



รายงานการวิจัย

เรื่อง การขยายพันธุ์ตะบูนดำเพื่อการอนุรักษ์ป่าชายเลน

Propagation of Orange Mangrove (*Xylocarpus moluccensis* (Lam.)

M. Roem.) for mangrove Forest Conservation.

โดย ผู้ช่วยศาสตราจารย์อุบล สมทรง

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

2556

โครงการนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2553

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	(1)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	(2)
ประกาศคุุณูปการ	(4)
สารบัญตาราง	(7)
สารบัญภาพ	(9)
สารบัญภาพภาคผนวก	(11)
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย	13
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	21
บทที่ 5 สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ	52
บรรณานุกรม	56
ภาคผนวก	61

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 จำนวนวันเฉลี่ยที่เมล็ดตะบูนดำเริ่มงอกในวัสดุที่ต่างกัน 8 ชนิด	22
ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดตะบูนดำหลังจากเพาะเมล็ด เป็นเวลา 30 วัน และ 60 วัน	23
ตารางที่ 3 ความสูงเฉลี่ยของต้นตะบูนดำ (เซนติเมตร) ที่เจริญในวัสดุต่างๆ หลังการงอก เดือนที่ 1-4	24
ตารางที่ 4 เส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้นตะบูนดำ (เซนติเมตร) ในวัสดุต่างๆ หลังการงอก เดือนที่ 1-4	26
ตารางที่ 5 ความกว้างใบตะบูนดำ (เซนติเมตร) ในวัสดุต่างๆ หลัง การงอกเดือนที่ 1-4	27
ตารางที่ 6 ความยาวใบตะบูนดำ (เซนติเมตร) ในวัสดุต่างๆ หลังการงอกเดือนที่ 1-4	28
ตารางที่ 7 จำนวนกิ่งแขนงใหม่ของตะบูนดำหลังการปักชำสัปดาห์ที่ 1-16	30
ตารางที่ 8 ความยาวกิ่งแขนงใหม่จากกิ่งปักชำตะบูนดำ (เซนติเมตร) หลังปักชำใน สัปดาห์ที่ 1-16	32
ตารางที่ 9 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดราก จำนวนรากต่อกิ่ง และความยาวรากของกิ่ง ตะบูนดำหลังการปักชำ	35
ตารางที่ 10 เปอร์เซ็นต์การรอดตายของกิ่งตะบูนดำหลังการปักชำ 4 8 12 และ 16 สัปดาห์	36
ตารางที่ 11 เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเมล็ดตะบูนดำหลังการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการ ต่างๆ เป็นเวลา 7 14 21 และ 28 วัน	37
ตารางที่ 12 เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดและตาข้างตะบูนดำ หลังการฟอกฆ่า เชื้อด้วยวิธีต่างๆ เป็นเวลา 7 14 และ 21 วัน	38
ตารางที่ 13 เปอร์เซ็นต์การตายของปลายยอดและตาข้างตะบูนดำ หลังการฟอกฆ่าเชื้อ ด้วยวิธีต่างๆ เป็นเวลา 7 14 และ 21 วัน	39
ตารางที่ 14 เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดและตาข้างตะบูนดำ หลังการฟอกฆ่า เชื้อด้วยวิธีต่างๆ เป็นเวลา 7 14 และ 21 วัน (ฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 2)	40
ตารางที่ 15 เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดและตาข้างตะบูนดำ หลังการฟอกฆ่า เชื้อด้วยวิธีต่างๆ เป็นเวลา 7 14 และ 21 วัน (ฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 3)	41

สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่ 16 คະแนณการเจริญและพัฒนาของใบตะบูนดำหลังเลี้ยงในอาหาร 10 สูตร เป็นเวลา 2 และ 3 เดือน ครั้งที่ 1 (ขึ้นส่วนขนาด 0.5x0.5 เซนติเมตร)	44
ตารางที่ 17 คະแนณการเจริญและพัฒนาของใบตะบูนดำหลังเลี้ยงในอาหาร 10 สูตร เป็นเวลา 2 และ 3 เดือน ครั้งที่ 2 (ขึ้นส่วนขนาด 1.0x1.0 เซนติเมตร)	45
ตารางที่ 18 เพอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส ขนาดและลักษณะการเกิดแคลลัสของใบอ่อน ตะบูนดำ หลังเลี้ยงในอาหาร 10 สูตร ในสภาพความเข้มแสง 1,835-3,000 ลักซ์ 14 ชั่วโมง/วัน เป็นเวลา 15 วัน	47
ตารางที่ 19 เพอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส ขนาดและลักษณะการเกิดแคลลัสของใบอ่อน ตะบูนดำหลังเลี้ยงในอาหาร 10 สูตร ในสภาพไม่ให้แสง เป็น เวลา 15 วัน	48
ตารางที่ 20 เพอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส ขนาดและลักษณะการเกิดแคลลัสของใบอ่อน ตะบูนดำหลังเลี้ยงในอาหาร 10 สูตร ในความเข้มแสง 1,835-3,000 ลักซ์ 14 ชั่วโมง/วัน เป็นเวลา 1 เดือน	49
ตารางที่ 21 เพอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส ขนาดและลักษณะการเกิดแคลลัสของใบอ่อน ตะบูนดำ หลังเลี้ยงในอาหาร 10 สูตร ในสภาพไม่ให้แสง เป็นเวลา 1 เดือน	50

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 ลักษณะของใบตะบูนดำซึ่งเป็นใบประกอบแบบขนนก ปลายใบคู่ 2-4 คู่	5
ภาพที่ 2 ลักษณะดอกของตะบูนดำ เป็นช่อแบบช่อแยกแขนงแตกตามซอกใบ ตามกิ่ง และปลายกิ่งมีกลีบดอก 4 กลีบ สีขาวอมเหลือง	5
ภาพที่ 3 ลักษณะผลของตะบูนดำ ค่อนข้างกลมสีเขียว ผิวเรียบมีร่องเล็กน้อย มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 6-10 เซนติเมตร มี 4 พู	6
ภาพที่ 4 ลักษณะเมล็ดตะบูนดำซึ่งอยู่ในเปลือกผลที่แตกออกมา (A) มีลักษณะเป็นรูปสามเหลี่ยม โค้งมน 1 ด้าน (B)	6
ภาพที่ 5 เมล็ดตะบูนดำที่งอกในถาดแกลบเป็นเวลา 1 เดือน	21
ภาพที่ 6 เปรียบเทียบความสูงของลำต้นตะบูนดำในเดือนที่ 1 ในดินปนทราย+ขุยมะพร้าว+ถาดแกลบ อัตราส่วน 1:1:1 (A) และดินเลนจากป่าชายเลน (B)	25
ภาพที่ 7 ภาพแสดงการวัดความกว้างของใบ (A) และความยาวของใบ (B)	28
ภาพที่ 8 กิ่งตะบูนดำที่ปักชำในถาดแกลบที่อยู่ในถุงพลาสติกดำ ก่อนคลุมด้วยพลาสติก เพื่อรักษาความชื้นให้กิ่งปักชำ	29
ภาพที่ 9 การเกิดรากของกิ่งตะบูนดำหลังการปักชำ 16 สัปดาห์ โดยใช้สาร NAA 4,500 ppm (A) และใช้สาร IBA 4,000 ppm (B)	34
ภาพที่ 10 การใช้พลาสติกทำเป็นกระโจมคลุมทับกิ่งปักชำตะบูนดำที่อยู่ในถาดแกลบ	36
ภาพที่ 11 ปลายยอดและตาข้างตะบูนดำที่เลี้ยงในอาหารหลังการพอกฆ่าเชื้อเป็นเวลา 7 วัน โดยเริ่มมีการปล่อยสารสีน้ำตาลจากการรอยตัดที่โคนของชิ้นส่วน	39
ภาพที่ 12 ใบอ่อนตะบูนดำที่เลี้ยงในอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS + BAP 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร + NAA 0.05 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 2 เดือน ใบมีการขยายขนาดใหญ่ขึ้น	46
ภาพที่ 13 ลักษณะการเกิดแคลลัสบนใบอ่อนตะบูนดำที่เลี้ยงในอาหารสูตร WPM+2,4-D 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 28 วัน ในสภาพให้แสง 1,835-3,000 ลักซ์ 14 ชั่วโมง/วัน	49
ภาพที่ 14 ลักษณะการเกิดแคลลัสบนใบอ่อนตะบูนดำที่เลี้ยงในอาหารสูตร WPM+2,4-D 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 33 วัน ในสภาพไม่ให้แสง	51
ภาพที่ 15 ลักษณะของแคลลัสที่เกิดบนใบอ่อนตะบูนดำที่เลี้ยงในอาหารสูตร WPM+2,4-D 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 3 เดือน 18 วัน ในสภาพให้แสง 1,835-3,000 ลักซ์ 14 ชั่วโมง/วัน	51

สารบัญภาพ (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่ 16 ลักษณะของแคลสที่่เกิดบนใบอ่อนตะบูนดำที่เลี้ยงในอาหารสูตร WPM+2,4-D 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 3 เดือน 18 วัน ในสภาพไม่ให้ แสง	52

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ความหลากหลายทางชีวภาพของโลกด้านพันธุกรรมพืชกำลังลดลงอย่างรวดเร็วตามจำนวนป่าไม้ที่ถูกทำลายทำให้เหลือพื้นที่ป่าไม้น้อยลง โดยใน พ.ศ. 2554 พบว่าประเทศไทยเหลือพื้นที่ป่าไม้เพียงร้อยละ 34.44 ของพื้นที่ประเทศ (สำนักแผนงานและสารสนเทศ, 2554)

สำหรับพื้นที่ป่าชายเลนซึ่งเป็นอาณาจักรที่เชื่อมต่อระหว่างพื้นดินกับทะเล มีหน้าที่สำคัญในการปรับสมดุลบริเวณชายฝั่ง ช่วยป้องกันการกัดเซาะและพังทลายของชายฝั่ง ช่วยฟอกน้ำเสียจากแหล่งบนบกไปเป็นน้ำคุณภาพดีก่อนลงสู่ชายทะเล และช่วยลดความรุนแรงของลมพายุชายฝั่งทะเล เป็นที่รวบรวมความหลากหลายทางชีวภาพ แหล่งรวบรวมพันธุ์ไม้หลายชนิดและเป็นที่อยู่ของสัตว์น้ำนานาชนิด เป็นอู่ข้าวอู่น้ำของประชาชนที่อาศัยบริเวณป่าชายเลนและชายฝั่ง เพราะเป็นทั้งแหล่งอาหาร ที่อยู่อาศัย ยารักษาโรค ตลอดจนเป็นเชื้อเพลิง นอกจากนี้ยังเป็นที่พักผ่อนหย่อนใจ แหล่งท่องเที่ยวและศึกษาธรรมชาติที่สำคัญ (นิรนาม, 2554) แต่จากการสำรวจปี พ.ศ. 2532 (สนิท อักษรแก้ว, 2541) พบว่าประเทศไทยมีพื้นที่ป่าชายเลนลดลงจากปี พ.ศ. 2504 ซึ่งมีป่าชายเลน 2.3 ล้านไร่ ลดลงเหลือเพียง 1,047,390 ไร่เท่านั้น จำแนกเป็นภาคกลางจำนวน 34,056.75 ไร่ ภาคตะวันออก 79,112.5 ไร่ ภาคใต้ฝั่งอ่าวไทย 103,570.5 ไร่ ฝั่งอันดามัน 830,650.25 ไร่ สาเหตุการลดลงของป่าชายเลนมาจากการขยายตัวของชุมชน การทำนาเกลือ การทำการเกษตรต่างๆ ฯลฯ ทำให้พันธุ์ไม้ป่าชายเลนที่สำคัญ ได้แก่ โกงกางใบเล็ก โกงกางใบใหญ่ โปรงแดง โปรงขาว ตาตุ่มทะเล ลำพู ลำแพน ตะบูนดำ ตะบูนขาว มีจำนวนลดน้อยลงมาก ส่งผลกระทบต่อสัตว์น้ำที่อาศัยอยู่ เกิดการพังทลายของดินใกล้ชายฝั่งทะเล ความหลากหลายของพืชพรรณ โดยเฉพาะตะบูนดำซึ่งเป็นพันธุ์ไม้ป่าชายเลน ที่อยู่ถัดมาจากเขตป่าโกงกาง และเป็นไม้ที่มีคุณค่าทั้งด้านเป็นไม้ใช้สอยและเป็นสมุนไพร เพราะเป็นไม้เนื้อแข็ง มีลายสวยงาม เหมาะกับการทำเฟอร์นิเจอร์ หรือทำแผ่นกระดานพื้นบ้าน รากหายใจของตะบูนดำ นิยมนำมาต้งไฉ้เป็นไม้ประดับ เปลือกลำต้นและเมล็ดใช้เป็นยาแก้ท้องร่วง แก้บิด และใช้ต้มชะล้างแผล ตะบูนดำมีจำนวนลดลงอย่างมาก บางพื้นที่ในเขตชายฝั่งทะเลของจังหวัดเพชรบุรี ต้นตะบูนดำกำลังใกล้จะสูญพันธุ์ไป และยังไม่มีการศึกษาการขยายพันธุ์ที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มจำนวนอย่างจริงจัง จึงควรมีการศึกษาการขยายพันธุ์ให้มีจำนวนมากขึ้นทั้งจากวิธีเพาะเมล็ด การปักชำ และจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งจะช่วยให้ได้ต้นพันธุ์จำนวนมากในเวลารวดเร็ว เพื่อนำไปปลูกในสภาพธรรมชาติ คืนความหลากหลายทางชีวภาพให้กับป่าชายเลน ช่วยอนุรักษ์แหล่งอนุบาลสัตว์น้ำ และช่วยดูดซับมลพิษก่อนลงสู่ทะเล รวมทั้งช่วยอนุรักษ์พืชสมุนไพรไม่ให้สูญหายไป

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาการขยายพันธุ์ของตะบูนดำด้วยการเพาะเมล็ดและการปักชำ
2. เพื่อศึกษาการขยายพันธุ์ต้นตะบูนดำด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ขอบเขตของโครงการวิจัย

ใช้เมล็ดและกิ่งตะบูนดำจากป่าชายเลนของอำเภอบ้านแหลม จังหวัดเพชรบุรี โดยมีการศึกษาการขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเมล็ด การปักชำ และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบวิธีการเพาะเมล็ดตะบูนดำและชนิดของวัสดุที่เหมาะสมในการเพาะ
2. ทราบวิธีการขยายพันธุ์ตะบูนดำด้วยวิธีปักชำ
3. ทราบวิธีการขยายพันธุ์ตะบูนดำด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตั้งแต่การฟอกฆ่าเชื้อจนถึงขั้นชักนำรากให้เกิดขึ้นใหม่
4. สามารถถ่ายทอดความรู้จากการวิจัยให้กับนักวิชาการ นักศึกษาและประชาชนทั่วไป

ระยะเวลาที่ทำการวิจัย

ตั้งแต่เดือน มิถุนายน 2553 ถึงเดือน พฤศจิกายน 2556

นิยามศัพท์เฉพาะ

เมล็ดตะบูนดำ คือเมล็ดจากผลของต้นตะบูนดำที่แก่จัด และผลแตกออกตามธรรมชาติ เป็นเมล็ดที่สมบูรณ์ไม่มีแมลงหรือหนอนกัดแทะ

ดินเลน คือดินที่ได้จากป่าชายเลนที่ต้นตะบูนดำเจริญเติบโตได้และเป็นบริเวณที่เก็บเมล็ดตะบูนดำมาทำการทดลอง

ดินปนทราย คือดินที่มีอนุภาคดินเหนือน้อยกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ มีอนุภาคทรายเชิงบวกกับสองเท่าของอนุภาคดินเหนียว มากกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ และอนุภาคทรายมากกว่า 52 เปอร์เซ็นต์

ถ่านแกลบ คือ ผลพลอยได้ของการใช้แกลบเป็นเชื้อเพลิงในการสีข้าว

ขุยมะพร้าว คือ เปลือกชั้นในของมะพร้าวที่แยกเอาเส้นใยออกแล้ว

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ข้อมูลของป่าชายเลนและตะบูนดำ

ป่าชายเลน (mangrove swamp forest, mangrove forest) เป็นสังคมพืชที่ขึ้นอยู่บริเวณชายฝั่งทะเล ปากแม่น้ำหรืออ่าว ซึ่งเป็นบริเวณที่มีระดับน้ำทะเลท่วมถึงในช่วงน้ำทะเลขึ้นสูงสุด หรือหมายถึงสังคมพืชที่ประกอบด้วยพันธุ์ไม้หลายชนิด หลายตระกูล และเป็นพวกที่มีสีเขียวตลอดปี (evergreen species) ซึ่งมีลักษณะทางสรีรวิทยาและความต้องการสิ่งแวดล้อมที่คล้ายกัน ป่าชายเลนของประเทศไทยจะกระจายไปตามชายฝั่งทะเลตะวันออกกลาง และภาคใต้รวม 23 จังหวัด โดยจังหวัดที่มีป่าชายเลนมากที่สุดของประเทศไทยได้แก่ จังหวัดพังงา (สนิท อักษรแก้ว, 2532 อ้างถึงในความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับป่าชายเลน, 2551)

โครงสร้างป่าชายเลนเป็นระบบนิเวศที่ประกอบด้วยพืชพรรณและสัตว์น้ำนานาชนิดดำรงชีวิตร่วมกันในสภาพแวดล้อมที่เป็นดินเลน น้ำกร่อยหรือน้ำทะเลท่วมถึงสม่ำเสมอที่ป่าชายเลนมีความอุดมสมบูรณ์ สัตว์ที่มีความสำคัญหลายชนิดได้อาศัยวางไข่ และอนุบาลตัวอ่อนในบริเวณนี้ บางชนิดอาศัยอยู่จนครบวงจรชีวิต ความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตในป่าชายเลนในแง่ของการถ่ายทอดพลังงานเป็นแบบเริ่มต้นด้วยอินทรีย์สาร (detritus) ซึ่งได้จากการสลายตัวของใบไม้บริเวณป่าชายเลน โดยจุลินทรีย์ผู้ช่วยย่อยสลายอินทรีย์วัตถุเหล่านี้จะเป็นอาหารของพวกกินเศษอินทรีย์วัตถุ เช่น แอมฟิพอด หอย กุ้ง ปู และตัวอ่อนของแมลงต่างๆ จากพื้นจะถูกกินต่อกันไปตามลำดับของลูกโซ่อาหาร

พันธุ์ไม้ป่าชายเลนที่พบในประเทศไทยจะมีความแตกต่างกันไปบ้างซึ่งสามารถแบ่งเขตโดยสังเขปดังนี้ (สนิท อักษรแก้ว, 2541)

1. เขตป่าโกงกางประกอบด้วยโกงกางใบเล็ก (*Rhizophora aciculata*) ขึ้นอยู่หนาแน่นและมีต้นโกงกางใบใหญ่ (*Rhizophora mucronata*) ขึ้นอยู่ด้านนอกริมฝั่งแม่น้ำ โดยมากมักขึ้นเป็นกลุ่มๆ และมีแสม (*Avicennia* spp.) ขึ้นแซมตามชายป่าด้านนอกหรือถัดเข้าไปเพียงเล็กน้อย ซึ่งมองได้ชัดเจนเพราะมีต้นสูงใหญ่กว่าโกงกาง นอกจากนี้ยังมีประสัก และพังกาหัวสุ่ม (*Bruguiera* spp.) ขึ้นแทรกทางด้านในของเขตนี้ อยู่ในระยะประมาณ 50-100 เมตร จากชายฝั่ง และบางแห่งพบต้นจาก (*Nypa* spp.) ขึ้นอยู่เป็นหย่อมๆ โดยเฉพาะในบริเวณแหล่งน้ำกร่อย

2. เขตป่าตะบูนและโปรง ประกอบด้วยต้นตะบูน (*Xylocarpus* spp.) ขึ้นต่อด้านโปรง (*Ceriops* spp.) เข้าไปและมีต้นฝาด (*Lumnitzera* spp.) ขึ้นอยู่อย่างหนาแน่น บางบริเวณอาจมีลำแพน (*Sonneratia* spp.) แทรกอยู่ด้วย

3. เขตป่าตมและผาด เป็นบริเวณที่มีดินเลนแข็งขึ้นอยู่ในระดับน้ำทะเลท่วมถึง ในช่วงน้ำเกิด อยู่ถัดจากป่าตะบูนและโปรงขึ้นไป โดยมีต้นผาดขึ้นอยู่หนาแน่นปะปนกับต้นตมทะเล (*Excoecaria agallocha*) โดยบางแห่งจะมีต้นลำแพนแทรกอยู่ด้วย

4. เขตป่าเสม็ด ประกอบด้วยเสม็ดขึ้นหนาแน่น เป็นเขตสุดท้ายของป่าชายเลนที่มีน้ำทะเลท่วมถึงในช่วงน้ำเกิดหรือท่วมไม่ถึง ติดต่อกับป่าบกหรือทุ่งนา

ตะบูนดำ (orange mangrove) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Xylocarpus moluccensis* (Lam.) M. Roem. อยู่ในวงศ์ Meliaceae มีชื่อท้องถิ่นว่า ตะบัน เป็นไม้ต้นขนาดเล็กถึงปานกลางสูง 10-15 เมตร ผลัดใบ (deciduous) แต่ผลัดใบใหม่เร็ว ลำต้นตรง เนื้อไม้แข็ง กิ่งมักคดงอ เรือนยอดแผ่กว้าง โคนต้นเป็นพุ่มเล็กน้อย เปลือกขรุขระแตกเป็นร่องยาว ใบ เป็นใบประกอบแบบขนนก ปลายใบคู่ ใบย่อย 2-4 คู่เรียงตรงกันข้ามหรือเยื้องกันเล็กน้อย แผ่นใบรี รูปใบพาย หรือรูปขอบขนานแกมรี ขนาด 2-4 x 5-7 เซนติเมตร ปลายใบมนหรือแหลม โคนใบสอบ ขอบใบเรียบ ใบห่อขึ้นด้านบนเล็กน้อย สีเขียวเป็นมัน กิ่งอ่อนสีน้ำตาล มีเส้นแขนงใบข้างละ 7-8 เส้น ก้านใบย่อย ยาว 3-5 มิลลิเมตร (ภาพที่ 1) ดอก ของตะบูนดำมีสีขาวอมเหลือง มีกลิ่นหอมและจะหอมมากขึ้นในตอนเย็น และค่ำ ดอกรวมกันแน่นเป็นช่อแบบช่อแยกแขนงตามซอกใบ ตามกิ่งและปลายกิ่ง ช่อดอกยาว 3.5-4.5 เซนติเมตร ดอกร่วงง่ายมีกลีบเลี้ยงและกลีบดอกอย่างละ 4 กลีบ ดอกบานเต็มที่กว้าง 0.8 -1.0 เซนติเมตร (ภาพที่ 2) ออกดอกประมาณเดือนมีนาคม-เมษายน และติดผลในเดือนมิถุนายน-กุมภาพันธ์ ผล ค่อนข้างกลมผิวเรียบมีร่องเล็กน้อย สีเขียว ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6-10 เซนติเมตร แต่ละผลมี 4 พู (ภาพที่ 3) ประกอบด้วยเมล็ด 7-11 เมล็ด ลักษณะคล้ายสามเหลี่ยมโค้งนูนหนึ่งด้าน กว้าง 4-6 เซนติเมตร เมื่อผลแก่จะหลุดร่วงจากต้นลงมาทั้งผล เปลือกหุ้มเมล็ดจะแตกออกตามร่องพู เมล็ดที่อยู่ภายในจะหลุดออกมา เมล็ดมีสีเทาเข้มผิวเป็นร่องไม่เรียบ ด้านของเมล็ดที่โค้งนูนออกมามีตาของเมล็ดปรากฏอยู่ (ภาพที่ 4) ตานี้จะเป็นส่วนที่งอกของรากและลำต้นตะบูนดำ โดยรากเป็นระบบรากแก้วที่หยั่งลึกลงไปในดิน มีรากพิเศษออกตามลำต้น เป็นรากหายใจรูปคล้ายกรวยคว่ำ กลมหรือแบนปลายมน ยาว 20-40 เซนติเมตร โผล่ขึ้นจากผิวดินรอบโคนต้น (สำนักอนุรักษ์ทรัพยากรป่าชายเลน , 2552 ; วรรณิ์ ทัพพกิจ, 2553)

แหล่งที่พบตะบูนดำ มีรายงานพบในหลายประเทศ เช่น ออสเตรเลีย (ตอนเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือ) บังคลาเทศ บรูไน อินเดีย อินโดนีเซีย มาเลเซีย เมียนมาร์ ปาปัวนิวกินี ฟิลิปปินส์ สิงคโปร์ ไทย เวียดนาม และกัมพูชา และมีการลดลงประมาณร้อยละ 21 ในพื้นที่ป่าชายเลนตั้งแต่ปี ค.ศ. 1980 เนื่องจากการใช้พื้นที่เป็นที่อยู่อาศัย ทำฟาร์มกุ้ง เกษตรกรรม ผลิตข้าว ทำนาเกลือ สวนมะพร้าว ทำอากาศยาน รีสอร์ท ฯลฯ (Ellison, J. et al., 2010)

ในด้านการใช้ประโยชน์ เนื่องจากตะบูนดำ มีดอกหอม และผลสวยจึงมีการนำมาใช้งานด้านภูมิทัศน์ โดยปลูกริมน้ำ หรือริมศาลาในสวน บริเวณริมทะเล มีการใช้ทำเฟอร์นิเจอร์ ทำเรือแคนู

ทำพิน ย้อมวนแห เปลือกของต้นมีสารแทนนิน(tannin) สารลิโมนอยด์ (limonoids) ใช้ประโยชน์ในด้านสมุนไพร เช่น แก้บิด ท้องร่วง ท้องเสีย ต้มชะล้างแผล แก้ไข้ แก้ปวดท้อง ฯลฯ นอกจากนี้ในประเทศฟิลิปปินส์ยังสามารถสกัดน้ำมันจากเมล็ดใช้ควบคุมแมลงได้ (ก่องกานดา ชยามฤต, 2541 ;Anonymous, 2013; Norul, A.R. et al., 2013)



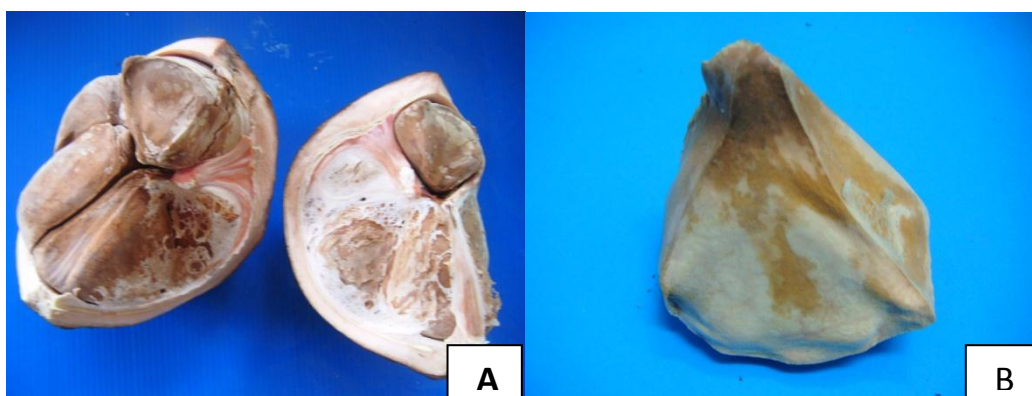
ภาพที่ 1 ลักษณะของใบตะบูนดำซึ่งเป็นใบประกอบแบบขนนก ปลายใบคู่ 2-4 คู่



ภาพที่ 2 ลักษณะดอกของตะบูนดำ เป็นช่อแบบช่อแยกแขนง แตกตามซอกใบตามกิ่งและปลายกิ่ง มีกลีบดอก 4 กลีบ สีขาวอมเหลือง



ภาพที่ 3 ลักษณะผลของตะบูนดำ ค่อนข้างกลมสีเขียว ผิวเรียบมีร่องเล็กน้อย มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 6-10 เซนติเมตร มี 4 พู



ภาพที่ 4 ลักษณะเมล็ดตะบูนดำซึ่งอยู่ในเปลือกผลที่แตกออกมา (A) มีลักษณะเป็นรูปสามเหลี่ยม โค้งนูน 1 ด้าน (B)

การขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ด

สำหรับการขยายพันธุ์ตะบูนดำจะเป็นการขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด โดยนำเมล็ดที่แก่จัดจากผลที่แตกแล้วหรือจากเมล็ดที่ร่วงหล่นจากต้น คัดเลือกเมล็ดที่ไม่สมบูรณ์ เมล็ดที่เน่าเสียและเมล็ดที่หนอนเจาะบริเวณตุ่มที่เกิดรากทิ้งไป นำเมล็ดที่รวบรวมได้แช่น้ำ ผสมเซฟวิน 85 เปอร์เซ็นต์ กดเมล็ดให้จมน้ำ แช่ทิ้งไว้ประมาณ 1-2 วัน หรือมากกว่าจนกระทั่งเมล็ดงอกออกมาจึงนำไปเพาะชำโดยกดเมล็ดให้รากจมลงไปในถุงเพาะชำประมาณครึ่งเมล็ด หรือให้ตุ่มส่วนงอกรากลงไปเสมอมิวดินเพาะชำ แล้วกดให้แน่น รดน้ำให้ชุ่มเสมอ วัสดุที่ใส่ในถุงควรเป็นดินป่าชายเลนที่ค่อนข้างเหนียว และถุงเพาะ

ชำควรรนำไปไว้ในที่น้ำท่วมขังเป็นครั้งคราว หรือในกระเบเพาะชำที่มีน้ำท่วมขังประมาณ 3 ใน 4 ส่วนของความสูงถุงเพาะชำหรือจนถึงระดับผิวหน้าถุงเพาะชำก็จะทำให้กล้าเจริญเติบโตดี (สำนักอนุรักษ์ทรัพยากรป่าชายเลน, 2552, หน้า 58)

ในด้านวัสดุเพาะเมล็ดของตะบูนดำยังไม่มีการศึกษามาก่อน แต่การเพาะเมล็ดของพืชทั่วไป อิทธิสุนทร นันทกิจ (2551) ได้กล่าวไว้ดังนี้

1. ขุยมะพร้าว เป็นวัสดุที่มีความโปร่งมาก สามารถอุ้มน้ำได้ดีกว่าวัสดุอื่นๆ รากต้นไม้สามารถยึดเกาะได้ดี ไม่ค่อยมีธาตุอาหาร จนกว่าจะมีการย่อยสลายมีความเป็นด่างเล็กน้อย ค่า pH ประมาณ 8 ก่อนนำมาผสมควรรนำไปร่อนเพื่อเอาเส้นใยออกบ้างโดยใช้ตะกร้าพลาสติกหรือตะแกรงลวด แล้วนำไปแช่น้ำหลายๆ ครั้ง เพื่อให้ความผาตลดลง ทั้งยังปรับความเป็นด่างให้ลดลงด้วย

2. แกลบดำ หรือ ถ่านแกลบเป็นวัสดุร่วนซุย เก็บความชื้น และระบายน้ำได้ดีมาก แห้งเร็ว เป็นแหล่งคาร์บอน ไม่มีแร่ธาตุอาหารที่จำเป็นมากนัก มีค่า pH ประมาณ 6.0-6.8 เป็นวัสดุที่ดีมากชนิดหนึ่งใช้เป็นวัสดุปลูกเดี่ยวๆ หรือใช้ผสมกับทราย การสลายตัวน้อยแต่ก่อนใช้ควรแช่ด้วยกรดก่อนเพื่อลด pH ให้เท่ากับ 6

3. ดินปนทราย เป็นดินที่อุ้มน้ำ มีความอุดมสมบูรณ์ ค่า pH ประมาณ 5.5-6.5 ซึ่งตะบูนดำเจริญเติบโตได้ดีในดินที่ค่อนข้างเป็นกรด (สำนักสำรวจและวิจัยทรัพยากรดิน กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2554)

การขยายพันธุ์โดยการปักชำ

การขยายพันธุ์ตะบูนดำโดยการปักชำไม่มีการทดลองมาก่อน การปักชำ หมายถึง การตัดส่วนใดส่วนหนึ่งของพืช แล้วนำไปปักไว้ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมซึ่งการปักชำก็จะแบ่งเป็นแบบต่างๆ ตามลักษณะของเนื้อไม้ เช่น กิ่งแก่ กิ่งกึ่งอ่อนกิ่งแก่ กิ่งอ่อน และกิ่งของไม้พุ่มเนื้ออ่อน (วิเชษฐ คำสุวรรณ, 2545) วิธีการเริ่มจากตัดกิ่งชำยาว 3-6 นิ้ว เอาใบล่างออกถ้าใบใหญ่มากให้ตัดใบออกหนึ่งในสามถึงครึ่งหนึ่งเพื่อลดการคายน้ำและทำให้ปักชำได้จำนวนกิ่งมากขึ้นเพราะไม่เปลืองเนื้อที่ ควรตัดส่วนโคนของกิ่งตรงได้ข้อ เพราะบริเวณข้อจะเป็นจุดกำเนิดราก (นันทิยา วรรณะภูติ, 2542, หน้า 256-262)

การเกิดรากใหม่ของกิ่งปักชำขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ความอ่อน ความแก่หรือ ลักษณะของเนื้อไม้ และระยะเวลาในการกำเนิดรากมากน้อยแตกต่างกันไปตามชนิดของพืช ในกิ่งที่เป็นกิ่งอ่อนจุดกำเนิดรากจะเกิดอยู่ติดกับกลุ่มเซลล์ท่อน้ำท่ออาหาร ถ้าเป็นกิ่งแก่จุดกำเนิดรากจะอยู่ลึกเข้าไปติดกับเนื้อไม้แข็ง รากจะเกิดขึ้นบริเวณเซลล์ท่อน้ำท่ออาหารซึ่งอาจจะเป็นเซลล์ที่เรียงตัวเป็นแถวระหว่างมัดท่อน้ำท่ออาหารหรือเซลล์ของพาเรโนไคมาหรือพิท การขยายพันธุ์ด้วยการปักชำไม่เกี่ยวข้องกับการใช้เพศ ต้นพืชที่ได้ประกอบไปด้วยต้นและราก สำหรับต้นหรือยอดนั้นอยู่ในกิ่งเดิมหรือแตกใหม่

จากตาที่เจริญเติบโตเป็นต้นใหม่ ส่วนรากที่เกิดใหม่เรียกรากวิสามัญ (adventitious roots) ซึ่งเป็นรากที่เกิดจากส่วนต่างๆ ของพืช (นันทนภัส สุวรรณสินธุ์, 2542, หน้า 89-90) และการปักชำจะประสบความสำเร็จมากน้อยแค่ไหนขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ดังนี้

1. คุณลักษณะของชิ้นส่วนของพืชที่นำมาปักชำ โดยส่วนต่างๆ ของพืชจะต้องตัดมาจากต้นแม่ที่สมบูรณ์ อายุอ่อน ไม่มีโรคและแมลงทำลาย ไม่อยู่ในระยะพักตัว และเป็นต้นพืชที่มีการสะสมอาหารไว้เต็มที่

2. ตำแหน่งของรอยตัด ควรตัดด้วยกรรไกรหรือมีดคมๆ โดยให้ฐานรอยตัดด้านล่างอยู่ใต้ข้อหรือซิดข้อ รอยแผลที่ตัดต้องเรียบไม่ฉีกขาดหรือชำซึ่งจะช่วยให้กิ่งของพืชออกรากได้ดี

3. วัสดุปักชำ วัสดุปักชำที่ดีต้องทนทานไม่ผุสลายได้ง่าย หาได้ง่ายราคาถูก ดูแลความชื้นได้มากพอ แต่ควรมีความโปร่ง เพื่อให้ระบายน้ำ ถ่ายเทอากาศได้ดีและปราศจากเมล็ดวัชพืชตลอดจนโรคและแมลง ควรมีคุณสมบัติเป็นกลางไม่เป็นกรดหรือด่างมากเกินไป

4. ความชื้น โดยทั่วไปวัสดุปักชำที่เหมาะสมต่อการออกราก และแตกยอดและเจริญเติบโตของกิ่งปักชำ ควรอยู่ในช่วงประมาณ 70-80 เปอร์เซ็นต์

5. อุณหภูมิ ควรดูแลอุณหภูมิบริเวณโคนกิ่งปักชำสูงกว่าอุณหภูมิที่อยู่เหนือกิ่งปักชำ เพื่อให้พืชออกรากก่อนที่จะแตกยอด

6. แสง พืชจะออกรากหรือแตกยอดได้ดีเมื่อปักชำไว้ในที่แสงสว่างเพียงพอ หรือให้ได้รับแสงประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์

7. การใช้สารเคมีหรือฮอร์โมน ควรใช้ฮอร์โมนเร่งรากจะช่วยให้พืชออกรากได้เร็วและมีปริมาณของรากมาก (นันทนภัส สุวรรณสินธุ์, 2542, หน้า 93)

ในกรณีใช้กิ่งแก่หรือกิ่งอ่อน ซึ่งจะมีสีน้ำตาลอมเขียว เป็นกิ่งสมบูรณ์ขนาดของกิ่งที่นำมาปักชำ จะต้องตัดมาเป็นท่อนยาวประมาณ 6-8 นิ้ว มีตาอย่างน้อย 2-3 ตา ตัดใบออกหมด ด้านบนและด้านล่างตัดเฉียง 45-60 องศา หรือตรงหัวเฉียง ห่างจากตาสุดท้ายประมาณครึ่งนิ้วไม่ควรใช้กรรไกรตัดเพราะจะทำให้กิ่งชำ การเร่งรากอาจใช้โคโคน้ำยาวประมาณ 1 นิ้ว 2-3 รอย และจุ่มฮอร์โมนเร่งราก เพื่อช่วยให้เกิดรากดีขึ้น ฮอร์โมนที่ใช้มักจะมีกลิ่นค่อนข้างสูง วัสดุที่ปักที่นิยมใช้ปักชำ คือ ทรายผสมขี้เถ้ากลบ อัตราส่วน 1:1 หรือถ่านกลบอย่างเดียว หรือขุยมะพร้าวกับถ่านกลบ ไม่นิยมใช้ดินเหนียวเพราะจะเกิดรากยาก วิธีการปักชำจะปักเป็นมุมเอียง 60 องศา กับผิวหน้าวัสดุปักชำ หรือตั้งตรงให้ลึก 1-2 นิ้ว หรือลงไปใต้ตาบนสุดเหนือวัสดุปักชำ ระยะระหว่างกิ่งประมาณ 7-10 เซนติเมตร อย่าให้กิ่งปักชำขยับโดยอาจใช้ไม้หรือเชือกมัดรวมกิ่งไว้ (สนั่น ขำเลิศ, 2541)

ฮอโมนหรือสารควบคุมการเจริญเติบโตที่นิยมนำมาใช้ในการปักกิ่งมี 2 ชนิด คือ

1. Naphthalene acetic acid (NAA) มีสูตรโครงสร้างเป็น $C_{10}H_7-CH_2CO_2H$ เป็นออกซินสังเคราะห์ที่ใช้ในการกระตุ้นการเกิดราก กระตุ้นให้ระบบรากเจริญดี NAA ที่ใช้ทางการเกษตรเป็นผลึกสีขาว ละลายได้ดีในแอลกอฮอล์ (ฟิรเดซ ทองอำไพ, 2543)

2. Indole-3-butyric acid (IBA) เดิมจัดเป็นสารสังเคราะห์ที่ออกฤทธิ์เป็นออกซิน ต่อมาพบการสร้าง IBA ในเมล็ดและใบของข้าวโพด และใบพืชเลี้ยงคู่อีกหลายชนิด จึงจัดว่าเป็นฮอโมนพืชด้วย IBA เป็นสารสังเคราะห์ที่ใช้ในการเร่งรากของกิ่งปักชำ สารบริสุทธิ์เป็นผลึกขาว จะละลายได้ดีในด่าง เมื่ออยู่ในรูปสารละลายตัวได้เร็ว มีพิษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมในระดับปานกลางและเป็นพิษต่อใบพืชด้วย ในด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ใช้ชักนำการเกิดรากจากยอด (นภดล จรัสสัมฤทธิ์, 2537, หน้า 18-30)

สำหรับงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการปักชำของไม้เนื้อแข็งหรือพืชที่มีเนื้อไม้โดยสังเขป มีดังนี้

ฐนวัฒน์ มังคละเศรณี สุรศักดิ์ นิลนนท์ และรัฐพล ฉัตรบรรยงค์ (2551) ศึกษาผลของ IBA ต่อการออกรากของกิ่งปักชำ ต้นองุ่นพันธุ์ Solonis x Othello 4 โดยใช้ความเข้มข้น 0, 3,000, 5,000 และ 8,000 ppm พบว่าระดับความเข้มข้นของ IBA ที่ 5,000 ppm สามารถชักนำให้กิ่งชำเกิดรากได้มากที่สุด 83.33 เปอร์เซ็นต์ แต่ระดับความเข้มข้น 3,000 ppm ให้จำนวนรากต่อกิ่งมากที่สุด (7.3 ราก / กิ่ง) การเจริญของยอด พบว่า 35 วัน หลังปักชำ กิ่งองุ่นที่ได้รับ IBA มีเปอร์เซ็นต์การแตกยอดมากกว่า กลุ่มที่ไม่ได้สารและกิ่งองุ่นที่ใช้ IBA ความเข้มข้น 5,000 ppm ให้เปอร์เซ็นต์แตกยอดสูงสุด 83.33 เปอร์เซ็นต์ ส่วนจำนวนยอดของกิ่งปักชำ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ให้จำนวนยอดเฉลี่ย 1.25-2.08 ยอด/กิ่ง) ด้านความยาวยอด การใช้ IBA ความเข้มข้น 3,000 ppm ให้ความยาวยอดเฉลี่ยสูงที่สุด 6.00 เซนติเมตร และความกว้างยอดมากที่สุด 2.20 มิลลิเมตร

รุ่งรัตน์ เทศกุล (2546) ศึกษาผลการใช้ IBA NAA และ IBA+NAA ต่อการออกรากของของชมพูเพชร เป็นเวลา 42 วัน พบว่าสารที่ทำให้ชมพูเพชร เกิดรากมากที่สุดคือ IBA 4,000 ppm และพบว่า IBA+NAA 4,000 ppm ให้จำนวนรากต่อกิ่งมากที่สุดคือ 18.5 ราก รองลงมาคือ NAA 2,000 ppm จำนวน 17.5 ราก

เสวก สานา (2545) ศึกษาใช้ IBA ต่อการออกรากของฝรั่ง โดยจุ่มละลายเข้มข้น 1,000, 1,500 และ 2,000 ppm เป็นเวลา 5 วินาที และนำไปปักชำในกระบะพ่นหมอก ซึ่งใช้ไข่ไก่กลบ และทรายเป็นวัสดุปักชำ พบว่ากิ่งปักชำฝรั่งที่ใช้สาร IBA ทุกความเข้มข้น มีการออกราก 100 เปอร์เซ็นต์ โดยกิ่งฝรั่งที่ใช้ IBA เข้มข้น 2,000 ppm ให้จำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 59.82 ราก และความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด 9.33 เซนติเมตร

บุญส่ง บุญไสย ประสงค์ ศีลาเกษ และสุรศักดิ์ สุภารัตน์ (2546) ศึกษาการใช้ NAA ความเข้มข้น 1,000 5,000 และ 10,000 ppm ต่อการออกราก ของกิ่งปักชำหม่อนพันธุ์นครราชสีมา 60 พบว่า NAA 5,000 ppm ให้จำนวนรากและความยาวรากมากที่สุด

สำหรับการทดลองกับกิ่งปักชำไม้ป่าชายเลน พืชรา ลิมปนะเวช กุลนาถ อบสุวรรณ และพิพัฒน์ พัฒนผลไพบูลย์ (2540) ได้ทดลองนำฝักของพังกาหัวสุมดอกแดงมาตัดเป็นท่อนๆ แล้วใช้ IBA และ NAA ความเข้มข้น 0 10 100 1,000 5,000 และ 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ฝักท่อนยอดมีการสร้างรากได้จำนวนมากกว่าฝักท่อนโคน โดยพบว่า IBA และ NAA เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ฝักท่อนยอดเกิดรากมากที่สุด IBA ให้จำนวนรากเฉลี่ยมากกว่า NAA

การขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นวิธีการขยายพันธุ์พืชแบบไม่ใช้เพศวิธีหนึ่งที่สามารถขยายพันธุ์พืชได้จำนวนมากในเวลารวดเร็วและตรงตามพันธุ์ นิยมใช้ในการขยายพันธุ์ไม้ดอกไม้ประดับหลายชนิดและได้มีการนำมาประยุกต์ใช้ในการผลิตพันธุ์ไม้ผล และไม้ป่า ตลอดจนสมุนไพรต่างๆ (ศิวพงษ์ จำรัสพันธุ์, 2541 ; อุบล สมทรง, 2544)

ขั้นตอนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการขยายพันธุ์โดยทั่วไป จะเริ่มจากการเลือกชิ้นส่วนที่จะนำมาเพาะเลี้ยง ล้างเอาฝุ่นละอองออกด้วยน้ำและสบู่หรือผงซักฟอก แล้วนำมาฟอกเชื้อด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อหรือสารเคมีต่างๆ ล้างออกด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้ออีก 3-5 ครั้ง ย้ายชิ้นส่วนพืชลงเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตรต่างๆ ตามวัตถุประสงค์ที่จะชักนำให้เกิดแคลลัส ยอดหรือต้น และเมื่อได้ต้นพืชที่มีรากสมบูรณ์แล้วจึงย้ายปลูกในวัสดุปลูก โดยมีการอนุบาลไว้ในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อและเรือนเพาะชำ ก่อนนำไปปลูกในสภาพธรรมชาติต่อไป (อุบล สมทรง, 2544) ซึ่งการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม่ย่นต้นหรือไม้เนื้อแข็งที่มีการศึกษาในรอบยี่สิบปีที่ผ่านมาดังนี้

พ.ศ. 2540 สุพินญา คำขจร ได้นำเนื้อเยื่อตาข้างของมะตูม ซึ่งอยู่ในวงศ์ Rutaceae ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอรีนออกซิไดร่าต่างๆ พบว่าการฟอกด้วยสารละลายคลอรีน 10 % เป็นเวลา 10 นาที ตามด้วยสารละลายคลอรีน 5 % เป็นเวลานาน 5 นาที ทำให้เนื้อเยื่อส่วนตาข้างสามารถเจริญแตกตาต่อไปได้มากที่สุด 50 % และเมื่อนำตาข้างที่ปลอดเชื้อไปเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS (Murashige และ Skoog, 1962) ที่เติม BA (N_6 -benzyladenine) ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าอาหาร MS+BA 2 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดมากที่สุดเฉลี่ย 7.8 ยอด/ตา ความยาวยอดเฉลี่ย 1.2 เซนติเมตร ในเวลา 60 วัน และเมื่อนำยอดที่ชักนำเหล่านี้ไปเลี้ยงบนอาหาร MS+BA 1 มิลลิกรัม/ลิตร พบว่ามีการแตกยอดมากที่สุดมีจำนวนยอดเฉลี่ย 14.2 ยอด/ยอดเดียวมีความยาวยอดเฉลี่ย 1.75 เซนติเมตร และสามารถชักนำรากได้ดีที่สุดบนอาหาร MS+IBA เข้มข้น 1 มิลลิกรัม/ลิตร ได้จำนวนรากเฉลี่ย 4.2 ราก/ยอด ความยาวรากเฉลี่ย 3.07 เซนติเมตร ในเวลา 60 วัน และเมื่อย้าย

ปลูกในวัสดุผสมคลุมด้วยพลาสติกเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่ารอดชีวิตสูงสุด 70 % และพบว่าสามารถชักน้ำใบเลี้ยง ก้านใบอ่อน และแผ่นใบอ่อน ให้เกิดแคลลัสในอาหารสูตร MS ที่ใส่ NAA ร่วมกับ KN (kinetin) เป็นเวลา 60 วัน โดยใบเลี้ยงเกิดแคลลัสได้ดีบนอาหารสูตร MS+KN เข้มข้น 1 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA ทุกระดับความเข้มข้น ส่วนก้านใบอ่อนและแผ่นใบอ่อนเกิดแคลลัสได้ดีบนอาหารสูตร MS+NAA 3 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ KN ทุกระดับความเข้มข้น และเมื่อนำแคลลัสไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS+NAA ร่วมกับ BA เป็นเวลา 60 วัน พบว่าแคลลัสที่เกิดจากใบเลี้ยงสามารถพัฒนาเป็นยอดได้ดีที่สุดบนอาหารสูตร MS+NAA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัม/ลิตร ส่วนแคลลัสจากก้านใบอ่อนและแผ่นใบอ่อนไม่พบการพัฒนาเป็นยอด

อุบล สมทรง (2542) ได้นำส่วนต่างๆของชมพูเพชรสายรุ้ง ได้แก่ ใบอ่อน ปลายยอด ตาข้าง ไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่างๆ 8 วิธี พบว่าการฟอกฆ่าเชื้อใบอ่อนด้วยสเตร็ปโตมัยซินซัลเฟต 500 มิลลิกรัม/ลิตร 10 นาที ให้ผลดีที่สุดไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์เป็นเวลา 30 วัน แต่ทั้ง 8 วิธีการไม่สามารถฟอกฆ่าเชื้อบนชิ้นส่วนปลายยอดและตาข้างของชมพูเพชรสายรุ้งได้ เนื่องจากชิ้นส่วนเหล่านั้นมีจุลินทรีย์ปนเปื้อนมาก และมีการปล่อยสารสีน้ำตาลซึ่งยับยั้งการเจริญและทำให้ชิ้นส่วนตายในที่สุด และสามารถชักน้ำให้ใบอ่อนของชมพูเพชรสายรุ้งสร้างแคลลัสได้บนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS + NAA เข้มข้น 0.5 1.0 1.5 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร และ $\frac{1}{2}$ MS+2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) เข้มข้น 0.5 1.0 1.5 2.0 3.0 4.0 มิลลิกรัม/ลิตร โดยให้อยู่ที่มืด 6 สัปดาห์แรก และในที่มีความเข้มแสง 1,000-3,000 ลักซ์ เป็นเวลา 12-14 ชั่วโมง/วัน ในช่วงต่อมาเป็นเวลา 6 สัปดาห์ (รวมทั้งหมด 12 สัปดาห์) แต่ไม่สามารถชักน้ำแคลลัสให้เกิดยอดได้

พ.ศ. 2542 วิภารัตน์ รัตนะ นำเมล็ดมะตูมมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน 10 % นาน 15 นาที นำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เมื่อกล้าอายุ 30 วัน นำส่วนต่างๆ ได้แก่ ยอด ลำต้น ข้อใบเลี้ยง และรากของกล้ามะตูมไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS+BAP (benzyl aminopurine) ระดับต่างๆ ภายหลังการเลี้ยง 30 วัน พบว่าส่วนข้อใบเลี้ยงที่เลี้ยงบนอาหาร MS+BAP 2 มิลลิกรัม/ลิตร ให้ค่าเฉลี่ยยอดมากที่สุด 28.75 ยอด และเมื่อนำยอดที่ได้รับจากข้อใบเลี้ยงมาเลี้ยงบนอาหาร MS ที่ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 30 วัน ก่อนนำไปเพิ่มปริมาณยอดบนอาหาร MS+BAP 1 2 3 และ 4 มิลลิกรัม/ลิตร ภายหลังเลี้ยง 30 วัน พบว่ายอดที่เลี้ยงบนอาหาร MS+BAP 2 มิลลิกรัม/ลิตร ให้จำนวนยอดสูงสุดคือ 20.50 ยอด และพบว่าสามารถปักชำรากได้ 80 % เมื่อเลี้ยงยอดในอาหาร MS+NAA 1 มิลลิกรัม/ลิตร

พ.ศ. 2543 นาทยา มนตรี และคณะ ได้ทดลองเลี้ยงตาข้างมะขามป้อมจากต้นที่เจริญเต็มที่ แล้วบนอาหาร MS+BA 0-10 มิลลิกรัม/ลิตร เท่านั้นทำให้ตาข้างพัฒนาเป็นยอดได้ ส่วนการนำชิ้นส่วนต้นกล้า ได้แก่ ยอด ใบเลี้ยง และราก ไปเลี้ยงบนอาหาร MS+BA 2 มิลลิกรัม/ลิตร พบว่าส่วนใต้ใบเลี้ยงให้ยอดสูงสุด และนำไปเพิ่มปริมาณยอดบน MS+BA หรือ KN พบว่า MS+BA 4 มิลลิกรัม/

ลิตร เพิ่มปริมาณยอดได้สูงสุด และเมื่อนำไปชักนำรากบนอาหาร MS+IBA หรือ NAA 0-10 มิลลิกรัม/ลิตร ที่ลดความเข้มข้นของ NH_4NO_3 และ KNO_3 จากปกติจนถึงไม่ใช้เลย พบว่าสูตรอาหารที่ไม่ใช้ NH_4NO_3 และ KNO_3 ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดรากและจำนวนรากสูงสุด

ในปีเดียวกัน สมปอง เตชะโต และชวนพิศ นิยะกิจ (2543) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเมล็ดของพืชสกุล Garcinea 3 ชนิด ได้แก่ มังคุด พะวา และส้มแขก ที่แยกจากผล 2 4 และ 6 สัปดาห์ หลังดอกบานบนอาหาร MS+BA หรือ TDZ (thidiazuron) ผสม 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าเมล็ดจากผลอายุ 2 สัปดาห์ หลังดอกบานมีการสร้างแคลลัสสูงสุด 93.7 % รองลงมาคือเมล็ดพะวาจากผลอายุ 4 สัปดาห์ หลังดอกบานมีการสร้างแคลลัสเฉลี่ย 74.9 % ส่วนส้มแขกไม่มีการสร้างแคลลัสทุกอายุของผล

พ.ศ. 2544 ปัญจรัตน์ จินตนา ไพโรจน์ ชัยเลิศพงศา และประสิทธิ์ เพ็ชรอรุณรักษ์ ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพันธุ์ไม้ชิงชัน โดยใช้ส่วนตาข้างที่แตกจากกิ่งไม้ชิงชันมาฟอกฆ่าเชื้อในไฮเตอร์ (6% sodium hypochlorite) ที่มีความเข้มข้น 5 % เป็นเวลานาน 10 นาที พบว่ามีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อประมาณ 85 % และเมื่อนำชิ้นส่วนมาชักนำยอดบนอาหารสูตร MS+BAP ระดับ 20 ไมโครโมลาร์ปรากฏว่าชักนำยอดได้ดีที่สุดได้จำนวนยอดเฉลี่ย 4.75 ยอด ภายใน 3-4 สัปดาห์ และพบว่า เมื่อนำยอดมาชักนำรากบนอาหารที่มีน้ำตาล 2 % ผสม IBA และ NAA ชนิดละ 1 ไมโครโมลาร์ พบว่าสามารถชักนำรากได้ภายใน 3 สัปดาห์

อัมพา ว่องวิซชกร ปัญญารัตน์ ฤศิริ และวรรณัฐ ศรีพาเพลิน (2546) ได้แนะนำให้ขยายพันธุ์กันเกราด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยนำไปชักนำยอดบนอาหาร MS+BA 1.0-3.0 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 4-6 เดือน จากนั้นนำยอดที่ได้ไปเพิ่มปริมาณยอดบนอาหาร MS+BA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร จะเพิ่มปริมาณยอดได้ 3-5 เท่า ในเวลา 1 เดือน และสามารถชักนำรากบนอาหาร MS+ NAA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร ในเวลา 1 เดือน จากนั้นจึงนำต้นที่ออกรากดีแล้วไปอนุบาลในโรงเรือนต่อไป

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการดำเนินการวิจัย

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

1. เมล็ดและกิ่งกิ่งแก่กิ่งอ่อนของตะบูนดำ ใบอ่อน ปลายยอดและตาข้างของตะบูนดำ
2. วัสดุเพาะเมล็ด ได้แก่ ดินเลนจากป่าชายเลน ดินปนทราย ถ่านแกลบ ขุยมะพร้าว
3. เวอร์เนียคาลิเปอร์ ไม้บรรทัด
4. ถูพลาสติกสีดำขนาด 4x6 นิ้ว
5. เครื่องวัดความเป็นกรดต่าง ของสารละลาย (pH meter)
6. วัสดุปักชำ ได้แก่ ถ่านแกลบ
7. อุปกรณ์ให้น้ำ ได้แก่ บั้วรดน้ำ สายยาง
8. เครื่องแก้วต่าง ได้แก่ ปีกเกอร์ แท่งแก้วคนสาร กระจกตวง ขวดแก้วขนาด 8 ออนซ์ และ 4 ออนซ์ สำหรับพอกฆ่าเชื้อและเลี้ยงเนื้อเยื่อ
9. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) และ WPM (Woody Plant Medium, McCown and Lloyd, 1981) เช่น KNO_3 NH_4NO_3 $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ H_3BO_3 KI $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ฯลฯ
10. สารเคมีที่ใช้ในการพอกฆ่าเชื้อ ได้แก่ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ สเตร็บโตมัยซินซัลเฟต เอทานอล 70 % และ 95% เมอร์คิวริกคลอไรด์ (HgCl_2)
11. สารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่ Naphthyl acetic acid (NAA: 95% ai.) Acros Organics Indole-3-butyric acid (IBA :100 % ai.) Sigma Benzyl aminopurine (BAP) Indole acetic acid (IAA) 2,4-Dichloro phenoxy acetic acid (2,4-D)
12. หม้อนึ่งความดันไฟฟ้า (autoclave)
13. เตาแก๊ส หม้อสแตนเลส ท็อปพี เตาไมโครเวฟ
14. ตู้ปลอดเชื้อ ห้องปลอดเชื้อ และห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ ชั้นวางเลี้ยงเนื้อเยื่อพร้อมอุปกรณ์การให้แสง มีดผ่าตัด ปากคีบ ตะเกียงแอลกอฮอล์ กระดาษ A4
15. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 3 ตำแหน่ง
16. ตู้เก็บสารเคมี ตู้เย็น
17. ตู้อบไฟฟ้า
18. กรรไกรตัดแต่งกิ่ง ตะกร้าพลาสติก
19. กล้องถ่ายรูป ฟิวเจอร์บอร์ด ปากกาเคมี
20. โรงเรือนอนุบาลต้นไม้

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การขยายพันธุ์ตะบูนดำด้วยการเพาะเมล็ด วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design : CRD) ใช้วัสดุเพาะเป็นสิ่งทดลอง 8 สิ่งทดลองๆ ละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ถูๆ ละ 1 เมล็ด ดังนี้

- สิ่งทดลองที่ 1 ดินเลนจากป่าชายเลนเป็นชุดควบคุม (Control)
- สิ่งทดลองที่ 2 ดินปนทราย
- สิ่งทดลองที่ 3 ถ่านแกลบ
- สิ่งทดลองที่ 4 ขุยมะพร้าว
- สิ่งทดลองที่ 5 ดินปนทราย+ถ่านแกลบ อัตราส่วน 1:1
- สิ่งทดลองที่ 6 ดินปนทราย+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1
- สิ่งทดลองที่ 7 ถ่านแกลบ+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1
- สิ่งทดลองที่ 8 ดินปนทราย+ถ่านแกลบ+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1:1

นำเมล็ดตะบูนดำจากผลแก่ที่นำมาจากป่าชายเลน ตำบลบางตะบูน อำเภอบ้านแหลม จังหวัดเพชรบุรี ผึ่งให้แห้งรอจนผลแตกเอง แล้วนำเมล็ดที่สมบูรณ์มา 240 เม็ด แช่น้ำเป็นเวลานาน 10 วัน จนรากงอกออกมา นำเมล็ดเพาะในวัสดุที่บรรจุถุงดำซึ่งรดน้ำจนชุ่ม โดยกดให้เมล็ดจมในวัสดุเพาะครึ่งเมล็ด จากนั้นรดน้ำให้ชุ่มทันที ดูแลรักษาให้วัสดุเพาะชุ่มชื้นอยู่เสมอ นับจำนวนวันที่เมล็ดเริ่มงอก นับจำนวนเมล็ดที่งอกแล้วคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การงอกในเวลา 30 วัน และ 60 วัน หลังการเพาะ (โดยนับเมื่อต้นกล้าสูง 3-5 เซนติเมตร) วัดความสูง เส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้น ความยาวและความกว้างของใบ หลังการเพาะเป็นเวลา 1 2 3 และ 4 เดือน จากนั้นนำค่าเฉลี่ยของจำนวนวันที่เมล็ดเริ่มงอก เปอร์เซ็นต์การงอก ความสูงของลำต้น เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น ความยาวและความกว้างใบดังกล่าวไปวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ F-test เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

2. การขยายพันธุ์ตะบูนดำโดยวิธีปักชำ โดยนำกิ่งกิ่งอ่อนกิ่งแก่ของตะบูนดำมาทดลองปักชำเบื้องต้น (pretest) เพื่อดูว่ากิ่งแบบใดมีศักยภาพในการปักชำดีกว่า ซึ่งพบว่ากิ่งกิ่งแก่กิ่งอ่อนมีแนวโน้มการออกรากและรอดตายดีกว่า จึงนำกิ่งกิ่งแก่กิ่งอ่อนซึ่งมีสีน้ำตาลอมเขียวมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5 เซนติเมตร ความยาวประมาณ 20 เซนติเมตร มาทดลอง วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 5 สิ่งทดลองๆ ละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 25 กิ่ง รวม 375 กิ่ง ตัดใบออกบ้างที่เหลือตัดแผ่นใบออกประมาณครึ่งใบ ใช้ใบมีดตัดโคนกิ่งเป็นรูปปากฉลาม จุ่มสารควบคุมการเจริญเติบโตความเข้มข้นตามสิ่งทดลองประมาณ 10 วินาที ดังนี้

- สิ่งทดลองที่ 1 ไม่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต (ใช้น้ำเปล่า)
- สิ่งทดลองที่ 2 ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 4,500 ppm
- สิ่งทดลองที่ 3 ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 6,000 ppm
- สิ่งทดลองที่ 4 ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA 4,000 ppm
- สิ่งทดลองที่ 5 ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA 6,000 ppm

นำกิ่งที่จุ่มสารควบคุมการเจริญเติบโตเข้มข้นตามสิ่งทดลองดังกล่าว ไปปักชำในถุงดำที่บรรจุถ่านแกลบซึ่งรดน้ำให้ชุ่ม กดวัสดุปักชำรอบๆ กิ่งให้แน่น แล้วรดน้ำให้ชุ่มอีกครั้งหนึ่งก่อนคลุมด้วยกระโจมพลาสติกเพื่อรักษาความชื้น จากนั้นบันทึกข้อมูลเป็นเวลา 16 สัปดาห์ ดังนี้

- 1) ข้อมูลการแตกกิ่งแขนงใหม่หลังปักชำเป็นเวลา 1 ถึง 16 สัปดาห์ ได้แก่จำนวนกิ่งแขนงที่แตกใหม่ และความยาวกิ่งแขนง
- 2) จำนวนกิ่งที่ออกราก แล้วคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์หลังการปักชำเป็นเวลา 4 8 12 และ 16 สัปดาห์
- 3) ข้อมูลจำนวนรากต่อกิ่งหลังปักชำเป็นเวลา 4 8 12 และ 16 สัปดาห์
- 4) ข้อมูลความยาวรากเป็นเซนติเมตรหลังปักชำเป็นเวลา 4 8 12 และ 16 สัปดาห์
- 5) ข้อมูลจำนวนกิ่งที่รอดตายแล้วคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การรอดตายของกิ่งตะบูนดำหลังปักชำเป็นเวลา 4 8 12 และ 16 สัปดาห์

จากนั้นนำข้อมูลดังกล่าวมาหาค่าเฉลี่ยทางสถิติ และหาส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation)

3. การขยายพันธุ์ตะบูนดำด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แบ่งการทดลองเป็น 4 ขั้นตอน

3.1 การฟอกฆ่าเชื้อ นำเมล็ด ปลายยอด ตาข้างของต้นตะบูนดำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ ดังนี้

3.1.1 การฟอกฆ่าเชื้อเมล็ด นำเมล็ดมาฟอกฆ่าเชื้อ 4 วิธีการ คือ

- 1) แช่เอทานอล 95% 1-2 นาที ใช้ปากคิบนำเมล็ดลนเปลวไฟจากตะเกียงแอลกอฮอล์จนเอทานอลแห้ง
- 2) นำเมล็ดฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที
- 3) นำเมล็ดฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 15 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที
- 4) นำเมล็ดฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5 % เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที

โดยการทดลองที่ 2)-4) ผสมทวิน-20 จำนวน 2 หยด ต่อสารฟอกฆ่าเชื้อ 100 มิลลิลิตร เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการฟอกฆ่าเชื้อ แล้วใช้มีดผ่าตัดเจาะเฉพาะส่วนเอ็มบริโอของตะบูนดำขนาดประมาณ 1.0x1.0 เซนติเมตร นำไปวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ขวดละ 1 เมล็ด วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 สิ่งทดลองๆ ละ 4 ซ้ำ วางเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 1,835-3,000 ลักซ์ เป็นเวลา 14 ชั่วโมง/วัน ตรวจนับจำนวนเมล็ดที่ปนเปื้อนเมล็ดที่งอกและคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนและเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด นำไปวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วย F-test และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

3.1.2 การฟอกฆ่าเชื้อปลายยอดหรือตาข้าง นำยอดตะบูนดำที่เพิ่งแตกใบอ่อนใหม่ๆ ตามธรรมชาติ มาตัดเป็นท่อนๆ ละประมาณ 3 นิ้ว แซ่สารป้องกันเชื้อรา แมนโคแซบ 80 WP. ความเข้มข้น 0.1 % ai.เป็นเวลา 30 นาที ล้างด้วยน้ำสะอาดแล้วนำไปฟอกต่อตามวิธีต่างๆ 5 วิธีการ คือ

- 1) ฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง
- 2) ฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 10 นาที ตามด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.5 % เป็นเวลา 5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง
- 3) ฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 15 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง
- 4) ฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5 % เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง
- 5) ฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5 % เป็นเวลา 15 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง

ทุกวิธีการใช้ทวิน-20 หยดลงในสารฟอกฆ่าเชื้อ 2 หยดต่อสารฟอกฆ่าเชื้อ 100 มิลลิลิตร หลังจากการฟอกฆ่าเชื้อตัดชิ้นส่วนให้สั้นลงเหลือขนาดประมาณ 1.5 เซนติเมตร หรือมีตายอดและหรือตาข้าง 1-2 ตา นำไปวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ขวดละ 1 ชิ้น โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD ทำ 4 ซ้ำๆ ละ 5 ขวด นำขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อไปวางบนชั้นในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่ออุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 1,835 -3,000 ลักซ์. เป็นเวลา 14 ชั่วโมง/วัน ตรวจนับเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนและเปอร์เซ็นต์การตายของชิ้นส่วนปลายยอดหรือตาข้าง เป็นเวลา 7 14 21 และ 28 วัน หลังการฟอกฆ่าเชื้อ นำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติโดยใช้ F-test และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT (ทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีดังกล่าวจำนวน 2 ครั้ง ครั้งที่1 อยู่ในช่วง วันที่ 19 กรกฎาคม 2553 ถึง วันที่ 16 สิงหาคม 2553 ครั้งที่ 2 อยู่ในช่วงวันที่ 23 สิงหาคม 2553 ถึงวันที่ 21 กันยายน 2553 โดยครั้งที่ 2 ใช้อาหาร MS ผสมวิตามินซี 0.1 กรัม/ลิตร) และครั้ง

ที่ 3 ซึ่งอยู่ในช่วงวันที่ 7 กันยายน 2553 ถึง วันที่ 5 ตุลาคม 2553 ได้ทดลองพอกฆ่าเชื้อเพิ่มเติมอีก 3 วิธีการรวมเป็น 8 วิธีการ ดังนี้

1) พอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง

2) พอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 10 นาที ตามด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.5 % เป็นเวลา 5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง

3) พอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 15 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง

4) พอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5 % เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง

5) พอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5 % เป็นเวลา 15 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง

6) พอกฆ่าเชื้อด้วยคลอโรกซ์ (โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 7 % ai.) 10 % เป็นเวลา 10 นาที พอกต่อด้วย สเตริบโตรมัยซินซัลเฟต 0.5 % เป็นเวลา 15 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง (ก่อนพอกฆ่าเชื้อสารป้องกันเชื้อราแมนโคเซ็บ 80 WP. 0.2 % ai. เป็นเวลา 30 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น)

7) พอกฆ่าเชื้อด้วยคลอโรกซ์ 15 % เป็นเวลา 15 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ 4 ครั้ง (ก่อนพอกฆ่าเชื้อสารป้องกันเชื้อราแมนโคเซ็บ 80 WP. 0.5 % ai. เป็นเวลา 30 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น)

8) พอกด้วยเมอร์คิวริกคลอไรด์ (HgCl_2) 0.1 % เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ 4 ครั้ง (ก่อนพอกฆ่าเชื้อสารป้องกันเชื้อราแมนโคเซ็บ 80 WP. 0.5 % ai. เป็นเวลา 30 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น)

ทุกวิธีการใช้ฟีน-20 หยดลงในสารพอกฆ่าเชื้อ 2 หยดต่อสารพอกฆ่าเชื้อ 100 มิลลิตร หลังจากการพอกฆ่าเชื้อตัดชิ้นส่วนให้สั้นลงเหลือขนาดประมาณ 1.5 เซนติเมตร หรือมีตายอดและหรือตาข้าง 1-2 ตา นำไปวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS+วิตามินซี 0.1 % ขวดละ 1 ชิ้น (ยกเว้นวิธีการที่ 7-8 ใช้อาหารสูตร MS+วิตามินซี 0.1 % + สเตริบโตรมัยซินซัลเฟต 0.1%) โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD ทำ 4 ซ้ำๆละ 5 ขวด นำขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อไปวางบนชั้นในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่ออุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 1,835 -3,000 ลักซ์ เป็นเวลา 14 ชั่วโมง/วัน ตรวจนับเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนและเปอร์เซ็นต์การตายของชิ้นส่วนปลายยอดหรือตาข้าง เป็นเวลา 7 14 21 และ 28 วัน หลังการพอกฆ่าเชื้อ นำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติโดยใช้ F-test และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

3.2 การชักนำยอดและแคลลัสของตะบูนดำ โดยนำส่วนปลายยอดตาข้าง และใบอ่อนของตะบูนดำมาแช่สารกันราแมนโคเซ็บ 80 WP ความเข้มข้น 0.4 % ai. เป็นเวลา 30 นาที ล้างน้ำสะอาด แล้วฟอกฆ่าเชื้อด้วยเมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.1 % เป็นเวลา 15 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที นำไปเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ ดังรายละเอียดดังนี้

3.2.1 การชักนำยอดจากปลายยอดและตาข้าง หลังการฟอกฆ่าเชื้อตัดปลายยอดและตาข้างความยาวประมาณ 1.0 -1.5 เซนติเมตร ลงเลี้ยงในอาหารสูตร MS และ WPM ร่วมกับ BAP 0 1 2 4 6 8 10 12 14 และ 16 มิลลิกรัม/ลิตร สิ่งทดลองละ 5 ซ้ำๆ ละ 2 ขวด ๆ ละ 1 ชั้น เลี้ยงในห้องอุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 1,835-3,000 ลักซ์ เป็นเวลา 14 ชั่วโมง/วัน บันทึกผลการเจริญและพัฒนาเป็นเวลา 2 เดือน และทดลองซ้ำโดยเพิ่มวิตามินซี 0.1 % ลงในอาหารทุกสูตร

3.2.2 การชักนำแคลลัสและยอดจากใบอ่อนครั้งที่ 1 หลังฟอกฆ่าเชื้อตัดใบเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5x0.5 เซนติเมตร เลี้ยงบนอาหาร WPM ผสมสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA NAA และ 2,4-D อัตราต่างๆ รวม 10 สูตร คือ

สูตรที่ 1	WPM ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต
สูตรที่ 2	WPM+IAA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร
สูตรที่ 3	WPM+IAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร
สูตรที่ 4	WPM+IAA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร
สูตรที่ 5	WPM+NAA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร
สูตรที่ 6	WPM+NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร
สูตรที่ 7	WPM+NAA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร
สูตรที่ 8	WPM+2,4-D 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร
สูตรที่ 9	WPM+2,4-D 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร
สูตรที่ 10	WPM+2,4-D 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร

วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 5 ซ้ำๆ ละ 3 ขวดๆ ละ 2 ชั้น วางแผนใบโดยหงายใต้ใบอยู่ด้านบน เลี้ยงในสภาพเช่นเดียวกับข้อ 3.2.1 บันทึกผลหลังเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน และ 3 เดือน ด้วยการให้คะแนน 5 ระดับ คือ

คะแนน 0	เท่ากับ	ขึ้นส่วนตาย
คะแนน 1	เท่ากับ	ขนาดเท่าเดิมและยังคงมีสีเขียว
คะแนน 2	เท่ากับ	ขยายขนาดขึ้นและยังคงมีสีเขียว
คะแนน 3	เท่ากับ	เจริญและพัฒนาเป็นแคลลัส
คะแนน 4	เท่ากับ	เจริญและพัฒนาเป็นต้น

นำค่าระดับคะแนนเฉลี่ยไปวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ F-test และหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT และหลังจากนั้นย้ายเปลี่ยนอาหารทุก 2 เดือน เป็นเวลา 11 เดือน เพื่อดูการเจริญและพัฒนาเพิ่มเติม

3.2.3 การชักนำแคลลัสและยอดจากใบอ่อนครั้งที่ 2 หลังฟอกฆ่าเชื้อตัดใบเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 1.0x1.0 เซนติเมตร เลี้ยงบนอาหาร WPM ผสมสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA NAA และ 2,4-D อัตราต่างๆ รวม 10 สูตร เช่นเดียวกับข้อ 3.2.3

3.2.4 การชักนำแคลลัสและยอดจากใบอ่อนครั้งที่ 3 นำใบอ่อนที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 1.0x1.0 เซนติเมตร วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ลดธาตุอาหารลงครึ่งหนึ่ง ($\frac{1}{2}$ MS) ร่วมกับ BAP และ NAA อัตราต่างๆ จำนวน 12 สูตร คือ

สูตรที่ 1	$\frac{1}{2}$ MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต
สูตรที่ 2	$\frac{1}{2}$ MS+BAP 0.03 มิลลิกรัม/ลิตร
สูตรที่ 3	$\frac{1}{2}$ MS+ BAP 0.05 มิลลิกรัม/ลิตร
สูตรที่ 4	$\frac{1}{2}$ MS+BAP 0.10 มิลลิกรัม/ลิตร
สูตรที่ 5	$\frac{1}{2}$ MS+NAA 0.04 มิลลิกรัม/ลิตร
สูตรที่ 6	$\frac{1}{2}$ MS+NAA 0.06 มิลลิกรัม/ลิตร
สูตรที่ 7	$\frac{1}{2}$ MS+BAP 0.03 มิลลิกรัม/ลิตร+NAA 0.04 มิลลิกรัม/ลิตร
สูตรที่ 8	$\frac{1}{2}$ MS+BAP 0.05 มิลลิกรัม/ลิตร+NAA 0.04 มิลลิกรัม/ลิตร
สูตรที่ 9	$\frac{1}{2}$ MS+BAP 0.10 มิลลิกรัม/ลิตร+NAA 0.04 มิลลิกรัม/ลิตร
สูตรที่ 10	$\frac{1}{2}$ MS+BAP 0.03 มิลลิกรัม/ลิตร+NAA 0.06 มิลลิกรัม/ลิตร
สูตรที่ 11	$\frac{1}{2}$ MS+BAP 0.05 มิลลิกรัม/ลิตร+NAA 0.06 มิลลิกรัม/ลิตร
สูตรที่ 12	$\frac{1}{2}$ MS+BAP 0.10 มิลลิกรัม/ลิตร+NAA 0.06 มิลลิกรัม/ลิตร

วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 5 ซ้ำๆ ละ 3 ขวดๆ ละ 2 ชั้น หายไปชั้น เลี้ยงในสภาพแวดล้อมเช่นเดียวกับ ข้อ 3.2.1 และ 3.2.2 บันทึกผลการเจริญและพัฒนาของชิ้นส่วนใบหลังเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน

3.2.5 ชักนำแคลลัสและยอดจากใบอ่อนครั้งที่ 4 นำใบอ่อนที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 1.0 x 1.0 เซนติเมตร วางเลี้ยงบนอาหารสูตร WPM เช่นเดียวกับ ข้อ 3.2.2 และ 3.2.3 จำนวน 10 สูตร

วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 5 ซ้ำๆ ละ 2 ขวดๆ ละ 2 ชั้น หายไป 1 ชั้น คว่ำใบ 1 ชั้น เลี้ยงในสภาพมีแสงเช่นเดียวกับ ข้อ 3.2.1-3.2.3 1 ชุด และเลี้ยงในสภาพไม่มีแสง 1 ชุด อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียสเช่นเดียวกัน บันทึกผลการเจริญและพัฒนาของใบอ่อนเป็นเวลา 2 เดือน

3.3 การชักนำราก โดยการวางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD เลือกชนิดของอาหารที่ต้นตะบูนดำเจริญเติบโตได้ดีในการทดลองที่ 3.2 (MS หรือ WPM) และใช้ฮอร์โมนเร่งราก 2 ชนิด ได้แก่ IBA และ NAA อัตราต่างๆ กันคือ 0.1 0.5 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัม/ลิตร จำนวน 4 ข้ำ ตาละข้ำใช้อาหาร 5 ขวด แต่ละขวดใช้ตะบูนดำ 2 ยอด(แต่เนื่องจากผลการชักนำยอดในข้อ 3.2 ไม่ประสบผลสำเร็จจึงไม่สามารถทำการทดลองชักนำรากได้)

3.4 การย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ มีการวางแผนนำขวดเลี้ยงต้นตะบูนดำที่ออกรากดีแล้วไปปรับสภาพอุณหภูมิในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อประมาณ 1 สัปดาห์ นำต้นออกจากขวด ล้างรากออกจากรากให้สะอาด แยกกันราประมาณ 10 นาที นำออกปลูกในตะกร้าพลาสติกที่ใช้วัสดุปลูกต่างๆ จำนวน 4 แบบ คือ 1) ใช้ทราย : ถ่านแกลบ อัตราส่วน 2:1 2) ใช้ทราย : ถ่านแกลบ อัตราส่วน 1:1 3) ใช้ทราย : ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 2:1 และ 4) ใช้ทราย : ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1

วางแผนการทดลองแบบ CRD ให้วัสดุปลูกเป็นสิ่งทดลองๆ ละ 4 ข้ำๆ ละ 20 ต้น ใช้ถุงพลาสติกคลุมทับตะกร้าเพื่อควบคุมความชื้นของเนื้อเยื่อประมาณ 2 สัปดาห์ ค่อยๆ เปิดถุงพลาสติกเพื่อปรับความชื้น แล้วจึงย้ายลงเลี้ยงในถุงพลาสติกสีดำ โดยใช้วัสดุชนิดที่เลี้ยงต้นจากการเพาะเมล็ดแล้วได้ผลดีดูแลรดน้ำและให้ปุ๋ยเป็นครั้งคราว จนต้นตะบูนดำมีความสูงไม่ต่ำกว่า 30 เซนติเมตร จึงนำออกปลูกในป่าชายเลนต่อไป (ไม่สามารถดำเนินการได้เนื่องจากไม่สามารถชักนำยอดหรือต้นจากการเลี้ยงเนื้อเยื่อของตายอดตาข้าง และใบอ่อนได้)

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

การศึกษาการขยายพันธุ์ของตะบูนดำด้วยการเพาะเมล็ด การปักชำ และการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีผลการวิจัยดังต่อไปนี้

1. การขยายพันธุ์ตะบูนดำด้วยการเพาะเมล็ด หลังจากนำเมล็ดตะบูนดำเพาะในวัสดุที่แตกต่างกัน 8 ชนิด ได้แก่ 1) ดินเลนจากป่าชายเลน 2) ดินปนทราย 3) ถ่านแกลบ 4) ขุยมะพร้าว 5) ดินปนทราย+ถ่านแกลบ อัตราส่วน 1: 1 6) ดินปนทราย+ขุยมะพร้าวอัตราส่วน 1:1 7) ถ่านแกลบ+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 และ 8) ดินปนทราย + ถ่านแกลบ+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1:1 พบว่า

1.1 จำนวนวันที่เมล็ดเริ่มงอกและเปอร์เซ็นต์การงอกด้านจำนวนวันที่เมล็ดเริ่มงอก พบว่าการเพาะเมล็ดตะบูนดำในถ่านแกลบ+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 จะมีการงอกของเมล็ดเร็วที่สุด มีค่าเฉลี่ย 10.33 วัน รองลงมาได้แก่การเพาะเมล็ดในถ่านแกลบ ดินปนทราย+ถ่านแกลบ อัตราส่วน 1:1 ขุยมะพร้าว ดินปนทราย ดินปนทราย+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 และดินปนทราย + ถ่านแกลบ +ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1:1 ให้จำนวนวันเมล็ดเริ่มงอก เฉลี่ย 17.89 24.06 26.80 26.82 27.43 และ 28.47 วันตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) กับการเพาะเมล็ดในดินเลนจากป่าชายเลนซึ่งมีจำนวนวันเมล็ดงอกเฉลี่ย 55.48 วัน (ดังภาพที่ 5 และตารางที่ 1)



ภาพที่ 5 เมล็ดตะบูนดำที่งอกในถ่านแกลบเป็นเวลา 1 เดือน

ตารางที่ 1 จำนวนวันเฉลี่ยที่เมล็ดตะบูนดำเริ่มงอกในวัสดุที่ต่างกัน 8 ชนิด

สิ่งทดลอง	จำนวนวันเฉลี่ยที่เมล็ดเริ่มงอก
1.ดินเลนจากป่าชายเลน	55.48 ^a
2.ดินปนทราย	26.82 ^b
3.ถ่านแกลบ	17.89 ^b
4.ขุยมะพร้าว	26.06 ^b
5.ดินปนทราย+ถ่านแกลบ อัตราส่วน 1:1	24.06 ^b
6.ดินปนทราย+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1	27.43 ^b
7.ถ่านแกลบ+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1	10.33 ^b
8.ดินปนทราย+ถ่านแกลบ+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1:1	28.47 ^b
F-test	**
CV (%)	38.64

หมายเหตุ : ** = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่อยู่หลังค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าการใช้ถ่านแกลบ ขุยมะพร้าวหรือวัสดุที่มีถ่านแกลบหรือขุยมะพร้าวเป็นส่วนประกอบจะมีการงอกเร็ว ทั้งนี้เนื่องจากขุยมะพร้าวมีการอุ้มน้ำดี ส่วนถ่านแกลบมีความโปร่งและอุ้มน้ำได้ดีเช่นเดียวกับขุยมะพร้าว โดยน้ำเป็นปัจจัยสำคัญมากต่อการงอกของเมล็ด เนื่องจากช่วยให้เปลือกหุ้มเมล็ดอ่อนลง เนื้อเยื่อภายในเมล็ดขยายใหญ่ขึ้น และช่วยให้แก๊สออกซิเจนผ่านสู่เซลล์ของเอ็มบริโอได้ง่ายขึ้น ซึ่งออกซิเจนจะให้พลังงานเพื่อใช้ในการงอกของเมล็ด สอดคล้องกับการศึกษาของทัศนีย์ อัดตะนันท์ (2553) ที่พบว่าโครงสร้างของถ่านแกลบจะมีลักษณะพรุนหรือมีช่องว่าง 80 % และอุ้มน้ำได้ 40 % เหมาะแก่การงอกของเมล็ด

ส่วนเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดตะบูนดำ หลังการเพาะเมล็ดตะบูนดำในวัสดุต่างๆ เป็นเวลา 30 วัน พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยการเพาะในดินปนทราย+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุดเท่ากับ 53.33 % รองลงมาคือการเพาะในดินปนทราย และขุยมะพร้าว มีเปอร์เซ็นต์การงอก 46.67 % และ 40.00 % ตามลำดับ แตกต่างกับการเพาะในดินเลนจากป่าชายเลนซึ่งในเวลา 30 วัน ยังไม่พบการงอกเลย แต่เมื่อเพาะไปเป็นระยะเวลา 60 วัน พบว่าการเพาะในดินปนทราย ดินปนทราย+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 และขุยมะพร้าวให้เปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุดเท่ากับ 70.00 % ไม่แตกต่างทางสถิติกับการเพาะในดินเลนจากป่าชายเลนซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การงอกเท่ากับ 60.00 % แต่แตกต่างกับการเพาะในถ่านแกลบ และถ่าน

แกลบ+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ที่มีเปอร์เซ็นต์การงอกเพียง 16.67 % และ 10.00 % ตามลำดับ (ตารางที่ 2) เนื่องจากดินปนทราย ขุยมะพร้าว ดินจากป่าชายเลน มีโครงสร้างที่หนาแน่น และสามารถเก็บกักน้ำได้ดีและนานกว่าถ่านแกลบหรือถ่านแกลบ+ขุยมะพร้าวอัตราส่วน 1:1 ซึ่งแม้ว่าจะสามารถอุ้มน้ำได้ดี แต่มีโครงสร้างที่โปร่งจึงสูญเสียน้ำได้เร็วเช่นเดียวกัน อาจไม่เพียงพอต่อการงอกของเมล็ดตะบูนดำซึ่งเมล็ดขนาดใหญ่ต้องการน้ำมาก สอดคล้องกับการทดลองของทิพย์ดรุณี สิทธิ นาม (2547) ที่พบว่าการใช้ขุยมะพร้าวสตร่อนหยาบเป็นวัสดุเพาะไม้ดอกกระถางมีอัตราการงอกสูงที่สุด ส่วนการใช้ขุยมะพร้าวหมักนาน 4 เดือน + ถ่านแกลบหมักนาน 4 เดือน อัตราส่วน 2:1 มีอัตราการงอกต่ำที่สุด

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดตะบูนดำหลังจากเพาะเมล็ด เป็นเวลา 30 วัน และ 60 วัน

สิ่งทดลอง	เปอร์เซ็นต์การงอก	
	30 วัน	60 วัน
1.ดินเลนจากป่าชายเลน	0.00 ^b	60.00 ^a
2.ดินปนทราย	46.67 ^a	70.00 ^a
3.ถ่านแกลบ	6.67 ^b	16.67 ^b
4.ขุยมะพร้าว	40.00 ^a	70.00 ^a
5.ดินปนทราย+ถ่านแกลบ อัตราส่วน1:1	20.00 ^a	56.67 ^a
6.ดินปนทราย+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน1:1	53.33 ^b	70.00 ^a
7.ถ่านแกลบ+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1	3.33 ^b	10.00 ^b
8.ดินปนทราย+ถ่านแกลบ+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1:1	20.00 ^b	66.67 ^a
F-test	**	**
CV (%)	44.90	26.08

หมายเหตุ : ** = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่อยู่หลังค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

1.2 การเจริญเติบโตของต้นกล้าตะบูนดำ

1.2.1 ความสูงของลำต้น หลังการงอกในเดือนที่ 1 พบว่าลำต้นตะบูนดำที่เจริญในดินปนทราย + ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 จะมีความสูงเฉลี่ยมากที่สุดเฉลี่ย 23.94 เซนติเมตร รองลงมาคือการเจริญในดินปนทราย ดินเลนจากป่าชายเลน ขุยมะพร้าว ดินปนทราย+ถ่านแกลบ

อัตราส่วน 1:1 ดินปนทราย+ถ่านแกลบ+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1:1 มีความสูงเฉลี่ย 23.82 20.33 20.25 19.86 และ 18.10 เซนติเมตร ตามลำดับ แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) กับต้นตะบูนดำที่เจริญในถ่านแกลบ+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 และถ่านแกลบที่มีความสูงเฉลี่ย 4.67 และ 2.28 เซนติเมตร ตามลำดับ และทำนองเดียวกันหลังการงอกในเดือนที่ 2 ถึงเดือนที่ 4 ตะบูนดำที่เจริญในวัสดุกลุ่มแรกมีความสูงเฉลี่ยแตกต่างจากต้นตะบูนดำที่เจริญในวัสดุกลุ่มที่ 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) คือถ่านแกลบ+ขุยมะพร้าว และถ่านแกลบ โดยต้นตะบูนดำที่เจริญในดินปนทราย+ ถ่านแกลบ มีความสูงเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 61.20 เซนติเมตร รองลงมาในดินปนทราย ดินปนทราย+ถ่านแกลบ+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1:1 ดินปนทราย+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ดินเลนจากป่าชายเลน ขุยมะพร้าว มีความสูง เฉลี่ย 59.01 57.94 57.35 57.20 และ 56.42 ตามลำดับ และในถ่านแกลบ+ขุยมะพร้าว มีความสูงเฉลี่ยน้อยที่สุดเท่ากับ 16.10 เซนติเมตร ในเดือนที่ 4 (ดังตารางที่ 3 และภาพที่ 6) ซึ่งค่อนข้างสอดคล้องกับงานทดลองของ สาวิตรี วีระเสถียร (2545) ที่พบว่าบานขึ้นหนูที่เจริญในขุยมะพร้าวจะมีการเจริญในด้านความสูงมากที่สุด

ตารางที่ 3 ความสูงเฉลี่ยของต้นตะบูนดำ (เซนติเมตร) ที่เจริญในวัสดุต่างๆ หลังการงอกเดือนที่1-4

สิ่งทดลอง	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่3	เดือนที่ 4
1.ดินเลนจากป่าชายเลน	20.33 ^a	41.20 ^a	54.63 ^A	57.20 ^A
2.ดินปนทราย	23.82 ^a	51.90 ^a	57.77 ^A	59.01 ^A
3.ถ่านแกลบ	2.86 ^b	14.17 ^b	20.31 ^B	30.78 ^B
4.ขุยมะพร้าว	20.25 ^a	48.13 ^a	55.21 ^A	56.42 ^A
5.ดินปนทราย+ถ่านแกลบ อัตราส่วน 1:1	19.96 ^a	53.85 ^a	60.55 ^A	61.20 ^A
6.ดินปนทราย+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1	23.94 ^a	48.56 ^a	56.27 ^A	57.35 ^A
7.ถ่านแกลบ+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1	4.67 ^b	14.67 ^b	15.94 ^B	16.10 ^B
8.ดินปนทราย+ถ่านแกลบ+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1:1	18.10 ^a	47.76 ^a	96.65 ^A	57.94 ^A
F-test	**	**	*	*
CV (%)	35.17	33.28	35.45	33.24

หมายเหตุ : * = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

** = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่อยู่หลังค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่ที่อยู่หลังค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 6 เปรียบเทียบความสูงของลำต้นตะบูนดำในเดือนที่ 1 ในดินปนทราย+ขุยมะพร้าว+ถ่านแกลบ อัตราส่วน 1:1:1 (A) และดินเลนจากป่าชายเลน (B)

1.2.2 เส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้น หลังการงอกเดือนที่ 1-3 ต้นตะบูนดำที่เจริญในดินเลนจากป่าชายเลน ดินปนทราย ขุยมะพร้าว ดินปนทราย+ถ่านแกลบ อัตราส่วน 1:1 ดินปนทราย+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ดินปนทราย+ถ่านแกลบ+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1:1 มีเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่าต้นตะบูนดำที่เจริญในถ่านแกลบ และดินปนทราย+ถ่านแกลบ อัตราส่วน 1:1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในเดือนที่ 4 เส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้นตะบูนดำที่เจริญในวัสดุต่างๆ เหล่านี้ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่เส้นผ่านศูนย์กลางของตะบูนดำที่เจริญในถ่านแกลบและถ่านแกลบ+ขุยมะพร้าวอัตราส่วน 1:1 มีแนวโน้มน้อยกว่าที่เจริญในวัสดุอื่นๆ เช่นเดียวกับการเจริญด้านความสูง (ดังตารางที่ 4) อาจเนื่องจากวัสดุทั้งสองนี้มีระดับ pH ค่อนข้างสูง (ถ่านแกลบ pH เท่ากับ 8.72 ถ่านแกลบ+ขุยมะพร้าว pH เท่ากับ 7.69) ไม่เหมาะแก่การเจริญของต้นตะบูนดำซึ่งเจริญได้ดีในดินที่เป็นกรด (ชัยสิทธิ์ ตระกูลศิริพานิชย์, 2545) และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของต้นตะบูนดำเดือนที่ 3-4 จะค่อยๆ ลดลงเนื่องจากการยึดตัวของลำต้นที่เจริญด้านความสูงเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 4 เส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้นตะบูนดำ (เซนติเมตร) ในวัสดุต่างๆ หลังการงอกเดือนที่ 1-4

สิ่งทดลอง	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4
1.ดินเลนจากป่าชายเลน	0.48 ^a	0.43 ^a	0.36 ^a	0.30
2.ดินปนทราย	0.49 ^a	0.41 ^a	0.36 ^a	0.31
3.ถ่านแกลบ	0.18 ^b	0.14 ^b	0.11 ^b	0.10
4.ขุยมะพร้าว	0.46 ^a	0.40 ^a	0.33 ^a	0.30
5.ดินปนทราย+ถ่านแกลบ อัตราส่วน 1:1	0.43 ^a	0.38 ^a	0.32 ^a	0.30
6.ดินปนทราย+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1	0.45 ^a	0.38 ^a	0.33 ^a	0.31
7.ถ่านแกลบ+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1	0.15 ^b	0.13 ^b	0.11 ^b	0.10
8.ดินปนทราย+ถ่านแกลบ+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1:1	0.45 ^a	0.39 ^a	0.31 ^a	0.29
F-test	*	*	*	ns
CV (%)	37.83	35.90	35.24	33.24

หมายเหตุ : ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่อยู่หลังค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

1.2.3 ความกว้างและความยาวใบ หลังการงอกของตะบูนดำในเดือนที่ 1 ต้นตะบูนดำที่เจริญในดินปนทราย ขุยมะพร้าว ดินปนทราย+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 จะมีความกว้างใบมากกว่า ดินปนทราย+ถ่านแกลบ อัตราส่วน 1:1 แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยต้นตะบูนดำที่เจริญในดินเลนจากป่าชายเลน ถ่านแกลบ และถ่านแกลบ+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ใบยังไม่แตกออกมา หลังการงอกเดือนที่ 2-3 ความกว้างของใบตะบูนดำที่เจริญในดินเลนจากป่าชายเลน ดินปนทราย ขุยมะพร้าว ดินปนทราย+ถ่านแกลบ อัตราส่วน 1:1 และดินปนทราย+ถ่านแกลบ+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1:1 จะมากกว่าที่เจริญในถ่านแกลบ และถ่านแกลบ+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ในเดือนที่ 4 หลังการงอก ความกว้างของใบที่เจริญในวัสดุต่างๆ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ดังตารางที่ 5 และภาพที่ 7A)

ส่วนความยาวของใบตะบูนดำหลังการงอกในเดือนที่ 1-3 เป็นไปในทำนองเดียวกับ ความกว้างของใบ โดยตะบูนดำที่เจริญในดินเลนจากป่าชายเลน ดินปนทราย ขุยมะพร้าว ดินปนทราย+ถ่านแกลบ อัตราส่วน 1:1 ดินปนทราย+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 และดินปนทราย+ถ่านแกลบ+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1:1 ให้ความกว้างใบแตกต่างทางสถิติกับตะบูนดำที่เจริญในถ่านแกลบ และถ่านแกลบ + ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 แต่ในเดือนที่ 4 ความยาวของใบที่เจริญในวัสดุทั้งสองกลุ่ม

ยังคงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยตะบูนดำที่เจริญในดินปนทราย + ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 มีความยาวมากที่สุดเท่ากับ 7.89 เซนติเมตร (ดังตารางที่ 6 และภาพที่ 7B) ซึ่งผลการทดลองด้านความกว้างและความยาวของใบตะบูนดำนี้ ค่อนข้างแตกต่างกับการทดลองของ ทิพย์ดรุณี สิทธินาม (2547) ที่พบว่าการใช้ขุยมะพร้าว+ถ่านแกลบ อัตราส่วน 2:1 ใบบานขึ้นหนจะ ความกว้างมากกว่าการใช้ขุยมะพร้าวอย่างเดียว โดยการใช้ขุยมะพร้าวใบจะมีความกว้างน้อยที่สุด

ตารางที่ 5 ความกว้างใบตะบูนดำ (เซนติเมตร) ในวัสดุต่างๆ หลังการงอกเดือนที่ 1-4

สิ่งทดลอง	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4
1.ดินเลนจากป่าชายเลน	0.00 ^c	2.59 ^a	2.87 ^a	3.13
2.ดินปนทราย	2.47 ^a	2.79 ^a	3.05 ^a	3.30
3.ถ่านแกลบ	0.00 ^c	0.85 ^b	0.94 ^b	1.91
4.ขุยมะพร้าว	2.55 ^a	2.73 ^a	2.97 ^a	3.22
5.ดินปนทราย+ถ่านแกลบ อัตราส่วน 1:1	1.66 ^{ab}	2.66 ^a	2.89 ^a	3.15
6.ดินปนทราย+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1	2.53 ^a	2.58 ^a	2.78 ^a	3.02
7.ถ่านแกลบ+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1	0.00 ^c	0.89 ^b	0.95 ^b	1.05
8.ดินปนทราย+ถ่านแกลบ+ ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1:1	0.77 ^{bc}	2.60 ^a	2.82 ^a	3.09
F-test	*	*	*	ns
CV (%)	55.76	34.31	35.11	32.16

หมายเหตุ : ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่อยู่หลังค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

ตารางที่ 6 ความยาวใบตะบูนดำ (เซนติเมตร) ในวัสดุต่างๆ หลังการงอกเดือนที่ 1-4

สิ่งทดลอง	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4
1.ดินเลนจากป่าชายเลน	0.00 ^d	6.24 ^a	6.21 ^a	6.73 ^A
2.ดินปนทราย	6.67 ^a	6.38 ^a	6.69 ^a	7.05 ^A
3.ถ่านแกลบ	0.00 ^d	1.86 ^b	1.96 ^b	3.86 ^B
4.ขุยมะพร้าว	5.62 ^{ab}	6.11 ^a	6.65 ^a	7.14 ^A
5.ดินปนทราย+ถ่านแกลบ อัตราส่วน 1:1	3.62 ^{bc}	5.99 ^a	6.84 ^a	7.56 ^A
6.ดินปนทราย+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1	5.61 ^{ab}	6.42 ^a	7.16 ^a	7.89 ^A
7.ถ่านแกลบ+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1	0.00 ^d	2.02 ^b	2.25 ^b	2.48 ^B
8.ดินปนทราย+ถ่านแกลบ+ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1:1	1.57 ^{cd}	6.26 ^a	7.01 ^a	7.77 ^A
F-test	**	**	**	*
CV (%)	52.49	32.77	35.11	30.76

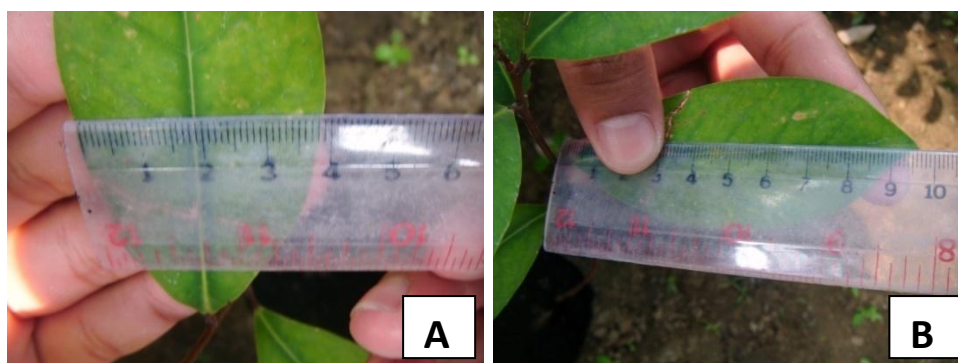
หมายเหตุ : ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

** = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่อยู่หลังค่าเฉลี่ยในแนวนั่งที่ต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่ที่อยู่หลังค่าเฉลี่ยในแนวนั่งที่ต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 7 ภาพแสดงการวัดความกว้างของใบ (A) และความยาวของใบ (B)

2. การขยายพันธุ์ตะบูนดำด้วยการปักชำ หลังการทดลองใช้กิ่งตะบูนดำกิ่งแก่กิ่งอ่อน จุ่มแช่ในสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 2 ชนิด คือ NAA และ IBA ในอัตราต่างๆ กัน แล้วปักชำในถาดแกลบที่บรรจุในถุงพลาสติกสีดำขนาด 4x6 นิ้ว (ดังภาพที่ 8) เป็นเวลา 16 สัปดาห์ บันทึกข้อมูลจำนวนการแตกกิ่งแขนงใหม่ ความยาวกิ่งแขนงใหม่ เปอร์เซ็นต์การออกราก จำนวนราก ความยาวราก และเปอร์เซ็นต์การรอดตายของกิ่งปักชำ พบว่า

2.1 จำนวนกิ่งแขนงใหม่หลังการปักชำ หลังการปักชำกิ่งตะบูนดำในสัปดาห์ที่ 1 และ 2 กิ่งตะบูนดำที่ใช้ NAA 4,500 ppm มีจำนวนกิ่งแขนงใหม่มากที่สุด คือ 9.67 ± 1.44 กิ่ง และ 17.67 ± 2.08 กิ่ง ตามลำดับ รองลงมาคือ IBA 4,000 ppm มีจำนวนกิ่งแขนงใหม่ 7.00 ± 1.00 กิ่ง และ 14.33 ± 1.44 กิ่ง หลังจากนั้นในสัปดาห์ที่ 3 จนถึงสัปดาห์ที่ 16 พบว่ากิ่งปักชำตะบูนดำมีจำนวนกิ่งแขนงใหม่ที่ลดลง อยู่ระหว่าง 9.67 ± 1.53 กิ่ง ถึง 13.33 ± 1.61 กิ่ง และ 0.67 ± 0.58 ถึง 1.33 ± 0.29 กิ่ง ในสัปดาห์ที่ 16 (ดังตารางที่ 7) อาจเนื่องมาจากความสมบูรณ์และการสะสมอาหารของกิ่งปักชำค่อนข้างจำกัด เมื่อปักชำเป็นระยะเวลานานจะมีการใช้สารอาหารของพืชอย่างต่อเนื่อง ทำให้อาหารสะสมไม่เพียงพอในการนำไปใช้ในการเจริญเติบโตของยอดหรือกิ่งแขนงใหม่ หรืออาจเกิดจากปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มออกซิน ซึ่งทำหน้าที่ควบคุมการเจริญเติบโตมายับยั้งการเกิดตาข้างพืชหรือควบคุมการแตกใบและทิ้งใบของพืช (นิรนาม, 2556) และเมื่อทำการปักชำโดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน (NAA, IBA) ด้วยความเข้มข้นที่สูง เป็นสาเหตุ หนึ่งที่ทำให้ใบหลุดร่วงมากขึ้น การสังเคราะห์และสะสมอาหารในกิ่งพืชจึงลดลง การเจริญของกิ่งข้างจึงเกิดขึ้นน้อย



ภาพที่ 8 กิ่งตะบูนดำที่ปักชำในถาดแกลบที่อยู่ในถุงพลาสติกสีดำ ก่อนคลุมด้วยพลาสติกเพื่อรักษาความชื้นให้กิ่งปักชำ

ตารางที่ 7 จำนวนกิ่งแขนงใหม่ของตะบูนดำหลังการปักชำสัปดาห์ที่ 1-16

สิ่งทดลอง	สัปดาห์ที่							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1. ไม่ใช้สาร	2.67±0.58	11.33±1.15	11.00±0.50	6.00±0.50	3.33±1.04	2.67±0.29	3.00±0.87	2.00±1.00
2. ใช้ NAA 4,500 ppm	9.67±1.44	17.67±2.08	11.67±2.75	6.00±0.87	5.00±0.87	5.00±0.50	4.67±1.15	1.33±0.58
3. ใช้ NAA 6,000 ppm	6.00±1.32	13.00±2.18	10.00±1.73	6.00±0.50	3.67±0.29	3.67±0.29	2.67±0.76	1.33±0.76
4. ใช้ IBA 4,000 ppm	7.00±1.00	14.33±1.44	9.67±1.53	7.33±1.26	3.33±0.76	4.33±1.04	5.33±1.53	2.00±0.00
5. ใช้ IBA 6,000 ppm	6.33±0.58	14.33±1.76	13.33±1.61	8.33±0.58	3.33±1.26	3.33±1.26	3.33±0.76	1.00±0.50

สิ่งทดลอง	สัปดาห์ที่							
	9	10	11	12	13	14	15	16
1. ไม่ใช้สาร	2.00±1.00	1.33±0.76	2.00±0.50	3.33±0.29	3.67±0.29	1.33±0.29	0.67±0.29	0.67±0.58
2. ใช้ NAA 4,500 ppm	1.33±0.58	2.00±0.50	2.33±0.29	1.67±0.76	1.33±0.76	0.33±0.29	1.67±0.76	1.33±0.58
3. ใช้ NAA 6,000 ppm	1.33±0.76	1.67±0.58	1.00±0.50	2.00±0.00	1.67±0.76	2.33±1.26	1.00±0.00	1.00±0.00
4. ใช้ IBA 4,000 ppm	2.00±0.00	2.67±0.76	2.67±1.15	3.67±1.15	5.00±1.50	1.67±0.29	0.33±0.29	1.33±0.29
5. ใช้ IBA 6,000 ppm	1.00±0.50	0.67±0.29	1.33±0.76	1.33±0.76	1.67±1.04	0.67±0.29	0.67±0.29	1.00±0.50

หมายเหตุ : คำนวณจากกิ่งตะบูนดำจำนวน 25 กิ่งต่อ 1 ซ้ำ

2.2 ความยาวของกิ่งแขนงใหม่ที่แตกหลังการปักชำ หลังการปักชำมีการบันทึกความยาวกิ่งแขนงที่แตกจากกิ่งปักชำ โดยการสุ่มมา 10 กิ่ง จาก 25 กิ่ง ต่อ 1 ช้ำ พบว่า หลังปักชำ 1 สัปดาห์ กิ่งตะบูนดำที่ใช้ NAA 4,500 ppm มีความยาวกิ่งแขนงใหม่มากที่สุดคือ 1.61 ± 0.12 เซนติเมตร ในขณะที่ในสัปดาห์ที่ 2 IBA 4,000 ppm มีความยาวกิ่งแขนงใหม่มากที่สุด คือ 3.54 ± 0.05 เซนติเมตรหลังจากนั้นในช่วงสัปดาห์ที่ 3 พบว่ากิ่งปักชำตะบูนดำมีความยาวกิ่งแขนงใหม่ลดลงอยู่ระหว่าง 2.83 ± 0.22 เซนติเมตรถึง 3.41 ± 0.07 เซนติเมตรจนถึงสัปดาห์สุดท้ายของการบันทึกข้อมูล กิ่งปักชำตะบูนดำมีความยาวกิ่งแขนงใหม่อยู่ที่ 0.15 ± 0.13 เซนติเมตรถึง 0.38 ± 0.17 เซนติเมตร (ดังตารางที่ 8) ทั้งนี้เป็นไปทำนองเดียวกับจำนวนกิ่งแขนงใหม่ ในข้อ 4.2.1 NAA และ IBA ที่ใช้แช่กิ่งตะบูนดำก่อนการปักชำที่มีผลต่อการสะสมอาหาร และการเจริญของกิ่งข้างหรือกิ่งแขนงใหม่

ตารางที่ 8 ความยาวกิ่งแขนงใหม่จากกิ่งปักชำตะบูนดำ (เซนติเมตร) หลังปักชำในสัปดาห์ที่ 1-16

สิ่งทดลอง	สัปดาห์ที่							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1. ไม่ใช้สาร	0.23±0.06	2.34±0.07	3.41±0.07	1.64±0.15	1.14±0.39	0.92±0.04	0.95±0.28	0.66±0.34
2. ใช้ NAA 4,500 ppm	1.61±0.12	3.39±0.12	3.33±0.28	2.17±0.36	2.02±0.41	1.84±0.17	1.55±0.42	0.46±0.21
3. ใช้ NAA 6,000 ppm	0.56±0.18	2.97±0.03	2.83±0.22	2.20±0.10	1.31±0.11	0.97±0.08	1.06±0.17	0.48±0.26
4. ใช้ IBA 4,000 ppm	0.73±0.11	3.54±0.05	2.96±0.45	2.66±0.51	1.19±0.31	0.87±0.26	1.27±0.44	0.63±0.06
5. ใช้ IBA 6,000 ppm	0.65±0.07	3.09±0.04	3.24±0.02	3.01±0.17	1.12±0.43	0.60±0.26	0.73±0.21	0.26±0.14
สิ่งทดลอง	สัปดาห์ที่							
	9	10	11	12	13	14	15	16
1. ไม่ใช้สาร	0.41±0.20	0.32±0.20	0.43±0.10	0.43±0.11	0.67±0.11	0.43±0.09	0.15±0.08	0.15±0.13
2. ใช้ NAA 4,500 ppm	0.34±0.15	0.48±0.13	0.63±0.11	0.40±0.21	0.33±0.17	0.10±0.09	0.42±0.20	0.38±0.17
3. ใช้ NAA 6,000 ppm	0.31±0.19	0.36±0.12	0.26±0.13	0.56±0.04	0.47±0.21	0.65±0.40	0.22±0.05	0.21±0.05
4. ใช้ IBA 4,000 ppm	0.47±0.03	0.66±0.18	0.73±0.32	0.90±0.26	1.38±0.41	0.59±0.14	0.03±0.03	0.26±0.07
5. ใช้ IBA 6,000 ppm	0.23±0.11	0.18±0.08	0.29±0.14	0.33±0.17	0.44±0.26	0.34±0.15	0.14±0.06	0.25±0.15

หมายเหตุ : คำนวณจากกิ่งปักชำตะบูนดำ 10 กิ่ง ต่อ 1 ซ้ำ

2.3 เปอร์เซ็นต์การเกิดราก จำนวนรากต่อกิ่ง และความยาวรากของกิ่งตะบูนดำหลังการปักชำ หลังการปักชำเป็นเวลา 11 สัปดาห์ พบว่า กิ่งตะบูนดำที่ใช้ NAA 4,500 ppm มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเฉลี่ย 2.67 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนรากเฉลี่ยต่อกิ่งที่เกิดราก 1.50 ราก และ มีความยาวรากเฉลี่ยต่อกิ่งที่เกิดราก 8.23 เซนติเมตร ในขณะที่สิ่งทดลองอื่นๆ ยังไม่มีรากเกิดขึ้น จนถึงสัปดาห์ที่ 16 พบว่า ทุกสิ่งทดลองมีรากเกิดขึ้นโดยกิ่งตะบูนดำที่ใช้ NAA 4,500 ppm และ IBA 4,000 ppm มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเฉลี่ย 5.33 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา IBA 6,000 ppm มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเฉลี่ย 2.67 เปอร์เซ็นต์ และกิ่งปักชำที่ใช้ NAA 4,500 ppm มีความยาวรากเฉลี่ย 5.67 เซนติเมตร รองลงมาคือ กิ่งปักชำที่ใช้ IBA 4,000 ppm มีความยาวรากเฉลี่ยต่อกิ่งที่เกิดราก 3.84 เซนติเมตร (ดังตารางที่ 9 และภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 การเกิดรากของกิ่งตะบูนดำหลังการปักชำ 16 สัปดาห์ โดยใช้สาร NAA 4,500 ppm (A) และใช้สาร IBA 4,000 ppm (B)

ตารางที่ 9 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดราก จำนวนรากต่อกิ่ง และความยาวรากของกิ่งตะบูนดำ หลังการปักชำ

สิ่งทดลอง	เปอร์เซ็นต์การเกิดราก		จำนวนรากต่อกิ่ง		ความยาวราก (เซนติเมตร)	
	12	16	12	16	12	16
	สัปดาห์	สัปดาห์	สัปดาห์	สัปดาห์	สัปดาห์	สัปดาห์
1. ไม่ใช้สาร	-	1.33	-	1.00	-	1.10
2. ใช้ NAA 4,500 ppm	2.67	5.33	1.50	6.50	8.23	5.67
3. ใช้ NAA 6,000 ppm	-	1.33	-	1.00	-	1.20
4. ใช้ IBA 4,000 ppm	-	5.33	-	1.75	-	3.84
5. ใช้ IBA 6,000 ppm	-	2.67	-	1.00	-	0.50

จากตารางที่ 9 จะเห็นได้ว่ากิ่งปักชำตะบูนดำที่ใช้ NAA 4,500 ppm และ IBA 4,000 ppm มีการออกรากเฉลี่ย 5.33 % ดีกว่าสิ่งทดลองอื่นๆ แต่นับว่ากิ่งตะบูนดำมีการออกรากน้อยมาก อาจเนื่องจากวัสดุที่ใช้ในการปักชำไม่เหมาะสม โดยวัสดุที่ใช้ปักชำในครั้งนี้คือถ่านแกลบซึ่งมีความเป็นด่าง โดยชูชาติ แสงภูพาน (2555) กล่าวว่า การปักชำส่วนใหญ่นิยมใช้ถ่านแกลบผสมทรายละเอียด ในอัตราส่วน 1:1 และนอกจากนี้ สุนันทา ขจรศรีชล (2555) ได้ทดลองพัฒนากล้าไม้สักพันธุ์ดีด้วยกิ่งปักชำ โดยศึกษาอิทธิพลของวัสดุชำต่อการแตกรากของกิ่งปักชำจากกล้าไม้สัก พบว่า การใช้ถ่านแกลบผสมทรายในอัตราส่วน 2:1 จะเป็นวัสดุปักชำที่ดีที่สุด และทำให้กิ่งปักชำมีเปอร์เซ็นต์การแตกราก 93.75 %

ส่วนจำนวนรากเฉลี่ยต่อกิ่ง จะเห็นได้ว่ากิ่งปักชำที่ใช้ NAA 4,500 ppm มีจำนวนรากต่อกิ่ง 6.50 ราก มากกว่าสิ่งทดลองอื่นๆ ค่อนข้างขัดแย้งกับการทดลองกับพืชอื่นๆ เช่น พืชรา ลิมปนะ เวช กุลนาถ ออบสุวรรณ และพิพัฒน์ พัฒนผลไพบูลย์ (2540) ศึกษาการขยายพันธุ์พังกาหัวสุ่มดอกแดงซึ่งเป็นไม้ป่าชายเลนชนิดหนึ่ง โดยนำฝักของพังกาหัวแดงมาตัดเป็นท่อนๆ จุ่มใน IBA และ NAA ความเข้มข้น ตั้งแต่ 10 มิลลิกรัม/ลิตร จนถึง 10,000 มิลลิกรัม/ลิตร พบว่า IBA กระตุ้นให้เกิดรากเฉลี่ยมากกว่า NAA และการทดลองของ จรัส เห็นพิทักษ์ และวิทยา สุริยาภณานนท์ (2536) ที่ศึกษาผลของ NAA ต่อการเกิดรากของกิ่งปักชำ และพบว่า IBA มีประสิทธิภาพดีกว่าสาร NAA ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน ทั้งนี้เนื่องจากเป็นพืชต่างชนิดกันจึงมีการตอบสนองที่ต่างกัน

ด้านความยาวของรากเฉลี่ย การทดลองนี้ค่อนข้างสอดคล้องกับการทดลองของสมชาย เกื้อรอด และราชพร แพรกสงฆ์ (2536) ที่ศึกษาผลของ IBA NAA และ IBA+NAA ในระดับความ

เข้มข้นต่างๆ ต่อการออกรากของกิ่งปักชำมะนาวแป้น พบว่า NAA 4,000 ppm ให้ความยาวรากมากที่สุด 11.25 เซนติเมตร

2.4 เปอร์เซ็นต์การรอดตายของกิ่งตะบูนดำ หลังปักชำ 4 สัปดาห์ พบว่ากิ่งตะบูนดำที่ใช้ NAA 6,000 ppm มีเปอร์เซ็นต์การรอดตาย 92.00 ± 2.00 % หลังจากนั้นในสัปดาห์ที่ 8 กิ่งตะบูนดำมีเปอร์เซ็นต์การรอดตายลดลง อยู่ระหว่าง 76.00 ± 3.46 ถึง 84.00 ± 2 % จนถึงสัปดาห์ที่ 16 ซึ่งเป็นสัปดาห์สุดท้ายของการบันทึกข้อมูล กิ่งปักชำตะบูนดำมีการรอดตาย 44.00-66.67 % (ดังตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 เปอร์เซ็นต์การรอดตายของกิ่งตะบูนดำหลังการปักชำ 4 8 12 และ 16 สัปดาห์

สิ่งทดลอง	สัปดาห์ที่			
	4	8	12	16
1. ไม่ใช้สาร	90.67 ± 1.15	76.00 ± 3.46	62.67 ± 1.15	61.33 ± 5.03
2. ใช้ NAA 4,500 ppm	85.33 ± 3.06	76.00 ± 6.00	64.00 ± 5.29	44.00 ± 4.00
3. ใช้ NAA 6,000 ppm	93.33 ± 1.15	81.33 ± 2.31	72.00 ± 5.29	65.33 ± 5.77
4. ใช้ IBA 4,000 ppm	92.00 ± 2.00	84.00 ± 2.00	77.33 ± 3.06	66.67 ± 6.11
5. ใช้ IBA 6,000 ppm	90.67 ± 2.31	81.33 ± 4.62	57.33 ± 9.02	50.67 ± 8.08

จากผลการทดลองด้านเปอร์เซ็นต์การรอดตายของกิ่งตะบูนดำที่ปักชำ จะเห็นว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ IBA ในอัตราที่ทดลองครั้งนี้ไม่มีผลต่อการรอดชีวิตของกิ่งปักชำ เพราะมีเปอร์เซ็นต์การรอดตายใกล้เคียงกัน ยกเว้น กิ่งปักชำที่ใช้ NAA 4,500 ppm ที่มีเปอร์เซ็นต์การรอดตายต่ำกว่าสิ่งทดลองอื่นๆ แต่จากการสังเกต พบว่า มีเชื้อราเข้าทำลาย อาจเนื่องมาจากการปักชำในพลาสติกเป็นกระโจม (ดังภาพที่ 10) คลุมทับเพื่อให้ความชื้นตลอดเวลา ทำให้มีเชื้อราเกิดขึ้นบางพื้นที่ที่ใช้ปักชำถึงแม้จะทำการป้องกันโดยใช้สารเคมีป้องกันเชื้อราฉีดพ่น แล้วก็ตามแต่ปริมาณอาจไม่เพียงพอหรือไม่เหมาะสมกับเชื้อราที่เจริญในพื้นที่นั้น



ภาพที่ 10 การใช้พลาสติกทำเป็นกระโจมคลุมทับกิ่งปักชำตะบูนดำที่อยู่ในถุงถ่านกลบ

3. การขยายพันธุ์ตะบูนดำด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

3.1 ผลการฟอกฆ่าเชื้อฆ่าเชื้อเมล็ด ตะบูนดำและตาข้างของตะบูนดำ

3.1.1 ผลการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดตะบูนดำ พบว่าหลังการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดตะบูนดำเป็นเวลา 7 14 และ 21 วัน มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีแนวโน้มว่า การใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5 % เป็นเวลา 10 นาที มีการปนเปื้อนน้อยที่สุด เท่ากับ 8.33 % รองลงมาคือการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 15 นาที มีการปนเปื้อน 16.67 % ในเวลา 21 วัน แต่เมื่อตรวจผลหลังการฟอกเชื้อเป็นเวลา 28 วัน พบว่าการฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5 % เป็นเวลา 10 นาที มีการปนเปื้อนน้อยที่สุดเท่ากับ 8.33 % รองลงมาคือการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 15 นาที และแตกต่างกับวิธีการที่ 1 และวิธีการที่ 2 คือการใช้เอทานอล 95 % 1-2 นาที แล้วลนด้วยเปลวไฟจากตะเกียงแอลกอฮอล์ และการฟอกด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 10 นาที ซึ่งมีการปนเปื้อนเท่ากับ 33.33 % (ดังตารางที่ 11) แต่เมล็ดตะบูนดำไม่ออก ถึงแม้จะเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน และขึ้นส่วนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และทยอยตายไป

ตารางที่ 11 เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเมล็ดตะบูนดำหลังการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ เป็นเวลา 7 14 21 และ 28 วัน

สิ่งทดลอง	เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน			
	7 วัน	14 วัน	21 วัน	28 วัน
1. แช่ในเอทานอล 95 % 1-2 นาที และลนด้วยเปลวไฟจากตะเกียงแอลกอฮอล์	24.99	24.99	33.33	33.33 ^a
2. โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 10 นาที	8.33	16.67	24.99	33.33 ^a
3. โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 15 นาที	8.33	8.33	16.67	16.67 ^{ab}
4. โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5 % เป็นเวลา 10 นาที	8.33	8.33	8.33	8.33 ^b
F-test	ns	ns	ns	*
CV (%)	133.33	118.95	73.02	55.54

หมายเหตุ : ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่อยู่หลังค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

3.1.2 ผลการพอกฆ่าเชื้อด้วยสารเคมีปลายยอดและตาข้างตะบูนดำ จากการพอกฆ่าเชื้อตะบูนดำด้วยสารเคมีป้องกันเชื้อราแมนโคเซ็บ 0.1 % ai. เป็นเวลา 30 นาที ตามด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์อัตราต่างๆ 5 วิธีการ ครั้งที่ 1 อยู่ในช่วงเดือน กรกฎาคม ถึงเดือน สิงหาคม พบว่าในเวลา 7 14 และ 21 วัน หลังการพอกฆ่าเชื้อ พบว่าอัตราการปนเปื้อนของวิธีการไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเท่ากับ 35.00-50.00 % (ดังตารางที่ 12)

ตารางที่ 12 เปอร์เซนต์การปนเปื้อนของปลายยอดและตาข้างตะบูนดำ หลังการพอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่างๆ เป็นเวลา 7 14 และ 21 วัน

สิ่งทดลอง	เปอร์เซนต์การปนเปื้อน		
	7 วัน	14 วัน	21 วัน
1. โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 10 นาที	10.00	35.00	35.00
2. โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 10 นาที ตามด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.5 % เป็นเวลา 5 นาที	25.00	35.00	35.00
3. โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 15 นาที	25.00	50.00	50.00
4. โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5 % เป็นเวลา 10 นาที	20.00	40.00	40.00
5. โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5 % เป็นเวลา 15 นาที	20.00	40.00	40.00
F-test	ns	ns	ns
CV (%)	46.82	20.41	20.41

หมายเหตุ : ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ส่วนเปอร์เซนต์การตายใน 7 วันแรก ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีเปอร์เซนต์การตาย 40-50.00 % หลังการพอกฆ่าเชื้อ 14 และ 21 วัน มีการตายมากขึ้น โดยการพอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 10 นาที มีเปอร์เซนต์การตายน้อยที่สุด 65.00 % แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการพอกฆ่าเชื้อด้วย โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 10 นาที ตามด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.5 % เป็นเวลา 5 นาที ที่มีเปอร์เซนต์การตาย 70.00 % (ดังตารางที่ 13) และเมื่อพอกฆ่าเชื้อเป็นเวลา 28 วัน ชิ้นส่วนที่พอกฆ่าเชื้อทุกวิธีการมีการปนเปื้อนและตายเกือบหมด ไม่สามารถวิเคราะห์ทางสถิติได้ โดยชิ้นส่วนมีการสร้างสารสีน้ำตาลในอาหารตั้งแต่ 7 วันแรกของการเลี้ยง

(ดังภาพที่ 11)



ภาพที่ 11 ปลายยอดและตาข้างตะบูนดำที่เลี้ยงในอาหารหลังการฟอกฆ่าเชื้อเป็นเวลา 7 วัน โดยเริ่มมีการปล่อยสารสีน้ำตาลจากรอยตัดที่โคนของชิ้นส่วน

ตารางที่ 13 เปอร์เซ็นต์การตายของปลายยอดและตาข้างตะบูนดำ หลังการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่างๆ เป็นเวลา 7 14 และ 21 วัน

สิ่งทดลอง	เปอร์เซ็นต์การตาย		
	7 วัน	14 วัน	21 วัน
1. โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 10 นาที	40.00	65.00 ^c	65.00 ^c
2. โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 10 นาที ตามด้วย โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.5 % เป็นเวลา 5 นาที	50.00	70.00 ^{bc}	70.00 ^{bc}
3. โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 15 นาที	50.00	95.00 ^a	95.00 ^a
4. โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5 % เป็นเวลา 10 นาที	40.00	80.00 ^b	80.00 ^b
5. โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5 % เป็นเวลา 15 นาที	50.00	95.00 ^a	95.00 ^a
F-test	ns	**	**
CV (%)	19.44	11.49	11.49

หมายเหตุ : ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

** = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่อยู่หลังค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

ในการฟอกฆ่าเชื้อปลายยอดและตาข้างตะบูนดำในครั้งที่ 2 ซึ่งอยู่ในช่วงสิงหาคม ถึง เดือนกันยายน พบว่าการฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 10 นาที มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนน้อยที่สุดเท่ากับ 37.49 % แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5 % เป็นเวลา

10 นาที ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน 41.66 % และเมื่อตรวจผลครบ 14 และ 21 วัน การฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 10 นาที ยังคงมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนน้อยที่สุดเท่ากับ 62.50 % และไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 10 นาทีฟอกด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.5 % เป็นเวลา 5 นาที ส่วนวิธีการอื่นๆ มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนค่อนข้างสูง และแตกต่างกันมีนัยสำคัญทางสถิติกับการฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 10 นาที ($P < 0.01$) ดังตารางที่ 14 และเมื่อฟอกฆ่าเชื้อเป็นเวลา 28 วัน ชิ้นส่วนที่ฟอกฆ่าเชื้อ มีการปนเปื้อนเกือบหมดเช่นเดียวกับการฟอกฆ่าเชื้อครั้งแรก

ตารางที่ 14 เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดและตาข้างตะบูนดำ หลังการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่างๆ เป็นเวลา 7 14 และ 21 วัน (ฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 2)

สิ่งทดลอง	เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน		
	7 วัน	14 วัน	21 วัน
1. โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 10 นาที	54.10 ^b	62.50 ^c	66.67 ^c
2. โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 10 นาที ตามด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.5 % เป็นเวลา 5 นาที	37.49 ^c	66.67 ^{bc}	75.00 ^{bc}
3. โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 15 นาที	54.16 ^b	83.33 ^a	87.50 ^{ab}
4. โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5 % เป็นเวลา 10 นาที	41.66 ^{bc}	79.16 ^{ab}	87.49 ^{ab}
5. โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5 % เป็นเวลา 15 นาที	91.66 ^a	91.65 ^a	100.00 ^a
F-test	**	**	**
CV (%)	15.89	11.90	13.16

หมายเหตุ : ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

** = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่อยู่หลังค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

ในการฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 3 ซึ่งอยู่ในช่วงเดือนกันยายน ถึงเดือน ตุลาคม และเพิ่มวิธีการฟอกฆ่าเชื้ออีก 3 วิธีการ หลังการฟอกฆ่าเชื้อเป็นเวลา 7 วัน พบว่าการฟอกฆ่าเชื้อด้วยเมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.1 % เป็นเวลา 10 นาที แล้วเลี้ยงในอาหาร MS + วิตามินซี 0.1 % + สเตريبโตมัยซินซัลเฟต 0.1 % ไม่มีการปนเปื้อนเลย รองลงคือการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5 % เป็นเวลา 15 นาที และเลี้ยงในอาหาร MS + วิตามินซี 0.1 % + สเตريبโตมัยซินซัลเฟต 0.1 % ซึ่งปนเปื้อนเท่ากับ 20.00 % การใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 10 นาทีมีการปนเปื้อนเท่ากับ 55.00 % แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5 % เป็นเวลา 10 นาที ตามด้วยสเตريبโตมัยซินซัลเฟต 0.5 % เป็นเวลา 15 นาที ซึ่งปนเปื้อน 70.00 % ส่วนวิธีการอื่นๆ มีการปนเปื้อนมากกว่า 70.00 %

และหลังจากการพอกฆ่าเชื้อ 21 วัน การพอกฆ่าเชื้อด้วยเมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.1 % เป็นเวลา 10 นาที ยังคงมีการปนเปื้อนน้อยที่สุดเท่ากับ 5.00 % รองลงมาคือ การใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5 % เป็นเวลา 15 นาที ที่ใช้อาหาร MS + วิตามินซี 0.1 % + สเตร็บโตมัยซินซัลเฟต 0.1 % และการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 10 นาที ซึ่งมีการปนเปื้อน 40.00 และ 60.00 % ตามลำดับ แตกต่างกับการใช้วิธีการอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) เมื่อตรวจผลหลังการพอกฆ่าเชื้อ 21 และ 28 วัน การพอกฆ่าเชื้อ 7 วิธีแรก มีการปนเปื้อนและตายทั้งหมด ส่วนวิธีที่ 8 ซึ่งใช้เมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.1 % เป็นเวลา 10 นาที มีการปนเปื้อนเพียง 12.50 % (ดังตารางที่ 15)

ตารางที่ 15 เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดและตาข้างตะบูนดำ หลังการพอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่างๆ เป็นเวลา 7 14 และ 21 วัน (พอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 3)

สิ่งทดลอง	เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน			
	7 วัน	14 วัน	21 วัน	28 วัน
1. โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 10 นาที	55.00 ^c	60.00 ^b	-	-
2. โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 10 นาทีตามด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.5 % เป็นเวลา 5 นาที	73.33 ^b	91.66 ^a	-	-
3. โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 15 นาที	75.00 ^b	95.00 ^a	-	-
4. โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5 % เป็นเวลา 10 นาที	75.00 ^b	95.00 ^a	-	-
5. โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5 % เป็นเวลา 15 นาที	95.00 ^b	100.00 ^a	-	-
6. โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 10 นาที + สเตร็บโตมัยซินซัลเฟต 0.5 % เป็นเวลา 15 นาที	70.00 ^{bc}	100.00 ^a	-	-
7. โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5 % เป็นเวลา 15 นาที (ใช้อาหาร MS+วิตามินซี 0.1 % + สเตร็บโตมัยซินซัลเฟต 0.1 %)	20.00 ^d	40.00 ^b	-	-
8. เมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.1 % เป็นเวลา 10 นาที (ใช้อาหาร MS+วิตามินซี 0.1 % + สเตร็บโตมัยซินซัลเฟต 0.1 %)	0.00 ^e	5.00 ^b	12.50	12.50
F-test	**	**	-	-
CV (%)	19.86	19.01	-	-

หมายเหตุ : ** = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่อยู่หลังค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่ต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

- = เนื้อเยื่อปนเปื้อนและตายเกือบหมด (ไม่ได้วิเคราะห์ทางสถิติ)

จากผลการฟอกฆ่าเชื้อปลายยอดและตาข้างตะบูนดำทั้ง 3 ครั้ง จะเห็นได้ว่ามีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนค่อนข้างสูง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะอยู่ในช่วงฤดูฝน ทำให้อากาศมีความชื้นสูง เหมาะสมในการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ และผลการฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 2 และ 3 พบว่าการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์อัตราต่ำที่สุดในการทดลองครั้งนี้ คือ 1.0 % เป็นเวลา 10 นาที มีการปนเปื้อนน้อยกว่าการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์อัตราที่สูงขึ้นหรือใช้เวลานานขึ้น อาจเป็นไปได้ว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาเป็นเชื้อที่อยู่ในระยะพักตัวหรืออยู่ในรูปสปอร์ (ในกรณีที่เป็นเชื้อแบคทีเรีย) เมื่อใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ในอัตราที่สูงขึ้นอาจมีผลกระทบทำให้สปอร์งอกออกมาเร็วขึ้นกว่าอยู่ในสารที่มีอัตราความเข้มข้นต่ำ จึงเกิดการปนเปื้อนมากกว่า แต่เมื่อปล่อยให้ถึงสัปดาห์สุดท้าย สปอร์ที่ติดขึ้นส่วนของทุกสิ่งทดลองก็งอกออกมาปนเปื้อนเหมือนกัน ซึ่งอัตราการปนเปื้อนที่สูงขึ้นสอดคล้องกับการทดลองของนักวิจัยท่านอื่นที่ทดลองกับชิ้นส่วนของปลายยอดและตาข้างของพืชที่เป็นไม้ยืนต้น ที่นำมาจากต้นที่เจริญในธรรมชาติว่ามีโอกาสได้รับเชื้อจุลินทรีย์สูงกว่าพืชที่ปลูกเลี้ยงในเรือนทดลองที่มีการควบคุมเชื้อโรคพืชอย่างสม่ำเสมอ

ส่วนด้านเปอร์เซ็นต์การตายของชิ้นส่วนตะบูนดำ พบว่าเมื่อใช้สารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ในอัตราเข้มข้นสูงขึ้น จะทำให้มีการตายมากขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยที่มีการทดลองก่อนหน้านี้ เช่น ปัญจรัตน์ จินตนา ไพโรจน์ ชัยเลิศพงศา และประสิทธิ์ เพียรอนุรักษ์ (2544) ที่ทดลองฟอกฆ่าเชื้อตาข้างของไม้ชิงชัน โดยใช้ยาไฮเตอร์ (โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 6 % ai.) เข้มข้น 5 10 และ 15 % พบว่าชิ้นส่วนมีการตายเท่ากับ 0 5 และ 10 % ตามลำดับ

3.2 ผลการชักนำยอดและแคลลัสของตะบูนดำจากส่วนต่างๆ

3.2.1 การชักนำยอดจากปลายยอดและตาข้างของตะบูนดำจากธรรมชาติ หลังจากฟอกฆ่าเชื้อปลายยอดและตาข้างของตะบูนดำ แล้วนำไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS และ WPM ที่ผสมสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP อัตรา 0 1.0 2.0 4.0 6.0 10.0 14.0 และ 16.0 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 2 เดือน พบว่าอาหารทุกสูตรไม่สามารถชักนำให้ปลายยอดและตาข้างเจริญและพัฒนาเป็นยอดใหม่ได้ เพราะหลังเลี้ยงบนอาหารบนอาหารในสูตรดังกล่าวเป็นเวลา 3 วัน ใบจะเริ่มร่วงและมีการสร้างแคลลัสตรงบริเวณที่ก้านใบหลุดไป นอกจากนี้ยังมีการปล่อยสารสีน้ำตาลออกมาในอาหารที่ใช้เลี้ยง แล้วชิ้นส่วนที่เลี้ยงค่อยๆ เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและค่อยๆ ตายไป ถึงแม้ในการทดลองซ้ำครั้งที่ 2 จะใช้อาหาร MS ที่ผสมวิตามินซี 0.1 % ลงไปก็ตาม แต่มีผลทำให้มีการปล่อยสารสีน้ำตาลขาลง สอดคล้องกับการทดลองของ พัทธรา ลิปะนะเวช กุลนาถ อบสุวรรณ และพิพัฒน์ พัฒนผลไพบุลย์ (2540) ที่ศึกษาการขยายพันธุ์พังกาหัวสุ้มดอกแดง (*Bruguiera gymnorrhiza* Lamk.) ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการปักชำ โดยนำเนื้อเยื่อจากปลายยอด ใบ ฐานรองดอก ฝักแก่ ฝักอ่อน ของพังกาหัวสุ้มดอกแดง ในอาหารสูตร MS และ WPM ที่ผสมสารควบคุมการเจริญเติบโต กลุ่มออกซิน (IBA 2,4-D) และกลุ่มไซโตไคนิน (BAP) พบว่าเนื้อเยื่อพืชปล่อยสารสีน้ำตาลออกมาใน

ปริมาณมาก ซึ่งสารนี้มีผลยับยั้งการแบ่งเซลล์และการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ และสอดคล้องกับ อุบล สมทรง (2542) ที่ทดลองเลี้ยงเนื้อเยื่อขมพูเพชรโดยใช้ส่วนปลายยอดและตาข้างที่นำมาจากต้น ที่เจริญในสภาพธรรมชาติ พบว่าชิ้นส่วนมีการปนเปื้อนมากและมีการสร้างและปล่อยสารสีน้ำตาล ออกมาจากรอยตัดมาก ทำให้มีผลยับยั้งการเจริญและทำให้ตายในที่สุด โดยรองรอง วิเศษสุวรรณ (2541 หน้า 46) กล่าวว่าถ้าพืชเกิดแผลจะทำให้เกิดก๊าซเอทิลีน ซึ่งมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช

3.2.2 การชักนำแคลลัสจากใบอ่อนของตะบูนดำครั้งที่ 1 หลังจากเลี้ยงใบอ่อนของ ตะบูนดำซึ่งตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5x0.5 เซนติเมตร ในอาหาร WPM ผสมสารควบคุมการ เจริญเติบโต IAA NAA และ 2,4-D อัตราต่างๆ 10 สูตร เป็นเวลา 2 เดือน พบว่าอาหารสูตร WPM ที่ ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต และ สูตร WPM+IAA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร ชิ้นส่วนใบมีการตาย จำนวนมาก โดยมีค่าเฉลี่ยคะแนนน้อยกว่า 0.5 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับอาหารสูตร อื่นๆ ($p < 0.01$) โดยอาหารสูตรที่ใบอ่อนตะบูนดำเจริญดีที่สุดได้แก่ อาหารสูตร WPM+IAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร โดยใบอ่อนส่วนใหญ่ยังคงมีสีเขียวเหมือนเดิม (คะแนนเท่ากับ 1) บางส่วนชิ้นส่วนใบ ขยายขนาดขึ้น (คะแนนเท่ากับ 2) ได้คะแนนเฉลี่ย 1.21 รองลงมาคือ อาหารสูตร WPM+2,4-D 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร WPM+NAA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร WPM+NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร WPM+NAA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร ได้ค่าคะแนนเท่ากับ 1.05 1.03 1.00 1.00 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ส่วนสูตรอื่นๆ มีค่าคะแนนเฉลี่ยน้อยกว่า 1.00 เพราะชิ้นส่วนตาย แต่เมื่อเลี้ยงต่อถึง 3 เดือน ชิ้นส่วนใบอ่อนตาย มากขึ้น ยกเว้นใบอ่อนที่เลี้ยงในอาหารสูตร WPM+2,4-D 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร มีการเจริญเพิ่มมากขึ้น แต่ไม่พัฒนาไปเป็นแคลลัส (ดังตารางที่ 16)

ตารางที่ 16 คะแนนการเจริญและพัฒนาของใบตะบูนดำหลังเลี้ยงในอาหาร 10 สูตร เป็นเวลา 2 และ 3 เดือนครั้งที่ 1(ชิ้นส่วนขนาด 0.5x0.5 เซนติเมตร)

สิ่งทดลอง (สูตรอาหาร)	คะแนนการเจริญและพัฒนา	
	2 เดือน	3 เดือน
1. WPM ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต	0.35 ^c	0.43 ^d
2. WPM + IAA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร	0.98 ^{ab}	0.56 ^{cd}
3. WPM + IAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร	1.21 ^a	0.75 ^{bc}
4. WPM + IAA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร	0.01 ^d	0.78 ^{bc}
5. WPM + NAA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร	1.03 ^{ab}	0.46 ^d
6. WPM + NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร	1.00 ^{ab}	0.86 ^{ab}
7. WPM + NAA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร	1.00 ^{ab}	0.93 ^{ab}
8. WPM + 2,4-D 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร	1.05 ^{ab}	0.93 ^{ab}
9. WPM + 2,4-D 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร	0.95 ^{ab}	0.98 ^{ab}
10. WPM + 2,4-D 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร	0.82 ^b	1.10 ^a
F-test	19.87	19.45
CV (%)	**	**

หมายเหตุ : ** = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่อยู่หลังค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่ต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

3.2.3 การชักนำแคลลัสจากใบอ่อนของตะบูนดำครั้งที่ 2 หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน พบว่าใบอ่อนส่วนมากของอาหารเกือบทุกสูตรมีการขยายขนาดขึ้น ยกเว้นสูตรที่ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีการขยายขนาดเป็นบางชิ้น โดยสูตรอาหาร WPM + IAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ทุกชิ้นส่วนมีการขยายขนาดขึ้นหรือมีค่าคะแนนเฉลี่ยเท่ากับ 2 รองลงมาแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติคือสูตร WPM + NAA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งต่างกับสูตรอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) แต่เมื่อเปลี่ยนอาหารและเลี้ยงต่อไปอีก 1 เดือน รวมเป็น 3 เดือน ทุกสูตรอาหารมีการเจริญเพิ่มขึ้นแต่ในขณะเดียวกันมีชิ้นส่วนใบบางส่วนตาย ทำให้คะแนนเฉลี่ยของการเจริญและพัฒนาต่ำลงมาบ้าง โดยสูตรอาหารที่มีคะแนนเฉลี่ยของการเจริญพัฒนาสูงสุดได้แก่สูตร WPM + IAA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับการเลี้ยงในอาหารสูตร WPM + NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร WPM + 2,4-D 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร WPM + NAA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร WPM + NAA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร และ WPM + IAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งมีคะแนนเฉลี่ยเท่ากับ 1.76 1.76 1.75 1.73 และ

1.70 ตามลำดับ (ดังตารางที่ 17) หลังจากนั้นมีการเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 2 เดือน จนอายุการเลี้ยงถึง 11 เดือน ชิ้นส่วนใบไม่มีการเจริญเพิ่มขึ้น ขอบใบเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มแต่เนื้อใบหนาขึ้น และทยอยตายไป

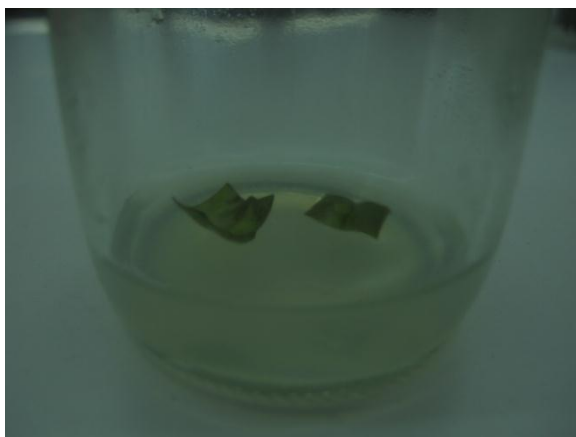
ตารางที่ 17 คะแนนการเจริญและพัฒนาของใบตะบูนดำหลังเลี้ยงในอาหาร 10 สูตร เป็นเวลา 2 และ 3 เดือนครั้งที่ 2 (ชิ้นส่วนขนาด 1.0x1.0 เซนติเมตร)

สิ่งทดลอง (สูตรอาหาร)	คะแนนการเจริญและพัฒนา	
	2 เดือน	3 เดือน
1. WPM ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต	0.78 ^f	1.68 ^{bc}
2. WPM + IAA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร	1.50 ^{cde}	1.53 ^{bcd}
3. WPM + IAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร	2.00 ^a	1.70 ^{abc}
4. WPM + IAA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร	1.23 ^e	2.00 ^a
5. WPM + NAA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร	1.64 ^{bc}	1.75 ^{ab}
6. WPM + NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร	1.55 ^{cd}	1.76 ^{ab}
7. WPM + NAA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร	1.90 ^{ab}	1.73 ^{abc}
8. WPM + 2,4-D 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร	1.33 ^{de}	1.76 ^{ab}
9. WPM + 2,4-D 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร	1.56 ^{cd}	1.41 ^{cd}
10. WPM + 2,4-D 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร	1.38 ^{cde}	1.22 ^d
F-test	10.16	10.65
CV (%)	**	**

หมายเหตุ : ** = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่อยู่หลังค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

3.2.4 การชักนำแคลลัสจากใบอ่อนของตะบูนดำครั้งที่ 3 จากการเปลี่ยนสูตรอาหารมาเป็นสูตร ½MS ที่ผสม NAA อัตรา 0.05 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร หรือ BAP 0.5 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร หรือ ส่วนผสมทั้ง NAA และ BAP จำนวน 12 สูตร เป็นเวลา 2 เดือน โดยใช้ชิ้นส่วนใบขนาด 1.0x1.0 เซนติเมตร วางคว่ำ 1 ชิ้น และวางหงาย 1 ชิ้น พบว่าทุกสูตรทำให้ชิ้นส่วนใบขยายขนาดขึ้น แต่สูตร ½ MS + BAP 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร + NAA 0.05 มิลลิกรัม/ลิตร และสูตร ½ MS + BAP 0.5 + NAA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร มีการขยายขนาดมากกว่าสูตรอื่นๆ แต่ไม่เจริญและพัฒนาเป็นแคลลัส ถึงแม้จะเลี้ยงต่อจนอายุ 1 ปี 22 วัน ก็ตาม (ดังภาพที่ 12)



ภาพที่ 12 ใบอ่อนตะบูนดำที่เลี้ยงในอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS + BAP 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร + NAA 0.05 มิลลิกรัม/ลิตรเป็นเวลา 2 เดือน ใบมีการขยายขนาดใหญ่ขึ้น

3.2.5 การชักนำแคลลัสจากใบอ่อนของตะบูนดำครั้งที่ 4 โดยนำอาหารสูตร WPM และ $\frac{1}{2}$ MS ที่ได้ทดลองมาแล้ว 3 ครั้งดังกล่าว แต่ยังไม่มีการเจริญและพัฒนาเป็นแคลลัส มาทดลองเลี้ยงใหม่อีกครั้ง โดยนำใบที่ค่อนข้างอ่อนกว่าครั้งที่ผ่านมา แล้วนำมาเลี้ยงในสภาพให้แสง 1,835-3,000 ลักซ์ เป็นเวลา 14 ชั่วโมง/วัน 1 ชุด และในสภาพไม่ให้แสง 1 ชุด และมีการวางชิ้นส่วนใบคว่ำ 1 ใบ หงาย 1 ใบ ในอาหารขวดเดียวกัน พบว่าหลังจากการเลี้ยงไป 15 วัน ใบอ่อนตะบูนดำที่เลี้ยงในสภาพมีแสงในอาหารสูตร WPM + 2,4-D 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร และสูตร WPM + 2,4-D 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร มีการสร้างแคลลัสเฉพาะในใบที่วางหงายใบขึ้น 20.35 และ 25.00 % ตามลำดับ โดยสูตรที่ใช้ 2,4-D 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร มีขนาดแคลลัสใหญ่กว่าสูตรที่ใช้ 2,4-D 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร โดยมีขนาด 1.5 มิลลิเมตร และบางชิ้นเกิดติดต่อกันยาวถึง 8 มิลลิเมตร (ดังตารางที่ 18) แต่ใบอ่อนตะบูนดำที่เลี้ยงในอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่ผสม NAA อัตรา 0.05 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร หรือ BAP 0.5 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร หรือ ส่วนผสมทั้ง NAA และ BAP จำนวน 12 สูตร ไม่มีการสร้างแคลลัสเกิดขึ้น แต่เนื้อใบขยายขนาดและมีความหนาเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 18 เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส ขนาดและลักษณะการเกิดแคลลัสของใบอ่อนตะบูนดำ
หลังเลี้ยงในอาหาร 10 สูตร ในสภาพความเข้มแสง 1,835-3,000 ลักซ์ 14 ชั่วโมง/วัน
เป็นเวลา 15 วัน

สิ่งทดลอง (สูตรอาหาร)	% การเกิดแคลลัส		ขนาดแคลลัส (มิลลิเมตร)	ลักษณะการเกิดแคลลัส
	คว่ำ	หงาย		
1.WPM ไม่ใช้สารควบคุม การเจริญเติบโต	0	0	-	-
2.WPM+IAA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร	0	0	-	-
3.WPM+ IAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร	0	0	-	-
4. WPM+ IAA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร	0	0	-	-
5. WPM+ NAA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร	0	0	-	-
6. WPM+ NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร	0	0	-	-
7. WPM+ NAA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร	0	0	-	-
8.WPM+2,4-D 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร	0	0	-	-
9.WPM + 2,4-D 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร	0	20.83	0.5	บางขึ้นเกิดติดต่อกันยาว ถึง 6.00 มิลลิเมตร
10. WPM + 2,4-D 1.0 มิลลิกรัม/ ลิตร	0	25.00	1.5	บางขึ้นเกิดติดต่อกันยาว ถึง 8.00 มิลลิเมตร

ส่วนใบอ่อนตะบูนดำที่เลี้ยงในสภาพไม่ให้แสงเป็นเวลา 15 วัน มีการสร้างแคลลัสในอาหารถึง 5 สูตร แต่พบเฉพาะบนใบที่วางหงายใบขึ้นเช่นเดียวกับที่เลี้ยงในสภาพให้แสง โดยใบอ่อนที่เลี้ยงในอาหารสูตร WPM + 2,4-D 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมากที่สุดเท่ากับ 25.00 % มีขนาดเล็ก บางขึ้นเกิดติดต่อกันยาวถึง 3 มิลลิเมตร ใบอ่อนที่เลี้ยงในสูตรอาหาร WPM + 2,4-D 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 20.83 % และมีขนาดใหญ่กว่าสูตรที่ใช้ 2,4-D 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร บางขึ้นเกิดติดต่อกันยาวถึง 8 มิลลิเมตร และสูตรที่ใช้ NAA 0.5 NAA 1.0 และ 2,4-D 0.1 ถึงแม้จะเกิดแคลลัส แต่มีขนาดเล็กมาก (ดังตารางที่ 19)

ตารางที่ 19 เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส ขนาดและลักษณะการเกิดแคลลัสของใบอ่อนตะบูนดำ
หลังเลี้ยงในอาหาร 10 สูตร ในสภาพไม่ให้แสง เป็น เวลา 15 วัน

สิ่งทดลอง (สูตรอาหาร)	% การเกิดแคลลัส		ขนาดแคลลัส (มิลลิเมตร)	ลักษณะการเกิดแคลลัส
	คว่ำ	หงาย		
1.WPM ไม่ใช้สารควบคุม การเจริญเติบโต	0	0	-	-
2.WPM+IAA 0.1 มก./ลิตร	0	0	-	-
3.WPM+ IAA 0.5 มก./ลิตร	0	0	-	-
4. WPM+ IAA 1.0 มก./ลิตร	0	0	-	-
5. WPM+ NAA 0.1 มก./ลิตร	0	0	-	-
6. WPM+ NAA 0.5 มก./ลิตร	0	8.33	เล็กน้อย	-
7. WPM+ NAA 1.0 มก./ลิตร	0	4.17	ขนาดปลายเข็มหมุด	-
8.WPM+2,4-D, 0.1 มก./ลิตร	0	8.33	ขนาดปลายเข็มหมุด	-
9. WPM+2,4-D, 0.1 มก./ลิตร	0	20.83	ขนาดปลายเข็มหมุด จนถึง 1 มิลลิเมตร	บางขึ้นเกิดติดต่อกัน ยาวถึง 8 มิลลิเมตร
10. WPM+2,4-D, 0.1 มก./ลิตร	0	25.00	ขนาดปลายเข็มหมุด	บางขึ้นเกิดติดต่อกัน ยาวถึง 3 มิลลิเมตร

เมื่อเลี้ยงต่อเป็นเวลา 1 เดือน ในสภาพให้แสง สูตรอาหาร 2 สูตรที่พบมีการสร้างแคลลัสเฉพาะใบที่วางหงาย มีการสร้างแคลลัสเพิ่มมากขึ้นและพบสร้างในใบที่วางคว่ำด้วย นอกจากนี้ยังพบสร้างในสูตรอื่นๆ ด้วย ได้แก่ สูตร WPM + NAA 0.1 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร สูตร WPM + IAA 0.1 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร แต่มีขนาดเล็กมาก มองเห็นเป็นตุ่มใสๆ เล็กๆ เท่านั้น และอีกสูตรหนึ่งที่พบการสร้างแคลลัสในช่วง 1 เดือนนี้คือ สูตร WPM + 2,4-D 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร โดยพบเฉพาะในใบที่วางหงายเท่านั้น แต่มีขนาดที่เห็นได้ชัดเจน (ดังตารางที่ 20 และภาพที่ 13)

ตารางที่ 20 เปอร์เซนต์การเกิดแคลลัส ขนาดและลักษณะการเกิดแคลลัสของใบอ่อนตะบูนดำ หลังเลี้ยงในอาหาร 10 สูตร ในความเข้มแสง 1,835-3,000 ลักซ์ 14 ชั่วโมง/วัน เป็นเวลา 1 เดือน

สิ่งทดลอง (สูตรอาหาร)	% การเกิดแคลลัส		ขนาดแคลลัส (มิลลิเมตร)	ลักษณะการเกิดแคลลัส
	กว่า	หาย		
1.WPM ไม่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต	0	0	-	-
2.WPM+IAA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร	0	8.3	เล็กน้อย	เป็นเมล็ดใส
3.WPM+ IAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร	0	8.3	เล็กน้อย	เป็นเมล็ดใส
4. WPM+ IAA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร	0	25.00	เล็กน้อย	เป็นเมล็ดใส
5. WPM+ NAA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร	0	35.00	เล็กน้อย	เป็นเมล็ดใส
6. WPM+ NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร	0	25.00	เล็กน้อย	เป็นเมล็ดใส
7. WPM+ NAA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร	0	25.00	เล็กน้อย	เป็นเมล็ดใส
8.WPM+2,4-D 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร	0	25.00	0.5-1	สีเขียวอ่อน
9. WPM+2,4-D 0.5มิลลิกรัม/ลิตร	25.00	66.67	0.5-1	สีเขียวอ่อน ขอบแคลลัสเริ่มแห้งสีน้ำตาล
10.WPM+2,4-D 1.0มิลลิกรัม/ลิตร	16.67	91.67	1.0-2.0	ใบที่หายตรงกลางเกิดแคลลัสสีเขียวอ่อน ใบคว่ำเห็นเป็นเม็ดเล็กๆ



ภาพที่ 13 ลักษณะการเกิดแคลลัสบนใบอ่อนตะบูนดำที่เลี้ยงในอาหารสูตร WPM+2,4-D 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 28 วัน ในสภาพให้แสง 1,835-3,000 ลักซ์ 14 ชั่วโมง/วัน

ส่วนใบอ่อนตะบูนดำที่เลี้ยงในสภาพไม่ให้แสง ใบอ่อนที่เลี้ยงในอาหารสูตร WPM + NAA 0.5 และ 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร จุดแคลลัสที่พบใน 15 วัน ยุบหายไป แต่ในสูตร WPM + 2,4-D 0.1 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร พบการสร้างมากขึ้น ขนาดใหญ่ขึ้น สูตรที่ใช้ 2,4-D 1.0 มิลลิกรัม/ลิตรพบการสร้างในใบที่วางคว่ำด้วย แต่บางชิ้นส่วนแคลลัสที่สร้างบริเวณขอบใบเริ่มแห้งตาย (ดังตารางที่ 21 และภาพที่ 14)

ตารางที่ 21 เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส ขนาดและลักษณะการเกิดแคลลัสของใบอ่อนตะบูนดำ
หลังเลี้ยงในอาหาร 10 สูตร ในสภาพไม่ให้แสง เป็น เวลา 1 เดือน

สิ่งทดลอง (สูตรอาหาร)	% การเกิดแคลลัส		ขนาดแคลลัส (มิลลิเมตร)	ลักษณะการเกิดแคลลัส
	คว่ำ	หงาย		
1.WPM ไม่ใช้สารควบคุม การเจริญเติบโต	0	0	-	-
2.WPM+ IAA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร	0	0	-	-
3.WPM+ IAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร	0	0	-	-
4. WPM+ IAA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร	0	0	-	-
5. WPM+ NAA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร	0	0	-	-
6. WPM+ NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร	0	0	-	-
7. WPM+ NAA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร	0	0	-	-
8.WPM+ 2,4-D 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร	0	33.33	0.5	ขอบแคลลัสเริ่มแห้ง
9. WPM+ 2,4-D 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร	0	91.67	1.0-1.5	ขอบแคลลัสเริ่มแห้ง
10. WPM+ 2,4-D 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร	16.67	91.67	1.0-2.0	มีจำนวนจุดมากขึ้น แต่ บางส่วนแห้งตาย



ภาพที่ 14 ลักษณะการเกิดแคล์สบนใบอ่อนตะบูนดำที่เลี้ยงในอาหารสูตร WPM+2,4-D 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 33 วัน ในสภาพไม่ให้แสง แคล์สบริเวณขอบใบเริ่มแห้งตาย

หลังเลี้ยงไป 2 เดือน 15 วัน ย้ายเปลี่ยนอาหารสูตรเดิม และตรวจผล หลังเลี้ยง 3 เดือน 18 วัน ใบที่เลี้ยงในสภาพให้แสงในอาหารสูตรที่ 1-4 ขอบใบแห้ง และบางชิ้นส่วนตาย ใบที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่ 5-7 ขอบใบแห้ง สูตรที่ 8 ทั้งใบหงายและคว่ำแคล์สมีขนาดเท่าเดิม เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ไม่มีการสร้างแคล์สเพิ่มขึ้น สูตรที่ 9 ไม่มีการสร้างแคล์สเพิ่มขึ้น แต่มีขนาดเพิ่มขึ้นใกล้เคียงกับสูตรที่ 10 สีจางลงเป็นสีครีม และขอบใบสีน้ำตาล สูตรที่ 10 ใบที่หงายแคล์สขยายบริเวณรอบแผ่นใบแต่สีแคล์สอ่อนลง และขอบเริ่มเป็นสีน้ำตาล (ดังภาพที่ 15)



ภาพที่ 15 ลักษณะของแคล์สที่เกิดบนใบอ่อนตะบูนดำที่เลี้ยงในอาหารสูตร WPM+2,4-D 1.0 มิลลิกรัม/ลิตรเป็นเวลา 3 เดือน 18 วัน ในสภาพให้แสง 1,835-3,000 ลักซ์ 14 ชั่วโมง/วัน

ส่วนใบที่เลี้ยงในสภาพไม่ให้แสงสูตรที่ 1 ใบที่คว่ำตายทั้งหมด เหลือใบที่หงาย 1 ชิ้น สูตรที่ 2-3 ใบที่คว่ำตายทั้งหมด เหลือใบที่หงาย 3 ชิ้น สูตรที่ 4 ใบที่หงายตายทั้งหมด เหลือใบที่คว่ำ 4 ชิ้น แต่ขอบใบแห้ง สูตรที่ 5 เหลือ ชิ้นส่วนใบที่คว่ำและหงายอย่างละ 5 ชิ้น แต่ขอบใบแห้งทั้งหมด สูตรที่ 7 ส่วนที่เป็นแคลลัสแห้งตาย และขอบใบแห้งทั้งหมด สูตรที่ 8 เหลือใบที่หงายเพียง 2 ชิ้น และแคลลัสยังคงมีลักษณะใสเพียง 1 ชิ้น ส่วนใบคว่ำเหลือเพียง 1 ชิ้น แต่ขอบใบแห้ง สูตรที่ 9 เหลือใบที่หงาย 3 ชิ้น ซึ่งยังคงมีแคลลัสสีขาว 2 ชิ้น อีก 1 ชิ้น แคลลัสแห้งตาย ส่วนใบที่คว่ำที่เหลืออยู่ 3 ชิ้น ไม่มีการสร้างแคลลัสเพิ่มแต่เป็นสีน้ำตาลเข้ม และสูตรที่ 10 ใบคว่ำไม่สร้างแคลลัสเพิ่มและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ส่วนใบที่หงาย แคลลัสยังคงมีสีครีมอมเขียว เหลือ 8 ชิ้น และเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนใบที่เลี้ยงต่อไปอีกเป็นเวลา 4 เดือน 15 วัน ชิ้นส่วนใบทยอยตาย และไม่สามารถชักนำต้นจากแคลลัสที่เหลือได้เลย (ดังภาพที่ 16)



ตารางที่ 16 ลักษณะของแคลลัสที่เกิดบนใบอ่อนตะบูนดำที่เลี้ยงในอาหารสูตร WPM+2,4-D 1.0 มิลลิกรัม/ลิตรเป็นเวลา 3 เดือน 18 วัน ในสภาพไม่ให้แสง แคลลัสส่วนใหญ่แห้งตาย

บทที่ 5

สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาการขยายพันธุ์ตะบูนดำเพื่อการอนุรักษ์ป่าชายเลน โดยการเพาะเมล็ดในวัสดุต่างๆ 8 ชนิด การปักชำกิ่งกิ่งแก่กิ่งอ่อนโดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ IBA อัตราความเข้มข้นต่างๆ และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ของตะบูนดำ ตั้งแต่เดือน มิถุนายน 2553 ถึงเดือน พฤศจิกายน 2556 ณ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี ผลการวิจัยโดยสรุปมีดังนี้

1. การเพาะเมล็ดตะบูนดำในวัสดุต่างๆ 8 ชนิด มีผลสรุปดังนี้คือ

1.1 จำนวนวันที่เมล็ดเริ่มงอกโดยเฉลี่ยเร็วที่สุดในถ่านแกลบ + ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ใช้เวลา 10.33 วัน ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) กับการเพาะเมล็ดในดินเลนจากป่าชายเลนซึ่งใช้เวลาออกเฉลี่ย 55.48 วัน

1.2 การงอกของเมล็ดตะบูนดำในดินปนทราย ขุยมะพร้าว และดินปนทราย + ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 มีเปอร์เซ็นต์สูงที่สุดหลังการเพาะเป็นเวลา 60 วัน เท่ากับ 70.00 % และไม่แตกต่างทางสถิติกับการเพาะในป่าชายเลน ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การงอกเท่ากับ 60.00 % แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) กับการเพาะในถ่านแกลบ และถ่านแกลบ + ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การงอกเท่ากับ 16.67 และ 10.00 % ตามลำดับ

1.3 ความสูงของตะบูนดำที่เพาะในดินปนทราย + ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ในช่วงเดือนแรกมากที่สุด แต่ช่วงเดือนที่ 2-4 การเพาะในดินปนทราย + ถ่านแกลบ อัตราส่วน 1:1 มีความสูงมากที่สุด ส่วนการเพาะในถ่านแกลบ จะมีความสูงจะมีความสูงน้อยที่สุดในเดือนที่ 1-2 และการเพาะในถ่านแกลบ + ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 มีความสูงน้อยที่สุดในเดือนที่ 3-4

1.4 ลำต้นตะบูนดำที่เพาะในดินปนทรายมีเส้นผ่านศูนย์กลางมากที่สุดเท่ากับ 0.31 เซนติเมตร ส่วนลำต้นตะบูนดำที่เพาะในถ่านแกลบ + ขุยมะพร้าว อัตรา 1:1 มีเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยที่สุดเท่ากับ 0.10 เซนติเมตร หลังเพาะเป็นเวลา 4 เดือน แต่การเพาะในวัสดุทุกชนิดไม่แตกต่างกันทางสถิติ

1.5 ใบตะบูนดำที่เพาะใน ดินปนทราย + ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 จะมีความยาวมากที่สุดเท่ากับ 7.89 เซนติเมตร และการเพาะในถ่านแกลบ + ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 มีความยาวน้อยที่สุดเท่ากับ 2.48 เซนติเมตร หลังการเพาะเป็นเวลา 4 เดือน

1.6 ใบตะบูนดำที่เพาะในดินปนทรายจะมีความกว้างมากที่สุดเท่ากับ 3.30 เซนติเมตร และการเพาะในถ่านกลบ + ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 มีความกว้างน้อยที่สุดเท่ากับ 1.05 เซนติเมตร หลังการเพาะเป็นเวลา 4 เดือน แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติในวัสดุทุกชนิด

1.7 เมล็ดตะบูนดำมีอัตราการตายรวมในวัสดุทุกชนิดเท่ากับ 98.00 %

2. การปักชำตะบูนดำที่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ IBA อัตราความเข้มข้นต่างๆ มีผลสรุปดังนี้คือ

2.1 กิ่งตะบูนดำที่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA อัตราความเข้มข้น 4,500 ppm และ IBA อัตราความเข้มข้น 4,000 ppm มีแนวโน้มให้เปอร์เซ็นต์การออกรากมากที่สุดเท่ากับ 5.33 % ดีกว่าสิ่งทดลองอื่นๆ แต่มีเปอร์เซ็นต์ที่น้อยมาก อาจเนื่องจากใช้วัสดุในการปักชำไม่เหมาะสมและใช้เวลาในการจุ่มแช่สารควบคุมการเจริญเติบโตน้อยเกินไป

2.2 การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA อัตราความเข้มข้น 4,500 ppm มีจำนวนรากเฉลี่ยต่อกิ่ง 6.50 ราก และความยาวรากเฉลี่ย 5.67 เซนติเมตร มากกว่าสิ่งทดลองอื่นๆ

2.3 การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA อัตราความเข้มข้น 4,500 ppm และ 6,000 ppm IBA อัตราความเข้มข้น 4,000 ppm และ 6,000 ppm ไม่มีผลต่อจำนวนและความยาวของกิ่งแขนงที่เกิดใหม่ของกิ่งปักชำตะบูนดำ

2.4 กิ่งปักชำตะบูนดำที่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA อัตราความเข้มข้น 4,000 ppm มีเปอร์เซ็นต์การรอดตายเท่ากับ 66.67 ± 6.11 ในเวลา 16 สัปดาห์ มากกว่าสิ่งทดลองอื่นๆ

3. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนต่างๆของตะบูนดำ มีผลสรุปดังนี้คือ

3.1 การฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดตะบูนดำด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5 % เป็นเวลา 10 นาที มีการปนเปื้อนน้อยที่สุดหลังฟอกฆ่าเชื้อเป็นเวลา 28 วัน แต่เมล็ดไม่งอกและไม่พัฒนาไปเป็นต้นใหม่

3.2 การฟอกฆ่าเชื้อปลายยอดและตาข้างตะบูนดำด้วยการแช่สารป้องกันเชื้อราแมนโคเซ็บ 80 WP. 0.5 % ai. เป็นเวลา 30 นาที ตามด้วยเมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.1 % เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ 4 ครั้ง มีการปนเปื้อนน้อยกว่าวิธีอื่นๆ แต่ไม่พัฒนาไปเป็นยอดใหม่ เนื่องจากก้านใบร่วงและมีการสร้างสารสีน้ำตาลออกมายับยั้งการเจริญเติบโต

3.3 สามารถชักนำใบอ่อนตะบูนดำให้สร้างแคลลัสได้ตั้งแต่ 15 วัน ในอาหารสูตร WPM+NAA 1.00 มิลลิกรัม/ลิตร WPM+2,4-D 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร WPM+2,4-D 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร และ WPM+2,4-D 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร โดยสร้างได้ทั้งในสภาพมืดและมีความเข้มแสง 1,835-3,000 ลักซ์ เป็นเวลา 14 ชั่วโมง/วัน และชิ้นส่วนใบที่วางหงายใบขึ้นมีการสร้างแคลลัสได้ดีกว่าชิ้นส่วนที่วางคว่ำใบ แต่ไม่สามารถชักนำให้เกิดยอดหรือต้นได้ ถึงแม้จะเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน

ข้อเสนอแนะ

1. การเพาะเมล็ดตะບุนดำในวัสดุต่างๆ 8 ชนิด

1.1 ควรมีการทดลองใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตผสมน้ำสำหรับแช่เมล็ดก่อนทำการเพาะ เพื่อช่วยให้เมล็ดมีการงอกที่เร็วขึ้น

1.2 การบรรจุวัสดุปลูกลงในถุงปักชำควรบรรจุให้พอดีกับปากถุง หรือทดสอบการรดน้ำให้กับวัสดุปลูกก่อนจะนำเมล็ดลงเพาะ เพื่อให้ได้วัสดุปลูกที่เพียงพอ

2. การปักชำตะບุนดำโดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ IBA อัตราความเข้มข้นต่างๆ

2.1 ควรมีการทดลองใช้เวลาในการจุ่มแช่กิ่งปักชำตะບุนดำให้นานกว่า 10 วินาที ก่อนนำไปปักชำ หรือทดลองควบคุมไปกับการใช้มีดกรีดทำแผลตามยาวรอบกิ่งปักชำก่อนแช่สารควบคุมการเจริญเติบโต เพื่อส่งเสริมการดูดซึมสารควบคุมการเจริญเติบโตให้มากขึ้น

2.2 ควรมีการทดลองเปรียบเทียบการใช้วัสดุปักชำชนิดอื่นๆ เพิ่มเติม เพื่อส่งเสริมให้มีการออกรากที่มากขึ้น และได้วัสดุปักชำที่เหมาะสมในการปักชำสำหรับตะບุนดำมากขึ้น

3. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนต่างๆของตะບุนดำ

3.1 ควรมีการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับชักนำการเจริญและพัฒนาของชิ้นส่วนปลายยอดและตาข้างเพิ่มเติม โดยอาจพิจารณาเติมสารบางอย่างเพื่อกระตุ้นการเจริญและพัฒนาให้ดีขึ้น

3.2 ในการชักนำแคลลัสจากใบอ่อนของตะບุนดำในครั้งต่อไปควรมีการย้ายเปลี่ยนอาหารให้เร็วกว่า 2 เดือน และมีการปรับอัตราความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อให้เหมาะสมในการชักนำให้เกิดต้นอ่อนมากขึ้น เช่น เพิ่มสัดส่วนของสารกลุ่มไซโตไคนินให้มากกว่ากลุ่มออกซินในช่วงหลังจากชักนำแคลลัสได้แล้ว

บรรณานุกรม

- ก่องกานดา ชยามฤต. (2541). **คู่มือจำแนกพรรณไม้**. กรุงเทพฯ : ไทมอนด์ พรินต์ติ้ง จำกัด.
- จรัส เห็นพิทักษ์ และวิทยา สุริยาภานานนท์. (2536). **ผลของ NAA และ ชนิดของกิ่งต่อการเกิดรากของกิ่งตัดชำมังคุด**. กรุงเทพฯ : สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ชัยสิทธิ์ ตระกูลศิริพานิชย์. (2545). **เทคนิคการเพาะชำกล้าไม้ และการปลูกป่าชายเลน**. กรุงเทพฯ : อัมรินทร์พับลิชชิง.
- ชูชาติ แสงภูพาท. (2555). **วัสดุที่ใช้ในการปักชำกิ่ง**. [ออนไลน์]. สืบค้นได้จาก: http://choohattt.blogspot.com/p/blog_846html. [2555, ธันวาคม 16]
- ฐนวัฒน์ มังคลเศรษฐี สุรศักดิ์ นิลนนท์ และรัฐพล ฉัตรบรรยงค์. (2551). **ผลของ IBA ต่อการออกรากของกิ่งปักชำต้นตอองุ่นพันธุ์ SO₄**. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- นภดล จรัสสัมฤทธิ์. (2537). **ฮอร์โมนพืชและสารควบคุมการเจริญเติบโต**. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์ริ้วเขียว
- นันทน์ภัส สุวรรณสินธุ์. (2542). **เทคนิคขยายพันธุ์พืช**. เพชรบุรี : มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี.
- นันทิยา วรรณะภูติ. (2542). **การขยายพันธุ์พืช**. กรุงเทพฯ: โอ.เอส.พรินต์ติ้งเฮาส์.
- นัตยา มนตรี ชูพงษ์ กุศลมานันท์ สุรศักดิ์ นิลนนท์ สุริยา ตันติวัฒน์ และพรชัย จุฑามาศ. (2543). **การขยายพันธุ์มะขามป้อมในสภาพปลอดเชื้อ. ในการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตร ศาสตร์ครั้งที่ 38 1-4 กุมภาพันธ์ 2549 หน้า 49**, กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ร่วมกับกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ทบวงมหาวิทยาลัย (บทคัดย่อ).
- นิรนาม. (2556). **ปัจจัยในการขยายพันธุ์ที่ไม่เกี่ยวข้องกับการใช้เพศ**. [ออนไลน์]. สืบค้นได้จาก : [http://natres.psu.ac.yh/Department/Plant Science/510-111web/book/book%20content.htm/Chapter07/Agri-07.htm](http://natres.psu.ac.yh/Department/Plant%20Science/510-111web/book/book%20content.htm/Chapter07/Agri-07.htm). [2556, ธันวาคม 16]

นิรนาม.(2554). **คุณค่าทางสิ่งแวดล้อมของป่าชายเลน**. [ออนไลน์]. สืบค้นได้จาก [http:// ag-ebook. lib. ac. Th/ebooks/2011/2011-002-0341/index.html.#/2/](http://ag-ebook.lib.ac.th/ebooks/2011/2011-002-0341/index.html.#/2/). [2556, ธันวาคม 15].

บุญส่ง บุญไสย ประสงค์ ศิลาเกษ และสุรศักดิ์ สุภารัตน์. (2546). **การศึกษาผลการออกรากของกิ่งปักชำหม่อนพันธุ์นครราชสีมา 60 กิ่งปานกลางที่กิ่งปักชำโดยระดับความเข้มข้นของสาร NAA ต่างกัน**. อุบลราชธานี : มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี คณะเทคโนโลยีการเกษตร.

ปัญจรัตน์ จินตนา ไพโรจน์ ชัยเลิศพงษา และประสิทธิ์ เพียรอนุรักษ์. (2544). **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม้ชิงชัน**. ในการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39 สาขาการจัดการทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ร่วมกับกระทรวงศึกษาธิการ กระทรวงเกษตรฯ และกระทรวงวิทยาศาสตร์ฯ

พีรเดช ทองอำไพ. (2543). **ฮอร์โมนพืชและสารสังเคราะห์แนวการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย**. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

รณรงค์ วิเศษสุวรรณ. (2541). “เทคนิคการเพาะเลี้ยง และการพัฒนาของเนื้อเยื่อพืช” ในเอกสาร **ประกอบการอบรมเชิงปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**, หน้า 37-49. คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันราชภัฏเพชรบุรี.

รุ่งรัตน์ เทศกุล. (2546). **ผลการใช้ IBA NAA IBA+NAA ต่อการออกรากของกิ่งปักชำขมพู่เพชร**. ปัญหาพิเศษวิทยาศาสตร์บัณฑิต. คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี.

วรรณิ ทัทหกิจ. (2553). **พันธุ์ไม้ป่าชายเลน**. [ออนไลน์]. สืบค้นได้จาก [:http://tanhakit.blogspot.com/2010/12/b;og-post-4136.html](http://tanhakit.blogspot.com/2010/12/b;og-post-4136.html). [2556, ธันวาคม 8]

วิเชษฐ์ คำสุวรรณ. (2545). **การขยายพันธุ์พืช**. กรุงเทพฯ: บริษัทสำนักพิมพ์ไทยวัฒนาพานิชจำกัด.

วิภารัตน์ รัตน์. (2542). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการเก็บรักษาพันธุ์มะตูมในสภาพปลอดเชื้อ.

วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาพืชสวน ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศิวพงษ์ จำรัสพันธุ์. (2541). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. อุดรธานี : ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏอุดรธานี.

สนั่น ขำเลิศ. (2541). หลักและวิธีขยายพันธุ์พืช. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์ริ้วเขียว.

สนิท อักษรแก้ว. (2541). ป่าชายเลน นิเวศวิทยาและการจัดการ. กรุงเทพฯ : อัมรินทร์พับลิชชิง.

สมชาย เกื้อรอด และราชพร แพรกสงฆ์. (2536). ผลของสาร IBA NAA และ IBA+NAA ในระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการออกรากของกิ่งปักชำมะนาวแป้น. กรุงเทพฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

สมปอง เตชะโต และชวนพิศ นิยะกิจ. (2543). ผลของอายุผลและสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการสร้างแคลลัสของพืชในสกุล *Garcinia*. วารสารเกษตร 16 (1) : 31-45 (2543). คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ สงขลา.

สำนักแผนงานและสารสนเทศ. (2554). ข้อมูลและสถิติกรมป่าไม้ 2554. กรมป่าไม้. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก <http://www.forestinfo>. Forest.go.th./content/file/ebook 2554.pdf [2556, มีนาคม 3].

สำนักสำรวจและวิจัยทรัพยากรดิน กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2554). ลักษณะและสมบัติของชุดดินภาคกลาง ชุดดินเพชรบุรี. [ออนไลน์]. สืบค้นได้จาก :<http://www.forestinfo>. Forest.go.th./content/file/ebook 2554. pdf [2556, มีนาคม 3]

สำนักอนุรักษ์ทรัพยากรป่าชายเลน. (2552). พันธุ์ไม้ป่าชายเลนในประเทศไทย. กรุงเทพฯ : ผู้แต่ง.

- สุนันทา ขจรศรีชล. (2555). การพัฒนากล้าไม้สักพันธุ์ด้วยกิ่งปักชำ. [ออนไลน์]. สืบค้นได้จาก : <http://thongthailand.iqetweb.com/index.php?lite=artice&gid=303694> [2555, ธันวาคม 31]
- สุพินญา คำขจร. (2540). การขยายพันธุ์มะตูมโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพฤกษศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- เสวก เสนา. (2545). การศึกษาการใช้สาร IBA (Indolebutyric acid) ความเข้มข้นต่างกันที่มีผลต่อการออกรากของฝรั่ง. ลำปาง : คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันราชภัฏลำปาง.
- อัมพา ว่องวิซขร ปัญญารัตน์ ฤศิริ และวรรณัฐ ศรีพาเพลิน. (2546). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเกี่ยวกับงานขยายพันธุ์พืช. กรุงเทพฯ : กรมส่งเสริมการเกษตร.
- อิทธิสุนทร นันทกิจ. (2551). การปลูกพืชในวัสดุปลูก (Substrate Culture). [ออนไลน์]. สืบค้นได้จาก : <http://www.kmitl.ac.th/~kasoil/hyframe/Substrate.html>. [2555, มกราคม 8]
- อุบล สมทรง. (2544). เอกสารประกอบการสอนวิชาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของพืชเพื่อการเกษตร. เพชรบุรี : โปรแกรมวิชาเกษตรศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันราชภัฏเพชรบุรี.
- อุบล สมทรง. (2542). รายงานวิจัยเรื่องการรวบรวมพันธุ์และเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชมพู. เพชรบุรี : โปรแกรมวิชาเกษตรศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันราชภัฏเพชรบุรี.
- Anonymous. (2013). *Xylocarpus moluccensis*. (Lam.) M. Roem. [Online]. Available : <http://rmbr.nus.edu.sg/organisms/details/s/287>. [2013, December 22].
- Ellison, J. et al. (2010). *Xylocarpus moluccensis* In: IUCN Red List of Threatened Species. [Online]. Available : <http://www.iucnredlist.org/details/178805/0> (2012, December 22)

McCown, B. H.; Lloyd, G. (1981). Woody Plant Medium (WPM) a mineral nutrient formulation for microculture for Woody plant species. Hort Sci. 16 : 453.

Murashige, T.; Skoog, I. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Plant Physiol. 15 : 473-474.

Norul Azilah Rahman, Siti Marsinah Tumin; and Ruziyati Tajuddin. (2013).

Optimization of Ultrasonic Extraction Method of Natural Dyes from *Xylocarpus moluccensis*. [Online]. Available : <http://www.ijbbb.org/papers/162-w30008.pdf>. [2013, December 22].

Peter, K.L. Ng and N. Sivasothi (editors). (2001). **Nyireh batu *Xylocarpus moluccensis* Guide to the Mangrove of Singapore**. [Online]. Available : <http://mangrove.nus.edu.sg/guidebook/text/1078.htm>. [2013, December 15].