

รายงานผลงานเรื่องเติมการทดลองที่สิ้นสุด

1. ชื่อชุดโครงการวิจัย : วิจัยและพัฒนาไม้ดอกไม้ประดับ
2. โครงการวิจัย : โครงการวิจัยและพัฒนาเฟิน
กิจกรรม : การศึกษาเทคโนโลยีการผลิตเฟินที่มีศักยภาพในเชิงการค้า
3. ชื่อการทดลอง : การผลิตเฟินชายผ้าสีดาและเฟินข้าหลวง แบบการค้าใน
ห้องปฏิบัติการ

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้ากิจกรรม	นายอนุ	สุวรรณโณม	สังกัด ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่
หัวหน้าการทดลอง	นายอนุ	สุวรรณโณม	สังกัด ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่
ผู้ร่วมงาน	นายไฉ	อินตะแก้ว	สังกัด ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย
	นางวิมล	แก้วสีดา	สังกัด ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย
	นายสุรศักดิ์	เหลือสุวรรณ	สังกัด ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย

5. บทคัดย่อ

โครงการวิจัยและพัฒนาเฟินมีวัตถุประสงค์ เพื่อหาเทคโนโลยีการผลิตเฟินสกุลชายผ้าสีดาที่มีศักยภาพในเชิงการค้าผลการทดลองพบว่า การผลิตเฟินชายผ้าสีดา แบบการค้าในห้องปฏิบัติการ จากการทดลองได้ทำการทดลองหาวัสดุพอกสปอร์ ได้วัสดุพอก 3 ชนิด เวลาการพอกสปอร์ ทั้งหมดใช้ที่ 10 นาที การล้างสปอร์ด้วยน้ำสะอาด จำนวน 3 ครั้ง พอกสปอร์ชายผ้าสีดา *P.holltumii* พบว่าคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 10% และ 5% สปอร์ไม่งอกในอาหารรุ้นทั้ง 2 ชนิด ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์(*hydrogenperoxide*) ความเข้มข้น 6% สปอร์งอกเล็กน้อย เมอร์คิวริก(II) คลอไรด์(Mercuric (II) chloride) ความเข้มข้น 10% สปอร์งอกเล็กน้อย และเมอร์คิวริก(II) คลอไรด์(Mercuric (II) chloride) ความเข้มข้น 5% นาน 10 นาที สปอร์งอกเล็กน้อยและมีราเกิดขึ้น การเพาะสปอร์เฟินชายผ้าสีดาในอาหารทั้ง 2 ชนิดคือ PDA (Potato Dextrose Agar) และ รุ้นไม่มีสารอาหาร (Water Agar) โดยใช้สปอร์เฟินชายผ้าสีดาจำนวน 4 ชนิดคือ *P.holltumii*, *P. coronarium*, *P. bifurcatum* และ *P.wandae* พบอัตราการงอกของสปอร์ที่ไม่มีความแตกต่างกัน

6. คำนำ

ปัจจุบันเฟินสายพันธุ์ใหม่ ๆ เป็นที่ต้องการของตลาดโลก ในประเทศไทยการพัฒนาในเชิงรุกทั้งด้านการปรับปรุงพันธุ์ การขยายพันธุ์ และการผลิตเฟินในเชิงการค้ายังมีน้อยมาก ทั้งๆที่ประเทศไทยมีจุดแข็งหลายด้านทั้งเป็นแหล่งพันธุ์กรรมเฟินที่หลากหลาย ภูมิประเทศ ภูมิอากาศ วัตถุดิบ แรงงาน ทักษะมีเพียงพอ แต่ที่ผ่านมากการกระตุ้นด้านการวิจัย การผลิต และการตลาดจากภาครัฐยังมีน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับประเทศอื่นๆในเอเชีย เช่น ไต้หวัน เกาหลี ญี่ปุ่น จีน ทำให้ความสามารถด้านการผลิตและการตลาดไม่ด้อยไปกว่าประเทศอื่นๆของไทยลำหลังกว่า จึงจำเป็นต้องเร่งเพิ่มขีดความสามารถให้ไทยเป็นผู้นำการผลิตเฟินในภูมิภาค

การขยายพันธุ์เฟินมีทั้งแบบใช้สปอร์และไม่ใช้สปอร์ การเพาะสปอร์ต้องทราบว่าเฟินแต่ละชนิดมีอยู่หลายแบบ ส่วนมากอยู่ใต้ใบ บางชนิดอยู่ที่ปลายใบ หรือเป็นกระจุกรวมกันเป็นช่อ การขยายพันธุ์จากสปอร์ เป็นวิธีที่นิยม เนื่องจากใช้ได้ผลดีกับเฟินหลายชนิด อีกทั้งขยายได้เป็นจำนวนมาก แต่อาจใช้เวลานาน การเก็บสปอร์เฟินสามารถทำได้ง่ายและสะดวกโดยคอยสังเกตสปอร์ซึ่งเกิดที่ด้านท้องใบเมื่อแก่จะมีสีน้ำตาล เข้มหรือค่อนข้างดำ (กุลชิลี, 2548) การขยายพันธุ์เฟิน สามารถทำได้ 2 รูปแบบคือ การขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เช่นการแยกหน่อ และการขยายพันธุ์เฟินแบบใช้เพศ ได้แก่การเพาะสปอร์ทั้งในสภาพปลอดเชื้อและภายนอกสภาพปลอดเชื้อ การเพาะสปอร์ในสภาพปลอดเชื้อมีปัจจัยที่สำคัญหลายประการที่มีอิทธิพลต่อการงอกของสปอร์ เช่น ชนิดของอาหาร อายุ การเก็บรักษาสปอร์ ความชื้น อุณหภูมิ และแสง วิเวชา (2537) และวิไลลักษณ์และคณะ (2543) ได้ศึกษาการพัฒนาของสปอร์เฟินจิบ โดยการเพาะสปอร์ของเฟินจิบบนอาหารแข็งไม่มีสารอาหาร และอาหารแข็งสูตร Knop พบว่าสปอร์สามารถงอกได้ดีบนอาหารสูตร Knop โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอก 11.0 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเพาะเลี้ยงได้ 35 วัน ส่วนสปอร์บนอาหารแข็งไม่มีสารอาหารมีเปอร์เซ็นต์การงอกที่ต่ำ คือ 2.25 เปอร์เซ็นต์ และโปรทลัสมีขนาดเล็กกว่า

7. วิธีดำเนินการ

กิจกรรมที่ 3 การศึกษาเทคโนโลยีการผลิตเฟินที่มีศักยภาพในเชิงการค้า

การทดลองที่ 3.2 การผลิตเฟินชายผ้าสีดาและเฟินข้าหลวง แบบการค้าในห้องปฏิบัติการ

- วิธีการ

1. เก็บสปอร์เฟินชายผ้าสีดา จำนวน 4 ชนิดคือ *P.holltumii*, *P. coronarium*, *P. bifurcatum* และ *P.wandae*

2. เตรียมอาหารทั้งสองชนิด คือ PDA (Potato Dextrose Agar) และ อาหารวุ้นไม่มีสารอาหาร WA (Water Agar) สารเคมีสำหรับฟอกสปอร์ จำนวน 3 ชนิดคือ คลอโรกซ์ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogenperoxide) และ เมอร์คิวริก(II) คลอไรด์ (Mercuric (II) chloride) สารจับใบ Tween 20 และ

แอลกอฮอล์

3. เครื่องมือ วัสดุและอุปกรณ์การเตรียมอาหารและเพาะเลี้ยงสปอร์ ได้แก่หม้อนึ่งความดันไอน้ำ(Auto crave), เครื่องวัด pH, คีม, ขวดขนาด 4 ออน, บีกเกอร์(Beaker), เพลต(Plate), Erlenmayer flask, ผ้าขาวบาง, ตู้ปลอดเชื้อ ฯ

แผนการทดลองแบบ RCB 8 กรรมวิธี 4 ซ้ำโดยเปรียบเทียบสูตรอาหารพื้นฐาน 2 สูตร ใช้กับสปอร์ เพินชายผ้าสีดา *P.holltumii*, *P. coronarium*, *P. bifurcatum* และ *P.wandae* ศึกษาการเจริญเติบโตของ prothallus

- อาหาร PDA (Potato Dextrose Agar)
- อาหาร WA (Water Agar)

สถานที่ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่

ระยะเวลา 2555-2556

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

กิจกรรมที่ 3 การศึกษาเทคโนโลยีการผลิตเพินที่มีศักยภาพในเชิงการค้า

การทดลองที่ 3.2 การผลิตเพินชายผ้าสีดาและเพินข้าหลวง แบบการค้าในห้องปฏิบัติการ

ผลการทดลอง

เนื่องด้วยการเพาะสปอร์ด้วยอาหารรุ้นชั้นตอนที่สำคัญมากอีกชั้นหนึ่งคือการฟอกสปอร์ จากการทดลองได้ ทำการทดลองหาวัสดุฟอกสปอร์ ได้วัสดุฟอก 3 ชนิด เวลาการฟอกสปอร์ ทั้งหมดใช้ที่ 10 นาที การล้างสปอร์ด้วย น้ำสะอาด จำนวน 3 ครั้ง

การทดลอง การฟอกสปอร์ชายผ้าสีดา *P.holltumii* โดยการฟอกด้วยสาร 3 ชนิดพบว่า

- 1.คลอโรกซ์ ความเข้มข้น 10% นาน 10 นาทีพบว่าสปอร์ไม่งอกในอาหารรุ้นทั้ง 2 ชนิด
- 2.คลอโรกซ์ ความเข้มข้น 5% นาน 10 นาที พบว่าสปอร์ไม่งอกในอาหารทั้ง 2 ชนิด
- 3.ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์(hydrogenperoxide) ความเข้มข้น 6% นาน 10 นาที พบว่าสปอร์งอก

เล็กน้อย

- 4.เมอร์คิวริก(II) คลอไรด์(Mercuric (II) chloride) ความเข้มข้น 10% นาน 10 นาที พบว่าสปอร์งอก

เล็กน้อย

5.เมอร์คิวริก(II) คลอไรด์(Mercuric (II) chloride) ความเข้มข้น 5% นาน 10 นาที พบว่าสปอร์งอกเล็กน้อยและมีราเกิดขึ้น

จากการทดลองคาดว่าจะทำการทดลองเพิ่มในส่วนของการฟอกด้วย ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogenperoxide) ที่ความเข้มข้น 3% เพราะที่ฟอกด้วยความเข้มข้น 6% อัตราการงอกน้อย อาจเป็นเพราะว่าความเข้มข้นสูงไป

จากผลการทดลองการฟอกสปอร์ได้ทำการเลือก ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์(hydrogenperoxide) ความเข้มข้น 6% นาน 10 นาที เป็นวิธีการทดลอง โดยทำในเฟินชายผ้าสีดาจำนวน 4 ชนิดคือ เฟินชายผ้าสีดาหูช้างไทย(*P.holttumii*), เฟินชายผ้าสีดาสายผ้ามา่น (*P. coronarium*), เฟินชายผ้าสีดาเขากวางออสเตรเลีย (*P. bifurcatum*)และเฟินชายผ้าสีดาแวนเด์ (*P. wandae*) การทดลองพบว่าสปอร์ของเฟินทั้ง 4 ชนิดสามารถงอกได้ในอาหารทั้ง 2 ชนิด ในระยะแรกไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อเลี้ยงสปอร์ของเฟินในอาหารทั้ง 2 ชนิดนานมากขึ้น เกิน 30 วัน สปอร์ของเฟินที่เลี้ยงในอาหาร PDA มีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าเฟินที่เลี้ยงในอาหารวุ้นเพียงอย่างเดียว

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การผลิตเฟินชายผ้าสีดาและเฟินข้าหลวง แบบการค้าในห้องปฏิบัติการ

การทดลองได้เลือกทำเฉพาะเฟินสกุลชายผ้าสีดา เนื่องจากพบปัญหาในการรวบรวมสปอร์เฟินสกุลข้าหลวง จึงได้ทำการทดลองเฉพาะกลุ่มเฟินสกุลชายผ้าสีดา และได้ทดลองวิธีการฟอกสปอร์เฟินซึ่งได้เลือกเฟินชายผ้าสีดาหูช้างไทย *P.holttumii*เป็นตัวทดลอง

การทดลองเรื่องของการผลิตเฟินในห้องปฏิบัติการนั้นยังเป็นเรื่องใหม่มากในวงการเฟินที่จะผลิตในเชิงการค้า การทดลองนี้ใช้เวลา 2 ปี จากการทดลองพบว่า ปัญหาในการทำการทดลองนั้นยังมีอยู่อีกมากที่จะต้องดำเนินการแก้ไข เช่น ปัญหาสปอร์ไม่งอก โดยไม่ทราบสาเหตุ ได้ทำการวิเคราะห์หาสาเหตุซึ่งอาจจะเกิดจากขบวนการฟอกที่ยังไม่ถูกต้องเช่น สารที่ใช้ฟอก เวลาที่ใช้ฟอก หรืออาจเป็นจากสปอร์ เช่น สปอร์สุกแก่เพียงพอหรือไม่ เพราะว่าสปอร์ที่เราใช้ สั่งซื้อจากที่อื่นอีกที่ทำให้เราไม่ทราบแหล่งที่มาชัดเจน อายุ ความสมบูรณ์ของสปอร์ ได้ทำการแก้ไขปัญหานี้แล้วโดยที่งานรวบรวมพันธุ์เริ่มให้สปอร์บ้างแล้วทำให้เรารู้ อายุสปอร์ ความสมบูรณ์ของสปอร์ ในเรื่องของสูตรอาหารที่ทำการทดลอง ยังไม่สามารถบอกได้ว่าเกิดจากอิทธิพลของสูตรอาหารหรือความสมบูรณ์ของสปอร์หรือการฟอกสปอร์ การทดลองนี้ได้ขอทำการทดลองต่ออีก 2 ปี คาดว่าจะได้ผลการทดลองที่ดีขึ้น ปัญหาที่พบคือวิธีการเก็บข้อมูล เรายังไม่มีเครื่องมือในการนับ และวัดการเจริญเติบโตของสปอร์อย่างละเอียด เพียงแต่ใช้การถ่ายรูปและสังเกตด้วยตาเปล่า ทำให้การทดลองยังไม่ละเอียดเพียงพอ

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

- 1) ได้เทคนิคการพอกสปอร์เฟิน เพื่อการเพาะสปอร์เฟินในสภาพปลอดเชื้อ
- 2) ได้ชนิดของอาหารรุ้นที่ใช้ในการเพาะสปอร์เฟิน ในรูปแบบการค้ำ
- 3) ได้รูปแบบการเพาะสปอร์เฟินในการการค้ำ สามารถที่จะถ่ายทอดให้กับผู้ที่สนใจทำการค้ำได้
- 4) สามารถที่จะพัฒนาผลงานวิจัยเพื่อทำงานวิจัยในการชักนำให้เฟินเกิดใบและรากจริง หาเทคนิคและวิธีการปลูกเลี้ยงเฟินในรูปแบบของอาหารรุ้น ต่อยอดในการปลูกเลี้ยงเฟินในระยะ vegetative growth

11. เอกสารอ้างอิง

กุลชลี. 2548. ไม้กระถาง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา (ลำปาง) . 156 หน้า.

วิไลลักษณ์ ชนะจิตร วิเรชา ไตรพิพัฒน์ กิตติมา เมฆโกมล สุภลักษณ์ นพคุณากุล และวารินทร์ ทอง

เจริญ. 2543. การเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตเฟินจิบโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพ. รายงานการ

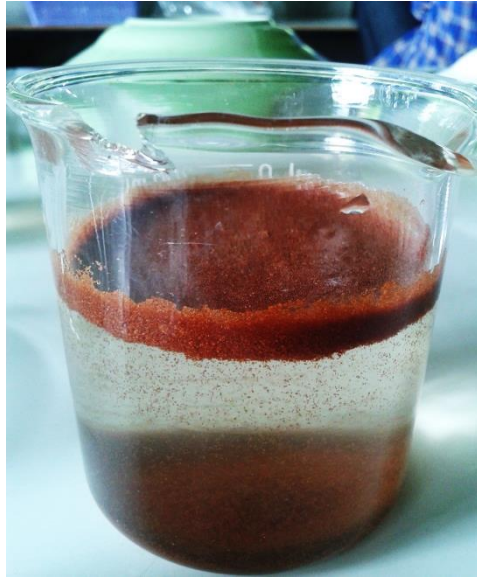
สัมมนาวิชาการเกษตร ประจำปี 2543. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

วิเรชา ไตรพิพัฒน์. 2537. การศึกษาการงอกและการเจริญเติบโตของสปอร์เฟินจิบที่เพาะในสภาพปลอด

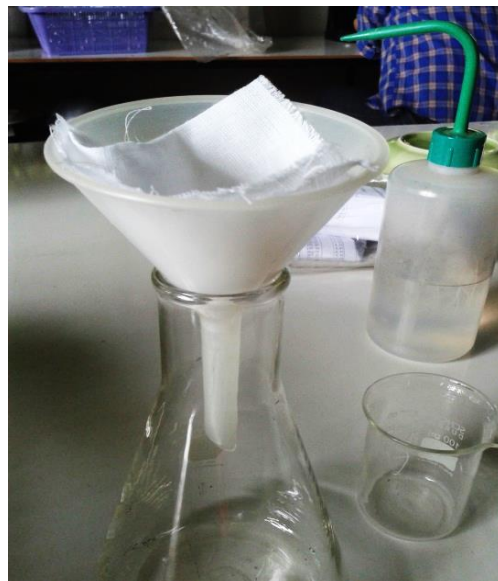
เชื้อ. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

ภาคผนวก

ขั้นตอนการพอกและเพาะสปอร์



ภาพที่ 1 แ่สปอร์ในน้ำกลั่น 2 ชั่วโมง เพื่อแยกให้สปอร์จมลงในน้ำและเยื่อจะลอยอยู่บนผิวน้ำก่อนนำไปฟอก



ภาพที่ 2 กรองสปอร์ด้วยผ้าขาวบาง 2 ชั้น



ภาพที่ 3 ฟอกสปอร์โดยการเขย่าเบาๆจนครบเวลาที่กำหนด (ทำในตู้ปลอดเชื้อ)



ภาพที่ 4 การกรองสปอร์ออกจากสารฟอก ด้วยผ้าขาวบาง 2 ชั้น



ภาพที่ 5 การล้างสปอร์ด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง



ภาพที่ 6 การโรยสปอร์ลงในขวดอาหารแล้วเก็บไว้ในห้องปลอดเชื้อ