



วิทยานิพนธ์

การขยายโคลนเฟินชายผ้าสีดาเขากวางใบตั้ง
(*Platycerium ridleyi* H. Christ.) ในสภาพปลอดเชื้อ

IN VITRO CLONAL PROPAGATION OF
PLATYCERIUM RIDLEYI H. CHRIST.

นายรัฐชัย แยมพิกุลสกุล

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. ๒๕๕๑



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

ปริญญา

พืชสวน

พืชสวน

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การขยายโคลนเฟินชายผ้าสีดาเขากวางใบตั้ง (*Platycerium ridleyi* H. Christ.) ในสภาพ
ปลอดเชื้อ

In Vitro Clonal Propagation of *Platycerium ridleyi* H. Christ.

นามผู้วิจัย นายรัชชัย แยมพิกุลสกุล

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์สุรวิษ วรรณไกรโรจน์, Ph.D.)

กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์กนกวรรณ ถนอมจิตร, วท.ม.)

กรรมการ

(รองศาสตราจารย์มาลี ณ นคร, วท.ม.)

หัวหน้าภาควิชา

(รองศาสตราจารย์พูนพิภพ เกษมทรัพย์, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การขยายโคลนเฟินชายผ้าสีดาเขากวางใบต้ง (*Platycerium ridleyi* H. Christ.) ในสภาพปลอดเชื้อ

In Vitro Clonal Propagation of *Platycerium ridleyi* H. Christ.

โดย

นายณัฐชัย แยมพิกุลสกุล

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)
พ.ศ. 2551

นัฐชัย แยมพิกุลสกุล 2551: การขยายโคลนเฟินชายผ้าสีดาเขากวางใบตั้ง (*Platycerium
ridleyi* H. Christ.) ในสภาพปลอดเชื้อ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)
สาขาพืชสวน ภาควิชาพืชสวน ประชานกรรมการที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์
สุวิษ วรรณไกรโรจน์, Ph.D. 70 หน้า

เฟินชายผ้าสีดาเขากวางใบตั้ง (*Platycerium ridleyi* H. Christ.) เป็นเฟินที่ได้รับความนิยม
เนื่องจากมีลักษณะพิเศษ คือมีใบชายที่เป็นแฉกตั้งชูขึ้น มีลักษณะสวยงามคล้ายเขากวาง จึงได้
ทำการศึกษาการขยายโคลนในสภาพปลอดเชื้อ โดยแบ่งการศึกษาออกเป็น 4 ขั้นตอน ขั้นตอน
แรกคือการฟอกฆ่าเชื้อใบอ่อนสองชนิด ได้แก่ ใบกาบ (sterile frond) และ ใบชาย (fertile frond)
พบว่า sterile frond ในตำแหน่งโคนใบให้คะแนนการปลอดเชื้อต่ำที่สุด โดยการฟอกฆ่าเชื้อด้วย
 H_2O_2 เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 นาที และ povidone-iodine (PVI) เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน
10 20 หรือ 30 นาที ให้คะแนนการปลอดเชื้อไม่แตกต่างกัน โดยการฟอกฆ่าเชื้อด้วย PVI ทั้ง 3
ระยะเวลา ให้คะแนนการพัฒนาของชิ้นพืชสูงไม่แตกต่างกัน โดยชิ้นพืชมีการพัฒนาเป็นยอดและ
rhizoid ได้ภายในสัปดาห์ที่ 5 ขั้นตอนที่ 2 คือการชักนำให้เกิดยอด โดยการตัดใบชายผ้าสีดาเขาก
วางใบตั้ง ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง
โดยลดความเข้มข้นของสูตรอาหารลงครึ่งเท่าของสูตรปกติ ในสภาพแสงสีขาว สีสแดง สีสน้ำเงิน
และมีมืด พบว่าชิ้นพืชสามารถเกิดตาพิเศษได้ในอาหารทุกสูตรในทุกสภาพแสง โดยเกิดกลุ่มยอด
ได้ดีที่สุด เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ปราศจาก BA ในสภาพได้รับแสงสีขาวหรือแสงสีแดง สำหรับ
ขั้นตอนการชักนำราก ด้วยอาหารสูตร MS ดัดแปลงโดยลดความเข้มข้นของสูตรอาหารเหลือ 1/4
หรือ 1/8 เท่าของสูตรอาหารปกติ ที่มีน้ำตาลทราย 20 กรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.025
0.5 หรือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ายอดเกิด rhizoid และรากได้ดี บนอาหารสูตร MS ดัดแปลง โดย
ลดความเข้มข้นของสูตรอาหารเป็น 1/8 เท่า และเติม NAA เข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วน
ขั้นตอนการย้ายออกปลูกในสภาพโรงเรือน ปรากฏว่าการลดความชื้นโดยการปรับสภาพด้วยการ
ตัดถุงพลาสติกเป็นช่องขนาด 1.27 ตารางเซนติเมตร เพิ่มขึ้น 1 ช่องทุก 2 วัน ทำให้อัตราการรอด
ชีวิตและการเจริญเติบโตของต้นชายผ้าสีดาเขากวางใบตั้ง ภายหลังการย้ายปลูกได้ 4 สัปดาห์
ดีกว่าการปรับสภาพด้วยการเปิดปากถุงตอนกลางคืนทุกวัน

Nattachai Yampikulsakul 2008: *In Vitro* Clonal Propagation of *Platynerium ridleyi* H. Christ. Master of Science (Agriculture), Major Field: Horticulture, Department of Horticulture. Thesis Advisor: Associate Professor Surawit Wannakraijoj, Ph.D.
70 pages.

Platynerium ridleyi H. Christ. is a popular fern due to its unique up-right branch frond, similar to a deer horn. This study was aimed to clonally multiply the plant *in vitro*. In the first stage, two types of young fronds, fertile and sterile frond, were cut and sterilized in 3% H₂O₂ for 15 minutes or 10% povidone-iodine (PVI) for 10, 20 or 30 minutes. The explants were then cultured in half strength Murashige and Skoog (1962) (1/2 MS) with 20 g/l sucrose. The result shown that basal parts of sterile frond had the lowest clean score. All disinfection methods gave a statistically similar cleaning result. Using 10% PVI led to a high regeneration score. The adventitious buds and rhizoid could develop within 5 weeks. For multiplication, entire frond, about 1 cm. long, were cultured on a 1/2 MS medium with 20 g/l sucrose and 0, 0.50 or 1 mg/l BA under white, red, blue light or dark condition. Adventitious buds developed directly from leaf tissue without callus formation in all culture conditions. Multiple shoot was best formed when cultured on BA-free media under white or red light. For root induction, the new shoot were cultured on media of 1/4 or 1/8 MS with 20 g/l sucrose and 0, 0.25, 0.50, 0.75 or 1 mg/l NAA. The result showed that high number of root per shoot and high score of rhizoid growth was obtained from the 1/8 medium with 0.25 mg/l NAA. For *extra vitrum* transplanting, plantlets were transferred to peat moss media and incubated in a moisted plastic bag. The plastic bags were cut to make an additional hole (1.27 cm²) every 2 days or were opened every night for a week. The result showed that the survival and growth rate after 4 weeks in nursery was higher with hole-cutting acclimatization technique.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

/ /

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยดี โดยได้รับความกรุณาช่วยเหลือจาก รศ.ดร. สุรวิษ วรรณไกรโรจน์ ประธานกรรมการที่ปรึกษา ศศ. กนกวรรณ ถนอมจิตร กรรมการที่ปรึกษา วิชาเอก และ รศ. มาลี ณ นคร กรรมการที่ปรึกษาวิชาการ ที่ได้ให้คำปรึกษาชี้แนะ และคำแนะนำต่าง ๆ ในการปฏิบัติงาน ตลอดจนตรวจแก้ไขปรับปรุงวิทยานิพนธ์เล่มนี้จนกระทั่งเสร็จสมบูรณ์ รวมถึง รศ. เสาวนีย์ สุพุทธิธาดา ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่กรุณาเป็นตัวแทนเพื่อให้การสอบประมวลความรู้เป็นไปได้ด้วยดี และให้คำแนะนำตรวจแก้วิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ทั้งนี้ผมกราบขอบพระคุณอาจารย์ รวมถึงท่านผู้มีพระคุณทุกท่านที่มีได้เอื้อนนาม ที่มีส่วนช่วยเหลือในงานวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ไว้ ณ ที่นี้ด้วยครับ

กราบขอบพระคุณ คุณพ่อภัทรพงษ์ แยมพิกุลสกุล คุณแม่ปราณี แยมพิกุลสกุล และ คุณอาพรทิพย์ แยมพิกุลสกุล และขอขอบคุณ นพ. นัฐพล แยมพิกุลสกุล พญ. พจวรรณ แยมพิกุลสกุล และ คุณณัฐวุฒิ แยมพิกุลสกุล พี่ชาย น้องสาวและน้องชาย ซึ่งทุกท่านได้ให้ความช่วยเหลือและสนับสนุนในทุก ๆ เรื่องอยู่เสมอมา ทั้งกำลังใจ กำลังกาย กำลังสติปัญญา และกำลังทรัพย์ เหนือสิ่งอื่นใดคือความรัก ความเข้าใจ และความเอาใจใส่ของคนในครอบครัว

ท้ายที่สุด ขอขอบคุณสำหรับกำลังใจและคำปรึกษาที่ได้รับจากพี่ ๆ เพื่อน และน้อง ๆ ภาควิชาพืชสวน และ ชาว ม. เกษตรฯ ทุกคน ขอบคุณพี่แดน พี่ดิ่ง พี่แพท นุ้ย เอส หมู เม็ดฝน แนน อู๋ วิทย์ ลูกหมี ต่อ หนอง และ น้องจิว รวมถึงเพื่อน ๆ ในอินเทอร์เน็ต โดยเฉพาะอย่างยิ่งจาก เว็บไซต์ www.RelicsOfBuddha.com ที่คอยเป็นกำลังใจให้อยู่เสมอมา ขอบคุณพี่โอ๊ะ พี่นิต พี่ไก่อ๋น เป้ และน้องวาล์ว ที่มีส่วนร่วมช่วยเหลือแรงกาย แรงใจ และสนับสนุนอุปกรณ์ในการทำวิจัยครั้งนี้ด้วย

นัฐชัย แยมพิกุลสกุล

พฤษภาคม 2551

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(5)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	13
ผล	20
วิจารณ์	43
สรุป	55
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	56
ภาคผนวก	66
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	70

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ความยาวคลื่นแสง และความเข้มแสงที่พืชนำไปสังเคราะห์แสงได้ (Photosynthetic Photon Flux) ของสภาพการเพาะเลี้ยงภายใต้แสง 4 แบบ	15
2 คะแนนการปลดเชื้อของชิ้นใบชายผ้าสีดาเขากวาง เมื่อใช้ชิ้นใบจาก 3 ตำแหน่งของใบ 2 ชนิด โดยการฟอกฆ่าเชื้อ 4 วิธี ภายหลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 1 2 3 และ 4 สัปดาห์	21
3 คะแนนการปลดเชื้อของชิ้นใบชายผ้าสีดาเขากวาง เมื่อใช้ชิ้นพืชจาก 3 ตำแหน่งของใบ 2 ชนิด หลังจากฟอกฆ่าเชื้อแล้ว เป็นเวลา 4 สัปดาห์	22
4 คะแนนการปลดเชื้อของชิ้นใบชายผ้าสีดาเขากวาง เมื่อใช้ชิ้นพืชจาก 3 ตำแหน่งของใบ 2 ชนิด โดยการฟอกฆ่าเชื้อ 4 วิธี หลังจากฟอกฆ่าเชื้อแล้ว เป็นเวลา 4 สัปดาห์	22
5 คะแนนการพัฒนาของชิ้นพืช เมื่อใช้ชิ้นพืชจาก 3 ตำแหน่งของใบ 2 ชนิด โดยการฟอกฆ่าเชื้อ 4 วิธี ภายหลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 16 สัปดาห์	24
6 คะแนนการรอดชีวิตของชิ้นใบชายผ้าสีดาเขากวาง เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่ลดความเข้มข้นของสูตรอาหารเป็น 1/2 เท่า และเติม BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 หรือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายใต้สภาพแสง 4 ชนิด เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะในอาหารสูตรเดิม แต่ปราศจาก BA เป็นเวลา 8 สัปดาห์	26
7 คะแนนการเปลี่ยนแปลงของชิ้นใบชายผ้าสีดาเขากวาง เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงโดยเติม BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 หรือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายใต้สภาพแสง 4 แบบ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรเดิมแต่ปราศจาก BA เป็นเวลา 8 สัปดาห์	29
8 คะแนนรูปแบบของกลุ่มยอดที่เกิดขึ้น ภายหลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง โดยเติม BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 หรือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายใต้สภาพแสง 4 แบบ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายลงอาหารสูตรเดิมที่ไม่เติม BA เป็นเวลา 8 สัปดาห์	30

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
9 คะแนนรูปแบบของกลุ่มยอดที่เกิดขึ้น ภายหลังเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง โดยเติม BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 หรือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายใต้ สภาพแสง 4 แบบ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายลงอาหารสูตรเดิมที่ไม่เติม BA เป็นเวลา 8 สัปดาห์	31
10 ขนาดทรงพุ่มของกลุ่มยอดที่เกิดขึ้น ภายหลังเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง โดยเติม BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 หรือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ภายใต้สภาพแสง 4 แบบ แล้วย้ายลงอาหารสูตรเดิมที่ไม่เติม BA เป็น เวลา 8 สัปดาห์	32
11 คะแนนการเจริญเติบโตของ rhizoid ที่ได้จากการเลี้ยงยอดชายผ้าสีดาเขากวาง บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงความเข้มข้นของสูตรอาหารเป็น 1/4 หรือ 1/8 เท่า ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.025 0.50 0.75 หรือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมแต่ปราศจาก NAA เป็นเวลา 4 สัปดาห์	36
12 อัตราการเกิดราก จากการเลี้ยงยอดชายผ้าสีดาเขากวาง บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงความเข้มข้นของสูตรอาหารเป็น 1/4 หรือ 1/8 เท่า ร่วมกับ NAA ที่ระดับ ความเข้มข้น 0.025 0.50 0.75 หรือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้ว ย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมแต่ปราศจาก NAA เป็นเวลา 4 สัปดาห์	37
13 จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย ที่ได้จากการเลี้ยงยอดชายผ้าสีดาเขากวาง บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงความเข้มข้นของสูตรอาหารเป็น 1/4 หรือ 1/8 เท่า ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.025 0.50 0.75 หรือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมแต่ปราศจาก NAA เป็นเวลา 4 สัปดาห์	38
14 ความสูงต้น จำนวนต้นที่แตกยอด จำนวนใบ ภายหลังการเพาะเลี้ยงยอด ชายผ้าสีดาเขากวาง บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงความเข้มข้นของสูตรอาหาร เป็น 1/4 หรือ 1/8 เท่า ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.025 0.50 0.75 หรือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมแต่ ปราศจาก NAA เป็นเวลา 4 สัปดาห์	39

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
15	ความกว้างทรงพุ่ม จำนวนใบ และอัตราการรอดชีวิตของชายผ้าสีดาเขากวาง หลังออกปลูกในสภาพโรงเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 0 2 และ 4 สัปดาห์	40

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 รูปแบบของยอดจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบชาขี้ผึ้งสีดาเขากวาง	16
2 ปริมาณและขนาดของ rhizoid จากการเพาะเลี้ยงยอดเฟินชาขี้ผึ้งสีดาเขากวาง	18
3 ลักษณะการพัฒนารากเป็นยอดของชิ้นใบชาขี้ผึ้งสีดาเขากวาง (ก) ใบกาบ (ข) ใบชา หลังจากเพาะเลี้ยง เป็นเวลา 8 สัปดาห์	23
4 รูปแบบของกลุ่มยอดที่เกิดขึ้น ภายหลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง โดยเติม BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 หรือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายใต้อุณหภูมิแสง 4 แบบ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายลงอาหารสูตรเดิมที่ไม่เติม BA เป็นเวลา 8 สัปดาห์	33
5 ลักษณะต้นและราก ภายหลังจากการเพาะเลี้ยงยอดชาขี้ผึ้งสีดาเขากวาง บนอาหารแข็ง สูตร MS ดัดแปลงความเข้มข้นของสูตรอาหารเป็น 1/4 หรือ 1/8 เท่า ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.025 0.50 0.75 หรือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมแต่ปราศจาก NAA เป็นเวลา 4 สัปดาห์	40
6 ต้นเฟินชาขี้ผึ้งสีดาเขากวาง ภายหลังจากการย้ายปลูก 6 สัปดาห์	42

การขยายโคลนเฟินชายผ้าสีดาเขากวางใบตั้ง (*Platyserium ridleyi* H. Christ.) ในสภาพปลอดเชื้อ

In Vitro Clonal Propagation of *Platyserium ridleyi* H. Christ.

คำนำ

ประเทศไทยเป็นแหล่งที่มีป่าไม้ธรรมชาติสมบูรณ์ มีเฟินชนิดต่างๆ เป็นจำนวนมาก และมีการนำเฟินป่าหลายๆ ชนิด นำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ ทั้งการนำมาใช้เป็นอาหาร ยารักษาโรค อุตสาหกรรมผลิตเฟอร์นิเจอร์ รวมถึงการนำมาปลูกเลี้ยงเพื่อประดับตกแต่งสถานที่ เฟินสกุลชายผ้าสีดาเป็นเฟินสกุลหนึ่งที่นิยมนำมาปลูกเป็นไม้ประดับ เฟินสกุลนี้มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนชื้นของเอเชียและแอฟริกา ปัจจุบันพบเฟินสกุลชายผ้าสีดาในประเทศไทยจำนวน 4 ชนิด (จารุพันธ์ และ ปิยะเกษตร, 2550; Boonkerd and Pollawatn, 2000) ได้แก่ เฟินชายผ้าสีดาปีกยี่สิบ (*Platyserium coronarium* (Koen.) Desv.) เฟินชายผ้าสีดาอีสาน (*P. holtumii* Jonch. & Hennipm.) เฟินชายผ้าสีดาห่อข้าวยาบ (*P. wallichii* Hook.) และเฟินชายผ้าสีดาเขากวางใบตั้ง (*P. ridleyi* H. Christ.) ซึ่งทั้งหมดเป็นพันธุ์ไม้ประดับที่ได้รับความนิยมจากผู้ปลูกเลี้ยงเฟินทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ รวมทั้งการนำไปใช้ประโยชน์ด้านการจัดสวน ที่ให้ความรู้สึกร่มรื่นและบรรยากาศของป่า โดยสามารถปลูกติดกับต้นไม้ใหญ่ กำแพง หรือปลูกเป็นไม้กระถาง นอกจากนี้รากของชายผ้าสีดาที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ยังสามารถนำมาเป็นวัสดุเพาะสปอร์เฟินได้ (จารุพันธ์, 2536)

เฟินชายผ้าสีดาเขากวางใบตั้ง มีเอกลักษณ์ที่แตกต่างจากเฟินในสกุลเดียวกัน คือมีใบชาย (fertile frond) ตั้งชูขึ้นเป็นแฉก มองดูคล้ายเขากวาง และกาบหุ้ม (sterile frond) มีลักษณะแบนเป็นร่องลึก มีแหล่งกำเนิดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยพบทางภาคใต้ของประเทศไทย เมียนมาร์ ไปจนถึงมาเลเซีย สิงคโปร์ และอินโดนีเซีย การที่มีราคาแพงและเป็นที่ต้องการของตลาดไม้ประดับทั่วโลก (พิทักษ์, 2547) ทำให้มีการเก็บเฟินชายผ้าสีดาเขากวางใบตั้งจากธรรมชาติมาจำหน่ายเป็นจำนวนมาก นอกจากนี้สภาพนิเวศที่เสื่อมลงจากการตัดโค่นทำลายป่า รวมถึงการแพร่พันธุ์ได้ยากเนื่องจากสปอร์หาได้ยากในธรรมชาติ ทำให้เฟินชนิดนี้เสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ (จารุพันธ์, 2536; จารุพันธ์ และ ปิยะเกษตร, 2550) ดังนั้นการขยายโคลนเฟินชนิดนี้ให้ได้ปริมาณมากขึ้นในเชิงการค้า จึงเป็นสิ่งสำคัญและมีความจำเป็น ก่อนที่เฟินชนิดนี้จะสูญพันธุ์ไปจากประเทศไทย

ปัจจุบันการขยายพันธุ์เฟินชายผ้าสีดาเขากวางใบตั้งด้วยการเพาะสปอร์นั้น พบว่าได้ต้นในปริมาณมาก แต่ต้นที่ได้จะมีลักษณะแตกต่างกัน อีกทั้งต้องใช้ระยะเวลาที่นาน ตั้งแต่การเพาะสปอร์และปลูกเลี้ยงจนกระทั่งสามารถจำหน่ายได้ ส่วนการขยายโคลนเฟินชายผ้าสีดาเขากวางใบตั้ง อาจสามารถทำได้ด้วยการตัดชำหน่อใหม่ของต้นที่ปลูกเลี้ยงในสภาพแสงน้อย ทำให้เหง้าเลื้อยยาวจนกระทั่งแตกหน่อใหม่จากตาที่ข้อได้ (พิทักษ์, 2547) ซึ่งการแยกหน่อด้วยวิธีนี้ สามารถทำได้เพียงจำนวนน้อย ส่วนวิธีการขยายโคลนภายใต้สภาพปลอดเชื้อ ยังไม่พบว่ามีการศึกษา จึงสมควรมีการศึกษาเทคนิคการขยายโคลนเฟินชายผ้าสีดาเขากวางใบตั้งในสภาพปลอดเชื้อให้มีประสิทธิภาพเหมาะสมแก่การนำไปใช้ผลิตเพื่อเป็นการค้า

วัตถุประสงค์

1. เพื่อหาวิธีการและสูตรอาหารที่เหมาะสม สำหรับการขยายโคลนเฟินชายผ้าสีดาเขากวางใบตั้งในสภาพปลอดเชื้อ เมื่อใช้ต้นแม่พันธุ์ที่ปลูกอยู่ในโรงเรือน
2. เพื่อหาวิธีการที่เหมาะสมในการออกปลูกเฟินชายผ้าสีดาเขากวางใบตั้งที่ได้จากสภาพปลอดเชื้อ ในสภาพโรงเรือน

การตรวจเอกสาร

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

เฟินสกุล *Platyserium* เป็นเฟินที่จัดอยู่ในจำพวกไม้อากาศ ในอันดับ (Order) Filiceae วงศ์ (Family) Polypodiaceae มักพบอิงอาศัยตามต้นไม้ใหญ่หรือตามโขดหินบนภูเขาในเขตร้อน มีลักษณะเด่นคือ ลำต้นตรงสั้นๆ มีเกล็ดขึ้นปกคลุม ใบมี 2 แบบ คือ ใบที่ไม่สร้างสปอร์ (sterile fronds หรือ net leaves) เป็นใบขนาดใหญ่ชูออกจากลำต้นเจริญตั้งขึ้นด้านบน หรือห้อยลง ไม่มีก้านใบ ด้านกว้างกับด้านยาวจะมีขนาดพอๆกัน ใบจะเกิดซ้อนกัน มีลักษณะคล้ายกางห่อหุ้มระบบรากไว้ให้ได้รับความชุ่มชื้นและยึดลำต้นไว้แน่น ใบแก่ที่อยู่ภายในจะผุพังกลายเป็นฮิวมัสให้กับดินเฟิน ส่วนใบที่สร้างสปอร์ (fertile fronds หรือ normal leaves) จะแตกออกจากลำต้น ห้อยลงด้านล่าง ใบแตกออกเป็นง่าม (dichotomous) 3-4 ครั้ง แผ่นขยายลงมาเป็นริ้วคล้ายเขากวาง พบขนรูปดาวบนใบทั้งสองชนิด อับสปอร์เกิดที่ก้านพิเศษทางด้านล่างของใบ ซึ่งมีปลายใบแบนรูปครึ่งวงกลม (อักษร, 2523; จารุพันธ์ และ ปิยะเกษตร, 2550)

เฟินในสกุลชายผ้าสีดามีทั้งหมด 18 ชนิด กระจายไปทั่วเขตร้อนของโลก รวมทั้งในทวีปออสเตรเลียและแอฟริกา (จารุพันธ์, 2536; Hoshizaki and Price, 1990) สำหรับในประเทศไทยพบเพียง 4 ชนิด (จารุพันธ์ และ ปิยะเกษตร, 2550; Boonkerd and Pollawatn, 2000) ได้แก่

1. เฟินชายผ้าสีดาปีกษ์ใต้ (*P. coronarium* (Koen.) Desv.)
2. เฟินชายผ้าสีดาอีสาน (*P. holtumii* Jonch. & Hennipm.)
3. เฟินชายผ้าสีดาห่อข้าวยาบา (*P. wallichii* Hook.)
4. เฟินชายผ้าสีดาเขากวางใบตั้ง (*P. ridleyi* H. Christ.)

เฟินชายผ้าสีดาเขากวางใบตั้ง (*P. ridleyi* H. Christ.) มีลำต้นทอดนอน เกล็ดเป็นรูปใบหอกกลับสีน้ำตาล ใบไม่สร้างสปอร์ มีลักษณะเป็นแผ่นใบกลมสีเขียวหยาบเป็นคลื่น เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเมื่อแก่ ทำหน้าที่โอบรัดเกาะติดกับพืชที่ให้อาศัย มีความยาวได้ถึง 60 เซนติเมตร สำหรับใบที่สร้างสปอร์มีลักษณะตั้งชูขึ้น แตกออกเป็นง่าม (dichotomous) ประมาณ 5 ครั้ง โดยการแตกครั้งแรกจะไม่สมมาตร ยาวได้ถึง 60 เซนติเมตร ก้านใบสร้างสปอร์ มีลักษณะกลมหรือเป็นรูปหัวใจค่อนข้างกลมหรือรูปไข่กลับ บิดงุ้ม อับสปอร์ กระจายอยู่ด้านล่าง มีขนรูปดาวแทรกอยู่ระหว่างอับสปอร์ (Hennipman and Roos, 1982) มีถิ่นกำเนิดในตอนใต้ของเมียนมาร์ บอร์เนียว สุมาตรา มลายู

ในประเทศไทยพบที่จังหวัดชุมพร สุราษฎร์ธานี นราธิวาส (จารุพันธ์, 2536; จารุพันธ์ และ ปิยะเกษตร, 2550)

การขยายพันธุ์เฟินชายผ้าสีดา

การขยายพันธุ์เฟินชายผ้าสีดาทำได้ 3 วิธี (Vail, 1984) ได้แก่

1. การเพาะสปอร์ เป็นการขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศ โดยทั่วไปใช้ระยะเวลาในการปลูกเลี้ยงนาน และต้นกล้าเฟินที่ได้จะมีการแปรปรวนของลักษณะต่าง ๆ

2. การแยกหน่อ Hoshizaki and Price (1990) รายงานว่าในเฟินชายผ้าสีดาหลายชนิดมี root buds ได้แก่ *P. alcicorne*, *P. andinum*, *P. bifurcatum*, *P. elephantotis*, *P. ellisii*, *P. madagascariense*, *P. quadridichotomum* และ *P. stemaria* ซึ่ง root buds นี้ สามารถจะเจริญต่อเป็นต้นใหม่ และแยกนำไปปลูกได้ (จารุพันธ์, 2536) ซึ่งในเฟินชายผ้าสีดาเขากวางใบตั้ง พบว่าสามารถแตกตาขึ้นเป็นต้นใหม่ได้จากบริเวณข้อ และสามารถแยกไปปลูกได้เช่นกัน (พิทักษ์, 2547)

3. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นวิธีการที่ประสบความสำเร็จในเฟินสกุลชายผ้าสีดาหลายชนิด เช่น การเพาะเลี้ยงใบ *P. bifurcatum* (Camloh and Gogala, 1991; Camloha *et al.*, 1994) การเพาะเลี้ยงปลายยอด *P. stemaria*, *P. veitchii*, *P. wallichii* และ *P. wandae* (Hennen and Sheehan, 1978)

การขยายโคลนด้วยเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

Razdan (2003) แบ่งขั้นตอนการขยายโคลนด้วยเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชออกเป็น 5 ระยะ ได้แก่

1. ระยะ 0: เป็นขั้นตอนในการคัดเลือกและบำรุงดูแลรักษาต้นแม่พันธุ์ที่จะนำมาใช้ ให้มีความสะอาด เพื่อให้ง่ายต่อการฟอกฆ่าเชื้อ

2. ระยะ 1: เป็นขั้นตอนเริ่มต้นในการปฏิบัติงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับชิ้นส่วนพืช และเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ เพื่อให้ชิ้นพืชมีชีวิตรอดและเจริญเติบโตต่อไป

3. ระยะ 2: เป็นขั้นตอนการเพิ่มปริมาณของเนื้อเยื่อ โดยนำเนื้อเยื่อพืชที่มีการเจริญเติบโตและสะอาดปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ ชักนำให้เกิดเป็นต้นหรือหน่อจำนวนมาก

4. ระยะ 3: เป็นขั้นตอนการชักนำยอดที่ได้ให้เกิดราก เพื่อให้มีความแข็งแรงพร้อมที่จะย้ายปลูกลงเครื่องปลูกในสภาวะแวดล้อมภายนอก

5. ระยะ 4: เป็นขั้นตอนการย้ายต้นพืชจากสภาพปลอดเชื้อ โดยทำการปรับสภาพของต้นพืชให้ทนทานต่อการออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก

การเตรียมชิ้นส่วนพืชเพื่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ชิ้นส่วนพืชที่นำมาใช้เพาะเลี้ยง เป็นปัจจัยที่สำคัญ มีบทบาทต่อความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชชนิดนั้นๆ เนื่องจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพียงแต่เพิ่มประสิทธิภาพของความสามารถต่างๆ ที่มีอยู่ของพืชเท่านั้น ดังนั้นจึงมีการคัดเลือกและปรับแต่งชิ้นส่วนพืช ให้เหมาะสมและสามารถตอบสนองต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ดีขึ้น ได้แก่ การปรับสภาพการปลูกเลี้ยงของต้นแม่พันธุ์ การเลือกอวัยวะของพืช ระยะการพัฒนาของพืช ขนาด อายุและตำแหน่งของชิ้นส่วน (สุรวิษ, 2549)

ส่วนการเลือกใช้ชนิดของสารฟอกฆ่าเชื้อ และระยะเวลาที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ ขึ้นอยู่กับความอ่อนแอของชิ้นส่วนพืชที่นำมาใช้ ซึ่งสารฟอกฆ่าเชื้อในปัจจุบันมีอยู่ด้วยกันจำนวนมาก โดยประศาสตร์ (2538) แนะนำแนวทางให้เลือกใช้ดังนี้

1. มีประสิทธิภาพดี ให้เปอร์เซ็นต์ความปลอดเชื้อสูง
2. ราคาไม่แพง และหาซื้อได้ง่าย
3. เตรียมได้ง่าย ไม่มีขั้นตอนยุ่งยาก
4. ไม่เป็นอันตราย หรือมีอันตรายน้อยที่สุดต่อสิ่งมีชีวิตทั้งคนและตัวอย่างพืช

โซเดียมหรือแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ จัดเป็นสารเคมีที่อยู่ในกลุ่มฮาโลเจน (halogens) ก่อนข้างจะให้ผลในการกำจัดจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับชิ้นพืชได้ดีที่สุด และทำอันตรายต่อนื้อเยื่อพืชน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับสารเคมีอื่น ๆ อีกทั้งยังหาซื้อได้สะดวกและเตรียมได้ง่าย (คำณูณ, 2542) จึงเป็นสารที่ได้รับความนิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย อย่างไรก็ตาม ไฮโปคลอไรท์ยังมีข้อจำกัดและข้อควรระวังในการใช้อยู่มาก เนื่องจากเป็นสารที่มีกลิ่นเหม็น ระคายเคืองต่อนื้อเยื่อ สามารถกัดกร่อนโลหะทำให้อุปกรณ์เกิดสนิม ระเหยได้ง่ายต้องผสมใหม่อย่างน้อยทุกวัน อีกทั้งสามารถทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์ได้เร็ว ทำให้สูญเสียฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อได้ง่าย ต้องระวังไม่ให้ผสมกับกรดหรือฟอร์มาลิน เนื่องจากจะทำให้เกิดแก๊สคลอรีนและสารก่อมะเร็งได้ (อภิรดี, ม.ป.ป.) ด้วยข้อจำกัดดังกล่าว จึงสมควรพิจารณาหาสารอื่นที่มีคุณสมบัติในการทำลายจุลินทรีย์ได้เช่นเดียวกัน แต่มีข้อจำกัดน้อยกว่ามาใช้แทน

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เป็นสารทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในงานด้านการสาธารณสุข และยังใช้ในอุตสาหกรรมการฟอกสี โดยมีการขายเป็นการค้าในความเข้มข้นตั้งแต่ 3-90 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นสารที่ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม เนื่องจากเป็นสารที่สามารถสลายตัวให้น้ำและออกซิเจน ออกฤทธิ์ได้ดีในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส ยีสต์ และ สปอร์ของแบคทีเรีย (McDonnall and Russell, 1999) นอกจากนี้ พบว่ามีการใช้ในงานด้านเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยนิยมใช้เป็นสารกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ในการเพาะเมล็ดกล้วยไม้จากฝักแก่ที่แตก (จิตราพรรณ, 2536) แต่อย่างไรก็ดี ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ยังมีข้อจำกัดในการใช้งานอยู่บ้าง เนื่องจากเป็นสารที่ก่อให้เกิดระคายเคืองต่อนื้อเยื่อและเป็นอันตรายต่อดวงตา สารละลายในความเข้มข้นต่ำมักไม่คงตัว เสี่ยงสภาพในการทำและกำจัดจุลินทรีย์ได้ง่าย ในขณะที่สารละลายความเข้มข้นสูงมีความคงตัวสูงกว่า แต่ความเป็นพิษเพิ่มสูงขึ้นด้วย ซึ่งอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้ใช้งานได้ (กรมควบคุมมลพิษ, 2544)

ไอโอดีน จัดเป็นสารเคมีที่อยู่ในกลุ่มฮาโลเจน เช่นเดียวกับคลอรีน สามารถออกฤทธิ์ทำลายจุลินทรีย์ได้อย่างกว้างขวางทั้งแบคทีเรีย ไวรัส เชื้อรา โปรโตซัว และยีสต์ ตลอดจนทำลายสปอร์ของแบคทีเรีย (Selvaggi *et al.*, 2003) โดยไอโอดีนมีความสามารถในการทำลายสปอร์ของทั้งเชื้อราและแบคทีเรียดีกว่าคลอรีน (Kennedy *et al.*, 2000) อีกทั้งยังสามารถออกฤทธิ์ต่อแมลงพยาธิตัวกลม และพยาธิตัวแบนได้อีกด้วย (Kellog, 1956) แต่ข้อจำกัดในการใช้ไอโอดีนคือ ไอโอดีนสามารถละลายน้ำได้น้อย อีกทั้งอาจก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง ซึ่งอาจเกิดจากไอโอดีนเองหรือสารที่ใช้ทำละลาย นอกจากนี้ไอโอดีนมักจะสูญเสียไปเนื่องจากการระเหย และเกิดปฏิกิริยา oxidation กับสารอื่น ๆ ที่มีอยู่ในส่วนผสมได้ง่ายและรวดเร็ว อีกทั้งสารละลาย

ไอโอดีนมีสีน้ำตาลแดง ติดผิวหนังและเส้นใยโพลีเอสเตอร์ได้ดี ไม่สามารถล้างออกด้วยน้ำ ดังนั้นจึงมีการพัฒนาผลิตภัณฑ์ประกอบเชิงซ้อนของไอโอดีนกับ polyvinylpyrrolidone (PVP) ซึ่งจะได้สารประกอบเชิงซ้อนที่มีชื่อว่า polyvinylpyrrolidone-iodine หรือ povidone-iodine โดยมีคุณสมบัติเป็นผงแห้งสีน้ำตาล ละลายน้ำได้ดี สารละลายที่ได้มีสีน้ำตาลแดงเมื่อติดผิวหนังหรือเส้นใยโพลีเอสเตอร์แล้ว สามารถล้างออกได้ด้วยน้ำ เป็นสารที่มีความคงทนสูงมาก เก็บได้ทั้งในรูปสารละลายหรือผงได้นาน โดยไม่มีการระเหยของไอโอดีนออกไป (Gershenfeld, 1957; Selvaggi *et al.*, 2003) อีกทั้งไม่พบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนัง เนื่องจาก povidone-iodine จะแตกตัว แล้วค่อยๆ ปล่อยไอโอดีนออกมาอย่างช้าๆ (Kihlstrom *et al.*, 2001) จึงไม่ทำให้เกิดอาการไหม้รุนแรงและยังสามารถออกฤทธิ์ได้นานกว่าสารละลายไอโอดีนอื่นๆ (รุ่งทิพย์, 2539) โดย povidone-iodine 10% เป็นความเข้มข้นที่ใช้สำหรับฆ่าเชื้อทางการแพทย์และงานสาธารณสุขโดยทั่วไป (อะเคื่อ, 2541; Leung *et al.*, 2002)

สารควบคุมการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การชักนำให้ชิ้นพืชมีการเจริญเติบโต และพัฒนาขึ้นเป็นต้นใหม่ภายใต้สภาพปลอดเชื้อนั้นมีด้วยกันหลายรูปแบบ ได้แก่ การพัฒนาเป็นอวัยวะ การพัฒนาเป็นเอ็มบริโอ และการพัฒนาขึ้นเป็นแคลลัส ซึ่งการที่ชิ้นพืชจะพัฒนาไปในรูปแบบใดนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ ชนิดของพืช ส่วนของพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง และ ปัจจัยทางเคมี (อรดี, 2544) ซึ่งทั้งนี้ปัจจัยทางเคมีเป็นปัจจัยสำคัญที่นิยมนำมาใช้กำหนดแนวทางการพัฒนาของพืชโดยทั่วไป ในรูปของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (พีรเดช, 2544)

สารควบคุมการเจริญเติบโตที่นิยมนำมาใช้ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีอยู่ด้วยกัน 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มออกซินและกลุ่มไซโตไคนิน ซึ่งออกซิน มีผลในการแบ่งเซลล์ การขยายขนาดเซลล์ กระตุ้นการสร้างจุดกำเนิดราก (พีรเดช, 2537; พีรเดช, 2544; Pierik, 1989) สารกลุ่มนี้ที่พบใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเฟินชายผ้าสีดา ได้แก่ indole acetic acid (IAA) (Camloha *et al.*, 1994) α -naphthylacetic acid (NAA) (Pevalek-Kozlina, 1996; Teng, 1997; Teng and Teng, 1997) และ indole butyric acid (IBA) (Camloh and Gogala, 1991; Camloha *et al.*, 1994) เป็นต้น ส่วนไซโตไคนินนั้น ช่วยในการแบ่งเซลล์ การกระตุ้นการพัฒนาของตาพืช กระตุ้นการเกิดแคลลัส และส่งเสริมการพัฒนาของแคลลัสเป็นต้น (พีรเดช, 2537; พีรเดช, 2544; Pierik, 1989) สารกลุ่มนี้ที่พบใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเฟินชายผ้าสีดา ได้แก่ N6-benzyladenine (BA) (Camloha *et al.*, 1994; Teng, 1997) และ kinetin (Pevalek-Kozlina, 1996)

การใช้ ออกซิน และ ไซโตไคนิน ร่วมกัน ในปริมาณ และ สัดส่วน ต่าง ๆ มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานของชิ้นส่วนพืชที่นำมาใช้เพาะเลี้ยง โดยอิทธิพลจะแตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดพืช กรณีที่ใช้ในปริมาณน้อย ออกซินหรือร่วมกับไซโตไคนินในอัตราส่วนที่ใกล้เคียงกันมักถูกใช้เพื่อชักนำแคลลัส แต่ถ้าสัดส่วนมีการเปลี่ยนแปลงไปก็จะทำให้เกิดยอดหรือรากขึ้นมาได้ โดยถ้าสัดส่วนของไซโตไคนินต่อออกซินสูงขึ้น จะมีการกระตุ้นการกำเนิดและเปลี่ยนแปลงพัฒนาเป็นยอด หรือถ้าสัดส่วนของไซโตไคนินต่อออกซินลดลง จะกระตุ้นการกำเนิดและเปลี่ยนแปลงพัฒนาเป็นราก กรณีที่ใช้ในปริมาณมาก ออกซินและไซโตไคนิน จะทำให้เกิดแคลลัส (สุรวิษ, 2549; Pierik, 1989; Razdan, 2003)

แสงกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

แสงเป็นปัจจัยที่สำคัญปัจจัยหนึ่งในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยมีผลต่อการเจริญเติบโต และคุณภาพของต้นพืช แสงที่มีความยาวคลื่นระหว่าง 380-760 นาโนเมตร เป็นแสงช่วงคลื่นที่ตามนุษย์สามารถมองเห็นได้ (visible light) ซึ่งแสงช่วงคลื่นนี้ พืชสามารถนำไปใช้ในการสังเคราะห์แสงได้ (สมบุญ, 2548) นอกจากนี้ แสงยังมีอิทธิพลต่อการเกิดอวัยวะเป็นอย่างมาก (สุรวิษ, 2549; Suetsugu and Wada, 2003) ซึ่งการให้แสงแก่พืชต้องคำนึงถึงลักษณะของแสง ดังนี้

1. ความเข้มของแสง (light intensity) ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มักเลือกใช้ความเข้มแสงเข้มแสงต่ำ เพราะภายในภาชนะเพาะเลี้ยงมีคาร์บอนไดออกไซด์น้อย ทำให้การสังเคราะห์แสงที่เกิดขึ้นในภาชนะเพาะเลี้ยงถูกจำกัด (คำณูณ, 2542) โดยเริ่มแรกจะให้แสงจากหลอดขนาด 100 แรงเทียนหรือต่ำกว่า เพื่อชักนำให้เกิดตายอด (shoot primordia) หลังจากนั้นจึงให้แสงเพิ่มขึ้นโดยใช้หลอดขนาด 300-1,000 แรงเทียน เพื่อช่วยให้ตายอดเจริญได้ดี (ไพบุลย์, 2524)

2. ความยาวของช่วงแสง (photoperiod) โดยทั่วไปมักจะให้แสงแก่เนื้อเยื่อพืชประมาณ 16 ชั่วโมงต่อวัน และมีช่วงมืด 8 ชั่วโมง ซึ่งให้ผลดีในการเกิดสัณฐานในพืชหลายชนิด แต่ก็มีพืชบางชนิดที่ต้องการแสงต่ำกว่า 16 ชั่วโมง (ไพบุลย์, 2524)

3. ช่วงคลื่นของแสง (light spectrum) ช่วงคลื่นที่พืชสามารถนำไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสง มีความยาวคลื่น 380-760 นาโนเมตร ซึ่งพบว่าแสงสีแดงและแสงสีน้ำเงิน มีผลต่อกิจกรรมการสังเคราะห์แสงมากกว่าแสงในช่วงคลื่นอื่นๆ (สมบุญ, 2548) โดยแสงสีส้มแดงมีผลดี

ต่อการเจริญเติบโตของพืช แสงสีน้ำเงินและแสงที่มีช่วงคลื่นสั้น มักมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช ส่วนแสงสีขาวยังเสริมการเกิดยอดแต่ยังการเกิดรากในพืชทั่วไป (สุรวิษ, 2549)

ผลของช่วงคลื่นของแสงในการชักนำยอดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Gavinlertvatana *et al.* (1980) ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบพิทูเนีย พบว่า หากเนื้อเยื่อได้รับแสงสีแดงทำให้เกิดยอดบนเนื้อเยื่อจำนวนมาก แต่ในทางตรงกันข้าม หากเนื้อเยื่อได้รับแสงไกลแดง (far red) ทำให้เกิดยอดบนเนื้อเยื่อน้อย ผลของแสงสีแดงและแสง far red นั้นสามารถลบล้างกันได้ ขึ้นอยู่กับว่าเนื้อเยื่อพืชได้รับแสงชนิดใดเป็นครั้งสุดท้าย

Aksenova *et al.* (1994) ทำการตัดชำต้นมะเขือเทศพันธุ์ Miranda ในสภาพปลอดเชื้อ แล้วทำการเพาะเลี้ยงในสภาพได้รับแสงสีต่าง ๆ กัน พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่ได้เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ในสภาพได้รับแสงสีแดง ต้นที่ได้มีลักษณะ ผอม ยาว ใบขนาดเล็กมาก ส่วนในสภาพแสงสีน้ำเงิน ต้นที่ได้มีลักษณะอ้วน เตี้ย ใบขนาดใหญ่และมีพัฒนาการดี

Gabryszewska and Rudnicki (1995) ทำการเพาะเลี้ยง *Gerbera jamesonii* พบว่าได้จำนวนยอดพิเศษสูงที่สุด และจำนวนใบของต้นกล้าเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด เมื่อเลี้ยงในสภาพได้รับแสงสีแดงและแสงสีเขียว บนอาหารที่เติม kinetin น้ำหนักสดของยอดสูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม IAA ในสภาพได้รับแสงสีขาว น้ำหนักสดของยอดลดลงอย่างเห็นได้ชัด เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติม IAA ในสภาพได้รับแสงสีแดง

Gabarkiewicz *et al.* (1997) พบว่าการเพาะเลี้ยง *Dieffenbachia* cv. Compacta ในสภาพได้รับแสงสีขาวร่วมกับ 2iP ทำให้ได้จำนวนยอดมากที่สุด แต่ยอดสูงมากที่สุด ในสภาพมืด บนอาหารที่ปราศจาก 2iP โดยน้ำหนักสดของยอดมากที่สุดบนอาหารซึ่งปราศจาก 2iP ซึ่งเพาะเลี้ยงในสภาพได้รับแสงสีแดง

Gabryszewska (2001) ศึกษาการใช้ ABA, fruridone และแสงสีขาว สีแดง สีน้ำเงิน ในการเพาะเลี้ยงยอดโบตัน (peony) ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดง ทำให้ได้จำนวนใบและยอดสูงที่สุด ทั้งยอดที่ปักตัวและไม่ปักตัว

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเฟินในสกุลชายผ้าสีดา

Hennen and Sheehan (1978) ทำการฟอกฆ่าเชื้อปลายยอดของ *Platyserium stemaria* ด้วย โซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงกำจัดขนที่ปกคลุมปลายยอดออก นำไปฟอกอีกครั้งด้วย โซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที ตัดปลายยอดขนาด 2-3 มิลลิเมตร นำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่มี IAA 15 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยพบการสร้างใบเกิดขึ้นภายใน 35 วัน โดยกล่าวว่าด้วยวิธีการแบบเดียวกันนี้ สามารถทำได้ผลเช่นเดียวกันใน *P. veitchii*, *P. wallichii* และ *P. wandae*

Gleba and Gordzievskaya (1987) ทำการเพาะเลี้ยงสปอร์และยอดข้าง Staghorn fern (*P. bifurcatum*) ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าอาหารสูตร MS ให้ผลการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด และสามารถเกิดรากได้โดยไม่ต้องใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต

Camloh and Gogala (1991) ทำการเพาะเลี้ยงใบ Staghorn fern (*P. bifurcatum*) ขนาดความยาว 0.8-1.0 เซนติเมตร ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสปอร์ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าสามารถชักนำให้เกิดตาพิเศษขึ้นจากใบอ่อนได้ โดยไม่ต้องใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต และสามารถชักนำให้เกิดรากโดยลดความเข้มข้นของอาหารให้เหลือเพียง 1/4 เท่า โดย BAP มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของตาพิเศษ และอาหารที่ใส่ IBA ไม่มีผลในการส่งเสริมให้เกิดราก

Camloha *et al.* (1994) ทำการเพาะเลี้ยงใบ Staghorn fern (*P. bifurcatum*) ขนาดความยาว 0.8-1.2 เซนติเมตร ที่ได้จากการเพาะสปอร์ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าสามารถเกิดตาพิเศษขึ้นจากเนื้อเยื่อของใบโดยไม่ต้องผ่านการเกิดเป็นแคลลัส ภายใน 20 วัน ซึ่งพบว่าอาหารสูตรที่เติม BA เพิ่มจำนวนยอดได้ดี แต่การเจริญเติบโตของยอดช้ากว่าการเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่ไม่ได้ใส่ BA ในการชักนำรานั้นพบว่า การใช้ IBA 6 μM ให้ผลดีที่สุด

Pevalek-Kozlina (1996) พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์ วุ้น 0.9 เปอร์เซ็นต์ และมี NAA 0.54 μM ร่วมกับ kinetin 9.3 μM ค่า pH ของอาหารเท่ากับ 7 สามารถเพิ่มจำนวนยอดของ Staghorn fern (*P. bifurcatum*) ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อได้ดีที่สุด

Teng (1997) ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยที่ได้จากการปั่นใบอ่อนของ Staghorn fern (*P. bifurcatum*) ที่เพาะจากสปอร์ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าการเติม activated charcoal ขัดขวางการเกิดกลุ่มยอดในอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต

Teng and Teng (1997) เพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยที่ได้จากการปั่นใบอ่อนของ Staghorn fern ที่เพาะจากสปอร์ในสภาพปลอดเชื้อ นำเซลล์แขวนลอยที่ได้มาทำการกรองเพื่อแยกขนาดของกลุ่มเซลล์ แล้วจึงนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม NAA $0.54 \mu\text{M}$ พบว่ากลุ่มเซลล์ที่ประกอบด้วยเซลล์จำนวน 500-1000 เซลล์หรือมากกว่า สามารถพัฒนาขึ้นเป็น sporophytes ได้โดยตรง

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ผลของระยะเวลาในการฟอกฆ่าเชื้อ ชนิดของใบ และตำแหน่งของใบ ในการฟอกฆ่าเชื้อ

นำใบอ่อนของใบกาบขนาดยาวประมาณ 2.5 เซนติเมตร (ราว 25 เปอร์เซ็นต์ของใบแก่) และใบชายนขนาดยาวประมาณ 3.6 เซนติเมตร (ราว 25 เปอร์เซ็นต์ของใบแก่) จากต้นเฟินชายผ้าสีดา เขากวางใบตั้ง ที่ปลูกเลี้ยงในโรงเรือนพรางแสงด้วยตาข่ายพรางแสง 50 เปอร์เซ็นต์ ที่มีขนาดใกล้เคียงกัน มาทำความสะอาดโดยการล้างด้วยน้ำยาล้างจาน ใช้นิ้วถูเอาขนบนแผ่นใบออกให้หมด แล้วจึงล้างด้วยน้ำไหลประมาณ 30 นาที จากนั้นนำแผ่นใบที่ได้มานิดพ่นด้วยเอธานอล 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที แล้วจึงนำไปฟอกด้วยไฮโครเจนเปอร์ออกไซด์เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (มงกุฎพญานาค[®] บริษัท ศิริปัญญา จำกัด) เป็นเวลา 15 นาที หรือ สารละลายโพวิโดนไอโอดีนเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (Betadine[®] บริษัท Mundipharma B.V.) เป็นเวลา 10 20 หรือ 30 นาที แล้วจึงล้างด้วยน้ำที่ฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้งจนหมดสีของโพวิโดนไอโอดีน ตัดแบ่งแผ่นใบกาบที่ได้ตามยาว ให้เหลือเนื้อที่บริเวณกลางแผ่นใบกว้าง 1 เซนติเมตร ทำการตัดตามยาวอีกครั้ง โดยให้ขนานกับรอยตัดแรก ให้มีความกว้าง 0.5 เซนติเมตร จากนั้นจึงตัดขวางให้ชิ้นพืชมีขนาด 0.5x0.5 ตารางเซนติเมตร ตามตำแหน่งบนแผ่นใบ ได้แก่ ปลายใบ กลางใบ และโคนใบ ส่วนใบชายน ตัดแบ่งตามความยาวออกเป็น 2 ข้าง แล้วตัดขวางให้ชิ้นพืชมีขนาดความยาว 0.5 เซนติเมตร ตามตำแหน่งปลายใบ กลางใบ และโคนใบ จากนั้นจึงย้ายชิ้นพืชที่ตัดแล้วลงบนอาหารสูตร Murashige และ Skoog (1962) (MS) ซึ่งดัดแปลงโดยลดความเข้มข้นของอาหารสูตร MS ลงครึ่งหนึ่ง เติมน้ำตาลทราย (บริษัท น้ำตาลมิตรผล จำกัด) 20 กรัมต่อลิตร และวุ้น (บริษัท พัฒนาสินเอ็นเตอร์ไพส์ จำกัด) 7 กรัมต่อลิตร โดยใช้ 1 ชิ้นพืชต่อ 1 ขวด รวม 6 ขวดต่อวิธีการ เพาะเลี้ยงในสภาพมืด อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส วางแผนการทดลองแบบ 4x2x3 factorials in completely randomized design (CRD) มี 3 ปัจจัย ได้แก่ การฟอกฆ่าเชื้อ ชนิดของใบ และตำแหน่งของใบ ทำ 6 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ชิ้นต่อขวด

บันทึกผลการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ภายหลังการฟอกฆ่าเชื้อทุกสัปดาห์ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ โดยให้คะแนนตามลักษณะที่ต้องการ ดังนี้

1 = ชิ้นพืชมีการปนเปื้อนจุลินทรีย์

2 = ชิ้นพืชปลอดจากเชื้อจุลินทรีย์

และบันทึกผลการเปลี่ยนแปลงของชินพืช ภายหลังการพอกฆ่าเชื้อทุก 4 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ โดยบันทึกการเปลี่ยนแปลงของชินพืชจากใบทั้ง 2 รูปแบบ แล้วให้คะแนนตามลักษณะ ดังนี้

- 1 = ชินพืช ตาย
- 2 = ชินพืชมีชีวิตแต่ไม่มีการพัฒนา
- 3 = ชินพืชมีการพัฒนาเป็นยอด

นอกจากนี้บันทึกลักษณะการเกิดขึ้นของยอด อัตราการเกิดยอด อัตราการตาย และอัตราชินพืชที่ไม่มีการพัฒนา

2. ผลของ BA และ แสงสีต่างๆ ในการชักนำให้เกิดยอดในการเพาะเลี้ยงใบ

นำใบเฟินชายผ้าสีดาเขากวางใบต้ง จากต้นที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ความยาว 0.8-1.0 เซนติเมตร วางแผ่นใบลงบนอาหารพื้นฐานสูตร MS ที่ดัดแปลงโดยลดความเข้มข้นของอาหารสูตร MS ลงครึ่งหนึ่ง และใช้ BA (บริษัท Fluka Biochemika) ความเข้มข้น 0.050 หรือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยอาหารทุกสูตรมีน้ำตาลทราย 20 กรัมต่อลิตร วุ้น 7 กรัมต่อลิตร ทำ 20 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ชื้นต่อ 1 ขวด เพาะเลี้ยงภายใต้สภาพแสง 4 แบบ (ตารางที่ 1) ให้แสงวันละ 16 ชั่วโมง หรือในที่มืด อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส วางแผนการทดลองแบบ 3×4 factorials in CRD สังเกตและบันทึกการเปลี่ยนแปลงต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ได้แก่ จำนวนขวดที่มีการเปลี่ยนแปลง จากนั้นจึงเปลี่ยนอาหารใหม่เป็นอาหารสูตรเดิม ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ทุก 4 สัปดาห์อีก 2 ครั้ง รวมเป็นเวลา 12 สัปดาห์

บันทึกการเกิดกลุ่มยอดทุก 4 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ โดยให้คะแนนตามลักษณะ ดังนี้

- 1 = ชินพืช ตาย
- 2 = ชินพืชมีชีวิตแต่ไม่มีการพัฒนา
- 3 = ชินพืชมีการพัฒนาเป็นยอด

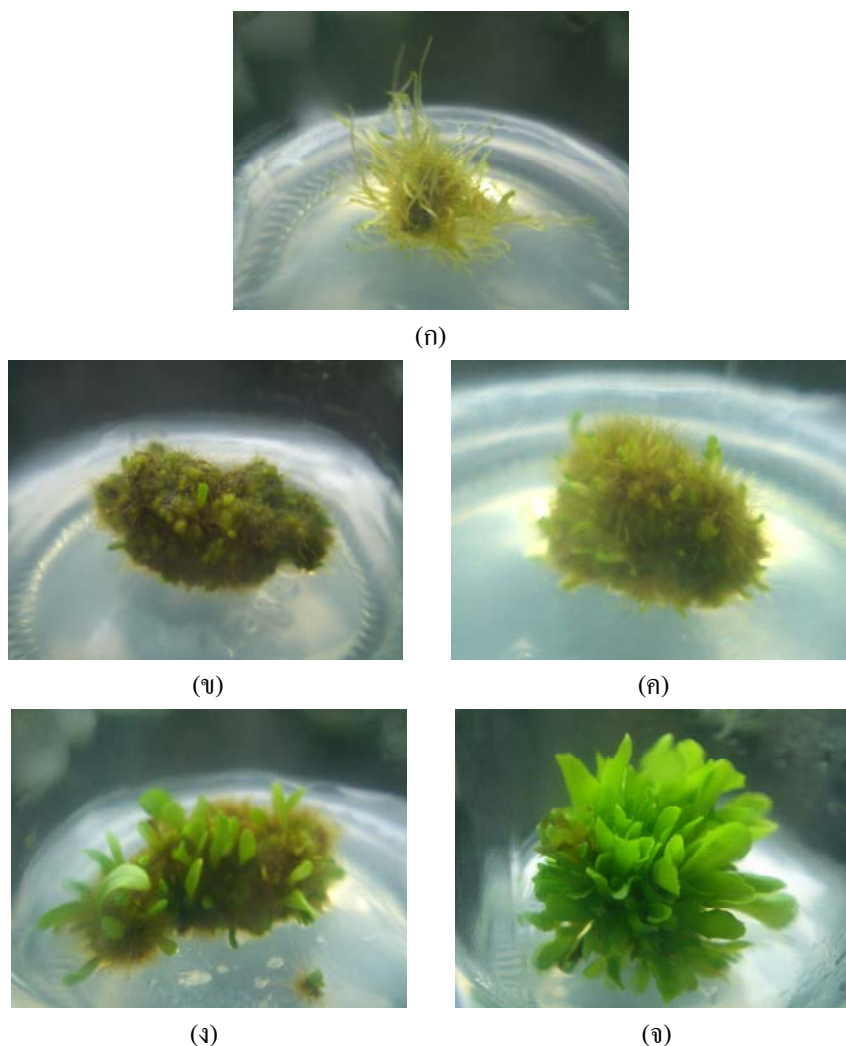
นอกจากนี้บันทึกรูปแบบของยอดที่เกิดขึ้นในสัปดาห์ที่ 12 โดยให้คะแนนตามลักษณะดังนี้

- 1 = ชี้น้ำพืชมมีการพัฒนาเป็นกลุ่มยอด ที่ยอดทั้งหมดมีการยืดยาวของใบ โดยไม่มีการพัฒนาของแผ่นใบ และมี rhizoid
- 2 = ชี้น้ำพืชมมีการพัฒนาเป็นกลุ่มยอด ที่ไม่พบการพัฒนาของแผ่นใบหรืออาจพบแผ่นใบเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย และมี rhizoid
- 3 = ชี้น้ำพืชมมีการพัฒนาเป็นกลุ่มยอด ที่ประกอบด้วยยอดที่มีการยืดยาวของใบ โดยไม่มีการพัฒนาของแผ่นใบ และยอดที่ไม่มีการพัฒนาของแผ่นใบ ในสัดส่วนของยอดที่เกิดขึ้นใกล้เคียงกัน และมี rhizoid
- 4 = ชี้น้ำพืชมมีการพัฒนาเป็นกลุ่มยอด ที่ประกอบด้วยยอดที่มีการพัฒนาของแผ่นใบ และยอดที่ไม่มีการพัฒนาของแผ่นใบ ในสัดส่วนของยอดที่เกิดขึ้นใกล้เคียงกัน และมี rhizoid
- 5 = ชี้น้ำพืชมมีการพัฒนาเป็นกลุ่มยอด ที่ยอดทั้งหมดมีการพัฒนาของแผ่นใบ และมี rhizoid

ตารางที่ 1 ความยาวคลื่นแสง และความเข้มแสงที่พืชนำไปสังเคราะห์แสงได้ (Photosynthetic Photon Flux) ของสภาพการเพาะเลี้ยงภายใต้แสง 4 แบบ

สภาพแสง	หลอดฟลูออเรสเซนต์	ความยาวคลื่น (nm)	ความเข้มแสง ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
แสงสีขาว	PHILIPS TL-D 36/54 Day light	430-690	43
แสงสีแดง	TOSHIBA FL 40S.RE 40 W	630-710	42
แสงสีน้ำเงิน	T.F.C. FL 40 SBT8/38 Blue	450-550	45
มืด ^{1/}	-	-	-

^{1/} กลุ่มฟ้าดำ



ภาพที่ 1 รูปแบบของยอดจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบชายผ้าสีดำเขากวาง

- ก) ชิ้นพืชมีการพัฒนาเป็นกลุ่มยอด ที่ยอดทั้งหมดมีการยืดยาวของใบโดยไม่มีการพัฒนาของแผ่นใบ และมี rhizoid
- ข) ชิ้นพืชมีการพัฒนาเป็นกลุ่มยอด ที่ไม่พบการพัฒนาของแผ่นใบหรืออาจพบแผ่นใบเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย และมี rhizoid
- ค) ชิ้นพืชมีการพัฒนาเป็นกลุ่มยอด ที่ประกอบด้วยยอดที่มีการยืดยาวของใบ โดยไม่มีการพัฒนาของแผ่นใบ และยอดที่ไม่มีการยืดยาวของใบ ในสัดส่วนที่ใกล้เคียงกัน และมี rhizoid
- ง) ชิ้นพืชมีการพัฒนาเป็นกลุ่มยอด ที่ประกอบด้วยยอดที่มีการพัฒนาของแผ่นใบ และยอดที่ไม่มีการพัฒนาของแผ่นใบ ในสัดส่วนของยอดที่เกิดขึ้นใกล้เคียงกัน และมี rhizoid
- จ) ชิ้นพืชมีการพัฒนาเป็นกลุ่มยอด ที่ยอดทั้งหมดมีการพัฒนาของแผ่นใบ และมี rhizoid

3. ผลของความเข้มข้นสูตรอาหารและ NAA ในการชักนำให้เกิดราก

นำยอดเฟินชายผ้าสีดาเขากวางที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ที่มีทรงพุ่มสูงประมาณ 1 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS คัดแปลงโดยลดความเข้มข้นของสูตรอาหารในสัดส่วนต่างๆ ได้แก่ 1/4 เท่า หรือ 1/8 เท่า และเติม NAA ความเข้มข้น 0 0.25 0.5 0.75 หรือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยอาหารทุกสูตรมีน้ำตาลทราย 20 กรัมต่อลิตร วุ้น 7 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงที่สภาพแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ PHILIPS TL-D 36/54 daylight ความเข้มแสง PPF 43 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที วันละ 16 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ หลังจากนั้นจึงย้ายลงอาหารสูตรเดิมที่ไม่เติม IBA และเพาะเลี้ยงในสภาพแสงเช่นเดิม เป็นเวลา 4 สัปดาห์ สังเกตการเปลี่ยนแปลงและบันทึกผลทุก 2 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบ 2x5 factorials in CRD ทำ 6 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ต้น บันทึกลักษณะอวัยวะที่เกิดขึ้นภายหลังการย้ายลงบนอาหารสูตรชักนำราก ดังต่อไปนี้

บันทึกผลการเกิด rhizoid และคะแนนการเกิด rhizoid ภายหลังจากการเพาะเลี้ยงลงในอาหารสูตรชักนำราก ทุก 2 สัปดาห์ โดยคิดคะแนนจากค่าเฉลี่ยคะแนนรวมของปริมาณและลักษณะ rhizoid ดังนี้

- 1 = ไม่เกิด rhizoid
- 2 = เกิด rhizoid จำนวนน้อย (ประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์หรือน้อยกว่าของพื้นที่บริเวณโคน) หรือ ขนาดสั้น (ยาวประมาณ 1 มิลลิเมตรหรือน้อยกว่า)
- 3 = เกิด rhizoid จำนวนปานกลาง (ประมาณ 25-75 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่บริเวณโคน) หรือ ขนาดกลาง (ยาวประมาณ 1-2 มิลลิเมตร)
- 4 = เกิด rhizoid จำนวนมาก (ประมาณ 75 เปอร์เซ็นต์หรือมากกว่าของพื้นที่บริเวณโคน) หรือ ขนาดยาว (ยาวประมาณ 2 มิลลิเมตรหรือมากกว่า)

และบันทึกลักษณะรากที่เกิดขึ้น อัตราการเกิดราก จำนวนราก ความยาวราก จำนวนใบ อัตราการแตกยอด และความสูงต้น ภายหลังสิ้นสุดการทดลอง



(ก)



(ข)



(ค)



(ง)



(จ)



(ฉ)



(ช)

ภาพที่ 2 ปริมาณและขนาดของ rhizoid จากการเพาะเลี้ยงยอดเฟินชายผ้าสีดาเขากวาง

ก) ไม่เกิด rhizoid

ข) เกิด rhizoid จำนวนน้อย (ประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์หรือน้อยกว่าของพื้นที่บริเวณโคน)

ค) rhizoid ขนาดสั้น (ยาวประมาณ 1 มิลลิเมตรหรือน้อยกว่า)

ง) เกิด rhizoid จำนวนปานกลาง (ประมาณ 25-75 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่บริเวณโคน)

จ) rhizoid ขนาดกลาง (ยาวประมาณ 1-2 มิลลิเมตร)

ฉ) เกิด rhizoid จำนวนมาก (ประมาณ 75 เปอร์เซ็นต์หรือมากกว่าของพื้นที่บริเวณโคน)

ช) rhizoid ขนาดยาว (ยาวประมาณ 2 มิลลิเมตรหรือมากกว่า)

4. การย้ายออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก

นำขวดเพาะเลี้ยงเฟินชายผ้าสีดาเขากวางออกจากห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ วางในสภาพภายนอกห้องและคลายเกลียวฝาขวดเพื่อลดความชื้นในขวดเป็นเวลา 3 วัน จากนั้นจึงนำต้นเฟินชายผ้าสีดาออกจากขวดและล้างวุ้นบริเวณรากออกให้หมด คัดต้นที่มีขนาดความกว้างทรงพุ่มประมาณ 1.5 เซนติเมตร ปลูกลงในกระถางพลาสติกสีดำขนาด 6 เซนติเมตร รองก้นกระถางด้วยกาบมะพร้าวสับปริมาณครึ่งหนึ่งของความสูงกระถาง ด้านบนทับด้วยวัสดุปลูกคือพีทมอสที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว รดน้ำจนชุ่มแล้วจึงนำกระถางไปใส่ในถุงพลาสติกใสขนาด 30x45 เซนติเมตร ถุงละ 7 กระถาง รัดปากถุงให้แน่นเพื่อรักษาความชื้น นำไปวางไว้ในโรงเรือนเพาะชำ ที่มีความเข้มแสงราวร้อยละ 40 ของแสงธรรมชาติ เป็นเวลา 1 สัปดาห์ หลังจากนั้นจึงลดความชื้นภายในถุงพลาสติกด้วยวิธีการที่ต่างกัน 2 วิธี คือ ตัดถุงพลาสติกให้เป็นช่องสี่เหลี่ยมขนาด 1.27x1.27 เซนติเมตร จำนวน 1 ช่อง โดยเพิ่มจำนวนช่องขึ้น 1 ช่อง ทุก 2 วัน เป็นเวลา 1 สัปดาห์ หรือ เปิดถุงเฉพาะในเวลากลางวัน โดยเริ่มเปิดถุงเวลา 18.00 น. และ ปิดถุงเวลา 6.00 น. เป็นเวลา 1 สัปดาห์ แล้วจึงนำกระถางออกจากถุงพลาสติกวางเพาะเลี้ยงต่ออีก 2 สัปดาห์ บันทึกอัตราการรอดชีวิต ขนาดทรงพุ่ม และจำนวนใบทุก 2 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำ 21 ซ้ำ ซ้ำละ 1 กระถาง รวมเวลาในการทดลอง 4 สัปดาห์ โดยเริ่มการทดลองในวันที่ 9 เมษายน 2551

สถานที่และระยะเวลาในการทดลอง

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการพัฒนาพันธุ์พืช และ โรงเรือนทดลอง ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ

ระยะเวลาทำการทดลอง

เริ่มทำการทดลองเดือนเมษายน 2549

สิ้นสุดการทดลองเดือนเมษายน 2551

ผล

1. ผลของระยะเวลาในการฟอกฆ่าเชื้อ ชนิดของใบ และตำแหน่งของชิ้นใบ ในการฟอกฆ่าเชื้อ

1.1 อัตราการปลอดเชื้อ

การฟอกฆ่าเชื้อใบอ่อน 2 ชนิด ได้แก่ ใบกาบ (sterile frond) และ ใบชาย (fertile frond) ของเฟินชายผ้าสีดาเขากวาง ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที หรือ โฟวิโคนไอโอดีน (PVI) เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 20 หรือ 30 นาที โดยแบ่งตัดใบอ่อนเป็น 3 ส่วน คือ ปลายใบ กลางใบ และ โคนใบ แล้วนำมาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลง โดยลดความเข้มข้นของสูตรอาหารลงครึ่งหนึ่ง และใส่น้ำตาลทราย 20 กรัมต่อลิตร ในสภาพมืดเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่ามีอิทธิพลของชนิดใบ ตำแหน่งของชิ้นใบ และอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดใบร่วมกับตำแหน่งของชิ้นใบ และอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดใบ ตำแหน่งชิ้นใบและการฟอกฆ่าเชื้อปรากฏขึ้นตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 (ตารางที่ 2) โดยเมื่อสิ้นสุดการเก็บผลในสัปดาห์ที่ 4 พบว่า ชิ้นส่วนที่ฟอกด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที หรือ โฟวิโคนไอโอดีน เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 20 หรือ 30 นาที มีคะแนนการปลอดเชื้อไม่แตกต่างกันคือ 1.83 1.89 1.86 และ 1.94 คะแนนตามลำดับ (ตารางที่ 2) เมื่อพิจารณาชนิดของใบ พบว่าใบชายมีคะแนนการปลอดเชื้อสูงกว่า คือ 1.97 คะแนน ขณะที่ใบกาบมีคะแนนการปลอดเชื้อต่ำกว่า คือ 1.79 คะแนน (ตารางที่ 2) และเมื่อพิจารณาดำแหน่งของชิ้นพืชบนใบ พบว่า ชิ้นส่วนพืชจากตำแหน่งปลายใบ มีคะแนนการปลอดเชื้อสูงที่สุดคือ 1.96 คะแนน รองลงมาคือชิ้นส่วนกลางใบ คือ 1.92 คะแนน และชิ้นส่วนพืชจากตำแหน่งโคนใบมีคะแนนการปลอดเชื้อต่ำที่สุดคือ 1.77 (ตารางที่ 2)

สำหรับอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของใบและตำแหน่งชิ้นพืช ต่ออัตราการปลอดเชื้อในสัปดาห์ที่ 4 พบว่า ใบกาบที่ตำแหน่งโคนใบมีคะแนนการปลอดเชื้อต่ำที่สุดคือ 1.58 คะแนน (ตารางที่ 3) ส่วนอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดใบ ตำแหน่งของชิ้นพืช และวิธีการฟอกฆ่าเชื้อ พบว่าการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วน ใบกาบที่ตำแหน่งโคนใบด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที หรือ โฟวิโคนไอโอดีนเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที มีคะแนนการปลอดเชื้อต่ำที่สุดคือ 1.33 คะแนน (ตารางที่ 4) อย่างไรก็ดี ภายหลังจากสัปดาห์ที่ 4 ไม่พบว่ามีกรลดลงของอัตราการปลอดเชื้อ

ตารางที่ 2 คะแนนการปลดเชื้อของจีนไบช่ายผ้าสีดาขาววง เมื่อใช้จีนไบจาก 3 ตำแหน่งของไบ 2 ชนิด โดยการฟอกฆ่าเชื้อ 4 วิธี ภายหลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 1 2 3 และ 4 สัปดาห์

ปัจจัย		สัปดาห์ที่			
		1	2	3	4
ชนิดของไบ	ไบกาบ	1.97 ^{1/}	1.83b ^{2/}	1.81b	1.79b
	ไบช่าย	1.97	1.97a	1.97a	1.97a
การฟอกฆ่าเชื้อ	H ₂ O ₂ 3% 15 นาที	1.97	1.86	1.83	1.83
	PVI 10% 10 นาที	1.97	1.89	1.89	1.89
	PVI 10% 20 นาที	1.94	1.86	1.86	1.86
	PVI 10% 30 นาที	2.00	2.00	1.97	1.94
ตำแหน่ง	ปลายไบ	1.98	1.98a	1.98a	1.96a
	กลางไบ	2.00	1.92ab	1.92a	1.92ab
	โคนไบ	1.94	1.81b	1.77b	1.77b
F-test					
ชนิดของไบ		ns	**	**	**
การฟอกฆ่าเชื้อ		ns	ns	ns	ns
ตำแหน่ง		ns	**	**	**
ชนิดของไบ x การฟอกฆ่าเชื้อ		ns	ns	ns	ns
ชนิดของไบ x ตำแหน่ง		ns	**	**	**
การฟอกฆ่าเชื้อ x ตำแหน่ง		ns	ns	ns	ns
ชนิดของไบ x การฟอกฆ่าเชื้อ x ตำแหน่ง		ns	**	**	**
C.V. (%)		8.45	13.28	13.95	14.69

^{1/} จากการฟอก 1 ชิ้นต่อ 1 ชั่วโมง ทำ 6 ชั่วโมง รวม 6 ชิ้น

^{2/} ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดิ่งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

PVI: Povidone-Iodine

ตารางที่ 3 คะแนนการปลอดเชื้อของชิ้นใบชาสายพันธุ์ชาขาว เมื่อใช้ชิ้นพืชจาก 3 ตำแหน่งของใบ 2 ชนิด หลังจากฟอกฆ่าเชื้อแล้ว เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ชนิดของใบ	ตำแหน่งของชิ้นส่วนบนใบ		
	ปลายใบ	กลางใบ	โคนใบ
ใบกาบ	1.96a ^{1/}	1.83a	1.58b
ใบชา	1.96a	2.00a	1.96a
F-test	**		
C.V. (%)	15.70		

^{1/} ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

ตารางที่ 4 คะแนนการปลอดเชื้อของชิ้นใบชาสายพันธุ์ชาขาว เมื่อใช้ชิ้นพืชจาก 3 ตำแหน่งของใบ 2 ชนิด โดยการฟอกฆ่าเชื้อ 4 วิธี หลังจากฟอกฆ่าเชื้อแล้ว เป็นเวลา 4 สัปดาห์

	ใบกาบ			ใบชา		
	ปลายใบ	กลางใบ	โคนใบ	ปลายใบ	กลางใบ	โคนใบ
H ₂ O ₂ 3% 15 นาที	2.00a ^{1/}	1.83a	1.33b	1.83a	2.00a	2.00a
PVI 10% 10 นาที	2.00a	2.00a	1.33b	2.00a	2.00a	2.00a
PVI 10% 20 นาที	2.00a	1.50ab	1.83a	2.00a	2.00a	1.83a
PVI 10% 30 นาที	1.83a	2.00a	1.83a	2.00a	2.00a	2.00a
F-test	**					
%C.V.	14.69					

^{1/} ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดิ่งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

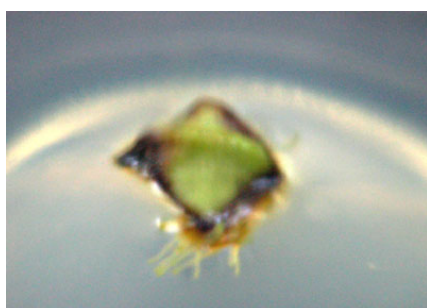
** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

PVI: Povidone-Iodine

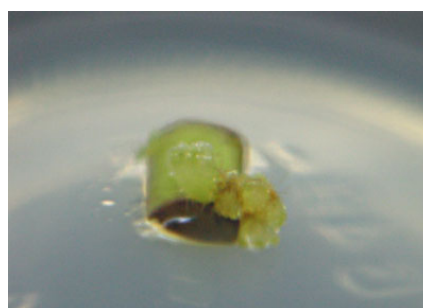
1.2 การเปลี่ยนแปลงของชินพืชที่ปลอดเชื้อ

หลังจากการเพาะเลี้ยงชินใบชาฝ้ายสีดำเขากวางเป็นเวลา 16 สัปดาห์ พบว่า การเปลี่ยนแปลงของชินพืชที่ปลอดเชื้อ มีการพัฒนาและเจริญเติบโตได้ 3 รูปแบบ ได้แก่ (1) ชินพืชตาย (2) ชินพืชมีชีวิตแต่ไม่มีการพัฒนา และ (3) ชินพืชมีการพัฒนาเป็นยอดและมีการสร้าง rhizoid จากการสังเกตพบว่า ชินส่วนพืชที่มาจากใบกาบ เริ่มมีการพัฒนาเป็นยอดและมีการสร้าง rhizoid ในสัปดาห์ที่ 4 ส่วนชินส่วนพืชที่มาจาก ใบชาเริ่มมีการพัฒนาเป็นยอดและมีการสร้าง rhizoid ในสัปดาห์ที่ 5 โดยยอดที่เกิดขึ้นนั้น มีการพัฒนามาจากบริเวณรอยตัดของชินพืช โดยใบกาบสามารถเห็นการเกิดยอดขึ้นบริเวณรอยตัดด้าน abaxial ของแผ่นใบได้อย่างชัดเจน (ภาพที่ 3)

ชินพืชที่ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ภายหลังการฟอกฆ่าเชื้อ เมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปในสภาพมีด บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ดัดแปลงโดยลดความเข้มข้นของเกลือแร่และวิตามินลงครึ่งหนึ่ง เติมน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 16 พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงของชินพืชเกิดขึ้น โดยพบความแตกต่างกันของคะแนนการพัฒนาของชินพืชเมื่อฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการที่ต่างกัน โดยการฟอกด้วยโพวิโดนไอโอดีน เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ทำให้ได้คะแนนการพัฒนาของชินใบไม่ต่างกันตามระยะเวลาที่ใช้ การฟอกด้วยโพวิโดนไอโอดีนเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 20 และ 30 นาที ทำให้การพัฒนาของชินพืชมีคะแนนคือ 2.16 2.61 และ 2.32 คะแนนตามลำดับ ส่วนการฟอกฆ่าเชื้อด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที ทำให้การพัฒนาของชินพืชมีคะแนนต่ำกว่าการฟอกฆ่าเชื้อด้วยโพวิโดนไอโอดีนเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 20 นาที โดยมีคะแนนการพัฒนาเพียง 1.97 คะแนน (ตารางที่ 5)



(ก)



(ข)

ภาพที่ 3 ลักษณะการพัฒนาขึ้นเป็นยอดของชินใบชาฝ้ายสีดำเขากวาง (ก) ใบกาบ (ข) ใบชา
หลังจากเพาะเลี้ยง เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ตารางที่ 5 คะแนนการพัฒนาของชันพืช เมื่อใช้ชันพืชจาก 3 ตำแหน่งของใบ 2 ชนิด โดยการฟอกฆ่าเชื้อ 4 วิธี ภายหลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 16 สัปดาห์

	ปัจจัย	คะแนนการพัฒนาของชันพืช ^{1/}
ชนิดของใบ	ใบกาบ	2.35
	ใบชาย	2.20
การฟอกฆ่าเชื้อ	H ₂ O ₂ 3% 15 นาที	1.97b ^{2/}
	PVI 10% 10 นาที	2.16ab
	PVI 10% 20 นาที	2.61a
	PVI 10% 30 นาที	2.32ab
ตำแหน่ง	ปลายใบ	2.46
	กลางใบ	2.27
	โคนใบ	2.03
F-test		
ชนิดของใบ		ns
การฟอกฆ่าเชื้อ		*
ตำแหน่ง		ns
ชนิดของใบ x การฟอกฆ่าเชื้อ		ns
ชนิดของใบ x ตำแหน่ง		ns
การฟอกฆ่าเชื้อ x ตำแหน่ง		ns
ชนิดของใบ x การฟอกฆ่าเชื้อ x ตำแหน่ง		ns
C.V. (%)		38.78

^{1/} จากชันพืชที่ปลอดจากเชื้อจุลินทรีย์

^{2/} ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

PVI: Povidone-Iodine

2. ผลของ BA และ แสงสีต่าง ๆ ในการชักนำให้เกิดยอดในการเพาะเลี้ยงใบ

2.1 การรอดชีวิตของชิ้นพืช

หลังจากนำใบชายผ้าสีดำเขากวางที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ขนาดความยาวประมาณ 0.8-1.0 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS คัดแปลง ที่ลดความเข้มข้นของสูตรอาหารลงเป็น 1/2 เท่าของสูตรปกติ เดิม BA ความเข้มข้น 0.050 หรือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการใช้สภาพแสงสีขาว สีแดง สีน้ำเงิน หรือสภาพมืด พบว่า ความเข้มข้นของ BA และสภาพแสง มีอิทธิพลต่อคะแนนการรอดชีวิตของชิ้นพืชภายใน 4 สัปดาห์แรกเท่านั้น โดยในสัปดาห์ที่ 4 พบว่า BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ได้คะแนนการรอดชีวิตของชิ้นพืชต่ำที่สุด คือ 1.68 คะแนน ในขณะที่ BA ความเข้มข้น 0 และ 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้คะแนนการรอดชีวิตของชิ้นพืชที่สูงกว่าไม่แตกต่างกัน คือ 1.83 คะแนน (ตารางที่ 6) ในขณะที่สภาพแสงมีผลต่อคะแนนการรอดชีวิตของชิ้นพืช โดยพบว่าการเพาะเลี้ยงในสภาพที่มีแสงให้คะแนนการรอดชีวิตไม่แตกต่างกัน ในขณะที่การเพาะเลี้ยงในสภาพมืดให้คะแนนการรอดชีวิตสูงที่สุด คือ 1.88 คะแนน และไม่ต่างจากการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาพแสงสีแดง (ตารางที่ 6) นอกจากนี้ ไม่พบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างสภาพแสงและความเข้มข้นของ BA ต่อคะแนนการรอดชีวิตของชิ้นพืช อย่างไรก็ตาม ใ้ใดก็ตาม หลังจากย้ายชิ้นพืชลงในอาหารสูตรเดิม ที่ไม่มีการเติม BA ภายใต้สภาพแสงเช่นเดิม ไม่พบอิทธิพลของความเข้มข้นของ BA จากอาหารเดิมและสภาพแสง ต่อคะแนนการรอดชีวิตของชิ้นพืช ในสัปดาห์ที่ 8 จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 12 (ตารางที่ 6) ลักษณะของใบที่ตาย ส่วนใหญ่จะกลายเป็นสีดำ และพบสารสีน้ำตาลบริเวณอาหาร

ตารางที่ 6 คะแนนการรอดชีวิตของชันใบชาขี้ผึ้งสีดาเขากวาง เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่ลดความเข้มข้นของสูตรอาหารเป็น 1/2 เท่า และเติม BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 หรือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายใต้อุณหภูมิแสง 4 ชนิด เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะในอาหารสูตรเดิม แต่ปราศจาก BA เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ปัจจัย		สัปดาห์ที่		
		4	8	12
BA	0 มก./ลิตร	1.83a	1.79	1.75
	0.50 มก./ลิตร	1.83a	1.80	1.80
	1.00 มก./ลิตร	1.68b	1.68	1.67
สภาพแสง	สีขาว	1.70b	1.70	1.70
	สีน้ำเงิน	1.70b	1.68	1.68
	สีแดง	1.82ab	1.82	1.82
	มืด	1.88a	1.82	1.82
F-test				
BA		*	ns	ns
สภาพแสง		*	ns	ns
BA x สภาพแสง		ns	ns	ns
C.V. (%)		23.12	24.39	24.39

^{1/} ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

2.2 การพัฒนาของขึ้นพืช

ในส่วนการพัฒนาของขึ้นพืช พบว่าความเข้มข้นของ BA และสภาพแสง ไม่มีผลต่อคะแนนการเปลี่ยนแปลงของขึ้นพืช ตลอดช่วงระยะเวลา 12 สัปดาห์ที่ทำการศึกษา (ตารางที่ 7) แต่อย่างไรก็ดี พบว่าขึ้นพืชมีการตอบสนองต่อระดับความเข้มข้นของ BA และ สภาพแสง โดยเกิดกลุ่มยอดที่มีพัฒนาการของใบแตกต่างกัน แบ่งได้เป็น 5 รูปแบบ ได้แก่ (1) กลุ่มยอดที่ยอดทั้งหมดมีการพัฒนาของใบ (2) กลุ่มยอดที่ประกอบด้วยยอดที่มีการพัฒนาของใบและยอดที่ไม่มีการพัฒนาของใบ ในสัดส่วนของยอดที่เกิดขึ้นใกล้เคียงกัน (3) กลุ่มยอดที่ประกอบด้วยยอดที่มีการยืดยาวของใบและยอดที่ไม่มีการยืดยาวของใบ ในสัดส่วนที่ใกล้เคียงกัน (4) กลุ่มยอดที่ไม่พบการพัฒนาของใบหรืออาจพบใบเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย และ (5) กลุ่มยอดที่ยอดทั้งหมดมีการยืดยาวของใบ (ภาพที่ 4) โดยพบว่าทุกรูปแบบของกลุ่มยอดที่เกิดขึ้น มีการเจริญเติบโตของ rhizoid บริเวณโคนของกลุ่มยอดทั้ง 5 รูปแบบด้วย โดยขึ้นพืชที่รอดชีวิตสามารถเกิดตาพิเศษได้ภายในสัปดาห์ที่ 4

จากการสังเกตกลุ่มยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงขึ้นใบ บนอาหารที่ไม่มีการเติม BA ในช่วง 4 สัปดาห์แรก ภายใต้อาหารได้รับแสงสีขาว สีน้ำเงิน และสีแดง พบว่า ภายหลังจากสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 12 กลุ่มยอดที่เกิดขึ้นมีลักษณะการพัฒนาของใบอย่างเต็มที่ ในขณะที่กลุ่มยอดที่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงขึ้นใบในสภาพมืด มีการยืดยาวของใบได้อย่างชัดเจน โดยใบที่เกิดขึ้นมีลักษณะยาวเรียว อวบน้ำ ก่อนข้างใส สีเขียวอ่อน ส่วนกลุ่มยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบในอาหารสูตรที่มี BA พบว่า ขนาดของใบจะเล็กลงเมื่อมีความเข้มข้นของ BA ที่สูงขึ้น เมื่อนำรูปแบบของกลุ่มยอดที่เกิดขึ้นมาให้คะแนนและวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าความเข้มข้นของ BA และสภาพแสง มีอิทธิพลต่อรูปแบบของกลุ่มยอดที่เกิดขึ้น และมีอิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของ BA และสภาพแสงด้วย ซึ่งเมื่อพิจารณาจากความเข้มข้นของ BA พบว่า การใช้ BA ในความเข้มข้นที่สูงขึ้น ให้คะแนนรูปแบบของกลุ่มยอดที่ต้องการลดลง โดยคะแนนมีค่าสูงสุดเมื่อไม่ใช้ BA คือ 3.98 คะแนน รองลงมาคือ การใช้ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร คือ 3.31 คะแนน ในขณะที่การใช้ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้คะแนนรูปแบบของกลุ่มยอดต่ำที่สุด คือ 2.94 คะแนน (ตารางที่ 8) ส่วนการเพาะเลี้ยงในสภาพแสงต่าง ๆ พบว่า การเพาะเลี้ยงในสภาพได้รับแสงสีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน ให้คะแนนรูปแบบของกลุ่มยอดที่เกิดขึ้นไม่แตกต่างกัน คือ 4.41 4.24 และ 3.93 คะแนน ตามลำดับ (ตารางที่ 8) ในขณะที่สภาพมืดให้คะแนนรูปแบบของกลุ่มยอดที่เกิดขึ้นต่ำที่สุด คือ 1.61 คะแนน (ตารางที่ 8) เมื่อพิจารณาถึงอิทธิพลร่วมระหว่าง BA และสภาพแสงพบว่า ขึ้นพืชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่ไม่เติม BA ให้คะแนนรูปแบบของกลุ่มยอดที่เกิดขึ้นสูงที่สุดในสภาพแสงทุกสี คือ 5.00 คะแนน (ตารางที่ 9) ในขณะที่คะแนนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงขึ้นใบ

ภายใต้สภาพแสงสีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน บนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่แตกต่างจากคะแนนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงขึ้นใบภายใต้สภาพแสงสีขาวและแสงสีแดง บนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 9) และให้คะแนนต่ำที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงขึ้นใบ บนอาหารที่ไม่เติม BA ในสภาพมืด คือ 1.00 คะแนน (ตารางที่ 9)

อย่างไรก็ดี เมื่อทำการวัดความสูงทรงพุ่มและขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของกลุ่มยอดที่เกิดขึ้น นำมาวิเคราะห์พบว่า แสงสีขาวและแสงสีแดง มีอิทธิพลต่อขนาดความสูงทรงพุ่มและขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางทรงพุ่มไม่แตกต่างกัน คือมีขนาดความสูง 1.83 และ 1.79 เซนติเมตร ตามลำดับ ในขณะที่เส้นผ่าศูนย์กลาง คือ 2.22 และ 2.29 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนแสงสีน้ำเงิน และสภาพมืด ให้ความสูงทรงพุ่มต่ำไม่แตกต่างกัน คือ 1.49 และ 1.48 เซนติเมตร ตามลำดับ เส้นผ่าศูนย์กลางทรงพุ่ม คือ 1.78 และ 1.84 เซนติเมตร ตามลำดับ และพบอิทธิพลของ BA ต่อความสูงทรงพุ่มของกลุ่มยอด โดยขึ้นพืชซึ่งย้ายมาจากอาหารที่ปราศจาก BA มีความสูงทรงพุ่มของกลุ่มยอดที่เกิดขึ้นสูงที่สุดคือ 2.12 เซนติเมตร ในขณะที่ขึ้นพืชซึ่งย้ายมาจากอาหารสูตรที่มี BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสูงทรงพุ่มของกลุ่มยอดที่เกิดขึ้นรองลงมาคือ 1.49 เซนติเมตร และความสูงทรงพุ่มของกลุ่มยอดที่ต่ำสุด พบในกลุ่มยอดที่เกิดจากขึ้นพืชซึ่งย้ายมาจากอาหารสูตรที่มี BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และยังพบอิทธิพลของ BA ต่อขนาดทรงพุ่มของกลุ่มยอดด้วยเช่นกัน โดยยอดซึ่งย้ายมาจากอาหารสูตรที่ไม่มีการเติม BA มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางทรงพุ่มเฉลี่ยสูงที่สุดคือ 2.72 เซนติเมตร รองลงมาคือยอดซึ่งเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร คือ 1.75 และ 1.58 เซนติเมตร ตามลำดับ ทั้งนี้ไม่พบอิทธิพลร่วมระหว่าง BA และสภาพแสงต่อขนาดของทรงพุ่ม (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 7 คะแนนการเปลี่ยนแปลงของจีนโบชายผ้าสีดำขาว เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหาร
 สูตร MS ดัดแปลงโดยเติม BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 หรือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร
 ภายใต้สภาพแสง 4 แบบ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรเดิมแต่
 ปราศจาก BA เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ปัจจัย		สัปดาห์ที่		
		4	8	12
BA	0 มก./ลิตร	2.24	2.50	2.58
	0.50 มก./ลิตร	2.38	2.53	2.60
	1.00 มก./ลิตร	2.09	2.30	2.35
สภาพแสง	สีขาว	2.20	2.32	2.40
	สีน้ำเงิน	2.05	2.32	2.37
	สีแดง	2.32	2.60	2.63
	มืด	2.37	2.55	2.63
F-test				
BA		ns	ns	ns
สภาพแสง		ns	ns	ns
BA x สภาพแสง		ns	ns	ns
C.V. (%)		35.15	35.04	34.11

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 8 คะแนนรูปแบบของกลุ่มยอดที่เกิดขึ้น ภายหลังเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง โดยเติม BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 หรือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายใต้สภาพแสง 4 แบบ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายลงอาหารสูตรเดิมที่ไม่เติม BA เป็นเวลา 8 สัปดาห์

	ปัจจัย	คะแนนรูปแบบของกลุ่มยอด
BA	0 มก./ลิตร	3.98a ^{1/}
	0.50 มก./ลิตร	3.31b
	1.00 มก./ลิตร	2.94c
สภาพแสง	สีขาว	4.14a
	สีน้ำเงิน	3.93a
	สีแดง	4.24a
	มืด	1.61b
F-test		
BA		**
สภาพแสง		**
BA x สภาพแสง		**
C.V. (%)		27.03

^{1/} ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดังนี้ไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

ตารางที่ 9 คะแนนรูปแบบของกลุ่มยอดที่เกิดขึ้น ภายหลังเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง โดยเติม BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 หรือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายใต้สภาพแสง 4 แบบ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายลงอาหารสูตรเดิมที่ไม่เติม BA เป็นเวลา 8 สัปดาห์

สภาพแสง	BA (มก./ลิตร)	จำนวนชิ้นส่วน ^{1/}	คะแนนรูปแบบของกลุ่มยอดที่เกิดขึ้น
สีขาว	0	16	5.00a ^{2/}
	0.50	16	3.69b
	1.00	10	3.50bc
สีน้ำเงิน	0	15	5.00a
	0.50	15	3.80b
	1.00	11	2.64cd
สีแดง	0	16	5.00a
	0.50	17	4.00b
	1.00	16	3.75b
มีด	0	16	1.00e
	0.50	16	1.75ed
	1.00	17	2.06d
F-test			**
C.V. (%)			27.03

^{1/} จำนวนชิ้นส่วนที่รอดชีวิตจากชิ้นส่วนเริ่มต้น 20 ชิ้นส่วน

^{2/} ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดิ่งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

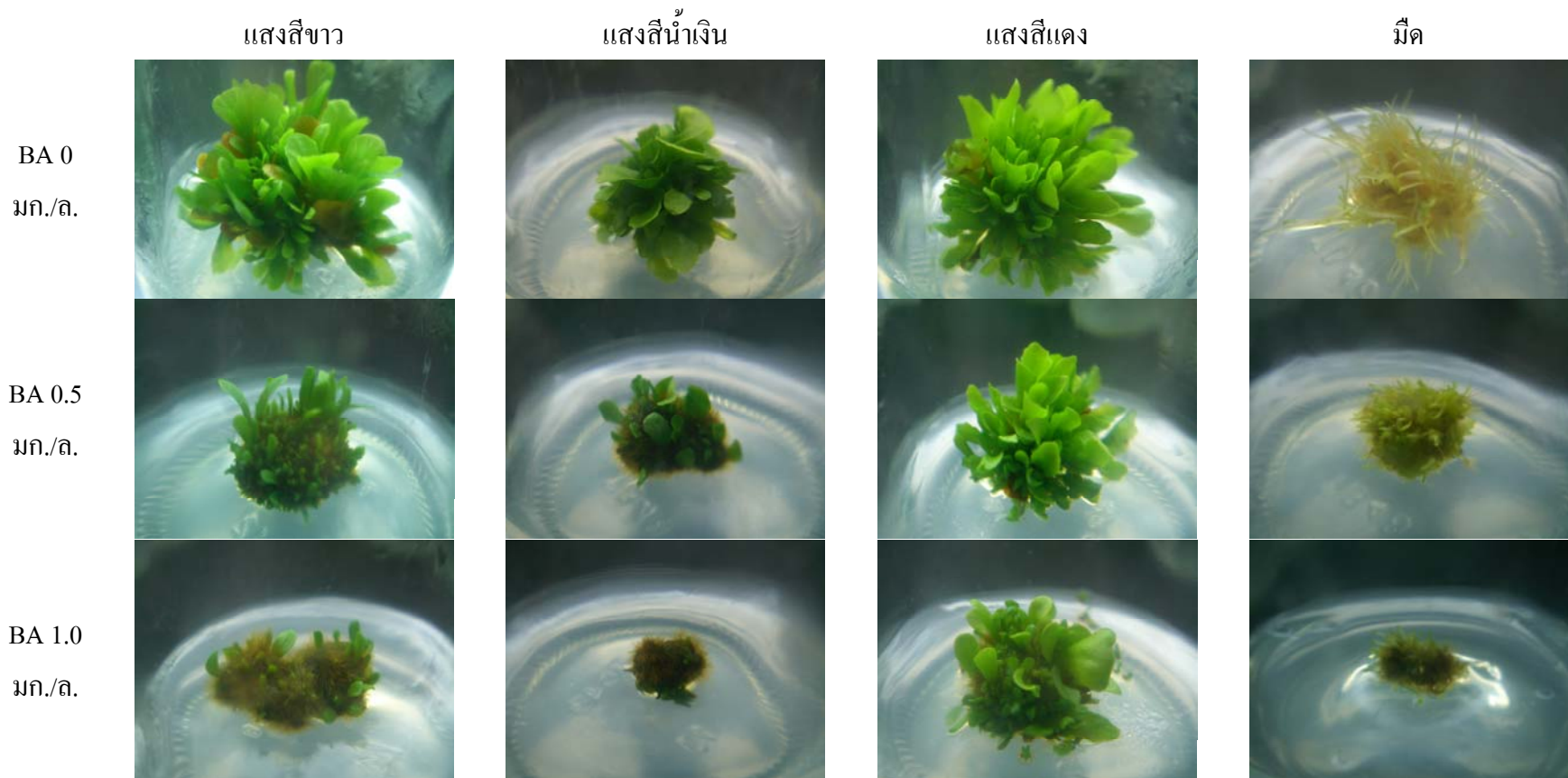
ตารางที่ 10 ขนาดทรงพุ่มของกลุ่มยอดที่เกิดขึ้น หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง โดยเติม BA ที่ระดับความเข้มข้น 0 0.5 หรือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ภายใต้สภาพแสง 4 แบบ แล้วย้ายลงอาหารสูตรเดิมที่ไม่เติม BA เป็นเวลา 8 สัปดาห์

	ปัจจัย	ความสูง (ซม.)	เส้นผ่าศูนย์กลาง (ซม.)
BA	0 มก./ลิตร	2.12a ^{1/}	2.72a
	0.50 มก./ลิตร	1.49b	1.75b
	1.00 มก./ลิตร	1.29c	1.58b
สภาพแสง	สีขาว	1.83a	2.22a
	สีน้ำเงิน	1.49b	1.78b
	สีแดง	1.79a	2.29a
	มืด	1.48b	1.84b
F-test			
BA		**	**
สภาพแสง		**	**
BA x สภาพแสง		ns	ns
C.V. (%)		32.09	36.11

^{1/} ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์



ภาพที่ 4 รูปแบบของกลุ่มยอดที่เกิดขึ้น ภายหลังเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง โดยเติม BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 หรือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายใต้อาสงแสง 4 แบบ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายลงอาหารสูตรเดิมที่ไม่เติม BA เป็นเวลา 8 สัปดาห์

การทดลองที่ 3 ผลของความเข้มข้นสูตรอาหารและ NAA ในการชักนำให้เกิดราก

การเพาะเลี้ยงยอดเฟินชายผ้าสีดาเขากวางบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง โดยลดความเข้มข้นของสูตรอาหารเป็น 1/4 หรือ 1/8 เท่า ร่วมกับการไม่เติมหรือเติม NAA ความเข้มข้น 0.25 0.5 0.75 หรือ 1 มิลลิกรัม/ลิตร เพื่อชักนำให้เกิดราก พบว่ายอดเฟินชายผ้าสีดาเขากวางมีการเจริญเติบโตและเกิดการสร้างโครงสร้างเพื่อทำหน้าที่แทนรากขึ้นมาก่อน โดยพบ rhizoid เกิดขึ้นบริเวณโคนต้น ภายในสัปดาห์ที่ 2 หลังการย้ายลงในอาหารสูตรชักนำราก ต่อมาภายหลังจากการย้ายลงอาหารใหม่ที่ปราศจาก NAA จึงสามารถสังเกตเห็นรากได้ในสัปดาห์ที่ 6

เมื่อพิจารณาจากคะแนนการเจริญเติบโตของ rhizoid ที่เกิดขึ้น โดยนำมาวิเคราะห์สถิติพบว่า NAA มีอิทธิพลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของ rhizoid ที่เกิดขึ้น ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 จนกระทั่งถึงสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 8 โดยพบว่า rhizoid ในอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่มีการเติม NAA ความเข้มข้น 0.25 0.50 0.75 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีคะแนนการเจริญเติบโตของ rhizoid สูงไม่แตกต่างกัน ในขณะที่อาหารสูตร MS ดัดแปลงที่ไม่มีการเติม NAA ให้คะแนนการเจริญเติบโตของ rhizoid ต่ำที่สุด ในทุกสัปดาห์ที่ทำการศึกษา (ตารางที่ 11) ในขณะที่ความเข้มข้นของสูตรอาหาร พบว่าเริ่มมีอิทธิพลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของ rhizoid ในสัปดาห์ที่ 6 เป็นต้นไป เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 8 พบว่า อาหารสูตร MS ดัดแปลงที่มีการลดความเข้มข้นของสูตรอาหารเป็น 1/8 เท่า ให้คะแนนการเจริญเติบโตของ rhizoid สูงกว่า คือ 3.60 คะแนน ในขณะที่อาหารสูตร MS ดัดแปลงที่มีการลดความเข้มข้นของสูตรอาหาร 1/4 เท่า ให้คะแนนการเจริญเติบโตของ rhizoid ต่ำกว่า คือ 3.39 คะแนน ทั้งนี้ไม่พบอิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของสูตรอาหารกับ NAA ทั้งในสัปดาห์ที่ 6 และ 8 (ตารางที่ 11)

เมื่อพิจารณารากที่สังเกตพบในสัปดาห์ที่ 6 พบว่าความเข้มข้นของสูตรอาหาร มีอิทธิพลต่ออัตราการเกิดราก ซึ่งยอดที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ลดความเข้มข้นของสูตรอาหารเป็น 1/8 เท่า ให้อัตราการเกิดรากมากกว่า คือ 66.28 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ยอดที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้น 1/4 เท่า ให้อัตราการเกิดรากน้อยกว่า คือ 44.16 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่สัปดาห์ที่ 8 ไม่พบว่ามีอิทธิพลของความเข้มข้นของสูตรอาหาร ต่ออัตราการเกิดราก (ตารางที่ 12) นอกจากนี้ พบว่า NAA มีอิทธิพลต่ออัตราการเกิดรากของยอดเฟินชายผ้าสีดาเขากวาง ทั้งในสัปดาห์ที่ 6 และ 8 โดยพบว่า ยอดที่ย้ายมาจากอาหารที่มีการเติม NAA ในทุกระดับความเข้มข้นให้อัตราการเกิดรากไม่แตกต่างกัน ในขณะที่ยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่มีการเติม NAA ให้อัตราการเกิดรากน้อยที่สุด ทั้งนี้ไม่พบอิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของสูตรอาหารกับ NAA (ตารางที่ 15) ซึ่งเมื่อสิ้นสุด

การทดลองในสัปดาห์ที่ 8 พบว่า การใช้ NAA ความเข้มข้น 0.25 0.50 0.75 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการเกิดรากมากไม่แตกต่างกัน คือ 84.48 96.98 96.98 และ 94.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่อาหารที่ไม่มีการเติม BA ให้อัตราการเกิดรากน้อยที่สุด คือ 63.59 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 12)

เมื่อพิจารณาถึงจำนวนราก เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 8 พบว่าอิทธิพลของ NAA มีผลต่อจำนวนรากที่เกิดขึ้น โดยการใช้ NAA ในทุกระดับความเข้มข้นที่ศึกษา ได้แก่ 0.25 0.50 0.75 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนรากที่เกิดขึ้นสูงไม่แตกต่างกัน คือ 3.30 3.94 4.01 และ 3.91 ราก ตามลำดับ ในขณะที่การไม่ใช้ NAA ให้จำนวนรากที่น้อยที่สุด คือ 1.81 ราก อย่างไรก็ตามพบว่ามีอิทธิพลของความเข้มข้นของสูตรอาหารต่อจำนวนรากที่เกิดขึ้น (ตารางที่ 13) นอกจากนี้เมื่อพิจารณาถึงความยาวรากที่เกิดขึ้น และลักษณะการเจริญเติบโตในด้านความสูงทรงพุ่ม จำนวนต้นที่แตกยอด และจำนวนใบ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันในทุกพารามิเตอร์ที่ทำการศึกษา (ตารางที่ 14, ภาพที่ 5)

ตารางที่ 11 คะแนนการเจริญเติบโตของ rhizoid ที่ได้จากการเลี้ยงยอดชายผ้าสีดาเขากวาง บนอาหารแข็งสูตร MS คัดแปลงความเข้มข้นของสูตรอาหารเป็น 1/4 หรือ 1/8 เท่า ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0 0.25 0.50 0.75 หรือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมแต่ปราศจาก NAA เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ปัจจัย		สัปดาห์ที่			
		2	4	6	8
ความเข้มข้นของสูตรอาหาร	1/4 เท่า	3.34	3.56	3.18b ^{1/}	3.39b
	1/8 เท่า	3.54	3.62	3.54a	3.60a
ความเข้มข้นของ NAA	0 มก./ลิตร	2.99b	3.00b	2.83b	2.98b
	0.25 มก./ลิตร	3.49a	3.74a	3.26ab	3.58a
	0.50 มก./ลิตร	3.56a	3.78a	3.47a	3.56a
	0.75 มก./ลิตร	3.65a	3.81a	3.60a	3.65a
	1.00 มก./ลิตร	3.51a	3.64a	3.64a	3.69a
F-test					
ความเข้มข้นของสูตรอาหาร		ns	ns	*	*
ความเข้มข้นของ NAA		**	**	**	**
อิทธิพลร่วม		ns	ns	ns	ns
C.V. (%)		11.60	10.14	17.45	9.90

^{1/} ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

ตารางที่ 12 อัตราการเกิดราก จากการเลี้ยงยอดชายผ้าสีดาเขากวาง บนอาหารแข็งสูตร MS
 คัดแปลงความเข้มข้นของสูตรอาหารเป็น 1/4 หรือ 1/8 เท่า ร่วมกับ NAA ที่ระดับ
 ความเข้มข้น 0 0.25 0.50 0.75 หรือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไป
 เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมแต่ปราศจาก NAA เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ปัจจัย		อัตราการเกิดราก ^{1/}	
		สัปดาห์ที่ 6	สัปดาห์ที่ 8
ความเข้มข้นของสูตรอาหาร	1/4 เท่า	44.16b ^{2/}	82.23
	1/8 เท่า	66.28a	91.29
ความเข้มข้นของ NAA	0 มก./ลิตร	10.76b	63.59b
	0.25 มก./ลิตร	68.56a	84.48a
	0.50 มก./ลิตร	81.70a	96.98a
	0.75 มก./ลิตร	69.49a	96.98a
	1.00 มก./ลิตร	63.75a	94.00a
F-test			
ความเข้มข้นของสูตรอาหาร		**	ns
ความเข้มข้นของ NAA		**	**
อิทธิพลร่วม		ns	ns
C.V. (%)		26.82	14.52

^{1/} มีการแปลงข้อมูลโดยใช้ค่ารากที่สองของ X+1 ก่อนนำข้อมูลมาวิเคราะห์

^{2/} ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดิ่งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

ตารางที่ 13 จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย ที่ได้จากการเลี้ยงยอดชายผ้าสีดาเขากวาง บนอาหารแข็งสูตร MS คัดแปลงความเข้มข้นของสูตรอาหารเป็น 1/4 หรือ 1/8 เท่า ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0 0.25 0.50 0.75 หรือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมแต่ปราศจาก NAA เป็นเวลา 4 สัปดาห์

	ปัจจัย	จำนวนราก ^{1/}	ความยาวราก (มม.)
ความเข้มข้นของสูตรอาหาร	1/4 เท่า	2.89	2.16
	1/8 เท่า	3.84	2.24
ความเข้มข้นของ NAA	0 มก./ลิตร	1.81b ^{2/}	2.40
	0.25 มก./ลิตร	3.30a	2.04
	0.50 มก./ลิตร	3.94a	2.07
	0.75 มก./ลิตร	4.01a	2.23
	1.00 มก./ลิตร	3.91a	2.30
F-test			
ความเข้มข้นของสูตรอาหาร		ns	ns
ความเข้มข้นของ NAA		*	ns
อิทธิพลร่วม		ns	ns
C.V. (%)		23.00	22.61

^{1/} มีการแปลงข้อมูลโดยใช้ค่ารากที่สองของ X+1 ก่อนนำข้อมูลมาวิเคราะห์

^{2/} ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดิ่งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางที่ 14 ความสูงต้น จำนวนต้นที่แตกยอด จำนวนใบ ภายหลังการเพาะเลี้ยงยอดชายผ้าสีดาเขา กวาง บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงความเข้มข้นของสูตรอาหารเป็น 1/4 หรือ 1/8 เท่า ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0 0.25 0.50 0.75 หรือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น เวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมแต่ปราศจาก NAA เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ปัจจัย		ความสูงต้น (ซม.)	จำนวนต้นที่ แตกยอด ^{1/2/}	จำนวนใบ
ความเข้มข้นของสูตรอาหาร	1/4 เท่า	1.65	1.60	4.30
	1/8 เท่า	1.59	1.62	4.34
ความเข้มข้นของ NAA	0 มก./ลิตร	1.63	2.20	4.22
	0.25 มก./ลิตร	1.63	1.39	4.34
	0.50 มก./ลิตร	1.56	1.38	3.97
	0.75 มก./ลิตร	1.62	1.29	4.64
	1.00 มก./ลิตร	1.67	1.73	4.44
F-test				
ความเข้มข้นของสูตรอาหาร		ns	ns	ns
ความเข้มข้นของ NAA		ns	ns	ns
อิทธิพลร่วม		ns	ns	ns
C.V. (%)		11.82	20.75	16.84

^{1/} มีการแปลงข้อมูลโดยใช้ค่ารากที่สองของ X+1 ก่อนนำข้อมูลมาวิเคราะห์

^{2/} เฉลี่ยจากจำนวนทั้งหมด 3 ต้นต่อขวด

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

	1/4 MS	1/8 MS
NAA 0 มก./ล.		
NAA 0.25 มก./ล.		
NAA 0.50 มก./ล.		
NAA 0.75 มก./ล.		
NAA 1.00 มก./ล.		

ภาพที่ 5 ลักษณะต้นและราก ภายหลังการเพาะเลี้ยงยอดชายผ้าสีดาเขากวาง บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงความเข้มข้นของสูตรอาหารเป็น 1/4 หรือ 1/8 เท่า ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0 0.25 0.50 0.75 หรือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมแต่ปราศจาก NAA เป็นเวลา 4 สัปดาห์

4. การย้ายออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก

การปรับสภาพต้นเฟินชายผ้าสีดาเขากวาง ให้สามารถออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกของเดือนเมษายน ด้วยการใช้ลักษณะการลดความชื้นในถุงพลาสติก 2 วิธี ได้แก่ การตัดถุงพลาสติกเป็นช่องขนาด 1.27x1.27 เซนติเมตร โดยเพิ่มจำนวนช่องขึ้นทุก 2 วัน และการเปิดถุงพลาสติกในเวลา 18.00 น. และปิดถุงในเวลา 6.00 น. เป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่าการลดความชื้นภายในถุงพลาสติกทั้ง 2 วิธีการ ให้ขนาดความกว้างทรงพุ่ม และจำนวนใบที่เกิดขึ้นในสัปดาห์ที่ 2 และ 4 ไม่แตกต่างกัน โดยในสัปดาห์ที่ 4 พบว่า การลดความชื้นด้วยวิธีการตัดถุงพลาสติกเป็นช่องให้อัตราการรอดชีวิตที่สูงกว่า (ตารางที่ 15)

ตารางที่ 15 ความกว้างทรงพุ่ม จำนวนใบ และอัตราการรอดชีวิตของชายผ้าสีดาเขากวาง หลังออกปลูกในสภาพโรงเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 0 2 และ 4 สัปดาห์

วิธีการ	ความกว้างทรงพุ่ม (ซม.)			จำนวนใบ			อัตราการรอดชีวิต (%)
	เริ่มการทดลอง	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 4	เริ่มการทดลอง	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 4	
เจาะถุง	1.50	1.75	2.11	4.29	5.14	5.32	90.48
เปิด-ปิดถุง	1.48	1.63	1.84	4.24	4.86	5.05	80.95
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	
C.V. (%)	12.08	21.45	28.12	24.07	19.27	21.15	

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ



ภาพที่ 6 ต้นเฟินชายผ้าสีดาเขากวาง ภายหลังการย้ายปลูก 4 สัปดาห์

วิจารณ์

การฟอกฆ่าเชื้อ

การขยายพันธุ์เฟินชายผ้าสีดาเขากวางด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้น จำเป็นต้องอาศัยปัจจัยหลายประการ ซึ่งการเลือกส่วนของชิ้นพืชที่จะนำมาใช้เป็นปัจจัยที่สำคัญประการหนึ่ง ดังนั้นในการทดลองนี้ จึงเลือกที่จะใช้ใบอ่อนในการนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เนื่องจากใบอ่อนมีส่วนของเนื้อเยื่อเจริญ ซึ่งมีบทบาทโดยตรงในการที่จะพัฒนาและเจริญเติบโตต่อไป ในขณะที่ยอดของเฟินชายผ้าสีดาเขากวางนั้นมีปล้องสั้น และเจริญเติบโตได้ช้า ส่วนปลายรากนั้นเจริญอยู่ในวัสดุปลูก จึงฟอกฆ่าเชื้อให้สำเร็จได้ยาก ดังนั้นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเฟินชายผ้าสีดาเขากวางจากใบอ่อนจึงน่าจะเหมาะสมที่สุด อย่างไรก็ตามการทดลองใน *Platyserium stemaria* สามารถนำปลายยอดมาใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ เพื่อชักนำให้เกิดยอดและรากในสภาพปลอดเชื้อได้ด้วย (Hennen and Sheehan, 1978)

ในขั้นตอนการฟอกฆ่าเชื้อ ได้ทำการตัดใบอ่อนทั้ง 2 ชนิด คือ ใบกาบ (sterile frond) และ ใบชาย (fertile frond) ล้างทำความสะอาดแผ่นใบด้วยน้ำยาล้างจาน โดยใช้หัวถูจนบนแผ่นใบออกให้หมด แล้วจึงล้างด้วยน้ำไหลเป็นเวลา 30 นาที เพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ โดยการล้างถือเป็นการทำลายเชื้อที่ง่ายและมีประสิทธิภาพดีที่สุด และเป็นขั้นตอนแรกที่สำคัญที่สุดสำหรับการทำลายเชื้อในขั้นต่อไป (อภิรดี, ม.ป.ป.) จากนั้นฉีดพ่นด้วยเอธานอล 70 เปอร์เซ็นต์ เพื่อฆ่าเชื้อบริเวณพื้นผิวใบก่อนที่จะทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารเคมี โดยพบว่าใบชายมีคะแนนการปลอดเชื้อสูงกว่าใบกาบ ซึ่งอาจเนื่องมาจากลักษณะการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันของใบทั้ง 2 ชนิด โดยใบชายของเฟินชายผ้าสีดาเขากวาง มีการเจริญเติบโตสูงขึ้นด้านบน ในขณะที่ใบกาบมีการเจริญเติบโตโดยแผ่ไปในแนวที่ขนานกับวัสดุปลูกซึ่งเปียกชื้น ทำให้มีการปนเปื้อนจุลินทรีย์จากวัสดุปลูกได้ง่าย โดยตำแหน่งของชิ้นพืช ที่อยู่ใกล้กับวัสดุปลูกมากที่สุด น่าจะมีการสะสมเชื้อจุลินทรีย์มากขึ้น ส่งผลให้ยากต่อการฟอกฆ่าเชื้อ (ประศาสตร์, 2538) เช่นเดียวกับตำแหน่งโคนใบที่ให้คะแนนการปลอดเชื้อต่ำที่สุด ซึ่งพบว่าตำแหน่งปลายใบมีเปอร์เซ็นต์การปลอดจากเชื้อจุลินทรีย์สูงที่สุด รองลงมาคือ ตำแหน่งกลางใบ และโคนใบตามลำดับ โดยพบความสัมพันธ์กันระหว่างชนิดใบและตำแหน่งของชิ้นพืช และความสัมพันธ์ร่วมกันระหว่างชนิดใบ ตำแหน่งชิ้นพืชและวิธีการฟอกฆ่าเชื้อ โดยพบว่าใบกาบที่ตำแหน่งโคนใบ มีคะแนนการปลอดเชื้อต่ำที่สุด ซึ่งเมื่อพิจารณาจากข้อมูลเห็นได้ว่า ตำแหน่งของชิ้นพืชที่นำมาใช้นั้น หากยังอยู่ใกล้วัสดุปลูกมาก เมื่อนำมาฟอกฆ่าเชื้อจะมีอัตราการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์สูงตามไปด้วย สอดคล้องกับ กนกวรรณ (2541) ซึ่งกล่าวว่าลักษณะ

ของลำต้น *Ludisia* ที่ตั้งตรง ทำให้ส่วนดังกล่าวไม่สัมผัสกับวัสดุปลูก จึงมีการสะสมจุลินทรีย์ต่าง ๆ น้อยกว่าส่วนบริเวณโคนต้นที่ทอดยาวบนวัสดุปลูก ทั้งนี้เนื่องจากลำต้นของเฟินชายผ้าสีดามีลำต้น ขนาดสั้น (Hennipman and Roos, 1982) จึงทำให้ตำแหน่งโคนใบอยู่ใกล้วัสดุปลูกมากที่สุด ดังนั้น การใช้ชิ้นพืชที่มาจากตำแหน่งใกล้โคนต้น จึงจำเป็นต้องได้รับระยะเวลาในการฟอกฆ่าเชื้อที่ เพิ่มขึ้นด้วย หรืออาจต้องใช้สารเคมีที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อที่แรงกว่า ดังเช่น Hennen and Sheehan (1978) ได้แนะนำวิธีการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนปลายยอดของ *Platyserium stemaria* โดยใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที แล้วจึงกำจัดขนที่ปกคลุมปลายยอดออก แล้วจึงฟอกฆ่าอีกครั้งด้วย โซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที อย่างไรก็ตามยังไม่พบว่ามีรายงานการฟอกฆ่าเชื้อใบของพืชในสกุล *Platyserium* จากสภาพ ภายนอกมาก่อน เนื่องจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบของพืชสกุลนี้ นิยมเตรียมจากการเพาะเลี้ยง สปอร์ในสภาพปลอดเชื้อจนขึ้นเป็นต้น ก่อนที่จะตัดมาใช้ในงานทดลอง (Camloh and Gogala, 1991; Camloha *et al.*, 1993; Teng, 1997; Teng and Teng, 1997) นอกจากนี้ผลการทดลองที่ได้ แสดงให้เห็นว่าตำแหน่งของชิ้นพืชและชนิดของใบ ไม่มีผลต่อคะแนนการพัฒนามของชิ้นพืช แม้ว่า ในพืชหลายชนิด การพัฒนามของชิ้นพืชหลังการเพาะเลี้ยง ขึ้นกับตำแหน่งของชิ้นพืชบนใบ เช่น ปีกอนี (Shimada *et al.*, 2006) อ้อย (Prakash *et al.*, 2006) *Ophiorrhiza prostrata* (Beegum *et al.*, 2007)

เมื่อพิจารณาถึงชนิดของสารฆ่าเชื้อและระยะเวลาในการฟอกฆ่าเชื้อ พบว่า ชิ้นส่วนพืชที่ ฟอกด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 15 นาที หรือโพวิโดนไอโอดีน เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 20 หรือ 30 นาที มีคะแนนการปลอดเชื้อที่ไม่แตกต่างกันทาง สถิติ อย่างไรก็ตามพบว่าคะแนนการปลอดเชื้อของใบกาบและชิ้นพืชในตำแหน่งโคนใบมีแนวโน้ม ลดลงอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งถึงสัปดาห์ที่ 4 ซึ่งน่าจะเกิดจากการที่ใบกาบและตำแหน่งโคนใบ อยู่ ใกล้วัสดุปลูกมากที่สุด จึงอาจมีการสะสมของเชื้อจุลินทรีย์อยู่ภายในชิ้นพืช ทำให้จุลินทรีย์ บางส่วนรอดชีวิตจากการฟอกฆ่าเชื้อได้ ซึ่งการใช้สารทำลายเชื้อที่มีฤทธิ์แรงอย่างไฮโดรเจนเปอร์ ออกไซด์ และการใช้โพวิโดนไอโอดีนฟอกฆ่าเชื้อในระยะเวลาที่มากขึ้น อาจทำให้เชื้อจุลินทรีย์ที่ อาศัยอยู่บริเวณผิวนอกชิ้นพืชตายไป แต่หลังจากนั้น จุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ลึกภายในชิ้นพืชจึงมีการ เจริญขึ้นมาให้เห็น ในขณะที่การฟอกฆ่าเชื้อด้วยโพวิโดนไอโอดีนด้วยระยะเวลาที่น้อยกว่า ทำให้ เชื้อจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ภายในชิ้นพืชเจริญเติบโตออกมาให้เห็นได้เร็วกว่า จึงให้คะแนนการปลอด เชื้อต่ำกว่าตั้งแต่ 2 สัปดาห์แรก

ส่วนการพัฒนาของชินพีช จะเห็นได้ว่าการฟอกฆ่าเชื้อด้วยโพวิโดนไอโอดีน เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์เป็นระยะเวลา 10 20 และ 30 นาที ให้คะแนนการพัฒนามของชินพีชสูงไม่แตกต่างกัน ส่วนการฟอกฆ่าเชื้อด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 15 นาที ให้คะแนนการพัฒนาคต่ำที่สุด อาจเนื่องมาจากเนื้อเยื่อของฟันชายผ้าสีดาเองซึ่งมีความไวต่อสารเคมี และการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งปกติเป็นสารที่เป็นอันตรายต่อเซลล์สิ่งมีชีวิตอยู่แล้ว (กรมควบคุมมลพิษ, 2544) ในความเข้มข้นเท่ากับอัตราที่ใช้กันทั่วไปทางการแพทย์ (Lever and Sutton, 1996) หรือ 1.5 เท่าของอัตราที่ใช้ฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดกล้วยไม้ (จิตรพรพรณ, 2536) จึงทำให้ชินพีชมีการตายมากที่สุด ส่งผลให้มีคะแนนการพัฒนาคต่ำที่สุดตามไปด้วย ส่วนการใช้โพวิโดนไอโอดีนก็อาจมีผลกระทบต่อเนื้อเยื่อด้วยเช่นกัน โดยน่าจะเกิดจากความเป็นพิษของไอโอดีนเอง ที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากสารละลายโพวิโดนไอโอดีน (Kihlstrom *et al.*, 2001) ระหว่างการฟอก จึงทำให้ชินพีชได้รับไอโอดีนเข้าไป เนื้อเยื่อชินพีชเกิดความเสียหาย คะแนนการพัฒนามของชินพีชจึงลดลงได้เช่นกัน ทั้งนี้ไม่น่าจะเกิดจากผลของ polyvinylpyrrolidone (PVP) ซึ่งเป็นตัวทำละลายของไอโอดีนในโพวิโดนไอโอดีน เนื่องจาก PVP เป็นสารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ ซึมผ่านเมมเบรนของสิ่งมีชีวิตได้ยาก และไม่มีผลต่อเมแทบอลิซึม (Miller and Hamm, 1953) และมีการใช้ผสมลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อดูดซับสาร phenolic อยู่แล้ว (Pierik, 1989; Razdan, 2003) อย่างไรก็ดี พบว่าภายหลังสิ้นสุดการทดลองที่ 16 สัปดาห์ ชินพีชที่ไม่พบการพัฒนาในระหว่างการทดลองสามารถพัฒนาเป็นยอดได้เพิ่มขึ้น ดังนั้นการศึกษาในอนาคต จึงน่าจะเพิ่มระยะเวลาในการทดลองออกไปอีก และอาจเพิ่มจำนวนซ้ำให้มากขึ้นด้วย

แม้ว่าโพวิโดนไอโอดีนจะเป็นสารทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้รับความนิยมใช้ในงานทางการแพทย์และสาธารณสุขมานาน (Selvaggi *et al.*, 2003) รวมถึงการใช้งานด้านการปศุสัตว์และประมง (รุ่งทิพย์, 2539) แต่กลับไม่พบว่ามีการใช้โพวิโดนไอโอดีนในการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาก่อน ดังนั้นการศึกษารั้งนี้จึงเป็นรายงานครั้งแรกในการใช้โพวิโดนไอโอดีนในการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ผิวชินพีช เพื่อจะนำมาใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยเลือกใช้ที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นระดับที่นิยมใช้กันทั่วไปในการฆ่าเชื้อทางการแพทย์ (Leung *et al.*, 2002) อย่างไรก็ดี ในงานศึกษาของ Berkelman *et al.* (1982) พบว่าเมื่อความลดความเข้มข้นของสารละลายโพวิโดนไอโอดีนลง เป็น 0.1 – 1 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของโพวิโดนไอโอดีนเพิ่มขึ้น โดย Selvaggi *et al.* (2003) อธิบายว่าเมื่อลดความเข้มข้นของสารละลายโพวิโดนไอโอดีนลง ทำให้พันธะระหว่างไอโอดีนกับโพลิเมอร์อ่อนลง ไอโอดีนอิสระจึงถูกปลดปล่อยลงในสารละลายได้มากขึ้น ทำให้มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อได้สูงขึ้นนั่นเอง ดังนั้นจึงน่าจะมีการศึกษาหากระดับความเข้มข้นของสารละลายโพวิโดนไอโอดีนที่มี

ประสิทธิภาพสูงสุด ในการพอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช ซึ่งยังจะทำให้สามารถลดความเสียหายที่อาจเกิดขึ้นกับเนื้อเยื่อได้อีกด้วย

การชักนำให้เกิดยอด

การชักนำให้เกิดยอดจากใบอ่อนของเฟินชายผ้าสีดาเขากวางที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ทำโดยการนำใบอ่อนมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลง โดยลดความเข้มข้นของธาตุอาหารเหลือเพียง 1/2 เท่าของสูตรปกติ เติม BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 หรือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเพาะเลี้ยงบนสภาพแสงต่าง ๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วจึงทำการย้ายลงอาหารสูตรเดิมที่ไม่มีการเติม BA เพาะเลี้ยงในสภาพแสงเช่นเดิมต่อไปอีก 8 สัปดาห์ พบว่าในช่วงเวลา 4 สัปดาห์แรก มีอิทธิพลของ BA และสภาพแสงต่าง ๆ ต่ออัตราการรอดชีวิตของชิ้นพืช โดย BA ความเข้มข้น 0 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้คะแนนการรอดชีวิตของชิ้นพืชสูงไม่แตกต่างกัน โดย BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้คะแนนการรอดชีวิตต่ำที่สุด ผลที่ได้นี้ไม่สอดคล้องกับรายงานของ Camloha *et al.* (1994) ซึ่งพบว่าการชักนำใบ *Platyserium bifurcatum* ให้เกิดยอดโดยใช้ BA ความเข้มข้น 5 และ 10 μM (ประมาณ 1.13 และ 2.25 มิลลิกรัมต่อลิตร) สามารถให้การพัฒนาของใบได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 40 วัน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะ BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นความเข้มข้นที่สูงเกินไปจนเป็นพิษต่อชิ้นใบชายผ้าสีดาเขากวาง โดย Kane (2005) กล่าวว่าอัตราการรอดชีวิตของชิ้นพืช ขึ้นกับระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งจะมีความแตกต่างกันไปตามแต่ละชนิดและพันธุกรรมของพืช

สำหรับอิทธิพลของแสง พบว่า การเพาะเลี้ยงในสภาพแสงทั้ง 3 สี ทำให้ได้คะแนนการรอดชีวิตของชิ้นพืชในสัปดาห์ที่ 4 ต่ำไม่แตกต่างกัน โดยการเพาะเลี้ยงในสภาพมืดทำให้ได้คะแนนการรอดชีวิตสูงกว่าการเพาะเลี้ยงในสภาพแสงสีขาวและสีน้ำเงิน อาจเนื่องมาจากแสงเป็นปัจจัยหนึ่งที่กระตุ้นให้ชิ้นพืชมีการสร้างสาร phenolic จากบาดแผลบริเวณรอยตัด ทำให้เนื้อเยื่อไม่สามารถเติบโตและพัฒนาได้ (รังศฤษฎ์, 2540; Razdan, 2003; Beyl, 2005) และเนื้อเยื่อจะตายไปในที่สุด ซึ่งลักษณะที่เกิดขึ้นสอดคล้องกับงานทดลองในการเพาะเลี้ยงใบ sundew (*Drosera spathulata*) พบว่าชิ้นใบที่เพาะเลี้ยงในสภาพมืดให้อัตราการรอดชีวิตสูงกว่าการเพาะเลี้ยงในสภาพที่มีแสง (Kim *et al.*, 2006) อย่างไรก็ตามพบว่าในสัปดาห์ที่ 8 และ 12 ไม่พบว่า BA และ สภาพแสงมีผลต่อคะแนนการรอดชีวิต น่าจะเนื่องจากการสร้างสาร phenolic ออกมาที่บริเวณบาดแผลของชิ้นใบที่เพาะเลี้ยงในสภาพมืดอย่างต่อเนื่อง แล้วสะสมจนถึงระดับที่เป็นอันตรายต่อชิ้นพืชได้ ขณะที่การเพาะเลี้ยงในสภาพซึ่งได้รับแสง กระตุ้นให้เนื้อเยื่อผลิตสาร phenolic ขึ้นมาในปริมาณ

มาก เนื้อเยื่อใบที่ไม่สามารถทนได้จึงตายไปตั้งแต่ในช่วงระยะ 4 สัปดาห์แรก การที่ขึ้นพืชค่อย ๆ สร้างสาร phenolic ขึ้นอย่างต่อเนื่องในสภาพมืด ทำให้อัตราการตายช้ากว่าขึ้นพืชในสภาพที่มีแสง ส่วนขึ้นพืชที่รอดชีวิตบางส่วนจึงเริ่มมีพัฒนาการภายในสัปดาห์ที่ 4 ดังจะเห็นว่าในสภาพมืดมีแนวโน้มให้อัตราการพัฒนาของขึ้นพืชสูงกว่าในสภาพได้รับแสง สำหรับการได้รับ BA ทั้ง 2 ระดับความเข้มข้น ทำให้ขึ้นพืชมีแนวโน้มได้คะแนนการรอดชีวิตในสัปดาห์ต่อมาค่อนข้างคงที่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อใช้ BA ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งอาจเกิดจากความเข้มข้นของ BA ในระดับนี้สูงเกินไปสำหรับเนื้อเยื่อใบชายผ้าสีดำเขากวาง จนทำให้เนื้อเยื่อที่ไม่สามารถทนทานได้ตายภายใน 4 สัปดาห์แรกที่ได้รับสาร ในขณะที่ BA ความเข้มข้นต่ำกว่า คือ 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้คะแนนการรอดชีวิตไม่แตกต่างจากขึ้นพืชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่ได้เติม BA ในช่วงแรก ซึ่งน่าจะเนื่องจากความเข้มข้นของ BA ในระดับนี้ ไม่เป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อของใบชายผ้าสีดำเขากวาง การที่สัปดาห์ต่อ ๆ มานั้น คะแนนการรอดชีวิตของขึ้นพืชคงที่ น่าจะเกิดจากการที่ BA กระตุ้นการเกิดอวัยวะขึ้นในขึ้นพืช ทำให้พบเห็นการเจริญเติบโตขึ้นมา ขึ้นพืชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารซึ่งไม่ได้เติม BA เกิดพัฒนาการได้ช้ากว่า ขึ้นพืชบางส่วนที่ยังไม่มีการพัฒนาจึงตายไป แนวโน้มคะแนนการรอดชีวิตจึงลดลง

เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 12 ไม่พบว่ามีอิทธิพลของ BA และสภาพแสงต่าง ๆ ต่อคะแนนการรอดชีวิตของขึ้นพืชและคะแนนการพัฒนาของขึ้นพืช ซึ่งอาจเกิดจากการที่ใบชายผ้าสีดำ มีความสามารถในการเกิดตาพิเศษได้ง่าย โดยไม่ต้องอาศัยสารควบคุมการเจริญเติบโต (Camloha *et al.*, 1994; Camloh, 2006) ซึ่ง Costantino (1995) ได้ทำการเพิ่มจำนวนต้น sporophyte ของ *Platycerium alcicorne* ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสปอร์ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าสามารถชักนำให้เพิ่มจำนวนได้ในอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต โดย BA ไม่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนต้นแต่อย่างใด ในขณะที่การเพาะเลี้ยงในสภาพได้รับแสงชนิดต่าง ๆ และในสภาพมืด ไม่มีผลต่อคะแนนการเปลี่ยนแปลงของขึ้นพืช น่าจะเกิดจากช่วงคลื่นแสงไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงในระยะแรกของการเพาะเลี้ยง จึงทำให้เนื้อเยื่อสามารถพัฒนาขึ้นเป็นยอดได้ไม่แตกต่างกัน เมื่อได้รับแสงในช่วงคลื่นที่ต่างกัน

เมื่อพิจารณาจากคะแนนรูปแบบของกลุ่มยอดที่เกิดขึ้น พบว่าขึ้นพืชที่เพาะเลี้ยงโดยปราศจากการเติม BA ภายใต้อสภาพแสงสีขาว สีสแดง และสีน้ำเงิน มีคะแนนสูงที่สุด ในขณะที่สภาพมืดทำให้ได้คะแนนรูปแบบของกลุ่มยอดต่ำที่สุด แสดงให้เห็นว่าแสงมีความจำเป็นต่อการเจริญของใบชายผ้าสีดำเขากวางเป็นอย่างมาก นอกจากนี้ ค่าคะแนนลดลงเมื่อความเข้มข้นของ BA ในสูตรอาหารเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ดีเป็นที่น่าสังเกตว่าขึ้นพืชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารซึ่งมีการเติม BA 1.0

มิลลิกรัมต่อลิตร มีคะแนนรูปแบบของกลุ่มยอดสูงกว่าเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้สภาพแสงสีแดงหรือสีขาว ส่วนสภาพแสงสีน้ำเงินมีค่าต่ำกว่าแต่ไม่แตกต่างจากสภาพแสงสีขาว น่าจะเกิดจากการที่แสงสีแดง สามารถส่งเสริมการพัฒนาของแผ่นใบชายฝ้ายสีดำเขากวางได้ เช่นเดียวกับในงานทดลองของ Goins *et al.* (1997) ที่พบว่าข้าวสาลีที่ปลูกเลี้ยงในสภาพได้รับแสงสีแดง ให้ความยาวแผ่นใบมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับใบที่ได้จากการปลูกเลี้ยงในสภาพแสงสีขาว หรือแสงสีแดงร่วมกับแสงสีน้ำเงิน 1 และ 10 เปอร์เซ็นต์

การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานของใบเฟินนั้น มีผู้ศึกษาใน *Osmunda cinnamomea* พบว่าการพัฒนาใบ เกิดจากเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดมีการเติบโตยืดยาว ต่อมาจึงมีการเติบโตที่แตกต่างกันของ abaxial และ adaxial จนเกิดแกนที่ขดเป็นวง (crosier) การขยายตัวของใบจะเริ่มเมื่อแกนของ crosier เริ่มยืดยาว (ลิลลี่, 2546) ดังนั้นแผ่นใบเฟินชายฝ้ายสีดำเขากวาง ซึ่งถูกยับยั้งการเจริญเติบโตด้านความยาวจากทั้ง BA และ สภาพแสง ทั้งแสงสีขาวและแสงสีน้ำเงิน จึงพบเป็นกลุ่มยอด ที่ไม่มีการสร้างแผ่นใบ ส่วนชิ้นพืชที่เพาะเลี้ยงในสภาพมืด มีลักษณะใบที่ยืดยาวแต่ไม่มีการแผ่ขยายออกของแผ่นใบ คะแนนที่ได้จึงต่ำที่สุด พฤติกรรมที่เกิดขึ้นนี้ สอดคล้องกับการศึกษาใน *Arabidopsis thaliana* ที่พบว่าแสงมีบทบาทสำคัญในการส่งเสริมให้เกิดการแผ่ของแผ่นใบ และยับยั้งการยืดยาวของก้านใบ (Kozuka *et al.*, 2005)

เมื่อเปรียบเทียบขนาดความสูงทรงพุ่ม และเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยทรงพุ่มของกลุ่มยอดที่เกิดขึ้น พบว่า ความเข้มข้นของ BA ที่สูงขึ้น ทำให้ขนาดความสูงและความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางของทรงพุ่มลดลง สอดคล้องกับงานทดลองของ Camloh and Gogala (1991) ที่พบว่า BA ยับยั้งการเติบโตของยอด *Platyserium bifurcatum* ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบอย่างเห็นได้ชัดเจน และในงานทดลองของ Camloha *et al.* (1994) ที่พบว่า การเพาะเลี้ยงใบ *P. bifurcatum* บนอาหารที่มี BA ทำให้ยอดที่ได้มีขนาดเล็กและเติบโตช้ากว่า เมื่อเปรียบเทียบกับยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบบนอาหารสูตรที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต Gaba (2005) กล่าวว่าความเข้มข้นของ BA ที่สูงขึ้นทำให้ขนาดยอดที่เกิดขึ้นเล็กลงด้วย เช่นเดียวกับรายงานการเพาะเลี้ยงปลายไหลของ Boston fern (*Nephrolepis exaltata*) ซึ่งพบว่า การใช้ BA เข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากที่สุด แต่ความสูงยอดที่ได้จะลดลง เมื่อเทียบกับการใช้ BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (Hagiabad *et al.*, 2007) นอกจากนี้งานทดลองในพืชหลายชนิด ก็พบอิทธิพลของ BA ในลักษณะนี้เช่นกัน เช่น ส้มพริมมิ่ง (วิสุทธิ, 2543) Fox glove (*Digitalis purpurea*) (Rucker, 1982) pointed gourd (*Trichosanthes dioica*) (Sanjeev *et al.*, 2003) และ *Penthorum chinense* (Cao *et al.*, 2007) เป็นต้น และยังพบว่า BA มีผลต่อการลดขนาดของใบ เช่นเดียวกับงานทดลองในบัวหลวง (ณราวุฒิ,

2539) และ สแตติส (*Limonium latifolium*) (Xiao and Kozai, 2006) โดย McGaw (1987) กล่าวว่าไซโตไคนินส่งเสริมการสังเคราะห์โปรตีน ซึ่งมีผลช่วยให้เกิดการแบ่งเซลล์ ทำให้เกิดการสร้างยอดจำนวนมากได้ ซึ่งการเพิ่มขึ้นของจำนวนยอดนี้เอง ทำให้การเกิดใบและการเจริญของใบลดลง เพราะสารอาหารถูกนำไปใช้ในการสร้างยอดที่เกิดขึ้นใหม่แทน

นอกจากนี้ยังพบว่าสภาพแสง มีอิทธิพลต่อความสูงทรงพุ่ม และเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยทรงพุ่มของกลุ่มยอดที่เกิดขึ้น โดยขึ้นพืชที่เพาะเลี้ยงในสภาพแสงสีขาวและแสงสีแดง ให้ความสูงทรงพุ่มและเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของทรงพุ่มไม่แตกต่างกัน และพบว่าสูงกว่าขึ้นพืชที่เพาะเลี้ยงในสภาพแสงสีน้ำเงินและสภาพมืด ที่ทำให้ได้ความสูงทรงพุ่มและเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของทรงพุ่มไม่แตกต่างกันเช่นกัน อาจเกิดจากการที่แสงสีน้ำเงินสามารถลดการเจริญเติบโตของยอดได้ ดังที่พบว่าแสงสีน้ำเงิน สามารถลดระดับความเข้มข้นของ IAA GA และ Zeatin ในต้นข้าว (*Oryza sativa*) และทำให้มีการเจริญเติบโตที่ช้าลง (Yu and Pan, 1997) ส่วนแสงสีแดง โดยทั่วไปมักมีผลดีต่อการเจริญเติบโตของพืช (สุรวิษ, 2549) ซึ่งผลที่ได้นี้ สอดคล้องกับรายงานของ Hunter and Burritt (2005) ที่พบว่าแสงสีแดงและแสงสีขาว ส่งเสริมการพัฒนาด้านต้นในการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงของผักกาดหอม (*Lactuca sativa*) โดยขึ้นพืชที่เพาะเลี้ยงในแสงสีแดง มีการเพิ่มขึ้นของระดับความเข้มข้น polyamine (PA) ในขึ้นพืช ในขณะที่แสงสีน้ำเงินยับยั้งการสร้างยอด โดยพบว่าขึ้นพืชที่เพาะเลี้ยงในแสงสีน้ำเงิน มีการลดลงของระดับ PA ในขึ้นพืช ซึ่ง PA จัดเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโต ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช มีผลในการกระตุ้นการเจริญเติบโต และเปลี่ยนแปลงลักษณะของพืช (สมบุญ, 2548; Pierik, 1989; Hunter and Burritt, 2005) นอกจากนี้การทดลองใน *Arabidopsis thaliana* พบว่าแสงสีแดงสามารถส่งเสริมการยืดยาวของแผ่นใบ ในขณะที่แสงสีน้ำเงินไม่พบว่ามีผลต่อการยืดยาวของแผ่นใบ (Kozuka *et al.*, 2005) ยิ่งไปกว่านั้น ยังพบว่าแสงสีแดงมีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากได้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบพิทูเนีย โดยผลของแสงสีแดงอาจถูกกลบไล้ได้หากได้รับแสงไกลแดง ขึ้นกับว่าได้รับแสงชนิดใดเป็นครั้งสุดท้าย (Gavinlertvatana *et al.*, 1980) แสดงให้เห็นว่าการชักนำให้เกิดยอดในพืช ยังขึ้นกับไฟโตโครม (phytochrome) โดยไฟโตโครมในรูป Pfr ที่สามารถชักนำให้พืชเกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีระ จะเกิดขึ้นเมื่อ Pr ที่พืชสังเคราะห์ขึ้นได้รับแสงสีแดง (สมบุญ, 2548) อย่างไรก็ตามการที่พบอิทธิพลร่วมระหว่าง BA และสภาพแสง สอดคล้องกับการศึกษาในแตงกวา ที่พบว่าทั้งแสงสีน้ำเงินและไซโตไคนิน มีผลอิสระต่อกันในการลดอัตราการเจริญเติบโตด้านการยืดยาว (Cohen *et al.*, 1991)

การชักนำให้เกิดราก

การนำยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเฟินชายผ้าสีดาเขากวางในสภาพปลอดเชื้อ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลง โดยลดความเข้มข้นของธาตุอาหารสูตร MS เหลือเพียง 1/4 และ 1/8 เท่าของสูตรปกติ ร่วมกับการไม่เติมหรือเติม NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.25 0.5 0.75 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าสูตรอาหารที่มีการเติม NAA ทุกความเข้มข้น ให้คะแนนการเจริญเติบโตของ rhizoid ได้สูงกว่าอาหารที่ไม่เติม NAA แสดงให้เห็นว่า NAA มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของ rhizoid ในเฟินชายผ้าสีดาเขากวาง สอดคล้องกับการทดลองของ Kwa *et al.* (1997) ที่พบว่า NAA มีผลต่อการชักนำให้เกิด rhizoid จำนวนมากในแคลลัสของเฟิน *Platyserium coronarium* อาจเนื่องมาจาก NAA ซึ่งเป็นสารในกลุ่มออกซิน มีผลต่อการขยายขนาดและยืดยาวของเซลล์ (พีรเดช, 2544; Pierik, 1989; Beyl, 2005) จึงน่าจะทำให้ rhizoid มีการยืดยาวออกมาอย่างเห็นได้ชัดเจน โดยความเข้มข้นของธาตุอาหารในสูตรอาหารทั้งสองระดับ มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของ rhizoid ที่เกิดขึ้นไม่แตกต่างกัน และพบว่าอัตราการเกิด rhizoid ไม่มีความแตกต่างกันในอาหารทุกสูตร สอดคล้องกับการทดลองของ Camloha *et al.* (1994) ที่รายงานว่า rhizoid สามารถเกิดขึ้นได้เองบนชิ้นพืช ในการเพาะเลี้ยงใบ *P. bifurcatum* บนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่มีการเติมและไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่ BA IBA IAA และ NAA อย่างไรก็ตามในงานทดลองนี้ได้ใช้น้ำตาลความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์เท่ากันในทุกสูตรอาหาร จึงสอดคล้องกับงานทดลองของ Dolinšek and Camloh (1997) ที่พบว่า การเกิด rhizoid ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของ *P. bifurcatum* ขึ้นกับความเข้มข้นของน้ำตาลในสูตรอาหาร โดยการใช้น้ำตาลที่ความเข้มข้น 0.1 - 3 เปอร์เซ็นต์ ให้อัตราการเกิด rhizoid ไม่แตกต่างกัน ภายใน 30 วัน

เมื่อย้ายลงเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง โดยใช้ความเข้มข้นของสูตรอาหารเท่าเดิม แต่ไม่เติม NAA พบว่าความเข้มข้นของสูตรอาหาร MS ที่ลดความเข้มข้นเหลือเพียง 1/8 เท่า มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของ rhizoid ในช่วงสัปดาห์ที่ 6 และ 8 โดยมีคะแนนการเจริญเติบโตของ rhizoid ที่เกิดขึ้น สูงกว่าคะแนนที่ได้จากยอดที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรเดียวกันที่มีความเข้มข้น 1/4 เท่า การที่คะแนนการเจริญเติบโตของ rhizoid ในสัปดาห์ที่ 6 และ 8 ต่ำกว่าในสัปดาห์ที่ 4 ในทุกสูตรอาหาร อาจเนื่องมาจาก rhizoid บางส่วนเกิดการเสียหาย และบางส่วนเปิกหลุดจากการสัมผัสกับอาหาร ภายหลังการย้ายอาหารในสัปดาห์ที่ 4 จึงทำให้คะแนนการเจริญเติบโตของ rhizoid ที่สังเกตได้ในภายหลังมีค่าลดลง การที่สูตรอาหารซึ่งมีความเข้มข้น 1/8 เท่า ทำให้เห็นการเจริญเติบโตของ rhizoid มากกว่าสูตรอาหารที่มีความเข้มข้น 1/4 เท่า น่าจะเป็นผลมาจากสูตรอาหารที่มีความเข้มข้น 1/8 เท่า มีความเจือจางของอาหารมากกว่าสูตรอาหารที่มีความเข้มข้น 1/4

เท่า ทำให้ค่าศักย์น้ำของอาหารความเข้มข้น 1/8 เท่ามีค่าสูงกว่าอาหารที่มีความเข้มข้น 1/4 เท่า น้ำจึงสามารถแพร่เข้าไปภายในเซลล์พืชได้มากกว่า ดังนั้น rhizoid ที่ไม่ได้รับความเสียหายจากการย้ายอาหาร เมื่อย้ายลงในอาหารที่มีความเข้มข้น 1/8 เท่า จึงเกิดแรงเต่งของเซลล์ที่มากกว่า rhizoid ซึ่งเปื่อยยุ่ยจึงซีฟุออกมาให้เห็นได้มากกว่าตามไปด้วย คะแนนการเจริญเติบโตของ rhizoid จึงแตกต่างกันในสัปดาห์ที่ 6 และ 8 อย่างไรก็ตามฤทธิ์ของ NAA ต่อคะแนนการเจริญเติบโตของ rhizoid นั้นมีอยู่ตลอดการทดลอง โดยยอดเฟินชายผ้าสีดาเขากวางซึ่งย้ายมาจากอาหารที่มีการเติม NAA ทุกระดับความเข้มข้น มีคะแนนการเจริญเติบโตของ rhizoid สูงกว่ายอดที่ย้ายมาจากอาหารที่ไม่เติม NAA ทั้งนี้เป็นไปได้ว่าเนื่องจากออกซินช่วยในการขยายตัวของเซลล์ (พีรเดช, 2544; Pierik, 1989; Beyl, 2005) ทำให้ rhizoid ซึ่งเป็นเซลล์เซลล์เดียวยึดตัวมากขึ้น ขณะที่ในสัปดาห์ที่ 6 และ 8 อาจยังคงมี NAA ตกค้างอยู่ในระดับหนึ่ง จึงยังคงเห็นผลของ NAA ได้อย่างชัดเจน

เมื่อพิจารณาถึงอัตราการเกิดรากในสัปดาห์ที่ 6 พบว่าอาหารสูตร MS ที่ดัดแปลงโดยลดความเข้มข้นของธาตุอาหารลง 1/8 เท่า ให้อัตราการเกิดรากสูงกว่าอาหารสูตร MS ที่ดัดแปลงโดยลดความเข้มข้นของธาตุอาหารลง 1/4 เท่า สอดคล้องกับ Camloha *et al.* (1994) กล่าวว่าความเข้มข้นของธาตุอาหารจากสูตร MS มาตรฐาน สามารถยับยั้งการเกิดอวัยวะในพืชกลุ่มเฟินได้ และการลดความเข้มข้นของสูตรอาหารสามารถส่งเสริมการพัฒนาและเจริญเติบโตของรากในชายผ้าสีดาได้ เช่นเดียวกับการชักนำรากในพืชทั่ว ๆ ไป ที่นิยมใช้การลดความเข้มข้นของเกลือในสูตรอาหารลงเป็น 1/2 - 1/4 เท่าของสูตรปกติ (ลิลลี่, 2546; Razdan, 2003) อย่างไรก็ตาม พืชบางชนิดเช่น *Stephania cephalantha* เกิดรากและรากเจริญเติบโตได้ดีในอาหารสูตร MS ดัดแปลงโดยลดความเข้มข้นของสูตรอาหารเหลือเพียง 1/8-1/16 เท่าของสูตรปกติ (Suzuki *et al.*, 1992) นอกจากนี้ยังคงพบอิทธิพลของ NAA ต่ออัตราการเกิดราก ทั้งในสัปดาห์ที่ 6 และ 8 โดยพบว่ายอดซึ่งย้ายมาจากอาหารที่ไม่มีการเติม NAA มีอัตราการเกิดรากต่ำที่สุด แสดงให้เห็นว่าการใช้ NAA สามารถกระตุ้นการสร้างจุดกำเนิดรากได้ ในขณะที่ยอดซึ่งย้ายมาจากอาหารซึ่งมีการเติม NAA ในทุกระดับความเข้มข้น มีอัตราการเกิดรากสูงไม่แตกต่างกัน ซึ่งน่าจะเกิดจากการที่ปริมาณ NAA ภายในต้นพืช มีปริมาณลดลงจนอยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของราก จากการทดลองจะเห็นได้ว่าการใช้ NAA ความเข้มข้นต่ำ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถกระตุ้นการเกิดรากได้ไม่แตกต่างจากการใช้ NAA ที่ความเข้มข้นสูง 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ถึงแม้ว่าออกซินความเข้มข้นสูงจะจำเป็นต่อการแบ่งเซลล์และกระตุ้นจุดกำเนิดราก แต่การที่ยอดได้รับออกซินความเข้มข้นสูงเป็นระยะเวลานานจะมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของราก (Gasper and Coumans, 1987; Pierik, 1989; Werbrouck and Debergh, 1994; Gaba, 2005)

เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 8 พบว่าการใช้อาหารที่มีความเข้มข้นของสูตรอาหาร ทั้ง 2 ระดับ ไม่มีผลต่อจำนวนราก ความยาวราก ความสูงต้น จำนวนต้นที่แตกยอด และจำนวนใบ ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับงานทดลองของ Camloh and Gogala (1991) ซึ่งพบว่าการลดความเข้มข้นของสูตรอาหาร MS ดัดแปลงลงเป็น 1/4 และ 1/8 เท่า ทำให้ได้จำนวนรากและความยาวรากที่ไม่แตกต่างกัน ซึ่งน่าจะเกิดจากการใช้อาหารที่มีความเข้มข้น 1/8 เท่า ทำให้รากมีการยึดตัวในระยะแรกได้เร็วกว่า จึงพบอัตราการเกิดรากได้ตั้งแต่ในสัปดาห์ที่ 6 หลังจากนั้นพัฒนาการของรากจึงช้าลง โดยลักษณะเช่นเดียวกันนี้พบในการเพาะเลี้ยง epicotyl ของ *Myrica gale* ในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งการใช้ปริมาณความเข้มข้นของธาตุอาหารรวมกับการใช้ความเข้มแสงและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตในการชักนำราก พบว่าความเข้มข้นของธาตุอาหารเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อการชักนำให้เกิดรากและการเจริญเติบโตยืดยาวของราก โดยการใช้ความเข้มข้นของธาตุอาหารที่ต่ำลง ให้อัตราการเกิดรากได้มากขึ้น ในขณะที่การใช้ความเข้มข้นของธาตุอาหารที่สูง ให้ขึ้นพืชที่เกิดรากที่ช้ากว่าในปริมาณที่สูงขึ้น นอกจากนี้พบว่าเมื่อชักนำให้ขึ้นพืชเกิดรากและรากมีการยืดยาวขึ้นในช่วงแรกแล้ว ในเวลาต่อมารากมีพัฒนาที่ช้าลงและมีขนาดสั้น (Tavares *et al.*, 1998) ดังนั้นในสัปดาห์ที่ 8 รากซึ่งเจริญในอาหารที่มีความเข้มข้นสูงกว่าคือ 1/4 เท่า มีการเจริญเติบโตออกมาให้เห็น จึงพบอัตราการเกิดราก จำนวนราก และความยาวรากในสัปดาห์นี้ ไม่แตกต่างกับรากซึ่งเจริญในอาหารที่มีความเข้มข้น 1/8 เท่า อย่างไรก็ตามจากผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของธาตุอาหารทั้ง 2 ระดับ ไม่มีผลต่ออัตราการเจริญด้านความสูงต้น จำนวนต้นที่แตกยอด และจำนวนใบ ทั้งนี้จะเกิดจากความสูงต้น จำนวนต้น และจำนวนใบ ขึ้นกับปริมาณสารอาหารที่พืชได้รับจากราก ซึ่งมีจำนวนและความยาวไม่แตกต่างกัน

นอกจากนี้พบว่าการใช้ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ให้อัตราการเกิดราก และจำนวนราก สูงกว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่เติม NAA แสดงให้เห็นว่า NAA มีผลต่อการชักนำให้เกิดจุดกำเนิดรากเพิ่มขึ้น แต่ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตด้านความยาวของราก สังเกตได้จากยอดที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี NAA ในช่วงแรก พบจำนวนรากในสัปดาห์ที่ 8 มากกว่ายอดที่ไม่ได้รับ NAA ในขณะที่ความยาวรากที่เกิดขึ้นในยอดที่ได้รับหรือไม่ได้รับ NAA ในช่วงแรกไม่มีความแตกต่างกัน ผลที่ได้นี้ต่างจากงานทดลองของ Camloha *et al.* (1994) ซึ่งพบว่า การใช้ NAA ที่ความเข้มข้นประมาณ 0.56 และ 1.12 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนรากได้ไม่แตกต่างกับยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติม NAA แต่กลับพบว่าการตอบสนองต่อ IAA และ IBA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน อาจเป็นการตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชมีความแตกต่างกันไปตามแต่ละชนิดและพันธุกรรมของพืช (Kane, 2005) ส่วนการที่พบว่า NAA ไม่มีผลในการยับยั้งการแตกยอด สอดคล้องกับงานทดลองของ Camloha *et al.* (1994) ที่พบว่าการชักนำราก *P. bifurcatum* ใน

อาหารที่มีการเติม IAA IBA หรือ NAA สามารถพบการสร้างยอดใหม่จากบริเวณโคนต้นได้ด้วย ทั้งนี้อาจจะเนื่องจากการที่ใบชายผ้าสีดำที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ สามารถเกิดตาพิเศษขึ้นได้ง่าย โดยไม่ต้องชักนำด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตจากอาหาร (Camloh and Gogala, 1991; Camloha *et al.*, 1994; Comloh, 2006) เมื่อได้รับการย้ายอาหารลงในอาหารสูตรที่ปราศจาก NAA ทำให้มีการเจริญเติบโตของยอด ซึ่งอาจแสดงว่าการเจริญเติบโตของยอดชายผ้าสีดำเขากวางถูกยับยั้งด้วย NAA นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า IAA สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ในเฟิน *Nephrolepis biserrata* ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงไหลในสภาพปลอดเชื้อด้วย (Khare and Shukla, 2003)

การย้ายปลูกในสภาพโรงเรือน

การย้ายปลูกต้นเฟินชายผ้าสีดำเขากวางจากสภาพปลอดเชื้อ ออกสู่สภาพแวดล้อมในโรงเรือนในช่วงที่มีอากาศร้อนมากของเดือนเมษายน พบว่าลักษณะการลดความชื้นด้วยการตัดถุงพลาสติกเป็นช่อง หรือ การปิดปากถุงในช่วงเวลากลางวันและเปิดปากถุงในช่วงเวลากลางคืน ไม่มีผลต่อขนาดความกว้างทรงพุ่มและจำนวนใบที่เกิดขึ้นทั้งช่วง 2 และ 4 สัปดาห์ภายหลังการย้ายปลูก แต่จากผลที่ได้พบว่าขนาดความกว้างทรงพุ่มต้นที่ได้จากการลดความชื้นด้วยการปิดเปิดถุงพลาสติก มีแนวโน้มการขยายขนาดของทรงพุ่มที่ช้ากว่าต้นที่ได้จากการลดความชื้นด้วยการตัดถุงพลาสติก ซึ่งอาจเกิดจากการเปิดถุงในช่วงเวลากลางคืนทำให้ความชื้นภายในถุงลดลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งต้นที่ย้ายปลูกในระยะแรกโดยทั่วไป ปากใบมักปิดเปิดได้ช้าและใบที่มีชั้นคิวติเคิลบาง (Pierik, 1989) จึงทำให้สูญเสียน้ำไปอย่างรวดเร็ว แต่เมื่อถึงเวลาเช้าภายหลังการปิดถุง ความชื้นกลับมาสูงขึ้นอีกครั้ง ต้นพืชบางส่วนจึงอาจมีการชะงักการเจริญเติบโต ในขณะที่การตัดถุงพลาสติกเป็นช่อง ความชื้นค่อย ๆ ลดลงอย่างช้า ๆ ทำให้ต้นพืชเจริญเติบโตต่อไปได้ อย่างไรก็ตามพบการตายของต้นชายผ้าสีดำเขากวางเมื่อสิ้นสุดการลดความชื้นในสัปดาห์ที่ 2 หลังจากนั้นจึงนำกระถางออกมาวางไว้ภายนอกถุงพลาสติก เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 4 พบว่าความกว้างทรงพุ่มและจำนวนใบต้นชายผ้าสีดำเขากวาง ที่ออกปลูกด้วยวิธีการลดความชื้นทั้ง 2 วิธีไม่มีความแตกต่างกัน อาจเป็นเพราะระยะเวลาในการศึกษาค่อนข้างสั้น เฟินชายผ้าสีดำซึ่งอยู่ในช่วงการปรับตัวจากการย้ายปลูก ทำให้พืชไม่สามารถรับธาตุอาหารจากวัสดุปลูกไปใช้ในการเจริญเติบโตได้ทันที ต้องรอให้พืชปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมภายนอก พืชจึงสามารถสังเคราะห์แสงและเติบโตได้อย่างเต็มที่ (ศิริลักษณ์, 2539) อย่างไรก็ตาม ภายหลังการออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก พบว่ามีการตายของต้นเฟินชายผ้าสีดำเขากวางเกิดขึ้น โดยการลดความชื้นด้วยวิธีเปิดปิดถุงพลาสติกให้อัตราการตายที่สูงกว่าวิธีตัดถุงพลาสติกเป็นช่อง ซึ่งน่าจะเกิดจากความชื้นในสภาพแวดล้อมภายนอกที่ต่ำกว่าภายในถุง จึงทำให้ต้นพืชมีการสูญเสียน้ำออกไปจนกระทั่งเหี่ยว

และตายในที่สุด ถึงแม้จะมีการปรับสภาพต้นให้ได้รับความชื้นสูงและต่ำสลับกันก่อนเป็นเวลา 1 สัปดาห์ แต่ก็เป็นการสูญเสียน้ำในเวลากลางคืนช่วงสั้น ๆ ซึ่งก่อนที่พืชจะสูญเสียน้ำจนกระทั่งถึงจุดสมมูล ก็ได้รับความชื้นสูงจากการปิดปากถุงในช่วงเช้า จึงทำให้ไม่พบการตายในช่วงระหว่างการลดความชื้นเลย อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ ออกปลูกต้นที่มีขนาดทรงพุ่มกว้าง 1.5 เซนติเมตร ซึ่งมีขนาดต้นสูงเกิน 0.5 เซนติเมตร ผลอัตราการรอดชีวิตที่ได้จึงสอดคล้องกับงานทดลองของ Hennen and Sheehan (1978) ที่พบว่าการย้ายออกปลูก *Platynerium stemeria* ที่ขนาดต้นสูงกว่า 0.5 เซนติเมตร จะให้อัตราการรอดชีวิตสูงถึง 75-80 เปอร์เซ็นต์

สรุป

การขยายโคลนเฟินชายผ้าสีดาเขากวางด้วยใบจากสภาพภายนอก สามารถทำได้ดังนี้คือ ฟอกฆ่าเชื้อใบชาย (fertile frond) ด้วย povidone-iodine เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS คัดแปลง โดยลดความเข้มข้นของสูตรอาหารลงครึ่งหนึ่ง เติมน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร ในสภาพมืด เมื่อได้ต้นในสภาพปลอดเชื้อ จึงนำชิ้นส่วนใบไปชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก บนอาหารแข็งสูตร MS คัดแปลง ที่ลดความเข้มข้นของสูตรอาหารลงครึ่งหนึ่ง เติมน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในสภาพได้รับแสงสีขาวหรือแสงสีแดง โดยไม่ต้องใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต เมื่อได้จำนวนยอดตามความต้องการแล้ว จึงชักนำยอดให้เกิดรากบนอาหารสูตร MS คัดแปลง โดยลดความเข้มข้นของสูตรอาหารลง 1/8 เท่า เติมน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งจะเกิดรากได้ใน 6 สัปดาห์

ต้นชายผ้าสีดาเขากวางที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบในสภาพปลอดเชื้อ สามารถนำออกปลูกในสภาพโรงเรือนได้ โดยการย้ายปลูกลงกระถางพลาสติกที่มีพีทมอสเป็นวัสดุปลูก รดน้ำให้ชุ่ม แล้วจึงใส่ลงในถุงพลาสติก นำไปวางในโรงเรือนซึ่งพรางแสงเพื่อปรับสภาพแสงเป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นจึงตัดถุงพลาสติกเป็นช่องสี่เหลี่ยมขนาด 1.27 ตารางเซนติเมตร โดยเพิ่มจำนวนขึ้นทุก 2 วันเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ให้อัตราการรอดชีวิตสูง 90.48 เปอร์เซ็นต์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กนกวรรณ ธนอมจิตร. 2541. การขยายพันธุ์กล้วยไม้ว่านน้ำทอง (*Ludisia discolor* (Ker-Gawl.)

A. Rich.) ในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. 2544. เอกสารข้อมูลความ

ปลอดภัยเคมีภัณฑ์ (MSDS). ศูนย์ข้อมูลวัตถุอันตรายและเคมีภัณฑ์ - Chemical Data Bank. แหล่งที่มา: <http://msds.pcd.go.th/pdf/44.pdf>, 4 เมษายน 2551.

คำณูณ กาญจนภูมิ. 2542. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

จารุพันธ์ ทองแถม, ม.ล. 2536. เฟิน สำหรับคนรักเฟินและผู้ปลูกมืออาชีพ. บริษัทอมรินทร์ พริ้นต์ติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด(มหาชน), กรุงเทพฯ.

จารุพันธ์ ทองแถม และ ปิยะเกษตร สุขสถาน. 2550. Ferns. สำนักพิมพ์สารคดี, กรุงเทพฯ.

จิตรพรพรรณ พิลึก. 2536. การเพาะเมล็ดและเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ณราวุฒิ ปิยโชติสกุลชัย. 2539. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวหลวง (*Nelumbo nucifera gaertn*) ในสภาพปลอดทดลอง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ประศาสตร์ เกื้อมณี. 2538. เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. พิมพ์ครั้งที่ 2. โอ. เอส. พริ้นต์ติ้ง เฮาส์, กรุงเทพฯ.

พิทักษ์ เกียรติอุบลไพฑูริย์. 2547. *Platycerium ridleyi* ชายผ้าสีดา เขากวางตั้ง - Polypodiaceae :

fernSiam.com – Tan homepage. แหล่งที่มา: [http://www.fernsiam.com/](http://www.fernsiam.com/FernWorld/Taxonomy/Polypodiaceae/Platycerium/Ridleyi.html)

FernWorld/Taxonomy/Polypodiaceae/Platycerium/Ridleyi.html, 8 ตุลาคม 2549.

พีรเดช ทองอำไพ. 2537. **ฮอร์โมนพืชและสารสังเคราะห์ แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย**. วิทยการพิมพ์, กรุงเทพฯ.

_____. 2544. สารควบคุมชีวภาพของพืช, น. 128-149. ใน ภาควิชาพืชสวน, **หลักการพืชสวน**. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ไพบูลย์ กวินเลิศวัฒนา. 2524. **หลักการและวิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

รังสฤษฎ์ กาวิต๊ะ. 2540. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช : หลักการและเทคนิค**. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

รุ่งทิพย์ โรจนนาวิน. 2539. **การสลายตัวของโพรโคโน-ไอโอดีน และความเป็นพิษต่อแบคทีเรีย *สกลูวิริโอ* และกึ่งกุลาดำ (*Penaeus monodon* Fabricius) วัยอ่อน**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ลิลลี่ กาวิต๊ะ. 2546. **การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานและพัฒนาการของพืช**. สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วิสุทธิ์ พงษ์ศิริศักดิ์. 2543. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนิวเคลัสและการขยายพันธุ์ส้มฟริมองที่ในสภาพปลอดเชื้อ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ศิริลักษณ์ แก้วสุริยิต. 2539. **การปรับสภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหน่อไม้ฝรั่งก่อนนำออกปลูก**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2548. **สรีรวิทยาของพืช**. พิมพ์ครั้งที่ 4. สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุรวิษ วรรณไกรโรจน์. 2549. **เอกสารประกอบการสอน วิชาหลักการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (007472)**. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

- อักษร ศรีเปล่ง. 2523. เฟิน. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- อรดี สหวัชรินทร์. 2544. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช, น. 253-268. ใน ภาควิชาพืชสวน, หลักการพืชสวน. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- อภิรดี คำเงิน. ม.ป.ป. การป้องกันการติดเชื้อ และการควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อโรค. เอกสารประกอบบทเรียน ศูนย์พัฒนาการเรียนการสอน สถาบันพระบรมราชชนก กระทรวงสาธารณสุข. แหล่งที่มา: <http://www.centered.pbri.net/elearning/lampang/louis/louis-IC/IC%20sheet.doc>, 2 สิงหาคม 2549.
- อะเคื่อ อุณหเลขกะ. 2541. การทำลายเชื้อและการทำให้ปราศจากเชื้อ. เจ.ซี.ซี การพิมพ์ จำกัด, กรุงเทพฯ.
- Aksenova, N. P., T. N. Konstantinova, L. I. Sergeeva and I. Machackova. 1994. Morphogenesis of potato plants *in vitro*. I. Effect of light quality and hormones. **Journal of Plant Growth Regulation** 13: 143-146.
- Beegum, A. S., K. P. Martin, Chun-Lai Zhang, I. K. Nishitha, Ligimol, A. Slater and P. V. Madhusoodanan. 2007. Organogenesis from leaf and internode explants of *Ophiorrhiza prostrata*, an anticancer drug (camptothecin) producing plant. **Electronic Journal of Biotechnology** 10: 114-123.
- Berkelman, R. L., B. W. Holland and R. L. Anderson. 1982. Increased Bactericidal activity of dilute preparations of povidone-iodine solutions. **Journal of Clinical Microbiology** 15: 635-639.
- Beyl, C. A. 2005. Getting started with tissue culture: Media preparation, sterile technique, and laboratory equipment, pp. 19-37. In R. N. Trigiano and D. J. Gray, eds. **Plant Development and Biotechnology**. CRC Press, Florida.

- Boonkerd, T. and R. Pollawatn. 2000. **Pteridophytes in Thailand**. Office of Environmental Policy and Planning, Bangkok.
- Camloh, M. 2006. *In vitro* culture of the fern *Platycerium bifurcatum* as a tool for developmental and physiological studies, pp. 163-170. In J.A. Teixeira da Silva, ed. **Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology**. Global Science Book, Middlesex, UK.
- _____. and N. Gogala. 1991. *Platycerium bifurcatum*-adventitious bud and root formation without growth regulators *in vitro*. **Acta Horticulturae** 289: 89-90.
- Camloha, M., N. Gogala and J. Rode. 1994. Plant regeneration from leaf explants of the fern *Platycerium bifurcatum* *in vitro*. **Scientia Horticulturae** 56: 257-265.
- Cao, H., J. Yang, Z. S. Peng, C. Y. Kang, D. C. Chen, Z. C. Gong and X. Tan. 2007. Micropropagation of *Penthorum chinense* through axillary bud. **In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant** 43: 149-153. **CAB Direct**. Accession no. 20073152673.
- Cohen, L., S. Gepstein and B. A. Horwitz. 1991. Similarity between cytokinin and blue light inhibition of cucumber hypocotyl elongation. **Plant Physiology** 95: 77-81.
- Costantino, C. 1995. Micropropagation starting from spores of *Platycerium alcicorne* [ornamental fergus]. **Culture Protette** 24(1): 79-81. **AGRIS record**. Accession no. 9560992.
- Dolinšek, J. A. and M. Camloh. 1997. Gametophytic and sporophytic regeneration from bud scales of the fern *Platycerium bifurcatum* (Cav.) C.Chr. *in vitro*. **Annals of Botany** 80: 23-28.

- Gaba, V. P. 2005. Plant growth regulators in plant tissue culture and development, pp. 87-99. *In* R. N. Trigiano and D. J. Gray, eds. **Plant Development and Biotechnology**. CRC Press, Florida.
- Gabarkiewicz, B., E. Gabryszewska, R. Rudnicki and D. Goszczynska. 1997. Effects of light quality on *in vitro* growing of *Dieffenbachia* cv. Compacta. **Acta Horticulturae** 41: 159-162.
- Gabryszewska, E. 2001. Effects of ABA, fruridone and light quality on growth and dormancy of tissue-cultured herbaceous peony shoots. **Acta Horticulturae** 56: 407-410.
- _____. and R. Rudnicki. 1995. The influence of light quality on the shoot proliferation and rooting of *Gerbera jamesonii* *in vitro*. **Acta Agrobotanica** 4: 105-111. **Cab Abstracts**. Accession no. 970303708.
- Gasper, T. and M. Coumans. 1987. Root formation, pp. 202-217. *In* J.M. Bonga and D. Durzan, eds. **Cell and Tissue Culture in Forestry. Vol. 2**. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht.
- Gavinlertvatana, P., Paul E. Read and H. F. Wilkins. 1980. Control of ethylene synthesis and action by silver nitrate and rhizobioxine in *Petunia* leaf sections culture *in vitro*. **Journal of the American Society for Horticultural Science** 105: 304-307.
- Gershenfeld, L. 1957. Povidone-iodine as a topical antiseptic. **The American Journal of Surgery** 94: 938-943.
- Gleba, D.M. and L.P. Gordzievskaya. 1987. Propagation of *Platyserium bifurcatum* (Cav.) Chr. in *in vitro* culture. **Introduktsiyai Akklimatizatsiya Rastenii** 7: 59-61. **Cab Abstracts**. Accession no. 880349178.

- Goins, G.D., N.C. Yori, M.M. Sanwo and C.S. Brown. 1997. Photomorphogenesis, photosynthesis, and seed yield of wheat plants grown under red light-emitting diodes (LEDs) with and without supplemental blue lighting. **Journal of Experimental Botany** 48: 1407-1413.
- Hagiabad, M.S., Y. Hamidoghli and R.F. Gazvini. 2007. Effects of different concentrations of mineral salt, sucrose and benzyladenine on Boston fern (*Neprolepis exaltata* Schott cv. *Bostoniensis*) runner tips initiation. **Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources** 11(40): 137-146. **CAB Direct**. Accession no. 20073237737.
- Hennen, G. R. and T. J. Sheehan. 1978. *In vitro* propagation of *Platyserium stemaria* (Beauvois) Desv. **HortScience** 13: 245.
- Hennipman, E. and M.C. Roos. 1982. **A Monograph of the Fern Genus *Platyserium* (Polypodiaceae)**. North-Holland Publishing Company, Amsterdam. Oxford. New York.
- Hoshizaki, B.J. and M.G. Price. 1990. *Platyserium* Update. **American Fern Journal** 80 : 53-69.
- Hunter D. C. and D. J. Burritt. 2005. Light quality influences the polyamine content of lettuce (*Lactuca sativa* L.) cotyledon explants during shoot production *in vitro*. **Plant Growth Regulation** 45: 53-61.
- Kane, M. E. 2005. Shoot culture procedures, pp. 145-157. *In* R. N. Trigiano and D. J. Gray, eds. **Plant Development and Biotechnology**. CRC Press LLC, Florida.
- Kellog, H. B. 1956. PVP-iodine in agricultural pestcontrol. **Farm Chemicals** 119: 49-51.

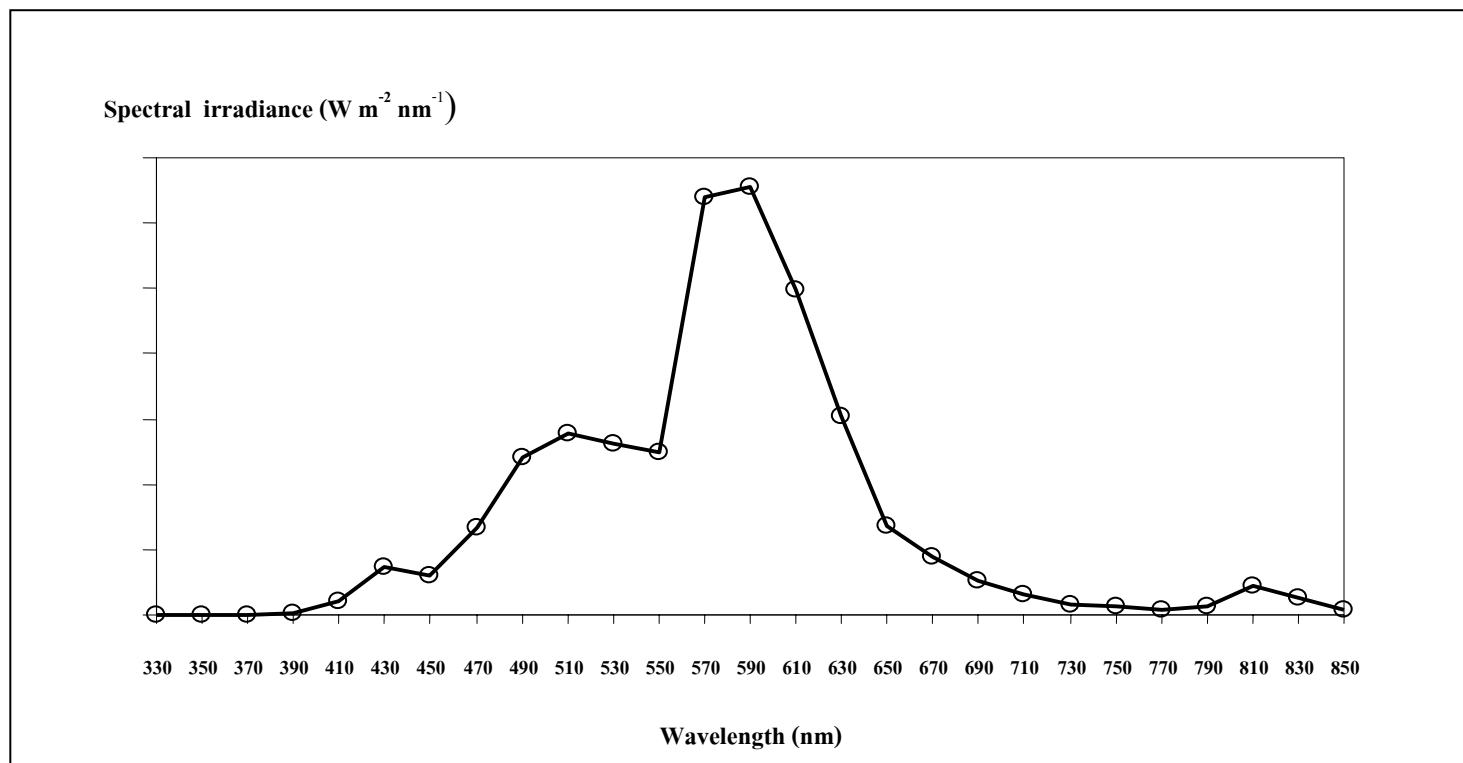
- Kennedy, J., J. Bek and D. Griffin. 2000. Selection and Use of Disinfection. **NebGuide**.
Available Source: <http://elkhorn.unl.edu/epublic/pages/publicationD.jsp?publicationId=431>, April 25, 2008.
- Khare, P. B. and S. P. Shukla. 2003. *In vitro* shoot regeneration in stolon explant of an ornamental fern, *Nephrolepis biserrata*. **Phytomorphology** 53: 229-233. **CAB Direct**.
Accession no. 20043096793.
- Kihlstrom, S.L., W.E.M. Morrow, P.R. Davies and G.H. Luginbuhl. 2001. Assessing the progressive decontamination of farrowing crate floors by measuring the decrease in aerobic bacteria. **Journal of Swine Health and Production** 9(2): 65-69. Cited W.C. Krusé. 1970. Halogen action on bacteria, viruses and protozoan, pp. 113-137. *In Proceedings of the National Specialty Conference on Disinfection*. ASCE, Amherst, MA.
- Kim S.J., K.C. Cho, I.T. Hwang, J.K. Kim, S.O. Kim and K.S. Kim. 2006. Plant regeneration according to culture conditions in leaf culture of *Drosera spatulata* sp. Tokaiensis. **Korean Journal of Horticultural Science & Technology** 24: 248-252. **CAB Direct**.
Accession no. 20063129492.
- Kozuka, T., G. Horiguchi, G.T. Kim, M. Ohgishi, T. Sakai and H. Tsukaya. 2005. The Different Growth Responses of the *Arabidopsis thaliana* Leaf Blade and the Petiole during Shade Avoidance are Regulated by Photoreceptors and Sugar. **Plant and Cell Physiology** 46: 213-223.
- Kwa, S.H., Y.C. Wee, T.M. Lim and P. P. Kumar. 1997. Morphogenetic plasticity of callus reinitiated from cell suspension cultures of the fern *Platyserium coronarium*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 48: 37-44.

- Leung, M.P., K.D. Bishop and M. Monga. 2002. The effect of temperature on bactericidal properties of 10% povidone-iodine solution. **American Journal of Obstetrics and Gynecology** 5: 869-871.
- Lever, A. M. and S. V. W. Sutton. 1996. Antimicrobial effects of hydrogen peroxide as an antiseptic and disinfectant, pp. 159-176. *In* J. M. Ascenzi, ed. **Handbook of Disinfectants and Antiseptics**. Marcel Dekker Inc., NewYork.
- McDonnell, G. and A. D. Russell. 1999. Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance. **Clinical Microbiology Review** 12: 147-179.
- McGaw, B. A. 1987. Cytokinin biosynthesis and metabolism, pp. 76-93. *In* P. J. Davies, ed. **Plant Hormones and their Role in Plant Growth and Development**. Martinus Nijhoff Publisher, Dordrecht.
- Miller, L. F. and F. A. Hamm. 1953. Macromolecular properties of polyvinylpyrrolidone : molecular weight distribution. **Journal Physics Chemistry**. 57: 110-122.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**. 15: 473-497.
- Pierik, R. L. M. 1989. ***In Vitro* Culture of Higher Plants**. 2nd ed. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, Netherlands.
- Pevalek Kozlina, B. 1996. Effects of sucrose and agar concentration, and medium pH on staghorn fern (*Platyserium bifurcatum* (Chr.) C. Cav.) shoot multiplication. **HortScience** 28: 18-20.

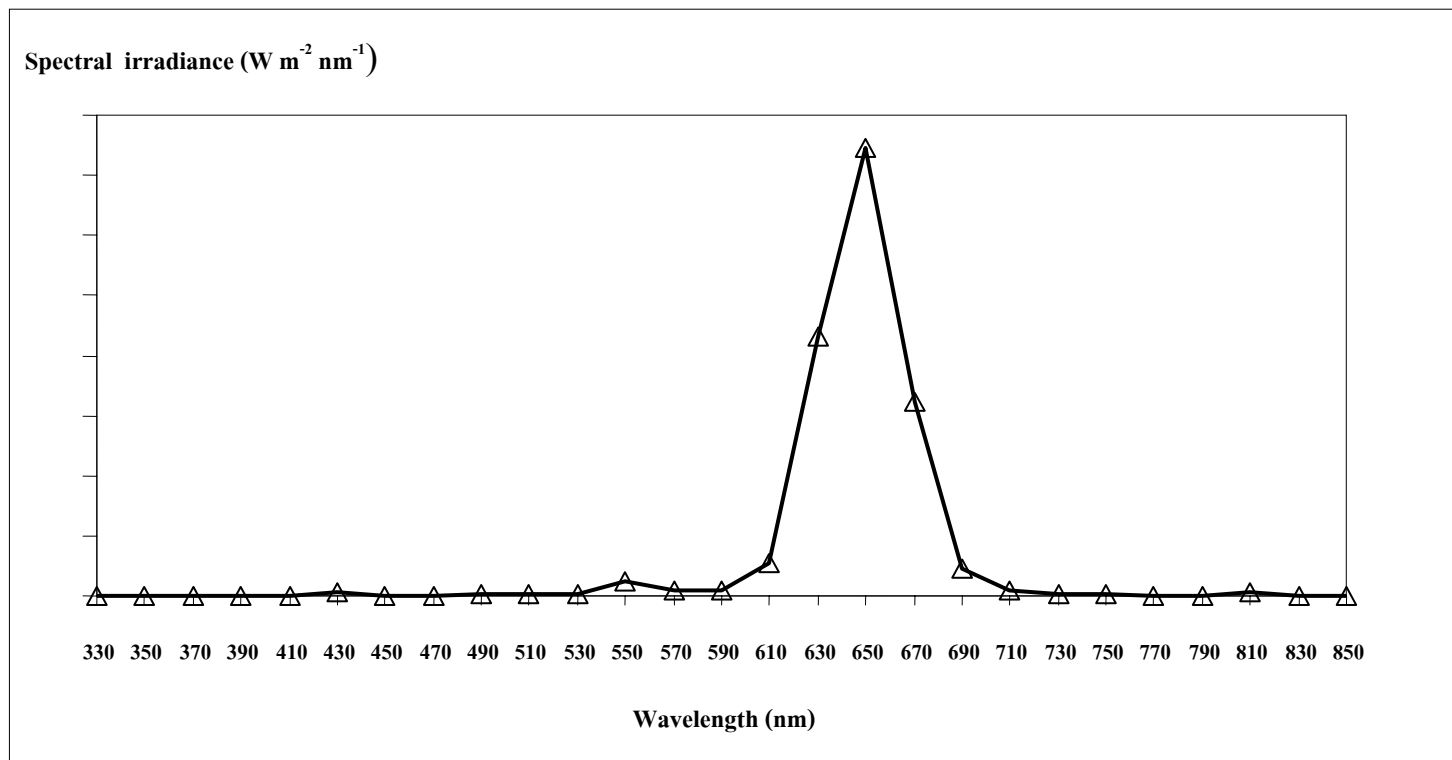
- Prakash, L., R. J. Geijskes, L.F. Wang, A. Elliott, C. P. L. Grof, N. Berding and G. R. Smith. 2006. Developmental and hormonal regulation of direct shoot organogenesis and somatic embryogenesis in sugarcane (*Saccharum* spp. interspecific hybrids) leaf culture. **Plant Cell Reports** 25: 1007-1015. **CAB Direct**. Accession no. 20063210810.
- Razdan, M.K. 2003. **Introduction to Plant Tissue Culture**. 2nd ed. Science Publishers, Inc., Enfield, New Hampshire, USA.
- Rucker, W. 1982. Callus and organ formation on *Digitalis* [purpurea] leaf cuttings, pp. 195-196. *In Plant tissue culture 1982*. Japanese Association for Plant Tissue Culture, Tokyo, Japan. **CAB Direct**. Accession no. 19830316968.
- Sanjeev, K., S. Major, A. K. Singh, S. Kirti and M. K. Banerjee. 2003. *In vitro* propagation of pointed gourd (*Trichosanthes dioica* Roxb.). **Cucurbit Genetics Cooperative** 26: 74-75. **CAB Direct**. Accession no. 20073093286.
- Selvaggi, G., S. Monstrey, K. Van Landuyt, M. Hamdi and Ph. Blondeel. 2003. The role of iodine in antisepsis and wound management : A reappraisal. **Acta Chirurgica Belgica** 103: 241-247.
- Shimada, Y., G. Mori, Y. Katahara and M. Oda. 2006. Formation of adventitious buds on leaf pieces cutting of *Begonia* Tuberhybrida Group. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science** 75: 318-322. **CAB Direct**. Accession no. 20063129435.
- Suetsugu, N. and M. Wada. 2003. Cryptogam blue-light photoreceptors. **Current Opinion Plant Biology** 6: 91-96.
- Suzuki, S., H. Fujino, Y. Tatsuo, N. Yamazaki and M. Yoshizaki. 1992. Rapid propagation of *Stephania cephalantha* Hayata by tissue culture. **Japanese Journal of Breeding** 42: 769-777. **CAB Direct**. Accession no. 19931637046.

- Tavares, F., I. Abreu and R. Salema. 1998. Regeneration of the actinorhizal plant *Myrica gale* L. from epicotyl explants. **Plant Science** 135: 203-210.
- Teng, W.L. 1997. Activated charcoal affects morphogenesis and enhances sporophyte regeneration during leaf cell suspension culture of *Platycerium bifurcatum*. **Plant Cell Reports** 17: 77-83.
- Teng, W.L. and M.C. Teng. 1997. *In vitro* regeneration patterns of *Platycerium bifurcatum* leaf cell suspension culture. **Plant Cell Reports** 16 : 820-824.
- Vail, R. 1984. ***Platycerium* hobbyist's handbook**. Desert Biological Publications, New Mexico.
- Werbrouck, S. P. O. and P. C. Debergh. 1994. Applied aspects of plant regeneration, pp. 127-135. In R. A. Dixon and R. A. Gonzales, eds. **Plant Cell Culture**. 2nd ed. Oxford University Press, New York.
- Xiao Y.L. and T. Kozai. 2006. *In vitro* multiplication of statice plantlets using sugar-free media. **Scientia Horticulturae** 109: 71-77.
- Yu, R.C. and R.C. Pan. 1997. Effects of blue light on the growth and levels of endogenous phytohormones in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. **Acta Phytophysiologica Sinica** 23: 175-180. **CAB Abstract**. Accession no. 980704028.

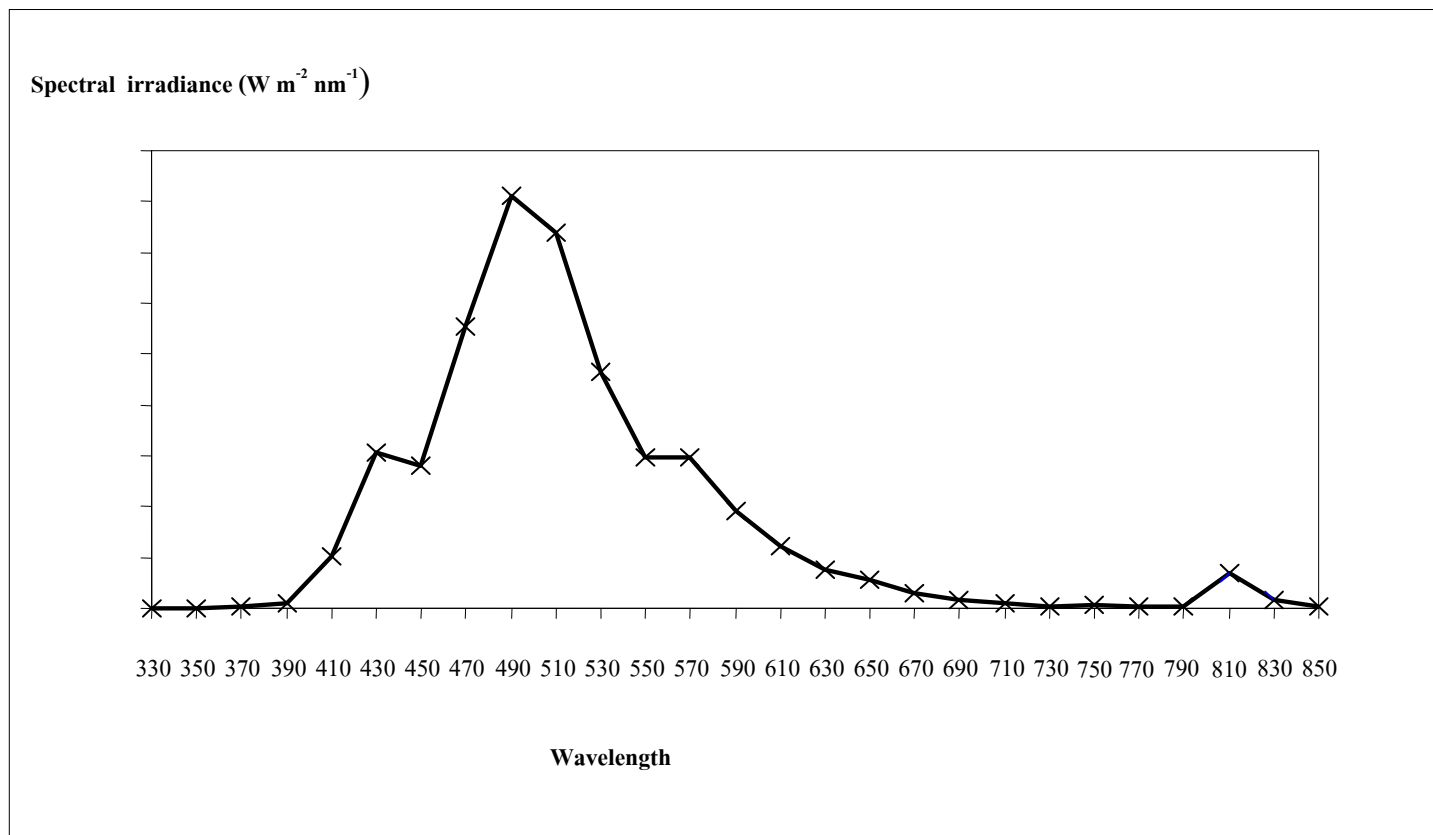
ภาคผนวก



ภาพผนวกที่ 1 Spectrum ของแสงสีขาว จากหลอดฟลูออเรสเซนต์ PHILIPS TL-D 36/54 Day light



ภาพผนวกที่ 2 Spectrum ของแสงสีแดง จากหลอดฟลูออเรสเซนต์ TOSHIBA FL 40S.RE 40 W



ภาพผนวกที่ 3 Spectrum ของแสงสีน้ำเงิน จากหลอดฟลูออเรสเซนต์ T.F.C. FL 40 SBT8/38 Blue

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นายรัชชัย แยมพิกุลสกุล
วัน เดือน ปี ที่เกิด	10 มีนาคม 2524
สถานที่เกิด	อำเภอบางรัก จังหวัดกรุงเทพมหานคร
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	Webmaster และ Web Designer
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	กรุงเทพมหานคร
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ได้รับทุนผู้ช่วยสอนจากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (พ.ศ. 2545) ได้รับทุน 101 ปี ศาสตร์เกษตรไทย จากคณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (พ.ศ. 2548)