนติเมตร กว้าง 0.2 เซนติเมตร ปลายแหลม ขอบมีขนแข็ง สีเข้ม ก้านใบ สีน้ำตาลอมม่วง เป็นมัน ผิวมีหนามแข็ง ยาวประมาณ 60 – 90 เซนติเมตร ใบ เป็นใบประกอบแบบขนนกสามชั้น ผิวใบด้านล่างมีนวลคล้ายแป้งสีขาว แกนใบมีหนาม พินนี่ มีจำนวน 15 -20 คู่ ยาว 60 – 70 เซนติเมตร กว้าง 22 -30 เซนติเมตร รูปขอบขนาน มีก้านแกนพินนี่สีน้ำตาลอ่อน ด้านบนมีขน ด้านล่างมีตุ่มหนามขนาดเล็ก พินนี่บริเวณโคนลดขนาดลงเล็กน้อย พินนูล มีจำนวน 20 – 30 คู่ ยาว 9 – 15 เซนติเมตร กว้าง 2 – 3 เซนติเมตร รูปขอบขนานปลายใบแหลม ฐานเบี้ยว ขอบแฉกลึกเกือบถึงเส้นกลางใบ เนื้อใบ คล้ายแผ่นกระดาษ เส้นใบแบบขนนกอิสระ กลุ่มอับสปอร์ อยู่ตรงง่ามของเส้นใบ เรียงขนานใกล้เส้นกลางแฉก ไม่มีเยื่อคลุมอับสปอร์ (จันทิรา, 2545)
ชื่อวิทยาศาสตร์: *Cyathea spinnlosa* Wall. ex. Hook.
ชื่อท้องถิ่น: กูดต้นดอยปุย (จารุพันธ์, 2539)

ลักษณะทางพฤกษศาตร์: ลำต้นสูง 1 – 2 เมตร เกล็ด มีสีน้ำตาลเข้ม เป็นมัน ค่อนข้างหนา ยาว 2 เซนติเมตร กว้าง 0.2 เซนติเมตร รูปสามเหลี่ยม ปลายเรียวแคบเป็นเส้น ขอบรุ่ย ก้านใบ โคนสีน้ำตาลแดง ถัดไปทางปลายใบ สีเขียวอมน้ำตาล ยาวประมาณ 50 – 70 เซนติเมตร มีหนามแข็งกระจายตลอดด้านล่างของก้านใบ ด้านบนผิวหยาบไม่มีหนาม มีเกร็ดประปราย ใบ ใบประกอบแบบขนนกสามชั้น พินนี่ ยาว 45 – 60 เซนติเมตร กว้าง 20 เซนติเมตร รูปขอบขนาน มีก้านสั้น พินนูล มีจำนวน 20 – 30 คู่ แกนพินนูลสีเดียวกับก้านใบ ยาวประมาณ 8 – 12 เซนติเมตร กว้าง 1.5 เซนติเมตร รูปขอบขนาน ปลายยาวคล้ายหาง ฐานใบเบี้ยวส่วนใหญ่ไม่มีก้านใบ ขอบใบเป็นแฉกลึกเกือบถึงเส้นกลางใบ เนื้อใบค่อนข้างหนา เส้นใบ แบบขนนกอิสระ กลุ่มอับสปอร์ อยู่ตรงง่ามของเส้นใบ มีเยื่อคลุมอับสปอร์บางๆ (จันทิรา, 2545)

สารควบคุมการเจริญเติบโตที่นิยมนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีอยู่ด้วยกัน 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มออกซินและกลุ่มไซโตไคนิน ซึ่งออกซิน มีผลในการแบ่งเซลล์ การขยายขนาดของเซลล์ กระตุ้นการสร้างจุดกำเนิดของราก ส่วนไซโตไคนินนั้น ช่วยในการแบ่งเซลล์ การกระตุ้นการพัฒนาของตาพืช กระตุ้นการเกิดแคลลัส และส่งเสริมการพัฒนาของแคลลัสเป็นต้น (พีรเดช, 2537; Pierik, 1989) การใช้ออกซินและไซโตไคนินร่วมกันในปริมาณและสัดส่วนต่างๆ มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานของชิ้นส่วนพืชที่นำมาใช้เพาะเลี้ยง โดยอิทธิพลจะแตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดพืช โดยถ้าสัดส่วนของไซโตไคนินต่อออกซินสูงขึ้น จะมีการกระตุ้นการกำเนิดและเปลี่ยนแปลงพัฒนาเป็นยอด หรือถ้าสัดส่วนของไซโตไคนินต่อออกซินลดลง จะกระตุ้นการกำเนิดและเปลี่ยนแปลงพัฒนาเป็นราก กรณีที่ใช้ในปริมาณมาก ออกซินและไซโตไคนิน จะทำให้เกิดแคลลัส (Pierik, 1989; Razdan, 2003)

อุปกรณ์และสารเคมี

1. โปรธัลลัสของเฟิน *Cyathea contaminans และ Cyathea spinnlosa*
2. อุปกรณ์สำหรับปฏิบัติงานภายในตู้ปลอดเชื้อ (Lamina air flow cabinet) เช่น ปากคีบ (forceps) มีดผ่าตัด (Sealpel) ตะเกียงแอลกฮอล์ จานแก้ว (Petri dish) เป็นต้น
3. อุปกรณ์สำหรับเตรียมอาหารเพาะเลี้ยง เช่น เครื่องชั่งชนิดทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง เครื่องวัดความเป็นกรด – เบส (pH meter) หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave) เครื่องคนสารแบบมีแม่เหล็ก (magnetic stirrer) บีกเกอร์ แท่งแก้วคนสาร และขวดทรงกลมขนาดต่างๆ สำหรับใส่อาหารเพาะเลี้ยง
4. สารเคมีสำหรับฆ่าเชื้อ เอธานอลเข้มข้น 95 และ 70 เปอร์เซ็นต์
5. สารเคมีที่ใช้สำหรับเตรียมอาหารตามสูตร Murashige and Skoog (1962) สารควบคุมการเจริญเติบโต *N*-phenyl-*N*'-1, 2, 3,-thiadiazol-5-yl urea (TDZ) และ 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid (2, 4-D)
6. โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ความเข้มข้น 1 นอร์มอล กรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 1 นอร์มอล น้ำตาลซูโครส น้ำกลั่น น้ำมะพร้าว ผงถ่าน และผงวุ้น

10. อุปกรณ์ในการบันทึก เช่น กระดาษ ปากกา ไม้บรรทัด กล้องถ่ายรูป เป็นต้น

แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ 3 x 3 Factorial in Completely Randomized Design โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ปัจจัย คือ เติม *N*-phenyl-*N*'-1, 2, 3,-thiadiazol-5-yl urea (TDZ) 3 ระดับ (0 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) และ 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid (2, 4-D) 3 ระดับ (0 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร) รวมทั้งสิ้น 9 สิ่งทดลอง

วิธีการทดลอง

เตรียมอาหารวุ้นสูตร¼ Murashige and Skoog (1962) ทำการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตตามแต่ละสิ่งทดลองที่ได้กำหนดไว้ และในแต่ละสิ่งทดลองเติมน้ำตาล 15 กรัมต่อลิตร ปรับ pH เท่ากับ 5.5 นำโปรธัลลัสมาเพาะ เลี้ยงบนอาหารที่ได้เตรียมไว้ตาม แผนการทดลองข้างต้น นำขวดทดลองที่ทำการเพาะเลี้ยงเรียบร้อยแล้ว ไปวางบนชั้นภายในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทำการบันทึกข้อมูล

การบันทึกข้อมูล

1. อัตรารอด: คำนวณจากจำนวนโปรธัลลัสที่ได้ทำการเพาะเลี้ยงกับจำนวน โปรธัลลัสคงเหลือหลังสิ้นสุดการทดลอง
2. อัตราการเกิดแกมีโทไฟต์: สังเกตการณ์การพัฒนาขยายตัวของแกมีโทไฟต์ทุกด้าน
3. จำนวนยอด: นับยอดที่เกิดขึ้นจากชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยง

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลค่าสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ แสดงผลในรูปของตาราง ANOVA โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ ละค่าสังเกตโดยวิธี Duncan 's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการทดลอง

จากการศึกษาสารควบคุม การเจริญเติบโตต่อ การเพาะเลี้ยงเฟิน *C. contaminans* ในสภาพปลอดเชื้อที่มีระดับความเข้มข้นของ TDZ 3 ระดับคือ 0 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าอัตรารอด ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยการไม่เติมฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0. 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการรอด

เท่ากันคือ ร้อยละ 40 ส่วนของอัตราการเกิดแกมีโทไฟต์ พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น95 เปอร์เซ็นต์ โดยการไม่เติมฮอร์โมน
มีอัตราการ เกิดแกมีโทไฟต์ สูงที่สุดคือ ร้อยละ 96.7 ซึ่งมีความแตกต่างกับ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีอัตราการ เกิดแกมีโทไฟต์ ร้อยละ 90 และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0. 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการเกิดแกมีโทไฟต์ น้อยที่สุดคือ ร้อยละ 75 ในส่วนของจำนวนการเกิดใบอ่อน ในการทดลองในครั้งนี้ไม่สามารถชักนำให้เกิดใบอ่อนได้ (ตารางที่ 1, รูปที่ 1)

ในส่วนของ 2, 4 – D ที่ระดับความเข้มข้น 0 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าอัตรารอด มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น95 เปอร์เซ็นต์ โดยการไม่เติมฮอร์โมน มีอัตราการรอดสูงที่สุดคือ ร้อยละ 100 ซึ่งมีความแตกต่างกับ 2, 4 – D ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการรอด ร้อยละ 20 และ 2, 4 – D ที่ระดับความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่พบการรอดของ โปรธัลลัส ส่วนของอัตราการเกิดแกมีโทไฟต์ พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยการไม่เติมฮอร์โมน มีอัตราการเกิดแกมีโทไฟต์ สูงที่สุดคือ ร้อยละ 94 ซึ่งมีความแตกต่างกับ 2, 4 – D ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีอัตราการ เกิดแกมีโทไฟต์ ร้อยละ 53.3 ในส่วนของจำนวนการเกิดใบอ่อน การทดลองในครั้งนี้ไม่สามารถชักนำให้เกิดใบอ่อนได้ (ตารางที่ 1, รูปที่ 1)

อิทธิพลร่วมของสารควบคุมการเจริญเติบโต

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างสารควบคุมการเจริญเติบโต 2 ชนิด คือ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2, 4 – D ที่ระดับความเข้มข้น 0 1 และ 2มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าอัตรารอด มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยการไม่เติมฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0. 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการรอดสูงที่สุดคือ ร้อยละ 100 ซึ่งมีความแตกต่างกับ 2, 4 – D ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2, 4 – D ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2, 4 – D ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีอัตราการรอดเท่ากันคือ ร้อยละ 20 และ 2, 4 – D ที่ระดับความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2, 4 – D ที่ระดับความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2, 4 – D ที่ระดับความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่พบการรอดของ โปรธัลลัส ส่วนของ อัตราการเกิด แกมีโทไฟต์ พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยการไม่เติมฮอร์โมน และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการอัตราการเกิดแกมีโทไฟต์สูงที่สุดคือ ร้อยละ 100 ซึ่งมีความแตกต่างกับ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2, 4 – D ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีอัตราการเกิดแกมีโทไฟต์ ร้อยละ 82 และ 80 ตามลำดับ และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2, 4 – D ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0. 5 มิลลิกรัม

ต่อลิตร ร่วมกับ 2, 4 – D ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มี อัตราการเกิด แกมีโทไฟต์ น้อยที่สุดคือ ร้อยละ 40 ในส่วนของจำนวนการเกิดใบอ่อน การทดลองในครั้งนี้ไม่สามารถชักนำให้เกิดใบอ่อนได้ (ตารางที่ 1, รูปที่ 1)

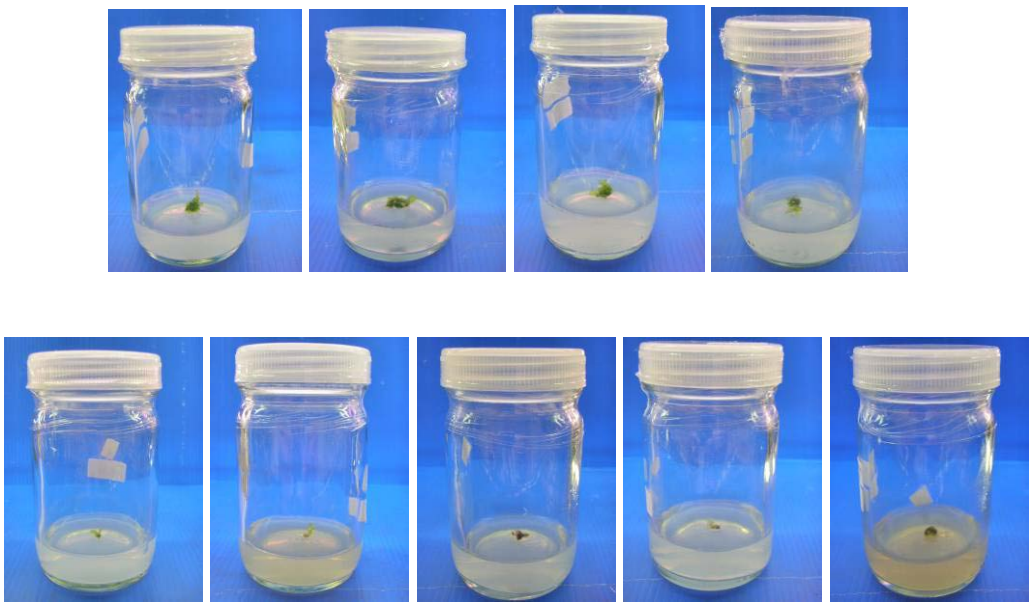
<u>ตารางที่ 1</u> แสดงการพัฒนาของโปรธัลลัส *Cyathea contaminans* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

สิ่งทดลอง		อัตรารอด	อัตราการเกิดแกมีโทไฟต์	จำนวนการเกิดใบ
TDZ	2, 4 - D			-
0	0	100.0 [a]	100.0 [a]	-
0.1	0	100.0 [a]	100.0 [a]	-
0.5	0	100.0 [a]	82.0 [b]	-
0	1	20.0 [b]	80.0 [c]	-
0.1	1	20.0 [b]	40.0 [d]	-
0.5	1	20.0 [b]	40.0 [d]	-
0	2	0.0 [c]	-	-
0.1	2	0.0 [c]	-	-
0.5	2	0.0 [c]	-	-
F-test		**	**	-
TDZ	0	40.0	96.7 [a]	-
	0.1	40.0	90.0 [b]	-
	0.5	40.0	75.0 [c]	-
F-test		ns	**	-
2, 4 - D	0	100.0 [a]	94.0 [a]	-
	1	20.0 [b]	53.3 [b]	-
	2	0.0 [c]	-	-
F-test		**	**	-

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสด งว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์



<u>รูปที่ 1</u> แสดงการพัฒนาของโปรธัลลัส *Cyathea contaminans* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

จากการศึกษาสารควบคุม การเจริญเติบโตต่อ การเพาะเลี้ยงเฟิน ***C. spinnlosa*** ในสภาพปลอดเชื้อที่มีระดับความเข้มข้นของ TDZ 3 ระดับคือ 0 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าอัตรารอด ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยการไม่เติมฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0. 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการรอดเท่ากันคือ ร้อยละ 36.7 ส่วนของอัตราการเกิดแกมีโทไฟต์ พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น95 เปอร์เซ็นต์ โดยการไม่เติมฮอร์โมน
และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการ เกิดแกมีโทไฟต์ สูงที่สุดคือ ร้อยละ 94.5 และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการเกิดแกมีโทไฟต์ น้อยที่สุดคือ ร้อยละ 70 ในส่วนของจำนวนการเกิดใบอ่อน พบว่า TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดใบอ่อนมากที่สุดคือ 3.4 ใบ รองลงมาคือการไม่เติมฮอร์โมน มีการเกิดใบอ่อน 2.5 ใบ (ตารางที่ 2, รูปที่ 2 - 3)

ในส่วนของ 2, 4 – D ที่ระดับความเข้มข้น 0 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าอัตรารอด มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น95 เปอร์เซ็นต์ โดยการไม่เติมฮอร์โมน มีอัตราการรอดสูงที่สุดคือ ร้อยละ 100 ซึ่งมีความแตกต่างกับ 2, 4 – D ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการรอด ร้อยละ 10 และ 2, 4 – D ที่ระดับความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่พบการรอดของ โปรธัลลัส ส่วนของอัตราการเกิดแกมีโทไฟต์ พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95

เปอร์เซ็นต์ โดยการไม่เติมฮอร์โมน มีอัตราการเกิดแกมีโทไฟต์ สูงที่สุดคือ ร้อยละ 90 ซึ่งมีความแตกต่างกับ 2, 4 – D ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีอัตราการ เกิดแกมีโทไฟต์ ร้อยละ 40 ในส่วนของจำนวนการเกิดใบอ่อน พบว่าการไม่เติมฮอร์โมน มีการเกิดใบอ่อน 3.1 ใบ (ตารางที่ 2, รูปที่ 2 - 3)

อิทธิพลร่วมของสารควบคุมการเจริญเติบโต

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างสารควบคุมการเจริญเติบโต 2 ชนิด คือ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2, 4 – D ที่ระดับความเข้มข้น 0 1 และ 2มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าอัตรารอด มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยการไม่เติมฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0. 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการรอดสูงที่สุดคือ ร้อยละ 100 ซึ่งมีความแตกต่างกับ 2, 4 – D ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2, 4 – D ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2, 4 – D ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีอัตราการรอดเท่ากันคือ ร้อยละ 10 และ 2, 4 – D ที่ระดับความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2, 4 – D ที่ระดับความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2, 4 – D ที่ระดับความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่พบการรอดของ โปรธัลลัส ส่วนของ อัตราการเกิด แกมีโทไฟต์ พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยการไม่เติมฮอร์โมน และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการอัตราการเกิดแกมีโทไฟต์สูงที่สุดคือ ร้อยละ 100 ซึ่งมีความแตกต่างกับ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีอัตราการเกิดแกมีโทไฟต์ ร้อยละ 70 และ 2, 4 – D ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2, 4 – D ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มี อัตราการเกิด แกมีโทไฟต์ น้อยที่สุดคือ ร้อยละ 40 ในส่วนของจำนวนการเกิดใบอ่อน พบว่า TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดใบอ่อนมากที่สุดคือ 3.4 ใบ รองลงมาคือการไม่เติมฮอร์โมน มีการเกิดใบอ่อน 2.5 ใบ (ตารางที่ 2, รูปที่ 2 - 3)

<u>ตารางที่ 2</u> แสดงการพัฒนาของโปรธัลลัส *Cyathea spinnlosa* Wall. ex. Hook.ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหาร ¼ MS ที่มีฮอร์โมน TDZ และ 2, 4 – D ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน

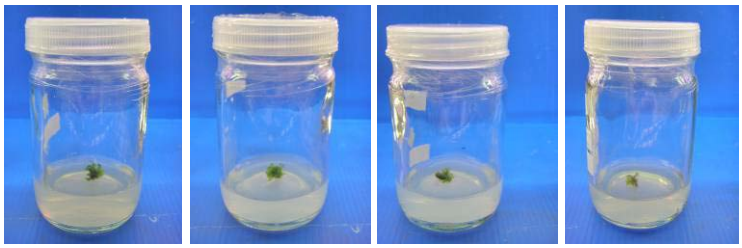
สิ่งทดลอง		อัตรารอด	อัตราการเกิดแกมีโทไฟต์	จำนวนการเกิดใบ
TDZ	2, 4 - D			
0	0	100.0 [a]	100.0 [a]	2.5

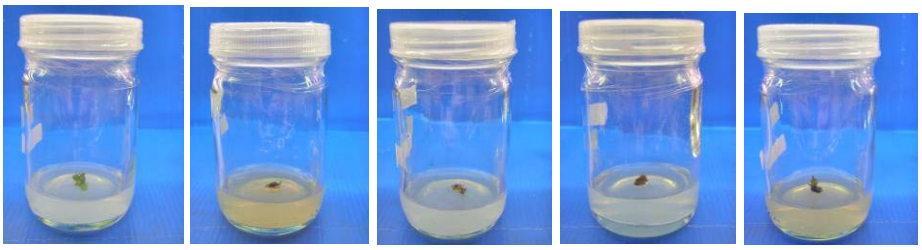
0.1	0	100.0 [a]	100.0 [a]	3.4
0.5	0	100.0 [a]	70.0 [ab]	-
0	1	10.0 [b]	40.0 [b]	-
0.1	1	10.0 [b]	40.0 [b]	-
0.5	1	10.0 [b]	-	-
0	2	0.0 [b]	-	-
0.1	2	0.0 [b]	-	-
0.5	2	0.0 [b]	-	-
F-test		**	**	-
TDZ	0	36.7	94.5 [a]	2.5
	0.1	36.7	94.5 [a]	3.4
	0.5	36.7	70.0 [b]	-
F-test		ns	**	-
2, 4 - D	0	100.0 [a]	90.0 [a]	3.14
	1	10.0 [b]	40.0 [b]	-
	2	0.0 [c]	-	-
F-test		**	**	-

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

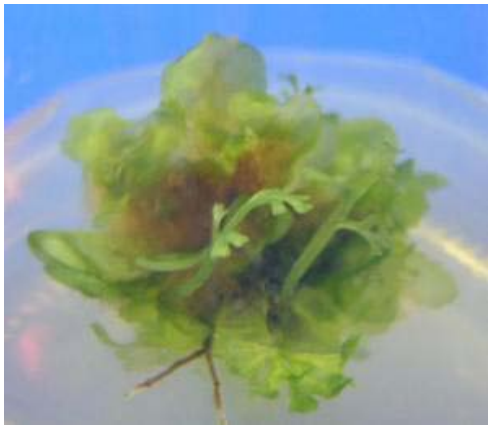
ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์





<u>รูปที่ 2</u> แสดงการพัฒนาของโปรธัลลัส *Cyathea spinnlosa* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหาร ¼ MS ที่มีฮอร์โมน TDZ และ 2, 4 – D ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน



<u>รูปที่ 3</u> แสดงการเกิดใบอ่อนของโปรธัลลัส *Cyathea spinnlosa* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหาร ¼ MS ที่มีฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของสารควบคุม การเจริญเติบโตต่อ การเพาะเลี้ยงเฟิน *C. contaminans* และ *C. spinnlosa* ในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำโปรธัลลัสของเฟินทั้ง 2 ชนิด มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร ¼ MS ที่มีฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2, 4 – D ที่ระดับความเข้มข้น 0 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าในเฟิน *C. contaminans* การไม่เติมฮอร์โมน หรือเติมฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร อัตราการรอดของโปรธัลลัส และอัตราการเกิดแกมีโทไฟต์ สูงที่สุดคือ อัตรารอดร้อยละ 100 อัตราการเกิดแกมีโทไฟต์ร้อยละ 100 ส่วนในเฟิน *C. spinnlosa* ฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร อัตราการรอดของโปรธัลลัส และอัตราการเกิดแกมีโทไฟต์ และจำนวนการเกิดใบอ่อน สูงที่สุดคือ อัตรารอดร้อยละ 100 อัตราการเกิดแกมีโทไฟต์ร้อยละ 100 และจำนวนการเกิดใบ 3.4 ใบ ตามลำดับ ในส่วนของการเติมสาร 2, 4 – D ที่ระดับความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ชิ้นส่วนโปรธัลลัสของเฟินทั้ง 2 ชนิดตายไป ซึ่งอาจเกิดจากการใช้ออกซินในความเข้มข้นสูง เช่น 2, 4 – D, MCPA และ picloram ที่มีคุณสมบัติเป็นสารกำจัดวัชพืช (สมบุญ, 2548) รวมทั้งการใช้ร่วมกับ TDZ ที่มีระดับความเข้มข้นสูงเกินไปจึงทำให้เกิดผลในทางยับยั้งหรือเป็นพิษต่อพืชได้ (Murthy *et al*., 1995; Hutchison *et al*., 1996a) ดังนั้นการนำ TDZ และ 2, 4 – D มาใช้ส่งเสริมหรือยับยั้งการเกิดยอดจากชิ้นส่วน

ของพืชนั้น ขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นที่ (Chen *et al*., 2004) ชนิดและพันธุกรรมของพืชอีกด้วย (Kane, 2005) สอดคล้องกับการทดลองชักนำให้เกิดยอดจากใบอ่อนในเฟินชายผ้าสีดาเขากวางใบตั้ง (*P. ridleyi*) พบว่า BA ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีคะแนนการรอดชีวิตต่ำที่สุด ซึ่งอาจเป็นเพราะ BA ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นความเข้มข้นที่สูงเกินไป จนเป็นพิษต่อชิ้นส่วนใบชายผ้าสีดาเขากวางตั้ง (นัฐชัย , 2551) แต่มีความแตกต่างกับการทดลองการชักนำให้เกิดยอดจากใบ *Platycerium bifurcatum* ที่พบว่าการใช้ฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้น 5 และ 10 μM (ประมาณ 1.13 และ 2.25 มิลลิกรัมต่อลิตร) สามารถส่งเสริมการพัฒนาของใบได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (Camloha *et al*., 1994) เช่นเดียวกับการทดลองในการเพาะเลี้ยงแกมิโตไฟต์ของเฟินชายผ้าสีดาปักษ์ใต้ ในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ทีไม่เติมและเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ความเข้มข้นต่างๆกัน คือ BA ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 5.0 7.5 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ /หรือ เติม 2, 4 – D ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าแกมิโตไฟล์สามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ 2, 4 – D ทุกระดับความเข้มข้น (สมพร , 2539) เช่นเดียวกับการทดลองใน Staghorn fern (*P. bifurcatum*) ที่พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์ วุ้น 0.9 เปอร์เซ็นต์ pH 7.0 และเติมฮอร์โมน NAA 0.54 μM ร่วมกับ kinetin 9.3 μM สามารถเพิ่มจำนวนยอดที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อได้ดีที่สุด (Pevalek-Kozlina, 1996)

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของสารควบคุม การเจริญเติบโตต่อ การเพาะเลี้ยงเฟิน *C. contaminans* และ *C. spinnlosa* ในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำโปรธัลลัสของเฟินทั้ง 2 ชนิด มาเพาะเลี้ยงในอาหาร ¼ MS ที่มีฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2, 4 – D ที่ระดับความเข้มข้น 0 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าในเฟิน *C. contaminans* การไม่เติมฮอร์โมน หรือเติมฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการรอดของโปรธัลลัส และอัตราการเกิดแกมีโทไฟต์ สูงที่สุดคือ อัตรารอดร้อยละ 100 อัตราการเกิดแกมีโทไฟต์ร้อยละ 100 ส่วนในเฟิน *C. spinnlosa* ฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร อัตราการรอดของโปรธัลลัส และอัตราการเกิดแกมีโทไฟต์ และจำนวนการเกิดใบอ่อน ดีที่สุดคือ อัตรารอดร้อยละ 100 อัตราการเกิดแกมีโทไฟต์ ร้อยละ 100 และจำนวนการเกิดใบ 3.4 ใบ ตามลำดับ

บรรณานุกรม

จันทิรา หุตินันท์. 2545. **การศึกษาสัณฐานวิทยาของเฟินใน สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ จังหวัดเชียงใหม่**. กรุงเทพฯ : วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 207 น.

จารุพันธุ์ ทองแถม . 2539. **เฟิน: ต้นตระกูลไม้ประดับ ฉบับปรับปรุงและเพิ่มเติม** . กรุงเทพฯ : อัมรินทร์พริ้นติ้งกรุ๊ฟ. 216 น.

นัฐชัย แย้มพิกุลสกุล . 2551. **การขยายโคลนเฟินชายผ้าสีดาเขากวางตั้ง (*Platycerium ridleyi* H. Christ.) ในสภาพปลอดเชื้อ**. กรุงเทพฯ : วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 70 น.

พีรเดช ทองอำไพ . 2537. **ฮอร์โมนพืชและสารสังเคราะห์ แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย** . กรุงเทพฯ: วิชัยการพิมพ์.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2548. **สรีรวิทยาของพืช** . พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ : จามจุรีโปรดักท์. 252 น.

สมพร จันทเดช . 2539. **การศึกษาการเพาะเลี้ยงสปอร์เฟินชายผ้าสีดาและเฟินข้าหลวงหลัง ลายในอาหารวุ้น**. สงขลา: วารสารสงขลานครินทร์. 18 (3): 275 – 285.

Camloha, M., N. Gogala and J. Rode. 1994. Plant regeneration form leaf explants of the fern Platycerium bifurcatum *in vitro*. **Scientia Horticulturae**. 289: 89 – 90.

Chen, T.Y., J.T. Chen and W.C. Chang. 2004. Plant regeneration through direct shoot bud formation from leaf cultures of *Paphiopedilum* orchid. **Plant cell**, **Tissue and Organ Culture**. 76: 11-15.

Hutchinson, M. J., S. J. Murch and P.K. Saxena. 1996. Morphoregulatory role of thidiazuron: evidence of the involvement of endogenous auxin in thidiazuron – induced somatic embrogenesis of geranium (Perlargonium x hortorum Baile). **Journal of plant Physiology** 149: 573 – 579.

Kane, M. E. 2005. Shoot culture procedures, pp. 145 – 147. *In* R. N. Trigiano and D. J. Gray, eds. **Plant Development and Biotechnology**. Florida: CRC Press LLC.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiol Plant** 15: 473 – 497.

Murthy, B. N. S., S. J. Murch and P. K. Saxena. 1995. Thidiazuron – induced somatic embryogenesis in intact seedling of peanut (Arachis hypogaqea L.): endogenous growth regulator levels and significance of cotyledon. **Physiology Plantrarum** 94: 268 – 276.

Pierik, R. L. M. 1989. ***In Vitro* Culture of Higher Plants**. Netherlands: 2nd ed. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht.

Pevalek-Kozlina, B. 1996. Effect of sucrose and agar concentration, and medium pH on staghorn fern (*Platycerium bifurcatum* (Chr.) C. Cav.) shoot multiplication. **HortScience**. 28: 18 – 20.

Razdan, M. K. 2003. **Introduction to Plant Tissue Culture**. USA: 2nd ed. Science Publishers. Inc., Enfield, New Hampshire.