กายวิภาคศาสตร์แผ่นใบของเฟิร์นบริเวณน้ำตกถ้ำจงอาง สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา

Leaf Blade Anatomy of Ferns at Tham Jong Ang Waterfall, Sakaerat Environmental Research Station, Wang Nam Khieo District, Nakhon Ratchasima Province

อนิษฐาน ศรีนวล[1*] และ วิโรจน์ เกษรบัว[2]

Anitthan Srinual[1*] and Wirot Kesonbua[2]

[1] *ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ*

[2] *ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี*

[1] *Department of Biology, Faculty of Science, Srinakarinwirot University*

[2] *Department of Biological Science, Faculty of Science, Ubon Ratchathani University*

Received : 26 May 2017

Accepted : 19 September 2017

Published online : 29 September 2017

บทคัดย่อ

ศึกษากายวิภาคศาสตร์แผ่นใบของเฟิร์นบริเวณน้ำตกถ้ำจงอาง สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา ระหว่างเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2558 ถึงเดือนเมษายน พ.ศ. 2559 จำนวน 18 ชนิด จำแนกเป็น 14 สกุล 8 วงศ์ เพื่อนำลักษณะกายวิภาคศาสตร์ที่ได้ไปใช้ในการระบุพืชที่ศึกษา โดยการเตรียมสไลด์ถาวรพืชด้วยวิธีการลอกผิวใบหรือการทำให้แผ่นใบใส และตัดตามขวางแผ่นใบด้วยกรรมวิธีพาราฟิน ศึกษาลักษณะกายวิภาคศาสตร์ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบลักษณะทั่วไปของพืชที่ศึกษาดังนี้ 1) เซลล์ในเนื้อเยื่อชั้นผิวจากการลอกผิว มีรูปร่างคล้ายจิกซอว์หรือรูปร่างหลายเหลี่ยม ผนังเซลล์ด้านตั้งฉากกับผิวใบเรียบ เรียบและโค้งเล็กน้อย ค่อนข้างขรุขระ หรือโค้งเว้า 2) เนื้อเยื่อชั้นผิวในภาคตัดขวางมี 1-2 ชั้น เซลล์มีรูปร่างสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปร่างไม่แน่นอน หรือรูปร่างกลม 3) ปากใบอยู่ในระดับเดียวกันกับเนื้อเยื่อชั้นผิว ส่วนใหญ่พบบริเวณเนื้อเยื่อชั้นผิวด้านล่าง มีค่าดัชนีของปากใบ 9.45-28.57 รูปแบบของปากใบเป็นแบบพาราไซติก เพอริไซติก ไดอะไซติก แอนไอโซไซติก และแอนอโมไซติก 4) ขนเป็นแบบขนเซลล์เดียวหรือหลายเซลล์ 5) บางชนิดมีโพรงอากาศในชั้นมีโซฟิลล์ 6) ชั้นมีโซฟิลล์ของพืชส่วนใหญ่ประกอบด้วยเซลล์แพลิเซดและสปองจีที่มีรูปร่างคล้ายกัน เซลล์มีรูปร่างไม่แน่นอนหรือกลม มีจำนวนมากกว่า 1 ชั้นเซลล์ 7) รูปร่างของเส้นกลางใบโค้งทั้งด้านบนและด้านล่าง ตรงทั้งสองด้าน ด้านบนตรงส่วนด้านล่างโค้ง ด้านบนเว้าเป็นรูปตัววีด้านล่างโค้ง และด้านบนรูปหัวใจด้านล่างโค้ง 8) มัดท่อลำเลียงที่เส้นกลางใบเป็นแบบโฟลเอ็มล้อมรอบไซเล็ม (amphicribal bundle) มีรูปร่างกลม รูปสามเหลี่ยม รูปรี และรูปกากบาท มีจำนวน 1-3 มัด และ 9) มีสารสะสมเป็นแทนนินหรือเป็นเม็ดติดสีย้อมสีแดง ลักษณะดังกล่าวสามารถนำไปใช้สร้างรูปวิธานสำหรับการระบุชนิดของพืชที่ศึกษาได้ อย่างไรก็ตาม เนื่องจากไม่มีลักษณะร่วมของวงศ์จึงไม่สามารถนำไปใช้ในการสนับสนุนการจัดจำแนกได้

คำสำคัญ : กายวิภาคศาสตร์ใบ เฟิร์น สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช

*Corresponding author. E-mail: anitthan@hotmail.com

Abstract

Leaf blade anatomical study of ferns at Tham Jong Ang Waterfall in Sakaerat Environmental Research Station, Wang Nam Khieo District, Nakhon Ratchasima Province were conducted from May 2015 to April 2016. Eighteen species including fourteen genera and eight families were studied. The purpose of this research was to determine the vegetative anatomy for the identification of ferns. The specimens were investigated by leaf epidermal peeling or clearing and transverse sectioning of lamina and examination by light microscope. The generalized anatomical characteristics in all species studied are as follow: 1) epidermal cells are jigsaw-like or polygonal, anticlinal walls are straight, straight and slightly curve, rough and concave; 2) shapes of epidermal cell in transverse section are quadrangular or irregular, with 1-2 layers; 3) stomata are typical type, usually presence in the abaxial, stomatal index are 9.45-28.57 and the patterns of stoma are paracytic, pericytic, diacytic, anisocytic and anomocytic stomata; 4) trichomes are unicellular or multicellular trichomes; 5) some species are presence air space in the mesophyll; 6) mesophyll of most species studied consist of similarly palisade and spongy cells which presence more than one layer of irregular or globose in shapes; 7) shapes of main veins are curve on both sides, straight on both sides, straight on the upper and curve on the lower, v-shaped on the upper and curve on the lower and heart-shaped on the upper and curve on the lower; 8) vascular bundles in main veins are amphicribal bundle which phloem surrounding by xylem. Vascular bundle shapes are circular, triangular, oval and x-shaped with 1-3 vascular bundles; and 9) inclusions are red staining body and tannin. Using these characteristics an anatomical key was constructed to assist identification of the species. However, these anatomical characteristics are not shared between species in the family which cannot be used to support the classification.

Keywords: leaf anatomy, fern, sakaerat environmental research station

บทนำ

สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช (Sakaerat Environmental Research Station (SERS)) เป็นศูนย์วิจัยด้านสิ่งแวดล้อมและนิเวศวิทยา มีพื้นที่ที่อุดมสมบูรณ์ไปด้วยพันธุ์พืชและสัตว์ป่านานาชนิด จนได้รับการยอมรับจาก UNESCO ภายใต้โครงการ MAB (Man and Biosphere Program) ให้เป็นแหล่งสงวนชีวมณฑลแห่งหนึ่งของโลก พื้นที่ป่าของสถานีวิจัยตั้งอยู่บริเวณที่ราบสูงโคราชในเขตตำบลอุดมทรัพย์ อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา มีเนื้อที่ประมาณ 78.08 ตารางกิโลเมตร สภาพพื้นที่ประกอบด้วยป่าไม้สำคัญสองชนิด คือ ป่าเต็งรังและป่าดิบแล้ง ในฤดูหนาวอากาศหนาวเย็นแต่ความชื้นในอากาศมีน้อย ส่วนในฤดูร้อนอากาศร้อนและมีความชื้นในอากาศสูง พื้นที่ป่าสะแกราชเปรียบเสมือนพิพิธภัณฑ์ธรรมชาติสำหรับให้ประชาชนผู้สนใจและนักวิจัยได้เข้าไปศึกษาหาความรู้ และเป็นสถานที่พักผ่อนทางธรรมชาติที่สำคัญของประเทศ (Yongyut & Prateep, 2010)

ปัจจุบันได้มีการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของพรรณไม้และอนุกรมวิธานในพื้นที่ป่าสะแกราชอย่างกว้างขวาง ทั้งพืชดอก (Sandrine *et al*., 1998; Koichi, *et al*. 2002; Boonsanong *et al*., 2004) และพืชกลุ่มเฟิร์น (Smitinand *et al*., 1974; Boonkerd, 1980) ส่วนข้อมูลทางชีววิทยาด้านอื่นยังมีจำกัด โดยเฉพาะการศึกษาด้านกายวิภาคศาสตร์ พบว่ายังไม่มีการศึกษาในพื้นที่นี้อย่างจริงจัง จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติม เนื่องจากลักษณะดังกล่าวมีความสำคัญต่อการศึกษาด้านอนุกรมวิธานทั้งการจัดจำแนกและการระบุชนิด (Metcalfe & Chalk, 1957; Stace, 1980)

การศึกษากายวิภาคศาสตร์ของพืชกลุ่มเฟิร์นในประเทศไทย ส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในระดับสกุล เช่น Kortnon (2002) พบลักษณะกายวิภาคศาสตร์ที่สามารถนำมาใช้ในการระบุชนิดของเฟิร์นสกุล *Pyrrosia* คือ การมีหรือไม่มีรูหยาดน้ำ (hydathode) ชนิดของขน (trichome) ชนิดและระดับของปากใบ (stoma) รูปร่างและผนังเซลล์ในเนื้อเยื่อชั้นผิว (epidermal cell) การมีหรือไม่มีเนื้อเยื่อชั้นรองจากผิว (hypodermis) การมีเซลล์เส้นใย (fiber cell) ในเส้นกลางใบและขอบใบ การเรียงตัวของมีโซฟิลล์ รูปร่างของก้านใบในภาคตัดขวาง การกระจายของเซลล์สเกลอรีด (sclereid cell) และการมีหรือไม่มีเซลล์เส้นใยในคอร์เทกซ์ของเหง้า (rhizome) ส่วน Chaiyapo (2003) พบว่าเฟิร์นสกุล *Thellypteris* มีลักษณะทางกายวิภาคร่วมกันคือ เซลล์ในเนื้อเยื่อชั้นผิวมีผนังเซลล์เป็นคลื่น มีปากใบเฉพาะที่ผิวใบด้านล่าง เหง้ามีสตีล (stele) แบบดิกทิโอสตีล (dictyostele) และ Pongkai (2011) พบลักษณะที่มีความสำคัญต่ออนุกรมวิธานในสกุล *Diplazium* คือ สัณฐานวิทยาของเกล็ดและรูปร่างของมัดท่อลำเลียงที่ก้านใบตอนบน นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการปรับตัวเพื่อตอบสนองต่อสภาพแห้งแล้งในช่วงฤดูแล้งของเฟิร์นในเขาหินปูนและเฟิร์นชนิดเดียวกันในพื้นที่อื่นที่มีความชื้นตลอดปี (Niyomdee & Boonkerd, 2013) พบว่าลักษณะของพืชบางชนิดมีขนาดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่น ความหนาของแผ่นใบ ความหนาของผิวเคลือบคิวทินรวมกับผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อชั้นผิว และความยาวของชั้นแพลิเซด และการศึกษาของ Nopun *et al*. (2016) พบว่าลักษณะกายวิภาคศาสตร์เหง้าของเฟิร์นมีความสัมพันธ์สอดคล้องกับการจัดจำแนกทางวิวัฒนาการชาติพันธุ์ในปัจจุบันด้วย ซึ่งจากข้อมูลการศึกษาลักษณะกายวิภาคศาสตร์ของเฟิร์นดังกล่าว สามารถนำไปใช้ในการระบุชนิดพืชได้และมีความสำคัญทางด้านอนุกรมวิธานของพืชกลุ่มเฟิร์น แต่อย่างไรก็ตาม ยังไม่พบรายงานการศึกษากายวิภาคศาสตร์ของเฟิร์นที่มีการกระจายพันธุ์ในสถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษากายวิภาคศาสตร์แผ่นใบของเฟิร์นบริเวณน้ำตกถ้ำจงอาง สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา เนื่องจากเป็นพื้นที่ที่มีความหลากหลายของพืชกลุ่มเฟิร์นค่อนข้างสูง แต่ยังไม่มีข้อมูลการศึกษาทางด้านกายวิภาคศาสตร์ของพืชกลุ่มนี้ รวมถึงมีพืชหลายชนิดที่มีลักษณะสัณฐานวิทยาที่คล้ายคลึงกันมากจนไม่สามารถระบุชนิดพืชโดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวได้ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลักษณะกายวิภาคศาสตร์เพื่อนำมาพิจารณาประกอบร่วมกับการศึกษาทางด้านสัณฐานวิทยา สำหรับช่วยในการระบุชนิดและการจัดจำแนกทางอนุกรมวิธานพืชและซิสเทมาติคส์ ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ยังเป็นการเพิ่มฐานข้อมูลด้านกายวิภาคศาสตร์ของพืชในประเทศไทย และเพื่อเป็นแนวทางในการต่อยอดองค์ความรู้กับการศึกษาทางด้านอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องได้อีกด้วย

วิธีดำเนินการวิจัย

1. **พื้นที่ศึกษา** บริเวณน้ำตกถ้ำจงอาง สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช ตำบลอุดมทรัพย์ อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา อยู่ระหว่างเส้นรุ้งที่ 14°25'-14°33' เหนือ และระหว่างเส้นแวงที่ 100°48'-100°56' ตะวันออก มีความสูงจากระดับน้ำทะเล 280-762 เมตร อุณหภูมิเฉลี่ยตลอดปีประมาณ 26 องศาเซลเซียส และมีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ย 1,260 มิลลิเมตรต่อปี (Yongyut & Prateep, 2010, 2011) สภาพพื้นที่น้ำตกเป็นก้อนหินและตะเพิกหิน บางบริเวณเป็นลานหินโล่ง สภาพป่าโดยรอบเป็นป่าดิบแล้ง มีต้นไม้และเถาวัลย์ขึ้นกระจายโดยรอบ

2. **ขั้นตอนการศึกษา** ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง สำรวจและเก็บตัวอย่างพืชในพื้นที่ศึกษา โดยเก็บตัวอย่างพืชเพื่อใช้ในการศึกษาสองส่วน คือ ส่วนหนึ่งเพื่อจัดทำเป็นตัวอย่างพรรณไม้แห้งอ้างอิงและสำหรับการระบุชนิด ซึ่งการศึกษาครั้งนี้อ้างอิงการจัดจำแนกและชื่อวิทยาศาสตร์ตาม Smith *et al.* (2006), Christenhusz *et al*. (2011) และ Christenhusz & Chase (2014) ตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงเก็บรักษาไว้ที่ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ สำหรับตัวอย่างพืชอีกส่วนหนึ่ง นำมาศึกษาลักษณะกายวิภาคศาสตร์ โดยเลือกใบที่เติบโตเต็มที่และมีสภาพสมบูรณ์มาเก็บรักษาสภาพเซลล์ไว้ในเอทานอล ความเข้มข้น 70% หลังจากนั้นนำตัวอย่างที่ผ่านการรักษาสภาพเซลล์ไว้อย่างน้อย 24 ชั่วโมง มาศึกษาลักษณะกายวิภาคศาสตร์ดังนี้

2.1 **การลอกผิวและการทำให้แผ่นใบใส** ตัดแบ่งตัวอย่างแผ่นใบออกเป็น 3 ส่วน คือ 1) บริเวณขอบใบ 2) บริเวณเส้นกลางใบ และ 3) บริเวณที่อยู่ระหว่างขอบใบและเส้นกลางใบ ลอกผิวด้านที่ไม่ต้องการศึกษาออกด้วยใบมีดโกน ส่วนตัวอย่างที่ไม่สามารถลอกผิวได้จะนำมาศึกษาด้วยเทคนิคการทำให้แผ่นใบใส โดยนำมาแช่ในสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ความเข้มข้น 5% นาน 15-20 นาที จนชิ้นตัวอย่างใส แล้วย้ายไปแช่ในสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรด์ (NaClO) ความเข้มข้น 5% ใช้เวลา 15-20 นาที แล้วล้างสารละลายออกจากชิ้นตัวอย่างด้วยน้ำกลั่น 4-5 ครั้ง จากนั้นย้อมด้วยสีซาฟรานิน (safranin) ความเข้มข้น 1% ที่ละลายในน้ำ เวลาที่ใช้ในการย้อมสีขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ล้างสีส่วนเกินออกด้วยน้ำ แล้วดึงน้ำออกจากชิ้นตัวอย่าง (dehydration) โดยแช่ในสารละลายเอทานอลที่มีความเข้มข้น 30%, 50%, 70%, 95%, 100% และเอทานอลความเข้มข้น 100% ผสมกับไซลีน (xylene) อัตราส่วน 1:1 ทำชิ้นตัวอย่างให้ใสโดยแช่ในไซลีนบริสุทธิ์ นาน 10 นาที และผนึกสไลด์ด้วย DePeX ศึกษาลักษณะกายวิภาคศาสตร์จากสไลด์ถาวรที่เตรียมได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง บรรยายลักษณะกายวิภาคศาสตร์และบันทึกภาพด้วยกล้อง Olympus รุ่น DP 12 และ LEICA MC170HD

2.2 **การตัดตามขวางแผ่นใบโดยกรรมวิธีพาราฟิน** ใช้ใบมีดโกนตัดแบ่งแผ่นใบพืชตัวอย่างตามขวาง แล้วดึงน้ำออกจากชิ้นตัวอย่างด้วยสารละลาย Tertiary Butyl Alcohol (TBA) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ จากระดับ 1 ถึง ระดับ 5 และ TBA บริสุทธิ์ ตามลำดับ ขั้นตอนละ 24 ชั่วโมง แล้วนำพาราฟินเข้าสู่เซลล์ของตัวอย่าง (infiltration) โดยแช่ในสารละลายที่เป็นส่วนผสมของพาราฟินออยล์ (paraffin oil) และ TBA บริสุทธิ์ ในอัตราส่วน 1:1 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำชิ้นตัวอย่างไปแช่ในพาราฟินบริสุทธิ์ (pure paraffin) ที่หลอมเหลว แล้วนำไปไว้ในตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เปลี่ยนพาราฟินและฝังชิ้นตัวอย่างลงในพาราฟินบริสุทธิ์ แล้วนำไปตัดด้วยเครื่องไมโครโทมแบบเลื่อน (sliding microtome) จากนั้นจึงยึดริบบอนลงบนสไลด์ด้วยเจลาทิน (gelatin) และทำให้แห้งโดยใช้เครื่องอุ่นสไลด์ นำสไลด์ที่ได้ไปเตรียมย้อมสี (prestaining) โดยล้างพาราฟินออกจากชิ้นตัวอย่าง ด้วยการแช่ไว้ในไซลีน เป็นเวลา 10 นาที และย้ายไปแช่ในไซลีนผสมกับเอทานอลความเข้มข้น 100% ในอัตราส่วน 1:1 หลังจากนั้นแช่ในเอทานอลความเข้มข้น 100%, 95% และ 70% ตามลำดับ ขั้นตอนละประมาณ 10

นาที นำสไลด์ไปย้อมด้วยสีซาฟรานิน ความเข้มข้น 1% ที่ละลายในเอทานอลความเข้มข้น 70% ทั้งนี้เวลาที่ใช้ในการย้อมสีขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ล้างสีส่วนเกินออกด้วยเอทานอลความเข้มข้น 70% จากนั้นดึงน้ำออกด้วยเอทานอลความเข้มข้น 70% และ 95% ขั้นตอนละประมาณ 10 นาที จึงย้อมตัวอย่างด้วยสีฟาสต์กรีน (fast green) ความเข้มข้น 1% ที่ละลายในเอทานอลความเข้มข้น 95% ทั้งนี้เวลาที่ใช้ในการย้อมสีขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ล้างสีส่วนเกินออกด้วยสารละลายที่เป็นส่วนผสมของน้ำมันกานพลู (clove oil) เอทานอลความเข้มข้น 100% และไซลีน ในอัตราส่วน 25:50:25 หลังจากนั้นนำไปแช่ในสารละลายที่มีส่วนผสมของเอทานอลความเข้มข้น 100% กับไซลีน ในอัตราส่วน 1:1 เป็นเวลา 10 นาที และแช่ในไซลีนบริสุทธิ์ เป็นเวลา 10 นาที (Johansen, 1940) ผนึกสไลด์ด้วย DePeX ศึกษาลักษณะกายวิภาคศาสตร์ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงเช่นเดียวกันกับการลอกผิวและเทคนิคการทำให้แผ่นใบใส

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

ผลการศึกษาลักษณะกายวิภาคศาสตร์แผ่นใบของเฟิร์น จำนวน 18 ชนิด แสดงดังภาพที่ 1-3 ซึ่งมีลักษณะทั่วไปดังนี้

1. **เนื้อเยื่อชั้นผิวใบ** (ภาพที่ 1 และ 2)

1.1 รูปร่างและผนังเซลล์ จากการลอกผิว รูปร่างของเซลล์ในเนื้อเยื่อชั้นผิวของพืชที่ศึกษาคล้ายกันทั้งสองด้าน ส่วนใหญ่มีรูปร่างคล้ายจิกซอว์ ยกเว้น *Crepidomanes bipunctatum* ที่เซลล์ในเนื้อเยื่อชั้นผิวมีรูปร่างหลายเหลี่ยม ผนังเซลล์ด้านตั้งฉากกับผิวใบคล้ายกันทั้งสองด้าน ซึ่งมีรูปแบบดังนี้

1) เรียบ ได้แก่ *Adiantum caudatum*, *Asplenium laciniatum*, *As. nidus*, *Microsorum punctatum*, *Pteris cretica* และ *Pyrrosia piloselloides*

2) เรียบและโค้งเล็กน้อย ได้แก่ *C. bipunctatum*, *Drynaria bonii*, *M. pteropus*, *Nephrolepis falciformis*, *Phymatosorus membranifolius* และ *Tectaria zeilanica*

3) ค่อนข้างขรุขระ ได้แก่ *Cyclosorus parasiticus*, *Doryopteris ludens* และ *Pt. ensiformis*

4) โค้งเว้า ได้แก่ *Bolbitis copelandii*, *Cyclopeltis crenata* และ *T. impressa*

ส่วนจากภาคตัดตามขวาง เซลล์ส่วนใหญ่มีรูปร่างสี่เหลี่ยมผืนผ้า บางชนิดมีรูปร่างไม่แน่นอน ได้แก่ *A. caudatum*, *Pt. ensiformis*, *T. impressa* และ *T. zeilanica* และเซลล์รูปร่างกลม ได้แก่ *As. laciniatum*, *M. pteropus*, *N. falciformis* และ *P. membranifolius* จำนวนชั้นของเนื้อเยื่อชั้นผิวมี 1 ชั้น ยกเว้น *As. nidus* และ *M. punctatum* ที่มีสองชั้น

1.2 ปากใบ พืชที่ศึกษาทุกชนิดมีปากใบ ยกเว้น *C. bipunctatum* ที่ไม่พบปากใบในเนื้อเยื่อชั้นผิว ปากใบที่พบอยู่ในระดับเดียวกับเนื้อเยื่อชั้นผิว (typical stomata) พืชส่วนใหญ่พบปากใบเฉพาะบริเวณเนื้อเยื่อชั้นผิวด้านล่าง ยกเว้นใน *Py. piloselloides* ที่มีปากใบทั้งเนื้อเยื่อชั้นผิวด้านบนและด้านล่าง ค่าดัชนีของปากใบ (stomatal index) สูงสุด พบใน *M. punctatum* มีค่า 28.57 ส่วนในพืช *As. nidus* มีค่าดัชนีปากใบน้อยที่สุด คือ 9.45 โดยรูปแบบของปากใบที่พบมีดังนี้

1) แบบพาราไซติก (paracytic stomata) ได้แก่ *As. laciniatum*, *As. nidus*, *B. copelandii*, *Cy. crenata*, *Cyc. parasiticus*, *Dr. bonii*, *M. pteropus*, *M. punctatum*, *P. membranifolius*, *Pt. ensiformis*, *T. impressa* และ *T. zeilanica*

2) แบบเพอริไซติก (pericytic stomata) ได้แก่ *Py. piloselloides*

3) แบบไดอะไซติก (diacytic stomata) ได้แก่ *M. punctatum*, *N. falciformis* และ *P. membranifolius*

4) แบบแอนไอโซไซติก (anisocytic stomata) ได้แก่ *D. ludens*, *N. falciformis* และ *P. membranifolius*

5) แบบแอนอโมไซติก (anomocytic stomata) ได้แก่ *A. caudatum*, *As. laciniatum*, *Cy. crenata*, *Dr. bonii* และ *Pt. ensiformis*

1.3 **ขน** เฟิร์นส่วนใหญ่ไม่มีขน ยกเว้นในพืช *A. caudatum*, *Cyc. parasiticus*, *M. pteropus*, *T. impressa*, และ *T. zeilanica* ที่มีขนในเนื้อเยื่อชั้นผิวใบ สามารถแบ่งกลุ่มพืช โดยใช้ชนิดของขนที่พบเป็นเกณฑ์ ได้ดังนี้

1) ขนเซลล์เดียว (unicellular trichome) ได้แก่ *Cyc. parasiticus*

2) ขนหลายเซลล์ (multicellular trichome) ได้แก่ *A. caudatum*, *M. pteropus*, *T. impressa* และ *T. zeilanica*

1.4 **ช่องสารหลั่ง** (secretory cavity) เฟิร์นที่ศึกษาส่วนใหญ่ไม่มีช่องสารหลั่ง ยกเว้นใน *M. punctatum* ที่มีช่องสารหลั่งอยู่ในเนื้อเยื่อชั้นผิว

2. **มีโซฟิลล์** (ภาพที่ 2 และ 3)

2.1 **ชั้นมีโซฟิลล์** มีพืชที่ศึกษาเพียงชนิดเดียวที่เนื้อเยื่อบริเวณแผ่นใบมีเพียงชั้นเซลล์เดียว จึงไม่มีชั้นมีโซฟิลล์ คือ *C. bipunctatum* ส่วนชนิดที่เหลือมีชั้นมีโซฟิลล์ แต่ไม่แยกเป็นชั้นแพลิเซดและสปองจี เซลล์พาเรงคิมาบริเวณระหว่างเส้นกลางใบและขอบใบของพืชส่วนใหญ่รูปร่างไม่แน่นอน ยกเว้น *As. laciniatum*, *Dr. bonii*, *M. pteropus* และ *P. membranifolius* ที่มีรูปร่างกลม จำนวนเซลล์ในชั้นมีโซฟิลล์ของพืชส่วนใหญ่มี 3-5 ชั้น ได้แก่ *A. caudatum*, *B. copelandii*, *C. bipunctatum*, *Cy. crenata*, *Cyc. parasiticus*, *D. ludens*, *M. pteropus*, *N. falcifomis*, *P. membranifolius*, *Pt. cretica*, *Pt. ensiformis* และ *T. impressa* แต่มีบางชนิดที่มี 2-3 ชั้น ได้แก่ *As. laciniatum* และ *T. zeilanica* มี 5-6 ชั้น ได้แก่ *M. punctatum* และพืชที่มี 6-7 ชั้น ได้แก่ *As. nidus*, *Dr. bonii* และ *Py. piloselloides*

2.2 **โพรงอากาศ** (air space) ชั้นมีโซฟิลล์บริเวณระหว่างเส้นกลางใบและขอบใบของพืชส่วนใหญ่มีโพรงอากาศ ยกเว้น *A. caudatum*, *As. laciniatum*, *As. nidus*, *C. bipunctatum*, *Cyc. parasiticus*, *M. pteropus*, *N. falcifomis* และ *P. membranifolius* ที่ไม่มีโพรงอากาศในชั้นมีโซฟิลล์

3. **มัดท่อลำเลียง** (vascular bundle) (ภาพที่ 4)

3.1 **เส้นกลางใบ** รูปร่างของเส้นกลางใบมีลักษณะดังนี้

1) โค้งทั้งด้านบนและด้านล่าง ได้แก่ *As. laciniatum*, *As. nidus*, *B. copelandii*, *C. bipunctatum*, *M. pteropus*, *P. membranifolius*, *Pt. cretica*, *Pt. ensiformis* และ *T. impressa*

2) ตรงทั้งด้านบนและด้านล่าง ได้แก่ *N. falciformis* และ *Py. piloselloides*

3) ด้านบนตรง ด้านล่างโค้ง ได้แก่ *A. caudatum*, *Cy. crenata*, *Dr. bonii*, *M. punctatum* และ *T. zeilanica*

4) ด้านบนรูปตัววี ด้านล่างโค้ง ได้แก่ *D. ludens*

5) ด้านบนรูปหัวใจ ด้านล่างโค้ง ได้แก่ *Cyc. parasiticus*

3.2 **จำนวนและรูปแบบของมัดท่อลำเลียง** พืชส่วนใหญ่มีมัดท่อลำเลียงที่เส้นกลางใบจำนวน 1 มัด ยกเว้น *B. copelandii*, *M. punctatum* และ *P. membranifolius* ที่มีมัดท่อลำเลียงที่เส้นกลางใบจำนวน 2 มัด และ *As. nidus* และ

T. zeilanica มีมัดท่อลำเลียงที่เส้นกลางใบจำนวน 3 มัด ส่วนรูปร่างของมัดท่อลำเลียงเป็นแบบโฟลเอ็มล้อมรอบไซเล็ม (amphicribal bundle) สามารถจำแนกตามรูปร่างได้เป็น 4 กลุ่ม ดังนี้

1) มัดท่อลำเลียงรูปร่างกลม ได้แก่ *A. caudatum*, *B. copelandii*, *C. bipunctatum*, *Cy. crenata*, *D. ludens*, *Dr. bonii*, *M. pteropus*, *N. falciformis*, *P. membranifolius*, *Py. piloselloides* และ *T. impressa*

2) มัดท่อลำเลียงรูปสามเหลี่ยม ได้แก่ *M. punctatum* และ *Pt. cretica*

3) มัดท่อลำเลียงรูปรี ได้แก่ *As. laciniatum*, *Cyc. parasiticus*, *Pt. ensiformis* และ *T. zeilanica*

4) มัดท่อลำเลียงรูปกากบาท ได้แก่ *As. nidus*

4. **สารสะสม** (inclusion) (ภาพที่ 3)

พืชทุกชนิดที่ศึกษามีสารสะสม ยกเว้นใน *Pt. ensiformis* ส่วนใหญ่เป็นสารสะสมเม็ดสารสีแดงที่เกิดจากการย้อมสี มีบางชนิดที่มีสารสะสมเป็นแทนนิน ได้แก่ *As. nidus*, *B. copelandii*, *Cy. crenata*, *D. ludens* และ *M. punctatum* ซึ่งทดสอบโดยใช้สารละลายเฟอร์ริคคลอไรด์ ($FeCl_3$) ส่วน *Dr. bonii* และ *P. membranifolius* มีทั้งสารสะสมเม็ดสารสีแดงและแทนนิน

สามารถนำลักษณะกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อชั้นผิวและภาคตัดขวางของแผ่นใบมาใช้ในการสร้างรูปวิธานระบุชนิดของพืชที่ศึกษาได้ดังนี้

รูปวิธาน

1. เซลล์ในเนื้อเยื่อชั้นผิวมีรูปร่างหลายเหลี่ยม เนื้อเยื่อบริเวณระหว่างเส้นกลางใบและขอบใบในภาคตัดขวางมี 1 ชั้นเซลล์ *Crepidomanes bipunctatum* (Poir.) Copel.

1. เซลล์ในเนื้อเยื่อชั้นผิวมีรูปร่างคล้ายจิกซอว์ เนื้อเยื่อบริเวณระหว่างเส้นกลางใบและขอบใบในภาคตัดขวางมีมากกว่า 1 ชั้นเซลล์ 2

2. มัดท่อลำเลียงบริเวณเส้นกลางใบมี 1 มัด 3

2. มัดท่อลำเลียงบริเวณเส้นกลางใบมี 2-3 มัด 14

3. รูปร่างเส้นกลางใบด้านล่างตรง 4

3. รูปร่างเส้นกลางใบด้านล่างโค้ง 5

4. มีปากใบเฉพาะในเนื้อเยื่อชั้นผิวด้านล่าง ปากใบเป็นแบบไดอะไซติกและแอนไอโซไซติก *Nephrolepis falciformis* J.Sm.

4. มีปากใบในเนื้อเยื่อชั้นผิวทั้งสองด้าน ปากใบเป็นแบบเพอริไซติก *Pyrrosia piloselloides* (L.) M.G.Price

5. มีขนที่เนื้อเยื่อชั้นผิว 6

5. ไม่มีขนที่เนื้อเยื่อชั้นผิว 9

6. ขนเป็นแบบขนเซลล์เดียว *Cyclosorus parasiticus* (L.) Farw.

6. ขนเป็นแบบขนหลายเซลล์ 7

7. ปากใบแบบแอนอโมไซติก *Adiantum caudatum* L.

7. ปากใบแบบพาราไซติก 8

8. มีโพรงอากาศในชั้นมีโซฟิลล์บริเวณระหว่างเส้นกลางใบและขอบใบ *Tectaria impressa* (Fée) Holttum
8. ไม่มีโพรงอากาศในชั้นมีโซฟิลล์บริเวณระหว่างเส้นกลางใบและขอบใบ *Microsorum pteropus* (Blume) Copel.
9. มัดท่อลำเลียงบริเวณเส้นกลางใบรูปร่างสามเหลี่ยม *Pteris cretica* L.
9. มัดท่อลำเลียงบริเวณเส้นกลางใบไม่เป็นรูปร่างสามเหลี่ยม 10
10. มัดท่อลำเลียงบริเวณเส้นกลางใบรูปร่างรี 11
10. มัดท่อลำเลียงบริเวณเส้นกลางใบรูปร่างกลม 12
11. มีโพรงอากาศในชั้นมีโซฟิลล์บริเวณระหว่างเส้นกลางใบและขอบใบ *Pteris ensiformis* Burm.f.
11. ไม่มีโพรงอากาศในชั้นมีโซฟิลล์บริเวณระหว่างเส้นกลางใบและขอบใบ *Asplenium laciniatum* D.Don.
12. รูปร่างของเส้นกลางใบด้านบนตรง 13
12. รูปร่างของเส้นกลางใบด้านบนรูปตัววี *Doryopteris ludens* (Wall. ex Hook.) J.Sm.
13. มีเซลล์พาเรงคิมาในชั้นมีโซฟิลล์จำนวน 4-5 ชั้น *Cyclopeltis crenata* (Fée) C.Chr.
13. มีเซลล์พาเรงคิมาในชั้นมีโซฟิลล์จำนวน 6-7 ชั้น *Drynaria bonii* Christ
14. มัดท่อลำเลียงบริเวณเส้นกลางใบมี 3 มัด 15
14. มัดท่อลำเลียงบริเวณเส้นกลางใบมี 2 มัด 16
15. มีสารสะสมแทนนิน มัดท่อลำเลียงในภาคตัดขวางบริเวณเส้นกลางใบรูปกากบาท *Asplenium nidus* L.
15. มีสารสะสมเม็ดสารสีแดง มัดท่อลำเลียงในภาคตัดขวางบริเวณเส้นกลางใบรูปกลมรี *Tectaria zeilanica* (Houtt.) Sledge
16. เซลล์ในเนื้อเยื่อชั้นผิวในแนวภาคตัดขวางมี 2 ชั้น และมีช่องสารหลั่ง *Microsorum punctatum* (L.) Copel.
16. เซลล์ในเนื้อเยื่อชั้นผิวในแนวภาคตัดขวางมี 1 ชั้น ไม่มีช่องสารหลั่ง 17
17. พาเรงคิมาในชั้นมีโซฟิลล์บริเวณระหว่างเส้นกลางใบและขอบใบรูปร่างไม่แน่นอน และมีโพรงอากาศ *Bolbitis copelandii* Ching ex C.Chr. & Tardieu
17. พาเรงคิมาในชั้นมีโซฟิลล์บริเวณระหว่างเส้นกลางใบและขอบใบรูปร่างกลม และไม่มีโพรงอากาศ *Phymatosorus membranifolius* (R.Br.) S.G.Lu

จากผลการศึกษาพบลักษณะกายวิภาคศาสตร์ของใบที่สำคัญ สามารถนำมาใช้ในการระบุชนิดของพืชที่ศึกษาได้ โดยลักษณะที่นำมาสร้างเป็นรูปวิธาน ได้แก่ รูปร่างและจำนวนชั้นของเซลล์ในเนื้อเยื่อชั้นผิว จำนวนและรูปร่างของมัดท่อลำเลียง รูปร่างของเส้นกลางใบ ตำแหน่งที่พบและรูปแบบของปากใบ โพรงอากาศในชั้นมีโซฟิลล์ รูปร่างของเซลล์และจำนวนชั้นพาเรงคิมาในมีโซฟิลล์ สารสะสม และช่องสารหลั่ง ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Kortnon (2002) และ Pongkai (2011) ที่นำลักษณะของปากใบ รูปร่างของเซลล์ และมัดท่อลำเลียงไปใช้ในการระบุชนิดของเฟิร์น อย่างไรก็ตามมีบางลักษณะที่นำมาใช้ในการระบุชนิดที่แตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากตัวอย่างที่ใช้สำหรับการศึกษาต่างชนิดกันทำให้ลักษณะที่ได้จากการศึกษาอาจมีความแตกต่างกันไปด้วย ดังนั้นลักษณะที่นำมาใช้ในการระบุชนิดพืชแต่ละชนิดจึงขึ้นกับชนิดพืชและลักษณะที่ได้จากการศึกษาด้วย ซึ่งการเลือกลักษณะที่นำมาใช้ในการสร้างรูปวิธานผู้วิจัยต้องพิจารณาลักษณะที่มีความคงที่และต้องเป็น

ลักษณะที่ไม่มีความผันแปรตามสภาพแวดล้อม เมื่อพิจารณาการจัดจำแนกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเป็นหลัก ในการศึกษาของ Smith *et al*. (2006), Christenhusz *et al*. (2011) และ Christenhusz and Chase (2014) สามารถจำแนกพืชที่ศึกษาตามวงศ์ และสรุปลักษณะกายวิภาคศาสตร์ร่วมกันได้ดังนี้

(1) วงศ์ Polypodiaceae ได้แก่ *Dr. bonii*, *M. punctatum*, *M. pteropus*, *P. membranifolius* และ *Py. piloselloides* มีลักษณะร่วมกันคือ เซลล์ในเนื้อเยื่อชั้นผิวรูปร่างคล้ายจิกซอว์ทั้งสองด้าน มีปากใบแบบพาราไซติกอยู่ระดับเดียวกับเนื้อเยื่อชั้นผิว จำนวนปากใบหนาแน่นที่สุดบริเวณระหว่างขอบใบและเส้นกลางใบ ปลายขอบใบกลมมน และมีผิวเคลือบคิวทินไม่ชัดเจน ส่วนลักษณะเฉพาะที่สามารถใช้ในการระบุชนิดของพืชที่เป็นสมาชิกวงศ์นี้คือ การมีช่องสารหลั่งและจำนวนเซลล์ในเนื้อเยื่อชั้นผิวมี 2 ชั้น ใน *M. punctatum* การมีปากใบแบบแอนอโมไซติกใน *Dr. bonii* การมีปากใบแบบเพอริไซติกและรูปร่างของเส้นกลางใบตรงทั้งสองด้านใน *Py. piloselloides* ส่วน *M. pteropus* มีจำนวนชั้นมีโซฟิลล์ประมาณ 4-5 ชั้น ส่วน *P. membranifolius* มี 3-4 ชั้น ซึ่งพืชสองชนิดหลังนี้ จะต้องนำลักษณะอื่นมาใช้ร่วมในการแยกด้วย

(2) วงศ์ Pteridaceae ได้แก่ *A. caudatum*, *D. ludens*, *Pt. cretica* และ *Pt. ensifomis* มีลักษณะร่วมกันคือ เซลล์ในเนื้อเยื่อชั้นผิวรูปร่างคล้ายจิกซอว์ มีปากใบเฉพาะผิวใบด้านล่าง อยู่ระดับเดียวกับเนื้อเยื่อชั้นผิว ส่วนลักษณะที่สามารถใช้ในการระบุชนิดเฉพาะในพืชวงศ์นี้คือ การมีปากใบแบบแอนไอโซไซติกใน *D. ludens* มัดท่อลำเลียงเป็นรูปสามเหลี่ยมใน *Pt. cretica* และมัดท่อลำเลียงมีรูปร่างรีใน *Pt. ensifomis*

(3) วงศ์ Aspleniaceae ได้แก่ *As. laciniatum* และ *As. nidus* มีลักษณะร่วมกันคือ เซลล์ในเนื้อเยื่อชั้นผิวรูปร่างคล้ายจิกซอว์ มีปากใบแบบพาราไซติกเฉพาะผิวใบด้านล่าง ปากใบหนาแน่นที่สุดบริเวณระหว่างขอบใบและเส้นกลางใบ ผนังเซลล์ที่ตั้งฉากกับผิวใบเรียบ พืชทั้งสองชนิดสามารถแยกออกจากกันโดยใช้รูปร่างของมัดท่อลำเลียง กล่าวคือ *As. laciniatum* มีมัดท่อลำเลียงรูปร่างรี ส่วน *As. nidus* มีรูปร่างคล้ายรูปกากบาท

(4) วงศ์ Tectariaceae ได้แก่ *T. impressa* และ *T. zeilanica* มีลักษณะร่วมกันคือ มีเซลล์ในเนื้อเยื่อชั้นผิวรูปร่างคล้ายจิกซอว์ มีปากใบแบบพาราไซติกเฉพาะผิวใบด้านล่าง ปากใบอยู่ในระดับเดียวกันกับเนื้อเยื่อชั้นผิว มีปากใบหนาแน่นที่สุดบริเวณระหว่างขอบใบและเส้นกลางใบ มีขนชนิดหลายเซลล์ทั่วทั้งแผ่นใบ และผิวเคลือบคิวทินไม่ชัดเจน พืชทั้งสองชนิดแตกต่างกันคือ *T. impressa* มีมัดท่อลำเลียงที่เส้นกลางใบจำนวน 1 มัด ส่วน *T. zeilanica* มีจำนวน 3 มัด

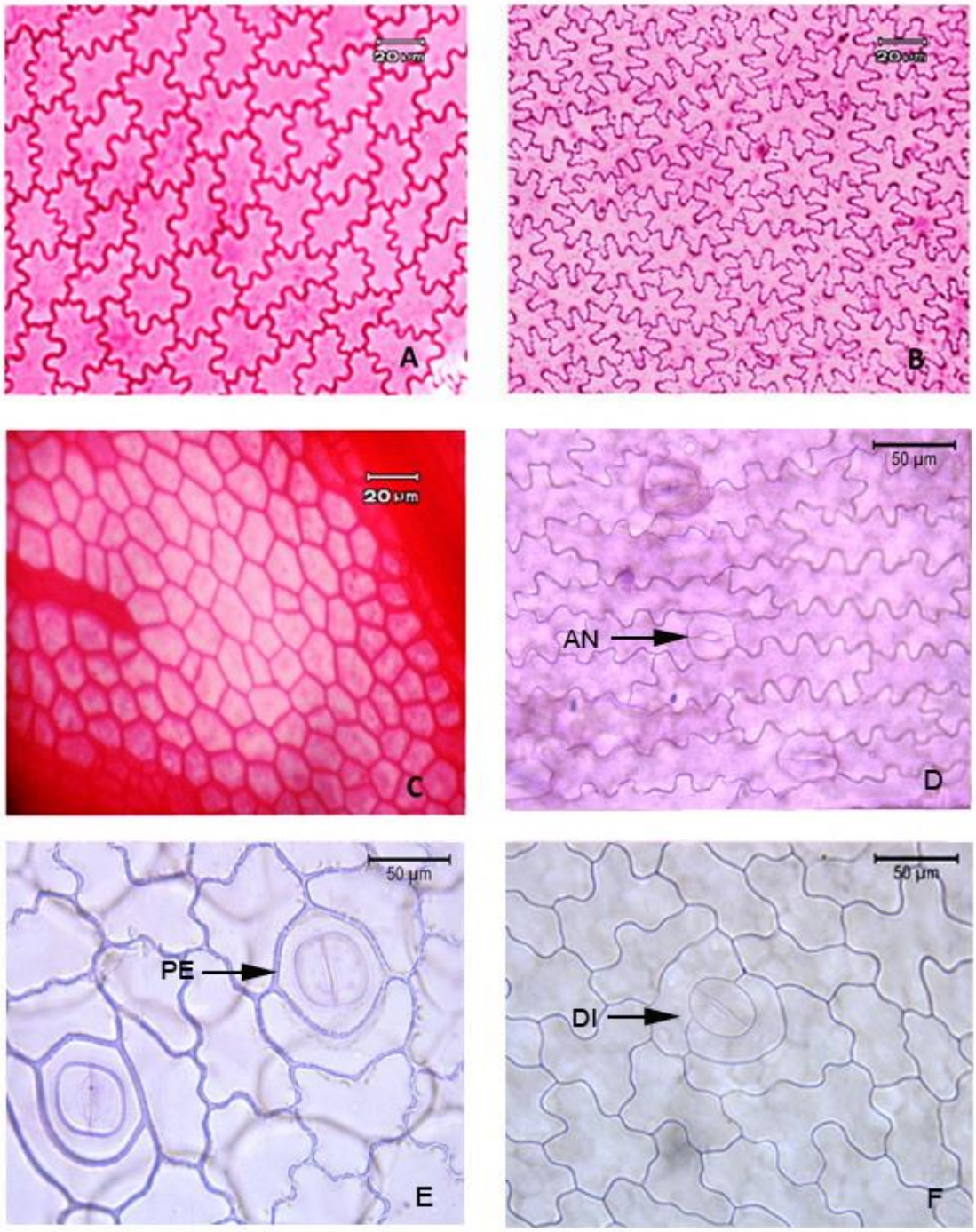
(5) วงศ์ Hymenophyllaceae ได้แก่ *C. bipunctatum* มีลักษณะที่แตกต่างจากชนิดอื่นคือ เนื้อเยื่อชั้นผิวใบในภาคตัดขวางมีเซลล์ชั้นเดียวตลอดแผ่นใบ เซลล์ในเนื้อเยื่อชั้นผิวเป็นรูปหลายเหลี่ยม และไม่พบปากใบ

(6) วงศ์ Lomariopsidaceae ได้แก่ *Cy. crenata* และ *N. falciformis* มีลักษณะร่วมกันคือ มีเซลล์ในเนื้อเยื่อชั้นผิวรูปร่างคล้ายจิกซอว์ มีปากใบเฉพาะในผิวใบด้านล่างอยู่ระดับเดียวกับเนื้อเยื่อชั้นผิว หนาแน่นที่สุดบริเวณระหว่างขอบใบและเส้นกลางใบ ไม่มีขน ผิวเคลือบคิวทินไม่ชัดเจน ลักษณะที่แตกต่างกันของพืชสองชนิดนี้คือ พบโพรงอากาศในชั้นมีโซฟิลล์เฉพาะใน *Cy. crenata*

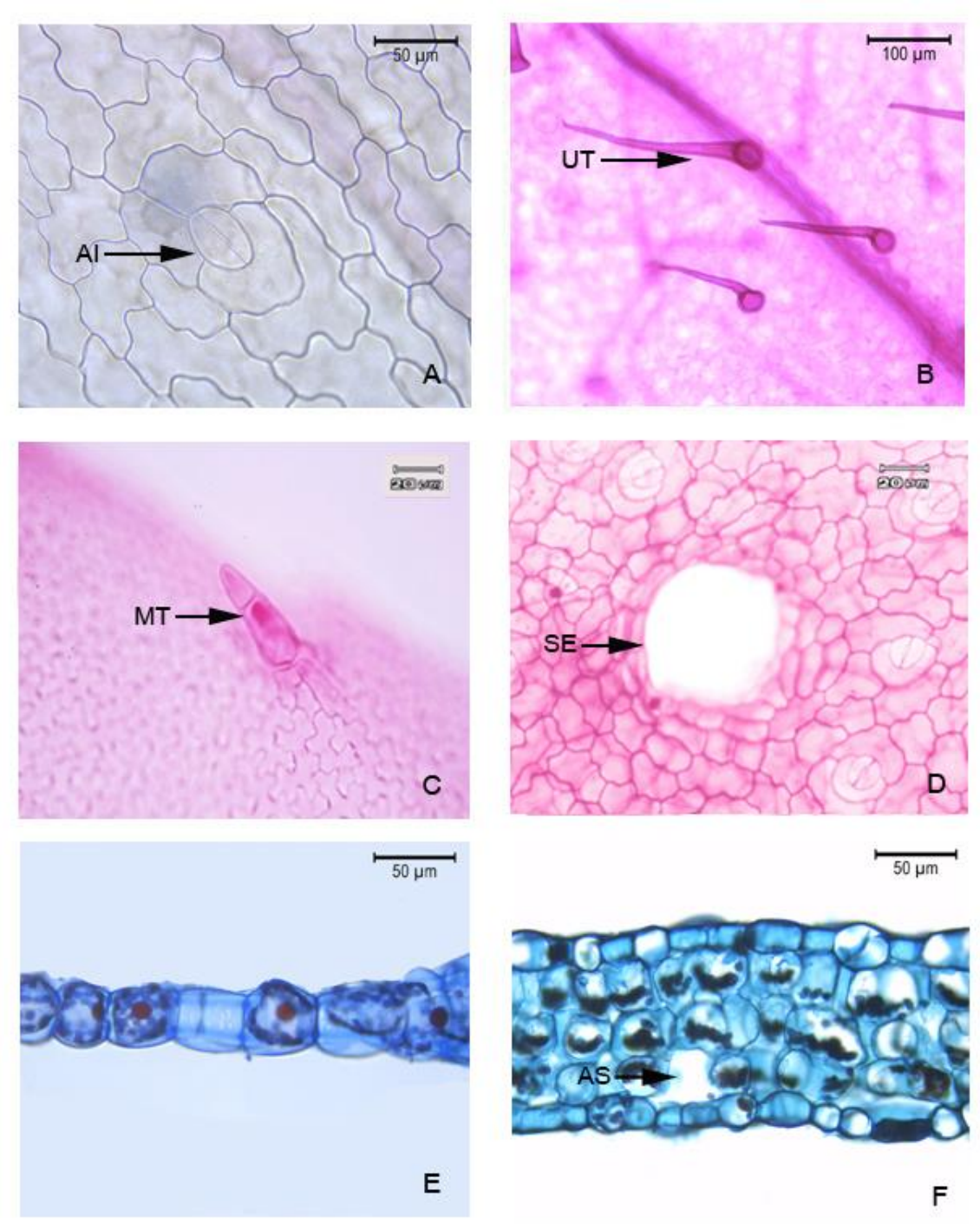
(7) วงศ์ Dryopteridaceae ได้แก่ *B. copelandii* มีลักษณะเฉพาะแตกต่างจากวงศ์อื่นคือมีผิวเคลือบคิวทินหนาเรียบตลอดทั้งแผ่นใบ

(8) วงศ์ Thelypteridaceae ได้แก่ *Cyc. parasiticus* มีลักษณะที่แตกต่างจากวงศ์อื่นคือ มีขนชนิดเซลล์เดียวทั่วทั้งแผ่นใบ มีปากใบหนาแน่นที่สุดบริเวณขอบใบ

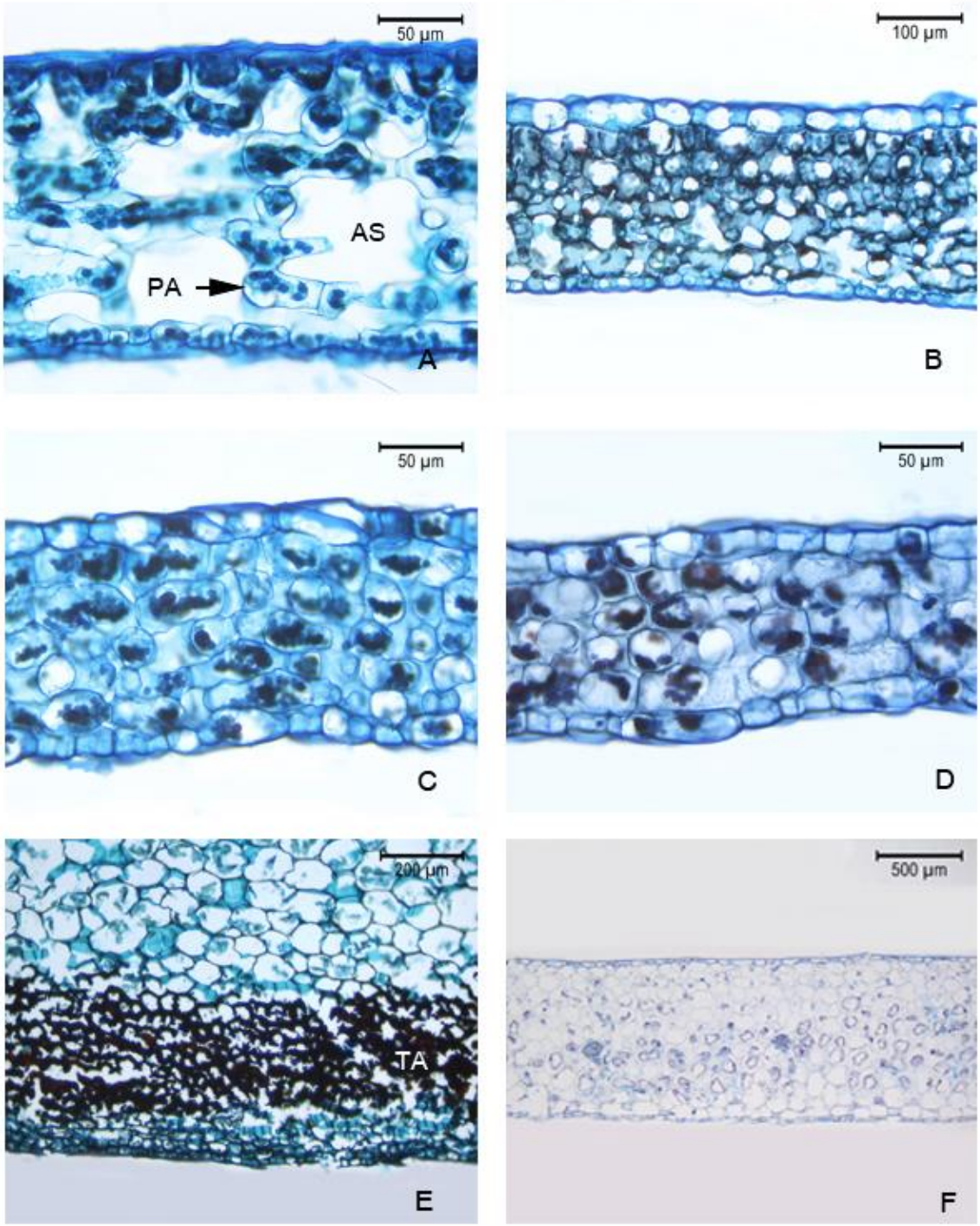
จากลักษณะกายวิภาคศาสตร์ร่วมกันของพืชแต่ละกลุ่ม เป็นเพียงข้อมูลพื้นฐาน ยังไม่สามารถนำไปใช้ในการระบุหรือจำกัดขอบเขตในระดับวงศ์ได้ เนื่องจากลักษณะเฉพาะร่วมของพืชบางวงศ์คล้ายกัน และจำนวนตัวอย่างชนิดของพืชที่ศึกษาที่เป็นตัวแทนของกลุ่มมีจำนวนน้อย บางวงศ์มีตัวอย่างเพียงชนิดเดียวเท่านั้น ดังนั้นจึงควรเพิ่มตัวอย่างของชนิดพืชในแต่ละวงศ์ให้มากขึ้น ตลอดจนศึกษาโครงสร้างอื่นประกอบร่วมด้วย เช่น เหง้า ลำต้น และก้านใบ เพื่อค้นหาลักษณะกายวิภาคที่อาจนำมาใช้ในการจัดจำแนกได้ชัดเจนยิ่งขึ้น



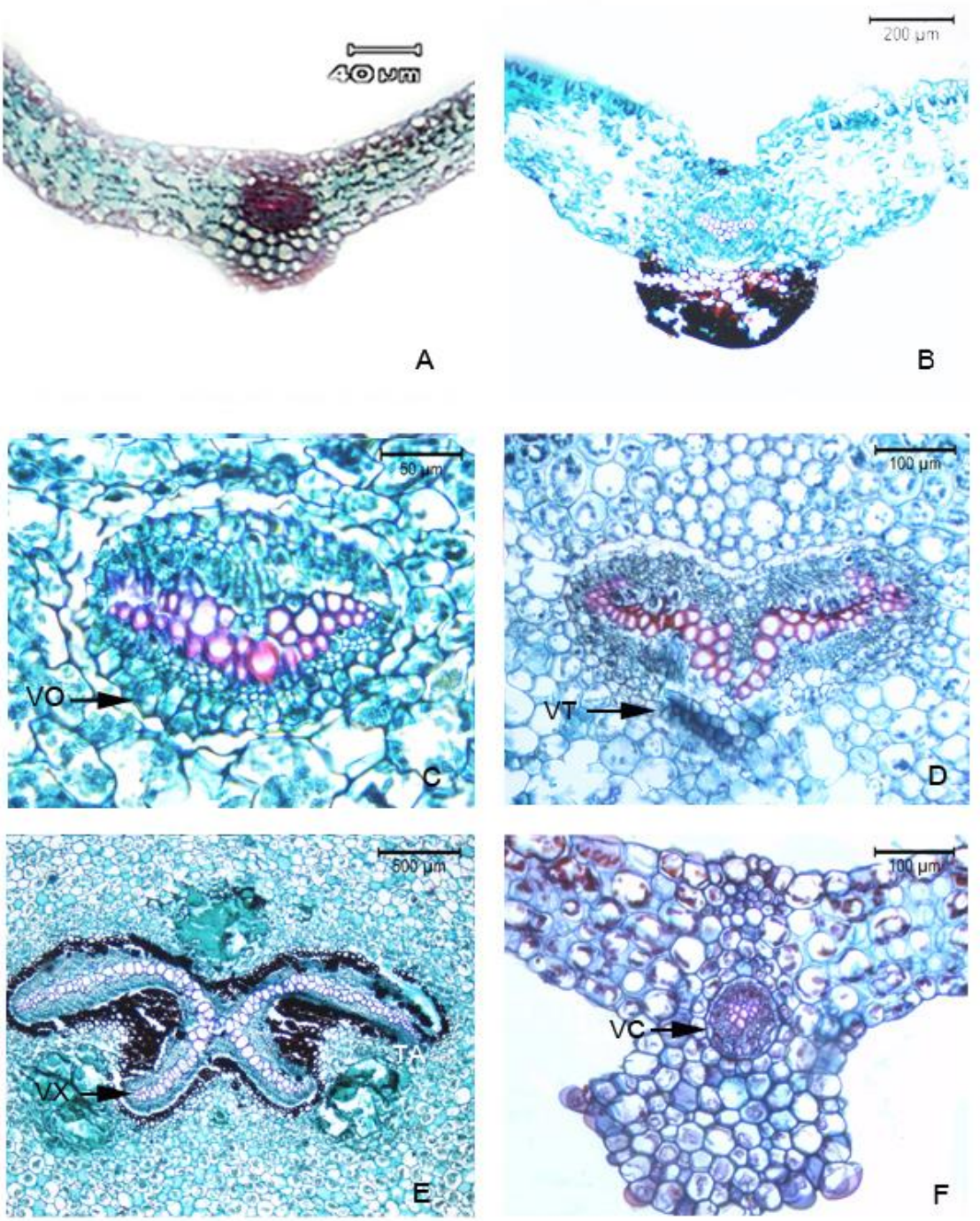
ภาพที่ 1 ลักษณะกายวิภาคศาสตร์เนื้อเยื่อชั้นผิวของพืชที่ศึกษา : (A.-B.) รูปร่างเซลล์เป็นแบบรูปจิกซอว์ (A. *Drynaria bonii* และ B. *Doryopteris ludens*) (C.) รูปร่างเซลล์เป็นรูปหลายเหลี่ยม (*Crepidomanes bipunctatum*) (D.) ปากใบแบบแอนอโมไซติก (*Adiantum caudatum*) (E.) ปากใบแบบเพอริไซติก (*Pyrrosia piloselloides*) และ (F.) ปากใบแบบไดอะไซติก (*Nephrolepis falciformis*) (AN = ปากใบแบบแอนอโมไซติก, DI = ปากใบแบบไดอะไซติก และ PE = ปากใบแบบเพอริไซติก)



ภาพที่ 2 ลักษณะกายวิภาคศาสตร์เนื้อเยื่อชั้นผิวใบและภาคตัดขวางของแผ่นใบ : (A.) ปากใบแบบแอนไอโซไซติก (*Nephrolepis falciformis*) (B.) ขนเซลล์เดียว (*Cyclosorus parasiticus*) (C.) ขนหลายเซลล์ (*Tectaria impressa*) (D.) ช่องสารหลั่ง (*Microsorum punctatum*) (E) เนื้อเยื่อบริเวณแผ่นใบมี 1 ชั้น (*Crepidomanes bipunctatum*) และ (F) โพรงอากาศในชั้นมีโซฟิลล์ (*Bolbitis copelandii*) (AI = ปากใบแบบแอนไอโซไซติก, AS = โพรงอากาศ, MT = ขนแบบขนหลายเซลล์, SE = ช่องสารหลั่ง และ UT = ขนแบบขนเซลล์เดียว)



ภาพที่ 3 ภาคตัดขวางบริเวณแผ่นใบ : (A.-B.) จำนวนชั้นเซลล์พาเรงคิมาบริเวณมีโซฟิลล์ (A. *Cyclopeltis crenata* และ B. *Drynaria bonii*) (C.-D.) รูปร่างของเซลล์พาเรงคิมาในชั้นมีโซฟิลล์ (C. *Bolbitis copelandii* และ D. *Phymatosorus membranifolius*) (E) สารสะสมแทนนิน (*Asplenium nidus*) และ (F) ชั้นมีโซฟิลล์ไม่มีช่องสารหลั่ง (*Microsorum punctatum*) (AS = โพรงอากาศ, PA = เซลล์พาเรงคิมาในชั้นมีโซฟิลล์ และ TA = สารสะสมแทนนิน)



ภาพที่ 4 ภาคตัดขวางบริเวณแผ่นใบและรูปร่างของมัดท่อลำเลียง: (A.-B.) ภาคตัดขวางของเส้นกลางใบ (A. *Tectaria impressa* และ B. *Doryopteris ludens*) (C) มัดท่อลำเลียงรูปรี (*Pteris ensiformis*) (D) มัดท่อลำเลียงรูปสามเหลี่ยม (*Pteris cretica*) (E) มัดท่อลำเลียงรูปกากบาท (*Asplenium nidus*) และ (F) มัดท่อลำเลียงรูปกลม (*Microsorum pteropus*) (TA = สารสะสมแทนนิน, VC = มัดท่อลำเลียงรูปกลม, VO = มัดท่อลำเลียงรูปรี, VT = มัดท่อลำเลียงรูปสามเหลี่ยม และ VX = มัดท่อลำเลียงรูปกากบาท)

สรุปผลการวิจัย

ลักษณะกายวิภาคศาสตร์แผ่นใบของเฟิร์นที่ศึกษาบริเวณน้ำตกถ้ำจงอาง สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช มีลักษณะทั่วไปคือ รูปร่างของเซลล์ในเนื้อเยื่อชั้นผิวจากการลอกผิวคล้ายกันทั้งสองด้าน เซลล์มีรูปร่างคล้ายจิกซอว์ หรือรูปร่างหลายเหลี่ยม ผนังเซลล์ด้านตั้งฉากกับผิวใบคล้ายกันทั้งสองด้าน ซึ่งมีรูปแบบเรียบ เรียบและโค้งเล็กน้อย ค่อนข้างขรุขระ หรือโค้งเว้า ส่วนภาคตัดตามขวาง เซลล์ส่วนใหญ่มีรูปร่างสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปร่างไม่แน่นอน หรือรูปร่างกลม จำนวนชั้นของเนื้อเยื่อชั้นผิวมี 1-2 ชั้น ปากใบที่พบอยู่ในระดับเดียวกับเนื้อเยื่อชั้นผิว ส่วนใหญ่พบเฉพาะบริเวณเนื้อเยื่อชั้นผิวด้านล่าง มีค่าดัชนีของปากใบ 9.45-28.57 รูปแบบของปากใบเป็นแบบพาราไซติก เพอริไซติก ไดอะไซติก แอนไอโซไซติก และแอนอโมไซติก อาจมีหรือไม่มีขน รูปแบบของขนเป็นแบบขนเซลล์เดียวหรือขนหลายเซลล์ ส่วนใหญ่ไม่มีช่องสารหลั่ง ชั้นเนื้อเยื่อบริเวณระหว่างเส้นกลางใบกับขอบใบมีเพียงชั้นเดียว ได้แก่ *Cy. crenata* ส่วนชนิดอื่นมีหลายชั้น ชั้นมีโซฟิลล์ไม่แยกเป็นชั้นแพลิเซดและสปองจี เซลล์พาเรงคิมาบริเวณระหว่างเส้นกลางใบและขอบใบมีรูปร่างไม่แน่นอน หรือรูปร่างกลม จำนวนเซลล์ในชั้นมีโซฟิลล์ 2-7 ชั้น บางชนิดมีโพรงอากาศ รูปร่างของเส้นกลางใบมีลักษณะโค้งทั้งด้านบนและด้านล่าง ตรงทั้งด้านบนและด้านล่าง ด้านบนตรงด้านล่างโค้ง ด้านบนเว้าเป็นรูปตัววี ด้านล่างโค้ง และด้านบนรูปหัวใจ ด้านล่างโค้ง มีมัดท่อลำเลียงที่เส้นกลางใบ 1-3 มัด รูปร่างมัดท่อลำเลียงเป็นแบบโฟลเอ็มล้อมรอบไซเล็ม รูปร่างกลม รูปสามเหลี่ยม รูปรี และรูปกากบาท ส่วนใหญ่มีสารสะสมเป็นสารสะสมเม็ดสารสีแดงหรือแทนนิน ลักษณะที่สามารถนำไปใช้สร้างรูปวิธานสำหรับการระบุชนิดของพืชที่ศึกษาได้แก่ รูปร่างและจำนวนชั้นของเซลล์ในเนื้อเยื่อชั้นผิว จำนวนและรูปร่างของมัดท่อลำเลียง รูปร่างของเส้นกลางใบ ตำแหน่งที่พบและรูปแบบของปากใบ โพรงอากาศในชั้นมีโซฟิลล์ รูปร่างของเซลล์และจำนวนชั้นพาเรงคิมาในมีโซฟิลล์ สารสะสม และช่องสารหลั่ง แต่เมื่อพิจารณาร่วมกับการจัดจำแนกทางสัณฐานวิทยา ไม่สามารถนำลักษณะกายวิภาคศาสตร์ที่ศึกษาไปจำกัดขอบเขตวงศ์หรือสกุลได้ เนื่องจากไม่มีลักษณะร่วมของกลุ่ม และจำนวนตัวอย่างตัวแทนของพืชที่ศึกษายังมีจำนวนน้อย

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินรายได้คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประจำปีงบประมาณ 2558 สัญญาเลขที่ 336/2558 และ 338/2558 ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการศึกษาวิจัย ขอขอบคุณ คุณทักษิณ อาชวาคม ผู้อำนวยการสถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราชและเจ้าหน้าที่ทุกท่านในสถานีวิจัยฯ ที่อำนวยความสะดวกในการเก็บข้อมูลภาคสนาม และขอขอบคุณ ดร.อภิรดา สถาปัตยานนท์ ที่ให้ความช่วยเหลือในการระบุชนิดพืชที่ศึกษา

เอกสารอ้างอิง

Boonkerd, T. (1980). Taxonomic studied of pteridophytes at Sakaerat Experiment Station, Nakhon Ratchasima, Thailand. *The Journal of Scientific Research Chulalongkorn University*, *5*, 225-234.

Boonsanogn, C., Chumpol, K., Thaweesakdi, B. & Tosak, S. (2004). Floral Visitors and Fruit Set in *Afgekia sericea* Craib (Fabaceae). *The Natural History Journal of Chulalongkorn University*, *4*(2), 31-44.

Chaiyapo, S. (2003). *Comparative microscopic characters of some fern species in the genus Thelypteris schmidel in Thailand*. Master's thesis, Chulalongkorn University. (in Thai)

Christenhusz, M.J.M. & Chase, M.W. (2014). Trends and concepts in fern classification. *Annals of Botany*, *113*, 571–594.

Christenhusz, M.J.M., Zhang, X.C. & Schneider, H. (2011). A linear sequence of extant families and genera of lycophytes and ferns. *Phytotaxa*, *19*, 7–54.

Johansen, D.A. (1940). *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill Book Co., New York.

Koichi, K., Tosporn, V., Sirin, T.,Chingchai, V., Suchat, N. & Bunnasart, D. (2002). Plant Species Diversity in Tropical Planted Forests and Implication for Restoration of Forest Ecosystems in Sakaerat, Northeastern Thailand. *JARQ*, *36*(2), 111-118.

Kortnon, K. (2002). *Comparative anatomy and spore morphology of the genus Pyrrosia mirbel in Thailand*. Master's thesis, Khon Kaen University. (in Thai)

Metcalfe, C.R. & Chalk, L. (1957). *Anatomy of the Dicotyledon*. Vol.1. Oxford University Press, London.

Niyomdee, C. & Boonkerd, T. (2013). A comparative study of the anatomical characters of some ferns from different habitats. *Thai Journal of Botany*, *5*, 99-117. (in Thai)

Nopun, P., Traiperm, P., Boonkerd, T. & Jenjittikul, T. (2016). Systematic importance of rhizome stelar anatomy in selected Monilophytes from Thailand. *Taiwania*, *61*(3), 175-184.

Pongkai, P. (2011). *Taxonomic revision of fern genus Diplazium Sw. (Woodsiaceae) in Thailand*. Master's thesis, Chulalongkorn University. (in Thai)

Sandrine, L., Jiragorn, G. & François, M. (1998). Structure diversity in three forest types of north-eastern Thailand (Sakaerat Reserve, Pak Tong Chai). *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, *2*(3), 192-202.

Smith, A.R., Pryer, K.M., Schuettpelz, E., Korall, P., Schneider, H. & Wolf, P.G. (2006). A classification of extant ferns. *Taxon*, *55*, 705–731.

Smitinand, T., Phengkhlai, C., Chayanand, C., Phuphatanapong, L., Santisuk, T. & Reynolds, S. (1974). *Flora of Sakaerat part one*. Research project No. 27/1; Report No.18. Bangkok: Thailand Institute of Scientific and Technological Research.

Stace, C.A. (1980). *Plant Taxonomy and Biosystematics*. Edward Arnold, London.

Yongyut, T. (2010). Land use and forested landscape changes at Sakaerat Environmental Research Station in Nakhorn Ratchasima Province, Thailand. *Bratislava*, *29*(1), 99-109.

Yongyut, T. & Prateep, D. (2011). Consequences of land use change on bird distribution at Sakaerat Environmental Research Station. *Journal of Ecology and Field Biology*, *34*(2), 203-214.