

การขยายพันธุ์กูดต้นก้านหนาม

โครงการขยายพันธุ์เฟินหายากและเฟินเฉพาะถิ่นของไทยบางชนิดในสภาพปลอดเชื้อเพื่อการอนุรักษ์

In vitro propagation of some rare and endemic Thai ferns for conservation

ศุภมาณี เวสสบุตร ปิยะเกษตร สุขสถาน และพัชรภา กล้ามทิม

องค์การสวนพฤกษศาสตร์



Cyathea spinulosa

เฟินเป็นพืชไร้ดอกที่มีวงชีวะจักรแบบสลับและต้องการความชื้นสูงในการดำรงชีพ ดังนั้นจึงมีความเปราะบางอย่างยิ่งต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม ปัจจุบันถิ่นที่อยู่ในธรรมชาติของเฟินจำนวนมากกำลังถูกคุกคามจากการขยายตัวของสังคมเมือง การใช้ทรัพยากรอย่างฟุ่มเฟือย การเปลี่ยนแปลงของสภาพอากาศโลกซึ่งทำให้ความถี่ของการเกิดไฟป่าเพิ่มมากขึ้นและเกิดความผันแปรของฤดูกาล รวมถึงการถูกรบกวนออกมาขายโดยตรงจากป่า ภาวะต่างๆเหล่านี้ส่งผลให้เฟินค่อยๆลดจำนวนลง กระทั่งหลายชนิดตกอยู่ในสภาพเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีพืชกลุ่มเฟินเป็นจำนวนมากเนื่องจากตั้งอยู่ในพื้นที่ที่มีความหลากหลายของสภาพภูมิประเทศและภูมิอากาศ โดยมีรายงานพบพืชกลุ่มเฟินมากกว่า 700 ชนิด ในจำนวนนี้ประมาณ 10-15 % เป็นเฟินหายากและเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์และหนึ่งในนั้นคือ *Cyathea spinulosa*

กูดต้นก้านหนาม *Cyathea spinulosa* Wall. ex. Hook.

ชื่อพ้อง : *Alsophila spinulosa*, *A. spinulosa*

ชื่ออื่น : กูดต้นคอยสุเทพ, กูดต้นก้านหนาม

กูดต้นก้านหนาม ในธรรมชาติ อยู่ในบริเวณที่ชุ่มชื้นสูง มีร่มเงา ในป่าดิบเขา ที่ระดับไม่สูงมาก ราว 700 ม. หากป่าถูกทำลาย จะไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ต่อไปได้ในสภาพที่อากาศแห้งแล้ง

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลำต้นเหง้าเป็นแท่งสูง ได้ถึง 3 ม. หรือมากกว่า เส้นผ่าศูนย์กลาง ราว 15 ซม.

ก้านใบ สีม่วงเข้ม บริเวณโคนเป็นปุ่มหนามหนาแน่น ผิวด้านในสีเขียว มีเกล็ดแข็ง สีน้ำตาลเข้มเป็นเงามัน มีหนามที่พัฒนามาจากโคนของเกล็ด



Petiole

ลักษณะใบ เป็นใบประกอบขนนก 2 ชั้น มีใบย่อยด้านข้างจำนวนมาก ใบย่อยคู่ล่างลดขนาด แขนงใบย่อย มีเกล็ด ใบย่อยชั้นที่สอง รูปหอก ปลายสอบแหลม โคน รูปลิ้มอย่างกว้าง ไม่มีก้านใบย่อย ขนาดยาว 8 ซม. กว้าง 1.8 ซม. ขอบใบแตกหักลึกเกือบถึงแกนใบย่อย ส่วนแฉกริมขอบใบย่อย เป็นหยักซี่ฟันห่างๆ เส้นกลางใบมีเกล็ดบ้างที่ผิวล่าง แต่ไม่มีขน เกล็ดลักษณะ สีน้ำตาลซีด เส้นกลางส่วนแฉกและด้านใต้ใบมีขนเล็กๆ

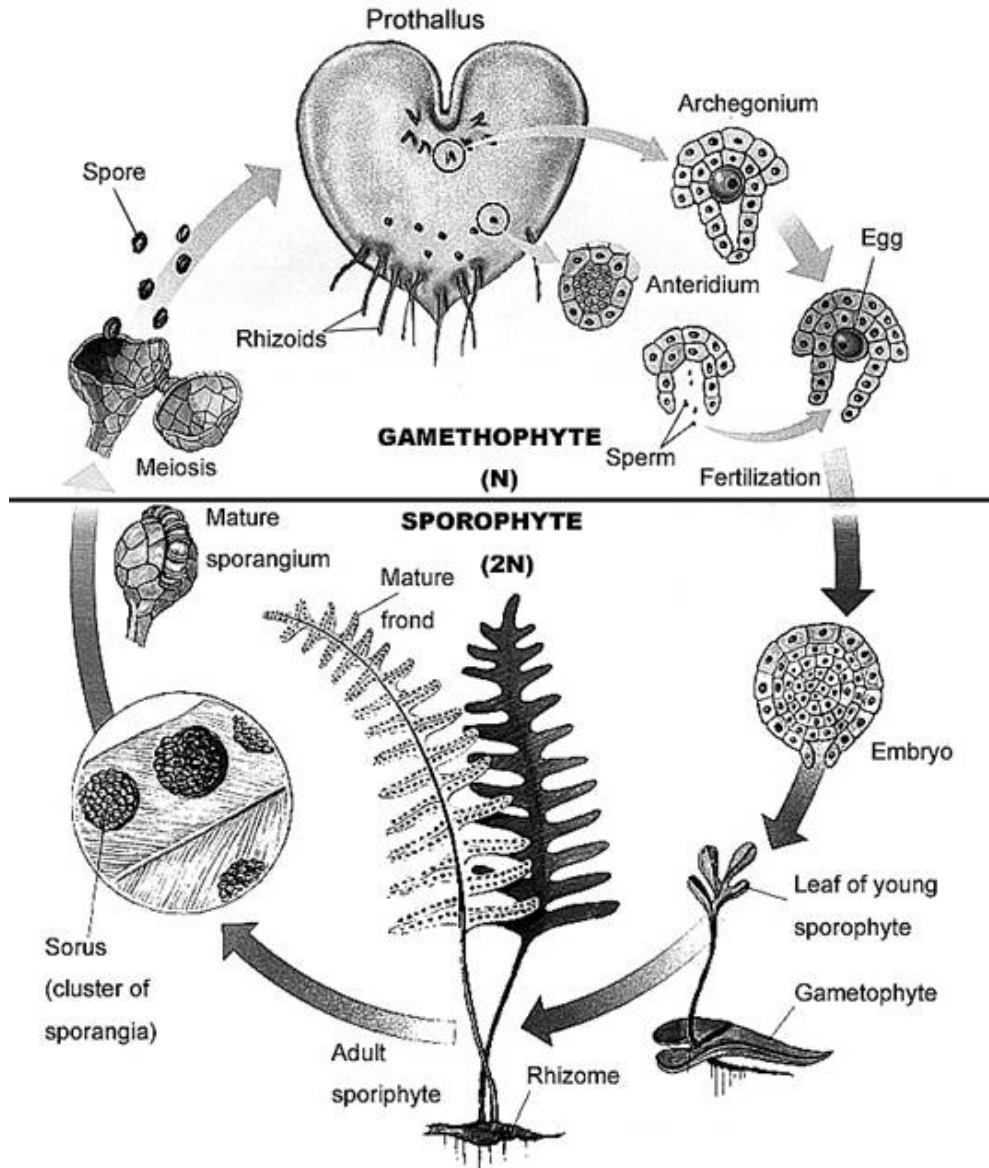


กลุ่มอับสปอร์ อยู่ซิดเส้นกลางของส่วนแฉก มีเยื่ออินดูเซีย รูปถ้วยกลม เปลือยด้านบน

SPORE

วงชีวิตของเฟิน

แผนภาพแสดงวงชีวิตของเฟิน



ที่มา : <http://kentsimmons.uwinnipeg.ca/16cm05/16labman05/lb3pg6.htm>

เฟินมีวงจรชีวิตแยกเป็น 2 ตอนชัดเจน ดังรูป ตอนหนึ่งไม่เกี่ยวข้องกับเพศเรียกว่าระยะสปอโรไฟต์ (sporophyte) ต้นเฟินมีราก ต้นและใบ(fronds)เห็นได้ชัด อีกตอนหนึ่งเกี่ยวข้องกับเพศหรือการสืบพันธุ์เรียกว่า ระยะแกมีโตไฟต์(gametophyte)ต้นเฟินจะมีขนาดเล็กเห็นได้ไม่ชัด ไม่มีราก ต้นและใบให้เห็น ต้นเฟินระยะนี้ เรียกว่า โพรทัลเลียม (prothallium)

สปอร์เกิดขึ้นได้ใบเป็นกลุ่มก้อนเรียกว่าสปอร์แรงเจีย (sporangia)หรืออับสปอร์(sporecases) เห็นเป็น จุดสีน้ำตาล กลุ่มของสปอแรงเจียเรียกว่า ซอไร (sori) บางครั้งมีสิ่งห่อหุ้มเรียกว่า อินดูเซียม (indusium)ในแต่ ละสปอแรงเจียมี spore mother cell 16 อันแต่ละอันผ่านกระบวนการไมโอซิสให้สปอร์ 4 สปอร์แต่ละสปอร์มี โครโมโซม n ซึ่งเป็นครึ่งหนึ่งของโครโมโซมปกติ

เมื่อสปอร์แก่และแตกออกมาพบสภาพที่มีอุณหภูมิและความชื้นเหมาะสมจะงอกโปรทัลลัส (prothallus)ซึ่งเป็นกลุ่มเซลล์สีเขียวรูปร่างแบนพร้อมโครงสร้างคล้ายรากที่เรียกว่าไรซอยด์(rhizoids)เมื่ออายุได้ 3 เดือนจะมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเพียง $\frac{1}{4}$ นิ้ว ต่อมาจะมีโครงสร้างเพศผู้เรียกว่าแอนเทอริเดีย (antheridia)และ โครงสร้างเพศเมียเรียกว่า อาร์คีโกเนีย(archegonia)เกิดขึ้นที่ได้โปรทัลลัสในสภาพที่ความชื้นพอถ้าเซลล์เพศผู้ แตกมาพบกับอาร์คีโกเนียและผสมกับไข่ก็จะได้ไซโกต

ไซโกตจะเจริญเป็นเอ็มบริโอซึ่งเติบโตเป็นต้นเฟิน(sporophyte)มีโครโมโซม $2n$ ในตอนแรก เอ็มบริโอ สร้างอวัยวะคล้ายรากที่เรียกว่าฟุต(foot)ทำหน้าที่ดูดน้ำและอาหารจากโปรทัลลัส แล้วเกิดรากซึ่งเติบโตลงไปใน ดินและสร้างใบแรกทำหน้าที่เป็นอวัยวะสำหรับสังเคราะห์แสงชั่วคราวและมีต้นซึ่งพัฒนาเป็นไรโซมมีใบและ รากถาวร(นันทิยา,2553)

การศึกษาการเพาะสปอร์เฟิน *Cyathea spinulosa* ในสภาพปลอดเชื้อ

ปัจจุบันความก้าวหน้าทางเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนาชนิดได้กลายเป็นเครื่องมือสำคัญของการขยายพันธุ์และการพัฒนาพืชชนิดใหม่ สารเคมีที่หาได้ง่ายและนิยมใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อคือโซเดียมไฮโปคลอไรท์และไฮเตอร์ โดยใช้ความเข้มข้นระหว่าง 10-20% เวลาที่ฟอกคือ 15-30 นาที ขึ้นกับชนิดของชิ้นส่วนพืช การใส่ tween 20 หรือ tween 80 ด้วย 4-5 หยดจะช่วยให้การฟอกล้างเนื้อเยื่อบางชนิดได้ดีขึ้น หลังจากฟอกเสร็จก็ล้างด้วยน้ำสะอาดที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้วเพื่อล้างสารฟอกออกให้หมด ขั้นตอนนี้ต้องทำในตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ (laminar flow hood) ภาชนะและอุปกรณ์ทุกชิ้นที่จะใช้ในการนำเนื้อเยื่อลงเลี้ยงในอาหารจะต้องสะอาดปราศจากการปนเปื้อนใดๆ (อารีย์, 2541)

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการทดสอบเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนจากการฟอกสปอร์เฟิน *Cyathea spinulosa* โดยใช้สารละลาย clorox ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปใส่เครื่อง centrifuge 1000 rpm 5 นาที และ ล้างด้วยน้ำกลั่น โดยนำไปใส่เครื่อง centrifuge 1000 rpm 5 นาที 3 ครั้ง จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหารวุ้น 1/2 MS ที่เตรียมไว้ โดยทำในตู้ปลอดเชื้อ ผลการศึกษาพบว่าการทำ surface sterilization กับเฟิน *Cyathea spinulosa* ทำให้สปอร์สามารถพัฒนาไปเป็น gametophyte ได้ภายในระยะเวลา 3 สัปดาห์และได้ clean culture ที่สมบูรณ์



Protallus



Clean Culture

การนำเทคโนโลยีของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชไปใช้ประโยชน์ ทางด้านการขยายพันธุ์พืชสามารถทำให้ clean culture เป็นจำนวนมาก และสามารถผลิตต้นพันธุ์ได้ตลอดปี ซึ่งเมื่อนำไปปลูก ก็จะได้ต้นลักษณะเหมือนเดิมทุกประการ รวมทั้ง ให้ผลผลิตที่ดีมีคุณภาพ และ จากการศึกษาเบื้องต้นในครั้งนี้สามารถนำไปต่อยอดและพัฒนาการศึกษาเกี่ยวกับเฟินชนิดอื่นได้ระดับต่อไป

บรรณานุกรม

นันทิยา วรธนะภูติ.2553.การขยายพันธุ์พืช.กรุงเทพฯ:โอเดียนสโตร์.460 หน้า.

ธีร์ หะวานนท์.2541.การศึกษาอนุกรมวิธาน นิเวศวิทยา และแนวทางการอนุรักษ์เฟินต้น โดยการเพาะสปอร์.
วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.คณะเกษตรศาสตร์.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ม.ล. จารุพันธ์ ทองแถม.2536.เฟิน สำหรับคนรักเฟินและผู้ปลูกมืออาชีพ.บริษัทอมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง
จำกัด(มหาชน).กรุงเทพฯ.265 หน้า.

ม.ล. จารุพันธ์ ทองแถม และ ดร.ปิยะเกษตร สุขสถาน.2550.FERN.สำนักพิมพ์สารคดี.กรุงเทพฯ.456 หน้า.

อารี วรรณวุฒ์.2541.การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อการปรับปรุงพันธุ์. โรงพิมพ์อติสรณ์.กรุงเทพฯ.133 หน้า.

Akira Kuriyama, Tohru Kobayashi and Masuo Maeda. 2004. Production of Sporophytic Plants of *Cyathea
lepifera*, a Tree Fern, from in vitro Cultured Gametophyte. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 73(2):140-142.

Kuriyama, A., Kobayashi, T. and Maeda, M. 2004. Production of Sporophytic Plants of *Cyathea lepifera*, a
Tree Fern, from in vitro Cultured Gametophyte. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 73(2):140-142.

<http://kentsimmons.uwinnipeg.ca/16cm05/16labman05/lb3pg6.htm>