สัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* Sull. ในประเทศไทย

Morphology and Anatomy of the Genus *Notothylas* Sull. in Thailand

ศิริกานดา รัตนมณี

Sirikanda Rattanamanee

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพฤกษศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Botany
Prince of Songkla University
2558

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ สัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* Sull. ในประเทศไทย

ผู้เขียน นางสาวศิริกานดา รัตนมณี

สาขาวิชา พฤกษศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก **คณะกรรมการสอบ**

…...…….. .....……ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สหัช จันทนาอรพินท์) (รองศาสตราจารย์ ดร.อุปถัมภ์ มีสวัสดิ์)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.กิติเชษฐ์ ศรีดิษฐ)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สหัช จันทนาอรพินท์)

.....กรรมการ

(ดร.ยศเวท สิริจามร)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพฤกษศาสตร์

……..

(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล ศรีชนะ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ……..
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สหัช จันทนาอรพินท์)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลงชื่อ……..
(นางสาวศิริกานดา รัตนมณี)
นักศึกษา

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ……..
(นางสาวศิริกานดา รัตนมณี)
นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์ สัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* Sull. ในประเทศไทย
ผู้เขียน นางสาวศิริกานดา รัตนมณี
สาขาวิชา พฤกษศาสตร์
ปีการศึกษา 2557

บทคัดย่อ

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ในประเทศไทยจากตัวอย่างที่เก็บรวบรวมได้ในภาคสนามจากพื้นที่ต่างๆ ของประเทศไทย ตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ. 2555 จนถึง เดือนกันยายน พ.ศ. 2557 สามารถเก็บรวบรวมได้ทั้งสิ้นจำนวน 7 ชนิด คือ *N. frahmii* Chantanaorr., *N. irregularis* Chantanaorr, *N. javanica* (Sande Lac.) Gottsche, *N. levieri* Schiffin. ex Steph., *N. orbicularis* (Schwein.) Sull. ex A. Gray, *N. pandei* Udar & V. Chandra และ *N. yunnanensis* T. Peng & R.L. Zhu ศึกษาโครงสร้างสปอโรไฟต์และแกมีโตไฟต์โดยการเตรียมสไลด์แบบโฮลเม้านท์และกรรมวิธีพาราฟิน นอกจากนี้ยังศึกษาสปอร์และซูโดอีเลเตอร์ที่เจริญเต็มที่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด จากการศึกษาพบว่าแกมีโตไฟต์ของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ในประเทศไทยมีลักษณะร่วมกันคือ 1) เซลล์มีคลอโรพลาสต์ขนาดใหญ่ ที่มีไพรีนอยด์ 1 คลอโรพลาสต์ต่อเซลล์, 2) ไม่มีโพรงอากาศแบบชิโซจีนัส, 3) มีกลุ่มของ *Nostoc* อยู่อาศัยภายในเนื้อเยื่อทางด้านล่างของทัลลัส และ 4) ไรซอยด์มีรูปร่าง 2 แบบ ส่วนสปอโรไฟต์มีลักษณะร่วมกันคือ 1) อับสปอร์สั้นมาก วางตัวทอดนอนอยู่บนทัลลัสและอยู่ภายในอินโวลูเคอเกือบทั้งต้น และ 2) ผนังอับสปอร์ไม่มีปากใบ แกนกลางตัดตามขวางประกอบด้วยเซลล์ 16 แถว (4 × 4 แถว) ยกเว้น *N. levieri* ที่ไม่มีแกนกลางอยู่ภายในอับสปอร์ ลักษณะสำคัญที่ใช้ในการระบุชนิดได้แก่ ลักษณะของเซลล์ผนังอับสปอร์ ซูโดอีเลเตอร์ ลวดลายของสปอร์ และแกนกลางอับสปอร์ นอกจากนี้ยังได้ศึกษารูปแบบการเจริญและพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานของสปอโรไฟต์ในฮอร์นเวิร์ตบางชนิด คือ *N. frahmii*, *N. levieri* และ *N. orbicularis* พบว่ามีรูปแบบการเจริญและพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานในระยะเริ่มต้นเหมือนกันทุกชนิด คือ ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียม 8 เซลล์ และเนื้อเยื่อเอนโดทีเซียม 4 เซลล์ แต่ระยะหลังจากนั้นรูปแบบการเจริญและพัฒนาของเนื้อเยื่อค่อนข้างแตกต่างกันโดยเฉพาะใน *N. levieri* ซึ่งเป็นชนิดที่ไม่พบแกนกลางภายในอับสปอร์

Thesis Title Morphology and Anatomy of the Genus *Notothylas* Sull. in Thailand

Author Miss Sirikanda Rattanamanee

Major Program Botany

Academic Year 2014

ABSTRACT

A study of morphology and anatomy of the genus *Notothylas* Sull. in Thailand is presented, based on the materials from field surveys throughout the country from October 2012 to September 2014. Seven species of *Notothylas* were collected including, i.e., *N. frahmii* Chantanaorr., *N. irregularis* Chantanaorr., *N. javanica* (Sande Lac.) Gottsche, *N. levieri* Schiffin. ex Steph., *N. orbicularis* (Schwein.) Sull. ex A. Gray, *N. pandei* Udar & V. Chandra and *N. yunnanensis* T. Peng & R.L. Zhu. The sporophyte and gametophyte were investigated using whole mount and paraffin method. In addition, the mature spores and pseudoelaters were observed under light and scanning electron microscopes. The gametophytes of all Thai species shared the common characters: 1) the presence of a single large chloroplast with a pyrenoid in each cell, 2) the absence of schizogenous cavity, 3) the presence of *Nostoc* colonies located on the ventral side of thallus, and 4) dimorphic rhizoids. The sporophytes shared the following characters: 1) very short capsules, lying horizontally on the thallus and being mostly enclosed in the involucre, and 2) epidermal cells of capsules without stomata. The columella basically consists of 16 row cells (4 × 4 rows of cells) in transverse section, excepted *N. levieri* lacking columella. The important characters for identification are epidermal cells of capsules, pseudoelaters, spore ornamentation, and columella. Moreover, the development pattern of basal meristem of sporophyte was observed in selected species, i.e., *N. frahmii*, *N. levieri* and *N. orbicularis*. The result shown that the early stage of development composed of four endothecium cells and eight amphithecium cells in all species. But the next stage seem to be different, especially *N. levieri*, the non-columella species.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ทางผู้เขียนต้องขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สหัช จันทนาอรพินท์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่คอยช่วยเหลือ ให้ความรู้ คำแนะนำ และคำปรึกษาตลอดการทำวิจัย รวมทั้งการตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.อุปถัมภ์ มีสวัสดิ์ ประธานกรรมการสอบ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ช่วยชี้แนะและให้คำแนะนำการเขียนเล่มวิทยานิพนธ์ ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.กิติเชษฐ์ ศรีดิษฐ กรรมการสอบ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ในการให้คำแนะนำการเขียนเล่มวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ ดร.ยศเวท สิริจามร กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่ช่วยชี้แนะในการจัดทำวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณ คุณละม้าย ทองบุญ และห้องปฏิบัติการไมโครเทคนิคที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้สถานที่และเครื่องมือต่างๆ ในการทำวิจัย

ขอขอบคุณ คุณนรินทร์ พรินทรากุล ที่ให้การช่วยเหลือในเก็บตัวอย่างและให้คำแนะนำในการทำวิจัย

ขอขอบคุณพิพิธภัณฑ์พืชแห่งมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์สำหรับห้องปฏิบัติการ

ขอขอบคุณ ทุนผู้ช่วยวิจัย (RA.) คณะวิทยาศาสตร์ และทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ขอขอบคุณ คุณฉัตรชบา พรหมมะ ที่ช่วยเหลือในการทำวิจัย และสมาชิกทุกคนในห้องปฏิบัติการไบรโอไฟต์และพิพิธภัณฑ์พืชแห่งมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สำหรับมิตรภาพและกำลังใจที่ดีเสมอมา

ขอขอบพระคุณ พ่อ แม่ และทุกคนในครอบครัว สำหรับเงินทุนในการศึกษาและกำลังใจที่ดีตลอดมา

ศิริกานดา รัตนมณี

สารบัญ

หน้า

สารบัญ……..……..(8)
รายการตาราง……..……(10)
รายการภาพประกอบ…..……(11)
บทที่
1. บทนำ……....1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา……..……1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย……2
1.3 ประโยชน์ที่ได้รับจากการศึกษา……..……..2
2. การตรวจเอกสาร ……..……..3
2.1 ข้อมูลทั่วไปของฮอร์นเวิร์ต ……..……..3
2.2 ข้อมูลทั่วไปของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* Sull. ……...13
2.3 ฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ในประเทศไทย...……..15
3. วิธีการศึกษา……...16
3.1 วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี……..……..16
3.2 วิธีการศึกษา..……..…18
4. ผลการศึกษา..……...21
4.1 ถิ่นที่อยู่และนิเวศวิทยา ..……22
4.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ทั้ง 7 ชนิด ……..23
4.3 รูปแบบการเจริญและพัฒนาของสปอโรไฟต์ ..……..79
5. สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ ..……..88
5.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ของแกมีโตไฟต์ ..……..88
5.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ของสปอโรไฟต์ ..……....91
5.3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์กับการจัดจำแนก ..……97
5.4 รูปแบบการเจริญและพัฒนาของสปอโรไฟต์ ..……..103
5.5 ข้อเสนอแนะ..……....107

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

เอกสารอ้างอิง 108
ภาคผนวก 112
ประวัติผู้เขียน 117

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
4.1	รายชื่อและการกระจายพันธุ์ของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ที่สำรวจและเก็บรวบรวมได้จากพื้นที่ต่างๆ ทั่วประเทศไทย	21
5.1	เปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ของแกมีโตไฟต์ของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ทั้ง 7 ชนิด	100
5.2	เปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ของสปอโรไฟต์ของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ทั้ง 7 ชนิด	101
5.3	เปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสปอร์ของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ทั้ง 7 ชนิด	102

รายการภาพประกอบ

ภาพที่	หน้า
2.1 วงชีวิตของฮอร์นเวิร์ต	3
2.2 ภาพตัดตามขวางทัลลัสของฮอร์นเวิร์ต	5
2.3 พัฒนาการของแอนเทอริเดียมและสเปิร์ม	7
2.4 พัฒนาการของอาร์คีโกเนียม	8
2.5 พัฒนาการของสปอโรไฟต์	10
2.6 ภาพตัดตามยาวและภาพตัดตามขวางสปอโรไฟต์	12
2.7 แกมีโตไฟต์ของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas*	13
2.8 สปอโรไฟต์ของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas*	14
4.1 แกมีโตไฟต์ของ *Notothylas frahmii* Chantanaorr.	28
4.2 สปอโรไฟต์ของ *Notothylas frahmii* Chantanaorr.	29
4.3 แกนกลาง สปอร์ และซูโดอีเลเตอร์ของ *Notothylas frahmii* Chantanaorr.	30
4.4 แกมีโตไฟต์ของ *Notothylas irregularis* Chantanaorr.	36
4.5 สปอโรไฟต์ของ *Notothylas irregularis* Chantanaorr.	37
4.6 แกนกลาง สปอร์ และซูโดอีเลเตอร์ของ *Notothylas irregularis* Chantanaorr.	38
4.7 แกมีโตไฟต์ของ *Notothylas javanica* (Sande Lac.) Gottsche	44
4.8 สปอโรไฟต์ของ *Notothylas javanica* (Sande Lac.) Gottsche	45
4.9 แกนกลาง สปอร์ และซูโดอีเลเตอร์ของ *Notothylas javanica* (Sande Lac.) Gottsche	46
4.10 แกมีโตไฟต์ของ *Notothylas levieri* Schiffin. ex Steph.	52
4.11 สปอโรไฟต์ของ *Notothylas levieri* Schiffin. ex Steph.	53
4.12 สปอร์และซูโดอีเลเตอร์ของ *Notothylas levieri* Schiffin. ex Steph.	54
4.13 mแกมีโตไฟต์ของ *Notothylas orbicularis* (Schwein.) Sull. ex A. Gray	60
4.14 สปอโรไฟต์ของ *Notothylas orbicularis* (Schwein.) Sull. ex A. Gray	61
4.15 แกนกลาง สปอร์ และซูโดอีเลเตอร์ของ *Notothylas orbicularis* (Schwein.) Sull. ex A. Gray	62
4.16 แกมีโตไฟต์ของ *Notothylas pandei* Udar & V. Chandra	68
4.17 สปอโรไฟต์ของ *Notothylas pandei* Udar & V. Chandra	69
4.18 แกนกลาง สปอร์ และซูโดอีเลเตอร์ของ *Notothylas pandei* Udar & V. Chandra	70

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.19	แกมีโตไฟต์ของ *Notothylas yunnanensis* T. Peng & R.L. Zhu	76
4.20	สปอโรไฟต์ของ *Notothylas yunnanensis* T. Peng & R.L. Zhu	77
4.21	แกนกลาง สปอร์ และซูโดอีเลเตอร์ของ *Notothylas yunnanensis* T. Peng & R.L. Zhu	78
4.22	รูปแบบการเจริญและพัฒนาของสปอโรไฟต์ของ *Notothylas levieri* Schiffin. ex Steph.	81
4.23	รูปแบบการเจริญและพัฒนาของสปอโรไฟต์ของ *Notothylas frahmii* Chantanaorr.	84
4.24	รูปแบบการเจริญและพัฒนาของสปอโรไฟต์ของ *Notothylas orbicularis* (Schwein.) Sull. ex A. Gray	87
5.1	ไดอะแกรมแสดงรูปแบบการเจริญและพัฒนาของสปอโรไฟต์ในระยะต่างๆ ในฮอร์นเวิร์ต 3 ชนิด	105

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ฮอร์นเวิร์ต (hornworts) เป็นไบรโอไฟต์กลุ่มที่มีจำนวนสมาชิกน้อยที่สุด ทั่วโลกมีจำนวนสมาชิกประมาณ 200-250 ชนิด ปัจจุบันจัดอยู่ในดิวิชั่น Anthocerotophyta ประกอบด้วย 12 สกุล สามารถพบได้ตั้งแต่เขตร้อนถึงเขตอบอุ่นทั่วโลก (Villarreal & Renner, 2012) ลักษณะสำคัญของฮอร์นเวิร์ตที่ต่างจากไบรโอไฟต์กลุ่มอื่น คือ แกมีโตไฟต์ (gametophyte) มีลักษณะเป็นแผ่นสีเขียวขนาดเล็ก แยกสาขาเป็นคู่ ส่วนใหญ่มีคลอโรพลาสต์ (chloroplast) 1 อันต่อเซลล์ที่มักมีไพรีนอยด์ (pyrenoid) อยู่ตรงกลาง มีโครงสร้างสร้างเซลล์สืบพันธุ์ทั้ง 2 เพศอยู่ในเนื้อเยื่อแกมีโตไฟต์ด้านบน สปอโรไฟต์ (sporophyte) ประกอบด้วย ฟุต (foot) และอับสปอร์ที่มีลักษณะเป็นแท่งเรียวยาวสีเขียว รูปร่างคล้ายเขาสัตว์ ภายในอับสปอร์มีแกนกลางช่วยในการค้ำจุนอับสปอร์ เรียกว่า คอลิวเมลลา (columella) มีสปอร์ (spore) และมีซูโดอีเลเตอร์ (pseudoelater) ช่วยในการกระจายสปอร์และเป็นสารอาหารให้แก่สปอร์ ปัจจุบันเชื่อว่าฮอร์น-เวิร์ตเป็นไบรโอไฟต์กลุ่มที่มีความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการใกล้ชิดกับพืชที่มีระบบเนื้อเยื่อลำเลียงมากที่สุด (Pires & Dolan, 2012) ถึงแม้ว่าฮอร์นเวิร์ตจะมีจำนวนชนิดน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับไบรโอไฟต์กลุ่มอื่น แต่การศึกษาเกี่ยวกับพืชกลุ่มนี้ยังมีข้อมูลอยู่น้อยมาก

ฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* Sull. เป็นฮอร์นเวิร์ตสกุลเดียวที่ถูกจัดอยู่ในวงศ์ย่อย Notothyladoideae ทั่วโลกพบประมาณ 25 ชนิด มีความหลากชนิดมากที่สุดในบริเวณคาบสมุทรอินเดีย (Singh, 2002; Villarreal *et al.*, 2010; Chantanaorrapint, 2015) ลักษณะสำคัญของฮอร์นเวิร์ตสกุลนี้คือ แกมีโตไฟต์ มีลักษณะเป็นแผ่นขนาดเล็ก สีเขียวใส แต่ละเซลล์มีคลอโรพลาสต์ขนาดใหญ่ 1-2(-3) อันต่อเซลล์ สปอโรไฟต์ มีขนาดเล็กและสั้นกว่าฮอร์นเวิร์ตสกุลอื่นๆ ส่วนใหญ่อยู่ภายในอินโวลูเคอ (involucre) เกือบทั้งหมด และทอดนอนไปกับผิวด้านบนของแกมีโตไฟต์ ผนังอับสปอร์ไม่มีปากใบ ภายในอับสปอร์อาจมีหรือไม่มีแกนกลาง สปอร์มีสีเหลืองถึงสีดำ ซูโดอีเลเตอร์มีขนาดเล็ก ผนังด้านในเรียบหรือมีลวดลาย ในบางชนิดซูโดอีเลเตอร์อาจสลายไปเมื่อสปอร์เจริญเต็มที่ มักพบฮอร์นเวิร์ตสกุลนี้เจริญบนพื้นดินที่มีแร่-ธาตุอุดมสมบูรณ์ บริเวณพื้นที่เปิดโล่ง และมักถูกรบกวนจากกิจกรรมต่างๆ ของมนุษย์ เช่น พื้นที่เกษตรกรรม ริมถนนหรือทางเดิน

การศึกษาฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ที่ผ่านมาในอดีต พบว่าส่วนใหญ่เป็นการศึกษาทางด้านอนุกรมวิธาน และมักศึกษาจากตัวอย่างแห้งที่เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์พืช ทำให้ลักษณะสัณฐานวิทยาของแกมีโตไฟต์หลายลักษณะไม่สามารถศึกษาได้หรือศึกษาได้ยาก เช่น รูปร่างคลอโรพลาสต์ รูปร่างเซลล์ผิว จำนวนแอนเทอริเดียม (antheridium) และการจัดเรียงตัวของเซลล์ผนังแอนเทอริเดียม ในการระบุชื่อวิทยาศาสตร์ใช้ลักษณะของสปอร์และผนังอับสปอร์เป็นหลักเนื่องจากเป็นลักษณะที่ศึกษาได้ง่ายจากตัวอย่างแห้ง การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคอย่างละเอียดของฮอร์นเวิร์ตที่ผ่านมีน้อยมาก ทำให้ขาดข้อมูลเกี่ยวกับการเจริญและพัฒนาของแกมีโตไฟต์และสปอโรไฟต์ของฮอร์นเวิร์ตสกุลนี้ และมีเพียงข้อมูลการศึกษาของ *Notothylas orbicularis* (Schwein.) Sull. ex A. Gray เท่านั้น อาจเนื่องมาจากฮอร์นเวิร์ตชนิดนี้มีเขตการกระจายพันธุ์กว้างกว่าชนิดอื่นๆ นอกจากนี้ฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ยังมีขนาดค่อนข้างเล็ก ทำให้ยากต่อการศึกษา และส่วนใหญ่พบกระจายอยู่ในคาบสมุทรอินเดียซึ่งยากในการนำตัวอย่างมาศึกษา หากมีการศึกษาทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ของฮอร์นเวิร์ตสกุลนี้เพิ่มเติมจะสามารถช่วยให้ทราบถึงการเจริญและพัฒนาของฮอร์นเวิร์ตสกุลนี้เพิ่มมากขึ้น และยังสามารถใช้เป็นข้อมูลในการจัดหมวดหมู่ของฮอร์นเวิร์ตได้อีกด้วย

สำหรับฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ในประเทศไทย จากการศึกษาเบื้องต้นพบฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ไม่น้อยกว่า 8 ชนิด ถือได้ว่าประเทศไทยมีความหลากชนิดของฮอร์นเวิร์ตสกุลนี้ค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับประเทศอินเดียที่มีความหลากชนิดของฮอร์นเวิร์ตสกุลนี้มากที่สุด ดังนั้นจึงถือเป็นโอกาสดีที่จะมีการศึกษาทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ของฮอร์นเวิร์ตสกุลนี้ในประเทศไทย เพื่อที่จะเพิ่มองค์ความรู้เกี่ยวกับงานทางด้านนี้และยังสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการจัดจำแนกหมวดหมู่ของฮอร์นเวิร์ตต่อไปในอนาคต

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* บางชนิดที่พบในประเทศไทย

2. เพื่อศึกษาการเจริญและพัฒนาของสปอโรไฟต์ของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* บางชนิดที่พบในประเทศไทย

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพิ่มองค์ความรู้ทางด้านสัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas*

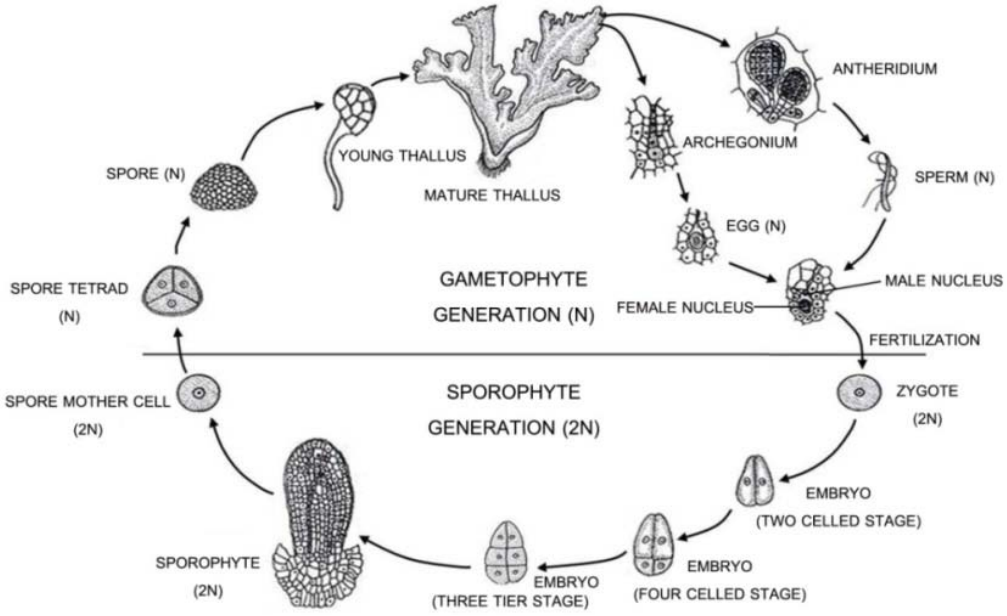
2. สามารถนำองค์ความรู้ที่ได้ไปใช้ประโยชน์ในการจัดจำแนกหมวดหมู่ของฮอร์นเวิร์ตต่อไปในอนาคต

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

2.1 ข้อมูลทั่วไปของฮอร์นเวิร์ต

ฮอร์นเวิร์ตเป็นไบรโอไฟต์กลุ่มที่มีวิวัฒนาการใกล้เคียงกับพืชมีท่อลำเลียงกลุ่มแรกมากที่สุด เนื่องจากสปอโรไฟต์ของฮอร์นเวิร์ตมีลักษณะคล้ายคลึงกับฟอสซิลของพืชกลุ่มทราคีโอ-ไฟต์ (tracheophyte) คือ มีเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน (basal meristem) มีแกนกลางอยู่ภายในอับสปอร์ และสปอร์รูปพีระมิดสามเหลี่ยมที่มีสันสามแฉก (Qui *et al.*, 2006; Pires & Dolan, 2012) ปัจจุบันมีจำนวนประมาณ 200-250 ชนิด จัดอยู่ใน 12 สกุล ซึ่งได้แก่ สกุล *Anthoceros* L., *Dendroceros* Nees, *Folioceros* D.C. Bhardwaj, *Leiosporoceros* Hässel, *Megaceros* Campb, *Nothoceros* (R.M. Schust.) J. Haseg., *Notothylas* Sull., *Paraphymatoceros* Hässel, *Phaeoceros* Prosk., *Phaeomegaceros* Duff et al., *Phymatoceros* Stotler et al. และ *Sphaerosporoceros* Hässel (Villarreal & Renner, 2012; Chantanaorrapint, 2014b) พบกระจายทั้งในเขตร้อนและเขตอบอุ่นทั่วโลก แต่มีความหลากชนิดมากที่สุดในพื้นที่เขตร้อน โดยเฉพาะบริเวณคาบสมุทรอินเดีย เอเชียเขตร้อน และอเมริกาเขตร้อน (Villarreal *et al.*, 2010)

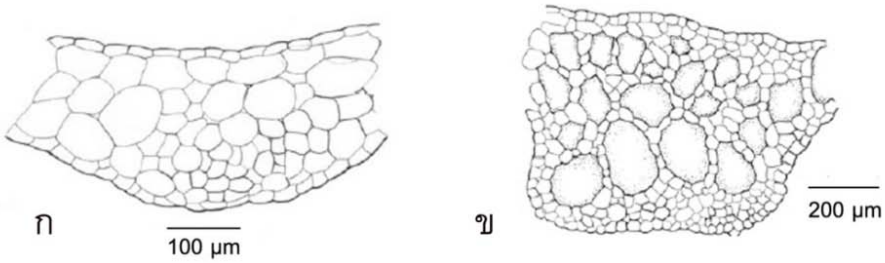


ภาพที่ 2.1 วงชีวิตของฮอร์นเวิร์ต (ดัดแปลงจาก Vashishta *et al.*, 1963)

ฮอร์นเวิร์ต ประกอบด้วยช่วงชีวิต 2 ระยะ คือ ระยะแกมีโตไฟต์ และระยะสปอโรไฟต์ ซึ่งมีโครโมโซมเป็นแฮพลอยด์ (haploid, n) และดิพลอยด์ (diploid, 2n) ตามลำดับ โดยระยะสปอโรไฟต์มีอายุสั้นกว่าระยะแกมีโตไฟต์ และจะต้องอาศัยอยู่บนต้นแกมีโตไฟต์ตลอดช่วงชีวิต (ภาพที่ 2.1)

แกมีโตไฟต์

แกมีโตไฟต์ มีลักษณะเป็นแผ่นหรือทัลลัส (thallus) สีเขียว ประกอบด้วยเซลล์หนามากกว่า 1 ชั้น โดยเซลล์บริเวณกลางทัลลัสจะหนากว่าบริเวณขอบทัลลัส ส่วนใหญ่มีรูปร่างกลมหรือเกือบกลม เนื่องจากมีการแตกกิ่งแยกออกเป็นสองแฉกชิดกันมาก พื้นผิวด้านบนของทัลลัสอาจเรียบหรือมีสัน บางเซลล์ทำหน้าที่สร้างอวัยวะสืบพันธุ์ ในขณะที่พื้นผิวด้านล่างทัลลัสทำหน้าที่สร้างไรซอยด์ (rhizoid) ซึ่งมีลักษณะเป็นเซลล์เดียว ผนังเซลล์ด้านในเรียบหรือเป็นหนาม มีสีน้ำตาลอ่อนหรือไม่มีสี ทำหน้าที่คล้ายราก ทัลลัสเจริญมาจากเซลล์เจริญบริเวณปลายทัลลัส มีรูปร่างเป็นรูปลิ่มที่มีสี่หน้าตัด โดยหน้าตัดด้านข้างทั้ง 2 ด้านเป็นรูปสามเหลี่ยมมุมป้าน และที่เหลืออีก 2 ด้านเป็นรูปสี่เหลี่ยม (Schuster, 1984) เนื้อเยื่อทัลลัสประกอบด้วยเซลล์พาเรงคิมา (parenchyma) ซึ่งอาจมีหรือไม่มีโพรงอากาศอยู่ภายใน (ภาพที่ 2.2ก) โพรงอากาศส่วนใหญ่เป็นแบบซิโซจีนัส (schizogenous cavity) ซึ่งต่อมาจะมีการสร้างและหลั่งสารเมือก (mucilage) จากเซลล์ข้างเคียงเข้ามาในโพรงอากาศดังกล่าวทำให้สาหร่ายสีเขียวน้ำเงินสกุล *Nostoc* เข้ามาอยู่อาศัยภายใน โดยเข้าทางช่องอากาศ (mucilage cleft) ซึ่งอยู่ทางด้านล่างของทัลลัส (Renzaglia *et al.*, 2000; Villarreal & Renzaglia, 2006) เซลล์ผิวด้านบนและด้านล่างไม่มีการพอกทับของสารคิวติน (cutin) ภายในเซลล์ผิวของแกมีโตไฟต์ที่ยังไม่เจริญเต็มที่จะมีคลอโร-พลาสต์ขนาดใหญ่เต็มเซลล์ เมื่อแกมีโตไฟต์เจริญเต็มที่คลอโรพลาสต์ภายในเซลล์ผิวจะมีขนาดเล็กลง ลักษณะเป็นรูปเลนส์หรือรูปจานที่มีไพรีนอยด์ 1 อันตรงกลาง ยกเว้น ฮอร์นเวิร์ตสกุล *Leiosporoceros*, *Megaceros*, *Paraphymatoceros* และ *Phaeomegaceros* และมักจะมีเม็ดแป้งจำนวนมากล้อมรอบไพรีนอยด์หรือกระจายทั่วทั้งคลอโรพลาสต์ ลักษณะของคลอโรพลาสต์ที่นำมาใช้ในการจัดจำแนกหมวดหมู่ของฮอร์นเวิร์ต ได้แก่ จำนวนคลอโรพลาสต์ต่อเซลล์ รูปร่างคลอโรพลาสต์ การมีหรือไม่มีไพรีนอยด์ และโครงสร้างระดับจุลภาคภายในคลอโรพลาสต์ (Renzaglia, 1978; Villarreal *et al.*, 2010; Villarreal & Renner, 2012) ฮอร์นเวิร์ตส่วนใหญ่มีคลอโรพลาสต์ 1-2 อันต่อเซลล์ ยกเว้น ฮอร์นเวิร์ตสกุล *Megaceros* และบางชนิดในสกุล *Nothoceros* ที่มีคลอโรพลาสต์ 8-12 อันต่อเซลล์ (Villarreal *et al.*, 2010) โดยฮอร์นเวิร์ตกลุ่มที่มีคลอโรพลาสต์จำนวนน้อยต่อเซลล์และมีไพรีนอยด์น่าจะเป็นพวกที่มีลักษณะใกล้เคียงกับบรรพบุรุษมากกว่า ส่วนพวกที่มีคลอโรพลาสต์หลายอันต่อเซลล์และไม่มีไพรีนอยด์มีวิวัฒนาการสูงกว่า (Burr, 1970)



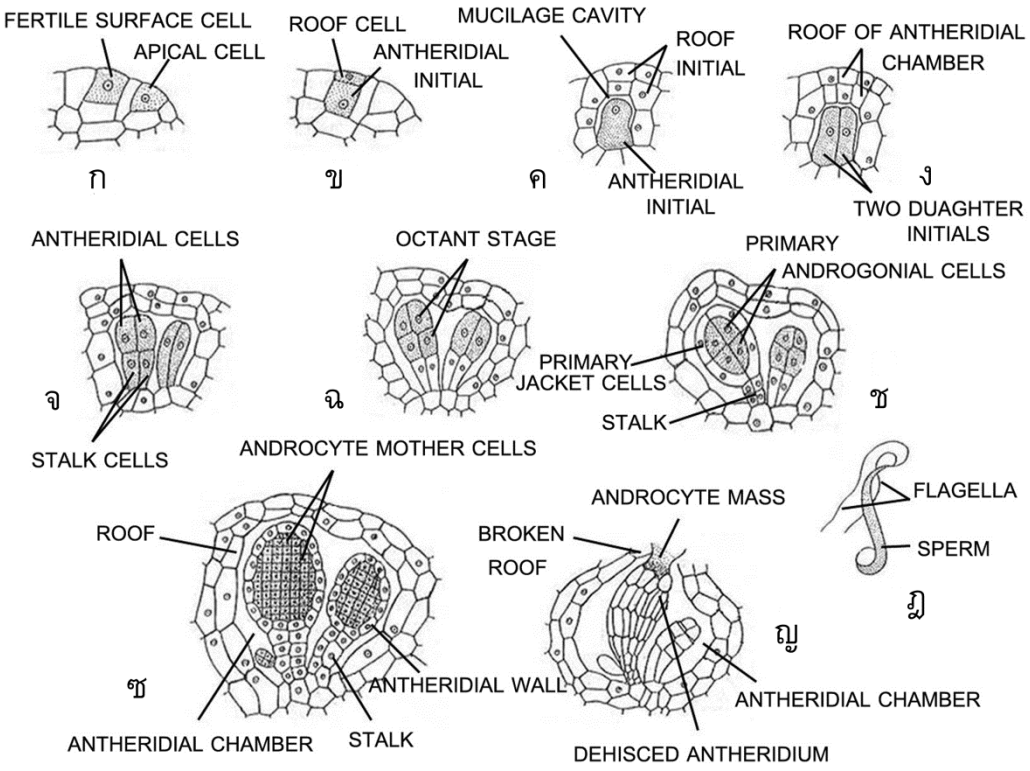
ภาพที่ 2.2 ภาพตัดตามขวางทัลลัสของฮอร์นเวิร์ต ก) ทัลลัสไม่มีโพรงอากาศ; ข) ทัลลัสมีโพรงอากาศ (ดัดแปลงจาก สหัช จันทนาอรพินท์, 2555)

การสืบพันธุ์

การสืบพันธุ์ของฮอร์นเวิร์ตมีทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศเกิดขึ้นในสภาพการเจริญที่ไม่เหมาะสมเท่านั้น เช่น สภาวะแห้งแล้งส่วนใหญ่เป็นการสร้างเจมมา (gemma) ที่ผิวด้านบนหรือขอบทัลลัส เช่น *Anthoceros appendiculatus* Steph. ฮอร์นเวิร์ตบางชนิดมีการพักตัวโดยการสร้างหัวสะสมอาหารที่เรียกว่าทูเบอร์ (tuber) ทางด้านล่างหรือขอบของทัลลัส เช่น *Phaeoceros laevis* (L). Prosk. และ *Phymatoceros phymatodes* (M.A. Howe) Duff et al. ซึ่งเมื่อเจมมาหรือหัวสะสมอาหารหลุดไปจะสามารถเจริญเป็นต้นแกมีโตไฟต์ใหม่ได้ (Renzaglia, 1978; Renzaglia *et al.*, 2009) การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศส่วนใหญ่เป็นสร้างเซลล์สืบพันธุ์บนต้นแกมีโตไฟต์เดียวกัน อวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศประกอบด้วย แอนเทอริเดียมและอาร์คีโกเนียม (archegonium) ซึ่งทำหน้าที่สร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมียตามลำดับ โดยมีรายละเอียดของแต่ละโครงสร้าง ดังนี้

แอนเทอริเดียม เกิดจากเซลล์ใต้ชั้นผิวที่อยู่ใกล้เซลล์เจริญบริเวณปลายทัลลัสและพัฒนาอยู่ภายในเนื้อเยื่อทัลลัสทางด้านบน พัฒนาการของแอนเทอริเดียมเริ่มต้นจากเซลล์ใต้ชั้นผิวที่อยู่ใกล้กับเซลล์เจริญ (ภาพที่ 2.3ก) แบ่งเซลล์ขนานกับผิว ทำให้ได้เซลล์ด้านบนและเซลล์ด้านล่างทำหน้าที่เป็นเซลล์ต้นกำเนิดฝาปิด (roof initial) และเซลล์ต้นกำเนิดแอนเทอริเดียม (antheridial initial) ตามลำดับ (ภาพที่ 2.3ข) จากนั้นเซลล์ต้นกำเนิดฝาปิดและเซลล์ต้นกำเนิดแอนเทอริเดียมซึ่งอยู่ติดกันได้แยกออกจากกันทำให้เกิดเป็นช่องว่าง ในขณะเดียวกันเซลล์ข้างเคียงได้สร้างและหลั่งสารเมือกลงในช่องว่างดังกล่าว ทำให้เกิดช่องเมือก (mucilage cavity) (ภาพที่ 2.3ค) ที่เรียกว่า แอนเทอริเดียมแชมเบอร์ (antheridial chamber) ต่อมาเซลล์ต้นกำเนิดฝาปิดแบ่งเซลล์ในแนวขนานและตั้งฉากกับผิว ทำให้ได้เซลล์ฝาปิดปิดอยู่บนแอนเทอริเดียม-แชมเบอร์จำนวน 2 ชั้น ในขณะเดียวกันเซลล์ต้นกำเนิดแอนเทอริเดียมก็อาจแบ่งเซลล์อีกหลายครั้งเพื่อให้ได้เซลล์ต้นกำเนิดแอนเทอริเดียมหลายเซลล์ (ภาพที่ 2.3ง) ต่อจากนั้นเซลล์ต้นกำเนิดแอนเทอริเดียมแต่ละเซลล์จะแบ่งในแนวตั้งฉากและขนานกับผิว เซลล์ที่อยู่ทางด้านล่าง

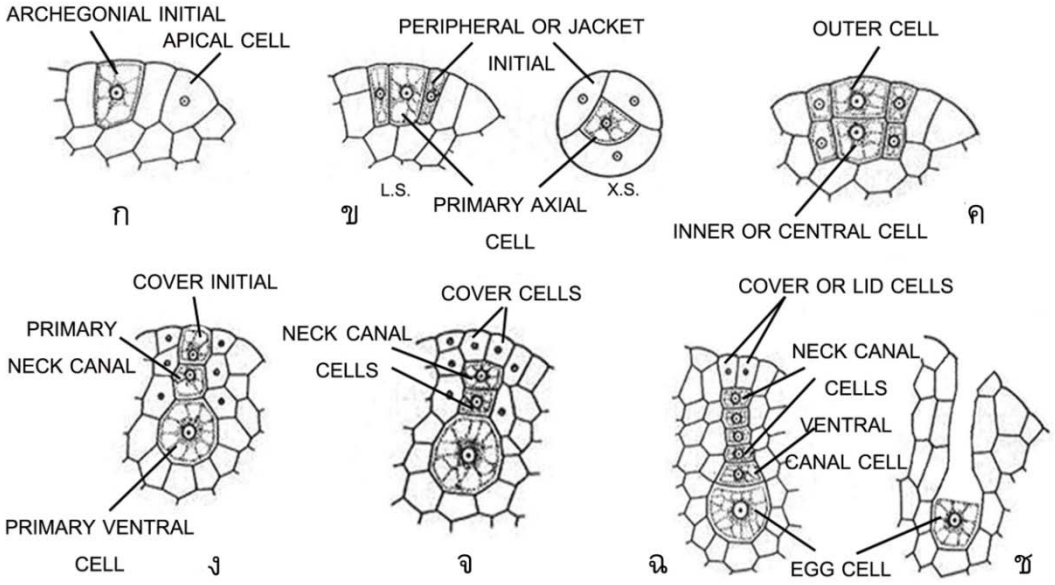
จะเจริญเป็นก้านชูแอนเทอริเดียม (ภาพที่ 2.3จ) ส่วนเซลล์ที่อยู่ด้านบนจะเจริญเป็นแอนเทอริเดียม เซลล์ต้นกำเนิดแอนเทอริเดียมแต่ละเซลล์แบ่งเซลล์ตามขวางกับผิวให้เซลล์รอบนอก 4 เซลล์ โดยเซลล์รอบนอกทั้ง 4 เซลล์แบ่งเซลล์ตามขวางกับผิวให้เซลล์ 8 เซลล์ (ภาพที่ 2.3ฉ) ทำหน้าที่เป็นเซลล์แอนโดรโกเนียมระยะแรก (primary androgonial cell) ต่อมาเซลล์แอนโดรโกเนียมระยะแรกแต่ละเซลล์แบ่งขนานกับผิวให้เซลล์รอบนอก 8 เซลล์ ทำหน้าที่เป็นเซลล์ผนังแอนเทอริเดียมระยะแรก (primary jacket cell) (ภาพที่ 2.3ช) ซึ่งต่อมาเซลล์ผนังระยะแรกแต่ละเซลล์แบ่งเซลล์ตั้งฉากกับผิว ทำให้ได้เซลล์ผนังระยะแรก 16 เซลล์ จากนั้นเซลล์แอนโดรโกเนียมระยะแรกแบ่งเซลล์ต่ออีกหลายครั้งจนได้เป็นกลุ่มเซลล์ที่เรียกว่า เซลล์แอนโดรโกเนียม ซึ่งจะเจริญไปเป็นเซลล์แม่ของแอนโดรไซต์ (androcyte mother cell) (ภาพที่ 2.3ซ) โดยเซลล์แม่ของแอนโดรไซต์แต่ละเซลล์จะแบ่งให้ 2 แอนโดรไซต์ และแต่ละแอนโดรไซต์ก็จะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปเป็นแอนเทอโรซอยด์ (antherozoid) หรือสเปิร์ม (sperm) ที่ประกอบด้วยแฟลเจลลา (flagella) จำนวน 2 เส้น ทำหน้าที่ช่วยในการเคลื่อนที่ (ภาพที่ 2.3ฎ) แอนเทอริเดียมในระยะเจริญเต็มที่จะเกิดการสลายไปของเซลล์ปิดเป็นหลังคาเพื่อให้เซลล์ผนังของแอนเทอริเดียมสัมผัสกับน้ำแล้วเกิดการแยกออก ทำให้แอนเทอโรซอยด์ออกมาภายนอก (ภาพที่ 2.3ญ) ในระยะที่แอนเทอริเดียมเจริญเต็มที่ก้านชูแอนเทอริเดียมจะไม่มีสี ส่วนผนังของแอนเทอริเดียมมีสีเหลืองนวลหรือสีส้ม (Schuster, 1984; Asthana, 2006) ลักษณะของแอนเทอริเดียมที่ใช้ในการจัดจำแนกหมวดหมู่ของฮอร์นเวิร์ต ได้แก่ รูปร่างและขนาดของแอนเทอริเดียม จำนวนแอนเทอริเดียมในแต่ละแอนเทอริเดียมแชมเบอร์ รูปแบบการจัดเรียงตัวของเซลล์ผนังแอนเทอริเดียม และความยาวของก้านชูแอนเทอริเดียม ส่วนใหญ่แอนเทอริเดียมมีรูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลม ยกเว้น แอนเทอริเดียมของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Anthoceros*, *Folioceros* และสกุล *Notothylas* บางชนิด (*N. dissecta* Steph.) มีรูปร่างคล้ายกระบอง การจัดเรียงตัวของเซลล์ผนังแอนเทอริเดียมมี 2 แบบ คือ แบบแอนโทเซอรอยด์ (anthoceroid) และแบบฟีโอเซอรอยด์ (phaeoceroid) ซึ่งเป็นการจัดเรียงตัวของเซลล์ผนังแอนเทอริเดียมเป็นระเบียบและไม่เป็นระเบียบตามลำดับ ส่วนใหญ่เซลล์ผนังแอนเทอริเดียมมีรูปแบบการจัดเรียงตัวแบบฟีโอเซอรอยด์ (Proskauer, 1951; Udar & Singh, 1981; Villarreal *et al.*, 2010)



ภาพที่ 2.3 พัฒนาการของแอนเทอริเดียมและสเปิร์ม ก-ช) ไดอะแกรมแสดงขั้นตอนพัฒนาการของแอนเทอริเดียม; ซ) แอนเทอริเดียมระยะเจริญเต็มที่; ญ) แสดงการแตกของแอนเทอริเดียม; ฎ) แสดงลักษณะของสเปิร์ม (ดัดแปลงจาก Vashishta *et al.*, 1963)

อาร์คีโกเนียม เกิดจากเซลล์ผิวที่อยู่ใกล้เซลล์เจริญบริเวณปลายทัลลัสและพัฒนาอยู่ภายในเนื้อเยื่อทัลลัสทางด้านบน พัฒนาการของอาร์คีโกเนียมเริ่มต้นจากเซลล์ผิวที่มีไซโต-พลาซึมหนาแน่นกว่าเซลล์ข้างเคียง ทำหน้าที่เป็นเซลล์ต้นกำเนิดอาร์คีโกเนียม (archegonial initial) (ภาพที่ 2.4ก) แบ่งเซลล์ในแนวตั้งกับผิว 3 ด้าน ทำให้ได้เซลล์รอบนอก 3 เซลล์และเซลล์ที่อยู่ตรงกลาง 1 เซลล์ เซลล์ที่อยู่รอบนอก เรียกว่า เซลล์ต้นกำเนิดของชั้นผนัง (jacket initial) และเซลล์แกนกลางระยะแรก (primary axial cell) ตามลำดับ (ภาพที่ 2.4ข) ซึ่งเซลล์แกนกลางระยะแรกจะแบ่งเซลล์ตามขวางกับผิวให้เซลล์ 2 เซลล์ที่มีขนาดใกล้เคียงกัน เรียกว่า เซลล์ต้นกำเนิดฝาปิด (cover initial) อยู่ด้านนอก และเซลล์ตรงกลาง (central cell) อยู่ด้านใน (ภาพที่ 2.4ค) ในขณะที่เซลล์ต้นกำเนิดของชั้นผนังจะแบ่งเซลล์ในแนวตั้งกับผิวให้เซลล์รอบนอก 6 เซลล์ และแต่ละเซลล์จะแบ่งเซลล์ตามขวางกับผิวให้เซลล์ชั้นผนังอาร์คีโกเนียม โดยเซลล์ตรงกลางจะแบ่งเซลล์ตามขวางกับผิวให้เซลล์ชั้นนอกและชั้นในอย่างละเซลล์ เรียกว่า เซลล์เน็คคาเนลระยะแรก (primary neck canal cell) และเซลล์เวนเทอร์ระยะแรก (primary

venter cell) ตามลำดับ (ภาพที่ 2.4ง) ต่อมาเซลล์เน็คคาเนลระยะแรกจะแบ่งเซลล์ตามขวางกับผิวให้เซลล์เน็คคาเนล ในขณะเดียวกันเซลล์ต้นกำเนิดฝาปิดก็จะแบ่งเซลล์ตามขวางกับผิวให้เซลล์ฝาปิดเช่นกัน (ภาพที่ 2.4จ) จากนั้นเซลล์เวนเทอร์ระยะแรกแบ่งเซลล์ตามขวางกับผิวให้เซลล์ด้านนอกและด้านในอย่างละเซลล์ เรียกว่า เซลล์เวนทรัลคาเนล (venter canal cell) และเซลล์ไข่ (egg) ตามลำดับ (ภาพที่ 2.4ฉ) อาร์คีโกเนียมในระยะที่ใกล้จะเจริญเต็มที่จะมีส่วนของเซลล์เน็คคาเนลโผล่พ้นทัลลัสขึ้นมา และเมื่อเจริญเต็มที่เซลล์เน็คคาเนลและเซลล์เวนทรัล-คาเนลจะสลายไป ในขณะเดียวกันเซลล์ฝาปิดก็จะเปิดออกเพื่อให้สเปิร์มเข้าไปผสมกับไข่ได้ง่าย (ภาพที่ 2.4ช) (Schuster, 1984) ลักษณะของอาร์คีโกเนียมที่ใช้ในการจัดจำแนกหมวดหมู่ของฮอร์นเวิร์ต ได้แก่ จำนวนของเซลล์เน็คคาเนล โดยฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* มีจำนวนของเซลล์เน็คคาแนลน้อยกว่าฮอร์นเวิร์ตสกุลอื่นๆ (Renzaglia, 1978)



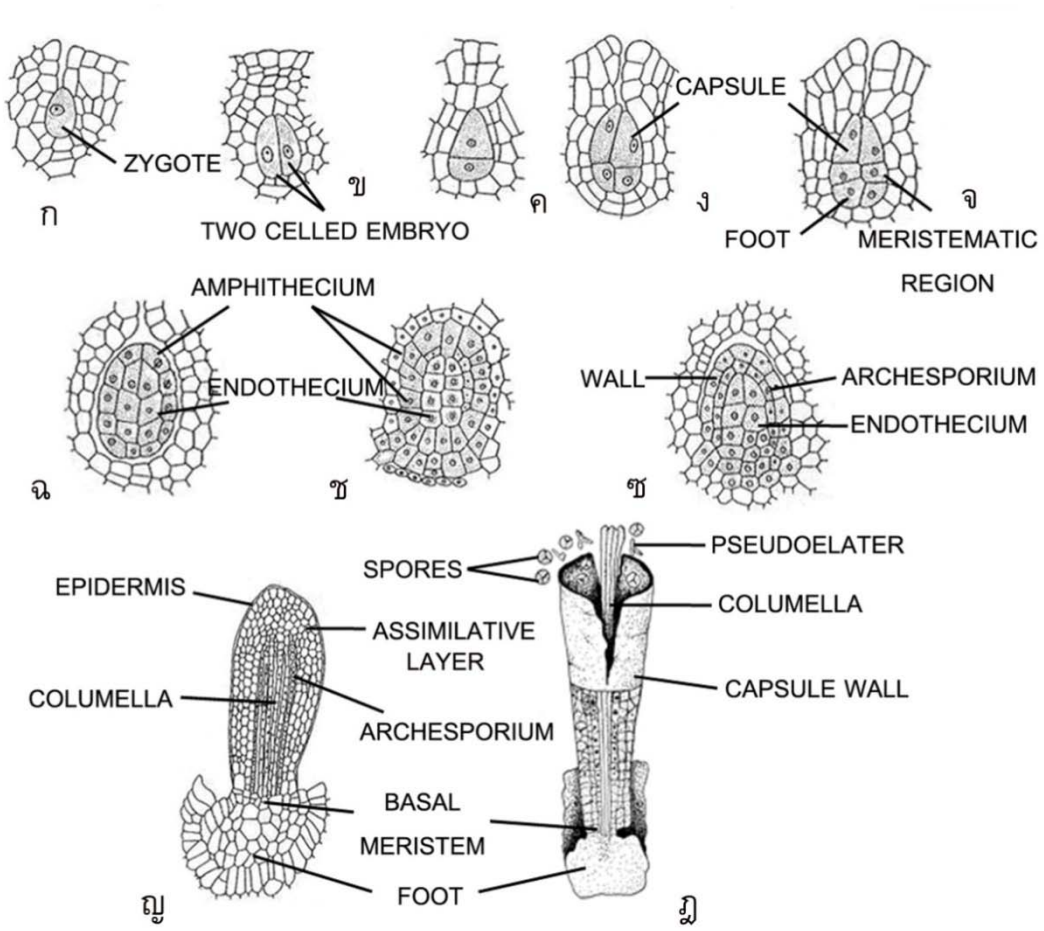
ภาพที่ 2.4 พัฒนาการของอาร์คีโกเนียม ก-ฉ) ไดอะแกรมแสดงขั้นตอนพัฒนาการของอาร์คีโก-เนียม; ช) อาร์คีโกเนียมระยะเจริญเต็มที่ (ดัดแปลงจาก Vashishta *et al.*, 1963)

สปอโรไฟต์

หลังจากปฏิสนธิจะได้เซลล์ดิพอยด์เซลล์แรก เรียกว่า ไซโกต (zygote) (ภาพที่ 2.5ก) ถือว่าเข้าสู่ระยะสปอโรไฟต์ พัฒนาการของไซโกตเกิดขึ้นภายในเวนเทอร์ของอาร์คีโกเนียม การแบ่งเซลล์ของไซโกตเริ่มต้นด้วยการแบ่งเซลล์ในแนวตั้งหรือแนวตามความยาวของอาร์คีโก-เนียมได้เป็น 2 เซลล์ขนาดเท่าๆ กัน (ภาพที่ 2.5ข) จากนั้นทั้ง 2 เซลล์แบ่งในแนวนอนอีกครั้งได้เป็น 4 เซลล์ที่มีขนาดเท่ากันหรือไม่เท่ากันก็ได้ ในกรณีที่เซลล์มีขนาดไม่เท่ากัน เซลล์ด้านบนจะมีขนาดใหญ่และเซลล์ด้านล่างมีขนาดเล็ก (ภาพที่ 2.5ค) ต่อมาเซลล์ทั้ง 4 เซลล์แบ่ง

เซลล์ในแนวตั้ง 1 ครั้ง ทำให้ได้เซลล์ 2 ชั้นๆ ละ 4 เซลล์ (ภาพที่ 2.5ง) โดยเซลล์ชั้นบน 4 เซลล์แบ่งเซลล์ในแนวนอนอีกครั้ง ทำให้ได้เอมบริโอที่ประกอบด้วยเซลล์สูง 3 ชั้นๆ ละ 4 เซลล์ โดยเซลล์ชั้นล่างสุดจะเจริญเป็นฟุต เซลล์ชั้นกลางจะเจริญเป็นเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน และเซลล์ชั้นบนสุดจะเจริญเป็นอับสปอร์ (ภาพที่ 2.5จ) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ของสปอโรไฟต์ทั้ง 3 บริเวณ มีดังนี้

ฟุต (ภาพที่ 2.5ญ และ 2.5ฏ) ทำหน้าที่ลำเลียงธาตุอาหารจากแกมีโตไฟต์มาเลี้ยงสปอโรไฟต์ มีรูปร่างเป็นรูปทรงกลม ฝังอยู่ในเนื้อเยื่อด้านบนของทัลลัส ฟุตประกอบด้วยบริเวณที่เชื่อมระหว่างเนื้อเยื่อสปอโรไฟต์กับเนื้อเยื่อแกมีโตไฟต์ เรียกว่า พลาเซนทา (placenta) และบริเวณที่อยู่ถัดเข้าไปด้านในซึ่งเป็นเนื้อเยื่อสปอโรไฟต์ หรืออาจแบ่งฟุตออกได้เป็น 3 บริเวณ โดยพิจารณาจากขนาด รูปร่าง และโครงสร้างของเซลล์ ได้แก่ บริเวณพลาเซนทาที่อยู่รอบนอก บริเวณชั้นเซลล์ที่มีลักษณะคล้ายเซลล์พาลิเสด (palisade cell) และบริเวณชั้นเซลล์พาเรงคิมาอยู่ด้านใน ซึ่งเห็นได้ชัดในฮอร์นเวิร์ตชนิด *Phaeomegaceros fimbriatus* (Gottsche) Duff et al. (Villarreal & Renzaglia, 2006) บริเวณพลาเซนทา ประกอบด้วยเซลล์ 2 ชนิด คือ เซลล์สปอโรไฟต์อยู่ด้านใน เรียกว่า เซลล์ฮอสทอเรียม (haustorial cell) และเซลล์แกมีโตไฟต์หรือเซลล์ทรานสเฟอร์ (transfer cell) อยู่รอบนอก เซลล์ทั้ง 2 ชนิดนี้มีลักษณะที่แตกต่างกันค่อนข้างชัดเจน คือ เซลลแกมีโตไฟต์จะมีผลึกโปรตีน (protein crytal) จำนวนมากอยู่ภายในเซลล์หรืออาจมีผนังเซลล์ยื่นเข้ามาด้านในเซลล์ ซึ่งพบได้ในฮอร์นเวิร์ตสกุล *Folioceros* และบางชนิดในสกุล *Dendroceros*, *Megaceros*, *Phaeomegaceros*, *Phaeoceros* และ *Notothylas* (Renzaglia *et al.*, 2009) โดยในฮอร์นเวิร์ตชนิด *D. tubercularis* S. Hatt. พบว่าเซลล์แกมีโตไฟต์มีระบบไทลาคอยด์ (thylakoid system) ภายในคลอโรพลาสต์ด้วย ในขณะที่ภายในเซลล์ฮอสทอเรียมมีไซโตพลาซึมค่อนข้างหนาแน่นและมีไมโทคอนเดรียจำนวนมาก และจากการศึกษาทางเคมีของเซลล์ พบว่าเซลล์ทรานสเฟอร์และเซลล์ฮอสทอเรียลมีอาหารสะสมจำพวกโปรตีนอยู่ภายในแวคิวโอล ทำให้ย้อมไม่ติดสี PATAg นอกจากนี้ยังพบว่าเซลล์พาเรงคิมาซึ่งอยู่ติดกับเซลล์ที่ทำหน้าที่ลำเลียงมีอาหารสะสมจำพวกโปรตีนเช่นเดียวกัน โดยอาจเกิดจากสารที่ใช้สังเคราะห์โปรตีนในเซลล์ที่ทำหน้าที่ลำเลียงถูกส่งต่อไปยังเซลล์พาเรงคิมาผ่านทางพลาสโมเดสมาระหว่างเซลล์ที่อยู่ติดกัน (Renzaglia & Ligrone, 1990) หน้าที่ของเซลล์บริเวณพลาเซนทา คือ ช่วยให้การลำเลียงอาหารจากแกมีโตไฟต์ไปยังสปอโรไฟต์มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น เซลล์สปอโรไฟต์ที่อยู่บริเวณพลาเซนทาหรือเซลล์ฮอสทอเรียม และเซลล์สปอโรไฟต์ที่อยู่ถัดเข้ามาด้านในเป็นเซลล์พาเรงคิมามีรูปร่างและขนาดแตกต่างกัน คือ เซลล์ฮอสทอเรียมมีรูปร่างรียาวคล้ายกับเซลล์พาลิเสดและมีขนาดเล็ก ในขณะที่เซลล์สปอโรไฟต์ด้านในมีรูปร่างค่อนข้างกลมถึงกลมและมีขนาดใหญ่ ลักษณะที่มีความแปรผันของฟุต ได้แก่ ขนาด และโครงสร้างในระดับจุลภาค (Renzaglia *et al.*, 2009)

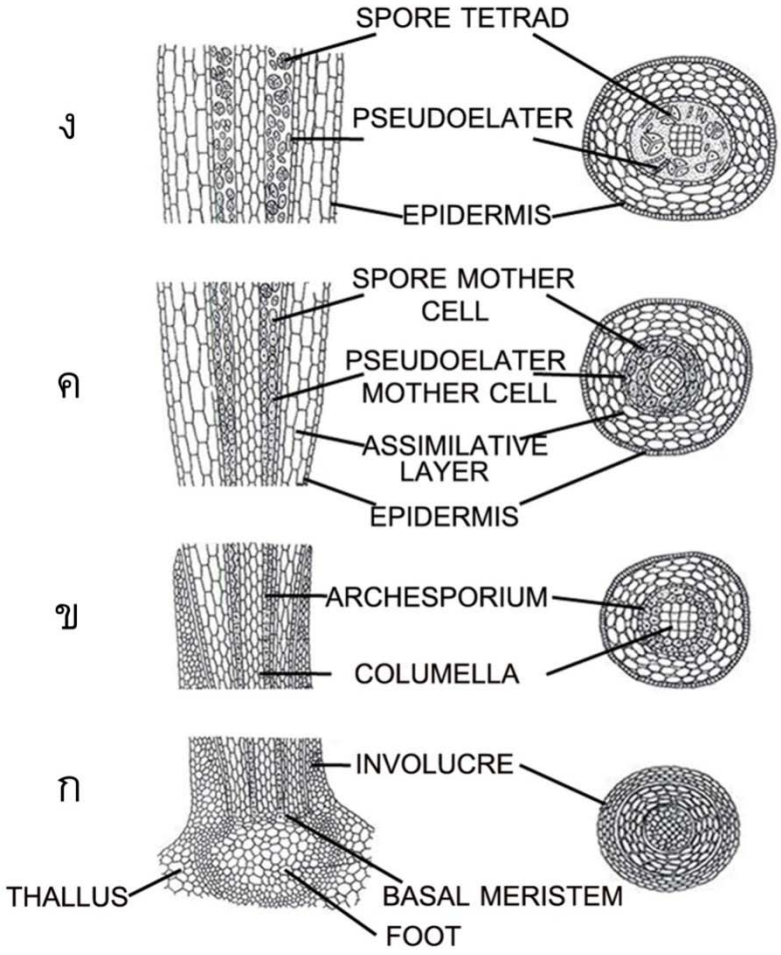


ภาพที่ 2.5 พัฒนาการของสปอโรไฟต์ ก-ญ) ไดอะแกรมแสดงขั้นตอนพัฒนาการของสปอโร-ไฟต์; ฎ) สปอโรไฟต์ระยะเจริญเต็มที่ (ดัดแปลงจาก Vashishta *et al.*, 1963)

เนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน (ภาพที่ 2.5ญ, 2.5ฎ และ 2.6ก) ทำหน้าที่แบ่งเซลล์สร้างอับสปอร์และทยอยสร้างสปอร์ขึ้นมาใหม่ ทำให้อับสปอร์สามารถยืดยาวออกไปได้ตราบเท่าที่ยังมีอาหารและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมและพัฒนาไปเป็นเนื้อเยื่อต้นกำเนิดสปอร์อย่างต่อเนื่องตลอดฤดูการเจริญเติบโต ยกเว้น ฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ซึ่งมีสปอโรไฟต์ขนาดเล็กจึงทำให้บริเวณเนื้อเยื่อเจริญมีระยะการเจริญที่จำกัด พัฒนาการของเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 2 ชั้น คือ เนื้อเยื่อชั้นใน เรียกว่า เอนโดทีเซียม และเนื้อเยื่อชั้นนอกเรียกว่า เอมฟิทีเซียม (ภาพที่ 2.5ฉ) ต่อมาเนื้อเยื่อชั้นเอมฟิทีเซียมจะแบ่งเซลล์ในแนวขนานกับผิวเข้าด้านในให้เซลล์ด้านในเพิ่มขึ้น 1 ชั้น (ภาพที่ 2.5ช) โดยเรียกเนื้อเยื่อชั้นเอมฟิทีเซียมด้านนอกว่า เซลล์ต้นกำเนิดผนังอับสปอร์ ซึ่งจะพัฒนาเป็นชั้นเซลล์ผิวและชั้นเอสสิมิเลทีฟ (assimilative layer) (ภาพที่ 2.5ญ และ 2.6ค) ส่วนเนื้อเยื่อชั้นเอมฟิทีเซียมด้านใน เรียกว่า

อาร์คีสปอร์เรียม (archesporium) (ภาพที่ 2.5ญ และ 2.6ข) ซึ่งจะพัฒนาเป็นเซลล์ต้นกำเนิดสปอร์และซูโดอีเลเตอร์ (spore and pseudoelater mother cell) (ภาพที่ 2.5ฏ และ 2.6ง) ในขณะที่เนื้อเยื่อชั้นเอนโดทีเซียมจะเจริญเป็นแกนกลาง(ภาพที่ 2.5ญ และ 2.5ฏ) ยกเว้นฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* บางชนิด (*N. levieri* Schiffin. ex Steph.) ที่เนื้อเยื่อเอนโดทีเซียมพัฒนาเป็นเซลล์ต้นกำเนิดสปอร์และซูโดอีเลเตอร์ จากนั้นเซลล์ต้นกำเนิดสปอร์จะแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสเพื่อสร้างสปอร์ ในขณะที่เซลล์ต้นกำเนิดซูโดอีเลเตอร์แบ่งเซลล์แบบไมโทซิสเพื่อสร้างซูโดอีเลเตอร์ ซึ่งทำหน้าที่เป็นสารอาหารให้แก่สปอร์และช่วยกระจายสปอร์ (Pande, 1934; Renzaglia, 1978; Long, 2006)

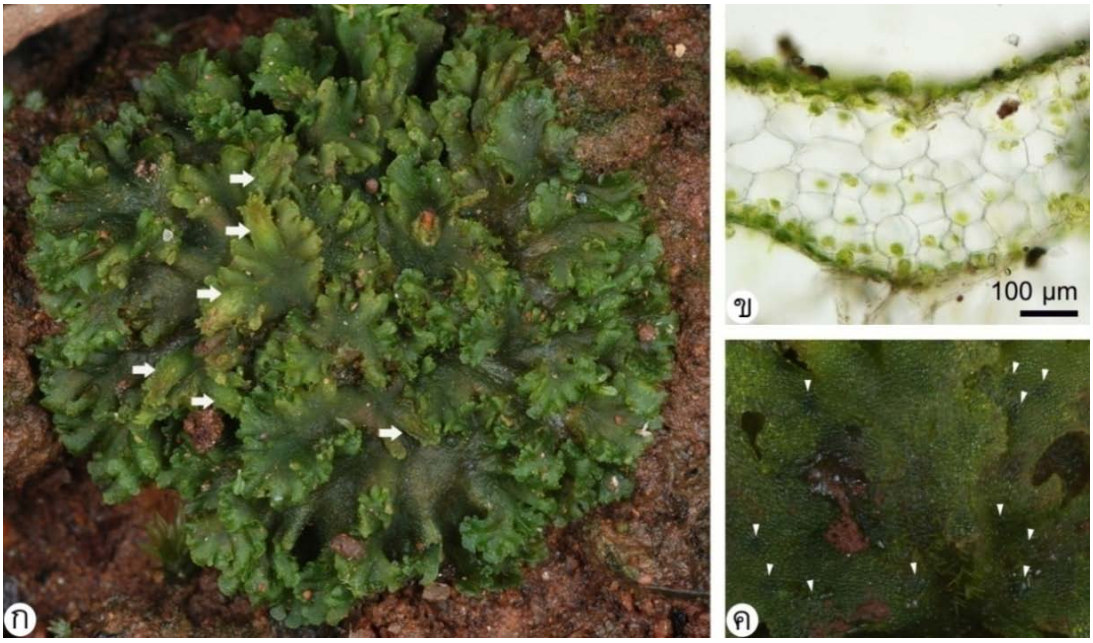
อับสปอร์ ประกอบด้วย ผนังอับสปอร์ แกนกลาง สปอร์ และซูโดอีเลเตอร์ (ภาพที่ 2.5ฏ และ 2.6ง) ผนังอับสปอร์แบ่งเป็น 2 ชั้น คือ ชั้นเซลล์ผิวจำนวน 1 ชั้นซึ่งอาจมีหรือไม่มีปากใบ และชั้นเอสสิมิเลทิฟจำนวน 4-13 ชั้น โดยฮอร์นเวิร์ตสกุล *Megaceros* มีจำนวนชั้นเอสสิมิเล-ทิฟมากที่สุด ผนังอับสปอร์ในฮอร์นเวิร์ตบางชนิดมีเซลล์พิเศษ (special cell) ทำหน้าที่เป็นเซลล์ตามแนวแตก ซึ่งค่อนข้างมีผนังเซลล์บางกว่าเซลล์ผิว จากภาพตัดตามขวางสปอโรไฟต์ที่เจริญเต็มที่ พบว่าเซลล์ผิวมีการพอกทับของสารคิวตินบนผนังเซลล์ทั้งในแนวเส้นสัมผัสและแนวรัศมี และมีขนาดเล็กกว่าเซลล์เอสสิมิเลทีฟ (Renzaglia *et al.*, 2009) แกนกลาง (ภาพที่ 2.6ข) ลักษณะเป็นแท่งยาว อยู่บริเวณกลางอับสปอร์ ส่วนใหญ่ประกอบด้วยเซลล์จำนวน 16 แถว ยกเว้น ฮอร์นเวิร์ตบางชนิด เช่น *Megaceros flagellaris* (Mitt.) Steph. ที่มีจำนวนแกนกลางมากถึง 32 แถว แกนกลางทำหน้าที่เป็นแกนช่วยค้ำจุนอับสปอร์ (Schuster, 1984; Shimamura, 2009) แกนกลางเป็นลักษณะสำคัญที่เคยนำมาใช้ในการจัดจำแนกหมวดหมู่ของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* (Pande, 1934) แต่เนื่องจากแกนกลางของฮอร์นเวิร์ตสกุลนี้อาจเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อมที่เจริญอยู่จึงไม่สามารถนำมาใช้เป็นเกณฑ์ในการจัดจำแนกหมวดหมู่ได้ (Hasegawa, 1979) ส่วนการพัฒนาของสปอร์เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องจากโคนไปยังปลายของสปอโรไฟต์ โดยเซลล์ต้นกำเนิดสปอร์จะเริ่มแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสตรงบริเวณใกล้โคนอับสปอร์และจะแบ่งเซลล์ในระยะต่อไปตรงบริเวณเหนือโคนอับสปอร์ไปเรื่อยๆ จนกระทั่งสิ้นสุดการสร้างสปอร์ได้เป็นสปอร์กลุ่มละสี่ (tetrad) (ภาพที่ 2.6ง) เซลล์ต้นกำเนิดสปอร์มีลักษณะแตกต่างจากเซลล์ต้นกำเนิดซูโดอีเลเตอร์ คือเซลล์ต้นกำเนิดสปอร์มีนิวเคลียสและไซโทพลาซึมในขณะที่เซลล์ต้นกำเนิดซูโดอีเลเตอร์ไม่มี ลักษณะที่มีความแปรผันของสปอร์ ได้แก่ ขนาด สี และลวดลายของผนังสปอร์ ซูโดอีเลเตอร์ในระยะเจริญเต็มที่มีลักษณะเป็นเซลล์เดียว เซลล์ซูโด-อีเลเตอร์เป็นรูปทรงกระบอกหรือรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าที่มีผนังเซลล์เรียบหรือมีลวดลายเป็นแถบ (Renzaglia *et al.*, 2009)



ภาพที่ 2.6 ภาพตัดตามยาวและภาพตัดตามขวางสปอโรไฟต์ ก-ง) ไดอะแกรมแสดงภาพตัดตามยาวและภาพตัดตามขวางสปอโรไฟต์ของฮอร์นเวิร์ต (จาก Vashishta *et al.*, 1963)

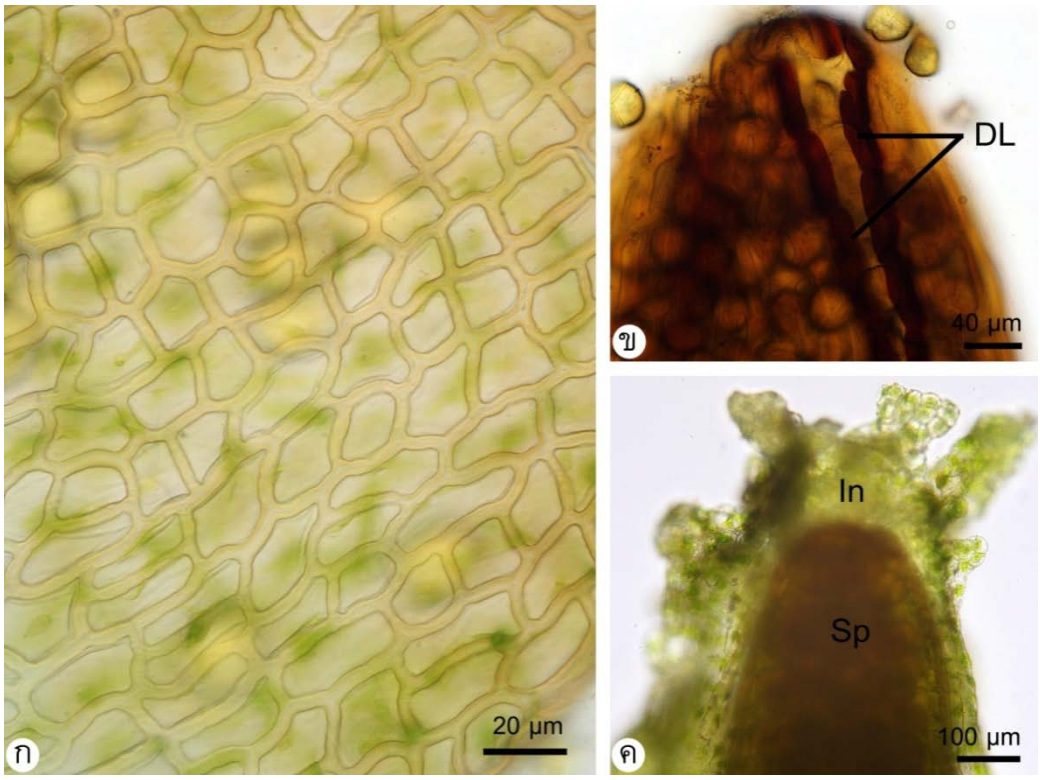
2.2 ข้อมูลทั่วไปของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* Sull.

ฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* Sull. จัดอยู่ในวงศ์ Notothyladaceae ถูกบรรยายขึ้นครั้งแรกโดย Sullivant ในปี 1845 ในเวลาต่อมา Gray (1846) ได้ทำให้ *Notothylas* เป็นชื่อที่ถูกต้องตามกฎการตั้งชื่อทางวิทยาศาสตร์ โดยใช้ฮอร์นเวิร์ตชนิด *N. orbicularis* (Schwein.) Sull. ex A. Gray เป็นตัวอย่างต้นแบบของสกุล ปัจจุบันมีจำนวนสมาชิกประมาณ 25 ชนิด (Chantanaorrapint, 2014a; 2015) พบกระจายในเขตร้อนและเขตอบอุ่นทั่วโลก มีความหลากชนิดมากที่สุดบริเวณคาบสมุทรอินเดีย โดยเฉพาะที่ประเทศอินเดียและเนปาลมีสมาชิกประมาณ 11 ชนิด (Singh, 2002; Villarreal *et al.*, 2010; Peng & Zhu, 2014)



ภาพที่ 2.7 แกมีโตไฟต์ของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ก) ต้นสปอโรไฟต์ (ศรชี้) ที่เจริญอยู่บนต้นแกมีโตไฟต์; ข) ภาพตัดตามขวางทัลลัส; ค) กลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสกุล *Nostoc* (หัวลูกศรชี้) ซึ่งเข้ามาอาศัยภายในเนื้อเยื่อแกมีโตไฟต์

แกมีโตไฟต์ (ภาพที่ 2.7ก) มีลักษณะเป็นแผ่นหรือทัลลัสขนาดเล็ก ทอดราบไปกับพื้นดิน ปลายทัลลัสหยักเว้า สีเขียวใส ไม่มีเส้นกลางทัลลัส ภายในไม่มีโพรงอากาศแบบซิโซ-จีนัส (ภาพที่ 2.7ข) แต่มักพบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสกุล *Nostoc* เข้าไปอยู่อาศัยภายในทัลลัส ซึ่งสามารถมองเห็นได้จากภายนอกมีลักษณะเป็นจุดกลมๆ ขนาดเล็กมีสีคล้ำทึบแสง (ภาพที่ 2.7ค) ด้านล่างทัลลัสมีไรซอยด์จำนวนมาก ลักษณะเป็นเซลล์เดียว ผนังด้านในเรียบหรือมีปุ่มหนาม แกมีโตไฟต์แต่ละเซลล์มีคลอโรพลาสต์ขนาดใหญ่ 1(-3) อัน และส่วนใหญ่มีไพรีนอยด์ 1(-2) อันอยู่ตรงกลาง ยกเว้น *N. dissecta* Steph. และ *N. nepalensis* D.K. Singh และบางครั้งอาจพบเม็ดแป้งกระจายอยู่บริเวณรอบๆ ไพรีนอยด์ (Udar & Singh, 1981) ส่วนใหญ่สร้างเซลล์สืบพันธุ์บนต้นแกมีโตไฟต์เดียวกัน ยกเว้น *N. anaporata* Udar & D.K. Singh, *N. khasiana* Udar & D.K. Singh และ *N. nepalensis* ที่มีรายงานว่าสร้างเซลล์สืบพันธุ์แยกต้น (dioicous) (Udar & Singh, 1981) บางชนิดมีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้างหัวสะสมอาหารที่ด้านล่างหรือขอบทัลลัส ได้แก่ *N. pandei* Udar & V. Chandra แอนเทอริเดียมส่วนใหญ่มีรูปร่างกลม สีเหลืองนวลหรือสีส้ม อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม 2-3(-6) อันต่อกลุ่ม มีก้านชูขนาดสั้น เซลล์ผนังแอนเทอริเดียมมีรูปแบบการจัดเรียงตัวแบบฟีโอเซอรอยด์ ทั้งแอนเทอริเดียมและอาร์คีโกเนียมฝังอยู่ในเนื้อเยื่อด้านบนของทัลลัส (Singh, 2002)



ภาพที่ 2.8 สปอโรไฟต์ของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ก) ผนังอับสปอร์ที่ไม่มีปากใบ; ข) อับสปอร์แตกออกตามแนวแตก (DL); ค) พื้นผิวของอินโวลูเคอ (In = อินโวลูเคอ, Sp = สปอโรไฟต์)

สปอโรไฟต์ (ภาพที่ 2.7ก) แบ่งเป็นสองส่วนคือ ส่วนที่อยู่เหนือทัลลัส เรียกว่า อับสปอร์ มีขนาดเล็กกว่าฮอร์นเวิร์ตสกุลอื่นๆ ยาวประมาณ 1.5-4(-5.5) มิลลิเมตร รูปกระสวยหรือรูปทรงกระบอก ส่วนใหญ่อยู่ภายในอินโวลูเคอเกือบทั้งต้นกระทั่งถึงระยะที่สปอโรไฟต์เจริญเต็มที่วางตัวทอดนอนหรือยกตัวขึ้นจากพื้นผิวด้านบนของทัลลัส ส่วนใหญ่ผิวของอินโวลูเคอไม่เรียบมักมีสันตามยาวหรือแผ่นคล้ายครีบยื่นขึ้นมา (ภาพที่ 2.8ค) เมื่อสปอโรไฟต์เจริญเต็มที่อินโวลูเคอจะฉีกขาดเพื่อให้อับสปอร์แตกออก อับสปอร์ของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* บางชนิดแตกตามยาวจากปลายลงมาทางด้านล่างตามแนวแตก (dehiscence line) แยกออกเป็น 2 ซีกอย่างเป็นระเบียบ (ภาพที่ 2.8ข) และบางชนิดอับสปอร์แตกไม่เป็นระเบียบ ผนังอับสปอร์ไม่มีปากใบ (ภาพที่ 2.8ก) ในระยะที่เจริญเต็มที่จะมีสีน้ำตาลอ่อนถึงเข้ม ผนังอับสปอร์หนา 2-5 เซลล์ ส่วนที่ฝังอยู่ในทัลลัส เรียกว่า ฟุต มีรูปร่างเป็นรูปทรงกลม บริเวณที่เชื่อมระหว่างอับสปอร์กับฟุตมีเนื้อเยื่อเจริญทำหน้าที่แบ่งเซลล์ให้เนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ของอับสปอร์ เรียกว่า เนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน แกนกลางภายในอับสปอร์อาจแบ่งได้ 3 แบบ คือ 1) พบแกนกลางตลอดจนถึงระยะกระจายสปอร์ 2) พบแกนกลางเฉพาะในระยะที่สปอโรไฟต์ยังเจริญไม่เต็มที่ และสลายไปใน

ระยะกระจายสปอร์ และ 3) ไม่พบแกนกลาง ซูโดอีเลเตอร์พบในทุกชนิด แบ่งได้ 2 แบบ คือ พบซูโดอีเลเตอร์ตลอดจนถึงระยะกระจายสปอร์ และพบซูโดอีเลเตอร์เฉพาะในระยะที่สปอโร-ไฟต์ยังเจริญไม่เต็มที่ และสลายไปในระยะกระจายสปอร์เพื่อไปทำหน้าที่เป็นสารอาหารให้แก่สปอร์ ส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นเซลล์เดียว รูปทรงกระบอกหรือรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า ผนังด้านในเรียบหรือมีลวดลายเป็นแถบสีน้ำตาลไม่เป็นระเบียบ สปอร์มีสีเหลืองไปจนถึงสีดำ สปอร์ด้านใกล้แกนรูปพีระมิดสามเหลี่ยมเตี้ยๆ มักมีสันสามแฉกชัดเจน บางชนิดมีรูตรงกลางในแต่ละด้าน ส่วนสปอร์ด้านไกลแกนโค้งหรือกลม บางชนิดมีโหนกหรือปุ่มขนาดใหญ่ตรงกลาง (Udar & Singh, 1981; Hasegawa, 1994; Singh, 2002; Frey & Stech, 2005; Renzaglia *et al.*, 2009; Villarreal *et al.*, 2010)

2.3 ฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ในประเทศไทย

การศึกษาฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ในประเทศไทยที่ผ่านมา พบว่ามีรายงานการพบฮอร์นเวิร์ตสกุลนี้ครั้งแรกในประเทศไทยโดย Hesagawa (1979) ได้ศึกษาตัวอย่างแห้งของฮอร์นเวิร์ตที่เก็บรวบรวมจากประเทศไทยโดยนักพฤกษศาสตร์ชาวญี่ปุ่น แต่ส่วนใหญ่ตัวอย่างไม่สมบูรณ์จึงไม่สามารถระบุชนิดได้ มีเฉพาะตัวอย่างที่เก็บจากดอยตุง จังหวัดเชียงรายเท่านั้นที่ได้ถูกตั้งชื่อและบรรยายลักษณะให้เป็นฮอร์นเวิร์ตชนิดใหม่ของโลก มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *N. depressipora* J. Haseg. หลังจากนั้นก็ไม่มีรายงานการศึกษาฮอร์นเวิร์ตสกุลนี้ในประเทศไทยอีก จนกระทั่งในปี 2008 ได้มีการจัดทำบัญชีรายชื่อลิเวอร์เวิร์ตและฮอร์นเวิร์ตในประเทศไทย ซึ่งมีรายงานการพบฮอร์นเวิร์ตสกุลนี้เพิ่มขึ้นอีก 3 ชนิด คือ *N. javanica* (Sande Lac.) Gottsche, *N. levieri* และ *N. orbicularis* (Lai *et al.*, 2008) ปัจจุบัน Chantanaorrapint (2014a, 2015) ได้บรรยายลักษณะฮอร์นเวิร์ตชนิดใหม่ของโลกเพิ่มเติมอีก 2 ชนิด คือ *N. irregularis* Chantanaorr. และ *N. frahmii* Chantanaorr. และจากการศึกษาทบทวนฮอร์น-เวิร์ตในประเทศไทยพบฮอร์นเวิร์ตสกุลนี้ที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อนในประเทศไทย 2 ชนิด คือ *N. pandei* และ *N. yunnanensis* T. Peng & R.L. Zhu จากการศึกษาทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้องและสำรวจเก็บรวบรวมตัวอย่างจากภาคสนามคาดว่าในประเทศไทยน่าจะมีฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ไม่น้อยกว่า 8 ชนิด

บทที่ 3

วิธีการศึกษา

3.1 วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี

1. วัสดุ อุปกรณ์สำหรับใช้ในการเก็บตัวอย่าง
   1.1 ถุงพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่าง
   1.2 ปากกาสำหรับบันทึกข้อมูลลงบนถุงเก็บตัวอย่าง
   1.3 มีดสำหรับแซะตัวอย่าง
   1.4 สมุดบันทึก ดินสอ
   1.5 กล้องถ่ายรูป
   1.6 เลนส์ขยาย (hand lens) กำลังขยาย 10-20 เท่า

2. วัสดุ อุปกรณ์สำหรับใช้ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และตรวจสอบหาชื่อวิทยาศาสตร์
   2.1 กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงยี่ห้อ Olympus รุ่น CH 30
   2.2 กล้องสเตอริโอยี่ห้อ Olympus รุ่น SZ 51
   2.3 กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงยี่ห้อ Olympus รุ่น BX-51 พร้อมอุปกรณ์ถ่ายภาพ
   2.4 กล้องสเตอริโอยี่ห้อ Olympus รุ่น BZX12 พร้อมอุปกรณ์ถ่ายภาพ
   2.5 ปากคีบ
   2.6 หลอดหยด
   2.7 เข็มเขี่ย
   2.8 ใบมีดโกน
   2.9 แผ่นสไลด์และกระจกปิดสไลด์
   2.10 จานเลี้ยงเชื้อ
   2.11 เอกสารทางพฤกษอนุกรมวิธานที่เกี่ยวข้อง

3. วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมีสำหรับใช้ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสปอร์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM)
   3.1 เอทิลแอลกอฮอล์ 70%, 90% และ100%
   3.2 เทปกาวสอง 2 หน้า
   3.3 stub

3.4 ปากคีบ

3.5 กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ

3.6 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด รุ่น FEI Quanta 400

4. วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมีสำหรับใช้ในการศึกษาลักษณะทางกายวิภาค

4.1 วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมีสำหรับใช้ในการทำสไลด์แบบโฮลเม้านท์ (whole mount)

4.1.1 ปากคีบ

4.1.2 หลอดหยด

4.1.3 เข็มเขี่ย

4.1.4 ใบมีดโกน

4.1.5 แผ่นสไลด์และกระจกปิดสไลด์

4.2 วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมีสำหรับใช้ในการทำสไลด์แบบถาวร

4.2.1 ตู้หลอมพาราฟิน (paraffin oven)

4.2.2 เครื่องฝังพาราฟิน (paraffin embedding center)

4.2.3 เครื่องตัดเนื้อเยื่อแบบหมุน (rotary microtome)

4.2.4 เครื่องดูดอากาศออกจากเนื้อเยื่อ (vacuum pump)

4.2.5 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath)

4.2.6 แม่แบบโลหะสำหรับฝังชิ้นส่วนพืช (embedding mold)

4.2.7 บล็อกพลาสติกสำหรับวางตัวอย่าง

4.2.8 ตะแกรงวางแผ่นสไลด์

4.2.9 ขวดแก้วสำหรับย้อมสี (coplin jar)

4.2.10 ขวด vial หรือ ขวดยาหม่องสำหรับเก็บตัวอย่าง

4.2.11 แผ่นสไลด์และกระจกปิดสไลด์

4.2.12 พู่กัน

4.2.13 เข็มเขี่ย

4.2.14 ใบมีดโกน

4.2.15 พาราพลาสต์ (paraplast)

4.2.16 กลีเซอรีน เจลลี่ (Glycerin jelly)

4.2.17 น้ำกลั่น

4.2.18 น้ำยาดองสภาพ เอฟ เอ เอ สูตร 1 (Formalin-Acetic acid-Alcohol: FAA I)

4.2.19 น้ำยาดึงน้ำออกจากเซลล์ (dehydrating solution) 12 ลำดับ

4.2.20 สีย้อมฟาสต์กรีน (fast green)

4.2.21 สีย้อมซาฟรานิน (safranin)

4.2.22 สารตัวกลางสำหรับปิดแผ่นสไลด์ (mounting media)

5. วัสดุ อุปกรณ์สำหรับเก็บรักษาตัวอย่าง

5.1 ซองกระดาษสีน้ำตาลขนาด 10 ×15 เซนติเมตร

5.2 แผ่นป้ายบันทึกข้อมูล

3.2 วิธีการศึกษา

1. การตรวจเอกสาร

1.1 ศึกษาค้นคว้าเอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ในประเทศไทยและประเทศเพื่อนบ้าน และการศึกษาสัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ที่ผ่านมา

1.2 รวบรวมเอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาการสร้างและการพัฒนาของสปอร์และเนื้อเยื่อภายในอับสปอร์

2. การเก็บตัวอย่างในภาคสนาม

2.1 ศึกษาเขตการกระจายพันธุ์ของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* จากเอกสารที่เคยมีรายงานการสำรวจพบฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ในประเทศไทย

2.2 สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ในภาคสนามตามวิธีการของ Schofield (1985) ในพื้นที่ต่างๆ ตามที่เคยมีรายงานการสำรวจพบในประเทศไทย

2.3 บันทึกข้อมูลเกี่ยวกับตัวอย่าง ได้แก่ ถิ่นที่อยู่ และลักษณะวิสัยของแกมีโตไฟต์และสปอโรไฟต์ ระบุพิกัดตำแหน่งของสถานที่เก็บตัวอย่าง วันเดือนปีที่เก็บ และถ่ายภาพประกอบ

2.4 ตัวอย่างสดที่เก็บรวบรวมได้ตาม 2.2 ส่วนหนึ่งจัดทำเป็นตัวอย่างแห้ง เก็บรักษาไว้ที่พิพิธภัณฑ์พืชแห่งมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ (PSU) ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และอีกส่วนหนึ่งแบ่งไปใช้ศึกษาในห้องปฏิบัติการ

3. การศึกษาในห้องปฏิบัติการ

3.1 นำตัวอย่างของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* มาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาอย่างละเอียดด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงยี่ห้อ Olympus รุ่น CH 30 และกล้องสเตอริโอยี่ห้อ Olympus รุ่น SZ 51

3.1.1 ศึกษาส่วนของแกมีโตไฟต์ ดังนี้

- วัดขนาดทัลลัส ความกว้างและความลึกของโลบ ชนิดละ 15 แผ่น
- วัดขนาดเซลล์ผิว ชนิดละ 50 เซลล์
- วัดขนาดแอนเทอริเดียม ชนิดละ 10 อัน
- วัดขนาดความยาวของก้านชูแอนเทอริเดียม ชนิดละ 10 ก้าน
- วัดขนาดเซลล์ผนังแอนเทอริเดียม ชนิดละ 10 อัน และเซลล์ก้านชูแอนเทอริ-เดียม ชนิดละ 10 ก้าน

3.1.2 ศึกษาส่วนของสปอโรไฟต์ ดังนี้

- วัดขนาดความยาวของอับสปอร์และแกนกลาง ชนิดละ 15 อัน
- วัดขนาดเซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นนอก เซลล์พิเศษตามแนวแตก และเซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นใน ชนิดละ 20 เซลล์
- วัดขนาดความยาวของแกนระหว่างขั้วและความยาวของแกนตามแนวศูนย์สูตรของสปอร์ ชนิดละ 25 อัน
- วัดขนาดโหนกหรือปุ่มขนาดใหญ่บนผิวสปอร์ด้านไกลแกน ชนิดละ 20 อัน
- วัดขนาดรูบนผิวสปอร์ด้านใกล้แกน ชนิดละ 6-9 รู
- วัดขนาดเซลล์แกนกลางและเซลล์ซูโดอีเลเตอร์ ชนิดละ 20 เซลล์

3.2 จัดทำคำบรรยายลักษณะสัณฐานวิทยาของฮอร์นเวิร์ตแต่ละชนิด

3.3 ตรวจสอบหาชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง โดยใช้รูปวิธานจำแนกชนิดจากเอกสารทางอนุกรมวิธานที่เกี่ยวข้อง

3.4 นำตัวอย่างของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ขณะที่ยังสดอยู่มาทำการศึกษาลักษณะทางกายวิภาคอย่างละเอียดด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงยี่ห้อ Olympus รุ่น CH 30 และกล้องสเตอริโอยี่ห้อ Olympus รุ่น SZ 51

3.4.1 ศึกษาส่วนของแกมีโตไฟต์ (สไลด์แบบโฮลเม้านท์) ดังนี้

- นำทัลลัสมาตัดเป็นชิ้นบางๆ ตามขวาง ทำการวัดขนาดเซลล์ผิวทัลลัสและเนื้อเยื่อชั้นในของทัลลัส ชนิดละ 30 เซลล์ พร้อมทั้งดูความหนาของทัลลัสบริเวณกลางทัลลัสและบริเวณปลายหรือขอบของทัลลัส

3.4.2 ศึกษาส่วนของสปอโรไฟต์ (สไลด์แบบถาวร) ดังนี้

- นำสปอโรไฟต์มาตัดเป็นชิ้นบางๆ ทั้งตามขวางและตามยาว ทำการวัดขนาดเซลล์อินโวลูเคอ เซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นนอก เซลล์เอสสิมิเลทีฟ เซลล์แกนกลาง เซลล์ซูโดอีเลเตอร์ และเซลล์ฟุตบริเวณพลาเซนทาและบริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน ชนิดละ 30 เซลล์ วัดขนาดฟุต ชนิดละ 10 อัน ดูความหนาของอินโวลูเคอและผนังอับสปอร์ นับจำนวนเซลล์แกนกลาง ดูการจัดเรียงตัวของชั้นสปอร์และซูโดอีเลเตอร์ และนับจำนวนสปอร์และเซลล์ซูโดอีเลเตอร์ในแต่ละชั้นทั้งบริเวณโคนอับสปอร์และเหนือโคนอับสปอร์ขึ้นไป

3.5 นำตัวอย่างของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ขณะที่ยังสดอยู่มาทำการศึกษารูปแบบการเจริญและพัฒนาของสปอโรไฟต์ (สไลด์แบบถาวร) ดังนี้

3.5.1 นำสปอโรไฟต์ที่อยู่ในระยะก่อนกระจายสปอร์มาตัดเป็นชิ้นบางๆ ตามขวาง สังเกตรูปแบบการเจริญและพัฒนาของสปอโรไฟต์จากภาพตัดตามขวางอับสปอร์ตรงตำแหน่งเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานขึ้นไป

3.5.2 นับจำนวนเซลล์และจำนวนชั้นเซลล์ และดูรูปแบบการแบ่งเซลล์ของเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานตั้งแต่ระยะแรกจนถึงระยะสิ้นสุดการเจริญและพัฒนา

3.6 การทำสไลด์แบบโฮลเม้านท์

3.6.1 นำชิ้นส่วนทัลลัสที่ทำความสะอาดแล้วมาตัดให้เป็นชิ้นบาง โดยใช้ใบมีดโกนที่คม แล้วนำมาศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง บันทึกลักษณะ และถ่ายภาพ

3.7 การทำสไลด์แบบถาวร ตามวิธีของ ละม้าย ทองบุญ (2552) โดยดัดแปลงวิธีการบางขั้นตอนดังนี้

3.7.1 การรักษาสภาพเซลล์ นำตัวอย่างพืชมาล้างทำความสะอาด แล้วนำตัวอย่างพืชมาคงสภาพด้วยน้ำยา เอฟ เอ เอ สูตร 1 (ภาคผนวก ก) นำไปดูดอากาศออกจากเนื้อเยื่อโดยใช้เครื่องดูดอากาศเป็นเวลา 10-15 นาที และแช่ทิ้งไว้อย่างน้อย 18 ชั่วโมง

3.7.2 การดึงน้ำออกจากเซลล์ โดยแช่ชิ้นส่วนตัวอย่างในน้ำยาดึงน้ำออกจากเซลล์ 12 ลำดับ (ภาคผนวก ก ตารางที่ 1) เริ่มจากน้ำยาลำดับที่ 5 ใช้เวลา 2 ชั่วโมงในแต่ละลำดับ

3.7.3 การแทรกซึมและการฝังชิ้นส่วนตัวอย่างลงในบล็อกพาราฟิน นำชิ้นส่วนตัวอย่างจากน้ำยาหมายเลข 12 มาแทรกด้วยพาราฟินหลอม จากนั้นนำมาฝังลงในพาราฟินบริสุทธิ์ในเครื่องฝังพาราฟิน ปล่อยให้พาราฟินแข็งตัวแล้วนำไปติดบนบล็อกพลาสติก

3.7.4 การตัดชิ้นส่วนพืชให้เป็นชิ้นบาง นำบล็อกพาราฟินที่มีชิ้นตัวอย่างไปตกแต่งบล็อกแล้วนำไปตัดให้เป็นชิ้นบาง โดยมีความหนา 10 ไมครอน ด้วยเครื่องตัดเนื้อเยื่อแบบหมุนให้เป็นชิ้นต่อเนื่อง (serial sections)

3.7.5 การติดชิ้นบางบนแผ่นสไลด์ ใช้ใบมีดโกนที่คมตัดชิ้นบางที่เป็นชิ้นต่อเนื่องให้ได้ขนาดตามที่ต้องการ นำไปลอยในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่มีน้ำกลั่นผสมอยู่กับกลีเซอรีน เจลลี่ โดยมีอุณหภูมิประมาณ 42 องศาเซลเซียส จากนั้นใช้แผ่นสไลด์ช้อนแผ่นชิ้นบางที่ยืดขยายแล้วนำไปเข้าตู้อบนาน 2-3 วัน และเก็บรักษาแผ่นสไลด์ที่ได้ในกล่องใส่สไลด์เพื่อการย้อมสีต่อไป

3.7.6 การย้อมสีและผนึกชิ้นบางบนสไลด์ นำสไลด์ที่ติดชิ้นบางมาผ่านกระบวนการละลายพาราฟิน (ภาคผนวก ก) แล้วนำมาย้อมด้วยสีซาฟานินและฟาสต์กรีน จากนั้นนำมาศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง บันทึกลักษณะ และถ่ายภาพ

3.8 การศึกษาลวดลายของผนังสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด มีขั้นตอนดังนี้

3.8.1 นำตัวอย่างแห้งของสปอโรไฟต์ในระยะเจริญเต็มที่มาติดบน stub โดยใช้เทปกาว 2 หน้าเป็นตัวยึด

3.8.2 นำตัวอย่างไปฉาบทองแล้วนำไปศึกษาโครงสร้างและลวดลายผนังสปอร์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด รุ่น FEI Quanta 400

3.9 จัดทำคำบรรยายลักษณะทางกายวิภาคของส่วนต่างๆ ของฮอร์นเวิร์ตแต่ละชนิด

4. อภิปรายผลพร้อมทั้งสรุปผลการศึกษา และจัดทำรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

บทที่ 4

ผลการศึกษา

จากการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ในภาคสนามจากพื้นที่ต่างๆ ของประเทศไทย สามารถเก็บรวบรวมได้ทั้งสิ้นจำนวน 7 ชนิด คือ *N. frahmii* Chantanaorr., *N. irregularis* Chantanaorr, *N. javanica* (Sande Lac.) Gottsche, *N. levieri* Schiffin. ex Steph., *N. orbicularis* (Schwein.) Sull. ex A. Gray, *N. pandei* Udar & V. Chandra, และ *N. yunnanensis* T. Peng & R.L. Zhu ในจำนวนนี้จัดเป็นฮอร์นเวิร์ตที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อนในประเทศไทย 2 ชนิด คือ *N. pandei* และ *N. yunnanensis* และมีหนึ่งชนิดที่ไม่สามารถระบุชนิดได้ ส่วนใหญ่พบทางภาคเหนือของประเทศไทย ยกเว้น *N. javanica* ที่พบได้ทั่วประเทศ (ตารางที่ 4.1) แต่อย่างไรก็ตามในการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างครั้งนี้ไม่พบ *N. depressispora* J. Haseg. ซึ่งเคยมีรายงานว่าพบที่ดอยตุง จังหวัดเชียงราย

ตารางที่ 4.1 รายชื่อและการกระจายพันธุ์ของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ที่สำรวจและเก็บรวบรวมได้จากพื้นที่ต่างๆ ทั่วประเทศไทย (เขตพรรณพฤกษชาติของประเทศไทย: N = ภาคเหนือ, NE = ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ, E = ภาคตะวันออก, SE = ภาคตะวันออกเฉียงใต้, C = ภาคกลาง, SW = ภาคตะวันตกเฉียงใต้, PEN = เขตคาบสมุทรไทย)

ชื่อวิทยาศาสตร์	เขตพรรณพฤกษชาติของประเทศไทย						
	N	NE	E	SE	C	SW	PEN
Notothylas frahmii Chantanaorr.	✓						
Notothylas irregularis Chantanaorr.	✓						
Notothylas javanica (Sande Lac.) Gottsche	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Notothylas levieri Schiffin. ex Steph.	✓	✓					
Notothylas orbicularis (Schwein.) Sull. ex A. Gray	✓						
Notothylas pandei Udar & V. Chandra	✓						
Notothylas yunnanensis T. Peng & R.L. Zhu	✓	✓					

4.1 ถิ่นที่อยู่และนิเวศวิทยา

ฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ส่วนใหญ่มักเจริญอยู่บนพื้นดินที่มีความชื้นและมีแร่ธาตุอุดมสมบูรณ์ บริเวณพื้นที่เปิดโล่งและมักถูกรบกวนโดยกิจกรรมต่างๆ ของมนุษย์ เช่น แปลงสวนผักหรือสวนดอกไม้ ทางเดินบริเวณน้ำตก ริมถนนที่มีความชื้นและแสงแดดส่องถึง ชนิดที่พบในบริเวณนี้ ได้แก่ *N. frahmii*, *N. irregularis*, *N. javanica*, *N. orbicularis* และ *N. yunnanensis* ส่วนใน *N. levieri* และ *N. pandei* มักเจริญอยู่บนก้อนหินที่มีความชื้นและมีปริมาณการสะสมของแร่ธาตุไม่มากนัก บริเวณพื้นที่ร่มและมีแสงแดดรำไรและมักพบในป่าธรรมชาติหรือพื้นที่ที่ไม่ค่อยถูกรบกวนจากกิจกรรมของมนุษย์ เช่น ก้อนหินบริเวณน้ำตกหรือลำธาร ก้อนหินที่อยู่ใต้ต้นไม้ใหญ่

จากการศึกษาพบว่าฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ในประเทศไทยทุกชนิดเจริญในช่วงฤดูฝนตั้งแต่เดือนพฤษภาคมถึงเดือนธันวาคม ที่ความสูงตั้งแต่ 200 ถึง 2,300 เมตรจากระดับน้ำทะเล ป่าไม้เป็นชนิดป่าดิบแล้ง และป่าดิบเขา

ตัวอย่างฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ที่เก็บรวบรวมได้จากในภาคสนามได้ถูกนำมาศึกษาทั้งทางด้านสัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์อย่างละเอียด ตรวจสอบหาชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง และเขียนคำบรรยายลักษณะ ดังแสดงด้านล่าง

4.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ทั้ง 7 ชนิด

4.2.1 *Notothylas frahmii* Chantanaorr.

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

1. แกมีโตไฟต์ ศึกษาโครงสร้างต่างๆ ดังนี้

1.1 ทัลลัส

ทัลลัสเป็นแผ่นขนาดเล็ก เจริญทอดขนานหรือแนบชิดไปกับพื้นดิน มีสีเขียวอ่อนถึงสีเขียวเข้ม ไม่มีเส้นกลางทัลลัส มีการแยกสาขาเป็นคู่สั้นๆ ชิดกัน ไม่เป็นระเบียบ รูปร่างคล้ายพัด (fan shaped) ทัลลัสหยักเว้าลึกและค่อนข้างแคบ ไม่เป็นระเบียบ (ภาพที่ 4.1ก) โลบลึกประมาณ 0.2-2.1 มิลลิเมตร โลบกว้างประมาณ 0.2-2.2 มิลลิเมตร ทัลลัสมีขนาด 1.5-6.0 × 3.5-6.0 มิลลิเมตร มักเจริญซ้อนทับกันเป็นแผ่นเกือบกลม พื้นผิวทัลลัสด้านบนค่อนข้างเรียบ ในขณะที่พื้นผิวด้านล่างมักไม่เรียบ เนื่องจากมักมีสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสกุล *Nostoc* เข้าไปอยู่อาศัยภายในเนื้อเยื่อของแกมีโตไฟต์ ลักษณะเป็นจุดกลมๆ ขนาดเล็กมีสีคล้ำทึบแสงกระจายอย่างไม่เป็นระเบียบทั่วทั้งทัลลัส

เซลล์ผิวของทัลลัส (ภาพที่ 4.1ง) เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส รูปสี่เหลี่ยมข้าวหลามตัด รูปห้าเหลี่ยม หรือรูปหกเหลี่ยม ขนาด 26.4-49.1 × 32.4-73.2 ไมโครเมตร ภายในเซลล์ผิวแต่ละเซลล์มีคลอโรพลาสต์ขนาดใหญ่ 1 อันต่อเซลล์ ที่มีไพรีนอยด์ 1 อันอยู่ตรงกลาง ลักษณะของคลอโรพลาสต์ในตัวอย่างสดที่เพิ่งเก็บมาจะมีขนาดใหญ่เต็มเซลล์ แต่เมื่อเก็บไว้เป็นเวลานานหรือสูญเสียน้ำคลอโรพลาสต์จะหดตัว โดยการคอดเว้าเข้าด้านใน ทำให้คลอโร-พลาสต์มีขนาดเล็กลงและมีรูปร่างเปลี่ยนไปจากเดิม เช่น รูปร่างคล้ายรูปดาว รูปร่างคล้ายรูปกระสวย รูปร่างกลมรี

1.2 อินโวลูเคอ

อินโวลูเคอเป็นรูปกระสวยหรือรูปทรงกระบอก (ภาพที่ 4.1ค) ขนาดประมาณ 0.4-1.2 × 1.3-2.7 มิลลิเมตร เซลล์ผิวของอินโวลูเคอมีรูปร่างและมีลักษณะเช่นเดียวกับเซลล์ผิวทัลลัส ส่วนปลายของอินโวลูเคอมักมีลักษณะเป็นสันตามยาวหรือแผ่นคล้ายครีบยื่นขึ้นมา แต่บริเวณส่วนโคนที่ติดกับทัลลัสมักเรียบหรือมีสันเตี้ยๆ อินโวลูเคอเจริญขึ้นมาห่อหุ้มสปอโรไฟต์ทั้งต้นก่อนถึงระยะกระจายสปอร์ เจริญทอดนอนหรือยกตัวขึ้นจากทัลลัสเล็กน้อย

1.3 แอนเทอริเดียม ไม่พบ

1.4 ไรซอยด์

ไรซอยด์เจริญยื่นยาวออกมาจากผิวทัลลัสด้านล่างจำนวนมาก ลักษณะเป็นเซลล์เดียว ผนังเซลล์ด้านในเรียบหรือมีปุ่มหนาม มีสีน้ำตาลอ่อนหรือไม่มีสี (ภาพที่ 4.1ข)

2. สปอโรไฟต์ ศึกษาโครงสร้างต่างๆ ดังนี้

2.1 อับสปอร์

อับสปอร์เป็นรูปกระสวยหรือรูปทรงกระบอก ขนาด 0.3-0.8 × 1.2-2.1 มิลลิเมตร ถูกห่อหุ้มอยู่ภายในอินโวลูเคอก่อนถึงระยะกระจายสปอร์ (ภาพที่ 4.1ก) อับสปอร์แตกตามยาวจากปลายลงมาด้านล่างตามแนวแตก แยกออกเป็น 2 ซีกอย่างเป็นระเบียบ เนื่องจากผนังอับสปอร์มีเซลล์พิเศษตามแนวแตก ผนังอับสปอร์ไม่มีปากใบ ผนังอับสปอร์ในระยะสปอโรไฟต์เจริญไม่เต็มที่จะมีสีเขียวอ่อน และจะมีสีเหลืองแกมน้ำตาลในระยะสปอโรไฟต์เจริญเต็มที่

เซลล์ผิวของผนังอับสปอร์หรือผนังอับสปอร์ชั้นนอก เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส หรือรูปห้าเหลี่ยม ขนาด 21.0-49.4 × 41.3-93.1 ไมโครเมตร ผนังเซลล์หนา 3.4-7.7 ไมโครเมตร ช่องว่างภายในเซลล์ ขนาด 15.7-45.3 × 39.6-87.1 ไมโครเมตร เซลล์ผิวของผนังอับสปอร์ชั้นนอกแต่ละเซลล์จะมีคลอโรพลาสต์อยู่ภายใน 1 อันต่อเซลล์ ซึ่งต่อมาได้สลายไปเมื่อสปอโรไฟต์เจริญเต็มที่ (ภาพที่ 4.2ช)

เซลล์พิเศษตามแนวแตก มีจำนวน 2-3 แถว สีน้ำตาลแดง และมีผนังเซลล์หนากว่าเซลล์ผิวของผนังอับสปอร์ชั้นนอก เซลล์เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า ขนาด 15.8-39.3 × 29.3-80.3 ไมโครเมตร ผนังเซลล์หนา 2.4-15.0 ไมโครเมตร ช่องว่างภายในเซลล์ ขนาด 9.0-35.9 × 20.9-74.0 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4.2ซ)

2.2 แกนกลาง

พบแกนกลางเฉพาะในระยะที่สปอโรไฟต์ยังเจริญไม่เต็มที่ และสลายไปในระยะกระจายสปอร์ แกนกลางมีลักษณะเป็นแท่งยาว ยาวประมาณ 0.4-1.3 มิลลิเมตร ซึ่งประกอบด้วยเซลล์รูปทรงกระบอกหรือรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าจำนวนหลายเซลล์ต่อกัน ขนาด 7.6-25.4 × 25.5-89.4 ไมโครเมตร เซลล์แกนกลางไม่มีสีและลวดลาย ภายในเซลล์แกนกลางที่ยังอ่อนจะมีคลอโร-พลาสต์จำนวน 1 อันต่อเซลล์ (ภาพที่ 4.3ก)

2.3 สปอร์

จากการศึกษาลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบว่าสปอร์มีสีเหลืองถึงสีน้ำตาลแกมเหลือง มีความยาวของแกนระหว่างขั้ว 26.9-34.7 ไมโครเมตร และความยาวของแกนตามแนวศูนย์สูตร 31.7-36.9 ไมโครเมตร สปอร์ทางด้านใกล้แกนเป็นรูปพีระมิดสามเหลี่ยมเตี้ยๆ มีสันสามแฉกชัดเจน แต่ละด้านมีรูตรงกลาง (ภาพที่ 4.3ค) สปอร์ทางด้านไกลแกน มีลักษณะกลม ตรงกลางมีโหนกหรือปุ่มขนาดใหญ่ 1 อัน เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 14.9-22.9 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4.3ข)

จากการศึกษาผิวสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าผิวสปอร์ทั้งทางด้านใกล้แกนและไกลแกนมีลวดลายคล้ายหนอน (vermiculate) เหมือนกัน (ภาพที่ 4.3ง-จ) ผิวสปอร์ทางด้านไกลแกนมีลวดลายเรียงตัวชิดกันมากกว่าด้านใกล้แกน (ภาพที่ 4.3ฉ-ช)

นอกจากนี้ยังพบว่าบริเวณสันสามแฉกมีเส้นพาดกลางชัดเจน กว้างประมาณ 0.3-0.5 ไมโครเมตร ผิวสปอร์บริเวณสันสามแฉกมีลวดลายเรียงตัวชิดกันมากกว่าบริเวณรอบสันชัดเจน (ภาพที่ 4.3จ) ผิวสปอร์บริเวณโหนกมีลวดลายเรียงตัวชิดกันมากกว่าบริเวณรอบโหนก (ภาพที่ 4.3ง) รูตรงกลางในแต่ละด้านบนผิวสปอร์ด้านใกล้แกนมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1.6-2.2 ไมโครเมตร โดยลวดลายบริเวณรอบรูมีการจัดเรียงตัวเป็นระเบียบตามแนวรัศมีของรู (ภาพที่ 4.3จ, ช)

2.4 ซูโดอีเลเตอร์

ซูโดอีเลเตอร์ ไม่มีสี มักเกาะติดอยู่กับแกนกลาง พบเฉพาะในระยะที่สปอโรไฟต์ยังไม่เจริญเต็มที่ และสลายไปก่อนในระยะกระจายสปอร์ เซลล์ซูโดอีเลเตอร์เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าหรือรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส ขนาด 10.9-21.7 × 22.3-52.1 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4.3ก)

ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์

1. แกมีโตไฟต์ ศึกษาโครงสร้างต่างๆ ดังนี้

1.1 ทัลลัสตัดตามขวาง

ทัลลัสหนา 5-7 เซลล์บริเวณกลางทัลลัส และค่อยๆ ลดจำนวนลงเหลือ 1 เซลล์บริเวณปลายหรือขอบทัลลัส ประกอบด้วยชั้นเซลล์ผิว 2 ชั้น ซึ่งอยู่ชั้นบนสุดและล่างสุด และเนื้อเยื่อชั้นในของทัลลัส ซึ่งอยู่ระหว่างชั้นเซลล์ผิว (ภาพที่ 4.1จ)

เซลล์ผิวตัดตามขวาง เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส หรือรูปห้าเหลี่ยม ขนาด 15.7-50.9 × 22.1-77.9 ไมโครเมตร ผนังเซลล์บาง

เนื้อเยื่อชั้นในของทัลลัสตัดตามขวาง เป็นเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ ผนังเซลล์บาง เซลล์มีการจัดเรียงตัวหลวมๆ ทำให้มีช่องว่างระหว่างเซลล์ชัดเจน และมีคลอโรพลาสต์ขนาดเล็กอยู่ภายในเซลล์ 1 อันต่อเซลล์ มีรูปร่างเป็นรูปหลายเหลี่ยมค่อนข้างกลมหรือรี ลักษณะคล้ายเซลล์พาเรงคิมา มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 64.8-164.8 ไมโครเมตร

1.2 อินโวลูเคอตัดตามขวาง

อินโวลูเคอหนา 4-5 เซลล์ เซลล์ผิวอินโวลูเคอตัดตามขวางเป็นรูปหลายเหลี่ยมค่อนข้างกลมหรือรี มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 23.8-112.9 ไมโครเมตร ผนังเซลล์บาง และมีคลอโรพลาสต์อยู่ภายในเซลล์1 อันต่อเซลล์เช่นเดียวกับเซลล์ผิว (ภาพที่ 4.1ฉ)

2. สปอโรไฟต์ ศึกษาโครงสร้างต่างๆ ดังนี้

2.1 อับสปอร์ แบ่งได้เป็น 4 ชั้น (ภาพที่ 4.2จ) ดังนี้

1) ผนังอับสปอร์ชั้นนอกหรือชั้นเซลล์ผิวหนา 1 เซลล์ เซลล์ผิวเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าหรือรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส มีผนังเซลล์หนาทั้งทางด้านรัศมีและด้านสัมผัส ไม่มีคลอโรพลาสต์อยู่

ภายในเซลล์ (ภาพที่ 4.2ข-ค) เซลล์ผิวตัดตามขวาง มีขนาด 5.6-16.2 × 19.2-40.7 ไมโครเมตร ส่วนเซลล์ผิวตัดตามยาว มีขนาด 9.3-16.3 × 19.9-39.6 ไมโครเมตร

2) ผนังอับสปอร์ชั้นในหรือชั้นเอสสิมิเลทิฟหนา 2-3 เซลล์ โดยบริเวณปลายอับสปอร์จะมีชั้นเอสสิมิเลทิฟหนา 2 เซลล์ (ภาพที่ 4.2ข) และมีความหนาเพิ่มขึ้นเป็น 3 เซลล์บริเวณถัดลงมา (ภาพที่ 4.2ค) เซลล์เอสสิมิเลทีฟเป็นกลุ่มเซลล์ที่มีขนาดใหญ่และผนังบาง มีการเรียงตัวหลวมๆ ทำให้มีช่องว่างระหว่างเซลล์ชัดเจน และมีคลอโรพลาสต์อยู่ภายในเซลล์ 1 อันต่อเซลล์ เซลล์เป็นรูปหลายเหลี่ยมค่อนข้างรี ลักษณะคล้ายเซลล์พาเรงคิมา เซลล์เอสสิมิเลทีฟตัดตามขวาง มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 18.9-55.0 ไมโครเมตร เซลล์เอสสิมิเลทีฟตัดตามยาว มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 29.0-47.8 ไมโครเมตร

3) ชั้นสปอร์และซูโดอีเลเตอร์ มีการจัดเรียงตัวสลับชั้นกัน แต่ละชั้นจะประกอบด้วยชั้นสปอร์หรือชั้นซูโดอีเลเตอร์ (ภาพที่ 4.2ก) เมื่อพิจารณาการจัดเรียงตัวของชั้นสปอร์และชั้นซูโดอีเล-เตอร์บริเวณที่มีแกนกลาง พบว่าชั้นสปอร์และชั้นซูโดอีเลเตอร์จะถูกแบ่งออกเป็น 2 ข้าง โดยบริเวณเหนือโคนอับสปอร์ขึ้นไป ชั้นสปอร์ประกอบด้วยสปอร์กลุ่มละสี่ข้างละ 3-5 แถว และชั้นซูโดอีเลเตอร์ประกอบด้วยเซลล์ซูโดอีเลเตอร์ต่อกันจากแกนกลางไปยังชั้นเอสสิมิเลทิฟข้างละ 5-6 เซลล์ (ภาพที่ 4.2จ) ส่วนบริเวณโคนอับสปอร์ ชั้นสปอร์ประกอบด้วยสปอร์กลุ่มละสี่ข้างละ 2-3 แถว และชั้นซูโดอีเลเตอร์ประกอบด้วยเซลล์ซูโดอีเลเตอร์ต่อกันจากแกนกลางไปยังชั้นเอสสิมิเลทิฟข้างละ 3 เซลล์

4) แกนกลางอยู่ชั้นในสุด แกนกลางตัดตามขวางประกอบด้วยเซลล์ 16 แถว (4 × 4 แถว) (ภาพที่ 4.2ฉ) เซลล์แกนกลางเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปห้าเหลี่ยม หรือรูปหกเหลี่ยม เซลล์แกนกลางตัดตามขวาง มีขนาด 9.9-21.2 × 15.7-29.6 ไมโครเมตร ส่วนเซลล์แกนกลางตัดตามยาว มีขนาด 10.7-29.5 × 21.1-64.8 ไมโครเมตร

2.2 ฟุตตัดตามยาว

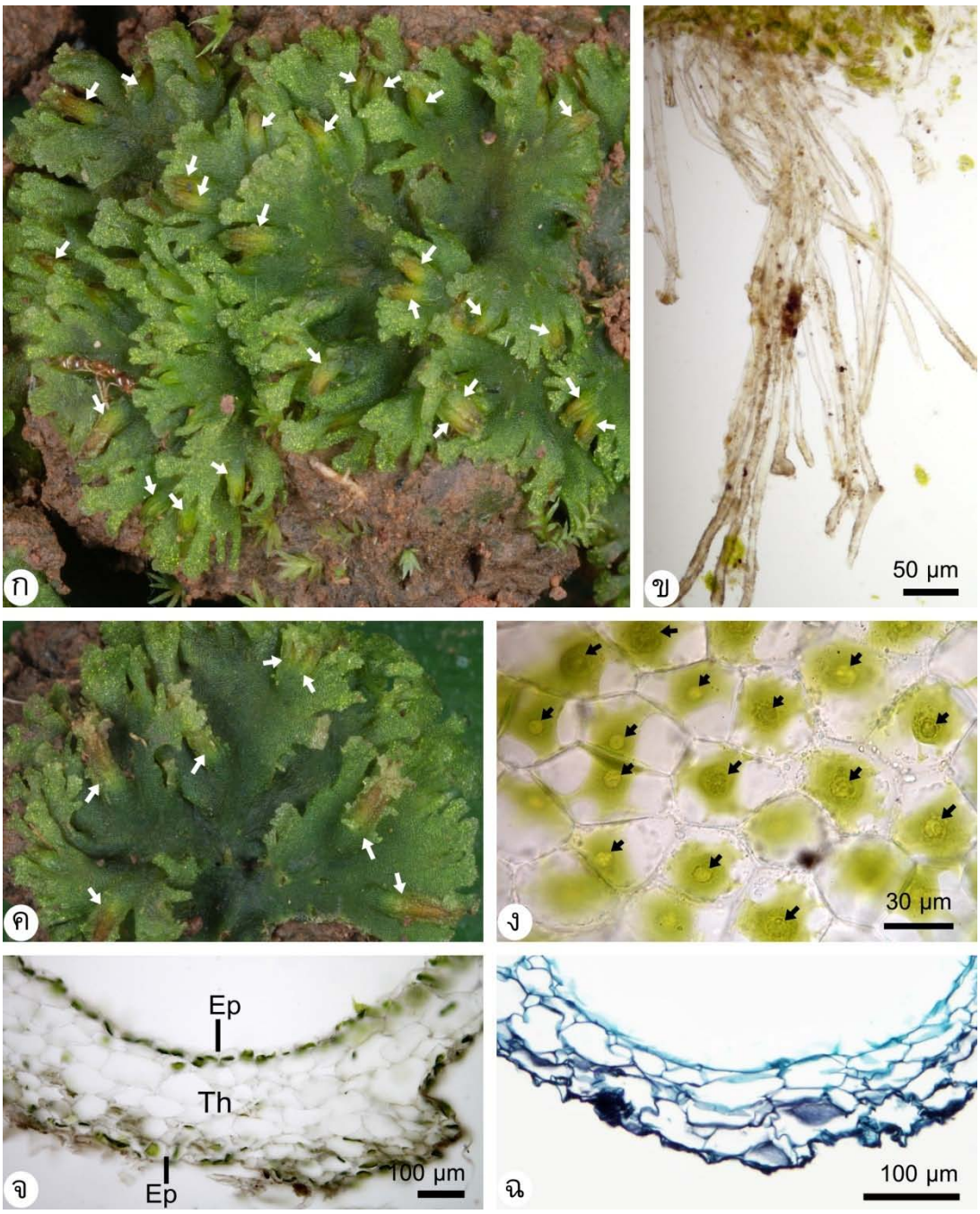
ฟุตเป็นรูปทรงกลม มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 206-400 ไมโครเมตร ฟุตประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 2 บริเวณ คือ บริเวณพลาเซนทา และบริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน (ภาพที่ 4.2ง)

เนื้อเยื่อของฟุตบริเวณพลาเซนทา เป็นเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์สปอโรไฟต์และเซลล์แกมีโตไฟต์จัดเรียงตัวปะปนกันอย่างไม่เป็นระเบียบ โดยกลุ่มเซลล์บริเวณพลาเซนทามีรูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลม และผนังเซลล์บางเช่นเดียวกับกลุ่มเซลล์บริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน แต่กลุ่มเซลล์บริเวณพลาเซนทามีขนาดเล็กกว่ากลุ่มเซลล์บริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานอย่างชัดเจน โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 7.1-21.5 ไมโครเมตร

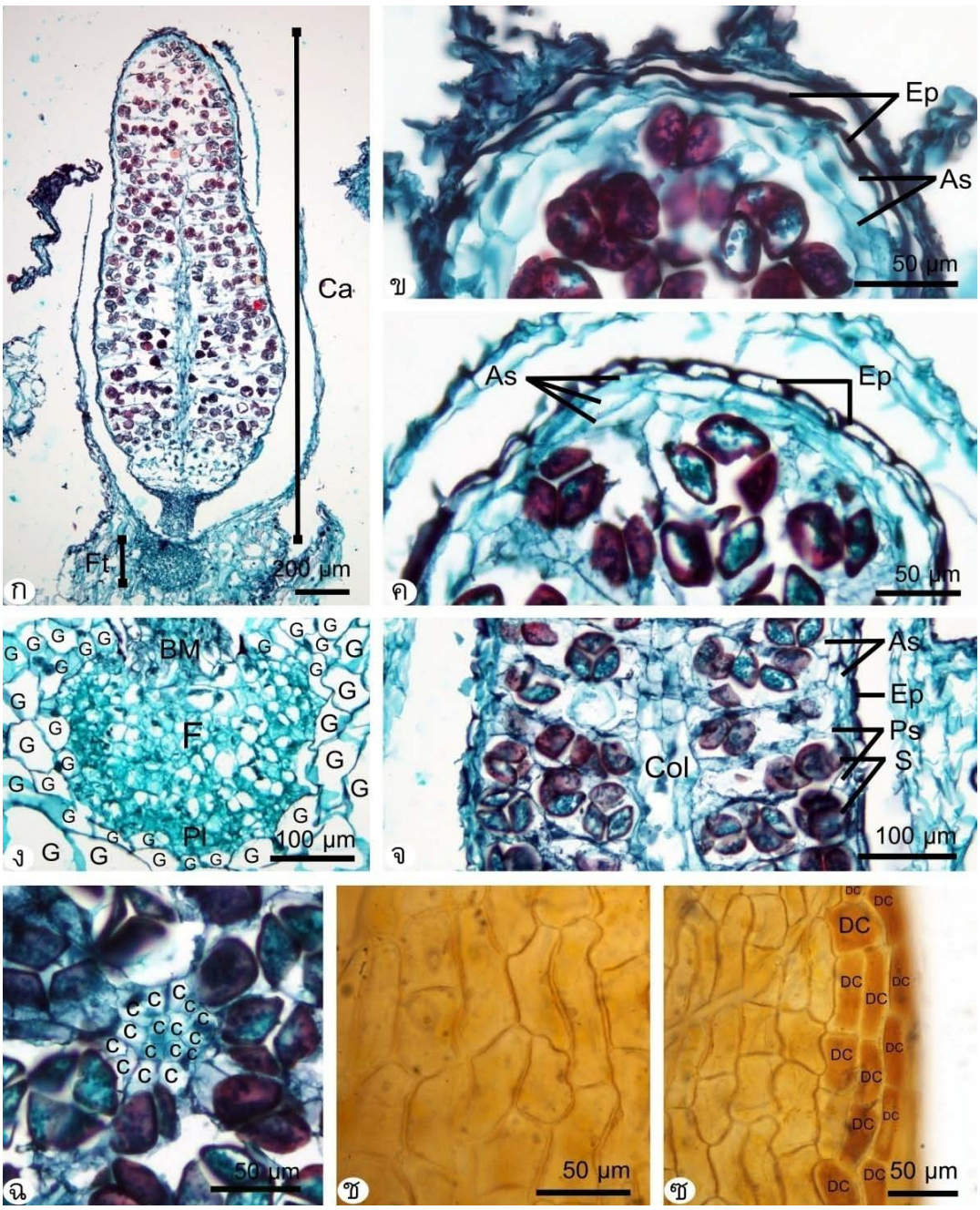
นอกจากนี้ยังพบว่ากลุ่มเซลล์แกมีโตไฟต์บริเวณพลาเซนทามีลักษณะแตกต่างจากเซลล์แกมีโตไฟต์ที่อยู่รอบพลาเซนทาอย่างชัดเจน คือ เซลล์แกมีโตไฟต์บริเวณรอบพลาเซนทามีขนาดใหญ่กว่าและมีคลอโรพลาสต์ขนาดเล็กอยู่ภายในเซลล์ 1 อันต่อเซลล์

เนื้อเยื่อของฟุตบริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน เป็นเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์สปอโรไฟต์ขนาดใหญ่ ผนังเซลล์บาง รูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลม มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 9.5-47.5 ไมโครเมตร

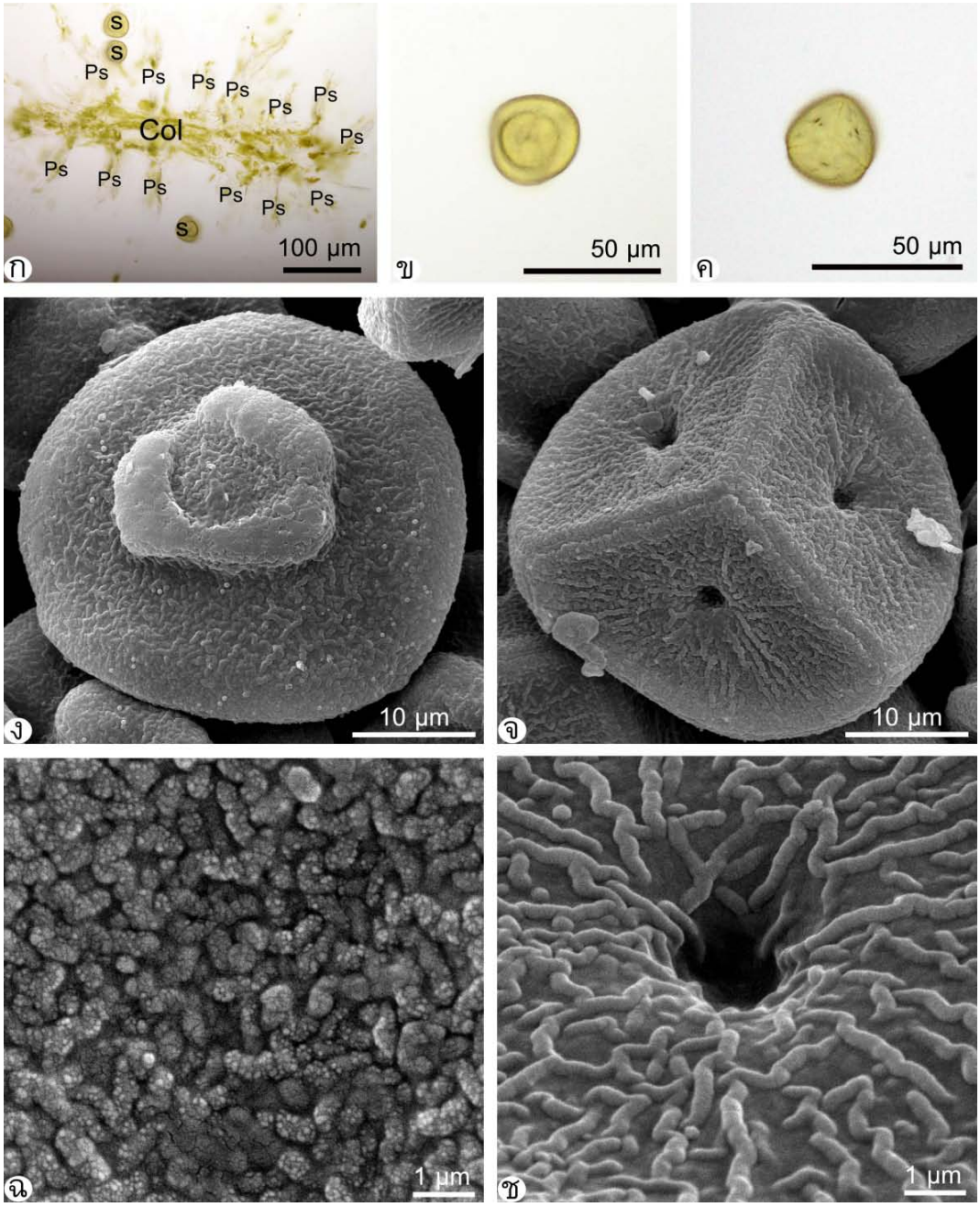
ตัวอย่างพรรณไม้ที่ศึกษา - น้ำตกทีลอซู จ. ตาก, 657 เมตร, 12 สิงหาคม 2556, *Chantanaorrapint & Promma 2735* (PSU)



ภาพที่ 4.1 แกมีโตไฟต์ของ *Notothylas frahmii* Chantanaorr. ก) แกมีโตไฟต์ที่มีสปอโรไฟต์เจริญอยู่ด้านบน (ศรชี้) แสดงรูปร่างและการแตกกิ่งของทัลลัส; ข) ไรซอยด์; ค) อินโวลูเคอ (ศรชี้); ง) เซลล์ผิวของทัลลัส แสดงคลอโรพลาสต์ขนาดใหญ่ 1 อันภายในเซลล์ ที่มีไพรีนอยด์ (ศรชี้) อยู่ตรงกลาง 1 อัน; จ) ทัลลัสตัดตามขวาง แสดงชั้นเซลล์ผิว (Ep) และเนื้อเยื่อชั้นในของทัลลัส (Th); ฉ) อินโวลูเคอตัดตามขวาง



ภาพที่ 4.2 สปอโรไฟต์ของ *Notothylas frahmii* Chantanaorr. ก) สปอโรไฟต์ตัดตามยาว(Ft = ฟุต, Ca = อับสปอร์); ข-ค) อับสปอร์ตัดตามขวาง แสดงชั้นเซลล์ผิว (Ep) และชั้นเอสสิมิเลทิฟ (As): ข) บริเวณใกล้ปลายอับสปอร์, ค) บริเวณกลางอับสปอร์; ง) ฟุตตัดตามยาว แสดงบริเวณพลาเซนทา (Pl) และบริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน (F) (BM = เนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน, G = เซลล์แกมีโตไฟต์); จ) อับสปอร์ตัดตามยาว แสดงการจัดเรียงตัวของชั้นสปอร์ (S) และชั้นซูโดอีเลเตอร์ (Ps) บริเวณที่มีแกนกลาง (Col); ฉ) แกนกลางตัดตามขวาง แสดงเซลล์แกนกลาง (C) 16 แถว; ช) เซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นนอก; ซ) เซลล์พิเศษตามแนวแตก (DC)



ภาพที่ 4.3 แกนกลาง สปอร์ และซูโดอีเลเตอร์ของ *Notothylas frahmii* Chantanaorr. ก) แกนกลางในระยะเจริญไม่เต็มที่ แสดงแกนกลาง (Col) ที่มีซูโดอีเลเตอร์ (Ps) อยู่รอบ (S = สปอร์); ข-ค) ลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง: ข) สปอร์ด้านไกลแกน, ค) สปอร์ด้านใกล้แกน; ง-ช) ลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด: ง) สปอร์ด้านไกลแกน แสดงโหนกหรือปุ่มขนาดใหญ่ที่อยู่ตรงกลาง, จ) สปอร์ด้านใกล้แกน แสดงสันสามแฉกที่มีเส้นพาดกลางชัดเจน และรูตรงกลางในแต่ละด้าน, ฉ) ผิวสปอร์ด้านไกลแกนที่กำลังขยายสูง แสดงลวดลายคล้ายหนอนที่เรียงตัวชิดกันมาก, ช) ผิวสปอร์ด้านใกล้แกนที่กำลังขยายสูง แสดงลวดลายคล้ายหนอนบริเวณรอบรูมีการจัดเรียงตัวเป็นระเบียบตามแนวรัศมีของรู

4.2.2 *Notothylas irregularis* Chantanaorr.

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

1. แกมีโตไฟต์ ศึกษาโครงสร้างต่างๆ ดังนี้

1.1 ทัลลัส

ทัลลัสเป็นแผ่นขนาดเล็ก เจริญทอดขนานหรือแนบชิดไปกับพื้นดิน มีสีเขียวอ่อนถึงสีเขียวเข้ม ไม่มีเส้นกลางทัลลัส มีการแยกสาขาเป็นคู่สั้นๆ ชิดกัน ไม่เป็นระเบียบ รูปร่างคล้ายพัด ทัลลัสหยักเว้าลึกและค่อนข้างแคบ ไม่เป็นระเบียบ (ภาพที่ 4.4ก) โลบลึกประมาณ 0.2-2.4 มิลลิเมตร โลบกว้างประมาณ 0.2-2.3 มิลลิเมตร ทัลลัสมีขนาด 1.5-6.0 × 2.7-4.5 มิลลิเมตร มักเจริญซ้อนทับกันเป็นแผ่นเกือบกลม พื้นผิวทัลลัสด้านบนค่อนข้างเรียบ ในขณะที่พื้นผิวด้านล่างมักไม่เรียบ เนื่องจากมักมีสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสกุล *Nostoc* เข้าไปอยู่อาศัยภายในเนื้อเยื่อของแกมีโตไฟต์ ลักษณะเป็นจุดกลมๆ ขนาดเล็กมีสีคล้ำทึบแสงกระจายอย่างไม่เป็นระเบียบทั่วทั้งทัลลัส

เซลล์ผิวของทัลลัส (ภาพที่ 4.4ง) เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส รูปสี่เหลี่ยมข้าวหลามตัด รูปห้าเหลี่ยม หรือรูปหกเหลี่ยม ขนาด 23.9-43.1 × 35.0-70.0 ไมโครเมตร ภายในเซลล์ผิวแต่ละเซลล์มีคลอโรพลาสต์ขนาดใหญ่ 1 อันต่อเซลล์ ที่มีไพรีนอยด์ 1 อันอยู่ตรงกลาง ลักษณะของคลอโรพลาสต์ในตัวอย่างสดที่เพิ่งเก็บมาจะมีขนาดใหญ่เต็มเซลล์ แต่เมื่อเก็บไว้เป็นเวลานานหรือสูญเสียน้ำคลอโรพลาสต์จะหดตัว โดยการคอดเว้าเข้าด้านใน ทำให้คลอโร-พลาสต์มีขนาดเล็กลงและมีรูปร่างเปลี่ยนไปจากเดิม เช่น รูปร่างคล้ายรูปดาว รูปร่างคล้ายรูปกระสวย หรือรูปร่างกลมรี

1.2 อินโวลูเคอ

อินโวลูเคอเป็นรูปกระสวยหรือรูปทรงกระบอก (ภาพที่ 4.4ค) ขนาดประมาณ 0.5-0.9 × 1.1-2.8 มิลลิเมตร เซลล์ผิวของอินโวลูเคอมีรูปร่างและมีลักษณะเช่นเดียวกับเซลล์ผิวทัลลัส ส่วนปลายของอินโวลูเคอมักมีลักษณะเป็นสันตามยาวหรือแผ่นคล้ายครีบยื่นขึ้นมา แต่บริเวณส่วนโคนที่ติดกับทัลลัสมักเรียบหรือมีสันเตี้ยๆ อินโวลูเคอเจริญขึ้นมาห่อหุ้มสปอโรไฟต์ทั้งต้นก่อนถึงระยะกระจายสปอร์ เจริญทอดนอนหรือยกตัวขึ้นจากทัลลัสเล็กน้อย

1.3 แอนเทอริเดียม ไม่พบ

1.4 ไรซอยด์

ไรซอยด์เจริญยื่นยาวออกมาจากผิวทัลลัสด้านล่างจำนวนมาก ลักษณะเป็นเซลล์เดียว ผนังเซลล์ด้านในเรียบหรือมีปุ่มหนาม มีสีน้ำตาลอ่อนหรือไม่มีสี (ภาพที่ 4.4ข)

2. สปอโรไฟต์ ศึกษาโครงสร้างต่างๆ ดังนี้

2.1 อับสปอร์

อับสปอร์เป็นรูปกระสวยหรือรูปทรงกระบอก ขนาด 0.4-0.7 × 1.0-2.6 มิลลิเมตร ถูกห่อหุ้มอยู่ภายในอินโวลูเดอก่อนถึงระยะกระจายสปอร์ (ภาพที่ 4.4ก) อับสปอร์แตกตามยาวจากปลายลงมาด้านล่างตามแนวแตก แยกออกเป็น 2 ซีกอย่างเป็นระเบียบ เนื่องจากผนังอับสปอร์มีเซลล์พิเศษตามแนวแตก ผนังอับสปอร์ไม่มีปากใบ ผนังอับสปอร์ในระยะสปอโรไฟต์เจริญไม่เต็มที่จะมีสีเขียวอ่อน และจะมีสีเหลืองแกมน้ำตาลในระยะสปอโรไฟต์เจริญเต็มที่

เซลล์ผิวของผนังอับสปอร์หรือผนังอับสปอร์ชั้นนอก รูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส หรือรูปห้าเหลี่ยม ขนาด 17.3-45.0 × 49.3-122.7 ไมโครเมตร ผนังเซลล์หนา 4.1-9.5 ไมโครเมตร ช่องว่างภายในเซลล์ ขนาด 13.2-36.1 × 45.7-109.8 ไมโครเมตร เซลล์ผิวของผนังอับสปอร์ชั้นนอกแต่ละเซลล์จะมีคลอโรพลาสต์อยู่ภายใน 1 อันต่อเซลล์ ซึ่งต่อมาจะสลายไปเมื่อสปอโรไฟต์เจริญเต็มที่ (ภาพที่ 4.5ซ)

เซลล์พิเศษตามแนวแตก มีจำนวน 2-3 แถว สีน้ำตาลแดง และมีผนังเซลล์หนากว่าเซลล์ผิวของผนังอับสปอร์ชั้นนอก เซลล์เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าหรือรูปห้าเหลี่ยม ขนาด 16.1-31.7 × 39.7-72.4 ไมโครเมตร ผนังเซลล์หนา 6.2-24.9 ไมโครเมตร ช่องว่างภายในเซลล์ ขนาด 5.3-13.6 × 19.2-54.0 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4.5ซ)

เซลล์ผิวของผนังอับสปอร์ชั้นใน ไม่มีสี รูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส หรือรูปห้าเหลี่ยม ขนาด 20.5-55.7 × 35.0-93.9 ไมโครเมตร ผนังเซลล์บาง (ภาพที่ 4.5ช)

2.2 แกนกลาง

พบแกนกลางเฉพาะในระยะที่สปอโรไฟต์ยังเจริญไม่เต็มที่ และสลายไปในระยะกระจายสปอร์ แกนกลางมีลักษณะเป็นแท่งยาว ยาวประมาณ 0.4-1.2 มิลลิเมตร ซึ่งประกอบด้วยเซลล์รูปทรงกระบอกหรือรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าจำนวนหลายเซลล์ต่อกัน ขนาด 10.4-22.1 × 23.5-45.3 ไมโครเมตร เซลล์แกนกลางไม่มีสีและลวดลาย ภายในเซลล์แกนกลางที่ยังอ่อนจะมีคลอโร-พลาสต์จำนวน 1 อันต่อเซลล์ (ภาพที่ 4.6ก)

2.3 สปอร์

จากการศึกษาลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบว่าสปอร์มีสีเหลืองถึงสีน้ำตาลแกมเหลือง มีความยาวของแกนระหว่างขั้ว 27.8-35.8 ไมโครเมตร และความยาวของแกนตามแนวศูนย์สูตร 31.5-37.5 ไมโครเมตร สปอร์ทางด้านใกล้แกนเป็นรูปพีระมิดสามเหลี่ยมเตี้ยๆ มีสันสามแฉกชัดเจน (ภาพที่ 4.6ค) แต่ละด้านมีรูตรงกลาง สปอร์ทางด้านไกลแกนมีลักษณะกลม ตรงกลางนูนขึ้นมาเล็กน้อยคล้ายรูปโดม (ภาพที่ 4.6ข)

จากการศึกษาผิวสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าผิวสปอร์ทั้งทางด้านใกล้แกนและไกลแกนมีลวดลายคล้ายหนอนเหมือนกัน (ภาพที่4.6ง-จ) ผิวสปอร์

ทางด้านไกลแกนมีลวดลายเรียงตัวชิดกันมากกว่าด้านใกล้แกน โดยเฉพาะบริเวณตรงกลางที่นูนขึ้นมาคล้ายรูปโดม (ภาพที่ 4.6ฉ-ช) นอกจากนี้ยังพบว่าบริเวณสันสามแฉกมีเส้นพาดกลางชัดเจน กว้างประมาณ 0.3-0.5 ไมโครเมตร ผิวสปอร์บริเวณสันสามแฉกมีลวดลายเรียงตัวชิดกันมากกว่าบริเวณรอบสันชัดเจน (ภาพที่ 4.6จ) รูตรงกลางในแต่ละด้านบนผิวสปอร์ทางด้านใกล้แกนมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1.9-2.5 ไมโครเมตร โดยลวดลายบริเวณรอบรูมีการจัดเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ (ภาพที่ 4.6จ, ช)

2.4 ซูโดอีเลเตอร์

ซูโดอีเลเตอร์ ไม่มีสี มักเกาะติดอยู่กับแกนกลาง พบเฉพาะในระยะที่สปอโรไฟต์ยังไม่เจริญเต็มที่ และสลายไปก่อนในระยะกระจายสปอร์ เซลล์ซูโดอีเลเตอร์เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าหรือรูปสี่เหลี่ยมจตุรัส ขนาด 9.1-21.5 × 19.0-47.6 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4.6ก)

ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์

1. แกมีโตไฟต์ ศึกษาโครงสร้างต่างๆ ดังนี้

1.1 ทัลลัสตัดตามขวาง

ทัลลัสหนา 4-5 เซลล์บริเวณกลางทัลลัส และค่อยๆ ลดจำนวนลงเหลือ 1-2 เซลล์บริเวณปลายทัลลัส ประกอบด้วยชั้นเซลล์ผิว 2 ชั้น ซึ่งอยู่ชั้นบนสุดและล่างสุด และเนื้อเยื่อชั้นในของทัลลัส ซึ่งอยู่ระหว่างชั้นเซลล์ผิว (ภาพที่ 4.4จ)

เซลล์ผิวตัดตามขวาง เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส หรือรูปห้าเหลี่ยม ขนาด 12.5-33.3 × 30.9-66.1 ไมโครเมตร ผนังเซลล์บาง

เนื้อเยื่อชั้นในของทัลลัสตัดตามขวาง เป็นเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ ผนังเซลล์บาง เซลล์มีการจัดเรียงตัวหลวมๆ ทำให้มีช่องว่างระหว่างเซลล์ชัดเจน และมีคลอโรพลาสต์ขนาดเล็กอยู่ภายในเซลล์ 1 อันต่อเซลล์ เซลล์มีรูปร่างเป็นรูปหลายเหลี่ยมค่อนข้างกลมหรือรี ลักษณะคล้ายเซลล์พาเรงคิมา มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 52.9-132.4 ไมโครเมตร

1.2 อินโวลูเคอตัดตามยาว

อินโวลูเคอหนา 3-5 เซลล์ เซลล์ผิวอินโวลูเคอตัดตามยาวเป็นรูปหลายเหลี่ยมค่อนข้างรี มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 30.0-66.8 ไมโครเมตร ผนังเซลล์บาง และมีคลอโรพลาสต์อยู่ภายในเซลล์ 1 อันต่อเซลล์เช่นเดียวกับเซลล์ผิว (ภาพที่ 4.4ฉ)

2. สปอโรไฟต์ ศึกษาโครงสร้างต่างๆ ดังนี้

2.1 อับสปอร์ แบ่งได้เป็น 4 ชั้น (ภาพที่ 4.5จ) ดังนี้

1) ผนังอับสปอร์ชั้นนอกหรือชั้นเซลล์ผิว หนา 1 เซลล์ เซลล์ผิวตัดตามยาว เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าหรือรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส ขนาด 5.4-14.7 × 14.8-35.0 ไมโครเมตร มีผนังเซลล์หนาทั้งทางด้านรัศมีและด้านสัมผัส และไม่มีคลอโรพลาสต์อยู่ภายในเซลล์ (ภาพที่ 4.5ข-ค)

2) ผนังอับสปอร์ชั้นในหรือชั้นเอสสิมิเลทิฟ หนา 2-3 เซลล์ โดยบริเวณปลายอับสปอร์จะมีชั้นเอสสิมิเลทิฟหนา 2 เซลล์ (ภาพที่ 4.5ข) และมีความหนาเพิ่มขึ้นเป็น 3 เซลล์บริเวณถัดลงมา (ภาพที่ 4.5ค) เซลล์เอสสิมิเลทีฟเป็นกลุ่มเซลล์ที่มีขนาดใหญ่และผนังบาง และมีคลอโร-พลาสต์อยู่ภายในเซลล์ 1 อันต่อเซลล์ เซลล์เอสสิมิเลทิฟตัดตามยาวเป็นรูปหลายเหลี่ยมค่อนข้างรี ลักษณะคล้ายเซลล์พาเรงคิมา มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 23.3-51.4 ไมโครเมตร

3) สปอร์และซูโดอีเลเตอร์ มีการจัดเรียงตัวสลับชั้นกัน แต่ละชั้นจะประกอบด้วยชั้นสปอร์หรือชั้นซูโดอีเลเตอร์ (ภาพที่ 4.5ก) เมื่อพิจารณาการจัดเรียงตัวของชั้นสปอร์และชั้นซูโดอีเลเตอร์บริเวณที่มีแกนกลาง พบว่าชั้นสปอร์และชั้นซูโดอีเลเตอร์จะถูกแบ่งออกเป็น 2 ข้าง โดยบริเวณเหนือโคนอับสปอร์ขึ้นไป ชั้นสปอร์ประกอบด้วยสปอร์กลุ่มละสี่ข้างละ 3-4 แถว และชั้นซูโดอีเลเตอร์ประกอบด้วยเซลล์ซูโดอีเลเตอร์ต่อกันจากแกนกลางไปยังชั้นเอสสิมิเลทิฟข้างละ 5 เซลล์ (ภาพที่ 4.5จ) ส่วนบริเวณโคนอับสปอร์ ชั้นสปอร์ประกอบด้วยสปอร์กลุ่มละสี่ข้างละ 3 แถว และชั้นซูโดอีเลเตอร์ประกอบด้วยเซลล์ซูโดอีเลเตอร์ต่อกันจากแกนกลางไปยังชั้นเอสสิ-มิเลทิฟข้างละ 3-4 เซลล์

4) แกนกลางอยู่ชั้นในสุด แกนกลางตัดตามยาวประกอบด้วยเซลล์ 4 แถว (ภาพที่ 4.5 ฉ) เซลล์แกนกลางตัดตามยาวเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปห้าเหลี่ยม หรือรูปหกเหลี่ยม ขนาด 10.7-30.2 × 12.6-46.6 ไมโครเมตร

2.2 ฟุตตัดตามยาว

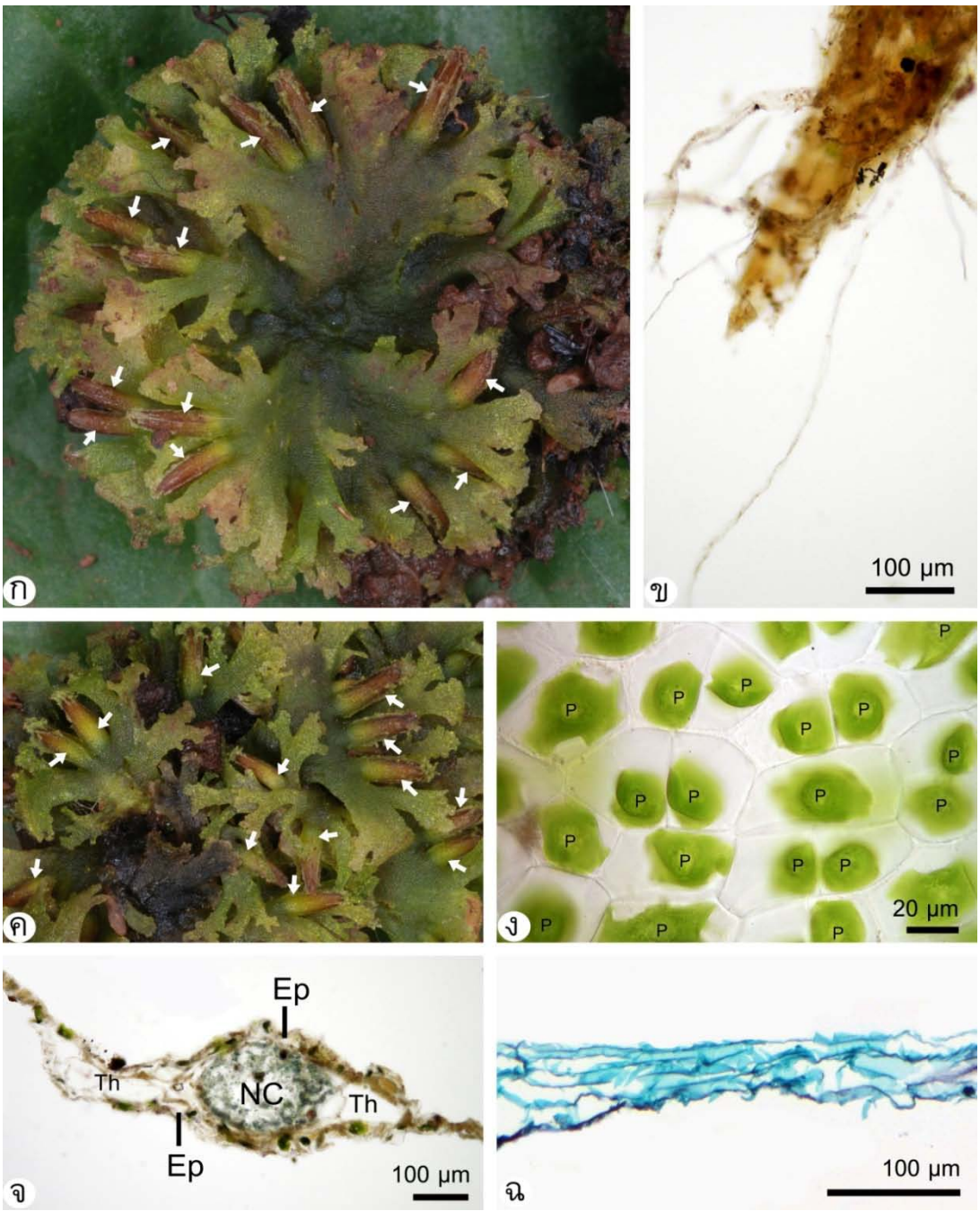
ฟุตเป็นรูปทรงกลม มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 168-269 ไมโครเมตร ฟุตประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 2 บริเวณ คือ บริเวณ พลาเซนทา และบริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน (ภาพที่ 4.5ง)

เนื้อเยื่อของฟุตบริเวณพลาเซนทา เป็นเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์สปอโรไฟต์และเซลล์แกมีโตไฟต์จัดเรียงตัวปะปนกันอย่างไม่เป็นระเบียบ โดยกลุ่มเซลล์บริเวณพลาเซนทามีรูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลม และผนังเซลล์บางเช่นเดียวกับกลุ่มเซลล์บริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน แต่กลุ่มเซลล์บริเวณพลาเซนทามีขนาดเล็กกว่ากลุ่มเซลล์บริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานอย่างชัดเจน โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.7-22.9 ไมโครเมตร

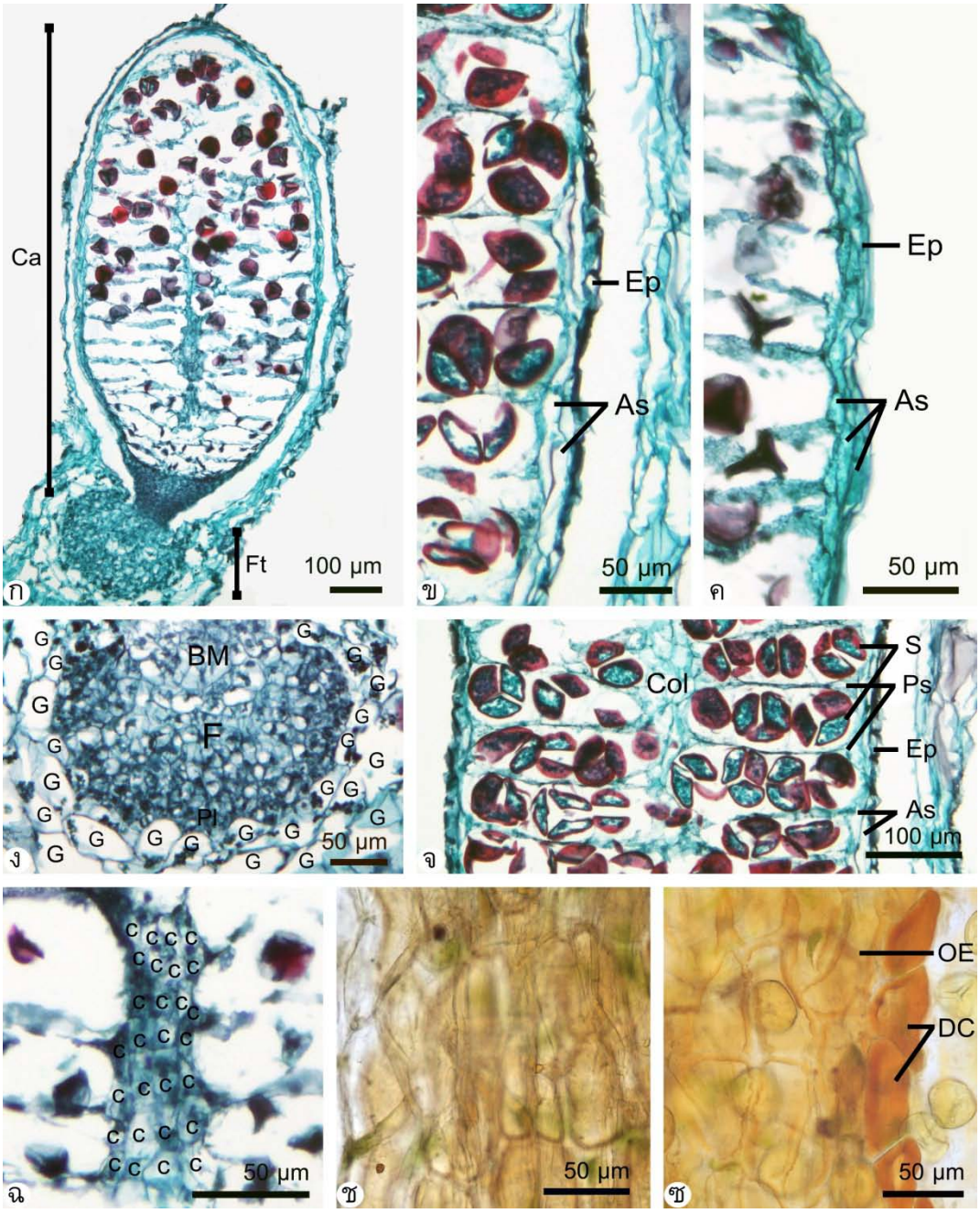
นอกจากนี้ยังพบว่ากลุ่มเซลล์แกมีโตไฟต์บริเวณพลาเซนทามีลักษณะแตกต่างจากเซลล์แกมีโตไฟต์ที่อยู่รอบพลาเซนทาอย่างชัดเจน คือเซลล์แกมีโตไฟต์บริเวณรอบพลาเซนทามีขนาดใหญ่กว่าและมีคลอโรพลาสต์ขนาดเล็กอยู่ภายในเซลล์ 1 อันต่อเซลล์

เนื้อเยื่อของฟุตบริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน เป็นเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์สปอโรไฟต์ขนาดใหญ่ ผนังเซลล์บาง รูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลม มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 15.5-35.4 ไมโครเมตร

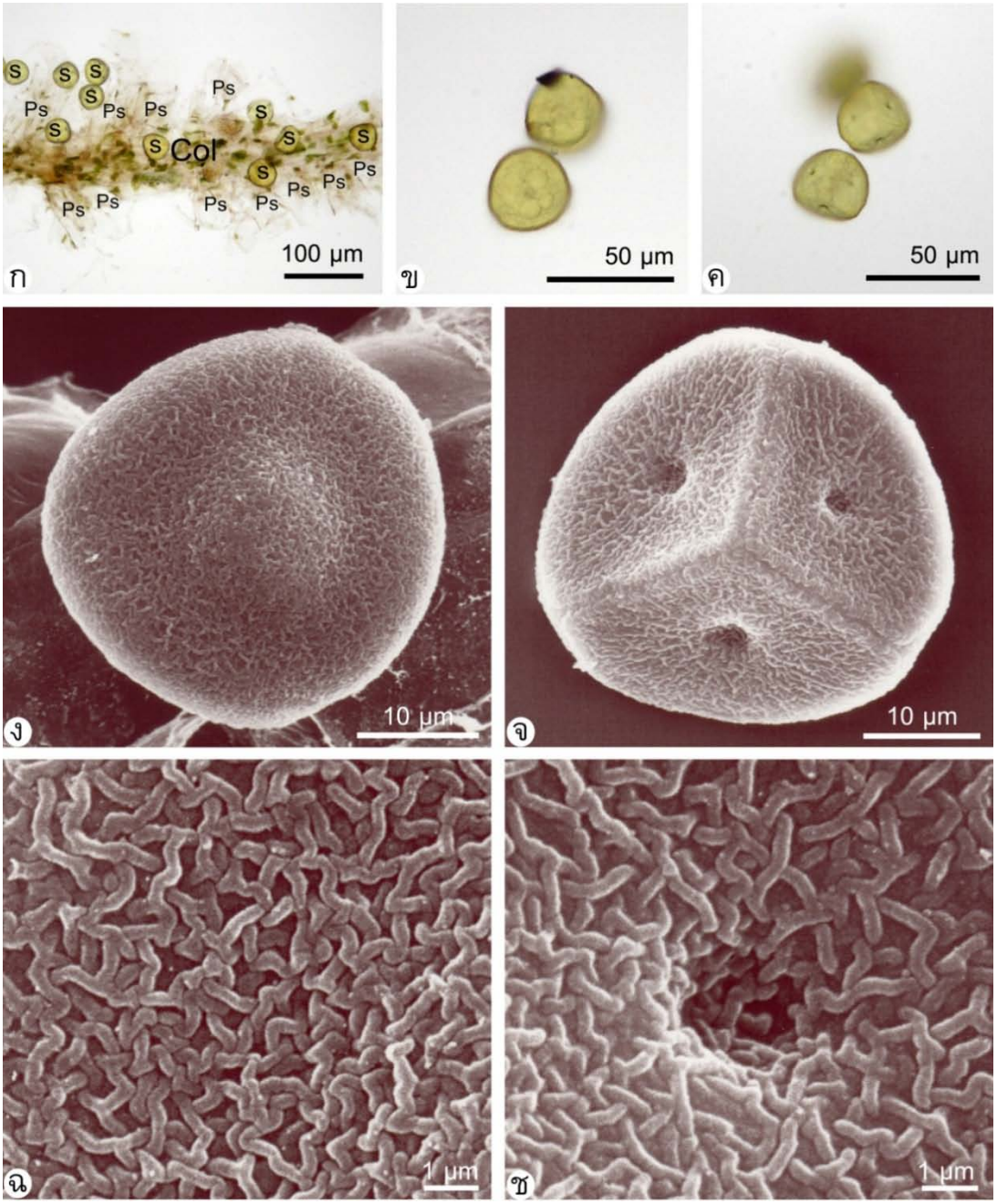
ตัวอย่างพรรณไม้ที่ศึกษา - ดอยเชียงดาว จ. เชียงใหม่, 1633 เมตร, 7 กันยายน 2555, *Chantanaorrapint & Inuthai 1614* (PSU)



ภาพที่ 4.4 แกมีโตไฟต์ของ *Notothylas irregularis* Chantanaorr. ก) แกมีโตไฟต์ที่มีสปอโร-ไฟต์เจริญอยู่ด้านบน (ศรชี้) แสดงรูปร่างและการแตกกิ่งของทัลลัส; ข) ไรซอยด์; ค) อินโวลูเคอ (ศรชี้); ง) เซลล์ผิวของทัลลัส แสดงคลอโรพลาสต์ขนาดใหญ่ 1 อันภายในเซลล์ ที่มีไพรีนอยด์ (P) อยู่ตรงกลาง 1 อัน; จ) ทัลลัสตัดตามขวาง แสดงชั้นเซลล์ผิว (Ep) และเนื้อเยื่อชั้นในของทัลลัส (Th) (NC = กลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสกุล *Nostoc*); ฉ) อินโวลูเคอตัดตามยาว



ภาพที่ 4.5 สปอโรไฟต์ของ *Notothylas irregularis* Chantanaorr. ก) สปอโรไฟต์ตัดตามยาว (Ft = ฟุต, Ca = อับสปอร์); ข-ค) อับสปอร์ตัดตามยาว แสดงจำนวนชั้นเซลล์ผิว (Ep) และชั้นเอสสิมิเลทิฟ (As): ข) บริเวณใกล้ปลายอับสปอร์, ค) บริเวณกลางอับสปอร์; ง) ฟุตตัดตามยาว แสดงบริเวณพลาเซนทา (Pl) และบริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน (F) (BM = เนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน, G = เซลล์แกมีโตไฟต์); จ) อับสปอร์ตัดตามยาว แสดงการจัดเรียงตัวของชั้นสปอร์ (S) และชั้นซูโดอีเลเตอร์ (Ps) บริเวณที่มีแกนกลาง (Col); ฉ) แกนกลางตัดตามยาว แสดงเซลล์แกนกลาง (C) 4 แถว; ช) เซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นใน; ซ) เซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นนอก (OE) และเซลล์พิเศษตามแนวแตก (DC)



ภาพที่ 4.6 แกนกลาง สปอร์ และซูโดอีเลเตอร์ของ *Notothylas irregularis* Chantanaorr. ก) แกนกลางในระยะเจริญไม่เต็มที่ แสดงแกนกลาง (Col) ที่มีซูโดอีเลเตอร์ (Ps) อยู่รอบ (S = สปอร์); ข-ค) ลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง: ข) สปอร์ด้านไกลแกน, ค) สปอร์ด้านใกล้แกน; ง-ช) ลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด: ง) สปอร์ด้านไกลแกน, จ) สปอร์ด้านใกล้แกน แสดงสันสามแฉกที่มีเส้นพาดกลางชัดเจน และรูตรงกลางในแต่ละด้าน, ฉ) ผิวสปอร์ด้านไกลแกนที่กำลังขยายสูง แสดงลวดลายคล้ายหนอนที่เรียงตัวชิดกันมาก, ช) ผิวสปอร์ด้านใกล้แกนที่กำลังขยายสูง แสดงลวดลายคล้ายหนอนบริเวณรอบรูมีการจัดเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ

4.2.3 *Notothylas javanica* (Sande Lac.) Gottsche

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

1. แกมีโตไฟต์ ศึกษาโครงสร้างต่างๆ ดังนี้

1.1 ทัลลัส

ทัลลัสเป็นแผ่นขนาดเล็ก เจริญทอดนอนหรือแนบชิดไปกับพื้นดิน มีสีเขียวอ่อนถึงสีเขียวเข้ม ไม่มีเส้นกลางทัลลัส มีการแยกสาขาเป็นคู่สั้นๆ ชิดกันมากและไม่เป็นระเบียบ รูปร่างเป็นแผ่นกลมหรือเกือบกลม ทัลลัสหยักเว้าตื้นๆ และกว้าง ค่อนข้างเป็นระเบียบ (ภาพที่ 4.7ก) โลบลึกประมาณ 0.3-2.3 มิลลิเมตร โลบกว้างประมาณ 0.4-3.2 มิลลิเมตร ทัลลัสมีขนาด 2.9-9.0 × 3.1-8.5 มิลลิเมตร มักเจริญซ้อนทับกันเป็นแผ่นกลมขนาดใหญ่ พื้นผิวทัลลัสด้านบนค่อนข้างเรียบ ในขณะที่พื้นผิวด้านล่างมักไม่เรียบ เนื่องจากมักมีสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสกุล *Nostoc* เข้าไปอยู่อาศัยภายในเนื้อเยื่อของแกมีโตไฟต์ ลักษณะเป็นจุดกลมๆ ขนาดเล็กมีสีคล้ำทึบแสงกระจายอย่างไม่เป็นระเบียบทั่วทั้งทัลลัส

เซลล์ผิวของทัลลัส (ภาพที่ 4.7ง) เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส รูปสี่เหลี่ยมข้าวหลามตัด รูปห้าเหลี่ยม หรือรูปหกเหลี่ยม ขนาด 17.2-36.4 × 21.4-70.8 ไมโครเมตร ภายในเซลล์ผิวแต่ละเซลล์มีคลอโรพลาสต์ขนาดใหญ่ 1 อันต่อเซลล์ ที่มีไพรีนอยด์ 1 อันอยู่ตรงกลาง และมีเม็ดแป้งกระจายรอบไพรีนอยด์ ลักษณะของคลอโรพลาสต์ในตัวอย่างสดที่เพิ่งเก็บมาจะมีขนาดใหญ่เต็มเซลล์ แต่เมื่อเก็บไว้เป็นเวลานานหรือสูญเสียน้ำคลอโรพลาสต์จะหดตัวโดยการคอดเว้าเข้าด้านใน ทำให้คลอโรพลาสต์มีขนาดเล็กลงและมีรูปร่างเปลี่ยนไปจากเดิม เช่น รูปร่างคล้ายรูปดาว รูปร่างคล้ายรูปกระสวย หรือรูปร่างกลมรี

1.2 อินโวลูเคอ

อินโวลูเคอเป็นรูปกระสวยหรือรูปทรงกระบอก (ภาพที่ 4.7ค) ขนาดประมาณ 0.3-0.9 × 1.1-2.7 มิลลิเมตร เซลล์ผิวของอินโวลูเคอมีรูปร่างและมีลักษณะเช่นเดียวกับเซลล์ผิวทัลลัส ส่วนปลายของอินโวลูเคอมักมีลักษณะเป็นสันตามยาวหรือแผ่นคล้ายครีบยื่นขึ้นมา แต่บริเวณส่วนโคนที่ติดกับทัลลัสมักเรียบหรือมีสันเตี้ยๆ อินโวลูเคอเจริญขึ้นมาห่อหุ้มสปอโรไฟต์ทั้งต้นก่อนถึงระยะกระจายสปอร์ เจริญทอดนอนหรือยกตัวขึ้นจากทัลลัสเล็กน้อย

1.3 แอนเทอริเดียม

แอนเทอริเดียมอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม 2-3 อันต่อกลุ่ม มีรูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลม มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 82.9-126.9 ไมโครเมตร ผนังแอนเทอริเดียมหนา 1 เซลล์ เซลล์ผนังแอนเทอริเดียมเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า ขนาด 4.4-8.4 × 11.7-27.5 ไมโครเมตร ก้านชูแอนเทอริเดียมประกอบด้วยเซลล์ 4(4×1) - 8(4×2) แถว ยาว 14.1-24.3 ไมโครเมตร เซลล์ก้านชูแอนเทอริเดียมไม่มีสี รูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า ขนาด 3.0-12.0 × 4.6-19.4 ไมโครเมตร เซลล์ผนังแอนเทอริเดียมมีรูปแบบการจัดเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ หรือแบบฟีโอเซอรอยด์ แอนเทอริเดียมจะมีสีเขียว

ในระยะเจริญไม่เต็มที่ และจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองนวลหรือสีส้มในระยะเจริญเต็มที่ เนื่องจากคลอโรพลาสต์ภายในเซลล์เปลี่ยนไปเป็นโครโมพลาสต์ (ภาพที่ 4.7จ)

1.4 ไรซอยด์

ไรซอยด์เจริญยื่นยาวออกมาจากผิวทัลลัสด้านล่างจำนวนมาก ลักษณะเป็นเซลล์เดียว ผนังเซลล์ด้านในเรียบหรือมีปุ่มหนาม มีสีน้ำตาลอ่อนหรือไม่มีสี (ภาพที่ 4.7ข)

2. สปอโรไฟต์ ศึกษาโครงสร้างต่างๆ ดังนี้

2.1 อับสปอร์

อับสปอร์เป็นรูปกระสวยหรือรูปทรงกระบอก ขนาด 0.2-0.5 × 1.0-2.3 มิลลิเมตร ถูกห่อหุ้มอยู่ภายในอินโวลูเคอก่อนถึงระยะกระจายสปอร์ (ภาพที่ 4.7ก) อับสปอร์แตกไม่เป็นระเบียบ เนื่องจากไม่มีเซลล์พิเศษตามแนวแตกบนผนังอับสปอร์ ผนังอับสปอร์ไม่มีปากใบ ผนังอับสปอร์ในระยะสปอโรไฟต์เจริญไม่เต็มที่จะมีสีเขียวอ่อน และจะมีสีเหลืองแกมน้ำตาลถึงสีน้ำตาลในระยะสปอโรไฟต์เจริญเต็มที่

เซลล์ผิวของผนังอับสปอร์หรือผนังอับสปอร์ชั้นนอก รูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส หรือรูปห้าเหลี่ยม ขนาด 16.8-32.4 × 28.5-74.3 ไมโครเมตร ผนังเซลล์หนา 4.6-10.0 ไมโครเมตร ช่องว่างภายในเซลล์ ขนาด 7.9-24.4 × 22.9-63.8 ไมโครเมตร เซลล์ผิวของผนังอับสปอร์ชั้นนอกแต่ละเซลล์จะมีคลอโรพลาสต์อยู่ภายใน 1 อันต่อเซลล์ ซึ่งต่อมาได้สลายไปในระยะสปอโรไฟต์เจริญเต็มที่ (ภาพที่ 4.8ซ)

เซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นใน ไม่มีสี รูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส หรือรูปห้าเหลี่ยม ขนาด 17.1-39.3 × 31.7-56.1 ไมโครเมตร ผนังเซลล์บาง (ภาพที่ 4.8ซ)

2.2 แกนกลาง

พบแกนกลางเฉพาะในระยะที่สปอโรไฟต์ยังเจริญไม่เต็มที่ และสลายไปในระยะกระจายสปอร์ แกนกลางมีลักษณะเป็นแท่งยาว ยาวประมาณ 0.6-1.0 มิลลิเมตร ซึ่งประกอบด้วยเซลล์รูปทรงกระบอกหรือรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าจำนวนหลายเซลล์ต่อกัน ขนาด 20.3-39.1 × 37.9-74.8 ไมโครเมตร เซลล์แกนกลางไม่มีสีและลวดลาย ภายในเซลล์แกนกลางที่ยังอ่อนจะมีคลอโร-พลาสต์จำนวน 1 อันต่อเซลล์ (ภาพที่ 4.9ก)

2.3 สปอร์

จากการศึกษาลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบว่าสปอร์มีสีเหลืองถึงสีน้ำตาลแกมเหลือง มีความยาวของแกนระหว่างขั้ว 31.6-40.1 ไมโครเมตร และความยาวของแกนตามแนวศูนย์สูตร 40.6-47.2 ไมโครเมตร สปอร์ทางด้านใกล้แกนเป็นรูปพีระมิดสามเหลี่ยมเตี้ยๆ มีสันสามแฉกชัดเจน (ภาพที่ 4.9ค) ผิวแต่ละด้านเรียบ สปอร์ทางด้านไกลแกนมีลักษณะกลม ตรงกลางนูนขึ้นมาเล็กน้อยคล้ายรูปโดม (ภาพที่ 4.9ข)

จากการศึกษาผิวสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าผิวสปอร์ทั้งทางด้านใกล้แกนและไกลแกนมีลวดลายคล้ายหนอนเหมือนกัน (ภาพที่ 4.9ง-จ) ผิวสปอร์ทางด้านไกลแกนมีลวดลายเรียงตัวชิดกันมากกว่าด้านใกล้แกน โดยเฉพาะบริเวณตรงกลางที่นูนขึ้นมาคล้ายรูปโดม (ภาพที่ 4.9ฉ-ช) นอกจากนี้ยังพบว่าบริเวณสันสามแฉกมีเส้นพาดกลางชัดเจน กว้างประมาณ 0.4-0.6 ไมโครเมตร ผิวสปอร์บริเวณสันสามแฉกมีลวดลายเรียงตัวชิดกันมากกว่าบริเวณรอบสันชัดเจน (ภาพที่ 4.9จ)

2.4 ซูโดอีเลเตอร์

ซูโดอีเลเตอร์ ไม่มีสี มักเกาะติดอยู่กับแกนกลาง พบเฉพาะในระยะที่สปอโรไฟต์ยังไม่เจริญเต็มที่ และสลายไปก่อนในระยะกระจายสปอร์ เซลล์ซูโดอีเลเตอร์เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าหรือรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส ขนาด 19.5-26.9 × 26.5-41.4 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4.9ก)

ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์

1. แกมีโตไฟต์ ศึกษาโครงสร้างต่างๆ ดังนี้

1.1 ทัลลัสตัดตามขวาง

ทัลลัสหนา 5-8 เซลล์บริเวณกลางทัลลัส และค่อยๆ ลดจำนวนลงเหลือ 1-2 เซลล์บริเวณปลายหรือขอบของทัลลัส ประกอบด้วยชั้นเซลล์ผิว 2 ชั้น ซึ่งอยู่ชั้นบนสุดและล่างสุด และเนื้อเยื่อชั้นในของทัลลัส ซึ่งอยู่ระหว่างชั้นเซลล์ผิว (ภาพที่ 4.7ฉ)

เซลล์ผิวตัดตามขวาง เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส หรือรูปห้าเหลี่ยม ขนาด 12.7-74.3 × 19.0-87.1 ไมโครเมตร ผนังเซลล์บาง

เนื้อเยื่อชั้นในของทัลลัสตัดตามขวาง เป็นเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ ผนังเซลล์บาง เซลล์มีการจัดเรียงตัวหลวมๆ ทำให้มีช่องว่างระหว่างเซลล์ชัดเจน และมีคลอโรพลาสต์ขนาดเล็กอยู่ภายในเซลล์ 1 อันต่อเซลล์ มีรูปร่างเป็นรูปหลายเหลี่ยมค่อนข้างกลมหรือรี ลักษณะคล้ายเซลล์พาเรงคิมา มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 55.5-185.0 ไมโครเมตร

1.2 อินโวลูเคอตัดตามขวาง

อินโวลูเคอหนา 3-5 เซลล์ เซลล์ผิวอินโวลูเคอตัดตามขวางเป็นรูปหลายเหลี่ยมค่อนข้างกลมหรือรี มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 21.0-112.9 ไมโครเมตร ผนังเซลล์บาง และมีคลอโรพลาสต์อยู่ภายในเซลล์ 1 อันต่อเซลล์เช่นเดียวกับเซลล์ผิว (ภาพที่ 4.7ช)

2. สปอโรไฟต์ ศึกษาโครงสร้างต่างๆ ดังนี้

2.1 อับสปอร์ แบ่งได้เป็น 4 ชั้น (ภาพที่ 4.8จ) ดังนี้

1) ผนังอับสปอร์ชั้นนอกหรือชั้นเซลล์ผิว หนา 1 เซลล์ เซลล์ผิวเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าหรือรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส มีผนังเซลล์หนาทั้งทางด้านรัศมีและด้านสัมผัส ไม่มีคลอโรพลาสต์อยู่

ภายในเซลล์ (ภาพที่ 4.8ข-ค) เซลล์ผิวตัดตามขวาง มีขนาด 7.1-14.9 × 21.7-46.3 ไมโครเมตร ส่วนเซลล์ผิวตัดตามยาว มีขนาด 6.0-16.4 × 15.1-45.7 ไมโครเมตร

2) ผนังอับสปอร์ชั้นในหรือชั้นเอสสิมิเลทิฟ หนา 2-3 เซลล์ โดยบริเวณปลายอับสปอร์จะมีชั้นเอสสิมิเลทิฟหนา 2 เซลล์ (ภาพที่ 4.8ข) และความหนาเพิ่มขึ้นเป็น 3 เซลล์บริเวณถัดลงมา (ภาพที่ 4.8ค) เซลล์เอสสิมิเลทีฟเป็นกลุ่มเซลล์ที่มีขนาดใหญ่และผนังบาง มีการเรียงตัวหลวมๆ ทำให้มีช่องว่างระหว่างเซลล์ชัดเจน และมีคลอโรพลาสต์อยู่ภายในเซลล์ 1 อันต่อ เซลล์เป็นรูปหลายเหลี่ยมค่อนข้างรี ลักษณะคล้ายเซลล์พาเรงคิมา เซลล์เอสสิมิเลทีฟตัดตามขวาง มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 24.8-75.9 ไมโครเมตร ส่วนเซลล์เอสสิมิเลทีฟตัดตามยาว มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 31.4-55.0 ไมโครเมตร

3) ชั้นสปอร์และซูโดอีเลเตอร์ มีการจัดเรียงตัวสลับชั้นกัน แต่ละชั้นจะประกอบด้วยชั้นสปอร์หรือชั้นซูโดอีเลเตอร์ (ภาพที่ 4.8ก) เมื่อพิจารณาการจัดเรียงตัวของชั้นสปอร์และชั้นซูโดอีเล-เตอร์บริเวณที่มีแกนกลาง พบว่าชั้นสปอร์และชั้นซูโดอีเลเตอร์จะถูกแบ่งออกเป็น 2 ข้าง โดยบริเวณเหนือโคนอับสปอร์ขึ้นไป ชั้นสปอร์ประกอบด้วยสปอร์กลุ่มละสี่ข้างละ 2-4 แถว และชั้นซูโดอีเลเตอร์ประกอบด้วยเซลล์ซูโดอีเลเตอร์ต่อกันจากแกนกลางไปยังชั้นเอสสิมิเลทิฟข้างละ 5-6 เซลล์ (ภาพที่ 4.8จ) ส่วนบริเวณโคนอับสปอร์ ชั้นสปอร์ประกอบด้วยสปอร์กลุ่มละสี่ข้างละ 2-3 แถว และชั้นซูโดอีเลเตอร์ประกอบด้วยเซลล์ซูโดอีเลเตอร์ต่อกันจากแกนกลางไปยังชั้นเอสสิมิเลทิฟข้างละ 3-5 เซลล์

4) แกนกลางอยู่ชั้นในสุด แกนกลางตัดตามขวางประกอบด้วยเซลล์ 16 แถว (4 × 4 แถว) (ภาพที่ 4.8ฉ) เซลล์แกนกลางเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปห้าเหลี่ยม หรือรูปหกเหลี่ยม เซลล์แกนกลางตัดตามขวาง มีขนาด 13.7-23.7 × 18.6-31.0 ไมโครเมตร ส่วนเซลล์แกนกลางตัดตามยาว มีขนาด 14.8-39.5 × 31.0-63.8 ไมโครเมตร

2.2 ฟุตตัดตามยาว

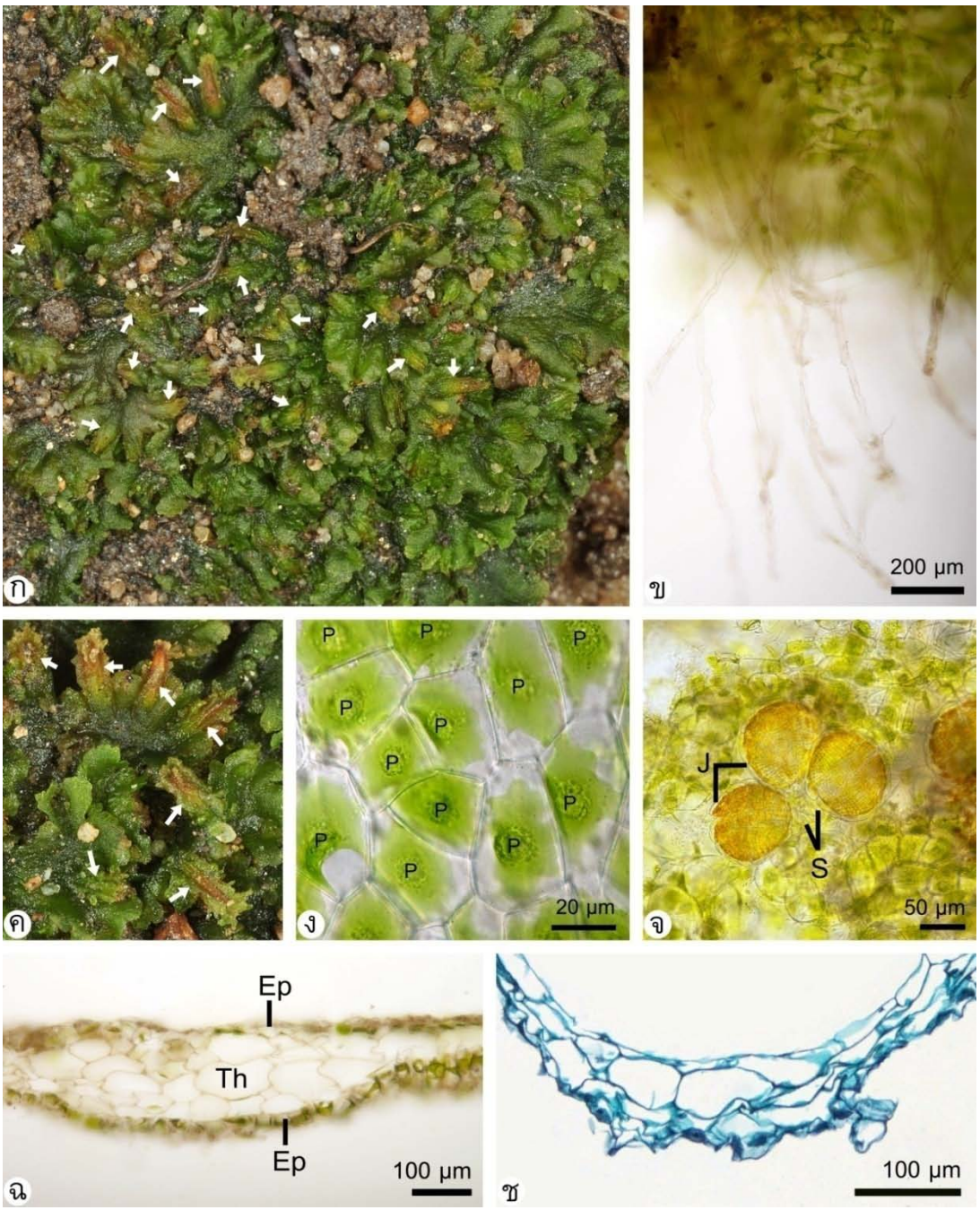
ฟุตเป็นรูปทรงกลม มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 186-274 ไมโครเมตร ฟุตประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 2 บริเวณ คือ บริเวณพลาเซนทา และบริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน (ภาพที่4.8ง)

เนื้อเยื่อของฟุตบริเวณพลาเซนทา เป็นเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์สปอโรไฟต์และเซลล์แกมีโตไฟต์จัดเรียงตัวปะปนกันอย่างไม่เป็นระเบียบ โดยกลุ่มเซลล์บริเวณพลาเซนทามีรูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลม และผนังเซลล์บางเช่นเดียวกับกลุ่มเซลล์บริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน แต่กลุ่มเซลล์บริเวณพลาเซนทามีขนาดเล็กกว่ากลุ่มเซลล์บริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานอย่างชัดเจน โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.5-18.6 ไมโครเมตร

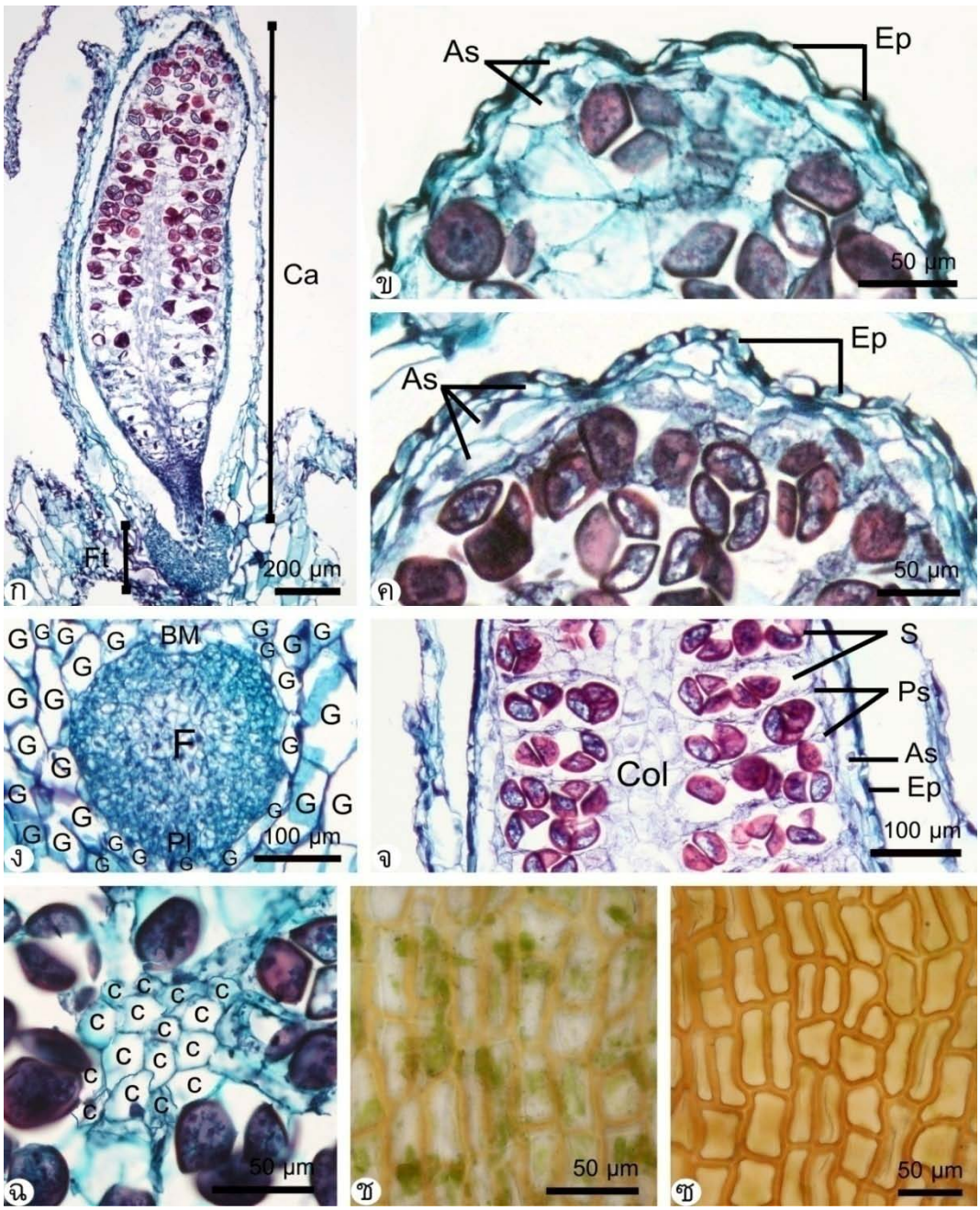
นอกจากนี้ยังพบว่ากลุ่มเซลล์แกมีโตไฟต์บริเวณพลาเซนทามีลักษณะแตกต่างจากเซลล์แกมีโตไฟต์ที่อยู่รอบพลาเซนทาอย่างชัดเจน คือเซลล์แกมีโตไฟต์บริเวณรอบพลาเซนทามีขนาดใหญ่กว่าและมีคลอโรพลาสต์ขนาดเล็กอยู่ภายในเซลล์ 1 อันต่อเซลล์

เนื้อเยื่อของฟุตบริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน เป็นเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์สปอโรไฟต์ขนาดใหญ่ ผนังเซลล์บาง รูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลม มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 13.3-40.1 ไมโครเมตร

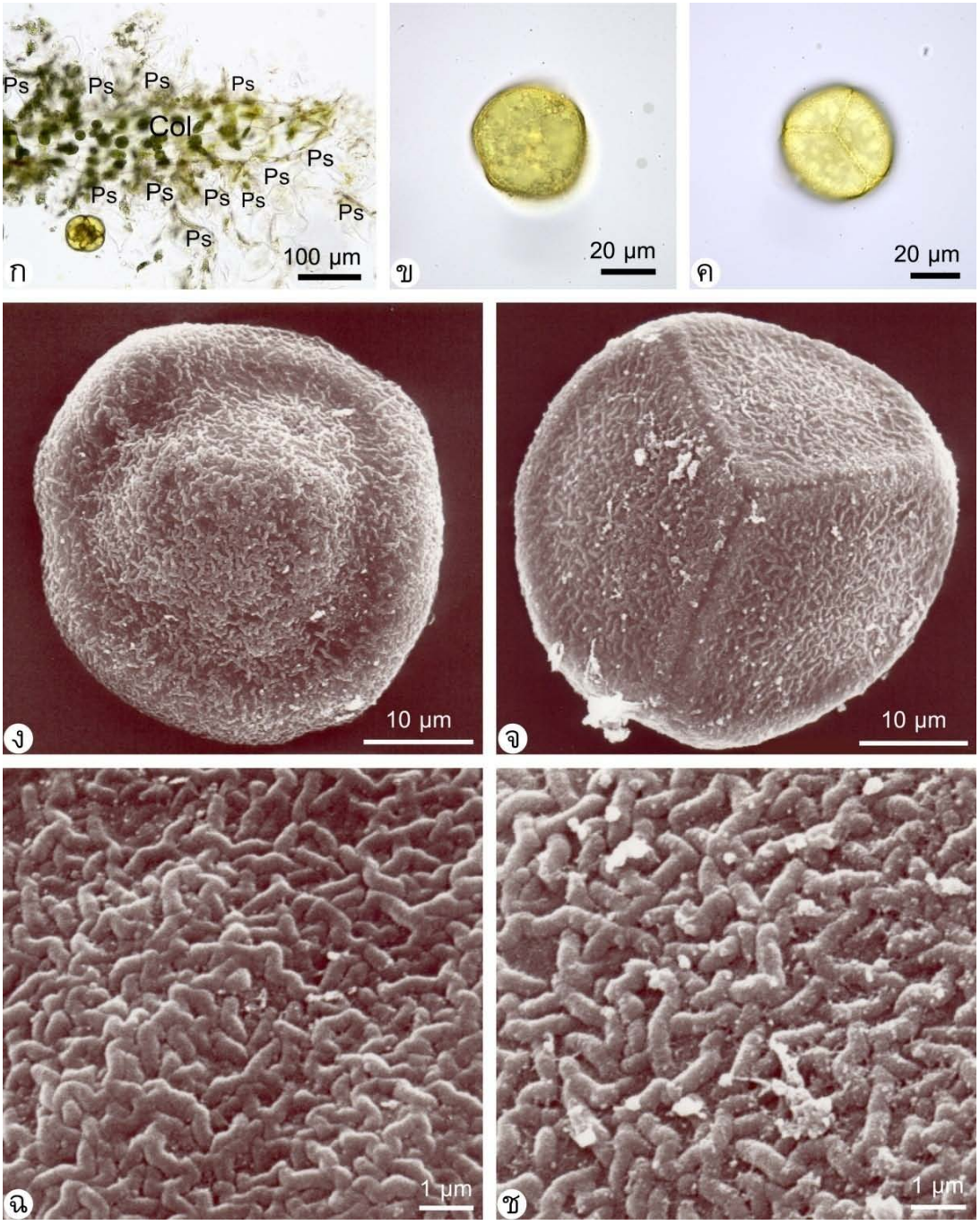
ตัวอย่างพรรณไม้ที่ศึกษา - สวนดอกไม้เมืองหนาว จ. ยะลา, 837 เมตร, 14 มิถุนายน 2556, *Chantanaorrapint & Promma 2488* (PSU); น้ำตกวังแก้ว จ. ลำปาง, 514 เมตร, 7 กันยายน 2556, *Chantanaorrapint & Promma 2855* (PSU); น้ำตกปะหละทะ จ. ตาก, 611 เมตร, 19 กันยายน 2557, *Rattanamanee 8* (PSU)



ภาพที่ 4.7 แกมีโตไฟต์ของ *Notothylas javanica* (Sande Lac.) Gottsche ก) แกมีโตไฟต์ที่มีสปอโรไฟต์เจริญอยู่ด้านบน (ศรชี้) แสดงรูปร่างและการแตกกิ่งของทัลลัส; ข) ไรซอยด์; ค) อินโวลูเคอ (ศรชี้); ง) เซลล์ผิวของทัลลัส แสดงคลอโรพลาสต์ขนาดใหญ่ 1 อันภายในเซลล์ ที่มีไพรีนอยด์ (P) อยู่ตรงกลาง 1 อัน และมีเม็ดแป้งกระจายรอบไพรีนอยด์; จ) แอนเทอริเดียมระยะเจริญเต็มที่ (J =ผนังแอนเทอริเดียม, S = ก้านชูแอนเทอริเดียม); ฉ) ทัลลัสตัดตามขวาง แสดงชั้นเซลล์ผิว (Ep) และเนื้อเยื่อชั้นในของทัลลัส (Th); ช) อินโวลูเคอตัดตามขวาง



ภาพที่ 4.8 สปอโรไฟต์ของ *Notothylas javanica* (Sande Lac.) Gottsche ก) สปอโรไฟต์ตัดตามยาว (Ft = ฟุต, Ca = อับสปอร์); ข-ค) อับสปอร์ตัดตามขวาง แสดงชั้นเซลล์ผิว (Ep) และชั้นเอสสิมิเลทิฟ (As): ข) บริเวณใกล้ปลายอับสปอร์, ค) บริเวณกลางอับสปอร์; ง) ฟุตตัดตามยาว แสดงบริเวณพลาเซนทา (Pl) และบริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน (F) (BM = เนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน, G = เซลล์แกมีโตไฟต์); จ) อับสปอร์ตัดตามยาว แสดงการจัดเรียงตัวของชั้นสปอร์ (S) และชั้นซูโดอีเลเตอร์ (Ps) บริเวณที่มีแกนกลาง (Col); ฉ) แกนกลางตัดตามขวาง แสดงเซลล์แกนกลาง (C) 16 แถว; ช) เซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นใน; ซ) เซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นนอก



ภาพที่ 4.9 แกนกลาง สปอร์ และซูโดอีเลเตอร์ของ *Notothylas javanica* (Sande Lac.) Gottsche ก) แกนกลางในระยะเจริญไม่เต็มที่ แสดงแกนกลาง (Col) ที่มีซูโดอีเลเตอร์ (Ps) อยู่รอบ; ข-ค) ลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง: ข) สปอร์ด้านไกลแกน, ค) สปอร์ด้านใกล้แกน; ง-ช) ลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด: ง) สปอร์ด้านไกลแกน, จ) สปอร์ด้านใกล้แกน แสดงสันสามแฉกที่มีเส้นพาดกลางชัดเจน, ฉ) ผิวสปอร์ด้านไกลแกนที่กำลังขยายสูง แสดงลวดลายคล้ายหนอนที่เรียงตัวชิดกันมาก, ช) ผิวสปอร์ด้านใกล้แกนที่กำลังขยายสูง แสดงลวดลายคล้ายหนอน

4.2.4 *Notothylas levieri* Schiffin. ex Steph.

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

1. แกมีโตไฟต์ ศึกษาโครงสร้างต่างๆ ดังนี้

1.1 ทัลลัส

ทัลลัสเป็นแผ่นขนาดเล็ก เจริญทอดราบหรือแนบชิดไปกับพื้นดิน มีสีเขียวอ่อนถึงสีเขียวเข้ม ไม่มีเส้นกลางทัลลัส มีการแยกสาขาเป็นคู่สั้นๆ ชิดกัน ไม่เป็นระเบียบ รูปร่างคล้ายพัด ทัลลัสหยักเว้าหยักเว้าลึกและค่อนข้างแคบ ไม่เป็นระเบียบ (ภาพที่ 4.10ก) โลบลึกประมาณ 0.6-2.1 มิลลิเมตร โลบกว้างประมาณ 0.3-1.4 มิลลิเมตร ทัลลัสมีขนาด 2-8 × 4-9 มิลลิเมตร เจริญซ้อนทับกันเป็นแผ่นเกือบกลม พื้นผิวทัลลัสด้านบนค่อนข้างเรียบ ในขณะที่พื้นผิวด้านล่างมักไม่เรียบ เนื่องจากมักมีสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสกุล *Nostoc* เข้าไปอยู่อาศัยภายในเนื้อเยื่อของแกมีโตไฟต์ ลักษณะเป็นจุดกลมๆ ขนาดเล็กมีสีคล้ำทึบแสงกระจายอย่างไม่เป็นระเบียบทั่วทั้งทัลลัส

เซลล์ผิวของทัลลัส (ภาพที่ 4.10ง) เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส รูปสี่เหลี่ยมข้าวหลามตัด รูปห้าเหลี่ยม หรือรูปหกเหลี่ยม ขนาด 24.4-62.6 × 31.1-84.0 ไมโครเมตร ภายในเซลล์ผิวแต่ละเซลล์มีคลอโรพลาสต์ขนาดใหญ่ 1 อันต่อเซลล์ ที่มีไพรีนอยด์ 1 อันอยู่ตรงกลาง ลักษณะของคลอโรพลาสต์ในตัวอย่างสดที่เพิ่งเก็บมาจะมีขนาดใหญ่เต็มเซลล์ แต่เมื่อเก็บไว้เป็นเวลานานหรือสูญเสียน้ำคลอโรพลาสต์จะหดตัว โดยการคอดเว้าเข้าด้านใน ทำให้คลอโรพลาสต์มีขนาดเล็กลงและมีรูปร่างเปลี่ยนไปจากเดิม เช่น รูปร่างคล้ายรูปดาว รูปร่างคล้ายรูปกระสวย หรือรูปร่างกลมรี

1.2 อินโวลูเคอ

อินโวลูเคอเป็นรูปกระสวย (ภาพที่ 4.10ค) ขนาดประมาณ 0.2-0.6 × 0.8-2.2 มิลลิเมตร เซลล์ผิวของอินโวลูเคอมีรูปร่างและมีลักษณะเช่นเดียวกับเซลล์ผิวทัลลัส ส่วนปลายของอินโวลูเคอมักมีลักษณะเป็นสันตามยาวหรือแผ่นคล้ายครีบยื่นขึ้นมา แต่บริเวณส่วนโคนที่ติดกับทัลลัสมักเรียบหรือมีสันเตี้ยๆ อินโวลูเคอเจริญขึ้นมาห่อหุ้มสปอโรไฟต์ทั้งต้นก่อนถึงระยะกระจายสปอร์ เจริญทอดนอนหรือยกตัวขึ้นจากทัลลัสเล็กน้อย

1.3 แอนเทอริเดียม

แอนเทอริเดียมอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม 2-3(-5) อันต่อกลุ่ม มีรูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลม มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 56.4-89.2 ไมโครเมตร ผนังแอนเทอริเดียมหนา 1 เซลล์ เซลล์ผนังแอนเทอริเดียมเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า ขนาด 3.2-6.9 × 9.6-23.5 ไมโครเมตร ก้านชูแอนเทอริเดียมประกอบด้วยเซลล์ 8(4×2) - 12(4×3) แถว ยาว 16.4-25.4 ไมโครเมตร เซลล์ก้านชูแอนเทอริเดียมไม่มีสี รูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า ขนาด 3.2-8.6 × 5.3-14.0 ไมโครเมตร เซลล์ผนังแอนเทอริเดียมมีรูปแบบการจัดเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ หรือแบบฟีโอเซอรอยด์ แอนเทอริเดียมจะมีสีเขียวใน

ระยะเจริญไม่เต็มที่ และจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองนวลหรือสีส้มในระยะเจริญเต็มที่ เนื่องจากคลอโรพลาสต์ภายในเซลล์เปลี่ยนไปเป็นโครโมพลาสต์ (ภาพที่ 4.10จ)

1.4 ไรซอยด์

ไรซอยด์เจริญยื่นยาวออกมาจากผิวทัลลัสด้านล่างจำนวนมาก ลักษณะเป็นเซลล์เดียว ผนังเซลล์ด้านในเรียบหรือมีปุ่มหนาม มีสีน้ำตาลอ่อนหรือไม่มีสี (ภาพที่ 4.10ข)

2. สปอโรไฟต์ ศึกษาโครงสร้างต่างๆ ดังนี้

2.1 อับสปอร์

อับสปอร์เป็นรูปกระสวย ขนาด 0.1-0.4 × 0.7-1.9 มิลลิเมตร ถูกห่อหุ้มอยู่ภายในอินโวลูเคอก่อนถึงระยะกระจายสปอร์ (ภาพที่ 4.10ก) อับสปอร์แตกตามยาวจากปลายลงมาด้านล่างตามแนวแตก แยกออกเป็น 2 ซีกอย่างเป็นระเบียบ เนื่องจากผนังอับสปอร์มีเซลล์พิเศษตามแนวแตก ผนังอับสปอร์ไม่มีปากใบ ผนังอับสปอร์ในระยะสปอโรไฟต์เจริญไม่เต็มที่จะมีสีเขียวอ่อน และจะมีสีเหลืองแกมน้ำตาลถึงสีน้ำตาลเข้มในระยะสปอโรไฟต์เจริญเต็มที่

เซลล์ผิวของผนังอับสปอร์หรือผนังอับสปอร์ชั้นนอก เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส หรือรูปห้าเหลี่ยม ขนาด 13.9-27.5 × 31.1-91.8 ไมโครเมตร ผนังเซลล์หนา 11.0-25.3 ไมโครเมตร ช่องว่างภายในเซลล์ ขนาด 2.1-6.8 × 16.8-68.3 ไมโครเมตร เซลล์ผิวของผนังอับสปอร์ชั้นนอกแต่ละเซลล์จะมีคลอโรพลาสต์อยู่ภายใน 1 อันต่อเซลล์ ซึ่งต่อมาได้สลายไปเมื่อสปอโรไฟต์เจริญเต็มที่ (ภาพที่ 4.11ซ)

เซลล์พิเศษตามแนวแตก มีจำนวน 4-8 แถว สีน้ำตาลแดง เซลล์มีความยาวมากกว่าเซลล์ผิวของผนังอับสปอร์ชั้นนอก และมีความหนาของผนังเซลล์น้อยกว่าเซลล์ผิวของผนังอับสปอร์ชั้นนอก เซลล์เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าหรือรูปห้าเหลี่ยม ขนาด 11.5-28.3 × 27.6-130.5 ไมโครเมตร ผนังเซลล์หนา 6.7-13.8 ไมโครเมตร ช่องว่างภายในเซลล์ ขนาด 4.3-17.8 × 19.7-119.5 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4.11ซ)

เซลล์ผิวของผนังอับสปอร์ชั้นใน สีน้ำตาล่อนถึงเข้ม รูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า หรือรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส ขนาด 15.2-47.1 × 29.5-70.0 ไมโครเมตร ผนังเซลล์บาง และมีลวดลายเป็นแถบสีน้ำตาลไม่เป็นระเบียบ (ภาพที่ 4.11ช)

2.2 แกนกลาง สั้นมาก พบเฉพาะที่บริเวณเหนือเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน (ภาพที่ 4.11ฉ)

2.3 สปอร์

จากการศึกษาลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบว่าสปอร์มีสีน้ำตาลเข้มถึงสีดำ มีความยาวของแกนระหว่างขั้ว 25.2-33.5 ไมโครเมตร และความยาวของแกนตามแนวศูนย์สูตร 26.9-35.0 ไมโครเมตร สปอร์ทางด้านใกล้แกนเป็นรูปพีระมิดสามเหลี่ยมเตี้ยๆ มีสันสามแฉกไม่ค่อยชัด ผิวแต่ละด้านมีปุ่มขนาดเล็กๆ กระจายอย่างไม่เป็นระเบียบ (ภาพที่ 4.12

ค) สปอร์ทางด้านไกลแกนมีลักษณะกลม ตรงกลางมีโหนกหรือปุ่มขนาดใหญ่ 1-2 (-3) อัน เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 11.9-20.5 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4.12ข)

จากการศึกษาผิวสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าผิวสปอร์ทั้งทางด้านใกล้แกนและไกลแกนมีลวดลายเป็นปุ่มหนาม (papillate) เหมือนกัน ผิวสปอร์ทางด้านไกลแกนมีลวดลายเรียงตัวชิดกันมากกว่าด้านใกล้แกน (ภาพที่ 4.12ง-ช) นอกจากนี้ยังพบว่าบริเวณสันสามแฉกมีเส้นพาดกลางไม่ชัดเจนหรือไม่มี ผิวสปอร์บริเวณตรงกลางในแต่ละด้านบนผิวสปอร์ทางด้านใกล้แกนมีลวดลายเรียงตัวชิดกันมากกว่าบริเวณรอบๆ ชัดเจน (ภาพที่ 4.12ช) ผิวสปอร์บริเวณโหนกมีลวดลายเรียงตัวชิดกันมากกว่าบริเวณรอบโหนก (ภาพที่ 4.12ฉ)

2.4 ซูโดอีเลเตอร์

ซูโดอีเลเตอร์ ไม่มีสีหรือมีสีน้ำตาลอ่อน แยกเป็นอิสระจากแกนกลาง พบตลอดจนถึงระยะกระจายสปอร์ เซลล์ซูโดอีเลเตอร์เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าหรือรูปสี่เหลี่ยมจตุรัส ขนาด 19.0-37.9 × 28.4-47.4 ไมโครเมตร ผนังเซลล์มีลวดลายเป็นแถบสีน้ำตาลไม่เป็นระเบียบ (ภาพที่ 4.12ก)

ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์

1. แกมีโตไฟต์ ศึกษาโครงสร้างต่างๆ ดังนี้

1.1 ทัลลัสตัดตามขวาง

ทัลลัสหนา 3-4 เซลล์บริเวณกลางทัลลัส และค่อยๆ ลดจำนวนลงเหลือ 1-2 เซลล์บริเวณปลายทัลลัส ประกอบด้วยชั้นเซลล์ผิว 2 ชั้น ซึ่งอยู่ชั้นบนสุดและล่างสุด และเนื้อเยื่อชั้นในของทัลลัส ซึ่งอยู่ระหว่างชั้นเซลล์ผิว (ภาพที่ 4.10จ)

เซลล์ผิวตัดตามขวาง เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส หรือรูปห้าเหลี่ยม ขนาด 18.6-54.3 × 21.4-89.5 ไมโครเมตร ผนังเซลล์บาง

เนื้อเยื่อชั้นในของทัลลัสตัดตามขวาง เป็นเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ ผนังเซลล์บาง เซลล์มีการจัดเรียงตัวหลวมๆ ทำให้มีช่องว่างระหว่างเซลล์ชัดเจน และมีคลอโรพลาสต์ขนาดเล็กอยู่ภายในเซลล์ 1 อันต่อเซลล์ มีรูปร่างเป็นรูปหลายเหลี่ยมค่อนข้างกลมหรือรี ลักษณะคล้ายเซลล์พาเรงคิมา มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 46.7-145.7 ไมโครเมตร

1.2 อินโวลูเคอตัดตามขวาง

อินโวลูเคอหนา 3-4 เซลล์ เซลล์ผิวอินโวลูเคอตัดตามขวางเป็นรูปหลายเหลี่ยมค่อนข้างกลมหรือรี มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 21.5-67.9 ไมโครเมตร ผนังเซลล์บาง และมีคลอโรพลาสต์อยู่ภายในเซลล์1 อันต่อเซลล์เช่นเดียวกับเซลล์ผิว (ภาพที่ 4.10ฉ)

2. สปอโรไฟต์ ศึกษาโครงสร้างต่างๆ ดังนี้

2.1 อับสปอร์ แบ่งได้เป็น 3 ชั้น (ภาพที่ 4.11จ) ดังนี้

1) ผนังอับสปอร์ชั้นนอกหรือชั้นเซลล์ผิว หนา 1 เซลล์ เซลล์ผิวเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าหรือรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส มีผนังเซลล์หนาทั้งทางด้านรัศมีและด้านสัมผัส ไม่มีคลอโรพลาสต์อยู่ภายในเซลล์ (ภาพที่ 4.11ข-ค) เซลล์ผิวตัดตามขวาง มีขนาด 8.6-21.5 × 17.9-31.6 ไมโครเมตร ส่วนเซลล์ผิวตัดตามยาว มีขนาด 8.1-15.2 × 16.7-42.9 ไมโครเมตร

2) ผนังอับสปอร์ชั้นในหรือชั้นเอสสิมิเลทิฟ หนา 2-3 เซลล์ โดยบริเวณปลายอับสปอร์จะมีชั้นเอสสิมิเลทิฟหนา 2 เซลล์ (ภาพที่ 4.11ข) และมีความหนาเพิ่มขึ้นเป็น 3 เซลล์บริเวณถัดลงมา (ภาพที่ 4.11ค) เซลล์เอสสิมิเลทีฟเป็นกลุ่มเซลล์ที่มีขนาดใหญ่และผนังบาง มีการเรียงตัวหลวมๆ ทำให้มีช่องว่างระหว่างเซลล์ชัดเจน และมีคลอโรพลาสต์อยู่ภายในเซลล์ 1 อันต่อเซลล์ เซลล์เป็นรูปหลายเหลี่ยมค่อนข้างรี ลักษณะคล้ายเซลล์พาเรงคิมา เซลล์เอสสิมิเลทีฟตัดตามขวาง มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 15.3-64.6 ไมโครเมตร ส่วนเซลล์เอสสิมิเลทีฟตัดตามยาว มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 22.3-40.4 ไมโครเมตร

3) ชั้นสปอร์และซูโดอีเลเตอร์ มีการจัดเรียงตัวสลับชั้นกัน แต่ละชั้นจะประกอบด้วยชั้นสปอร์หรือชั้นซูโดอีเลเตอร์ (ภาพที่ 4.11ก) การจัดเรียงตัวของชั้นสปอร์และชั้นซูโดอีเลเตอร์บริเวณเหนือโคนอับสปอร์ขึ้นไป ชั้นสปอร์ประกอบด้วยสปอร์กลุ่มละสี่ 6 แถว และชั้นซูโดอีเล-เตอร์ประกอบด้วยเซลล์ซูโดอีเลเตอร์ต่อกันจากแกนกลางไปยังชั้นเอสสิมิเลทิฟประมาณ 10 เซลล์ (ภาพที่ 4.11จ) ส่วนบริเวณโคนอับสปอร์ ชั้นสปอร์ประกอบด้วยสปอร์กลุ่มละสี่ 4 แถว และชั้นซูโดอีเลเตอร์ประกอบด้วยเซลล์ซูโดอีเลเตอร์ต่อกันจากแกนกลางไปยังชั้นเอสสิมิเลทิฟ 5-6 เซลล์

2.2 ฟุตตัดตามยาว

ฟุตเป็นรูปทรงกลม มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 127-181 ไมโครเมตร ฟุตประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 2 บริเวณ คือ บริเวณ พลาเซนทา และบริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน (ภาพที่ 4.11ง)

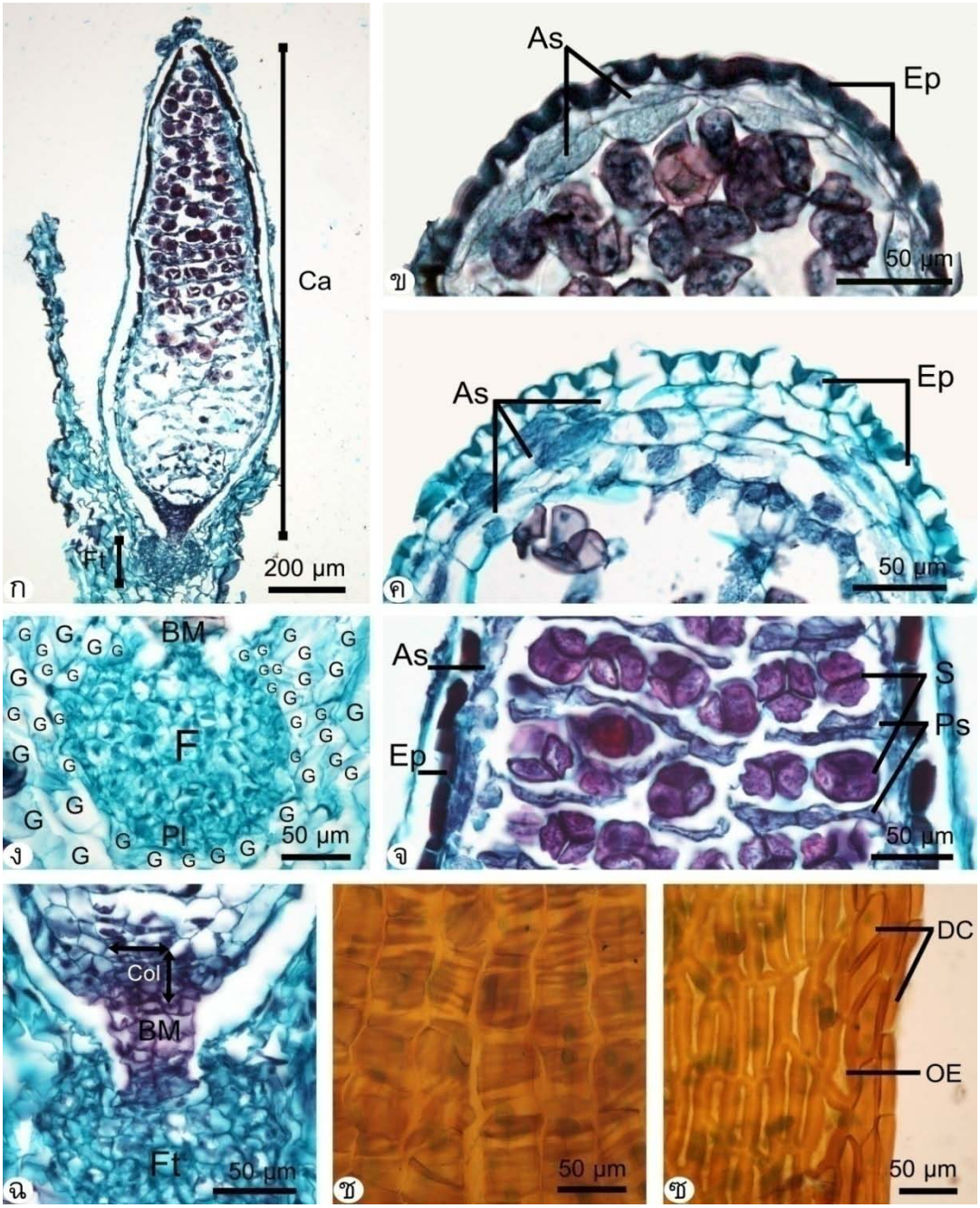
เนื้อเยื่อของฟุตบริเวณพลาเซนทา เป็นเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์สปอโรไฟต์และเซลล์แกมีโตไฟต์จัดเรียงตัวปะปนกันอย่างไม่เป็นระเบียบ โดยกลุ่มเซลล์บริเวณพลาเซนทามีรูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลม และผนังเซลล์บางเช่นเดียวกับกลุ่มเซลล์บริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน แต่กลุ่มเซลล์บริเวณพลาเซนทามีขนาดเล็กกว่ากลุ่มเซลล์บริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานอย่างชัดเจน โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.7-12.7 ไมโครเมตร

นอกจากนี้ยังพบว่ากลุ่มเซลล์แกมีโตไฟต์บริเวณพลาเซนทามีลักษณะแตกต่างจากเซลล์แกมีโตไฟต์ที่อยู่รอบพลาเซนทาอย่างชัดเจน คือเซลล์แกมีโตไฟต์บริเวณรอบพลาเซนทามีขนาดใหญ่กว่าและมีคลอโรพลาสต์ขนาดเล็กอยู่ภายในเซลล์ 1 อันต่อเซลล์

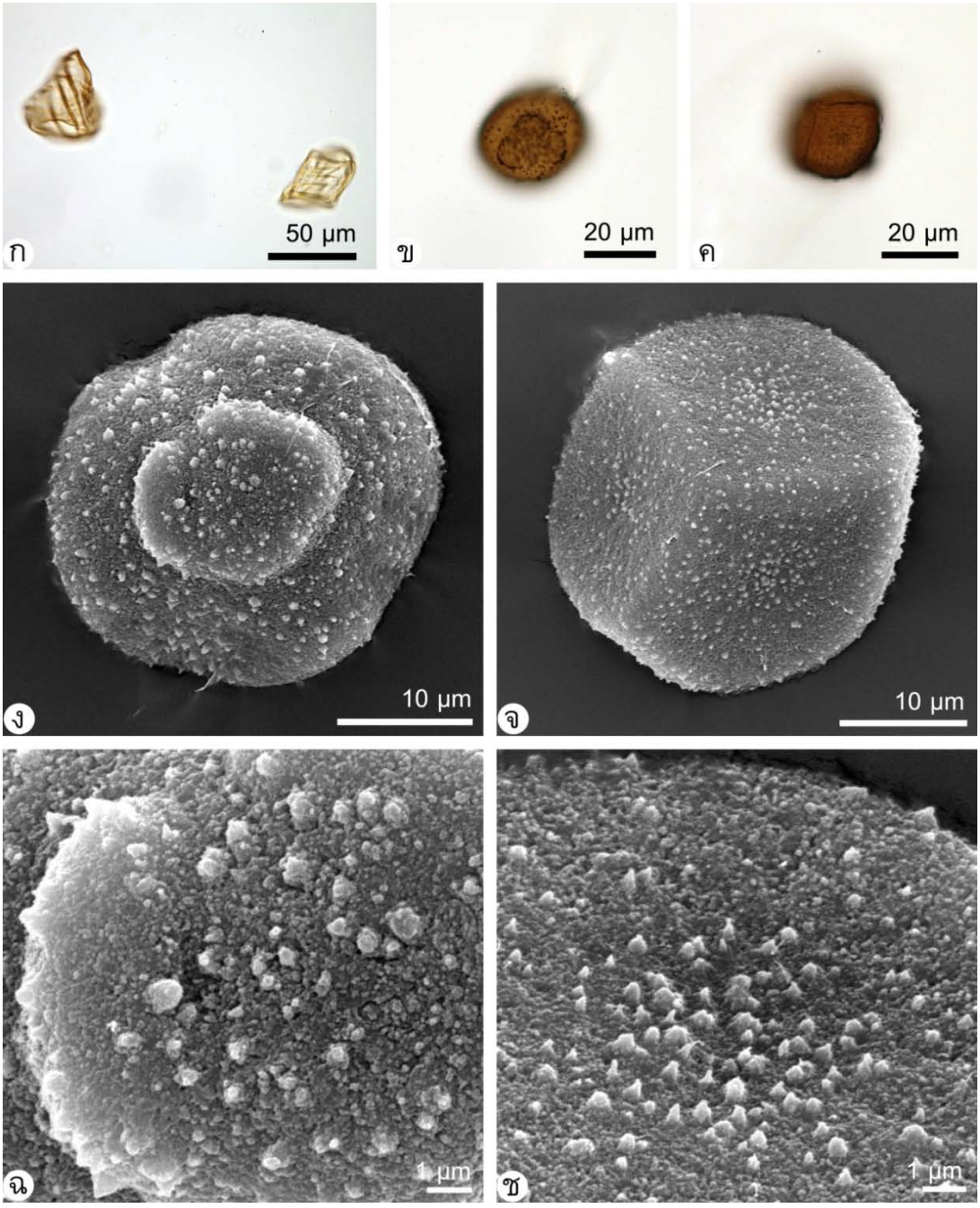
เนื้อเยื่อของฟุตบริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน เป็นเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์สปอโรไฟต์ขนาดใหญ่ ผนังเซลล์บาง รูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลม มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 7.5-27.8 ไมโครเมตร

ตัวอย่างพรรณไม้ที่ศึกษา - น้ำตกสิริภูมิ จ. เชียงใหม่, 1362 เมตร, 9 ตุลาคม 2555, *Chantanaorrapint & Promma 1793* (PSU); ดอยหลวงเชียงดาว จ. เชียงใหม่, 1445 เมตร, 29 ตุลาคม 2556, *Chantanaorrapint* & *Promma 3092* (PSU); ดอยตุง จ. เชียงราย, 1358 เมตร, 6 กันยายน 2556, *Chantanaorrapint* & *Promma 2841* (PSU)

ภาพที่ 4.10 แกมีโตไฟต์ของ *Notothylas levieri* Schiffin. ex Steph. ก) แกมีโตไฟต์ที่มีสปอโร-ไฟต์เจริญอยู่ด้านบน (ศรชี้) แสดงรูปร่างและการแตกกิ่งของทัลลัส; ข) ไรซอยด์; ค) อินโวลูเคอ (ศรชี้); ง) เซลล์ผิวของทัลลัส แสดงคลอโรพลาสต์ขนาดใหญ่ 1 อันภายในเซลล์ ที่มีไพรีนอยด์ (P) อยู่ตรงกลาง 1 อัน; จ) แอนเทอริเดียมในระยะเจริญไม่เต็มที่ (J =ผนังแอนเทอริเดียม, S = ก้านชูแอนเทอริเดียม); ฉ) ทัลลัสตัดตามขวาง แสดงชั้นเซลล์ผิว (Ep) และเนื้อเยื่อชั้นในของทัลลัส (Th) (NC = กลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสกุล *Nostoc*); ช) อินโวลูเคอตัดตามขวาง



ภาพที่ 4.11 สปอโรไฟต์ของ *Notothylas levieri* Schiffin. ex Steph. ก) สปอโรไฟต์ตัดตามยาว (Ft = ฟุต, Ca = อับสปอร์); ข-ค) อับสปอร์ตัดตามขวาง แสดงชั้นเซลล์ผิว (Ep) และชั้นเอสสิ-มิเลทิฟ (As): ข) บริเวณใกล้ปลายอับสปอร์, ค) บริเวณกลางอับสปอร์; ง) ฟุตตัดตามยาว แสดงบริเวณพลาเซนทา (Pl) และบริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน (F) (BM = เนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน, G = เซลล์แกมีโตไฟต์); จ) อับสปอร์ตัดตามยาว แสดงการจัดเรียงตัวของชั้นสปอร์ (S) และชั้นซูโดอีเลเตอร์ (Ps) บริเวณกลางอับสปอร์; ฉ) สปอโรไฟต์ตัดตามยาว แสดงเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน; ช) เซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นใน; ซ) เซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นนอก (OE) และเซลล์พิเศษตามแนวแตก (DC)



ภาพที่ 4.12 สปอร์และซูโดอีเลเตอร์ของ *Notothylas levieri* Schiffin. ex Steph. ก) ซูโดอีเลเตอร์; ข-ค) ลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง: ข) สปอร์ด้านไกลแกน แสดงโหนกหรือปุ่มขนาดใหญ่ 3 อัน, ค) สปอร์ด้านใกล้แกน แสดงสันสามแฉก; ง-ช) ลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด: ง) สปอร์ด้านไกลแกน, จ) สปอร์ด้านใกล้แกน, ฉ) ผิวสปอร์ด้านไกลแกนที่กำลังขยายสูง แสดงลวดลายเป็นปุ่มหนามขนาดไม่เท่ากัน, ช) ผิวสปอร์ด้านใกล้แกนที่กำลังขยายสูง แสดงลวดลายเป็นปุ่มหนามขนาดใกล้เคียงกัน

4.2.5 *Notothylas orbicularis* (Schwein.) Sull. ex A. Gray

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

1. แกมีโตไฟต์ ศึกษาโครงสร้างต่างๆ ดังนี้

1.1 ทัลลัส

ทัลลัสเป็นแผ่นขนาดเล็ก เจริญทอดขนานหรือแนบชิดไปกับพื้นดิน มีสีเขียวอ่อนถึงสีเขียวเข้ม ไม่มีเส้นกลางทัลลัส มีการแยกสาขาเป็นคู่สั้นๆ ชิดกันมากและไม่เป็นระเบียบ รูปร่างเป็นแผ่นกลมหรือเกือบกลม ทัลลัสหยักเว้าตื้นและกว้าง ค่อนข้างเป็นระเบียบ (ภาพที่ 4.13ก) โลบลึกประมาณ 0.3-1.9 มิลลิเมตร โลบกว้างประมาณ 0.2-2.4 มิลลิเมตร ทัลลัสมีขนาด 2.0-8.0 × 3.8-7.0 มิลลิเมตร มักเจริญซ้อนทับกันเป็นแผ่นกลมขนาดใหญ่ พื้นผิวทัลลัสด้านบนเรียบหรือมีสันหรือแผ่นคล้ายครีบ ในขณะที่พื้นผิวด้านล่างมักไม่เรียบ เนื่องจากมักมีสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสกุล *Nostoc* เข้าไปอยู่อาศัยภายในเนื้อเยื่อของแกมีโตไฟต์ ลักษณะเป็นจุดกลมๆ ขนาดเล็กมีสีคล้ำทึบแสงกระจายอย่างไม่เป็นระเบียบทั่วทั้งทัลลัส

เซลล์ผิวของทัลลัส (ภาพที่ 4.13ง) เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส รูปสี่เหลี่ยมข้าวหลามตัด รูปห้าเหลี่ยม หรือรูปหกเหลี่ยม ขนาด 25.0-47.8 × 33.6-71.0 ไมโครเมตร ภายในเซลล์ผิวแต่ละเซลล์มีคลอโรพลาสต์ขนาดใหญ่ 1 อันต่อเซลล์ ที่มีไพรีนอยด์ 1 อันอยู่ตรงกลาง และมีเม็ดแป้งกระจายรอบไพรีนอยด์หนาแน่น ลักษณะของคลอโรพลาสต์ในตัวอย่างสดที่เพิ่งเก็บมาจะมีขนาดใหญ่เต็มเซลล์ แต่เมื่อเก็บไว้เป็นเวลานานหรือสูญเสียน้ำคลอโรพลาสต์จะหดตัว โดยการคอดเว้าเข้าด้านใน ทำให้คลอโรพลาสต์มีขนาดเล็กลงและมีรูปร่างเปลี่ยนไปจากเดิม เช่น รูปร่างคล้ายรูปดาว รูปร่างคล้ายรูปกระสวย รูปร่างกลมรี

1.2 อินโวลูเคอ

อินโวลูเคอเป็นรูปกระสวยหรือรูปทรงกระบอก (ภาพที่ 4.13ค) ขนาดประมาณ 0.4-0.9 × 0.9-4.5 มิลลิเมตร เซลล์ผิวของอินโวลูเคอมีรูปร่างและมีลักษณะเช่นเดียวกับเซลล์ผิวทัลลัส ส่วนปลายของอินโวลูเคอมักมีลักษณะเป็นสันตามยาวหรือแผ่นคล้ายครีบยื่นขึ้นมา แต่บริเวณส่วนโคนที่ติดกับทัลลัสมักเรียบหรือมีสันเตี้ยๆ อินโวลูเคอเจริญขึ้นมาห่อหุ้มสปอโรไฟต์ทั้งต้นก่อนถึงระยะกระจายสปอร์ เจริญยกตัวขึ้นจากแผ่นทัลลัสค่อนข้างมากแต่ไม่ถึงกับตั้งตรง

1.3 แอนเทอริเดียม

แอนเทอริเดียมอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม 2-3 อันต่อกลุ่ม มีรูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลม มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 84.1-125.7 ไมโครเมตร ผนังแอนเทอริเดียมหนา 1 เซลล์ เซลล์ผนังแอนเทอริเดียมเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า ขนาด 4.8-9.3 × 7.4-31.7 ไมโครเมตร ก้านชูแอนเทอริเดียมประกอบด้วยเซลล์ 8(4×2) - 12(4×3) แถว ยาว 18.2-37.6 ไมโครเมตร เซลล์ก้านชูแอนเทอริเดียมไม่มีสี รูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า ขนาด 6.2-17.2 × 7.0-25.2 ไมโครเมตร เซลล์ผนังแอนเทอริเดียมมีรูปแบบการจัดเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ แอนเทอริเดียมจะมีสีเขียวในระยะเจริญไม่เต็มที่

และจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองนวลหรือสีส้มในระยะเจริญเต็มที่ เนื่องจากคลอโรพลาสต์ภายในเซลล์เปลี่ยนไปเป็นโครโมพลาสต์ (ภาพที่ 4.13จ)

1.4 ไรซอยด์

ไรซอยด์เจริญยื่นยาวออกมาจากผิวทัลลัสด้านล่างจำนวนมาก ลักษณะเป็นเซลล์เดียว ผนังเซลล์ด้านในเรียบหรือมีปุ่มหนาม มีสีน้ำตาลอ่อนหรือไม่มีสี (ภาพที่ 4.13ข)

2. สปอโรไฟต์ ศึกษาโครงสร้างต่างๆ ดังนี้

2.1 อับสปอร์

อับสปอร์เป็นรูปกระสวยหรือรูปทรงกระบอก ขนาด 0.2-0.6 × 0.8-4.2 มิลลิเมตร ถูกห่อหุ้มอยู่ภายในอินโวลูเคอก่อนถึงระยะกระจายสปอร์ (ภาพที่ 4.13ก) อับสปอร์แตกตามยาวจากปลายลงมาด้านล่างตามแนวแตก แยกออกเป็น 2 ซีกอย่างเป็นระเบียบ เนื่องจากผนังอับสปอร์มีเซลล์พิเศษตามแนวแตก ผนังอับสปอร์ไม่มีปากใบ ผนังอับสปอร์ในระยะสปอโรไฟต์เจริญไม่เต็มที่จะมีสีเขียวอ่อน และจะมีสีเหลืองแกมน้ำตาลถึงสีน้ำตาลในระยะสปอโรไฟต์เจริญเต็มที่

เซลล์ผิวของผนังอับสปอร์หรือผนังอับสปอร์ชั้นนอก เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส รูปห้าเหลี่ยม หรือรูปหกเหลี่ยม ขนาด 14.6-29.5 × 32.9-79.3 ไมโครเมตร ผนังเซลล์หนา 8.2-16.1 ไมโครเมตร ช่องว่างภายในเซลล์ ขนาด 4.3-14.8 × 22.5-66.1 ไมโครเมตร เซลล์ผิวของผนังอับสปอร์ชั้นนอกแต่ละเซลล์จะมีคลอโรพลาสต์อยู่ภายใน 1 อันต่อเซลล์ ซึ่งต่อมาได้สลายไปเมื่อสปอโรไฟต์เจริญเต็มที่ (ภาพที่ 4.14ซ)

เซลล์พิเศษตามแนวแตก มีจำนวน 2-3 แถว สีน้ำตาลแดง เซลล์มีความยาวมากกว่าเซลล์ผิวของผนังอับสปอร์ชั้นนอก และมีความหนาของผนังเซลล์น้อยกว่าเซลล์ผิวของผนังอับสปอร์ชั้นนอก เซลล์เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าหรือรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส ขนาด 12.9-21.9 × 43.4-116.7 ไมโครเมตร ผนังเซลล์หนา 7.9-13.5 ไมโครเมตร ช่องว่างภายในเซลล์ ขนาด 3.8-9.3 × 31.0-101.7 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4.14ซ)

เซลล์ผิวของผนังอับสปอร์ชั้นใน ไม่มีสี รูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส หรือรูปห้าเหลี่ยม ขนาด 19.8-52.1 × 34.1-71.2 ไมโครเมตร ผนังเซลล์บาง (ภาพที่ 4.14ซ)

2.2 แกนกลาง

แกนกลางมีลักษณะเป็นแท่งยาว ยาวประมาณ 0.6-4.1 มิลลิเมตร ซึ่งประกอบด้วยเซลล์รูปทรงกระบอกหรือรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าจำนวนหลายเซลล์ต่อกัน ขนาด 17.7-35.3 × 35.7-93.7 ไมโครเมตร เซลล์แกนกลางไม่มีสีหรือมีสีน้ำตาลอ่อน ผนังเซลล์มีลวดลายเป็นแถบสีน้ำตาลในระยะเจริญเต็มที่ (ภาพที่ 4.15ก) เซลล์แกนกลางจะมีคลอโรพลาสต์อยู่ภายใน 1 อันต่อ

เซลล์ ซึ่งต่อมาได้สลายไปก่อนถึงระยะกระจายสปอร์ แกนกลางพบตลอดจนถึงระยะกระจายสปอร์

2.3 สปอร์

จากการศึกษาลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบว่าสปอร์มีสีเหลืองถึงสีน้ำตาลแกมเหลือง มีความยาวของแกนระหว่างขั้ว 27.4-39.8 ไมโครเมตร และความยาวของแกนตามแนวศูนย์สูตร 34.1-45.9 ไมโครเมตร สปอร์ทางด้านใกล้แกนเป็นรูปพีระมิดสามเหลี่ยมเตี้ยๆ มีสันสามแฉกชัดเจน ผิวแต่ละด้านเรียบ (ภาพที่ 4.15ง) สปอร์ทางด้านไกลแกนมีลักษณะกลม ตรงกลางนูนขึ้นมาเล็กน้อยคล้ายรูปโดม (ภาพที่ 4.15ค)

จากการศึกษาผิวสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าผิวสปอร์ทั้งทางด้านใกล้แกนและไกลแกนมีลวดลายคล้ายหนอนเหมือนกัน (ภาพที่ 4.15จ-ฉ) ผิวสปอร์ทางด้านไกลแกนมีลวดลายเรียงตัวชิดกันมากกว่าด้านใกล้แกน (ภาพที่ 4.15ช-ซ) นอกจากนี้ยังพบว่าบริเวณสันสามแฉกมีเส้นพาดกลางชัดเจน กว้างประมาณ 0.5-0.6 ไมโครเมตร ผิวสปอร์บริเวณสันสามแฉกมีลวดลายเรียงตัวชิดกันมากกว่าบริเวณรอบสันชัดเจน (ภาพที่ 4.15ฉ)

2.4 ซูโดอีเลเตอร์

ซูโดอีเลเตอร์ ไม่มีสีหรือมีสีน้ำตาลอ่อน แยกเป็นอิสระจากแกนกลาง พบตลอดจนถึงระยะกระจายสปอร์ เซลล์ซูโดอีเลเตอร์เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าหรือรูปสี่เหลี่ยมจตุรัส ขนาด 15.8-34.8 × 31.6-53.7 ไมโครเมตร ผนังเซลล์มีลวดลายเป็นแถบสีน้ำตาลไม่เป็นระเบียบ (ภาพที่ 4.15ข)

ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์

1. แกมีโตไฟต์ ศึกษาโครงสร้างต่างๆ ดังนี้

1.1 ทัลลัสตัดตามขวาง

ทัลลัสหนา 5-8 เซลล์บริเวณกลางทัลลัส และค่อยๆ ลดจำนวนลงเหลือ 1-2 เซลล์บริเวณปลายหรือขอบของทัลลัส ประกอบด้วยชั้นเซลล์ผิว 2 ชั้น ซึ่งอยู่ชั้นบนสุดและล่างสุด และเนื้อเยื่อชั้นในของทัลลัส ซึ่งอยู่ระหว่างชั้นเซลล์ผิว (ภาพที่ 4.13ฉ)

เซลล์ผิวตัดตามขวาง เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส หรือรูปห้าเหลี่ยม ขนาด 10.2-40.5 × 15.5-53.6 ไมโครเมตร ผนังเซลล์บาง

เนื้อเยื่อชั้นในของทัลลัสตัดตามขวาง เป็นเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ ผนังเซลล์บาง เซลล์มีการจัดเรียงตัวหลวมๆ ทำให้มีช่องว่างระหว่างเซลล์ชัดเจน และมีคลอโรพลาสต์ขนาดเล็กอยู่ภายในเซลล์ 1 อันต่อเซลล์ มีรูปร่างเป็นรูปหลายเหลี่ยมค่อนข้างกลมหรือรี ลักษณะคล้ายเซลล์พาเรงคิมา มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 39.4-134.8

1.2 อินโวลูเคอตัดตามขวาง

อินโวลูเคอหนา 3-4 เซลล์ เซลล์ผิวอินโวลูเคอตัดตามขวางเป็นรูปหลายเหลี่ยมค่อนข้างกลมหรือรี มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 26.4-101.4 ไมโครเมตร ผนังเซลล์บาง และมีคลอโรพลาสต์อยู่ภายในเซลล์ 1 อันต่อเซลล์เช่นเดียวกับเซลล์ผิว (ภาพที่ 4.13ช)

2. สปอโรไฟต์ ศึกษาโครงสร้างต่างๆ ดังนี้

2.1 อับสปอร์ แบ่งได้เป็น 4 ชั้น ดังนี้

1) ผนังอับสปอร์ชั้นนอกหรือชั้นเซลล์ผิว หนา 1 เซลล์ เซลล์ผิวเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าหรือรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส มีผนังเซลล์หนาทั้งทางด้านรัศมีและด้านสัมผัส ไม่มีคลอโรพลาสต์อยู่ภายในเซลล์ (ภาพที่ 4.14ข-ค) เซลล์ผิวตัดตามขวาง มีขนาด 8.1-16.9 × 14.1-35.0 ไมโครเมตร ส่วนเซลล์ผิวตัดตามยาว มีขนาด 9.3-15.0 × 18.9-43.3 ไมโครเมตร

2) ผนังอับสปอร์ชั้นในหรือชั้นเอสสิมิเลทิฟ หนา 2-3 เซลล์ โดยบริเวณปลายอับสปอร์จะมีชั้นเอสสิมิเลทิฟหนา 2 เซลล์ (ภาพที่ 4.14ข) และมีความหนาเพิ่มขึ้นเป็น 3 เซลล์บริเวณถัดลงมา (ภาพที่ 4.14ค) เซลล์เอสสิมิเลทีฟเป็นกลุ่มเซลล์ที่มีขนาดใหญ่และผนังบาง มีการเรียงตัวหลวมๆ ทำให้มีช่องว่างระหว่างเซลล์ชัดเจน และมีคลอโรพลาสต์อยู่ภายในเซลล์ 1 อันต่อเซลล์ เซลล์เป็นรูปหลายเหลี่ยมค่อนข้างรี ลักษณะคล้ายเซลล์พาเรงคิมา เซลล์เอสสิมิเลทีฟตัดตามขวาง มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 19.0-82.9 ไมโครเมตร เซลล์เอสสิมิเลทีฟตัดตามยาว มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 20.8-49.7 ไมโครเมตร

3) ชั้นสปอร์และซูโดอีเลเตอร์ มีการจัดเรียงตัวสลับชั้นกัน แต่ละชั้นจะประกอบด้วยชั้นสปอร์หรือชั้นซูโดอีเลเตอร์ (ภาพที่ 4.14ก) เมื่อพิจารณาการจัดเรียงตัวของชั้นสปอร์และชั้นซูโดอีเลเตอร์บริเวณที่มีแกนกลาง พบว่าชั้นสปอร์และชั้นซูโดอีเลเตอร์จะถูกแบ่งออกเป็น 2 ข้าง โดยบริเวณเหนือโคนอับสปอร์ขึ้นไป ชั้นสปอร์ประกอบด้วยสปอร์กลุ่มละสี่ข้างละ 2-3 แถว และชั้นซูโดอีเลเตอร์ประกอบด้วยเซลล์ซูโดอีเลเตอร์ต่อกันจากแกนกลางไปยังชั้นเอสสิมิเลทิฟข้างละ 4-6 เซลล์ (ภาพที่ 4.14จ) ส่วนบริเวณโคนอับสปอร์ ชั้นสปอร์ประกอบด้วยสปอร์กลุ่มละสี่ข้างละ 2 แถว และชั้นซูโดอีเลเตอร์ประกอบด้วยเซลล์ซูโดอีเลเตอร์ต่อกันจากแกนกลางไปยังชั้นเอสสิมิเลทิฟข้างละ 3-5 เซลล์

4) แกนกลางอยู่ชั้นในสุด แกนกลางตัดตามขวางประกอบด้วยเซลล์ 16 แถว (4 × 4 แถว) เซลล์แกนกลางเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปห้าเหลี่ยม หรือรูปหกเหลี่ยม (ภาพที่ 4.14ฉ) เซลล์แกนกลางตัดตามขวาง มีขนาด 9.2-17.6 × 12.1-23.8 ไมโครเมตร ส่วนเซลล์แกนกลางตัดตามยาว มีขนาด 11.0-27.9 × 23.3-82.9 ไมโครเมตร

2.2 ฟุตตัดตามยาว

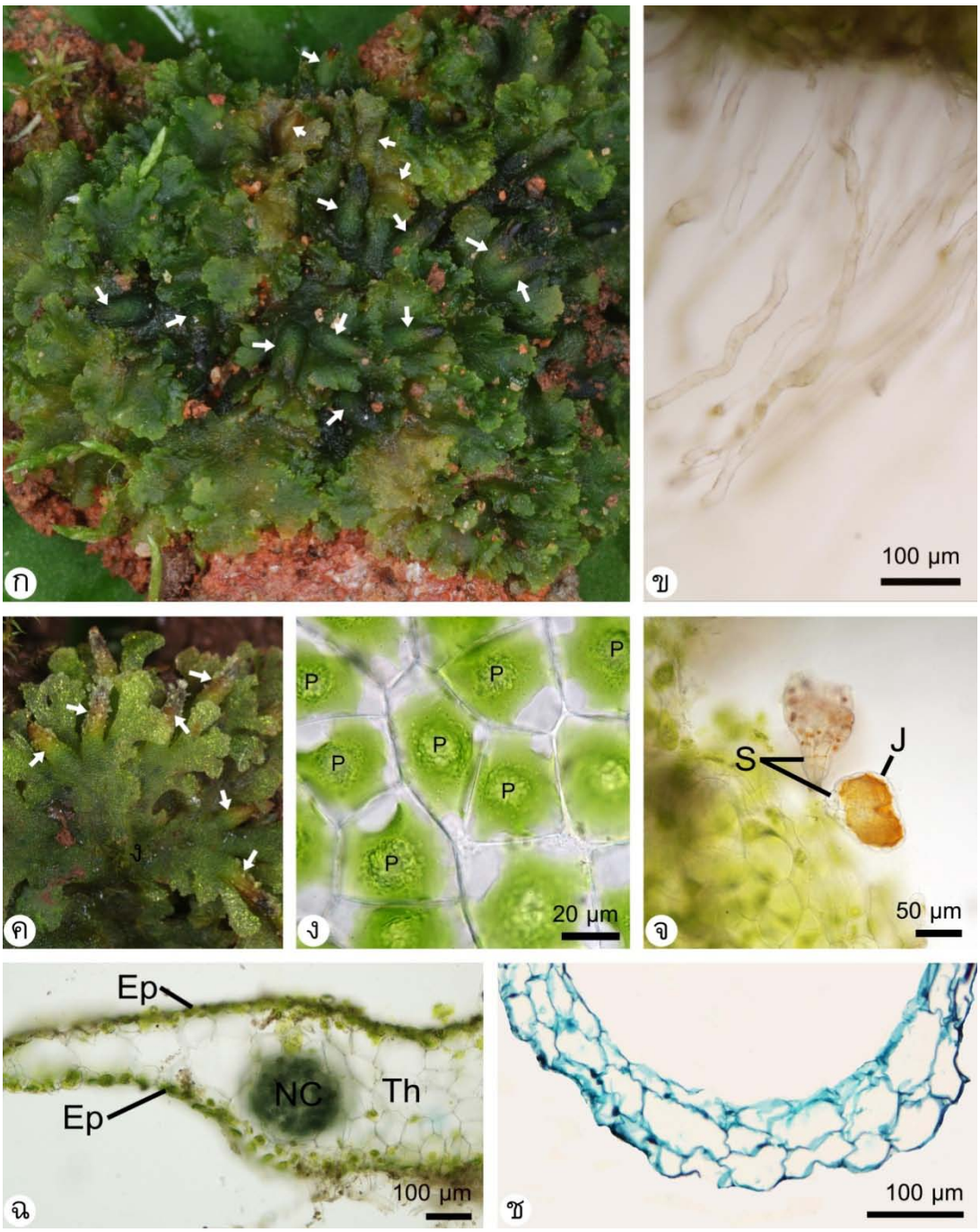
ฟุตเป็นรูปทรงกลม มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 198-320 ไมโครเมตร ฟุตประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 2 บริเวณ คือ บริเวณ พลาเซนทา และบริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน (ภาพที่ 4.14ง)

เนื้อเยื่อของฟุตบริเวณพลาเซนทา เป็นเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์สปอโรไฟต์และเซลล์แกมีโตไฟต์จัดเรียงตัวปะปนกันอย่างไม่เป็นระเบียบ โดยกลุ่มเซลล์บริเวณพลาเซนทามีรูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลม และผนังเซลล์บางเช่นเดียวกับกลุ่มเซลล์บริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน แต่กลุ่มเซลล์บริเวณพลาเซนทามีขนาดเล็กกว่ากลุ่มเซลล์บริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานอย่างชัดเจน โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.4-21.1 ไมโครเมตร

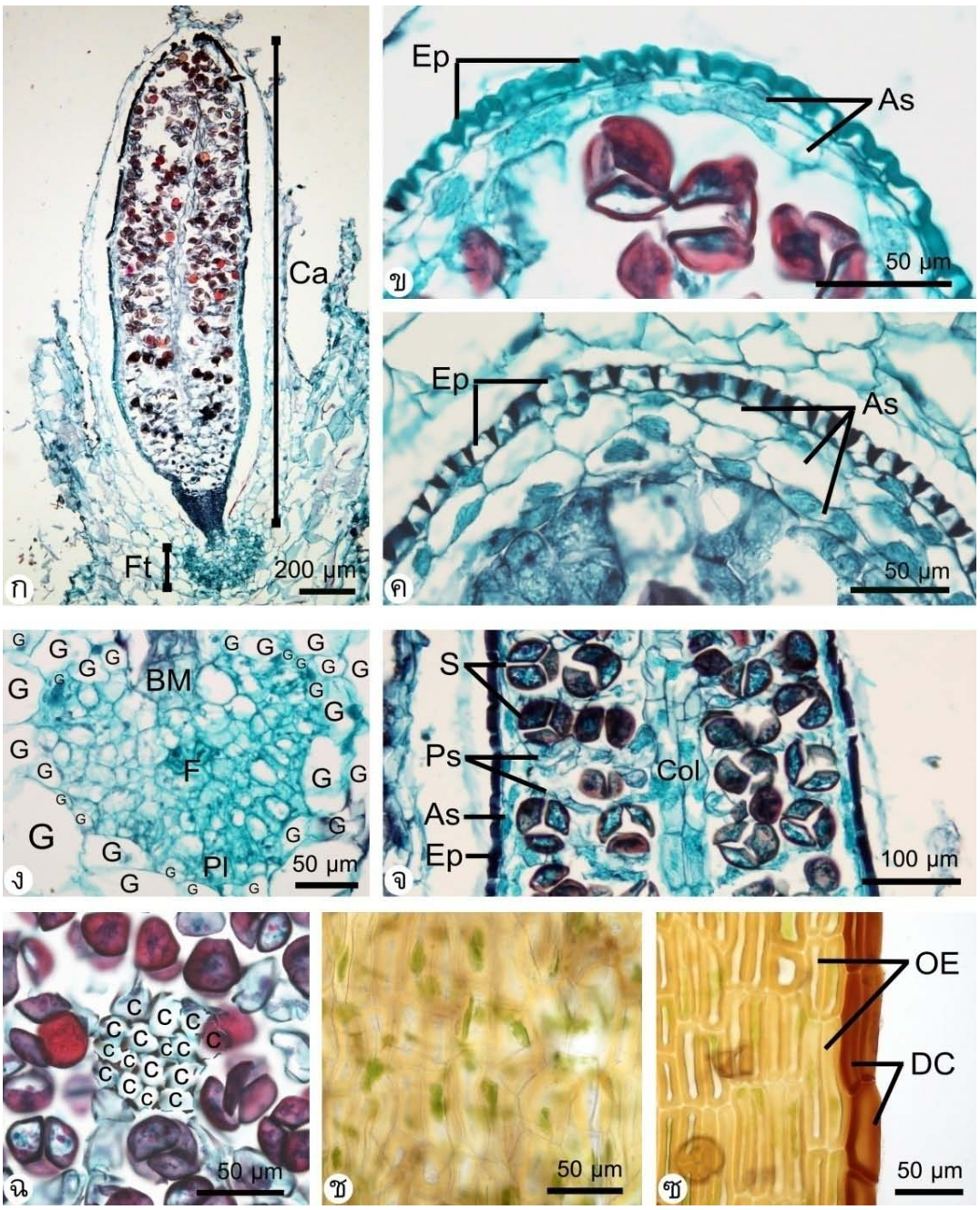
นอกจากนี้ยังพบว่ากลุ่มเซลล์แกมีโตไฟต์บริเวณพลาเซนทามีลักษณะแตกต่างจากเซลล์แกมีโตไฟต์ที่อยู่รอบพลาเซนทาอย่างชัดเจน คือเซลล์แกมีโตไฟต์บริเวณรอบพลาเซนทามีขนาดใหญ่กว่าและมีคลอโรพลาสต์ขนาดเล็กอยู่ภายในเซลล์ 1 อันต่อเซลล์

เนื้อเยื่อของฟุตบริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน เป็นเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์สปอโรไฟต์ขนาดใหญ่ ผนังเซลล์บาง รูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลม มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 9.6-48.9 ไมโครเมตร

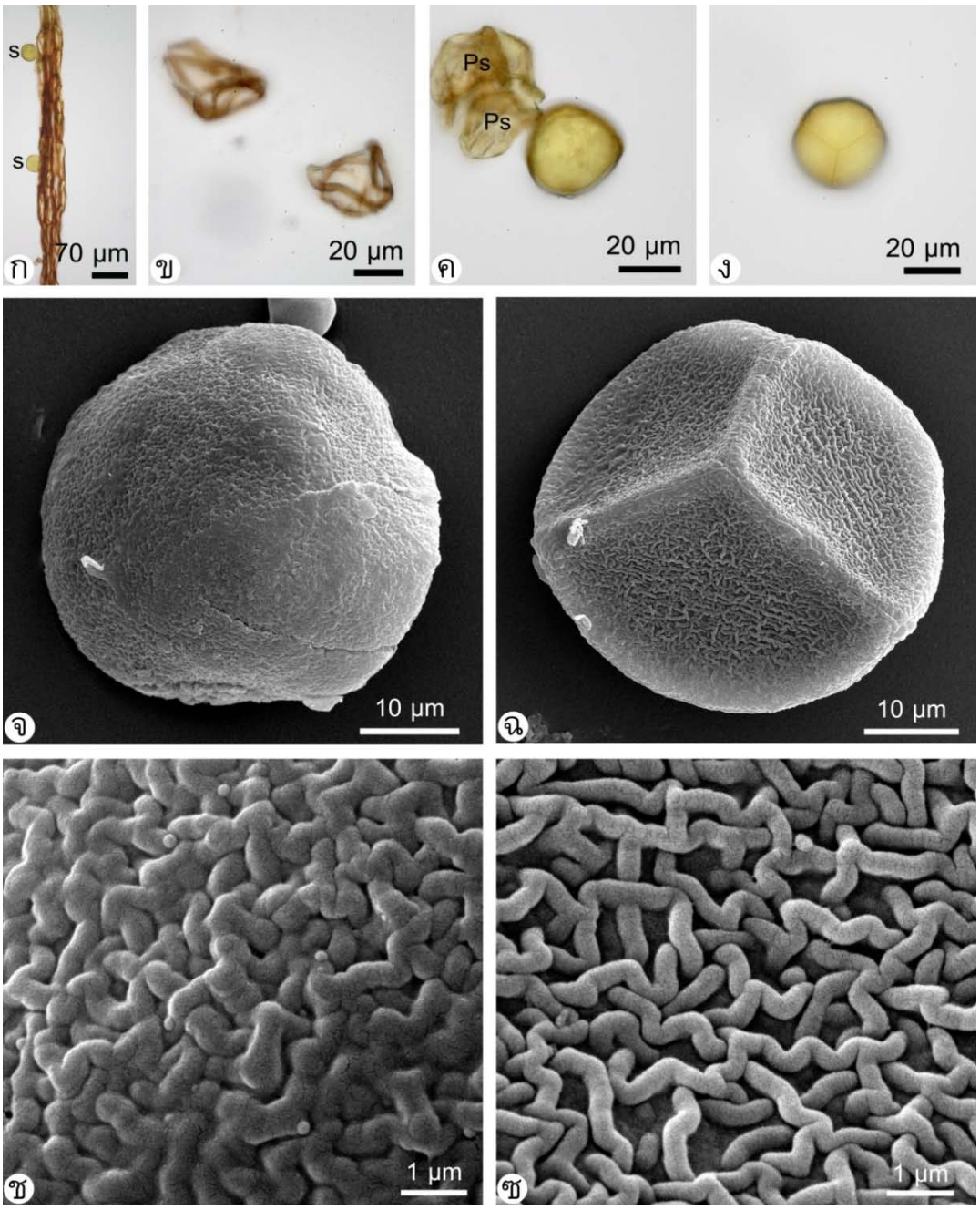
ตัวอย่างพรรณไม้ที่ศึกษา - พระตำหนักภูพิงค์ราชนิเวศ จ. เชียงใหม่, 1392 เมตร, 6 ตุลาคม 2555, *Chantanaorrapint & Promma 1677* (PSU); ดอยเชียงดาว จ. เชียงใหม่, 2034 เมตร, 31 ตุลาคม 2556, *Chantanaorrapint & Promma 3148* (PSU); พระตำหนักภูพิงค์ราชนิเวศ จ. เชียงใหม่, 1392 เมตร, 8 กันยายน 2556, *Rattanamanee 4* (PSU); เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าทุ่งใหญ่นเรศวร จ. ตาก, 890 เมตร, 19 กันยายน 2557, *Rattanamanee 9* (PSU)



ภาพที่ 4.13 แกมีโตไฟต์ของ *Notothylas orbicularis* (Schwein.) Sull. ex A. Gray ก) แกมีโตไฟต์ที่มีสปอโรไฟต์เจริญอยู่ด้านบน (ศรชี้) แสดงรูปร่างและการแตกกิ่งของทัลลัส; ข) ไรซอยด์; ค) อินโวลูเคอ (ศรชี้); ง) เซลล์ผิวของทัลลัส แสดงคลอโรพลาสต์ขนาดใหญ่ 1 อันภายในเซลล์ ที่มีไพรีนอยด์ (P) อยู่ตรงกลาง 1 อัน และมีเม็ดแป้งกระจายรอบไพรีนอยด์หนาแน่น; จ) แอนเทอริเดียมระยะเจริญเต็มที่; ฉ) ทัลลัสตัดตามขวาง แสดงชั้นเซลล์ผิว (Ep) และเนื้อเยื่อชั้นในของทัลลัส (Th) (NC = กลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสกุล *Nostoc*); ช) อินโวลูเคอตัดตามขวาง



ภาพที่ 4.14 สปอโรไฟต์ของ *Notothylas orbicularis* (Schwein.) Sull. ex A. Gray ก) สปอโร-ไฟต์ตัดตามยาว (Ft = ฟุต, Ca = อับสปอร์); ข-ค) อับสปอร์ตัดตามขวาง แสดงชั้นเซลล์ผิว (Ep) และชั้นเอสสิมิเลทิฟ (As): ข) บริเวณใกล้ปลายอับสปอร์, ค) บริเวณกลางอับสปอร์; ง) ฟุตตัดตามยาว แสดงบริเวณพลาเซนทา (Pl) และบริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน (F) (BM = เนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน, G = เซลล์แกมีโตไฟต์); จ) อับสปอร์ตัดตามยาว แสดงการจัดเรียงตัวของชั้นสปอร์ (S) และชั้นซูโดอีเลเตอร์ (Ps) บริเวณที่มีแกนกลาง (Col); ฉ) แกนกลางตัดตามขวาง แสดงเซลล์แกนกลาง (C) 16 แถว; ช) เซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นใน; ซ) เซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นนอก (OE) และเซลล์พิเศษตามแนวแตก (DC)



ภาพที่ 4.15 แกนกลาง สปอร์ และซูโดอีเลเตอร์ของ *Notothylas orbicularis* (Schwein.) Sull. ex A. Gray ก) แกนกลางในระยะเจริญเต็มที่; ข) ซูโดอีเลเตอร์; ค-ง) ลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง: ค) สปอร์ด้านไกลแกน, ง) สปอร์ด้านใกล้แกน; จ-ซ) ลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด: จ) สปอร์ด้านไกลแกน, ฉ) สปอร์ด้านใกล้แกน แสดงสันสามแฉกที่มีเส้นพาดกลางชัดเจน, ช) ผิวสปอร์ด้านไกลแกนที่กำลังขยายสูง แสดงลวดลายคล้ายหนอนที่เรียงตัวชิดกันมาก, ซ) ผิวสปอร์ด้านใกล้แกนที่กำลังขยายสูง แสดงลวดลายคล้ายหนอน (Ps = ซูโดอีเลเตอร์, S = สปอร์)

4.2.6 *Notothylas pandei* Udar & V. Chandra

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

1. แกมีโตไฟต์ ศึกษาโครงสร้างต่างๆ ดังนี้

1.1 ทัลลัส

ทัลลัสเป็นแผ่นขนาดเล็ก เจริญทอดขนานหรือแนบชิดไปกับก้อนหิน มีสีเขียวเข้ม ไม่มีเส้นกลางทัลลัส มีการแยกสาขาเป็นคู่ ไม่เป็นระเบียบ รูปร่างเป็นรูปขอบขนานหรือรูปหัวใจกลับ ทัลลัสหยักเว้าลึกและแคบ ไม่เป็นระเบียบ (ภาพที่ 4.16ก) โลบลึกประมาณ 0.4-2.7 มิลลิเมตร โลบกว้างประมาณ 0.2-1.1 มิลลิเมตร ทัลลัสมีขนาด 1.5-9.0 × 3.0-8.5 มิลลิเมตร ไม่ค่อยเจริญซ้อนทับกัน พื้นผิวทัลลัสด้านบนค่อนข้างเรียบ ในขณะที่พื้นผิวด้านล่างมักไม่เรียบ เนื่องจากมักมีสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสกุล *Nostoc* เข้าไปอยู่อาศัยภายในเนื้อเยื่อของแกมีโตไฟต์ ลักษณะเป็นจุดกลมๆ ขนาดเล็กมีสีคล้ำทึบแสงกระจายอย่างไม่เป็นระเบียบทั่วทั้งทัลลัส มีการสร้างหัวสะสมอาหาร (tuber) ที่ด้านล่างหรือขอบของทัลลัส รูปร่างค่อนข้างกลมหรือรี เซลล์ใส ผนังบาง แต่ละเซลล์มีคลอโรพลาสต์ 1 อันต่อเซลล์

เซลล์ผิวของทัลลัส (ภาพที่ 4.16ง) เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส รูปสี่เหลี่ยมข้าวหลามตัด รูปห้าเหลี่ยม หรือรูปหกเหลี่ยม ขนาด 26.8-63.3 × 34.4-107.4 ไมโครเมตร ภายในเซลล์ผิวแต่ละเซลล์มีคลอโรพลาสต์ขนาดใหญ่ 1 อันต่อเซลล์ ที่มีไพรีนอยด์ 1 อันอยู่ตรงกลาง ลักษณะของคลอโรพลาสต์ในตัวอย่างสดที่เพิ่งเก็บมาจะมีขนาดใหญ่เต็มเซลล์ แต่เมื่อเก็บไว้เป็นเวลานานหรือสูญเสียน้ำคลอโรพลาสต์จะหดตัว โดยการคอดเว้าเข้าด้านใน ทำให้คลอโรพลาสต์มีขนาดเล็กลงและมีรูปร่างเปลี่ยนไปจากเดิม เช่น รูปร่างคล้ายรูปดาว รูปร่างคล้ายรูปกระสวย รูปร่างกลมรี

1.2 อินโวลูเคอ

อินโวลูเคอเป็นรูปกระสวย (ภาพที่ 4.16ค) ขนาดประมาณ 0.3-0.9 × 1.1-4.9 มิลลิเมตร เซลล์ผิวของอินโวลูเคอมีรูปร่างและมีลักษณะเช่นเดียวกับเซลล์ผิวทัลลัส ส่วนปลายของอินโวลูเคอมักมีลักษณะเป็นแผ่นคล้ายครีบยื่นขึ้นมา แต่บริเวณส่วนโคนที่ติดกับทัลลัสมักเรียบ อินโวลูเคอเจริญขึ้นมาห่อหุ้มสปอโรไฟต์ทั้งต้นก่อนถึงระยะกระจายสปอร์ เจริญยกตัวขึ้นจากแผ่นทัลลัสมากเกือบตั้งตรง

1.3 แอนเทอริเดียม ไม่พบ

1.4 ไรซอยด์

ไรซอยด์เจริญยื่นยาวออกมาจากผิวทัลลัสด้านล่างจำนวนมาก ลักษณะเป็นเซลล์เดียว ผนังเซลล์ด้านในเรียบ มีสีน้ำตาลอ่อนหรือไม่มีสี (ภาพที่ 4.16ข)

2. สปอโรไฟต์ ศึกษาโครงสร้างต่างๆ ดังนี้

2.1 อับสปอร์

อับสปอร์เป็นรูปกระสวย (ภาพที่ 4.16ก) ขนาด 0.2-0.6 × 1.0-4.6 มิลลิเมตร ถูกห่อหุ้มอยู่ภายในอินโวลูเคอก่อนถึงระยะกระจายสปอร์ อับสปอร์แตกตามยาวจากปลายลงมาด้านล่างตามแนวแตก แยกออกเป็น 2 ซีกอย่างเป็นระเบียบ เนื่องจากผนังอับสปอร์มีเซลล์พิเศษตามแนวแตก ผนังอับสปอร์ไม่มีปากใบ ผนังอับสปอร์ในระยะสปอโรไฟต์เจริญไม่เต็มที่จะมีสีเขียวอ่อนและจะมีสีน้ำตาลเข้มในระยะสปอโรไฟต์เจริญเต็มที่

เซลล์ผิวของผนังอับสปอร์หรือผนังอับสปอร์ชั้นนอก เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปห้าเหลี่ยมหรือรูปหกเหลี่ยม ขนาด 12.1-22.6 × 44.3-125.4 ไมโครเมตร ผนังเซลล์หนา 9.1-17.5 ไมโครเมตร ช่องว่างภายในเซลล์ ขนาด 2.1-8.9 × 23.6-109.5 ไมโครเมตร เซลล์ผิวของผนังอับสปอร์ชั้นนอกแต่ละเซลล์จะมีคลอโรพลาสต์อยู่ภายใน 1 อันต่อเซลล์ ซึ่งต่อมาได้สลายไปเมื่อสปอโรไฟต์เจริญเต็มที่ (ภาพที่ 4.17ซ)

เซลล์พิเศษตามแนวแตก มีจำนวน 2-3 แถว สีน้ำตาลแดง เซลล์มีความยาวมากกว่าเซลล์ผิวของผนังอับสปอร์ชั้นนอก และมีความหนาของผนังเซลล์น้อยกว่าเซลล์ผิวของผนังอับสปอร์ชั้นนอก เซลล์เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าหรือรูปห้าเหลี่ยม ขนาด 11.4-18.6 × 57.9-142.9 ไมโครเมตร ผนังเซลล์หนา 7.2-15.3 ไมโครเมตร ช่องว่างภายในเซลล์ ขนาด 2.9-7.1 × 49.5-131.2 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4.17ซ)

เซลล์ผิวของผนังอับสปอร์ชั้นใน สีน้ำตาลอ่อนถึงเข้ม รูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส หรือรูปห้าเหลี่ยม ขนาด 20.7-47.1 × 25.5-77.1 ไมโครเมตร ผนังเซลล์บางและมีลวดลายเป็นแถบสีน้ำตาลไม่ชัดเจน (ภาพที่ 4.17ช)

2.2 แกนกลาง

แกนกลางมีลักษณะเป็นแท่งยาว ยาวประมาณ 1.0-4.0 มิลลิเมตร ซึ่งประกอบด้วยเซลล์รูปทรงกระบอกหรือรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าจำนวนหลายเซลล์ต่อกัน ขนาด 10.0-23.8 × 31.9-84.8 ไมโครเมตร เซลล์แกนกลางสีน้ำตาลอ่อนถึงเข้ม ผนังเซลล์เรียบ เซลล์แกนกลางจะมีคลอโรพลาสต์อยู่ภายใน 1 อันต่อเซลล์ ซึ่งต่อมาได้สลายไปก่อนถึงระยะกระจายสปอร์ แกนกลางพบตลอดจนถึงระยะกระจายสปอร์ (ภาพที่ 4.18ก)

2.3 สปอร์

จากการศึกษาลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบว่าสปอร์มีสีน้ำตาลเข้มถึงสีดำ มีความยาวของแกนระหว่างขั้ว 21.7-31.8 ไมโครเมตร และความยาวของแกนตามแนวศูนย์สูตร 24.1-33.8 ไมโครเมตร สปอร์ทางด้านใกล้แกนเป็นรูปพีระมิดสามเหลี่ยมเตี้ยๆ มีสันสามแฉกไม่ชัดเจน (ภาพที่ 4.18ค) แต่ละด้านมีรูตรงกลาง สปอร์ทางด้านไกลแกนมีลักษณะ

กลม ตรงกลางมีโหนกหรือปุ่มขนาดใหญ่ 1-3(-4) อัน (ภาพที่ 4.18ข) เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 13.3-19.6 ไมโครเมตร

จากการศึกษาผิวสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าผิวสปอร์ทั้งทางด้านใกล้แกนและไกลแกนมีลวดลายคล้ายหนอนหรือเป็นปุ่มกลมเล็กๆ (granulate) ผิวสปอร์ทางด้านไกลแกนมีลวดลายเรียงตัวชิดกันมากกว่าด้านใกล้แกน (ภาพที่ 4.18จ-ฉ) นอกจากนี้ยังพบว่าบริเวณสันสามแฉกมีเส้นพาดกลางไม่ชัดเจนหรือไม่มี ผิวสปอร์บริเวณสันสามแฉกมีลวดลายเรียงตัวชิดกันมากกว่าบริเวณรอบสันชัดเจน (ภาพที่ 4.18ฉ) ผิวสปอร์บริเวณโหนกมีลวดลายเรียงตัวชิดกันมากกว่าบริเวณรอบโหนก (ภาพที่ 4.18จ, ช) รูตรงกลางในแต่ละด้านบนผิวสปอร์ด้านใกล้แกนมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2.2-3.0 ไมโครเมตร โดยลวดลายบริเวณรอบรูมีการจัดเรียงตัวเป็นระเบียบตามแนวรัศมีของรู (ภาพที่ 4.18ฉ, ซ)

2.4 ซูโดอีเลเตอร์

ซูโดอีเลเตอร์ สีน้ำตาลอ่อนถึงเข้ม แยกเป็นอิสระจากแกนกลาง พบตลอดจนถึงระยะกระจายสปอร์ เซลล์ซูโดอีเลเตอร์เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าหรือรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส ขนาด 17.4-33.2 × 31.6-56.9 ไมโครเมตร ผนังเซลล์เรียบ (ภาพที่ 4.18ง)

ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์

1. แกมีโตไฟต์ ศึกษาโครงสร้างต่างๆ ดังนี้

1.1 ทัลลัสตัดตามขวาง

ทัลลัสหนา 3-4 เซลล์บริเวณกลางทัลลัส และค่อยๆ ลดจำนวนลงเหลือ 1-2 เซลล์บริเวณปลายหรือขอบทัลลัส ประกอบด้วยชั้นเซลล์ผิว 2 ชั้น ซึ่งอยู่ชั้นบนสุดและล่างสุด และเนื้อเยื่อชั้นในของทัลลัส ซึ่งอยู่ระหว่างชั้นเซลล์ผิว (ภาพที่ 4.16จ)

เซลล์ผิวตัดตามขวาง เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส หรือรูปห้าเหลี่ยม ขนาด 14.8-51.4 × 36.5-82.9 ไมโครเมตร ผนังเซลล์บาง

เนื้อเยื่อชั้นในของทัลลัสตัดตามขวาง เป็นเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ ผนังเซลล์บาง เซลล์มีการจัดเรียงตัวหลวมๆ ทำให้มีช่องว่างระหว่างเซลล์ชัดเจน และมีคลอโรพลาสต์ขนาดเล็กอยู่ภายในเซลล์ 1 อันต่อเซลล์ มีรูปร่างเป็นรูปหลายเหลี่ยมค่อนข้างกลมหรือรี ลักษณะคล้ายเซลล์พาเรงคิมา มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 45.7-128.4 ไมโครเมตร

1.2 อินโวลูเคอตัดตามขวาง

อินโวลูเคอหนา 2-3(-4) เซลล์ เซลล์ผิวอินโวลูเคอตัดตามขวางเป็นรูปหลายเหลี่ยมค่อนข้างกลมหรือรี มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 22.6-92.9 ไมโครเมตร ผนังเซลล์บาง และมีคลอโรพลาสต์อยู่ภายในเซลล์ 1 อันต่อเซลล์เช่นเดียวกับเซลล์ผิว (ภาพที่ 4.16ฉ)

2. สปอโรไฟต์ ศึกษาโครงสร้างต่างๆ ดังนี้

2.1 อับสปอร์ แบ่งได้เป็น 4 ชั้น (ภาพที่ 4.17จ) ดังนี้

1) ผนังอับสปอร์ชั้นนอกหรือชั้นเซลล์ผิว หนา 1 เซลล์ เซลล์ผิวเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าหรือรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส มีผนังเซลล์หนาทั้งทางด้านรัศมีและด้านสัมผัส ไม่มีคลอโรพลาสต์อยู่ภายในเซลล์ (ภาพที่ 4.17ข-ค) เซลล์ผิวตัดตามขวาง มีขนาด 10.0-17.9 × 10.7-27.2 ไมโครเมตร ส่วนเซลล์ผิวตัดตามยาว มีขนาด 7.8-12.9 × 24.3-45.7 ไมโครเมตร

2) ผนังอับสปอร์ชั้นในหรือชั้นเอสสิมิเลทิฟ หนา 2-3 เซลล์ โดยบริเวณปลายอับสปอร์จะมีชั้นเอสสิมิเลทิฟหนา 2 เซลล์ (ภาพที่ 4.17ข) และมีความหนาเพิ่มขึ้นเป็น 3 เซลล์บริเวณถัดลงมา (ภาพที่ 4.17 ค) เซลล์เอสสิมิเลทีฟเป็นกลุ่มเซลล์ที่มีขนาดใหญ่และผนังบาง มีการเรียงตัวหลวมๆ ทำให้มีช่องว่างระหว่างเซลล์ชัดเจน และมีคลอโรพลาสต์อยู่ภายในเซลล์ 1 อันต่อเซลล์ เซลล์เป็นรูปหลายเหลี่ยมค่อนข้างรี ลักษณะคล้ายเซลล์พาเรงคิมา เซลล์เอสสิมิเลทีฟตัดตามขวาง มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 17.9-58.9 ไมโครเมตร เซลล์เอสสิมิเลทีฟตัดตามยาว มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 24.0-55.2 ไมโครเมตร

3) ชั้นสปอร์และซูโดอีเลเตอร์ มีการจัดเรียงตัวสลับชั้นกัน แต่ละชั้นจะประกอบด้วยชั้นสปอร์หรือชั้นซูโดอีเลเตอร์ (ภาพที่ 4.17ก) เมื่อพิจารณาการจัดเรียงตัวของชั้นสปอร์และชั้นซูโดอีเลเตอร์บริเวณที่มีแกนกลาง พบว่าชั้นสปอร์และชั้นซูโดอีเลเตอร์จะถูกแบ่งออกเป็น 2 ข้าง โดยบริเวณเหนือโคนอับสปอร์ขึ้นไป ชั้นสปอร์ประกอบด้วยสปอร์กลุ่มละสี่ข้างละ 2-3 แถว และชั้นซูโดอีเลเตอร์ประกอบด้วยเซลล์ซูโดอีเลเตอร์ต่อกันจากแกนกลางไปยังชั้นเอสสิมิเลทิฟข้างละ 3-5 เซลล์ (ภาพที่ 4.17จ) ส่วนบริเวณโคนอับสปอร์ ชั้นสปอร์ประกอบด้วยสปอร์กลุ่มละสี่ข้างละ 2 แถว และชั้นซูโดอีเลเตอร์ประกอบด้วยเซลล์ซูโดอีเลเตอร์ต่อกันจากแกนกลางไปยังชั้นเอสสิมิเลทิฟข้างละ 2-3 เซลล์

4) แกนกลางอยู่ชั้นในสุด แกนกลางตัดตามขวางประกอบด้วยเซลล์ 16 แถว (4 × 4 แถว) เซลล์แกนกลางเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปห้าเหลี่ยม หรือรูปหกเหลี่ยม (ภาพที่ 4.17ฉ) เซลล์แกนกลางตัดตามขวาง มีขนาด 6.7-20.6 × 11.9-25.2 ไมโครเมตร ส่วนเซลล์แกนกลางตัดตามยาว มีขนาด 11.9-23.6 × 34.8-88.6 ไมโครเมตร

2.2 ฟุตตัดตามยาว

ฟุตเป็นรูปทรงกลม มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 153-198 ไมโครเมตร ฟุตประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 2 บริเวณ คือ บริเวณพลาเซนทา และบริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน (ภาพที่ 4.17ง)

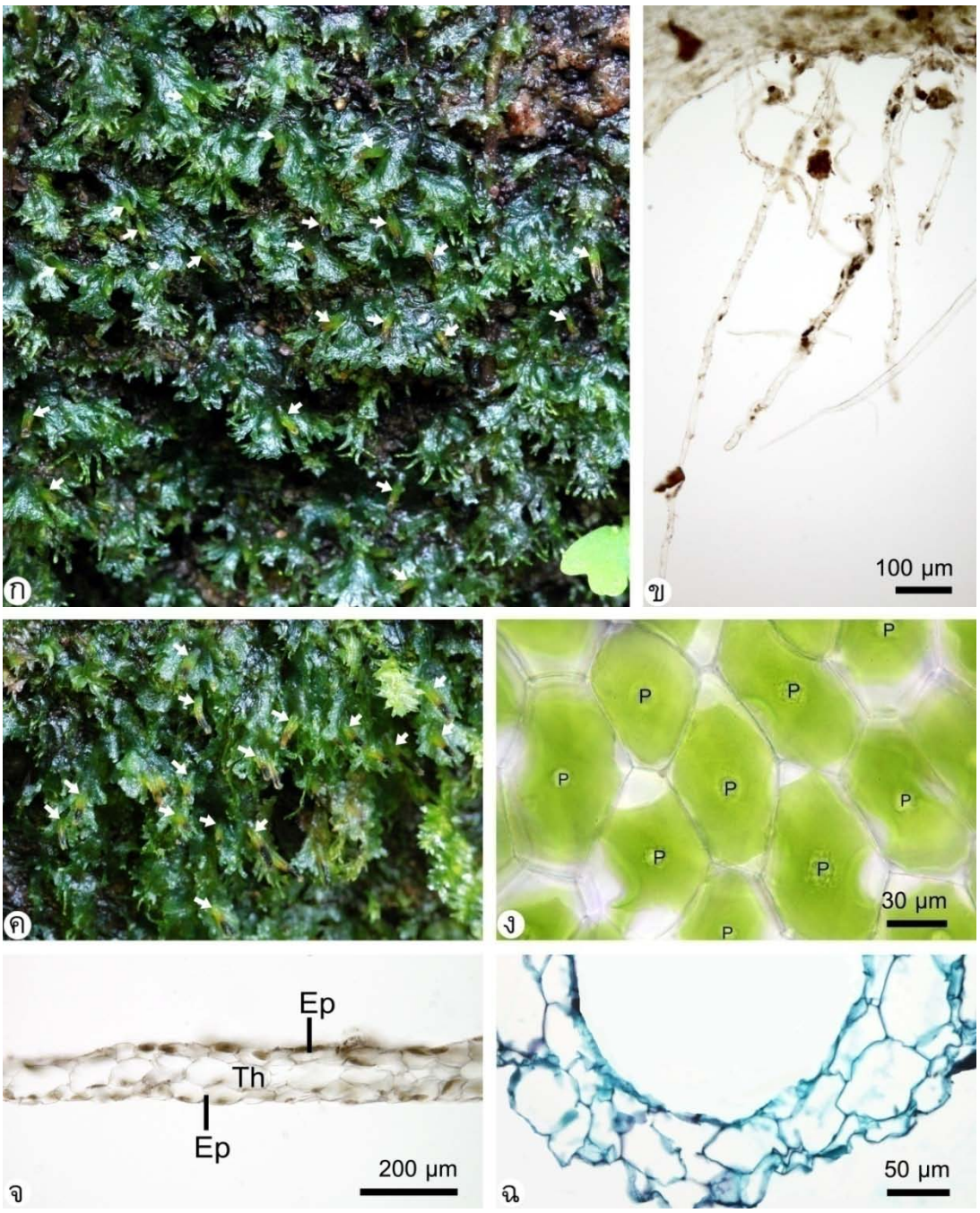
เนื้อเยื่อของฟุตบริเวณพลาเซนทา เป็นเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์สปอโรไฟต์และเซลล์แกมีโตไฟต์จัดเรียงตัวปะปนกันอย่างไม่เป็นระเบียบ โดยกลุ่มเซลล์บริเวณพลาเซนทามีรูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลม และผนังเซลล์บางเช่นเดียวกับกลุ่มเซลล์บริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อ

เจริญบริเวณฐาน แต่กลุ่มเซลล์บริเวณพลาเซนทามีขนาดเล็กกว่ากลุ่มเซลล์บริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานอย่างชัดเจน โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.7-13.0 ไมโครเมตร

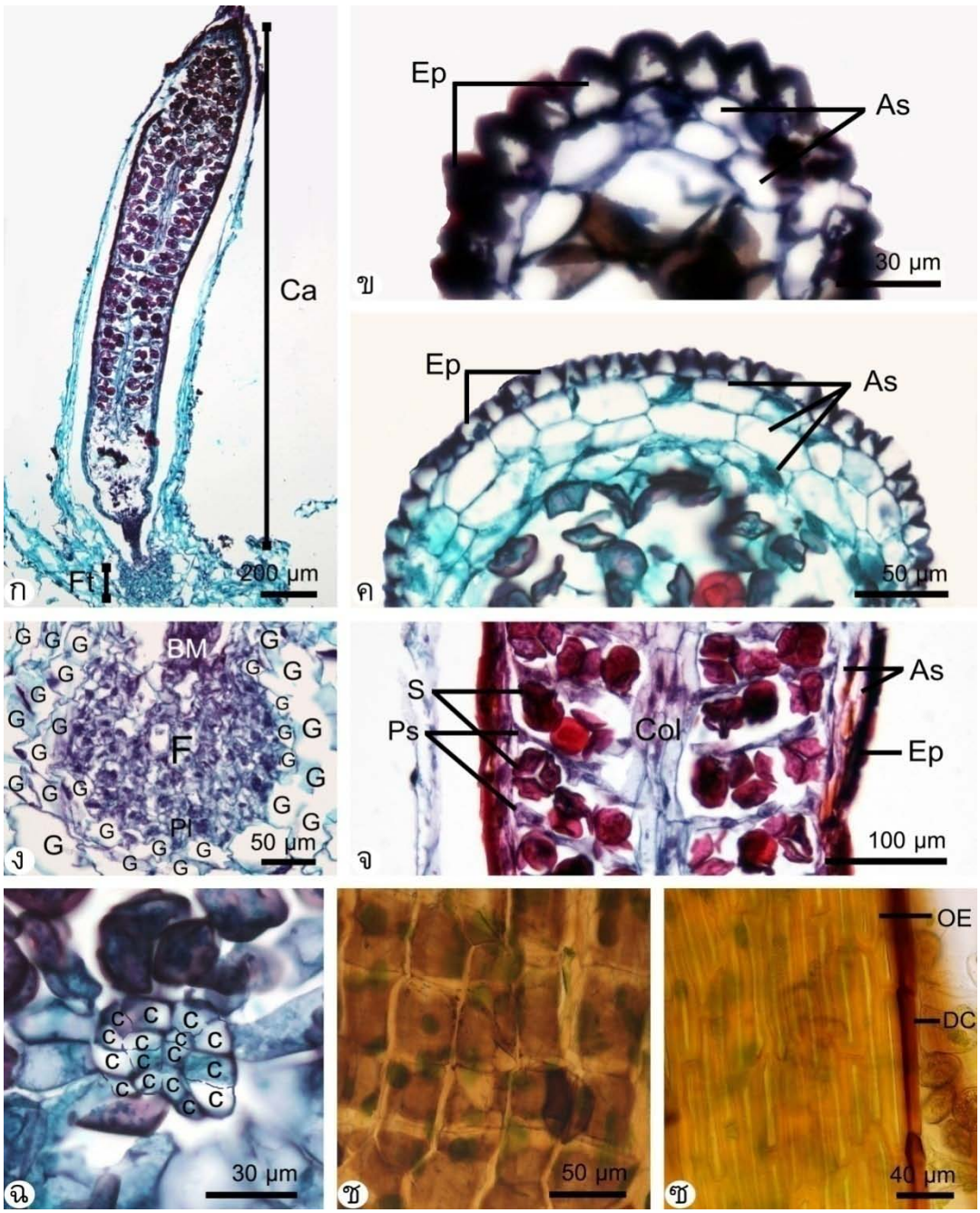
นอกจากนี้ยังพบว่ากลุ่มเซลล์แกมีโตไฟต์บริเวณพลาเซนทามีลักษณะแตกต่างจากเซลล์แกมีโตไฟต์ที่อยู่รอบพลาเซนทาอย่างชัดเจน คือเซลล์แกมีโตไฟต์บริเวณรอบพลาเซนทามีขนาดใหญ่กว่าและมีคลอโรพลาสต์ขนาดเล็กอยู่ภายในเซลล์ 1 อันต่อเซลล์

เนื้อเยื่อของฟุตบริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน เป็นเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์สปอโรไฟต์ขนาดใหญ่ ผนังเซลล์บาง รูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลม มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 10.7-29.9 ไมโครเมตร

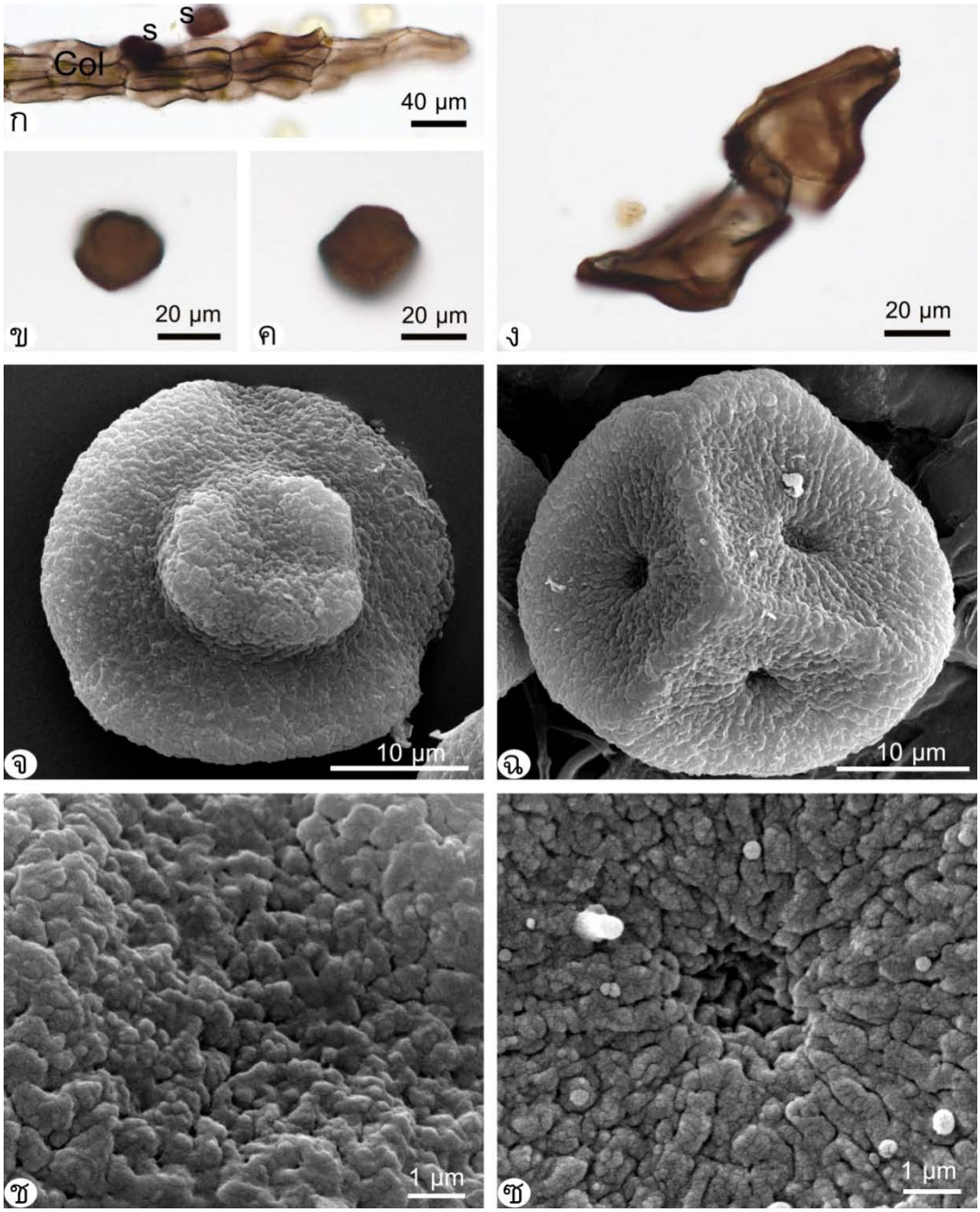
ตัวอย่างพรรณไม้ที่ศึกษา - น้ำตกมณฑาธาร จ. เชียงใหม่, 649 เมตร, 6 ตุลาคม 2555, *Chantanaorrapint & Promma 1664* (PSU), ถ้ำฤาษี อุทยานแห่งชาติดอยปุย-สุเทพ จ. เชียงใหม่, 1110 เมตร, 12 พฤศจิกายน 2554, *Chantanaorrapint et al. 350* (PSU)



ภาพที่ 4.16 แกมีโตไฟต์ของ *Notothylas pandei* Udar & V. Chandra ก) แกมีโตไฟต์ที่มีสปอโรไฟต์เจริญอยู่ด้านบน (ศรชี้) แสดงรูปร่างและการแตกกิ่งของทัลลัส; ข) ไรซอยด์; ค) อินโวลูเคอ (ศรชี้); ง) เซลล์ผิวของทัลลัส แสดงคลอโรพลาสต์ขนาดใหญ่ 1 อันภายในเซลล์ ที่มีไพรีนอยด์ (P) อยู่ตรงกลาง 1 อัน; จ) ทัลลัสตัดตามขวาง แสดงชั้นเซลล์ผิว (Ep) และเนื้อเยื่อชั้นในของทัลลัส (Th); ฉ) อินโวลูเคอตัดตามขวาง



ภาพที่ 4.17 สปอโรไฟต์ของ *Notothylas pandei* Udar & V. Chandra ก) สปอโรไฟต์ตัดตามยาว (Ft = ฟุต, Ca = อับสปอร์); ข-ค) อับสปอร์ตัดตามขวาง แสดงชั้นเซลล์ผิว (Ep) และชั้นเอสสิมิเลทิฟ (As): ข) บริเวณใกล้ปลายอับสปอร์, ค) บริเวณกลางอับสปอร์; ง) ฟุตตัดตามยาว แสดงบริเวณพลาเซนทา (Pl) และบริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน (F) (BM = เนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน, G = เซลล์แกมีโตไฟต์); จ) อับสปอร์ตัดตามยาว แสดงการจัดเรียงตัวของชั้นสปอร์ (S) และชั้นซูโดอีเลเตอร์ (Ps) บริเวณที่มีแกนกลาง (Col); ฉ) แกนกลางตัดตามขวาง แสดงเซลล์แกนกลาง (C) 16 แถว; ช) เซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นใน; ซ) เซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นนอก (OE) และเซลล์พิเศษตามแนวแตก (DC)



ภาพที่ 4.18 แกนกลาง สปอร์ และซูโดอีเลเตอร์ของ *Notothylas pandei* Udar & V. Chandra ก) แกนกลาง (Col) ในระยะเจริญเต็มที่ (S = สปอร์); ข-ค) ลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ข) สปอร์ด้านไกลแกน, ค) สปอร์ด้านใกล้แกน; ง) ซูโดอีเลเตอร์; จ-ซ) ลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด, จ) สปอร์ด้านไกลแกน, ฉ) สปอร์ด้านใกล้แกน แสดงสันสามแฉกที่มีเส้นพาดกลางไม่ชัดเจน, ช) ผิวสปอร์ด้านไกลแกนที่กำลังขยายสูง แสดงลวดลายคล้ายหนอนหรือเป็นปุ่มกลมเล็กๆ ที่เรียงตัวชิดกันมาก, ซ) ผิวสปอร์ด้านใกล้แกนที่กำลังขยายสูง แสดงลวดลายคล้ายหนอนหรือเป็นปุ่มกลมเล็กๆ บริเวณรอบรูมีการจัดเรียงตัวเป็นระเบียบตามแนวรัศมีของรู

4.2.7 *Notothylas yunnanensis* T. Peng & R.L. Zhu

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

1. แกมีโตไฟต์ ศึกษาโครงสร้างต่างๆ ดังนี้

1.1 ทัลลัส

ทัลลัสเป็นแผ่นขนาดเล็ก เจริญทอดขนาดหรือแนบชิดไปกับพื้นดิน มีสีเขียวอ่อนถึงสีเขียวเข้ม ไม่มีเส้นกลางทัลลัส มีการแยกสาขาเป็นคู่สั้นๆ ชิดกันมากและไม่เป็นระเบียบ รูปร่างคล้ายพัด ทัลลัสหยักเว้าลึกและค่อนข้างแคบ ไม่เป็นระเบียบ (ภาพที่ 4.19ก) โลบลึกประมาณ 0.2-2.3 มิลลิเมตร โลบกว้างประมาณ 0.2-2.3 มิลลิเมตร ทัลลัสมีขนาด 1.4-4.7 × 1.4-4.9 มิลลิเมตร มักเจริญซ้อนทับกันเป็นแผ่นเกือบกลม พื้นผิวทัลลัสด้านบนค่อนข้างเรียบ ในขณะที่พื้นผิวด้านล่างมักไม่เรียบ เนื่องจากมักมีสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสกุล *Nostoc* เข้าไปอยู่อาศัยภายในเนื้อเยื่อของแกมีโตไฟต์ ลักษณะเป็นจุดกลมๆ ขนาดเล็กมีสีคล้ำทึบแสงกระจายอย่างไม่เป็นระเบียบทั่วทั้งทัลลัส

เซลล์ผิวของทัลลัส (ภาพที่ 4.19ง) เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส รูปสี่เหลี่ยมข้าวหลามตัด รูปห้าเหลี่ยม หรือรูปหกเหลี่ยม ขนาด 18.2-42.6 × 29.5-69.3 ไมโครเมตร ภายในเซลล์ผิวแต่ละเซลล์มีคลอโรพลาสต์ขนาดใหญ่ 1 อันต่อเซลล์ ที่มีไพรีนอยด์ 1 อันอยู่ตรงกลาง ลักษณะของคลอโรพลาสต์ในตัวอย่างสดที่เพิ่งเก็บมาจะมีขนาดใหญ่เต็มเซลล์ แต่เมื่อเก็บไว้เป็นเวลานานหรือสูญเสียน้ำคลอโรพลาสต์จะหดตัว โดยการคอดเว้าเข้าด้านใน ทำให้คลอโร-พลาสต์มีขนาดเล็กลงและมีรูปร่างเปลี่ยนไปจากเดิม เช่น รูปร่างคล้ายรูปดาว รูปร่างคล้ายรูปกระสวย รูปร่างกลมรี

1.2 อินโวลูเคอ

อินโวลูเคอเป็นรูปกระสวยหรือรูปทรงกระบอก (ภาพที่ 4.19ค) ขนาดประมาณ 0.4-0.9 × 1.4-2.6 มิลลิเมตร เซลล์ผิวของอินโวลูเคอมีรูปร่างและมีลักษณะเช่นเดียวกับเซลล์ผิวทัลลัส ส่วนปลายของอินโวลูเคอมักมีลักษณะเป็นสันตามยาวหรือแผ่นคล้ายครีบยื่นขึ้นมา แต่บริเวณส่วนโคนที่ติดกับทัลลัสมักเรียบหรือมีสันเตี้ยๆ อินโวลูเคอเจริญขึ้นมาห่อหุ้มสปอโรไฟต์ทั้งต้นก่อนถึงระยะกระจายสปอร์ เจริญทอดนอนหรือยกตัวขึ้นจากทัลลัสเล็กน้อย

1.3 แอนเทอริเดียม

แอนเทอริเดียมอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม 2-3 อันต่อกลุ่ม มีรูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลม มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 63.0-85.5 ไมโครเมตร ผนังแอนเทอริเดียมหนา 1 เซลล์ เซลล์ผนังแอน-เทอริเดียมเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า ขนาด 5.3-10.0 × 8.7-23.4 ไมโครเมตร ก้านชูแอนเทอริเดียมประกอบด้วยเซลล์ 8(4×2) - 12(4×3) แถว ยาว 17.1-28.7 ไมโครเมตร เซลล์ก้านชูแอนเทอริ-เดียมไม่มีสี รูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า ขนาด 3.0-5.2 × 5.1-10.8 ไมโครเมตร เซลล์ผนังแอนเทอริเดียมมีรูปแบบการจัดเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ แอนเทอริเดียมจะมีสีเขียวในระยะเจริญไม่เต็มที่ และจะ

เปลี่ยนเป็นสีเหลืองนวลหรือสีส้มในระยะเจริญเต็มที่ เนื่องจากคลอโรพลาสต์ภายในเซลล์เปลี่ยนไปเป็นโครโมพลาสต์ (ภาพที่ 4.19จ)

1.4 ไรซอยด์

ไรซอยด์เจริญยื่นยาวออกมาจากผิวทัลลัสด้านล่างจำนวนมาก ลักษณะเป็นเซลล์เดียว ผนังเซลล์ด้านในเรียบหรือมีปุ่มหนาม มีสีน้ำตาลอ่อนหรือไม่มีสี (ภาพที่ 4.19ข)

2. สปอโรไฟต์ ศึกษาโครงสร้างต่างๆ ดังนี้

2.1 อับสปอร์

อับสปอร์เป็นรูปกระสวยหรือรูปทรงกระบอก ขนาด 0.3-0.6 × 1.3-2.2 มิลลิเมตร ถูกห่อหุ้มอยู่ภายในอินโวลูเคอก่อนถึงระยะกระจายสปอร์ (ภาพที่ 4.19ก) อับสปอร์แตกไม่เป็นระเบียบ เนื่องจากไม่มีเซลล์พิเศษตามแนวแตกบนผนังอับสปอร์ ผนังอับสปอร์ไม่มีปากใบ ผนังอับสปอร์ในระยะสปอโรไฟต์เจริญไม่เต็มที่จะมีสีเขียวอ่อน และจะมีสีเหลืองแกมน้ำตาลถึงสีน้ำตาลในระยะสปอโรไฟต์เจริญเต็มที่

เซลล์ผิวของผนังอับสปอร์หรือผนังอับสปอร์ชั้นนอก รูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส หรือรูปห้าเหลี่ยม ขนาด 21.8-38.9 × 34.7-79.9 ไมโครเมตร ผนังเซลล์หนา 5.0-9.7 ไมโครเมตร ช่องว่างภายในเซลล์ ขนาด 14.1-32.2 × 34.7-79.9 ไมโครเมตร เซลล์ผิวของผนังอับสปอร์ชั้นนอกแต่ละเซลล์จะมีคลอโรพลาสต์อยู่ภายใน 1 อันต่อเซลล์ ซึ่งต่อมาได้สลายไปเมื่อสปอโรไฟต์เจริญเต็มที่ (ภาพที่ 4.20ซ)

เซลล์ของผนังอับสปอร์ชั้นใน ไม่มีสี รูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส หรือรูปห้าเหลี่ยม ขนาด 26.0-64.7 × 39.6-95.9 ไมโครเมตร ผนังเซลล์บาง (ภาพที่ 4.20ซ)

2.2 แกนกลาง

พบแกนกลางเฉพาะในระยะที่สปอโรไฟต์ยังเจริญไม่เต็มที่ และสลายไปในระยะกระจายสปอร์ แกนกลางมีลักษณะเป็นแท่งยาว ยาวประมาณ 0.7-1.2 มิลลิเมตร ซึ่งประกอบด้วยเซลล์รูปทรงกระบอกหรือรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าจำนวนหลายเซลล์ต่อกัน ขนาด 11.9-31.9 × 23.8-59.5 ไมโครเมตร เซลล์แกนกลางไม่มีสีและลวดลาย ภายในเซลล์แกนกลางที่ยังอ่อนจะมีคลอโร-พลาสต์จำนวน 1 อันต่อเซลล์ (ภาพที่ 4.21ก)

2.3 สปอร์

จากการศึกษาลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบว่าสปอร์มีสีเหลืองถึงสีน้ำตาลแกมเหลือง มีความยาวของแกนระหว่างขั้ว 27.8-32.7 ไมโครเมตร และความยาวของแกนตามแนวศูนย์สูตร 29.2-35.3 ไมโครเมตร สปอร์ทางด้านใกล้แกนเป็นรูปพีระมิดสามเหลี่ยมเตี้ยๆ มีสันสามแฉกชัดเจน แต่ละด้านมีรูตรงกลาง (ภาพที่ 4.21ค) สปอร์ทางด้านไกลแกนมีลักษณะกลม ตรงกลางนูนขึ้นมาเล็กน้อยคล้ายรูปโดม (ภาพที่ 4.21ข)

จากการศึกษาผิวสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าผิวสปอร์ทั้งทางด้านใกล้แกนและไกลแกนมีลวดลายคล้ายหนอนเหมือนกัน (ภาพที่ 4.21ง-จ) ผิวสปอร์ทางด้านไกลแกนมีลวดลายเรียงตัวชิดกันมากกว่าด้านใกล้แกน (ภาพที่ 4.21ฉ-ช) นอกจากนี้ยังพบว่าบริเวณสันสามแฉกมีเส้นพาดกลางชัดเจน กว้างประมาณ 0.3-0.4 ไมโครเมตร ผิวสปอร์บริเวณสันสามแฉกมีลวดลายเรียงตัวชิดกันมากกว่าบริเวณรอบสันชัดเจน (ภาพที่ 4.21จ) รูตรงกลางในแต่ละด้านบนผิวสปอร์ด้านใกล้แกนมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2.1-2.7 ไมโครเมตร โดยลวดลายบริเวณรอบรูมีการจัดเรียงตัวเป็นระเบียบตามแนวรัศมีของรู (ภาพที่ 4.21จ, ช)

2.4 ซูโดอีเลเตอร์

ซูโดอีเลเตอร์ ไม่มีสี มักเกาะติดอยู่กับแกนกลาง พบเฉพาะในระยะที่สปอโรไฟต์ยังไม่เจริญเต็มที่ และสลายไปก่อนในระยะกระจายสปอร์ เซลล์ซูโดอีเลเตอร์เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าหรือรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส ขนาด 9.2-25.7 × 28.0-71.3 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4.21ก)

ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์

1. แกมีโตไฟต์ ศึกษาโครงสร้างต่างๆ ดังนี้

1.1 ทัลลัสตัดตามขวาง

ทัลลัสหนา 5-8 เซลล์บริเวณกลางทัลลัส และค่อยๆ ลดจำนวนลงเหลือ 1-2 เซลล์บริเวณปลายหรือขอบของทัลลัส ประกอบด้วยชั้นเซลล์ผิว 2 ชั้น ซึ่งอยู่ชั้นบนสุดและล่างสุด และเนื้อเยื่อชั้นในของทัลลัส ซึ่งอยู่ระหว่างชั้นเซลล์ผิว (ภาพที่ 4.19ฉ)

เซลล์ผิวตัดตามขวาง เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส หรือรูปห้าเหลี่ยม ขนาด 15.0-38.3 × 21.0-67.6 ไมโครเมตร ผนังเซลล์บาง

เนื้อเยื่อชั้นในของทัลลัสตัดตามขวาง เป็นเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ ผนังเซลล์บาง เซลล์มีการจัดเรียงตัวหลวมๆ ทำให้มีช่องว่างระหว่างเซลล์ชัดเจน และมีคลอโรพลาสต์ขนาดเล็กอยู่ภายในเซลล์ 1 อันต่อเซลล์ มีรูปร่างเป็นรูปหลายเหลี่ยมค่อนข้างกลมหรือรี ลักษณะคล้ายเซลล์พาเรงคิมา มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 32.0-117.1 ไมโครเมตร

1.2 อินโวลูเคอตัดตามขวาง

อินโวลูเคอหนา 3-4 เซลล์ เซลล์ผิวอินโวลูเคอตัดตามขวางเป็นรูปหลายเหลี่ยมค่อนข้างกลมหรือรี มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 32.4-103.8 ไมโครเมตร ผนังเซลล์บาง และมีคลอโรพลาสต์อยู่ภายในเซลล์ 1 อันต่อเซลล์เช่นเดียวกับเซลล์ผิว (ภาพที่ 4.19ช)

2. สปอโรไฟต์ ศึกษาโครงสร้างต่างๆ ดังนี้

2.1 อับสปอร์ แบ่งได้เป็น 4 ชั้น (ภาพที่ 4.20จ) ดังนี้

1) ผนังอับสปอร์ชั้นนอกหรือชั้นเซลล์ผิว หนา 1 เซลล์ เซลล์ผิวเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าหรือรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส มีผนังเซลล์หนาทั้งทางด้านรัศมีและด้านสัมผัส ไม่มีคลอโรพลาสต์อยู่ภายในเซลล์ (ภาพที่ 4.20ข-ค) เซลล์ผิวตัดตามขวาง มีขนาด 5.1-17.0 × 14.4-41.2 ไมโครเมตร ส่วนเซลล์ผิวตัดตามยาว มีขนาด 5.4-15.7 × 11.2-39.0 ไมโครเมตร

2) ผนังอับสปอร์ชั้นในหรือชั้นเอสสิมิเลทิฟ หนา 2-3 เซลล์ โดยบริเวณปลายอับสปอร์จะมีชั้นเอสสิมิเลทิฟหนา 2 เซลล์ (ภาพที่ 4.20ข) และมีความหนาเพิ่มขึ้นเป็น 3 เซลล์บริเวณถัดลงมา (ภาพที่ 4.20ค) เซลล์เอสสิมิเลทีฟเป็นกลุ่มเซลล์ที่มีขนาดใหญ่และผนังบาง มีการเรียงตัวหลวมๆ ทำให้มีช่องว่างระหว่างเซลล์ชัดเจน และมีคลอโรพลาสต์อยู่ภายในเซลล์ 1 อันต่อเซลล์ เซลล์เป็นรูปหลายเหลี่ยมค่อนข้างรี ลักษณะคล้ายเซลล์พาเรงคิมา เซลล์แอสสิมิเลทีฟตัดตามขวาง มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 28.1-81.9 ไมโครเมตร ส่วนเซลล์แอสสิมิเลทีฟตัดตามยาว มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 19.5-51.1 ไมโครเมตร

3) ชั้นสปอร์และซูโดอีเลเตอร์ มีการจัดเรียงตัวสลับชั้นกัน แต่ละชั้นจะประกอบด้วยชั้นสปอร์หรือชั้นซูโดอีเลเตอร์ (ภาพที่ 4.20ก) เมื่อพิจารณาการจัดเรียงตัวของชั้นสปอร์และชั้นซูโดอีเลเตอร์บริเวณที่มีแกนกลาง พบว่าชั้นสปอร์และชั้นซูโดอีเลเตอร์จะถูกแบ่งออกเป็น 2 ข้าง โดยบริเวณเหนือโคนอับสปอร์ขึ้นไป ชั้นสปอร์ประกอบด้วยสปอร์กลุ่มละสี่ข้างละ 2-4 แถว และชั้นซูโดอีเลเตอร์ประกอบด้วยเซลล์ซูโดอีเลเตอร์ต่อกันจากแกนกลางไปยังชั้นเอสสิมิเลทิฟข้างละ 5-6 เซลล์ (ภาพที่ 4.20จ) ส่วนบริเวณโคนอับสปอร์ ชั้นสปอร์ประกอบด้วยสปอร์กลุ่มละสี่ข้างละ 2-3 แถว และชั้นซูโดอีเลเตอร์ประกอบด้วยเซลล์ซูโดอีเลเตอร์ต่อกันจากแกนกลางไปยังชั้นเอสสิมิเลทิฟข้างละ 3-4 เซลล์

4) แกนกลางอยู่ชั้นในสุด แกนกลางตัดตามขวางประกอบด้วยเซลล์ 16 แถว (4 × 4 แถว) เซลล์แกนกลางเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปห้าเหลี่ยม หรือรูปหกเหลี่ยม (ภาพที่ 4.20ฉ) เซลล์แกนกลางตัดตามขวาง มีขนาด 6.7-20.6 × 11.9-25.2 ไมโครเมตร ส่วนเซลล์แกนกลางตัดตามยาว มีขนาด 11.8-35.0 × 20.7-50.6 ไมโครเมตร

2.2 ฟุตตัดตามยาว

ฟุตเป็นรูปทรงกลม มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 152-331 ไมโครเมตร ฟุตประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 2 บริเวณ คือ บริเวณ พลาเซนทา และบริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน (ภาพที่ 4.20ง)

เนื้อเยื่อของฟุตบริเวณพลาเซนทา เป็นเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์สปอโรไฟต์และเซลล์แกมีโตไฟต์จัดเรียงตัวปะปนกันอย่างไม่เป็นระเบียบ โดยกลุ่มเซลล์บริเวณพลาเซนทามีรูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลม และผนังเซลล์บางเช่นเดียวกับกลุ่มเซลล์บริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อ

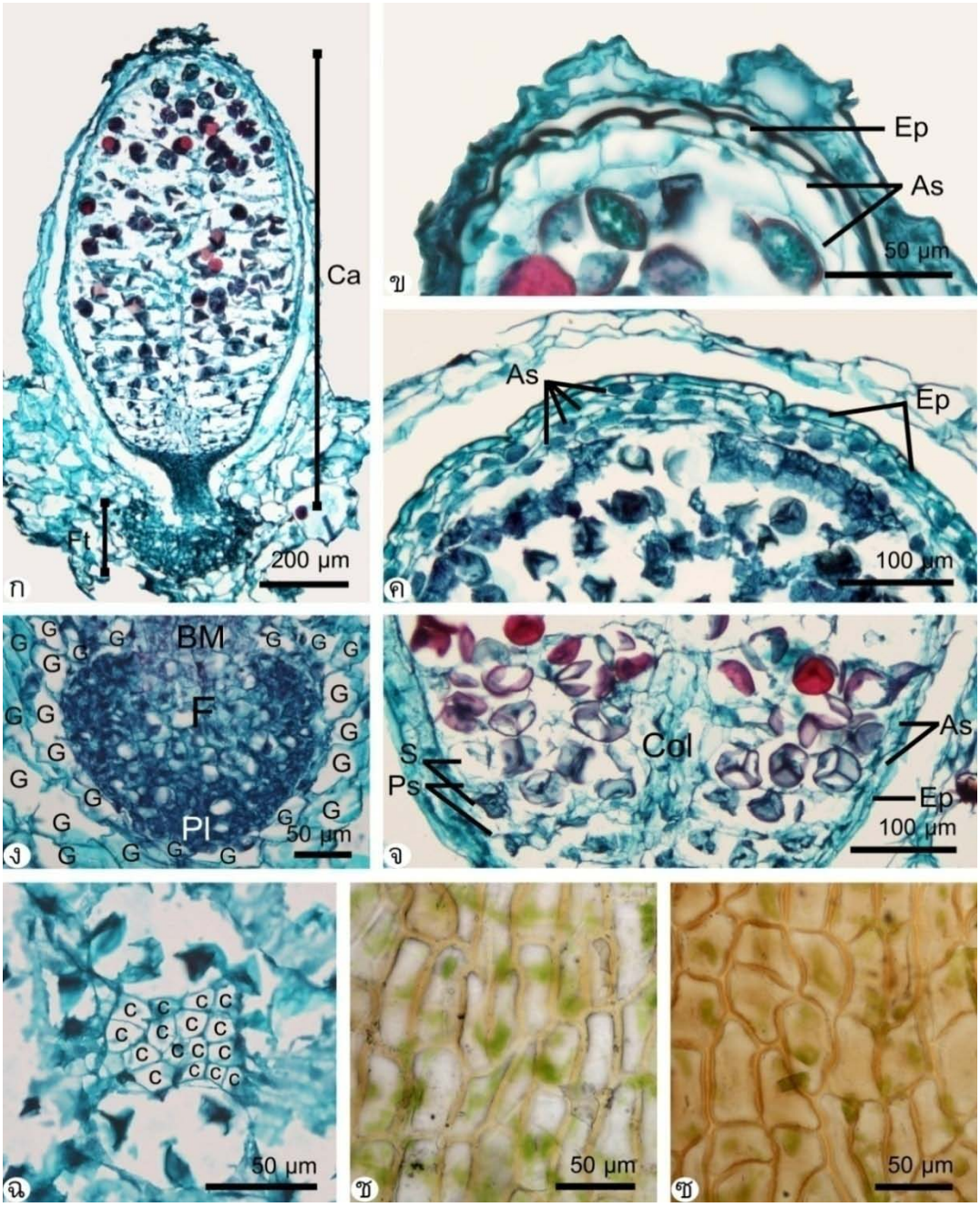
เจริญบริเวณฐาน แต่กลุ่มเซลล์บริเวณพลาเซนทามีขนาดเล็กกว่ากลุ่มเซลล์บริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานอย่างชัดเจน โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 7.1-17.6 ไมโครเมตร

นอกจากนี้ยังพบว่ากลุ่มเซลล์แกมีโตไฟต์บริเวณพลาเซนทามีลักษณะแตกต่างจากเซลล์แกมีโตไฟต์ที่อยู่รอบพลาเซนทาอย่างชัดเจน คือเซลล์แกมีโตไฟต์บริเวณรอบพลาเซนทามีขนาดใหญ่กว่าและมีคลอโรพลาสต์ขนาดเล็กอยู่ภายในเซลล์ 1 อันต่อเซลล์

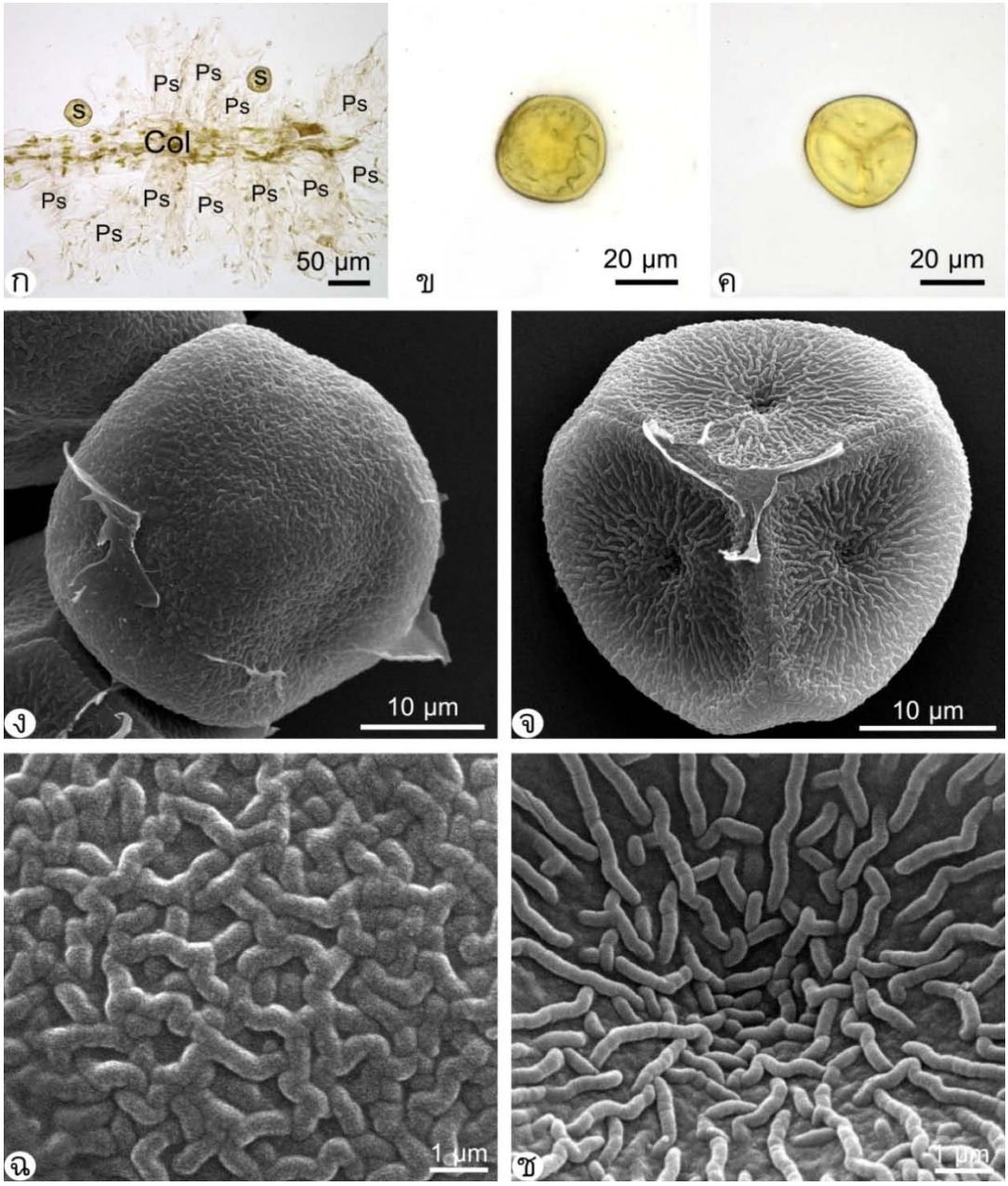
เนื้อเยื่อของฟุตบริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน เป็นเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์สปอโรไฟต์ขนาดใหญ่ ผนังเซลล์บาง รูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลม มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 12.4-36.4 ไมโครเมตร

ตัวอย่างพรรณไม้ที่ศึกษา - บ้านพักอุทยานแห่งชาติดอยปุย-สุเทพ จ. เชียงใหม่, 1068 เมตร, 8 กันยายน 2556, *Rattanamanee 7* (PSU); น้ำตกวังแก้ว จ. ลำปาง, 636 เมตร, 7 กันยายน 2556, *Chantanaorrapint & Promma 2851* (PSU)

ภาพที่ 4.19 แกมีโตไฟต์ของ *Notothylas yunnanensis* T. Peng & R.L. Zhu ก) แกมีโตไฟต์ที่มีสปอโรไฟต์เจริญอยู่ด้านบน (ศรชี้) แสดงรูปร่างและการแตกกิ่งของทัลลัส; ข) ไรซอยด์; ค) อินโวลูเคอ (ศรชี้); ง) เซลล์ผิวของทัลลัส แสดงคลอโรพลาสต์ขนาดใหญ่ 1 อันภายในเซลล์ ที่มีไพรีนอยด์ (ศรชี้) อยู่ตรงกลาง 1 อัน; จ) แอนเทอริเดียมระยะเจริญไม่เต็มที่ (J =ผนังแอนเทอริเดียม, S = ก้านชูแอนเทอริเดียม); ฉ) ทัลลัสตัดตามขวาง แสดงชั้นเซลล์ผิว (Ep) และเนื้อเยื่อชั้นในของทัลลัส (Th) (NC = กลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสกุล *Nostoc*); ช) อินโวลูเคอตัดตามขวาง



ภาพที่ 4.20 สปอโรไฟต์ของ *Notothylas yunnanensis* T. Peng & R.L. Zhu ก) สปอโรไฟต์ตัดตามยาว (Ft = ฟุต, Ca = อับสปอร์); ข-ค) อับสปอร์ตัดตามขวาง แสดงชั้นเซลล์ผิว (Ep) และชั้นเอสสิมิเลทิฟ (As): ข) บริเวณใกล้ปลายอับสปอร์, ค) บริเวณกลางอับสปอร์; ง) ฟุตตัดตามยาว แสดงบริเวณพลาเซนทา (Pl) และบริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน (F) (BM = เนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน, G = เซลล์แกมีโตไฟต์); จ) อับสปอร์ตัดตามยาว แสดงการจัดเรียงตัวของชั้นสปอร์ (S) และชั้นซูโดอีเลเตอร์ (Ps) บริเวณที่มีแกนกลาง (Col); ฉ) แกนกลางตัดตามขวาง แสดงเซลล์แกนกลาง (C) 16 แถว; ช) เซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นใน ซ) เซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นนอก



ภาพที่ 4.21 แกนกลาง สปอร์ และซูโดอีเลเตอร์ของ *Notothylas yunnanensis* T. Peng & R.L. Zhu ก) แกนกลางในระยะเจริญไม่เต็มที่ แสดงแกนกลาง (Col) ที่มีซูโดอีเลเตอร์ (Ps) อยู่รอบ; ข-ค) ลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง: ข) สปอร์ด้านไกลแกน, ค) สปอร์ด้านใกล้แกน; ง-ช) ลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด: ง) สปอร์ด้านไกลแกน, จ) สปอร์ด้านใกล้แกน แสดงสันสามแฉกที่มีเส้นพาดกลางชัดเจน และรูตรงกลางในแต่ละด้าน, ฉ) ผิวสปอร์ด้านไกลแกนที่กำลังขยายสูง แสดงลวดลายคล้ายหนอนที่เรียงตัวชิดกันมาก, ช) ผิวสปอร์ด้านใกล้แกนที่กำลังขยายสูง แสดงลวดลายคล้ายหนอนบริเวณรอบรูมีการจัดเรียงตัวเป็นระเบียบตามแนวรัศมีของรู

4.3 รูปแบบการเจริญและพัฒนาของสปอโรไฟต์

การศึกษารูปแบบการเจริญและพัฒนาของสปอโรไฟต์ศึกษาจากสปอโรไฟต์ตัดตามขวางตั้งแต่บริเวณเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานที่อยู่เหนือฟุตขึ้นไป และเนื่องจากฮอร์นเวิร์ตบางชนิดพบตัวอย่างน้อยมากไม่เพียงพอต่อการศึกษารูปแบบการเจริญและพัฒนาของสปอโรไฟต์ ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงศึกษาเฉพาะชนิดที่มีตัวอย่างมากพอ ได้แก่ *N. levieri*, *N. frahmii* และ *N. orbicularis* เพื่อใช้เป็นตัวแทนฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ในประเทศไทย โดยมีรายละเอียด ดังนี้

***Notothylas levieri* Schiffin. ex Steph.**

จากการศึกษาสปอโรไฟต์ตัดตามยาว (ภาพที่ 4.22ก) และตัดตามขวางบริเวณเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน พบว่าเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานมีรูปแบบการเจริญและพัฒนาแบ่งได้เป็น 9 ระยะ ดังนี้

ระยะที่ 1 เนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานตัดตามขวางที่อยู่เหนือฟุต ประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 2 ชั้น คือ เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียม 8 เซลล์ และเนื้อเยื่อเอนโดทีเซียม 4 เซลล์

ระยะที่ 2 เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมเริ่มแบ่งเซลล์แบบตั้งฉากกับเซลล์ผิว (ภาพที่ 4.22ข) ทำให้เซลล์มีจำนวนเพิ่มขึ้นจากเดิม

ระยะที่ 3 เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมมีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นเป็น 16 เซลล์ โดยแต่ละเซลล์เริ่มแบ่งเซลล์แบบขนานกับเซลล์ผิวเข้าทางด้านใน ทำให้เริ่มเห็นเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมเป็น 2 ชั้น (ภาพที่ 4.22ค)

ระยะที่ 4 เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมประกอบด้วยเซลล์ 2 ชั้น ชั้นละ 16 เซลล์ และเนื้อเยื่อเอมฟิที-เซียมชั้นนอกเริ่มแบ่งเซลล์แบบตั้งฉากกับเซลล์ผิว ทำให้เซลล์มีจำนวนเพิ่มขึ้นจากเดิม

ระยะที่ 5 เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมชั้นนอกยังคงมีการแบ่งเซลล์แบบตั้งฉากกับเซลล์ผิวอยู่ ส่วนเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมชั้นในเริ่มมีการแบ่งเซลล์แบบขนานกับเซลล์ผิวออกทางด้านนอก ทำให้เริ่มเห็นเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมเป็น 3 ชั้น (ภาพที่ 4.22ง)

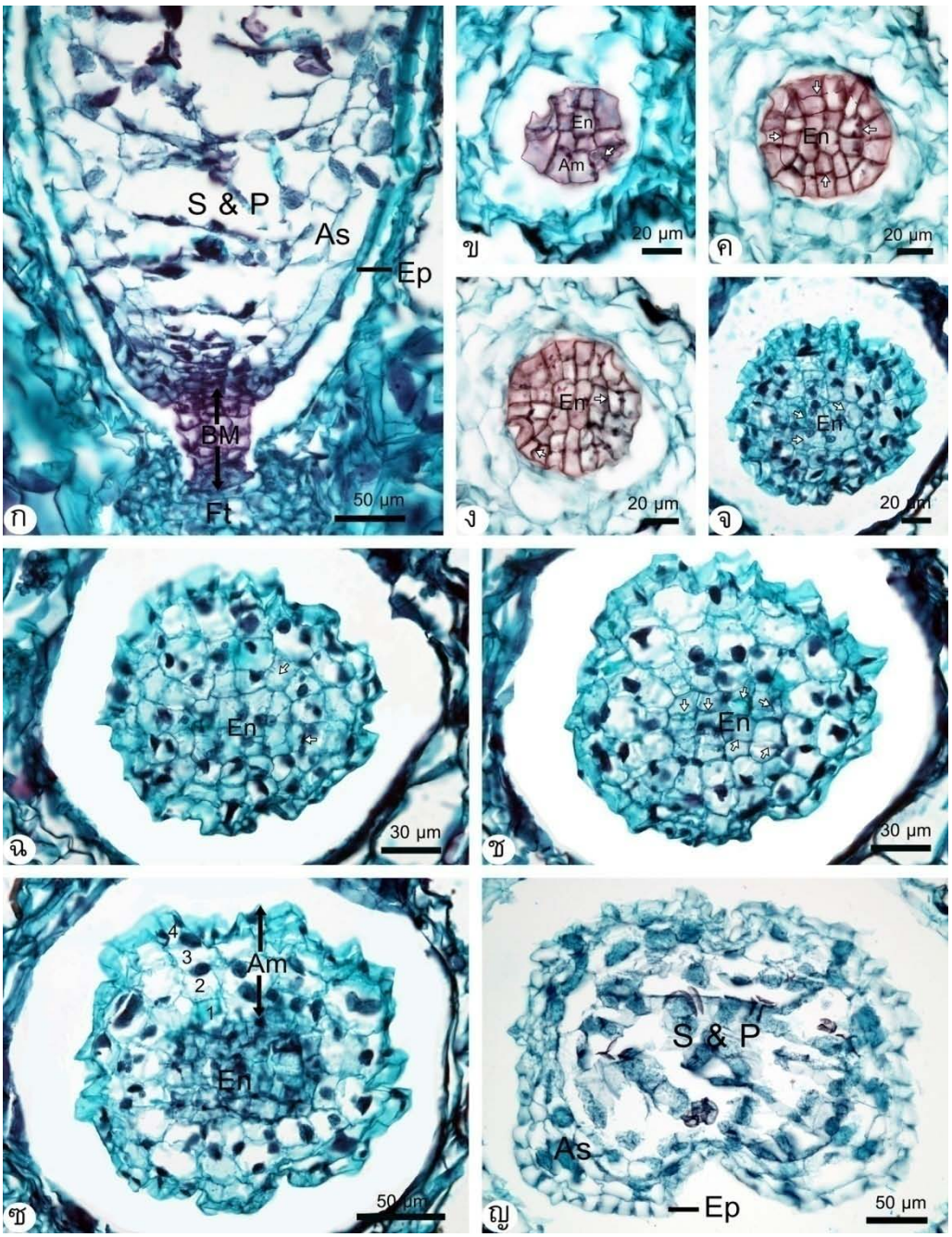
ระยะที่ 6 เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมประกอบด้วยเซลล์จำนวน 3 ชั้นที่มีจำนวนเซลล์ต่างกัน ส่วนเนื้อเยื่อเอนโดทีเซียมเริ่มแบ่งเซลล์เพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ (ภาพที่ 4.22จ)

ระยะที่ 7 เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมชั้นในสุดเริ่มแบ่งเซลล์แบบขนานกับเซลล์ผิวเข้าทางด้านใน ทำให้เริ่มเห็นเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมเป็น 4 ชั้น ส่วนเนื้อเยื่อเอนโดทีเซียมประกอบด้วยเซลล์ประมาณ 8 เซลล์ (ภาพที่ 4.22ฉ)

ระยะที่ 8 เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมประกอบด้วยเซลล์จำนวน 4 ชั้น ส่วนเนื้อเยื่อเอนโดทีเซียมเริ่มแบ่งเซลล์เพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์อีกครั้ง (ภาพที่ 4.22ช)

ระยะที่ 9 เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมประกอบด้วยเซลล์จำนวน 4 ชั้นที่มีจำนวนเซลล์ต่างกัน ส่วนเนื้อเยื่อเอนโดทีเซียมยังคงมีการแบ่งเซลล์ต่อเนื่อง ทำให้เซลล์มีจำนวนเพิ่มขึ้นจากในระยะที่ 6 (ภาพที่ 4.22ซ)

เนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานตัดตามขวางที่อยู่ติดกับโคนอับสปอร์ ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียม 4 ชั้นและเนื้อเยื่อเอนโดทีเซียม โดยเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมทั้ง 4 ชั้นเป็นเซลล์ต้นกำเนิดผนังอับสปอร์ ที่มีเซลล์จำนวนต่างกัน 2 บริเวณ คือ เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมชั้นนอกสุดมีจำนวนเซลล์มากกว่า 3 ชั้นที่เหลือ ซึ่งจะพัฒนาเป็นชั้นเซลล์ผิว ส่วนเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียม 3 ชั้นที่เหลือประกอบด้วยเซลล์ประมาณชั้นละ 16 เซลล์ ซึ่งจะพัฒนาเป็นชั้นเอสสิมิเลทีฟ ส่วนเนื้อเยื่อเอนโดทีเซียมเป็นอาร์คีสปอร์เรียม ซึ่งจะพัฒนาเป็นเซลล์ต้นกำเนิดสปอร์และซูโดอีเลเตอร์ (ภาพที่ 4.22ญ)



ภาพที่ 4.22 รูปแบบการเจริญและพัฒนาของสปอโรไฟต์ของ *Notothylas levieri* Schiffin. ex Steph. ก) สปอโรไฟต์ตัดตามยาว แสดงเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน และการจัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อบริเวณโคนอับสปอร์ทั้ง 3 ชั้น; ข-ซ) รูปแบบการเจริญและพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานในระยะต่างๆ: ข) ระยะที่ 2, ค) ระยะที่ 3, ง) ระยะที่ 5, จ) ระยะที่ 6, ฉ) ระยะที่ 7, ช) ระยะที่ 8, ซ) ระยะที่ 9; ญ) อับสปอร์ตัดตามขวางบริเวณโคนอับสปอร์ ประกอบด้วยชั้นเนื้อเยื่อ 3 ชั้น (BM = เนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน, Ep = ชั้นเซลล์ผิว, As = ชั้นแอสสิมิเลทิฟ, S & P = ชั้นสปอร์และซูโดอีเลเตอร์, Am = เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียม, En = เนื้อเยื่อเอนโดทีเซียม, ศรชี้ = เซลล์มีการแบ่งเซลล์)

***Notothylas frahmii* Chantanaorr.**

จากการศึกษาสปอโรไฟต์ตัดตามยาว (ภาพที่ 4.23ก) และตัดตามขวางบริเวณเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน พบว่าเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานมีรูปแบบการเจริญและพัฒนาแบ่งได้เป็น 10 ระยะ ดังนี้

ระยะที่ 1 เนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานตัดตามขวางที่อยู่เหนือฟุต ประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 2 ชั้น คือ เนื้อเยื่อชั้นนอกหรือเอมฟิทีเซียม 8 เซลล์ และเนื้อเยื่อชั้นในหรือเอนโดทีเซียม 4 เซลล์

ระยะที่ 2 เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมเริ่มมีการแบ่งเซลล์แบบขนานกับเซลล์ผิวเข้ามาทางด้านใน ทำให้เริ่มเห็นเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมเป็น 2 ชั้น (ภาพที่ 4.23ข)

ระยะที่ 3 เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมประกอบด้วยเซลล์ 2 ชั้น และเนื้อเยื่อชั้นนอกเริ่มแบ่งเซลล์แบบตั้งฉากกับเซลล์ผิว ทำให้เซลล์มีจำนวนเพิ่มขึ้นจากเดิม (ภาพที่ 4.23ค)

ระยะที่ 4 เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมชั้นนอกประกอบด้วยเซลล์ 16 เซลล์และเริ่มแบ่งเซลล์แบบขนานกับเซลล์ผิวเข้ามาทางด้านใน ทำให้เริ่มเห็นเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมเป็น 3 ชั้น

ระยะที่ 5 เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมประกอบด้วยเซลล์ 3 ชั้น เนื้อเยื่อชั้นนอกสุดที่ประกอบด้วยเซลล์ 16 เซลล์เริ่มแบ่งเซลล์แบบขนานกับเซลล์ผิวเข้ามาทางด้านใน ทำให้เริ่มเห็นเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมเป็น 4 ชั้น (ภาพที่ 4.23ง)

ระยะที่ 6 เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมประกอบด้วยเซลล์ 4 ชั้น เนื้อเยื่อชั้นนอกสุดประกอบด้วยเซลล์ 16 เซลล์และเริ่มแบ่งเซลล์แบบตั้งฉากกับเซลล์ผิว ทำให้เซลล์มีจำนวนเพิ่มขึ้นจากเดิม

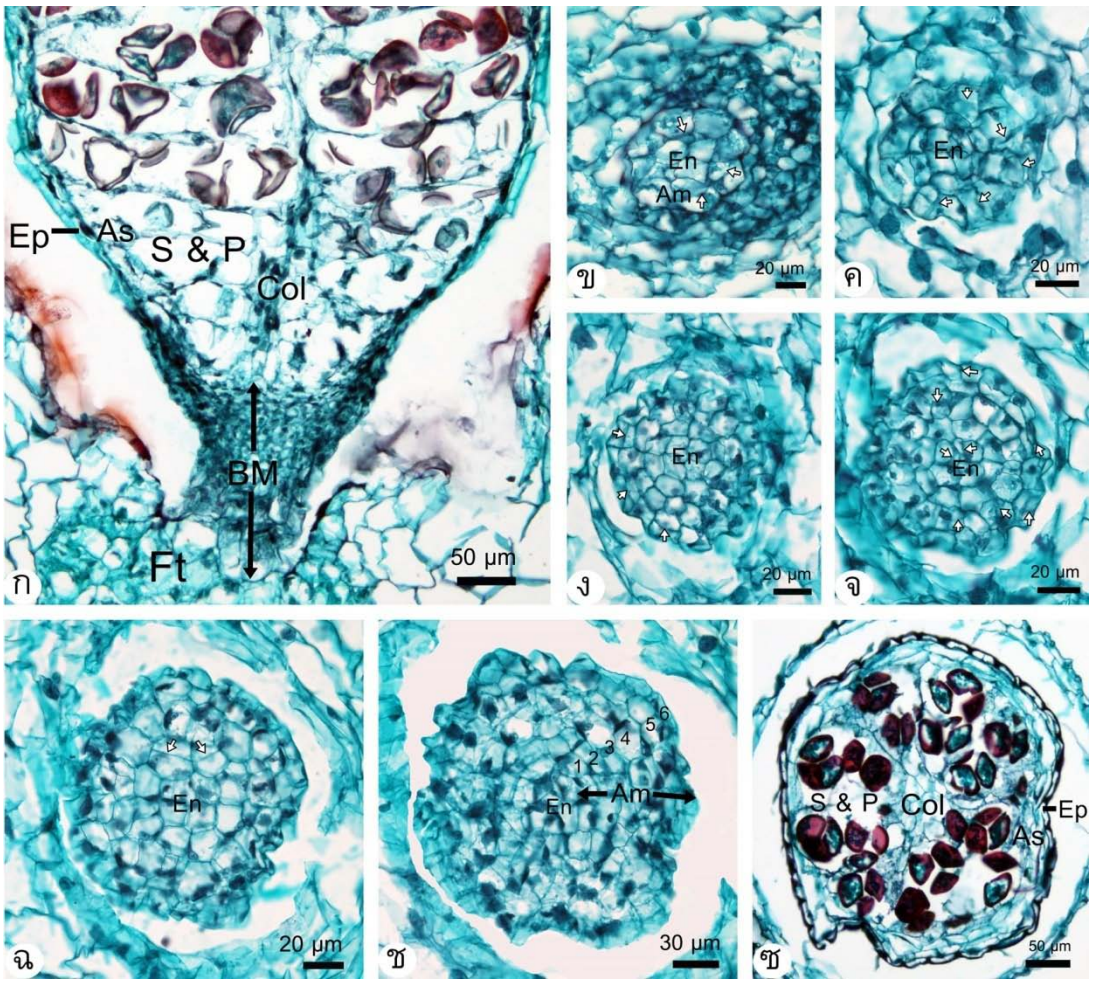
ระยะที่ 7 เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมชั้นนอกสุดยังคงมีการแบ่งเซลล์แบบตั้งฉากกับเซลล์ผิว และเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมที่อยู่ถัดจากชั้นในสุดเริ่มแบ่งเซลล์แบบขนานกับเซลล์ผิวเข้ามาทางด้านใน ทำให้เริ่มเห็นเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมเป็น 5 ชั้น ส่วนเนื้อเยื่อเอนโดทีเซียมเริ่มแบ่งเซลล์เพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ (ภาพที่ 4.23จ)

ระยะที่ 8 เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมชั้นในสุดเริ่มแบ่งเซลล์แบบตั้งฉากกับเซลล์ผิว ทำให้เซลล์มีจำนวนเพิ่มขึ้นจากเดิม

ระยะที่ 9 เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมชั้นในสุดยังคงมีการแบ่งเซลล์แบบตั้งฉากกับเซลล์ผิว และเริ่มแบ่งเซลล์แบบขนานกับเซลล์ผิวออกทางด้านนอก ทำให้เริ่มเห็นเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมเป็น 6 ชั้น (ภาพที่ 4.23ฉ)

ระยะที่ 10 เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมประกอบด้วยเซลล์ 6 ชั้น ส่วนเนื้อเยื่อเอนโดทีเซียมยังคงมีการแบ่งเซลล์เพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ (ภาพที่ 4.23ช)

เนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานตัดตามขวางที่อยู่ติดกับโคนอับสปอร์ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียม 6 ชั้น และเนื้อเยื่อเอนโดทีเซียม โดยเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมชั้นในสุด 2 ชั้นเป็นอาร์คีสปอร์เรียมที่ประกอบด้วยเซลล์ประมาณ 16 เซลล์ ซึ่งจะพัฒนาเป็นเซลล์ต้นกำเนิดสปอร์และซูโดอีเลเตอร์ ส่วนเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมอีก 4 ชั้นที่เหลือเป็นเซลล์ต้นกำเนิดผนังอับสปอร์ที่ประกอบด้วยเซลล์จำนวนต่างกัน 2 บริเวณ คือ เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมชั้นนอกสุดซึ่งมีจำนวนเซลล์มากกว่า 3 ชั้นที่เหลือจะพัฒนาเป็นชั้นเซลล์ผิว ส่วนเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียม 3 ชั้นที่เหลือประกอบด้วยเซลล์ประมาณชั้นละ 16 เซลล์จะพัฒนาเป็นชั้นเอสสิมิเลทีฟ ส่วนเนื้อเยื่อเอนโด-ทีเซียมประกอบด้วยเซลล์ประมาณ 16 เซลล์จะพัฒนาเป็นแกนกลาง (ภาพที่ 4.23ซ)



ภาพที่ 4.23 รูปแบบการเจริญและพัฒนาของสปอโรไฟต์ของ *Notothylas frahmii* Chantanaorr. ก) สปอโรไฟต์ตัดตามยาวแสดงเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน และการจัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อบริเวณโคนอับสปอร์ทั้ง 4 ชั้น; ข-ช) รูปแบบการเจริญและพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน: ข) ระยะที่ 2, ค) ระยะที่ 3, ง) ระยะที่ 5, จ) ระยะที่ 7, ฉ) ระยะที่ 9, ช) ระยะที่ 10; ซ) อับสปอร์ตัดตามขวางบริเวณโคนอับสปอร์ ประกอบด้วยชั้นเนื้อเยื่อ 4 ชั้น (BM = เนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน, Ep = ชั้นเซลล์ผิว, As = ชั้นแอสสิมิเลทิฟ, S & P = ชั้นสปอร์และซูโดอีเลเตอร์, Col = ชั้นแกนกลาง, Am = เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียม, En = เนื้อเยื่อเอนโดทีเซียม, ศรชี้ = เซลล์มีการแบ่งเซลล์)

***Notothylas orbicularis* (Schwein.) Sull. ex A. Gray**

จากการศึกษาสปอโรไฟต์ตัดตามยาว (ภาพที่ 4.24ก) และตัดตามขวางบริเวณเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน พบว่าเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานมีรูปแบบการเจริญและพัฒนาแบ่งได้เป็น 10 ระยะ ดังนี้

ระยะที่ 1 เนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานตัดตามขวางที่อยู่เหนือฟุต ประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 2 ชั้น คือ เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียม 8 เซลล์ และเนื้อเยื่อเอนโดทีเซียม 4 เซลล์

ระยะที่ 2 เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมเริ่มแบ่งเซลล์แบบขนานกับเซลล์ผิวเข้าทางด้านใน ทำให้เริ่มเห็นเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมเป็น 2 ชั้น (ภาพที่ 4.24ข)

ระยะที่ 3 เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมประกอบด้วยเซลล์จำนวน 2 ชั้น ชั้นละ 8 เซลล์ และเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมชั้นนอกเริ่มแบ่งเซลล์แบบตั้งฉากกับเซลล์ผิว ทำให้เซลล์มีจำนวนเพิ่มขึ้นจากเดิม (ภาพที่ 4.24ค)

ระยะที่ 4 เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมชั้นนอกประกอบด้วยเซลล์ประมาณ 16 เซลล์ โดยบางเซลล์เริ่มแบ่งเซลล์แบบขนานกับเซลล์ผิวเข้าทางด้านใน ทำให้เริ่มเห็นเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมเป็น 3 ชั้น (ภาพที่ 4.24ง)

ระยะที่ 5 เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมประกอบด้วยเซลล์จำนวน 3 ชั้นที่มีจำนวนเซลล์ต่างกัน (ชั้นในสุดมี 8 เซลล์ ถัดออกไป 2 ชั้น มีชั้นละ 16 เซลล์) เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมชั้นนอกสุดเริ่มแบ่งเซลล์แบบตั้งฉากกับเซลล์ผิว ทำให้เซลล์มีจำนวนเพิ่มขึ้นจากเดิม (ภาพที่ 4.24จ)

ระยะที่ 6 เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมชั้นนอกสุดประกอบด้วยเซลล์ประมาณ 32 เซลล์ เนื้อเยื่อเอมฟิ-ทีเซียมที่อยู่ถัดจากชั้นในสุด เริ่มแบ่งเซลล์แบบขนานกับเซลล์ผิวออกทางด้านนอก ทำให้เริ่มเห็นเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมเป็น 4 ชั้น ส่วนเนื้อเยื่อเอนโดทีเซียมเริ่มแบ่งเซลล์เพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ (ภาพที่ 4.24ฉ)

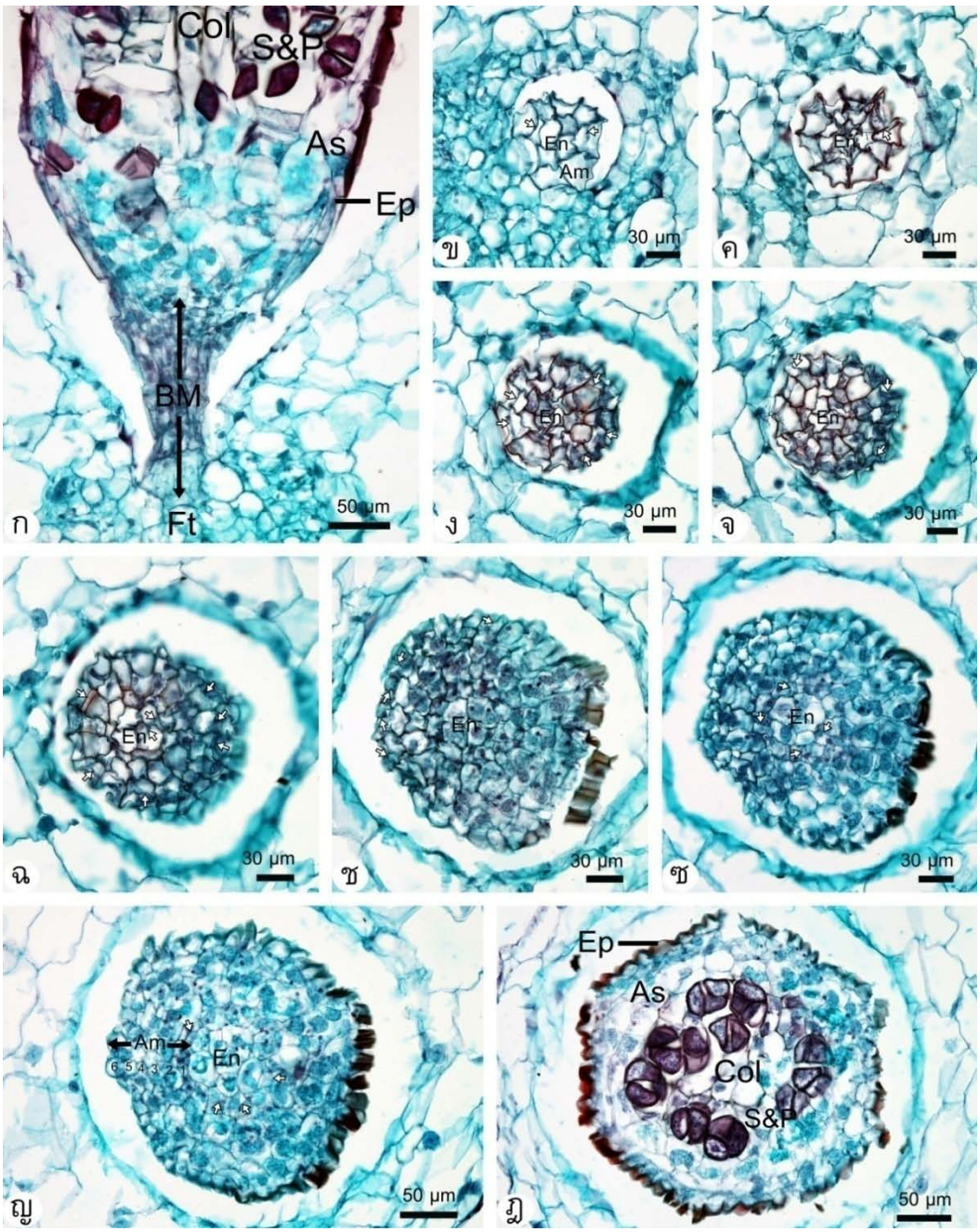
ระยะที่ 7 เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมที่อยู่ถัดจากชั้นในสุด เริ่มแบ่งเซลล์แบบขนานกับเซลล์ผิวเข้าทางด้านใน ทำให้เริ่มเห็นเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมเป็น 5 ชั้น

ระยะที่ 8 เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมชั้นนอกสุดเริ่มแบ่งเซลล์แบบตั้งฉากกับเซลล์ผิว ทำให้เซลล์มีจำนวนเพิ่มขึ้นจากในระยะที่ 6 (ภาพที่ 4.24ช)

ระยะที่ 9 เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมชั้นในสุดเริ่มแบ่งเซลล์แบบตั้งฉากกับเซลล์ผิว ทำให้เซลล์มีจำนวนเพิ่มขึ้นจากเดิม (ภาพที่ 4.24ซ)

ระยะที่ 10 เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมชั้นในสุดเริ่มแบ่งเซลล์แบบขนานกับเซลล์ผิว ทำให้เริ่มเห็นเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมเป็น 6 ชั้น ส่วนเนื้อเยื่อเอนโดทีเซียมยังคงมีการแบ่งเซลล์ต่อเนื่อง ทำให้เซลล์มีจำนวนเพิ่มขึ้นจากในระยะที่ 9 (ภาพที่ 4.24ญ)

เนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานตัดตามขวางที่อยู่ติดกับโคนอับสปอร์ ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียม 6 ชั้น และเนื้อเยื่อเอนโดทีเซียม โดยเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมชั้นในสุด 2 ชั้นเป็นอาร์-คีสปอร์เรียมที่ประกอบด้วยเซลล์ประมาณชั้นละ 16 เซลล์ ซึ่งจะพัฒนาเป็นเซลล์ต้นกำเนิดสปอร์และซูโดอีเลเตอร์ ส่วนเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมอีก 4 ชั้นที่เหลือเป็นเซลล์ต้นกำเนิดผนังอับสปอร์ที่ประกอบด้วยเซลล์จำนวนต่างกัน 2 บริเวณ คือ ชั้นนอกสุดมีประกอบด้วยเซลล์ประมาณ 64 เซลล์ ซึ่งจะพัฒนาเป็นชั้นเซลล์ผิว ส่วนอีก 3 ชั้นที่เหลือประกอบด้วยเซลล์ประมาณชั้นละ 16 เซลล์ ซึ่งจะพัฒนาเป็นชั้นเอสสิมิเลทีฟ ส่วนเนื้อเยื่อเอนโดทีเซียมจำนวนประมาณ 16 เซลล์จะพัฒนาเป็นแกนกลาง (ภาพที่ 4.24ฏ)



ภาพที่ 4.24 รูปแบบการเจริญและพัฒนาของสปอโรไฟต์ของ *Notothylas orbicularis* (Schwein.) Sull. ex A. Gray ก) สปอโรไฟต์ตัดตามยาวแสดงเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน และการจัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อบริเวณโคนอับสปอร์ทั้ง 4 ชั้น; ข-ญ) รูปแบบการเจริญและพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานในระยะต่างๆ: ข) ระยะที่ 2, ค) ระยะที่ 3, ง) ระยะที่ 4, จ) ระยะที่ 5, ฉ) ระยะที่ 6, ช) ระยะที่ 8, ซ) ระยะที่ 9, ญ) ระยะที่ 10; ฎ) อับสปอร์ตัดตามขวางบริเวณโคนอับสปอร์ ประกอบด้วยชั้นเนื้อเยื่อ 4 ชั้น (BM = เนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน, Ep = ชั้นเซลล์ผิว, As = ชั้นแอสสิมิเลทิฟ, S & P = ชั้นสปอร์และซูโดอีเลเตอร์, Col = ชั้นแกนกลาง, Am = เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียม, En = เนื้อเยื่อเอนโดทีเซียม, ศรชี้ = เซลล์มีการแบ่งเซลล์)

บทที่ 5

สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์แกมีโตไฟต์

ทัลลัส

จากผลการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ของทัลลัสของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ทั้ง 7 ชนิด พบว่าทัลลัสเจริญทอดนอนหรือแนบชิดไปกับพื้นดินหรือก้อนหิน มีสีเขียวอ่อนถึงสีเขียวเข้ม ไม่มีเส้นกลางทัลลัส มีการแยกสาขาเป็นคู่สั้นๆ ชิดกันมากและไม่เป็นระเบียบ ส่วนใหญ่พื้นผิวทัลลัสด้านบนค่อนข้างเรียบ ยกเว้นใน *N. orbicularis* พื้นผิวทัลลัสด้านบนค่อนข้างเรียบหรืออาจมีสันหรือแผ่นคล้ายครีบ จากผลการศึกษาพบว่าฮอร์นเวิร์ตชนิดนี้เจริญในที่ค่อนข้างชื้นผิวของทัลลัสมักไม่เรียบ นอกจากนี้ยังพบบางตัวอย่างมีครีบจำนวนมากเจริญในแนวตั้งฉากกับผิวของทัลลัสอาจจะเนื่องมาจากฝนทิ้งช่วงหรือสภาวะแล้งทำให้ทัลลัสพักตัวหรือหยุดการเจริญเมื่อฝนตกมาอีกครั้งทัลลัสแบ่งตัวอย่างรวดเร็วในหลายทิศทางทำให้พบครีบจำนวนมากบริเวณปลายทัลลัส ส่วนพื้นผิวทัลลัสด้านล่างมักไม่เรียบ เนื่องจากมักมีสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสกุล *Nostoc* เข้าไปอยู่อาศัยภายในเนื้อเยื่อของแกมีโตไฟต์ ลักษณะเป็นจุดกลมๆ ขนาดเล็กมีสีคล้ำทึบแสงกระจายอย่างไม่เป็นระเบียบทั่วทั้งทัลลัส

เมื่อพิจารณารูปร่างของทัลลัสบริเวณกลางทัลลัส (ตารางที่ 5.1) พบทัลลัสแตกต่างกัน 2 กลุ่ม คือ

1. ทัลลัสหยักเว้าตื้นหรือลึกไม่มาก โลบค่อนข้างแคบและค่อนข้างเป็นระเบียบ รูปร่างคล้ายพัดหรือเกือบกลม บริเวณกลางทัลลัสหนา 5-8 เซลล์ พบในชนิด *N. frahmii*, *N. irregularis*, *N. javanica*, *N. orbicularis* และ *N. yunnanensis*

2. ทัลลัสหยักเว้าค่อนข้างลึก โลบแคบและไม่ค่อยเป็นระเบียบ รูปร่างคล้ายพัด รูปขอบขนานหรือรูปหัวใจกลับ บริเวณกลางทัลลัสหนา 3-4(-5) เซลล์ พบในชนิด *N. levieri* และ *N. pandei*

จากผลการศึกษา พบว่าว่าฮอร์นเวิร์ตกลุ่มที่ทัลลัสหนา ทำให้สูญเสียน้ำออกจากเซลล์ได้ยากกว่า จึงพบในฮอร์นเวิร์ตกลุ่มที่ได้รับแสงโดยตรงในปริมาณค่อนข้างมากและเจริญในที่ที่มีความชื้นน้อยกว่า ส่วนกลุ่มที่ทัลลัสบางและเจริญในที่ที่มีความชื้นมาก จะประกอบด้วยกลุ่มเซลล์ที่มีขนาดใหญ่กว่าและมีช่องว่างระหว่างเซลล์ขนาดใหญ่กว่า เพื่อประโยชน์ในการแลกเปลี่ยนก๊าซ เช่นเดียวกับพวกพืชน้ำที่มักพบเนื้อเยื่อแอเรงคิมา (aerenchyma)

จากผลการศึกษาครั้งนี้พบ *N. pandei* มีทัลลัสค่อนข้างแคบและแยกสาขาไม่เป็นระเบียบ สามารถสร้างหัวสะสมอาหารที่ปลายหรือด้านล่างของทัลลัสเมื่อสภาวะแวดล้อมไม่เหมาะสม เช่น ฝนแล้ง หรือเข้าสู่ช่วงปลายฤดูฝน ในช่วงต้นฤดูฝนที่มีฝนตกชุกมักไม่พบการสร้างหัวสะสมอาหารมักพบในช่วงปลายฤดูฝน หัวสะสมอาหารจึงน่าจะทำหน้าที่พักตัวของฮอร์นเวิร์ตชนิดนี้ ในสภาวะแห้งแล้งส่วนอื่นๆ ของทัลลัสจะแห้งไปเหลือแต่ส่วนหัวสะสมอาหารอยู่ใต้ดิน เมื่อสภาวะแวดล้อมเหมาะสมหัวนี้ก็จะสามารถเจริญแบ่งเซลล์ให้เป็นแกมีโตไฟต์ต้นใหม่ได้ การสร้างหัวสะสมอาหารนอกจากจะพบในฮอร์นเวิร์ตชนิดนี้แล้ว ยังสามารถพบได้ในฮอร์นเวิร์ตชนิดอื่นๆ ได้อีก เช่น *Paraphymatoceros pearsonii* (Howe) J.C. Villarreal & Cargil, *Phaeoceros himalayensis* (Kashyap) Prosk. ex Bapna & G.G. Vyas และ *Phymatoceros bulbiculosus* ส่วนมากฮอร์นเวิร์ตที่สร้างหัวสะสมอาหารมักมีทัลลัสแคบ แตกกิ่งจำนวนมาก และมักพบการสร้างหัวในช่วงปลายฤดูฝน

จากผลการศึกษาเซลล์ผิวของทัลลัสของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ทั้ง 7 ชนิด พบเซลล์ผิวมีเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส รูปสี่เหลี่ยมข้าวหลามตัด รูปห้าเหลี่ยม หรือรูปหกเหลี่ยม ภายในเซลล์ผิวแต่ละเซลล์มีคลอโรพลาสต์ขนาดใหญ่ 1 อันต่อเซลล์ ที่มีไพรีนอยด์ 1 อันอยู่ตรงกลาง ซึ่งจำนวนคลอโรพลาสต์และไพรีนอยด์ในการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Renzaglia (1978) ที่ได้ศึกษาฮอร์นเวิร์ตชนิด *N. orbicularis* แต่ขัดแย้งกับรายงานการศึกษาของ Singh (2002) ที่ได้ศึกษาฮอร์นเวิร์ตชนิด *N. levieri* และ *N. pandei* และได้รายงานว่าฮอร์นเวิร์ตทั้งสองชนิดมีจำนวนคลอโรพลาสต์และไพรีนอยด์มากกว่า 1 อันต่อเซลล์ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะตัวอย่างที่นำมาศึกษาเป็นตัวอย่างแห้งทำให้คลอโรพลาสต์หดตัวโดยการคอดเว้าเข้าด้านในเซลล์ และถ้าคลอโรพลาสต์ภายในเซลล์สองเซลล์คอดเว้าติดกับขอบเซลล์อาจทำให้เห็นคลอโรพลาสต์ 2 อันต่อเซลล์ได้ นอกจากนี้ยังพบเม็ดแป้งกระจายรอบไพรีนอยด์ในชนิด *N. javanica* และ *N. orbicularis* ซึ่งอาจเป็นเพราะคลอโรพลาสต์อยู่ในระยะเจริญเต็มที่ เมื่อพิจารณาลักษณะรูปร่างของคลอโรพลาสต์ในตัวอย่างฮอร์นเวิร์ตทั้ง 7 ชนิดพบมีขนาดและรูปร่างไม่แน่นอน เนื่องจากเมื่อเก็บทัลลัสไว้เป็นเวลานานคลอโรพลาสต์จะสูญเสียน้ำ ทำให้คลอโรพลาสต์หดตัวโดยการคอดเว้าเข้าด้านใน ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าลักษณะรูปร่างของคลอโรพลาสต์เป็นลักษณะที่ไม่แน่นอน จึงไม่สามารถนำมาใช้ในการจัดกลุ่มฮอร์นเวิร์ตสกุลนี้ได้

แอนเทอริเดียม

จากผลการศึกษาแอนเทอริเดียมของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* 4 ชนิด พบว่าแอนเทอริเดียมอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม 2-3(-5) อันต่อกลุ่ม มีรูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลม มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 55.3-126.9 ไมโครเมตร เมื่อพิจารณาขนาดของแอนเทอริเดียม (ตารางที่ 5.1) พบแอนเทอริเดียมมีขนาดแตกต่างกันมาก ทั้งนี้อาจเป็นเพราะแอนเทอริเดียมที่นำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้อยู่ในระยะการเจริญที่แตกต่างกัน

แอนเทอริเดียมในระยะเจริญเต็มที่มีสีเหลืองนวลหรือสีส้มเนื่องจากเม็ดสีที่อยู่ภายในเซลล์ชั้นผนังของแอนเทอริเดียม ผนังแอนเทอริเดียมหนา 1 เซลล์ เซลล์ผนังแอนเทอริเดียมมีรูปแบบการจัดเรียงตัวไม่เป็นระเบียบลักษณะคล้ายกับผนังแอนเทอริเดียมที่พบในสกุลอื่นๆ ของวงศ์ Notothyladaceae เช่น ในสกุล *Paraphymatoceros* และ *Phaeoceros* ก้านชูแอนเทอริเดียมไม่มีสี ประกอบด้วยเซลล์รูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าเรียงตัว 4(2×2) แถว จำนวน 1-3 ชั้น จากผลการศึกษาพบว่าก้านชูแอนเทอริเดียมของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* มีขนาดค่อนข้างสั้น ฮอร์นเวิร์ตชนิดที่มีความยาวของก้านชูแอนเทอริเดียมมากที่สุด คือ *N. orbicularis* โดยมีความยาวเฉลี่ย 27.9±6.2 ไมโครเมตร ส่วนชนิดที่มีความยาวของก้านชูแอนเทอริเดียมน้อยที่สุด คือ *N. javanica* โดยมีความยาวเฉลี่ย 19.2±4.3 ไมโครเมตร (ตารางที่ 5.1)

อินโวลูเคอ

จากผลการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ของอินโวลูเคอของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ทั้ง 7 ชนิด พบว่าอินโวลูเคอเป็นรูปทรงกระบอก เจริญขึ้นมาห่อหุ้มสปอโรไฟต์ทั้งต้นก่อนถึงระยะกระจายสปอร์ ความยาวของอินโวลูเคอแปรผันตามความยาวของอับสปอร์ เนื่องจากอินโวลูเคอเป็นโครงสร้างที่เจริญขึ้นมาห่อหุ้มสปอโรไฟต์ ส่วนใหญ่อินโวลูเคอเจริญทอดนอนหรือยกตัวขึ้นจากทัลลัสเล็กน้อย ยกเว้น *N. orbicularis* และ *N. pandei* อินโวลูเคอเจริญยกตัวขึ้นจากทัลลัสค่อนข้างมากเกือบตั้งฉากกับทัลลัส ซึ่งอาจเป็นเพราะอับสปอร์ของฮอร์นเวิร์ตทั้งสองชนิดมีความยาวค่อนข้างมากกว่าฮอร์นเวิร์ตชนิดอื่น

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าลักษณะผิวของอินโวลูเคอมีความแปรผันค่อนข้างสูงและไม่คงที่ในฮอร์นเวิร์ตชนิดเดียวกัน มีตั้งแต่ผิวเรียบ เป็นปุ่มขนาดเล็ก จนถึงมีลักษณะเป็นครีบขนาดใหญ่ ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม เช่น ตัวอย่างที่พบในบริเวณที่ค่อนข้างแห้งปลายของอินโวลูเคอมักมีลักษณะค่อนข้างเรียบหรือมีสันเตี้ยๆ แต่ตัวอย่างที่พบในบริเวณที่มีความชื้นสูงบริเวณปลายทัลลัสจะมีครีบขนาดใหญ่ ในอดีตมีนักวิทยาศาสตร์หลายท่านใช้ลักษณะผิวของอินโวลูเคอในการระบุชนิด แต่จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าลักษณะของอินโวลูเคอเป็นลักษณะที่แปรผันตามสภาพแวดล้อมไม่ใช่ลักษณะที่ดีในการใช้ระบุชนิดของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas*

ไรซอยด์

จากผลการศึกษาครั้งนี้ลักษณะสัณฐานวิทยาไรซอยด์ของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ทั้ง 7 ชนิดพบว่าไรซอยด์มีลักษณะเป็นเซลล์เดียว ส่วนใหญ่มีรูปร่าง 2 แบบ คือ 1) ไรซอยด์ที่มีผนังเซลล์ด้านในเรียบมักจะไม่มีสี พบบริเวณปลายของทัลลัส หรือในตัวอย่างที่เจริญในบริเวณที่มีความชื้นสูง และ 2) ไรซอยด์ที่มีผนังเซลล์ด้านในเป็นปุ่มหนามมักจะมีสีน้ำตาลอ่อน พบบริเวณส่วนโคนของทัลลัส หรือในตัวอย่างที่เจริญในบริเวณที่ค่อนข้างแห้ง จากการศึกษาก่อนหน้านี้ส่วนใหญ่รายงานลักษณะไรซอยด์ของฮอร์นเวิร์ตสกุลนี้ไว้ว่ามีรูปร่างแบบเดียวคือผนัง

ด้านในเรียบ (Singh, 2002; Peng & Zhu, 2013) ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาครั้งนี้ที่พบว่าฮอร์น-เวิร์ตสกุล *Notothylas* สามารถสร้างไรซอยด์ได้ 2 แบบ ขึ้นอยู่กับระยะการเจริญและสภาพแวดล้อมที่ขึ้นอยู่เช่นเดียวกับฮอร์นเวิร์ตชนิดอื่นๆ เช่น *Paraphymatoceros pearsonii* และ *Phaeoceros himalayensis*

5.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ของสปอโรไฟต์

อับสปอร์

จากผลการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ของอับสปอร์ของฮอร์น-เวิร์ตสกุล *Notothylas* ทั้ง 7 ชนิด พบว่าอับสปอร์เป็นรูปกระสวยหรือรูปทรงกระบอกและเมื่อพิจารณาความยาวของอับสปอร์ (ตารางที่ 5.2) พบว่าฮอร์นเวิร์ตชนิดที่อับสปอร์มีความยาวมากที่สุด คือ *N. pandei* และ *N. orbicularis* โดยมีความยาวเฉลี่ย 2.56±0.87 มิลลิเมตร และ 2.00±0.70 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อพิจารณาความยาวของแกนกลางของ *N. pandei* และ *N. orbicularis* พบว่าทั้งสองชนิดเป็นชนิดที่มีความยาวของแกนกลางมากที่สุดโดยมีความยาวเฉลี่ย 1.74±0.96 มิลลิเมตร และ1.57±0.73 มิลลิเมตร ตามลำดับส่วนชนิดที่อับสปอร์มีความยาวน้อยที่สุด คือ *N. levieri* โดยมีความยาวเฉลี่ย 1.53±0.23 มิลลิเมตร และพบว่า *N. levieri* เป็นชนิดที่ไม่มีแกนกลาง ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าความยาวของอับสปอร์สัมพันธ์กับความยาวของแกนกลาง ทั้งนี้เนื่องจากแกนกลางทำหน้าที่เป็นแกนช่วยค้ำจุนอับสปอร์และทำหน้าที่ลำเลียงสารอาหารให้แก่สปอร์ (Schuster, 1984; Shimamura, 2009) ส่วนใน *N. levieri* ไม่มีแกนกลางจึงทำให้อับสปอร์มีความยาวจำกัด

จากการศึกษาผนังอับสปอร์ชั้นนอกหรือชั้นเซลล์ผิวของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ทั้ง 7 ชนิด พบว่าเซลล์เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส หรือรูปห้าเหลี่ยม ส่วนใหญ่ผนังเซลล์หนา ยกเว้น *N. frahmii* และ *N. irregularis* ที่มีผนังเซลล์ค่อนข้างบางเมื่อเทียบกับฮอร์น-เวิร์ตชนิดอื่นๆ เซลล์ผิวมีขนาดแตกต่างกันในแต่ละชนิด

เมื่อพิจารณาเซลล์พิเศษตามแนวแตกบนผนังอับสปอร์ชั้นนอก (ตารางที่ 5.2) พบผนังอับสปอร์ชั้นนอกแตกต่างกัน 3 กลุ่ม คือ

1. ไม่มีเซลล์พิเศษตามแนวแตก พบในชนิด *N. javanica* และ *N. yunnanensis*
2. มีเซลล์พิเศษตามแนวแตกที่มีผนังเซลล์บางกว่าเซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นนอก โดยมีจำนวน 2-3 แถว พบในชนิด *N. orbicularis* และ *N. pandei* และมีจำนวน 4-8 แถว ใน *N. levieri*
3. มีเซลล์พิเศษตามแนวแตกที่มีผนังเซลล์หนากว่าเซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นนอก และมีจำนวน 2-3 แถว พบในชนิด *N. frahmii* และ *N. irregularis*

จากผลการศึกษา พบว่า *N. levieri*, *N. orbicularis*, และ *N. pandei* เซลล์พิเศษตามแนวแตกจะมีผนังเซลล์บางกว่าเซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นนอก เนื่องจากการที่เซลล์มีผนังเซลล์บางจะช่วยให้เซลล์แยกออกจากกันง่ายขึ้น โดยเซลล์จะแยกออกจากกันตามแนวมิดเดิลลาเมลลา ส่วน *N. frahmii* และ *N. irregularis* เซลล์พิเศษตามแนวแตกมีผนังเซลล์หนากว่าเซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นนอก ทั้งนี้อาจเพราะเซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นนอกของฮอร์นเวิร์ตกลุ่มนี้มีผนังเซลล์ค่อนข้างบาง แต่ถึงอย่างไรเซลล์พิเศษตามแนวแตกในฮอร์นเวิร์ตกลุ่มนี้มีความหนาของผนังเซลล์ไม่เท่ากัน โดยผนังเซลล์ด้านที่แยกจากกันจะมีผนังเซลล์บางกว่า นอกจากนี้ยังพบว่าฮอร์นเวิร์ตกลุ่มที่เซลล์พิเศษตามแนวแตกมีผนังเซลล์บางกว่าเซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นนอกจะพบซูโดอีเลเตอร์ตลอดจนถึงระยะกระจายสปอร์ ส่วนอีกกลุ่มที่เซลล์พิเศษตามแนวแตกมีผนังเซลล์หนากว่าเซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นนอกจะพบซูโดอีเลเตอร์เฉพาะในระยะที่สปอโรไฟต์เจริญไม่เต็มที่เท่านั้น เมื่อถึงระยะกระจายสปอร์ซูโดอีเลเตอร์จะสลายไป ดังนั้นลักษณะความหนาของผนังเซลล์ของเซลล์พิเศษตามแนวแตกและเซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นนอกจึงอาจสัมพันธ์กับลักษณะของระยะการพบซูโดอีเลเตอร์ อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาความสัมพันธ์ของลักษณะดังกล่าวในฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ชนิดอื่นเพิ่มเติม

จากการศึกษาผนังอับสปอร์ชั้นในของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ทั้ง 7 ชนิด พบเซลล์ของผนังอับสปอร์ชั้นในมีลักษณะแตกต่างกัน 2 กลุ่ม (ตารางที่ 5.2) คือ

1. เซลล์ของผนังอับสปอร์ชั้นในผนังเซลล์บาง ไม่มีสีและลวดลาย พบในชนิด *N. irregularis*, *N. javanica*, *N. orbicularis* และ *N. yunnanensis*

2. เซลล์ของผนังอับสปอร์ชั้นในผนังเซลล์หนา มีสีน้ำตาลอ่อนถึงสีน้ำตาลเข้ม ผนังเซลล์มีลวดลายเป็นแถบสีน้ำตาลไม่เป็นระเบียบ พบในชนิด *N. levieri* และ *N. pandei* โดยใน *N. levieri* ผนังเซลล์เป็นแถบสีน้ำตาลชัดเจน ส่วนใน *N. pandei* ผนังเซลล์เป็นแถบสีน้ำตาลไม่ชัดเจน

จากผลการศึกษา พบว่าส่วนใหญ่เซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นในไม่มีสีและลวดลาย ยกเว้น *N. levieri* และ *N. pandei* ที่เซลล์ของผนังอับสปอร์ชั้นในมีสีน้ำตาลอ่อนถึงสีน้ำตาลเข้ม และผนังเซลล์มีลวดลายเป็นแถบสีน้ำตาลไม่เป็นระเบียบ แต่จากการศึกษาของ Singh (2002) ได้รายงานว่าเซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นในของ *N. pandei* ไม่มีสีและลวดลาย ซึ่งอาจเป็นเพราะอับสปอร์ที่ Singh นำมาศึกษาไม่ได้อยู่ในระยะเจริญเต็มที่ นอกจากนี้เขายังได้รายงานฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* อีก 3 ชนิดที่มีลักษณะของเซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นในแบบเดียวกัน คือ *N. anaporata*, *N. dissecta* และ *N. flabellate* ซึ่งลักษณะของเซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นในเช่นนี้ส่วนใหญ่พบในลิเวอร์เวิร์ตอันดับ Jungermanniales Udar และ Singh (1978) ตั้งข้อสังเกตว่าฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* อาจมีความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการใกล้ชิดกับลิเวอร์เวิร์ต แต่ถึงอย่างไรก็ตามการศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการควรมีข้อมูลมาสนับสนุนมากกว่านี้ทั้ง

ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาและทางชีวโมเลกุล และลักษณะลวดลายบนผนังอับสปอร์อาจเกิดจากการปรับตัวของไบรโอไฟต์ที่เจริญอยู่ในสภาพแวดล้อมแบบเดียวกัน

นอกจากนี้ยังพบว่าฮอร์นเวิร์ตกลุ่มที่เซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นในไม่มีสีและลวดลายจะมีสปอร์สีเหลืองถึงสีน้ำตาลแกมเหลือง ส่วนฮอร์นเวิร์ตอีกกลุ่มที่เซลล์ของผนังอับสปอร์ชั้นในมีสีน้ำตาลอ่อนถึงสีน้ำตาลเข้ม และผนังเซลล์มีลวดลายเป็นแถบสีน้ำตาลไม่เป็นระเบียบจะมีสปอร์สีน้ำตาลเข้มถึงสีดำ ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าลักษณะของเซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นในสัมพันธ์กับสีของสปอร์ ผนังอับสปอร์ชั้นในสุดอาจทำหน้าที่เหมือนกับเทปิตัม (tepetum) ของพืชดอก ซึ่งทำหน้าที่ให้อาหารและควบคุมการเจริญของสปอร์ อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาความสัมพันธ์ของผนังอับสปอร์ชั้นในและการเจริญของสปอร์ในฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ชนิดอื่นเพิ่มเติม

จากการศึกษาอับสปอร์ตัดตามขวาง พบว่าส่วนใหญ่ฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 4 ชั้น คือ ชั้นเซลล์ผิว ชั้นเอสสิมิเลทีฟ ชั้นสปอร์และซูโดอีเลเตอร์ และชั้นแกนกลาง ยกเว้น *N. levieri* ที่ไม่มีเนื้อเยื่อชั้นแกนกลางจึงทำให้อับสปอร์ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเพียง 3 ชั้น โดยแต่ละชั้นมีลักษณะดังนี้

1) ชั้นเซลล์ผิวหนา 1 เซลล์ เซลล์เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าหรือรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสที่มีผนังเซลล์หนาทั้งทางด้านรัศมีและด้านสัมผัส อาจเนื่องจากฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ไม่ได้อยู่ในที่ชื้นมากจึงทำให้เซลล์ผิวมีสารคิวตินมาพอกทับเพื่อช่วยลดการสูญเสียน้ำออกจากเซลล์

2) ชั้นเอสสิมิเลทิฟหนา 2-3 เซลล์ โดยบริเวณปลายอับสปอร์จะมีชั้นแอสสิมิเลทิฟหนา 2 เซลล์ และมีความหนาเพิ่มขึ้นเป็น 3 เซลล์บริเวณถัดลงมา เซลล์เป็นรูปหลายเหลี่ยมค่อนข้างรี ลักษณะคล้ายเซลล์พาเรงคิมาเซลล์มีขนาดใหญ่และผนังบาง มีการเรียงตัวหลวมๆ ทำให้มีช่องว่างระหว่างเซลล์ชัดเจนแต่ไม่ใหญ่มากจนกลายเป็นช่องอากาศ (air space) ซึ่งลักษณะการจัดเรียงตัวของเซลล์เอสสิมิเลทิฟแบบนี้สามารถพบได้ในฮอร์นเวิร์ตที่ผนังอับสปอร์ไม่มีปากใบ เช่น ฮอร์นเวิร์ตสกุล *Dendroceros*, *Megaceros* และ *Nothoceros* นอกจากนี้ยังพบว่าเซลล์เอสสิมิเลทิฟในระยะที่ยังเจริญไม่เต็มที่จะมีคลอโรพลาสต์อยู่ภายในเซลล์ 1 อันต่อเซลล์จึงอาจทำหน้าที่เกี่ยวกับกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง

3) ชั้นสปอร์และซูโดอีเลเตอร์ โดยชั้นสปอร์และซูโดอีเลเตอร์ของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ทั้ง 7 ชนิดมีการจัดเรียงตัวสลับชั้นกัน แต่ละชั้นจะประกอบด้วยชั้นสปอร์หรือชั้นซูโดอีเลเตอร์ โดยชั้นซูโดอีเลเตอร์ประกอบด้วยเซลล์ซูโดอีเลเตอร์ต่อกันจากแกนกลางไปยังชั้นเอสสิมิเลทิฟ ยกเว้น *N. levieri* ชั้นซูโดอีเลเตอร์ประกอบด้วยเซลล์ซูโดอีเลเตอร์ต่อกันจากชั้นเอสสิมิเลทิฟด้านหนึ่งไปยังชั้นเอสสิมิเลทิฟอีกด้านหนึ่งของอับสปอร์ เนื่องจากเป็นชนิดที่ไม่มีชั้นแกนกลางอยู่ภายในอับสปอร์ เมื่อพิจารณาจำนวนสปอร์และซูโดอีเลเตอร์ในแต่ละชั้น พบว่า *N. levieri* มีจำนวนสปอร์และซูโดอีเลเตอร์ในแต่ละชั้นมากที่สุด เนื่องจากเป็นชนิดที่ไม่มีแกนกลางภายในอับสปอร์

4) ชั้นแกนกลางอยู่ชั้นในสุด ประกอบด้วยเซลล์ 16 แถว (4 × 4 แถว) เซลล์แกนกลางเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปห้าเหลี่ยม หรือรูปหกเหลี่ยมที่มีขนาดแตกต่างกันในแต่ละชนิด

แกนกลาง

จากการศึกษาแกนกลางของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ทั้ง 7 ชนิด พบว่าแกนกลางสามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม (ตารางที่ 5.2) คือ

1. ไม่พบแกนกลาง พบในชนิด *N. levieri*

2. พบแกนกลางเฉพาะในระยะสปอโรไฟต์เจริญไม่เต็มที่ เมื่อถึงระยะกระจายสปอร์แกนกลางจะสลายไป ได้แก่ *N. frahmii*, *N. irregularis*, *N. javanica* และ *N. yunnanensis*

3. พบแกนกลางตลอดตั้งแต่ระยะสปอโรไฟต์เจริญไม่เต็มที่จนถึงระยะกระจายสปอร์ ได้แก่ *N. orbicularis* และ *N. pandei*

จากผลการศึกษา พบว่าส่วนใหญ่ฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* มีแกนกลาง ยกเว้น *N. levieri* ซึ่งผลการศึกษาในครั้งนี้ค่อนข้างต่างจากผลการศึกษาที่ผ่านมา ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการศึกษาที่ผ่านมาอาจรายงานผลการศึกษาจากการศึกษาตัวอย่างแห้งที่อาจอยู่ในระยะกระจายสปอร์แล้วจึงทำให้ไม่พบแกนกลางในชนิดที่พบแกนกลางในระยะสปอโรไฟต์เจริญไม่เต็มที่เท่านั้น นอกจากนี้ยังพบว่าฮอร์นเวิร์ตกลุ่มที่พบแกนกลางในระยะสปอโรไฟต์เจริญไม่เต็มที่เซลล์แกนกลางจะไม่มีสีและลวดลาย ส่วนฮอร์นเวิร์ตอีกกลุ่มที่พบแกนกลางจนถึงระยะกระจายสปอร์ เซลล์แกนกลางมีทั้งที่ไม่มีสีหรือมีสีน้ำตาลอ่อน ผนังเซลล์มีลวดลายเป็นแถบสีน้ำตาลไม่เป็นระเบียบ (*N. orbicularis*) และเซลล์แกนกลางมีสีน้ำตาลอ่อนถึงเข้ม ผนังเซลล์ไม่มีลวดลาย (*N. pandei*)

ซูโดอีเลเตอร์

จากการศึกษาซูโดอีเลเตอร์ของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ทั้ง 7 ชนิด พบว่าซูโดอีเลเตอร์สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม (ตารางที่ 5.2) คือ

1. พบซูโดอีเลเตอร์เฉพาะระยะสปอโรไฟต์เจริญไม่เต็มที่ ได้แก่ *N. frahmii*, *N. irregularis*, *N. javanica* และ *N. yunnanensis*

2. พบซูโดอีเลเตอร์ตลอดตั้งแต่ระยะสปอโรไฟต์เจริญไม่เต็มที่จนถึงระยะกระจายสปอร์ ได้แก่ *N. levieri*, *N. orbicularis* และ *N. pandei*

จากผลการศึกษา พบว่าฮอร์นเวิร์ตทุกชนิดมีซูโดอีเลเตอร์ ทั้งนี้เนื่องจากซูโดอีเลเตอร์ทำหน้าที่ช่วยในการกระจายสปอร์และให้อาหารแก่สปอร์ นอกจากนี้ยังพบว่าเซลล์ซูโดอีเลเตอร์และเซลล์แกนกลางที่พบเฉพาะในระยะสปอโรไฟต์เจริญไม่เต็มที่มีลักษณะเหมือนกัน คือ เซลล์ไม่มีสีและลวดลาย ส่วนเซลล์ซูโดอีเลเตอร์และเซลล์แกนกลางที่พบจนถึงระยะกระจายสปอร์มีลักษณะเหมือนกัน คือ เซลล์มีทั้งที่ไม่มีสีหรือมีสีน้ำตาลอ่อน ผนังเซลล์มีลวดลายเป็นแถบสี

น้ำตาลไม่เป็นระเบียบ (*N. levieri* และ *N. orbicularis*) และเซลล์มีสีน้ำตาลอ่อนถึงเข้ม ผนังเซลล์ไม่มีลวดลาย (*N. pandei*) ดังนั้นลักษณะของเซลล์ซูโดอีเลเตอร์จึงอาจมีความสัมพันธ์กับเซลล์แกนกลาง ยกเว้น *N. levieri* ซึ่งเป็นชนิดที่ไม่มีแกนกลาง

จากผลการศึกษาเซลล์ซูโดอีเลเตอร์ของ *N. pandei* ในครั้งนี้พบมีลักษณะต่างจากที่ Singh (2002) เคยรายงานไว้ โดย Singh ได้รายงานว่าเซลล์ซูโดอีเลเตอร์ใน *N. pandei* มีสีน้ำตาลอ่อน ผนังเซลล์มีลวดลายเป็นแถบสีน้ำตาลไม่เป็นระเบียบ ซึ่งเป็นลักษณะของเซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นในของ *N. pandei* ที่พบในการศึกษานี้ จึงอาจเป็นไปได้ว่าเซลล์ซูโดอีเลเตอร์จากการศึกษาของ Singh คือเซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นในที่หลุดออกมากระจายอยู่ในชั้นสปอร์และซูโด-อีเลเตอร์ นอกจากนี้ยังพบว่าลักษณะของเซลล์ซูโดอีเลเตอร์ที่เซลล์มีสีน้ำตาลอ่อนถึงเข้ม รูปร่างคล้ายรูปสี่เหลี่ยม และผนังเซลล์มีลวดลายเป็นแถบสีน้ำตาลไม่เป็นระเบียบเป็นลักษณะเฉพาะที่พบในฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* เท่านั้น (Shaw & Renzaglia, 2004)

สปอร์

จากการศึกษาสปอร์ของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ทั้ง 7 ชนิด พบว่าสปอร์ในระยะเจริญเต็มที่เป็นเซลล์เดียว มีผนังหนา และส่วนใหญ่สปอร์มีสีเหลืองถึงสีน้ำตาลแกมเหลือง ฮอร์นเวิร์ตสกุลนี้เป็นพืชล้มลุก พบเจริญเฉพาะในช่วงฤดูฝนเท่านั้น ในฤดูแล้งจะทิ้งสปอร์ไว้และจะเจริญขึ้นมาใหม่เมื่อได้รับความชื้นในฤดูฝนปีต่อมา ดังนั้นสปอร์ที่มีผนังหนาเพื่อปรับตัวให้ทนต่อสภาวะแห้งแล้งในช่วงฤดูแล้ง ซึ่งสปอร์ในฮอร์นเวิร์ตส่วนใหญ่มีลักษณะเช่นนี้ ยกเว้น ในสกุล *Dendroceros*, *Megaceros* และ *Nothoceros* ที่สปอร์มีสีเขียวหรือไม่มีสีและผนังบาง เนื่องจากเจริญอยู่ในที่ที่ค่อนข้างชื้น เช่น ก้อนหินริมลำธาร กิ่งไม้และใบไม้ในบริเวณป่าเมฆ และสามารถพบเจริญตลอดทั้งปี

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสปอร์ในฮอร์นเวิร์ต *Notothylas* มีความแตกต่างกันหลายลักษณะ เช่น สี ลวดลายของผนังสปอร์ ลักษณะผิวสปอร์ทั้งด้านใกล้แกนและด้านไกลแกน โดยในการศึกษาครั้งได้เลือกลักษณะสีของสปอร์มาใช้ในการแบ่งกลุ่มฮอร์นเวิร์ตได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

1. สปอร์สีเหลืองถึงสีน้ำตาลแกมเหลือง พบในชนิด *N. frahmii*, *N. irregularis*, *N. javanica*, *N. orbicularis* และ *N. yunnanensis*

2. สปอร์สีน้ำตาลเข้มถึงสีดำ พบในชนิด *N. levieri* และ *N. pandei*

จากผลการศึกษา พบว่าส่วนใหญ่สปอร์ที่มีสีเหลืองถึงสีน้ำตาลแกมเหลืองจะมีขนาดใหญ่กว่าสปอร์ที่มีสีน้ำตาลเข้มถึงสีดำ โดยเฉพาะในชนิด *N. javanica* และ *N. orbicularis* สปอร์จะมีขนาดค่อนข้างใหญ่กว่าชนิดอื่น ทั้งนี้อาจเป็นเพราะฮอร์นเวิร์ตทั้งสองชนิดนี้เจริญอยู่บนดินที่มีแร่ธาตุค่อนข้างอุดมสมบูรณ์มากกว่าชนิดอื่น ทำให้สปอร์ได้รับสารอาหารมากกว่าจึงมีขนาดใหญ่กว่า นอกจากนี้ยังพบว่าสปอร์ที่มีสีเหลืองถึงสีน้ำตาลแกมเหลืองจะมีลวดลายของผนังสปอร์คล้ายหนอน ผิวสปอร์ด้านใกล้แกนมีทั้งเรียบและมีรูตรงกลางในแต่ละด้าน ผิวสปอร์

ด้านไกลแกนส่วนใหญ่โค้งมน ยกเว้น *N. frahmii* ที่มีโหนกหรือปุ่มขนาดใหญ่ตรงกลาง ในขณะที่สปอร์ที่มีสีน้ำตาลเข้มถึงสีดำจะมีลวดลายของผนังสปอร์ทั้งคล้ายหนอนหรือเป็นปุ่มกลมเล็กๆ และเป็นปุ่มหนาม ผิวสปอร์ด้านใกล้แกนไม่เรียบ มักมีรูตรงกลางหรือมีปุ่มขนาดเล็กๆ กระจายอย่างไม่เป็นระเบียบ ผิวสปอร์ด้านไกลแกนมีโหนกหรือปุ่มขนาดใหญ่ตรงกลาง (ตารางที่ 5.3)

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าสปอร์ของ *N. irregularis* และ *N. orbicularis* มีความแปรผันของสีตั้งแต่สีเหลืองอ่อนจนถึงสีน้ำตาลแกมเหลือง ลักษณะสีของสปอร์ในฮอร์นเวิร์ตชนิดเดียวกันสามารถแปรผันตามอายุของสปอร์ สปอร์ที่เจริญเต็มที่มักมีสีเข้มกว่าสปอร์ที่ยังไม่พัฒนาเต็มที่ ลักษณะของสีสามารถพบได้ในฮอร์นเวิร์ตชนิดอื่นๆ อีก เช่น *Notothylas indica* Kashyap (Stieperaere & Matcham, 2007) และ *Phymatoceros bulbiculosus* (Brot.) Stotler, W.T. Doyle & Crand.-Stot. (Crandall-Stotler *et al.*, 2006) มีรายงานว่าสปอร์ที่พบบริเวณส่วนปลายของอับสปอร์มีสีเข้มกว่าสปอร์ที่พบบริเวณที่ถัดลงมา

นอกจากนี้จากการศึกษาสปอร์จากตัวอย่างต้นแบบของ *N. indica* เป็นฮอร์นเวิร์ตชนิดที่พบเฉพาะในประเทศอินเดีย เปรียบเทียบกับสปอร์ของ *N. orbicularis* เป็นชนิดที่พบกระจายพันธุ์กว้างทั่วโลก พบว่าสปอร์ของฮอร์นเวิร์ตทั้งสองชนิดมีลักษณะเหมือนกันมาก และอาจจะเป็นชนิดเดียวกัน อย่างไรก็ตามการตรวจสอบสถานะภาพของฮอร์นเวิร์ตทั้งสองชนิดนี้จำเป็นต้องศึกษาลักษณะโครงสร้างอื่นๆ เพิ่มเติม เช่น ลักษณะของแกมีโตไฟต์ และข้อมูลทางชีวโมเลกุล

ฟุต

จากผลการศึกษาลักษณะของฟุตของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ทั้ง 7 ชนิด พบว่าฟุตเป็นรูปทรงกลม ส่วนใหญ่ฟุตมีขนาดใหญ่ (เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยมากกว่า 200 ไมโครเมตร) ยกเว้น *N. levieri* และ *N. pandei* ฟุตจะมีขนาดเล็ก (ตารางที่ 5.2) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะฮอร์น-เวิร์ตกลุ่มที่มีฟุตขนาดใหญ่พบเจริญบนดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ของแร่ธาตุมากกว่าจึงทำให้ได้รับธาตุอาหารมากกว่ากลุ่มที่มีฟุตขนาดเล็ก

ฟุตในฮอร์นเวิร์ตแต่ละชนิด ประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 2 บริเวณ คือ บริเวณพลาเซนทา และบริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน โดยเซลล์ทั้งสองบริเวณมีรูปร่างเหมือนกันคือเซลล์กลมหรือค่อนข้างกลม แต่เซลล์บริเวณพลาเซนทาเรียงตัวกันหนาแน่นมากกว่าเซลล์บริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน ส่วนใหญ่เซลล์บริเวณพลาเซนทาจะมีขนาดเล็กกว่าเซลล์บริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานชัดเจน ยกเว้น *N. levieri* และ *N. pandei* เซลล์บริเวณพลาเซนทาจะมีขนาดใกล้เคียงหรือเล็กกว่าเซลล์บริเวณที่ต่อจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานไม่มากนัก ซึ่งฮอร์นเวิร์ตทั้งสองชนิดนี้มีขนาดเล็กกว่าชนิดอื่น และเป็นชนิดที่พบเจริญบนก้อนหินที่มีแร่ธาตุน้อย ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าขนาดของเซลล์ฟุตทั้งสองบริเวณอาจเกี่ยวข้องกับปริมาณแร่ธาตุที่ฟุตได้รับจากแกมีโตไฟต์

5.3 ลักษณะสัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์กับการจัดจำแนก

รูปร่างและลวดลายของสปอร์เป็นลักษณะที่สำคัญในการจัดกลุ่มและระบุชนิดของฮอร์น-เวิร์ต เนื่องจากเป็นโครงสร้างที่ยังสามารถศึกษาได้จากตัวอย่างแห้ง ในทางตรงกันข้าม โครงสร้างแกมีโตไฟต์ไม่สามารถศึกษารายละเอียดได้จากตัวอย่างแห้ง Asthana และ Srivastava (1991) จำแนกฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* เป็น 2 สกุลย่อย คือ สกุลย่อย *Notothylas* และ *Notothyloides* โดยใช้ลักษณะของแกนกลาง และจำนวนแถวของเซลล์พิเศษตามแนวแตก โดยสกุลย่อย *Notothylas* ไม่มีแกนกลางและมีเซลล์พิเศษตามแนวแตกของอับ-สปอร์มากกว่า 4 แถว ส่วนสกุลย่อย *Notothyloides* อับสปอร์มีแกนกลางและเซลล์พิเศษตามแนวแตกมี 2-3 แถว อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้พบว่า *N. javanica* และ *N. yunnanensis* ไม่สามารถจัดอยู่ในสกุลย่อยใดได้เนื่องจากอับสปอร์ไม่มีเซลล์พิเศษตามแนวแตกแต่มีแกนกลาง ต่อมา Schuster (1992) ใช้ลวดลายของสปอร์แบ่งฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* เป็นหมู่ (section) ต่างๆ เช่น กลุ่มที่ผนังสปอร์ด้านใกล้แกนมีรูตรงกลางแต่ละด้านจัดอยู่ในหมู่ Depressisporae การจัดจำแนกของ Schuster ในครั้งนี้ใช้เพียงลักษณะสปอร์เพียงอย่างเดียว โดยไม่สนใจโครงสร้างอื่นๆ จะเห็นได้ว่าลักษณะที่ใช้ในการจัดจำแนกฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ในอดีตไม่ครอบคลุมลักษณะของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ที่พบในปัจจุบันได้ ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาการจัดกลุ่มฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ในระดับต่ำกว่าสกุลเพิ่มเติม

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์อย่างละเอียดของโครงสร้างแกมีโตไฟต์และสปอโรไฟต์ของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ทั้ง 7 ชนิด พบว่ามีลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ที่สามารถนำมาใช้ในการจัดกลุ่มฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ในประเทศไทยมีทั้งหมด 14 ลักษณะ ได้แก่

1. การมีการสร้างหัวสะสมอาหารทางด้านล่างหรือขอบของทัลลัส
   ก) มี ข) ไม่มี
2. การมีเซลล์พิเศษตามแนวแตกบนผนังอับสปอร์ชั้นนอก
   ก) มี ข) ไม่มี
3. จำนวนเซลล์พิเศษตามแนวแตก
   ก) 2-3 แถว ข) 4-8 แถว
4. ความหนาของผนังเซลล์พิเศษตามแนวแตก
   ก) หนาน้อยกว่าเซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นนอก ข) หนามากกว่าเซลล์ผนังอับสปอร์ชั้นนอก
5. สีและลวดลายของผนังอับสปอร์ชั้นใน
   ก) ไม่มีสีและลวดลาย ข) มีลวดลายเป็นแถบสีน้ำตาลไม่เป็นระเบียบ

6. การมีแกนกลางภายในอับสปอร์

ก) มี ข) ไม่มี

7. สีของแกนกลาง

ก) ไม่มีสี ข) สีน้ำตาลอ่อนถึงเข้ม

8. ลวดลายของแกนกลาง

ก) ไม่มีลวดลาย ข) ลวดลายเป็นแถบสีน้ำตาลไม่เป็นระเบียบ

9. สีของซูโดอีเลเตอร์

ก) ไม่มีสี ข) สีน้ำตาลอ่อนถึงเข้ม

10. ลวดลายของซูโดอีเลเตอร์

ก) ไม่มีลวดลาย ข) ลวดลายเป็นแถบสีน้ำตาลไม่เป็นระเบียบ

11. สีของสปอร์

ก) สีเหลืองถึงสีน้ำตาลแกมเหลือง ข) สีน้ำตาลเข้มถึงสีดำ

12. ลวดลายของสปอร์

ก) ลวดลายคล้ายหนอน/เป็นปุ่มกลมเล็กๆ ข) ลวดลายเป็นปุ่มหนาม

13. การมีรูตรงกลางในแต่ละด้านบนสปอร์ด้านใกล้แกน

ก) มี ข) ไม่มี

14. การมีโหนกหรือปุ่มขนาดใหญ่บนสปอร์ด้านไกลแกน

ก) มี ข) ไม่มี

จากลักษณะที่นำมาใช้ในการจัดกลุ่มฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ในประเทศไทยข้างต้น พบว่าส่วนใหญ่เป็นลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสปอโรไฟต์ ได้แก่ ผนังอับสปอร์ แกนกลาง ซูโดอีเลเตอร์ และสปอร์ ส่วนลักษณะทางกายวิภาคของสปอโรไฟต์พบส่วนใหญ่ไม่มีความแตกต่างกัน เช่น จำนวนชั้นเซลล์ผิวและชั้นเอสสิมิเลทีฟ หรืออาจมีความแตกต่างกันแต่ไม่คงที่ เช่น จำนวนสปอร์และซูโดอีเลเตอร์ในแต่ละอับสปอร์ สำหรับลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคของแกมีโตไฟต์พบส่วนใหญ่ไม่มีความแตกต่างกัน เช่น ลักษณะรูปร่างของแอนเทอริเดียมและอินโวลูเคอ หรืออาจมีความแตกต่างกันแต่ไม่คงที่ เช่น ลักษณะรูปร่างของทัลลัส และลักษณะของไรซอยด์ ทั้งนี้ลักษณะดังกล่าวอาจขึ้นอยู่กับปัจจัยทางกายภาพของถิ่นอาศัย เช่น ความเข้มแสง ปริมาณความชื้นและธาตุอาหาร หรืออาจขึ้นอยู่กับระยะการเจริญของฮอร์นเวิร์ต

รูปวิธานจำแนกชนิดของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ในประเทศ

1. ผนังอับสปอร์ชั้นนอกไม่มีเซลล์พิเศษตามแนวแตก ..... 2.
   2. เซลล์ผิวของผนังอับสปอร์มีผนังเซลล์หนา สปอร์ด้านใกล้แกนไม่มีรูตรงกลางในแต่ละด้าน ..... *N. javanica*
   2. เซลล์ผิวของผนังอับสปอร์มีผนังเซลล์บาง สปอร์ด้านใกล้แกนมีรูตรงกลางในแต่ละด้าน ..... *N. yunnanensis*
1. ผนังอับสปอร์ชั้นนอกมีเซลล์พิเศษตามแนวแตก ..... 3.
   3. ผนังอับสปอร์ชั้นนอกมีเซลล์พิเศษตามแนวแตกมากกว่า 4 แถว อับสปอร์ไม่มีแกนกลาง .. .. *N. levieri*
   3. ผนังอับสปอร์ชั้นนอกมีเซลล์พิเศษตามแนวแตก 2-3 แถว อับสปอร์มีแกนกลาง .... 4.
      4. เซลล์ผิวอับสปอร์ผนังเซลล์หนามากกว่า 10 ไมโครเมตร ช่องว่างภายในเซลล์แคบ พบแกนกลางและซูโดอีเลเตอร์จนถึงระยะกระจายสปอร์ ..... 5.
         5. ทัลลัสสร้างหัวสะสมอาหาร ซูโดอีเลเตอร์ไม่มีลวดลาย สปอร์ด้านใกล้แกนมีรู ด้านไกลแกนมีปุ่มตรงกลาง ..... *N. pandei*
         5. ทัลลัสไม่สร้างหัวสะสมอาหาร ซูโดอีเลเตอร์มีลวดลาย สปอร์ด้านใกล้แกนไม่มีรู ด้านไกลแกนไม่มีปุ่มตรงกลาง ..... *N. orbicularis*
      4. เซลล์ผิวอับสปอร์ผนังผนังเซลล์หนาประมาณ 5 ไมโครเมตร ช่องว่างภายในเซลล์กว้าง แกนกลางและซูโดอีเลเตอร์สลายไปก่อนถึงระยะกระจายสปอร์ ..... 6.
         6. สปอร์ด้านไกลแกนมีโหนกหรือปุ่มขนาดใหญ่ ..... *N. frahmii*
         6. สปอร์ด้านไกลแกนไม่มีโหนกหรือปุ่มขนาดใหญ่ ..... *N. irregularis*

ตารางที่ 5.1 เปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ของแกมีโตไฟต์ของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ทั้ง 7 ชนิด

ชนิดของฮอร์นเวิร์ต	ถิ่นที่อยู่	ทัลลัส		อินโวลูเคอ		ขนาดแอนเทอริเดียม (μm)	ก้านชูแอนเทอริเดียม	
		ลักษณะรูปร่าง	หนา (เซลล์)	ยาว (mm)	ลักษณะการเจริญ		ยาว (μm)	จำนวนเซลล์ (แถว)
N. frahmii	S^+	รูปร่างคล้ายพัด, หยักเว้าลึกและค่อนข้างแคบ ไม่เป็นระเบียบ	5-7	1.73±0.50	ทอดนอน/ยกตัวขึ้นจากทัลลัสเล็กน้อย	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
N. irregularis	S^+	รูปร่างคล้ายพัด, หยักเว้าลึกและค่อนข้างแคบ ไม่เป็นระเบียบ	5-6	1.86±0.66	ทอดนอน/ยกตัวขึ้นจากทัลลัสเล็กน้อย	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
N. javanica	S^+	รูปร่างกลม/เกือบกลม, หยักเว้าตื้นและกว้าง ค่อนข้างเป็นระเบียบ	5-8	1.79±0.47	ทอดนอน/ยกตัวขึ้นจากทัลลัสเล็กน้อย	113.9±13.6	19.2±4.3	4-8
N. levieri	S	รูปร่างคล้ายพัด, หยักเว้าลึกและค่อนข้างแคบ ไม่เป็นระเบียบ	3-4	1.55±0.38	ทอดนอน/ยกตัวขึ้นจากทัลลัสเล็กน้อย	73.7±9.6	20.2±2.7	8-12
N. orbicularis	S^+	รูปร่างกลม/เกือบกลม, หยักเว้าตื้นและกว้าง ค่อนข้างเป็นระเบียบ	5-8	2.04±0.86	ยกตัวขึ้นจากทัลลัสค่อนข้างมาก	108.6±14.5	27.9±6.2	8-12
N. pandei	S	รูปขอบขนาน/ รูปหัวใจกลับ, หยักเว้าลึกและแคบ ไม่เป็นระเบียบ	3-4(-5)	2.67±1.10	ยกตัวขึ้นจากทัลลัสมาก (เกือบตั้งตรง)	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
N. yunnanensis	S^+	รูปร่างคล้ายพัด, หยักเว้าลึกและค่อนข้างแคบ ไม่เป็นระเบียบ	5-8	1.79±0.48	ทอดนอน/ยกตัวขึ้นจากทัลลัสเล็กน้อย	73.4±10.3	24.1±4.7	8-12

หมายเหตุ S^+ คือ เจริญอยู่บนดินที่มีความชื้นปานกลางและมีแสงแดดส่องถึง บริเวณพื้นที่โล่งและมักถูกรบกวนโดยกิจกรรมของมนุษย์

S คือ เจริญอยู่บนดินหรือก้อนหินที่มีความชื้นมากและมีแสงแดดรำไร บริเวณพื้นที่ร่มและไม่ค่อยถูกรบกวนโดยกิจกรรมของมนุษย์

ตารางที่ 5.2 เปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ของสปอโรไฟต์ของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ทั้ง 7 ชนิด

ชนิดของฮอร์นเวิร์ต	สปอโรไฟต์		ผนังอับสปอร์ชั้นนอก			ผนังอับสปอร์ชั้นใน	แกนกลาง			ซูโดอีเลเตอร์	
	อับสปอร์ยาว (mm)	ขนาดฟุต (µm)	เซลล์พิเศษตามแนวแตก		เซลล์ผิว	ลักษณะเซลล์ (สี, ลวดลาย)	ยาว (mm)	ลักษณะเซลล์ (สี, ลวดลาย)	ระยะที่พบ	ลักษณะเซลล์ (สี, ลวดลาย)	ระยะที่พบ
			จำนวน (แถว)	ผนังเซลล์หนา (µm)	ผนังเซลล์หนา (µm)						
N. frahmii	1.55±0.35	277.7±67.8	2-3	7.4±2.6	4.9±1.0	ไม่มีข้อมูล	0.71±0.33	ไม่มีสีและลวดลาย	UM	ไม่มีสีและลวดลาย	UM
N. irregularis	1.81±0.43	223.4±31.2	2-3	13.9±4.0	7.4±1.7	ไม่มีสีและลวดลาย	0.67±0.21	ไม่มีสีและลวดลาย	UM	ไม่มีสีและลวดลาย	UM
N. javanica	1.88±0.30	233.1±28.6	ไม่มี	-	8.2±1.3	ไม่มีสีและลวดลาย	0.82±0.17	ไม่มีสีและลวดลาย	UM	ไม่มีสีและลวดลาย	UM
N. levieri	1.53±0.23	151.9±19.5	4-8	9.3±2.1	17.8±3.2	สีน้ำตาลอ่อน-เข้ม, เป็นแถบสีน้ำตาลชัดเจน	N	N	N	ไม่มีสี/สีน้ำตาลอ่อน, เป็นแถบสีน้ำตาลไม่เป็นระเบียบ	M
N. orbicularis	2.00±0.70	249.6±48.7	2-3	10.3±1.6	12.7±1.8	ไม่มีสีและลวดลาย	1.57±0.73	ไม่มีสี/สีน้ำตาลอ่อน, เป็นแถบสีน้ำตาลไม่เป็นระเบียบ	M	ไม่มีสี/สีน้ำตาลอ่อน, เป็นแถบสีน้ำตาลไม่เป็นระเบียบ	M
N. pandei	2.56±0.87	177.0±16.9	2-3	10.0±2.1	13.3±2.5	สีน้ำตาลอ่อน-เข้ม, เป็นแถบสีน้ำตาลไม่ชัดเจน	1.74±0.96	สีน้ำตาลอ่อน-เข้ม, ไม่มีลวดลาย	M	สีน้ำตาลอ่อน-เข้ม, ไม่มีลวดลาย	M
N. yunnanensis	1.74±0.30	235.6±60.3	ไม่มี	-	7.7±1.2	ไม่มีสีและลวดลาย	0.77±0.21	ไม่มีสีและลวดลาย	UM	ไม่มีสีและลวดลาย	UM

หมายเหตุ N = ไม่พบแกนกลาง; M = พบแกนกลางตลอดจนถึงระยะกระจายสปอร์; UM = พบแกนกลางเฉพาะในระยะสปอโรไฟต์เจริญไม่เต็มที่

ตารางที่ 5.3 เปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสปอร์ของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ทั้ง 7 ชนิด

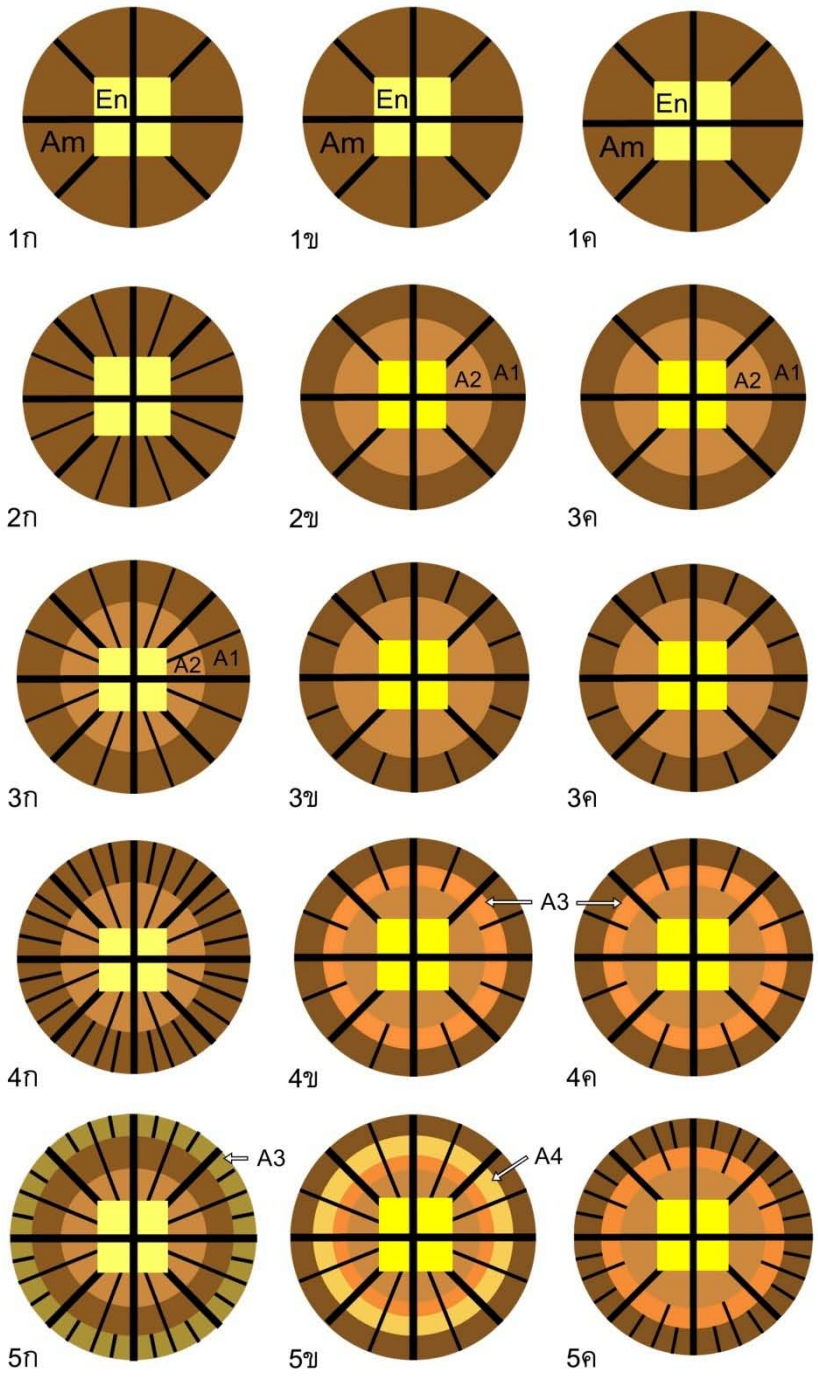
ชนิดของฮอร์นเวิร์ต	สปอร์					
	สี	ความยาวของแกนระหว่างขั้ว (μm)	ความยาวของแกนตามแนวศูนย์สูตร (μm)	ด้านใกล้แกน	ด้านไกลแกน	ลวดลายของผนังสปอร์
N. frahmii	สีเหลือง-สีน้ำตาลแกมเหลือง	30.4±2.4	34.3±1.5	มีรูตรงกลางในแต่ละด้าน	ตรงกลางมีโหนก/ปุ่ม 1 อัน	ลวดลายคล้ายหนอน
N. irregularis	สีเหลือง-สีน้ำตาลแกมเหลือง	32.2±2.1	34.2±1.5	มีรูตรงกลางในแต่ละด้าน	ตรงกลางโค้งมน	ลวดลายคล้ายหนอน
N. javanica	สีเหลือง-สีน้ำตาลแกมเหลือง	36.3±2.3	43.5±1.7	เรียบ	ตรงกลางโค้งมน	ลวดลายคล้ายหนอน
N. levieri	สีน้ำตาลเข้ม-สีดำ	29.6±2.2	31.3±2.0	มีปุ่มขนาดเล็กกระจายไม่เป็นระเบียบ	ตรงกลางมีโหนก/ปุ่ม 1-2 (-3) อัน	ลวดลายเป็นปุ่มหนาม
N. orbicularis	สีเหลือง-สีน้ำตาลแกมเหลือง	32.7±3.2	40.2±3.0	เรียบ	ตรงกลางโค้งมน	ลวดลายคล้ายหนอน
N. pandei	สีน้ำตาลเข้ม-สีดำ	28.2±2.6	31.1±2.4	มีรูตรงกลางในแต่ละด้าน	ตรงกลางมีโหนก/ปุ่ม 1-3 (-4) อัน	ลวดลายคล้ายหนอน/ปุ่มกลมเล็กๆ
N. yunnanensis	สีเหลือง-สีน้ำตาลแกมเหลือง	30.2±1.3	32.9±1.5	มีรูตรงกลางในแต่ละด้าน	ตรงกลางโค้งมน	ลวดลายคล้ายหนอน

5.4 รูปแบบการเจริญและพัฒนาของสปอโรไฟต์

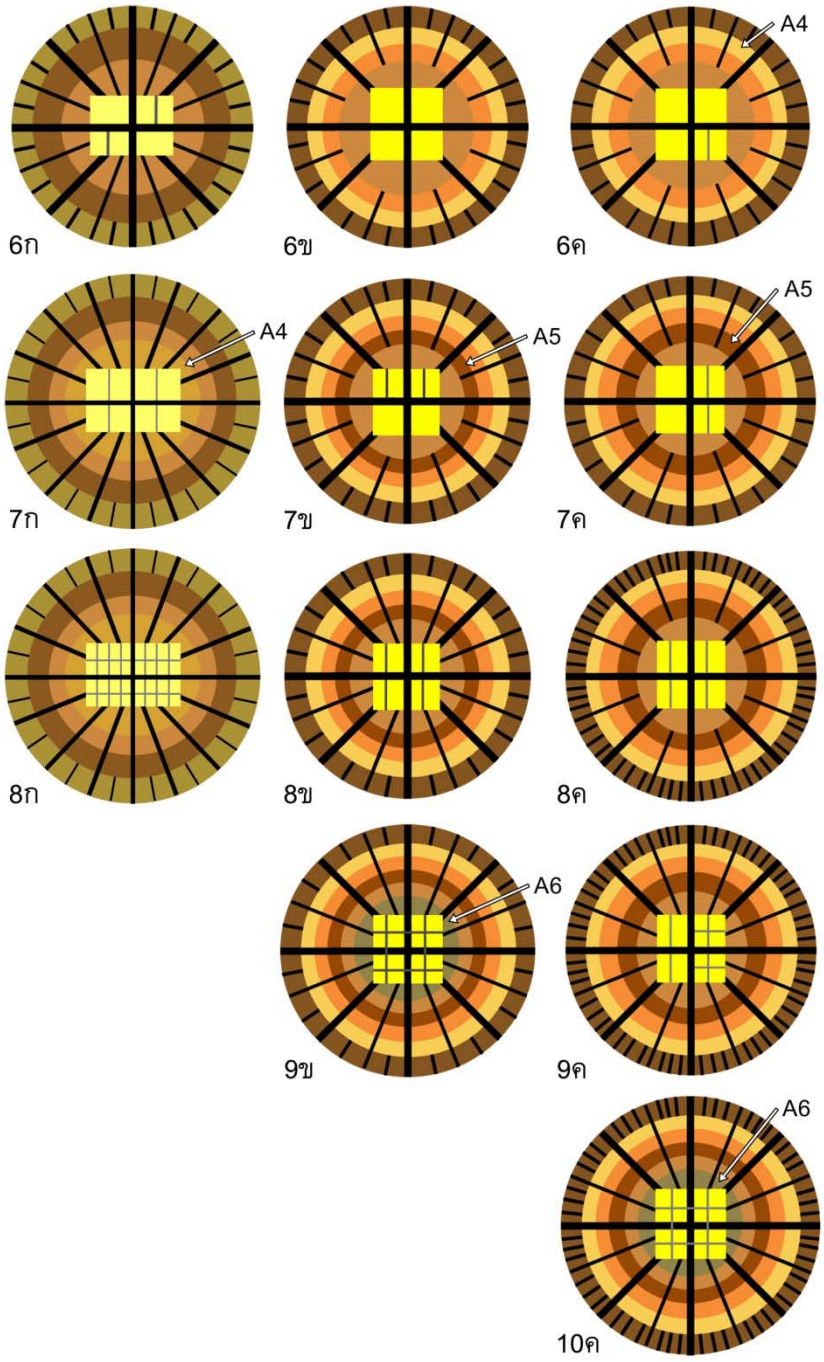
จากผลการศึกษารูปแบบการเจริญและพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานของฮอร์น-เวิร์ต 3 ชนิด คือ *N. levieri*, *N. frahmii* และ *N. orbicularis* สามารถสรุปเป็นไดอะแกรมได้ดังภาพที่ 5.1 แต่เนื่องจากรูปแบบการเจริญและพัฒนา และจำนวนเซลล์ของเนื้อเยื่อเอนโดทีเซียมจากภาพที่ 4.22-4.24 ไม่ชัดเจน ทำให้ไดอะแกรมที่แสดงรูปแบบการเจริญและพัฒนา และจำนวนเซลล์ของเนื้อเยื่อเอนโดทีเซียมในแต่ละระยะจึงอาจให้ผลที่คลาดเคลื่อนจากความเป็นจริงได้ แต่ไดอะแกรมแสดงจำนวนเซลล์ของเนื้อเยื่อเอนโดทีเซียมในระยะสุดท้ายของการเจริญและพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานใน *N. frahmii* และ *N. orbicularis* มาจากจำนวนเซลล์แกนกลางในระยะที่สปอโรไฟต์พัฒนาเต็มที่แล้ว

จากภาพที่ 5.1 พบว่าฮอร์นเวิร์ตทั้ง 3 ชนิดมีรูปแบบการเจริญและพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานในระยะที่ 1 เหมือนกันคือ ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียม 8 เซลล์ และเนื้อเยื่อเอนโดทีเซียม 4 เซลล์ (ภาพที่ 5.1: 1ก, 2ก และ 3ก) หลังจากระยะที่ 1 แล้วพบว่า *N. levieri* มีรูปแบบการเจริญและพัฒนาของเนื้อเยื่อต่างจากอีกสองชนิด แต่ใน *N. frahmii* และ *N. orbicularis* ยังคงมีรูปแบบการเจริญและพัฒนาของเนื้อเยื่อเหมือนกันไปจนถึงระยะที่ 4 โดยเป็นระยะที่เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมมีการแบ่งเซลล์ให้เนื้อเยื่อ 3 ชั้น และเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมชั้นนอกมีการแบ่งเซลล์แบบตั้งฉากกับเซลล์ผิวเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ (ภาพที่ 5.1: 2ก-ง และ 3ก-ง) นอกจากนี้ยังพบว่าหลังจากสิ้นสุดการเจริญและพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐาน ฮอร์น-เวิร์ตทั้ง 2 ชนิดมีจำนวนชั้นของเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมและเนื้อเยื่อเอนโดทีเซียมเท่ากัน คือ เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมที่เป็นอาร์คีสปอร์เรียม 2 ชั้น เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมที่เป็นเซลล์ต้นกำเนิดผนังอับสปอร์ 4 ชั้น และเนื้อเยื่อเอนโดทีเซียมที่จะพัฒนาเป็นแกนกลาง 16 เซลล์ (ภาพที่ 5.1: 2ญ และ 3ฎ) แต่ถึงอย่างไรก็ตามรูปแบบการเจริญและพัฒนา และจำนวนเซลล์ของเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมที่เป็นเซลล์ต้นกำเนิดผนังอับสปอร์ของฮอร์นเวิร์ตทั้ง 2 ชนิดนี้แตกต่างกัน จึงอาจกล่าวได้ว่าฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* ทั้ง 3 ชนิดที่ได้ศึกษาในครั้งนี้มีรูปแบบการเจริญและพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานแตกต่างกัน โดยเฉพาะใน *N. levieri* ที่มีจำนวนชั้นของเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมน้อยกว่าชนิดที่พบแกนกลาง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะ *N. levieri* ไม่พบแกนกลางภายในอับสปอร์ จึงทำให้เนื้อเยื่อเอนโดทีเซียมเปลี่ยนมาทำหน้าที่เป็นอาร์คีสปอร์-เรียมแทนเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียม เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมใน *N. levieri* จึงทำหน้าที่เป็นเซลล์ต้นกำเนิดผนังอับสปอร์เท่านั้น ผลการศึกษาในครั้งนี้จึงช่วยยืนยันผลการศึกษาของ Pande (1934) ที่ได้ศึกษาการเจริญและพัฒนาของเนื้อเยื่อเอนโดทีเซียมและเอมฟิทีเซียมในเอมบริโอ ส่วนใน *N. frahmii* และ *N. orbicularis* พบแกนกลางภายในอับสปอร์เหมือนกัน แต่พบได้ในระยะที่ต่างกัน จึงทำให้ฮอร์นเวิร์ตทั้ง 2 ชนิดมีรูปแบบการเจริญและพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานคล้ายกันมากกว่า

เมื่อเปรียบเทียบรูปแบบการเจริญและพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานใน *N. orbicularis* ในการศึกษาครั้งนี้กับการศึกษาของ Long (2006) พบว่ามีรูปแบบการเจริญและพัฒนาของเนื้อเยื่อเหมือนกัน 2 ระยะ คือ ระยะที่ 1 และ 2 และถึงแม้ว่าลักษณะของเนื้อเยื่อเจริญบริเวณฐานในระยะสิ้นสุดจะประกอบด้วยเนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมจำนวน 6 ชั้นเหมือนกัน แต่จำนวนเซลล์ในชั้นนอกสุดของชั้นที่จะพัฒนาไปเป็นเอสสิมิเลทีฟในการศึกษาของ Long มีจำนวนต่างจากการศึกษาในครั้งนี้ อาจเนื่องมาจากความสมบูรณ์ของตัวอย่างที่ศึกษาต่างกัน และ Long ใช้ความหนาในการตัดเนื้อเยื่อน้อยกว่าในการศึกษาครั้งนี้ อาจทำให้เห็นระยะการพัฒนาของเนื้อเยื่อชัดเจนมากกว่า



ภาพที่ 5.1 ไดอะแกรมแสดงรูปแบบการเจริญและพัฒนาของสปอโรไฟต์ในระยะต่าง ๆ ในฮอร์น-เวิร์ต 3 ชนิด: 1-5ก) *Notothylas levieri* Schiffin. ex Steph.; 1-5ข) *Notothylas frahmii* Chantanaorr.; 1-5ค) *Notothylas orbicularis* (Schwein.) Sull. ex A. Gray (Am = เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียม, En = เนื้อเยื่อเอนโดทีเซียม, A1 = เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมชั้นที่ 1, A2 = เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมชั้นที่ 2, A3 = เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมชั้นที่ 3, A4 = เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมชั้นที่ 4)



ภาพที่ 5.1 ไดอะแกรมแสดงรูปแบบการเจริญและพัฒนาของสปอโรไฟต์ในระยะต่างๆ ในฮอร์น-เวิร์ต 3 ชนิด (ต่อ): 6-8ก) *Notothylas levieri* Schiffin. ex Steph.; 6-9ข) *Notothylas frahmii* Chantanaorr.; 6-10ค) *Notothylas orbicularis* (Schwein.) Sull. ex A. Gray (A5 = เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมชั้นที่ 5, A6 = เนื้อเยื่อเอมฟิทีเซียมชั้นที่ 6)

5.5 ข้อเสนอแนะ

1. จากผลการศึกษาในครั้งนี้พบบางลักษณะที่อาจเกี่ยวข้องกับถิ่นอาศัยและปัจจัยทางกายภาพ เช่น ลักษณะของทัลลัส ลักษณะของฟุต ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้ศึกษาเปรียบเทียบลักษณะในแต่ละชนิดที่มีถิ่นอาศัยต่างกัน ดังนั้นจึงควรศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์
2. จากผลการศึกษาในครั้งนี้พบบางลักษณะของแกมีโตไฟต์ที่อาจเกี่ยวข้องกับระยะการเจริญของฮอร์นเวิร์ต เช่น ลักษณะของคลอโรพลาสต์ ลักษณะของไรซอยด์ ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้ศึกษาเปรียบเทียบลักษณะตามระยะการเจริญ ดังนั้นจึงควรศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์
3. จากผลการศึกษาในครั้งนี้ไม่พบโครงสร้างอาร์คีโกเนียม ทั้งนี้อาจเป็นเพราะตัวอย่างที่เก็บมาอยู่ในช่วงที่ฝนทิ้งช่วงนานจึงทำให้แกมีโตไฟต์ยังไม่ได้สร้างอาร์คีโกเนียม
4. ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าผลการศึกษาลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์จากสไลด์ถาวรไม่ค่อยสมบูรณ์เท่าที่ควร ทั้งนี้อาจเป็นเพราะตัวอย่างฮอร์นเวิร์ตสกุลนี้มีขนาดเล็กและบอบบางทำให้เป็นอุปสรรคในขั้นตอนการทำสไลด์ถาวร

เอกสารอ้างอิง

ละม้าย ทองบุญ. 2552. เทคนิคพื้นฐานทางเนื้อเยื่อพืช. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

สหัช จันทนาอรพินท์. 2555. เอกสารประกอบการสอนรายวิชา 330-538 ไบรโอโลยี (Bryology). ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Asthana, A.K. and Srivastava, S.C. 1991. Indian Hornworts (A Taxonomic Study). *Bryophytorum bibliotheca* 42: 1-158.

Asthana, G. 2006. *Diversity of Microbes and Cryptogams Bryophyta*. Department of Botany, University of Lucknow. India.

Burr, F.A. 1970. Phylogenetic Transitions in the Chloroplasts of the Anthocerotales I. The Number and Ultrastructure of the Mature Plastids. *American Journal of Botany* 57(1): 97-110.

Chantanaorrapint, S. 2014a. *Notothylas irregularis* (Notothyladaceae, Anthocerotophyta), a new species of hornwort from northern Thailand. *Acta Botanica Hungarica* 56: 267-272.

Chantanaorrapint, S. 2014b. Taxonomic Studies on Thai Anthocerotophyta I. The Genera *Dendroceros* and *Megaceros* (Dendrocerotaceae). *Taiwania* 59(4): 340-347.

Chantanaorrapint, S. 2015. Taxonomic studies on Thai Anthocerotophyta II. The genus *Notothylas* (Notothyladaceae). *Cryptogamie, Bryologie* 36(3): 251-266.

Crandall-Stotler, B.J., Stotler, R.E. and Doyle, W.T. 2006. On *Anthoceros phymatodes* M. Howe and the hornwort genus *Phymatoceros* Stotler, W.T. Doyle and Crand.-Stotl. (Anthocerotophyta). *Cryptogamie, Bryologie* 27: 59-73.

Frey, W. and Stech, M. 2005. A morpho-molecular classification of the Anthocerotophyta (hornworts). *Nova Hedwigia* 80: 541-545.

Hasegawa, J. 1979. Taxonomical studies on Asian Anthocerotae (1). *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica* 30: 15–30.

Hasegawa, J. 1994. New classification of Anthocerotae. *Journal of the Hattori Botanical Laboratory* 76: 21-34.

Lai, M.J., Zhu, R.L. and Chantanaorrapint, S. 2008. Liverworts and hornwort of Thailand: an updated checklist and bryofloristic accounts. *Annales Botanici Fennici* 45: 321-341.

Long, J.A. 2006. Ultrastructure and cytochemistry of sporogenesis in two bryophytes, *Notothylas* and *Takakia*. M.Sc. dissertation, Faculty of Science, Southern Illinois University Carbondale.

Pande, S.K. 1934. On the morphology of *Notothylas levieri* Schiffn. MS. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences.* 1: 205-218.

Peng, T. and Zhu, R.L. 2013. A revision of the genus *Anthoceros* (Anthocerotaceae, Anthocerotophyta) in China. *Phytotaxa* 100: 21–35.

Peng, T. and Zhu, R.L. 2014. A revision of the genus *Notothylas* (Notothyladaceae, Anthocerotophyta) in China. *Phytotaxa* 156: 156-164.

Pires, N.D. and Dolan, L. 2012. Morphological evolution in land plants: New designs with old genes. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 367(1588): 508-518.

Proskauer, J. 1951. Studies on Anthocerotales. III. *Bulletin of the Torrey Botanical. Club* 78: 331-349.

Qiu, Y.L., Li, L.B., Wang, B., Chen, Z., Knoop, V., Groth-Malonek, M., Dombrovska, O., Lee, J., Kent, L., Rest, J., Estabrook, G.F., Hendry, T.A., Taylor, D.W., Testa, C.M., Ambros, M., Crandall-Stotler, B., Duff, R.J., Stech, M., Frey, W., Quandt, D. and Davis, C.C. 2006. The deepest divergences in land plants inferred from phylogenetic evidence*. Proceedings of the National Academy of Sciences* 103: 15511–15516.

Renzaglia, K.S. 1978. A comparative morphology and development anatomy of the Anthocerotophyta. *Journal of the Hattori Botanical Laboratory* 44: 31-90.

Renzaglia, K.S. and Ligrone, R. 1990. The sporophyte-gametophyte junction in the hornwort, *Dendroceros tubercularis* Hatt. (Anthocerotophyta). *New Phytologist* 114: 497-505.

Renzaglia , K.S. and Vaughn, K.C. 2000. Anatomy, development and classification of hornworts. In *Bryophyte Biology*, A. J. Shaw and B. Goffinet (ed.), pp. 1-35, Cambridge University Press. Cambridge.

Renzaglia, K.S., Villarreal, J.C. and Duff, R.J. 2009. New insights into morphology, anatomy, and systematics of hornworts. In *Bryophyte Biology*, A.J. Shaw and B. Goffinet (eds.), pp. 139-171, Cambridge University Press. Cambridge.

Schofield, W.B. 1985. *Introduction to Bryology*. Balckburn Press. New Jersey.

Schuster, R.M. 1984. Morphology, phylogeny, and classification of the Anthocerotae. In *New manual of bryology II*, R. M. Schuster (ed.), pp. 1071-1092. The Hattori Botanical Labolatory, Nichinan, Japan.

Schuster, R.M. 1992. *The Hepaticae and Anthocerotae of North America*. *VI*. Columbia University Press. New York.

Shaw, J. and Renzaglia, K.S. 2004. Phylogeny and diversification of bryophytes. *American Journal of Botany* 91(10): 1557-1581.

Shimamura, M. 2009. Sporophyte anatomy of *Megaceros flagellaris* (Dendrocerotaceae). *Hikobia* 15: 261-269.

Singh, D.K. 2002. *Notothylaceae of India and Nepal (A morpho-taxonomic revision)*. Brshen Singh Mahendra Pal Singh. India.

Stieperaere, H. and Matcham, H.W. 2007. *Notothylas orbicularis* (Schein.) Sull. in D.R. Congo and Uganda, new to Africa and *N. javanica* (Sande Lac.) Gottsche new to D.R. Congo (Anthocerotophyta, Notothyladaceae). *Journal of Bryology* 29:3-6.

Udar, R. and Singh, D.K. 1978. Thickened Bands in the Capsule Wall of *Notothylas levieri*. *The Bryologist* 81(4): 575-577.

Udar, R. and Singh, D.K. 1981. Recent concepts in the taxonomy of the genus *Notothylas*. In *Contemporary Trends in Plant Sciences*, S.C. Verma (ed.), pp. 162-174, Kalyani. New Delhi.

Vashishta, B.R., Sinha, A.K. and Adarsh Kumar. 1963. *Botany for Degree Students Bryophyta 1 st edition*. S. Chand & Company LTD. New Delhi.

Villarreal, J.C. and Renzaglia, K.S. 2006. Sporophyte Structure in the Neotropical Hornwort *Phaeomegaceros fimbriatus*: Implications for Phylogeny, Taxonomy, and Character Evolution. *International Journal of Plant Sciences* 167(3):413-427.

Villarreal, J.C., Cargill, D.C., Hagborg, A., Söderström, L. and Renzaglia, K.S. 2010. A synthesis of hornwort diversity: Patterns, causes and future work. *Phytotaxa* 9: 150-166.

Villarreal, J.C. and Renner, S.S. 2012. Hornwort pyrenoids, carbon-concentrating structures, evolved and were lost at least five times during the last 100 million years. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109: 18873–18878.

ภาคผนวก ก

1. การเตรียมน้ำยาคงสภาพ เอฟ เอ เอ สูตร 1 (Formalin - Acetic acid - Alcohol: FAA I)

ส่วนผสม

50% ethyl alcohol	90 ml
Glacial acetic acid	5 ml
Formalin	5 ml

2. การเตรียมน้ำยาดึงน้ำออกจากเซลล์ 12 ลำดับ

ตารางที่ 1 ส่วนผสมของสารเคมีในน้ำยาดึงน้ำออกจากเซลล์พืช 12 ลำดับ

ลำดับที่	ส่วนผสม	ปริมาณ	ลำดับที่	ส่วนผสม	ปริมาณ
1	water 95% ethyl alcohol t-butyl alcohol	95 ml 5 ml 0 ml	7	water 95% ethyl alcohol t-butyl alcohol	15 ml 50 ml 35 ml
2	water 95% ethyl alcohol t-butyl alcohol	90 ml 10 ml 0 ml	8	water 95% ethyl alcohol t-butyl alcohol	5 ml 40 ml 55 ml
3	water 95% ethyl alcohol t-butyl alcohol	80 ml 20 ml 0 ml	9	water 95% ethyl alcohol t-butyl alcohol	0 ml 25 ml 75 ml
4	water 95% ethyl alcohol t-butyl alcohol	70 ml 30 ml6 0 ml	10	Pure t-butyl alcohol + eosin	100 ml
5	water 95% ethyl alcohol t-butyl alcohol	50 ml 40 ml 10 ml	11	Pure t-butyl alcohol	100 ml
6	water 95% ethyl alcohol t-butyl alcohol	30 ml 50 ml 20 ml	12	t-butyl alcohol paraffin oil (อัตราส่วน 1:1)	50 ml 50 ml

หมายเหตุ : ตัวอย่างพืชที่ผ่านการคงสภาพในน้ำยา เอฟ เอ เอ สูตร 1 เริ่มที่น้ำยาลำดับที่ 5

3. การเตรียมสีย้อมซาฟานีน (safranin)

สารเคมี

Safranin O	2 กรัม
Methyl cellosolve	100 มิลลิลิตร
95% ethyl alcohol	50 มิลลิลิตร
Sodium acetate	2 กรัม
Formalin	4 มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. ใช้กระบอกตวงตวง Methyl cellosolve ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์

2. ชั่งสี Safranin O หนัก 2 กรัม ค่อยๆ ใส่ลงไป คนให้สีละลายเข้ากันดีโดยใช้แท่งแม่เหล็กช่วยคน

3. ใช้กระบอกตวงตวง 95% ethyl alcohol ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เติมลงไปแล้วคนให้เข้ากัน

4. ชั่ง Sodium acetate หนัก 2 กรัม ค่อยๆ ใส่ลงไปในสารละลายข้างต้นและคนจนกระทั่งสารดังกล่าวละลายหมด

5. ใช้ปิเปตต์ดูด Formalin ปริมาตร 4 มิลลิลิตร เทผสมลงไปในสารละลาย คนให้เข้ากันดี

6. ใส่สีที่ได้ในขวดใส่สารสีชา ติดฉลากข้างขวด ปิดฝาให้แน่น และเก็บในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง

4. การเตรียมสีย้อมฟาสต์กรีน (fast green)

สารเคมี

Methyl cellosolve	100 มิลลิลิตร
Absolute ethyl alcohol	100 มิลลิลิตร
Clove oil	100 มิลลิลิตร
Fast green	1.5 กรัม

วิธีการเตรียม

1. ใช้กระบอกตวงตวง Methyl cellosolve, Absolute ethyl alcohol และ Clove oil ปริมาตรอย่างละ 100 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์รวมกัน คนให้สารละลายเข้าเป็นเนื้อเดียวกัน

2. ชั่งสี Fast green หนัก 1.5 กรัม ค่อยๆ ใส่ลงไปในสารละลายข้างต้น คนจนสีละลายหมด

3. ใส่สีที่ได้ในขวดใส่สารสีชา ติดฉลากข้างขวด ปิดฝาให้แน่น และเก็บในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง

5. ขั้นตอนการละลายพาราฟิน (deparaffinization)

1. แช่สไลด์ที่ติดชิ้นบางใน xylene substitute 2 ครั้งๆ ละ 3 นาที เพื่อให้ xylene ละลายพาราฟินที่แทรกอยู่ในเนื้อเยื่อออก

2. แช่สไลด์ที่ติดชิ้นบางใน absolute ethyl alcohol : xylene substitute (1:1) 3 นาที เพื่อให้ absolute ethyl alcohol ล้าง xylene ออก และค่อยๆ เข้าแทนที่ xylene

3. แช่สไลด์ที่ติดชิ้นบางใน absolute ethyl alcohol, 95%, 70% และ 50% ethyl alcohol ตามลำดับ ลำดับละ 2 ครั้งๆ ละ 2 นาที เพื่อดึงน้ำเข้าแทนที่ xylene ในเนื้อเยื่อ

6. ขั้นตอนการย้อมสีซาฟานิน ฟาสต์กรีน (Safranin & Fast green staining)

1. จัดเตรียมชุดน้ำยาสำหรับย้อมสีใส่ในขวดแก้วสำหรับย้อมสี โดยติดฉลากและเรียงลำดับขวดแก้วสำหรับย้อมสี ตามลำดับการย้อมสีให้เรียบร้อย

2. นำสไลด์ที่ติดชิ้นเนื้อเยื่อบางมาละลายพาราฟินออกและเอาน้ำเข้าสู่เซลล์ตามขั้นตอนต่างๆที่กล่าวไว้

3. ย้อมสีซาฟานิน โดยแช่สไลด์ที่ติดชิ้นบางในสีย้อมซาฟานิน เป็นเวลา 1 คืน (24 ชั่วโมง)

4. ล้างสีออกด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง โดยแกว่งสไลด์เบาๆ

5. ล้างสีส่วนเกินออกด้วยการจุ่มสไลด์ขึ้น-ลงใน 0.5% picric acid ที่ผสมกับ 95% ethyl alcohol เป็นเวลา 10 วินาที

6. จุ่มสไลด์ขึ้น-ลงใน ammonium hydroxide ที่ผสมกับ 95% ethyl alcohol เป็นเวลา 10 วินาที เพื่อหยุดการล้างสีส่วนเกิน

7. ดึงน้ำออกจากเซลล์โดยการจุ่มสไลด์ขึ้น-ลงใน absolute ethyl alcohol 2 ครั้งๆ ละ 2 นาที

8. ย้อมสีฟาสต์กรีน ด้วยการหยด used cloved oil fast green ลงบนชิ้นบาง แล้วเทออก

9. หยดสีฟาสต์กรีนให้ท่วมชิ้นบาง เป็นเวลา 5-10 วินาที แล้วเทออก

10. หยด used cloved oil fast green ให้ไหลผ่านชิ้นบาง

11. ล้างสีฟาสต์กรีนส่วนเกินออกด้วย new clove oil แล้วใช้กระดาษทิชชูเช็ดทำความสะอาดพื้นที่รอบๆ เนื้อเยื่อพืชที่ติดบนสไลด์

12. ทำให้เนื้อเยื่อพืชใสด้วยการแช่สไลด์ใน absolute ethyl alcohol : xylene (1:1) 2-5 นาที

13. แช่ใน xylene 2 ครั้งๆ 2 นาที

14. ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ โดยผนึก (mount) ด้วย แล้ววางให้แห้งในที่ราบที่อุณหภูมิห้อง

ผล : ส่วนที่เป็นเซลลูโลส (cellulose) จะติดสีเขียวของฟาสต์กรีน และส่วนที่เป็นลิกนิน (lignin) จะย้อมติดสีแดงของซาฟานีน

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวศิริกานดา รัตนมณี

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5510220105

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (ชีววิทยา) เกียรตินิยมอันดับสอง	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2555

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

ทุนผู้ช่วยวิจัย (RA.) คณะวิทยาศาสตร์ และทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ประจำปีงบประมาณ 2556

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

ศิริกานดา รัตนมณี และ สหัช จันทนาอรพินทร์. 2557. โครงสร้างสปอโรไฟต์ของฮอร์นเวิร์ตสกุล *Notothylas* Sull. บางชนิดในประเทศไทย. การประชุมวิชาการพฤกษศาสตร์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 8 ระหว่างวันที่ 2-4 เมษายน 2557 ณ อาคาร 40 ปี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่

Rattanamanee, S. and Chantanaorrapint, S. 2015. Note on *Notothylas yunannensis* (Notothyladaceae, Anthocerotophyta), a little known species of hornwort. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 37(3): 271-274.