บทที่ 2

การตรวจเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สถานภาพปัจจุบันของป่าชายเลนในประเทศไทย

จากการศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับสภาพของป่าชายเลนในประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ. 2504 ถึง 2532 พบว่าพื้นที่ป่าชายเลนของประเทศไทยลดลงเหลือเพียง 1,128,494 ไร่ โดยในระยะเวลา 28 ปี พื้นที่ป่าชายเลนได้ลดลงเป็นจำนวน 1,170,881 ไร่ หรือร้อยละ 50.92 ของพื้นที่ในปี 2504 โดยมีพื้นที่ลดลงเฉลี่ยปีละ 41,817 ไร่ หรือเฉลี่ยร้อยละ 1.82 ต่อปี (ภัทรา ช.สรพงษ์, 2534)

ในปี 2504 ประเทศไทยมีพื้นที่ป่าชายเลนอยู่ในเขต 22 จังหวัด แต่ในปี 2532 ใน 3 จังหวัด คือ สมุทรปราการ สมุทรสาคร และสมุทรสงคราม นั้น พื้นที่ป่าชายเลนได้ลดลงอย่างมากและมีแนวโน้มว่าจะลดลงเรื่อยๆ ดังนั้นในปี 2535 เป็นต้นมา ทางมูลนิธิคุ้มครองสัตว์ป่าและพรรณพืชแห่งประเทศไทยในพระบรมราชินูปถัมภ์ร่วมกับประชาชนได้มีการปลูกป่าโกงกางในจังหวัดสมุทรสงคราม เพื่อฟื้นฟูสภาพธรรมชาติให้คืนสู่สภาพที่เคยเป็นมาในอดีต สาเหตุที่พื้นที่ป่าชายเลนลดลงมาโดยตลอด เนื่องมาจากการเพิ่มของจำนวนประชากร การพัฒนาเทคนิคในการเพาะเลี้ยงชายฝั่งทะเล และการขยายตัวในการพัฒนาทางเศรษฐกิจและสังคมเพื่อกิจการตามรูปแบบหลัก 4 ประการ ตามตารางที่ 1(ภัทรา ช.สรพงษ์, 2534)

ตารางที่ 1 การใช้พื้นที่ป่าชายเลนเพื่อกิจการต่างๆ (พ.ศ. 2529)

กิจการ	เนื้อที่ (ไร่)	ร้อยละ
การประมง	689,120	64.30
การเหมืองแร่	34,066	3.18
การทำนาเกลือ	66,000	6.16
กิจกรรมอื่นๆ	282,515	26.36
รวม	1,071,701	100.00

จากข้อมูลปี 2529 นี้แสดงถึงว่ามีการบุกรุกทำลายป่าชายเลนเพื่อกิจกรรมประมงชายฝั่งทะเลถึงร้อยละ 64.30(ภัทรา ช.สรพงษ์, 2534)

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สำนักงบประมาณมีข้อคิดเห็นเกี่ยวกับนโยบายในด้านป่าชายเลนหลายประการ ประการหนึ่งที่น่าสนใจ คือข้อเสนอว่ารัฐบาลควรกำหนดให้มีคณะกรรมการนโยบายป่าไม้แห่งชาติ เพื่อทำหน้าที่ในการพิจารณากำหนดนโยบายป่าไม้ของชาติ โดยมีคณะอนุกรรมการพิจารณานโยบายในเรื่องการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติชายฝั่งทะเล ซึ่งประกอบด้วยนักวิชาการด้านนิเวศวิทยาป่าชายเลนจากสถาบันการศึกษาต่างๆ จากหน่วยงานของรัฐบาล จากหน่วยงานเอกชน และจากผู้มีประสบการณ์ในสาขาวิชานี้ เพื่อทำหน้าที่ในการพิจารณากำหนดนโยบายในการอนุรักษ์ทรัพยากรชายฝั่งทะเล ให้มีความเหมาะสมกับสถานภาพปัจจุบันและในอนาคตตลอดเวลา คือให้มีความสมดุลย์ระหว่างการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติชายฝั่งทะเลและความจำเป็นที่จะต้องนำไม้จากป่าชายเลนไปทำประโยชน์ ในการพัฒนาการเศรษฐกิจ การสังคมของประเทศชาติ และประชาชน โดยส่วนรวมในแต่ละช่วงเวลาอย่างเหมาะสมและเป็นรูปธรรม (ภัทรา ช.สรพงษ์, 2534)

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกศึกษาในพืชพังกาหัวสุมดอกแดง ซึ่งอยู่ในวงศ์เดียวกับโกงกางใบเล็ก และโกงกางใบใหญ่ แต่มีปริมาณสารแทนนินในเปลือกไม้สูงกว่าโกงกางทั้งสองชนิด หากสามารถเพิ่มปริมาณต้นพังกาหัวสุมดอกแดงให้มีปริมาณมากน่าจะเป็นประโยชน์ในด้านอุตสาหกรรมการสกัดสารแทนนินเพื่อใช้ในกิจกรรมต่างๆ รวมทั้งใช้ปลูกเสริมในบริเวณป่าชายเลนที่เสื่อมโทรมได้อีกด้วย

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของไม้พังกาหัวสุมดอกแดง (เต็ม สมิตินันท์ และคณะ. 2518 และเทียมใจ ดมกฤส, 2536)

ชื่อวิทยาศาสตร์	*Bruguiera gymnorrhiza* Lamk.
วงศ์	Rhizophoraceae
ชื่อสามัญ	พังกาหัวสุมดอกแดง
ลักษณะนิสัย	ไม้ยืนต้นขนาดใหญ่มีความสูงมากกว่า 30 เมตร
ใบ	รูปมนหรือรูปมนแกมรูปบรรทัด กว้าง 5 – 9 เซนติเมตร ยาว 8.5 – 22เซนติเมตร ปลายใบแหลม ฐานใบสอบเข้าหากัน คล้ายรูปลิ่ม ก้านใบยาว 2 – 4.5 เซนติเมตร หูใบมักจะมีสีแดง ยาวประมาณ 4 เซนติเมตร
ดอก	สีแดงยาว 3 – 3.5 เซนติเมตร ก้านดอกยาว 1 – 2.5 เซนติเมตร กลีบรองกลีบดอก 11–15 แฉก กลีบดอกยาว 13–15 มิลลิเมตร ขอบกลีบปกคลุมด้วยขนสีขาว เกสรเพศผู้ยาว 8 – 11 มิลลิเมตร

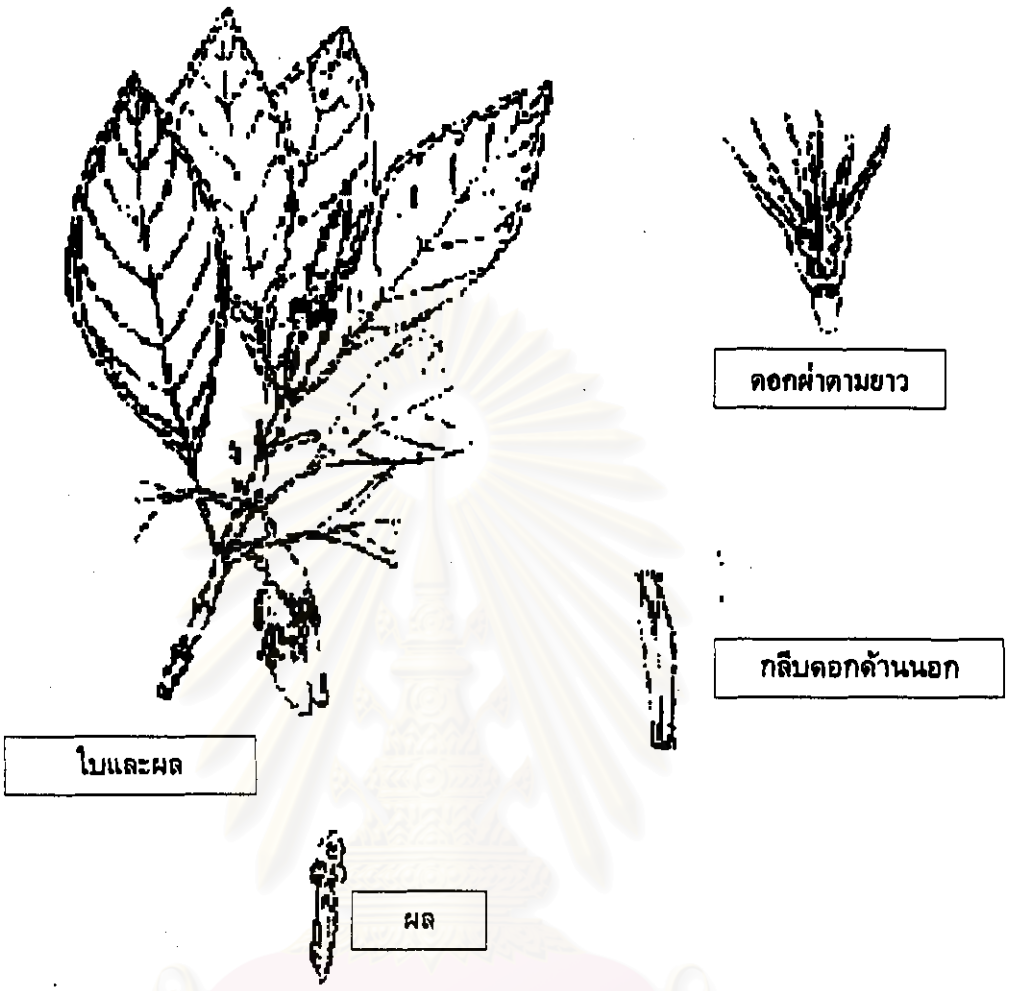
หลอดเกสรเพศเมียยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร รังไข่แบบ inferior มีจำนวน 2-4 ห้อง แต่ละห้องมีไข่อ่อน 2

ผล ผลเป็นรูปทรงกระบอกยาวประมาณ 11.5 เซนติเมตร ภายในมีเมล็ดซึ่งจะงอกทันทีตั้งแต่ผลยังติดอยู่บนต้น ลำต้นอ่อนรูปร่างคล้ายบุหรี่ซิการ์ ขนาด 1.5-2 X 15-25 เซนติเมตร (รูปที่ 1)

ลำต้นอ่อน คัพภะในเมล็ดจะงอกเป็นต้นกล้าหรือลำต้นอ่อนโดยไม่มีการพักตัว ประกอบด้วยส่วนของ hypocotyl มีส่วนปลายคือ ราก (radicle) ส่วนของยอด(plumule) หรือยอดอ่อน และใบเลี้ยง (cotyledons) ชาวบ้านนิยมเรียกส่วนของลำต้นอ่อนที่งอกบนต้นนี้ว่า" ฝัก "(propagule) เมื่อฝักแก่ซึ่งลักษณะผิวของฝักจะมีสีแดงอมเขียวเข้ม อาจหล่นลงปักตามโคนต้นหรือลอยตามน้ำ ประมาณ 5-10 วันจะมีรากงอกออกมาตรงส่วนปลายของฝัก หรือบางครั้งถ้าฝักปักแน่นแล้วเพียง 1-2 วันเท่านั้นก็จะมีรากงอกออกมา หลังจากนั้นส่วนของยอดอ่อนจะเกิดการพัฒนาขยายขนาดยาวขึ้นเป็นลำดับ ทำให้ได้พังกาหัวสุมดอกแดงต้นใหม่ขึ้น

ระยะการเป็นดอก-ผล ออกดอกระหว่างเดือนกันยายน - มกราคม ผลจะร่วงหล่นจากต้นประมาณ 2 - 3 เดือนต่อมาหลังจากออกดอก

รูปที่ 1 พังกาหัวสุมดอกแดงในสภาพธรรมชาติ



รูปที่ 2 แสดงส่วนต่าง ๆ ของพังกาหัวสุมดอกแดง

การเก็บรักษาฝักพังกาหัวสุมดอกแดงเพื่อทำพันธุ์

จากการศึกษาการเก็บฝักพังกาหัวสุมดอกแดงขนาดยาวประมาณ10-15 เซนติเมตร ที่จังหวัดระนองโดยเก็บไว้ในโรงเรือนที่มีอากาศถ่ายเทได้สะดวก รดน้ำเช้า-เย็นทุกวัน ปรากฏว่าหลังจากเก็บรักษาไว้ในระยะ 20 วันแรก อัตราการรอดตายจะสูงถึง 100 เปอร์เซนต์ เมื่อเก็บรักษาไว้นานกว่านี้อัตราการรอดตายจะลดลง กล่าวคือเมื่อถึงระยะเวลา 60 วัน อัตราการรอดตายจะลดลงเหลือเพียง 77 เปอร์เซนต์ และเมื่อเก็บไว้นาน 70 วัน อัตราการรอดตายจะลดลงเหลือเพียง 65 เปอร์เซนต์ ดังนั้นในการเก็บรักษาฝักพังกาหัวสุมดอกแดงตามวิธีนี้ไม่ควรเก็บไว้นานเกิน 60 วัน(โสภณ หะวานนท์ และไพศาล ธนะเพิ่มพูน, 2534)

การขยายพันธุ์โดยการปักชำ

การขยายพันธุ์โดยการปักชำเป็นการขยายพันธุ์พืช โดยการตัดเอาส่วนของต้น กิ่ง รากหรือใบของพืช จากต้นแม่(parent plant) แล้วนำไปไว้ในสภาพที่เหมาะสม เพื่อทำให้เกิดรากและยอดเป็นต้นใหม่ขึ้น ซึ่งต้นใหม่ที่เกิดขึ้นนี้ส่วนมากจะมีลักษณะเหมือนต้นแม่ทุกประการ (Hartmann และ Kester, 1990)

ในกรณีของพังกาหัวสุมดอกแดง รวมทั้งไม้ป่าชายเลนทั่วไป ใช้ส่วนของฝักแก่หรืออันที่จริงแล้วคือส่วนของลำต้นอ่อนปักลงในพื้นที่ที่ต้องการปลูกซึ่งจะได้กล้าไม้เพียงฝักละ 1 ต้น

การเกิดรากของท่อนชำ

การเกิดรากเริ่มแรกนั้นต้องมีการแปรรูปของเนื้อเยื่อเจริญ (meristem) ไปเป็นจุดกำเนิดราก มีรายงานว่าการแปรรูปของเนื้อเยื่อเจริญขึ้นอยู่กับอัตราส่วนของออกซินกับสารอื่นๆ บางชนิดนอกจากนี้ยังพบว่าอัตราส่วนของออกซินกับสารบางชนิดต่ำจะทำให้เนื้อเยื่อเจริญของกิ่งยาสูบแปรเป็นจุดกำเนิดของตาและจะเจริญเป็นกิ่งและใบแต่เมื่ออัตราส่วนนี้ปานกลางจะเกิดแคลลัสขึ้นแต่เมื่ออัตราส่วนนี้สูงออกซินในกิ่งมีมากจะเกิดจุดกำเนิดของรากขึ้น(Skoog, 1944)

สารควบคุมการเจริญกับการเกิดราก

สารควบคุมการเจริญเริ่มจะเจริญก้าวหน้ามาได้ประมาณ 200 กว่าปีมาแล้ว ปัจจุบันนี้สารควบคุมการเจริญก็ยังเป็นที่สนใจในวงการวิทยาศาสตร์ทั่วไป ซึ่งมีการทดลองค้นคว้าเพื่อให้ได้สารควบคุมการเจริญที่เหมาะสมไปช่วยเร่งการเจริญเติบโตของพืช การขยายพันธุ์ และการบังคับการออกดอกติดผลของพืช ให้ได้ผลสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ในระยะแรกเริ่มของการค้นคว้าทางสารควบคุมการเจริญนั้น Tukey ได้รวบรวมกล่าวไว้ว่า นักพฤกษศาสตร์ชาวฝรั่งเศสที่มีชื่อเสียงในสมัยนั้น ได้สรุปผลของขบวนการออกราก (root formation) ไว้ว่า เนื่องมาจาก "descending sap" และในปีต่อมานักพฤกษศาสตร์ชาวเยอรมันได้สังเกตดูการแปรรูปของเซลล์มาเป็นรากและดอก เนื่องมาจากสารเคมีที่เคลื่อนที่ไปมาในต้นพืชนี้เป็นตัวทำให้เกิดขบวนการออกรากและขบวนการออกดอก (flower formation) อย่างไรก็ตาม การค้นคว้าทดลองเกี่ยวกับสารควบคุมการเจริญก้าวที่สำคัญที่สุดถือเป็นจุดเริ่มต้นของวิชาสารควบคุมการเจริญคือ ในปี 1957 นักพฤกษศาสตร์ที่มีชื่อคือ F.W. Went ได้ทำการทดลองกับพืช Avena (Avena นี้เป็นชื่อ genus ของข้าวโอ๊ต) โดยการตัดเอายอดของ coleoptile ออก และนำไปวางบนแผ่นเจลลาตินเล็กๆ แล้วนำเอาแต่แผ่นเจลลาตินเท่านั้นไปวางบนส่วนตัด (cut stump) ของ coleoptile

ปรากฏว่า coleoptile ส่วนที่เป็นส่วนตัดสามารถจะเจริญเติบโตได้ การทดลองอันนี้ได้ชี้ให้เห็นว่า สารเคมีที่ถูกผลิตขึ้นในยอด coleoptile นั้น สามารถจะสกัดออกมาได้ หลังจากที่ Went สามารถสกัดเอาสาร (substances) ออกมาจากพืชได้แล้ว จึงมีผู้นิยมเรียกสารเหล่านี้หลายชื่อ คือ growth substance, hormone, phytohormone และ formative substance ซึ่งสารดังกล่าวนั้นทำหน้าที่เหมือนสารควบคุมการเจริญ หลังจากพบ β-indoleacetic acid หรือ heteroauxin ในปัสสาวะแล้ว Went และเพื่อนร่วมงานของเขาได้ทดลองเอาindoleacetic acid (IAA) ฉีดกับพืชปรากฏว่ากิ่งและลำต้นเกิดรากขึ้นได้ จากนั้น IAAได้ถูกนำไปใช้ในการขยายพันธุ์พืชเพื่อช่วยเร่งรากของกิ่งปักชำและส่วนอื่นๆของพืช (Tukey, 1954)

มักใช้ประโยชน์ของออกซินเพื่อการขยายพันธุ์พืชคือใช้กระตุ้นจุดเกิดราก ให้เจริญต่อไปเป็นรากในกิ่งชำ (Stoutemger, 1954) การใช้ IAA ผสมใน lanolin สามารถกระตุ้นรากของกิ่งปักชำมะนาว ผกากรอง และ acalypha ได้ (Cooper,1935) นอกจากนี้ยังพบว่า indolebutyric acid (IBA)และ IAA ให้ผลมากกว่า α- napthaleneacetic acid(NAA) ในการปักชำกิ่งสัมหลายชนิด (Cooper, 1940) การนำออกซินใช้เร่งการเกิดรากนั้นต้องพิจารณาถึงชนิดของพืช สภาพของกิ่งและสิ่งแวดล้อมที่ทำการทดลองด้วย เพราะสารควบคุมการเจริญชนิดต่างๆ ที่สังเคราะห์ขึ้นนั้นมีคุณสมบัติไม่เหมือนกัน ในการที่จะกระตุ้นพืชชนิดต่างๆ ให้เกิดราก สารที่ใช้มากที่สุดเพื่อเร่งรากคือ IAA, IBA และ NAA สำหรับ IBA นั้น ยอมรับกันว่าให้ผลดีกว่า NAA เนื่องจาก IBA มีช่วงที่ให้ผลกว้างกว่า NAA (Pearse, 1948) นอกจากนี้ยังพบว่ารากที่เกิดจากกิ่งปักชำที่ใช้ออกซินมีลักษณะที่ดีกว่ารากของกิ่งปักชำธรรมดาในทุกๆด้าน (Skinner; 1938) พวกออกซินต่างๆ เช่น IAA, IBA และ NAA มักจะช่วยในการกระตุ้นให้เกิดการออกรากในพืชบางชนิด (Webber, 1865)

สำหรับพืชป่าชายเลนนั้นมีผู้นำการปักชำมาใช้เพื่อเพิ่มจำนวนกล้าไม้ให้ได้มากกว่า 1 ต้น ต่อ 1 ฝัก โดยทดลองทำในพืชโกงกางใบเล็ก ซึ่งเป็นพืชวงศ์ Rhizophoraceae เช่นเดียวกับพังกาหัวสุมดอกแดง โดยคัดฝักโกงกางใบเล็กที่สมบูรณ์นำมาตัดเป็นสามส่วนเท่าๆ กัน จุ่มด้านโคนของแต่ละส่วนลงในสารละลายออกซินสังเคราะห์ 4 ชนิด ได้แก่ NAA, IBA, IAA และสารละลายผสม ระหว่าง IBA และ IAA (อัตราส่วน 1 ต่อ 1)โดยแต่ละชนิดมี 5 ระดับความเข้มข้น คือ 500, 1000, 2000, 4000 และ 6000 มิลลิกรัมต่อลิตร ใช้วิธีจุ่มแบบ quick dip แล้วนำไปปักชำในถุงพลาสติกสีดำวางในพื้นที่เพาะชำของศูนย์วิจัยป่าชายเลน ซึ่งมีน้ำทะเลท่วมถึง 16-18 วันต่อเดือน หลังจากนั้นทำการเก็บข้อมูลโดยบันทึกช่วงเวลาที่กล้าไม้เริ่มแตกใบคู่แรก เมื่อสิ้นสุดการทดลองวัดความสูงของกล้าไม้ที่ยังมีชีวิตอยู่ เปรียบเทียบกันในแต่ละการทดลอง เมื่อกล้าไม้มีอายุ 6 เดือน พบว่าฝักส่วนยอดและส่วนโคนชุดที่ได้รับ IAA ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตรมีการเจริญของยอด 96.67 และ 88.33 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ในขณะที่ฝักส่วนกลางชุดที่ได้รับ IAA ความเข้มข้น 6000 มิลลิกรัมต่อลิตรมีจำนวนกล้าไม้ที่มีการเจริญของ

ยอด 63.33 เปอร์เซนต์ สำหรับชุดควบคุมฝักส่วนโคน ส่วนกลาง และส่วนยอด มีจำนวนกล้าไม้ 25.0, 23.33 และ 77.33 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ความสูงของกล้าไม้จากฝักส่วนยอดชุดที่ได้รับสาร IAA ที่ระดับความเข้มข้น 2000 มิลลิกรัมต่อลิตร วัดได้สูงสุด 15.24 เซนติเมตร ซึ่งสูงกว่ากล้าไม้จากฝักส่วนโคนและส่วนกลางชุดที่ได้รับ IBA ความเข้มข้น 500 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตรมีความสูงมากที่สุด 8.24 และ 7.70 เซนติเมตร ตามลำดับ สำหรับชุดควบคุมวัดความสูงของกล้าไม้ส่วนโคน ส่วนกลาง และส่วนยอด ได้ 3.03, 4.03 และ 12.28 เซนติเมตร ตามลำดับ (ทนุวงศ์ แสงเทียน, 2536)

การเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในหลอดแก้ว

ปัจจุบันได้มีการนำเทคนิคการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้ประโยชน์ในด้านการเกษตรอย่างมาก เช่น ใช้ในการขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มจำนวนต้นให้ได้ปริมาณมากในระยะเวลาอันสั้น ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อให้ได้พืชพันธุ์ใหม่ ใช้ในการทำให้พืชปลอดจากไวรัส และใช้ในการเก็บรักษาพันธุ์ เป็นต้น (Fujiwara, 1982)

จากรายงานการเลี้ยงเนื้อเยื่อปลายยอดของไม้ยืนต้น เช่น chestnut(Vieitez et al., 1983) red fox(Stapfer, Heuser และDencke, 1985) pistachio nut(Barghchi และ Alderson, 1983) *Heuchera sanguinea* Engelm 'Rosamundi'(Stapfer et al., 1985) โกโก้(Passey และJones, 1983) และ มะเดื่อ (Pontikis และMelas, 1986) เป็นต้น โดยเลี้ยงบนอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินชนิดต่างๆ เช่น benzyladenine (BA) , kinetin , 6 - (r,r - Dimetylallylamino) - purine (2IP) และ zeatin พบว่าเนื้อเยื่อจะมีการพัฒนาเป็นยอดจำนวนมากขึ้นกับความเหมาะสมของชนิดและความเข้มข้นของสารไซโตไคนินที่ใช้ เช่น การเลี้ยงเนื้อเยื่อปลายยอดของ chestnut จะเกิดยอดจำนวนมากบนอาหารที่มี BA ระดับ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือการเลี้ยงเนื้อเยื่อปลายยอดของโกโก้ พบว่าการใช้ BA (10^{-6} M) หรือ zeatin (10^{-5} M) จะเกิดยอดได้ดีกว่า kinetin (10^{-5} M) หรือ 2IP (10^{-5} M)

ตาข้างเป็นเนื้อเยื่ออีกชนิดหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช จากรายงานการเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างของไม้ยืนต้น เช่น chestnut(Chevre et al., 1983) *Paulownia tomentosa* (Burger, Lin และ Wu, 1985) Chinese chestnut(Qi-guang et al., 1986) crape myrtle (Zhang และ Davies, 1986) และ *Quercus shumardii* Buckl. ซึ่งเป็นพวก red oak(Bennett และ Davies, 1986) เป็นต้น โดยเลี้ยงบนอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินชนิดต่างๆพบว่าเนื้อเยื่อจะมีการพัฒนาเป็นยอดจำนวนมาก ขึ้นกับความเหมาะสมของชนิดและความเข้มข้นของสารไซโตไคนินที่ใช้เช่นเดียวกับการเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ปลายยอด เช่น การเลี้ยงตาข้างของ *Quercus shumardii* Buckl. จะเกิดยอดจำนวนมากบนอาหารที่มี BA ระดับ 0.5-5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยยอดจะเพิ่มมากขึ้นตามความเข้มข้นของ BA ในขณะที่การใช้ 2iP ไม่มีผลต่อการเกิดยอด

การเลี้ยงยอดของพืชประเภทไม้ยืนต้นที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อปลายยอดหรือตาข้างของพืชบนอาหารที่มีออกซิน เช่น IBA สามารถชักนำให้ยอดเกิดรากได้ซึ่งระดับความเข้มข้นของ IBA ขึ้นกับชนิดของพืช เช่น ยอดของ *Paulownia tomentosa* เกิดรากได้เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี IBA ระดับ 0.5 - 1.0 มิลกรัมต่อลิตร (Burger et al., 1985) ยอดของ crape myrtle เกิดรากได้เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี IBA 4.9 ไมโครโมล (Zhang และ Davies, 1896) และยอดของแอปเปิ้ลจะเกิดรากได้เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี IBA 0.25 ไมโครโมล (Travers, Starbuck และ Natarella, 1985) นอกจากจะใส่ IBA ลงไปในอาหารแล้ว การใช้วิธีจุ่มปลายยอดในสารละลาย IBA ที่มีมีความเข้มข้นที่เหมาะสมแล้วเลี้ยงบนอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตก็สามารถชักนำให้เกิดรากได้เช่นกัน เช่น การจุ่มปลายยอดของ *Paulownia tomentosa* ในสารละลาย IBA ความเข้มข้น 500-1000 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 15 วินาที (Burger et al., 1985) การจุ่มปลายยอดของ Chinese chestnutในสารละลาย IBA 9.8 หรือ 14.8 มิลลิโมล เป็นเวลา 1 วินาที (Qi-guang, 1986) แล้วนำไปเลี้ยงในหลอดแก้วหรือหลังจากจุ่มปลายยอดในสารละลาย IBA แล้วนำออกมาปลูกในวัสดุปลูกที่เหมาะสมก็สามารถเกิดรากได้ เช่น การจุ่มปลายยอดของ *Quercus shumardii* Buckl. ในสารละลาย IBA ระดับ 0.5 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 15 นาที (Bennett และ Davies, 1986) นอกจากนี้แล้วการใช้ IBA ร่วมกับสารอื่นสามารถชักนำให้เกิดรากได้ดี เช่น การเลี้ยงยอดของโกโก้ บนอาหารที่มี phloroglucinol 10^{-3} โมล ร่วมกับ NAA $2.5x10^{-6}$ โมล และ IBA $2.5x10^{-6}$ โมล จะสามารถชักนำให้เกิดรากได้ดี (Passey และ Jones, 1983)

สารฟีนอลิคที่เกิดจากเนื้อเยื่อพืชขณะเลี้ยงในหลอดแก้ว

มีผู้รายงานว่าการเกิดสีน้ำตาลดำที่ขอบชิ้นส่วนของพืชนี้เกิดจากการปล่อยสารประกอบฟีนอลออกมาเนื่องจากแทนนินจากเนื้อเยื่อพืชออกซิไดซ์กับออกซิเจนในอากาศและสารประกอบพวกฟีนอลิค มีผลยับยั้งการเติบโตของเนื้อเยื่อพืชเนื่องจากมีผลไปกระตุ้นให้เซลล์พืชสังเคราะห์เอนไซม์ที่มีคุณสมบัติไปขัดขวางการเกิด oxidative phosphorylation (Butenko, 1985) ในพืชบางชนิดการนำเนื้อเยื่อมาเลี้ยงในหลอดแก้วมักประสบปัญหา เนื่องจากสารฟีนอลิคที่พืชสร้างขึ้นซึ่งมีผลยับยั้งการเติบโตของเนื้อเยื่อพืช เช่น ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมันเพื่อการขยายพันธุ์ต้องเลี้ยงในที่มืดเป็นเวลา 45 วัน ก่อนนำไปเลี้ยงในสภาพปกติที่ได้รับแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน(สมปอง เตชะโต, 2536) เนื่องจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในที่มืดมีส่วน

ช่วยลดสารประกอบฟีนอลิค เนื่องจากแสงมีส่วนช่วยทำให้เกิดออกซิเดชั่นของฟีนอล นอกจากนี้กล้วยก็เป็นพืชที่มีการผลิตสารฟีนอลในอัตราสูง ซึ่งมีผลทำให้ชิ้นส่วนพืชมีสีน้ำตาลไม่มีการพัฒนาหลังจากเลี้ยงจึงควรจุ่มแช่ชิ้นส่วนพืชในสารละลาย Antioxident เช่น สารละลาย ascorbic acid และสารละลาย citric acid เป็นต้น(สมปอง เตชะโต, 2536) ในปีค.ศ. 1920 ได้มีผู้แบ่งลักษณะของแทนนินในเนื้อไม้หรือเปลือกไม้ออกเป็น 2 ประเภท คือ ไฮโดรไลเซเบิลแทนนิน(hydrolyzable tannins) และคอนเดนซ์แทนนิน(condensed tannins)(Nierenstein, 1934)ตัวอย่างของไฮโดรไลเซเบิลแทนนินเช่น แทนนินจากไม้ก่อ(chestnut), ไม้สมอ (myrabuin), ผลโอค(valonia), และเนื้อไม้โอค(oak wood) ส่วนคอนเดนซ์แทนนินเช่น แทนนินจากเคบราชอ(quebracho), มิโมซา(mimosa), ไม้ชายเลน(mangrove)และเปลือกไม้โอค (oak bark)(Hamer,Davidson-Pratt and Such, 1966) นอกจากนี้มีคนพยายามศึกษาเกี่ยวกับคอนเดนซ์แทนนินซึ่งมีโมเลกุลซับซ้อนมาก ไม่สามารถไฮโดรไลซ์ด้วยกรดหรือด่างได้ แต่ละลายได้ดีในน้ำร้อน น้ำ แอลกอฮอล์ และอะซิโตน(Hillis, 1962) เนื่องจากความสลับซับซ้อนของโครงสร้างในโมเลกุล และความลำบากในการแยกคอนเดนซ์แทนนินให้เป็นสารบริสุทธิ์จากสารที่สกัดได้ตามธรรมชาติ ทำให้ยังไม่ทราบรายละเอียดเกี่ยวกับสมบัติทางเคมี(Robinson, 1967) โดยทั่วไปจะพบแทนนินอยู่ในพืชชนิดต่างๆ โดยมีอยู่ในส่วนต่างๆ ของพืช เช่น ใบ ลำต้น เปลือก ราก ผล แต่คอนเดนซ์แทนนินจะผันแปรไปตามชนิดของพืช แม้ในพืชชนิดเดียวกันแต่อยู่ต่างถิ่นหรืออายุต่างกันหรือแม้แต่ในต้นเดียวกันแต่ต่างส่วนกันก็มีปริมาณแทนนินต่างกัน

การทดสอบแทนนินอย่างง่ายทำได้โดยใช้สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์(ferric chloride solution) ถ้าได้ผลบวกจะเกิดเป็นสีน้ำเงิน, ดำ-น้ำเงิน, เขียว หรือเขียวอมน้ำเงิน และอาจมีตะกอนเกิดขึ้นด้วย การเกิดสีนี้เกิดจากปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างเฟอร์ริกคลอไรด์และหมู่ฟีนอลิคของแทนนิน ถ้ามีฟีนอลิค 2 หมู่จะได้สีเขียว ถ้ามี 3 หมู่จะได้สีน้ำเงิน(Norman, 1966)

การเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชกับพืชป่าชายเลน

จากการรายงานการเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นอ่อนและใบของพืชชายเลน 3 ชนิด ได้แก่ โกงกางใบเล็ก พังกาหัวสุมดอกแดง และถั่วขาว บนอาหารสังเคราะห์จำนวน 15 สูตร ได้แก่ สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ร่วมกับ NAA(0, 2 มิลลิกรัมต่อลิตร) และkinetin (0, 1 มิลลิกรัมต่อลิตร), สูตรของ Nitsch and Nitsch ร่วมกับ NAA(0, 1 มิลลิกรัมต่อลิตร), kinetin(0, 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร), 2,4-D(0, 1 มิลลิกรัมต่อลิตร) และเกลือโซเดียมคลอไรด์ (0, 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร), 1/2 MS ดัดแปลงร่วมกับ NAA(0, 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร), kinetin (0, 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร) และเกลือโซเดียมคลอไรด์ (0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร) และ1/2 MS ร่วม

กับ NAA(0, 0.5, 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร), kinetin(0, 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร)และ 2,4-D (0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) เป็นต้น เมื่อเพาะบนอาหารทุกสูตร ให้ผลใกล้เคียงกันคือ เนื้อเยื่อทั้งส่วนของลำต้นอ่อนและใบเกิดสีน้ำตาลอย่างรวดเร็ว จึงยังไม่สามารถที่จะตอบสนองต่อการพัฒนาเป็นแคลลัส (callus) และเจริญเปลี่ยนแปลงต่อไปได้ (สมพร ประเสริฐส่งสกุล และ นพรัตน์ บำรุงรักษ์, 2536)

นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าได้มีการนำผลของโกงกางญี่ปุ่น(*Rhizophora stylosa*) และฝักอ่อนของพังกาหัวสุมดอกแดง (*Bruguiera gymnorrhiza*) มาฆ่าเชื้อบริเวณผิวนอกโดยน้ำยาฟอกล้างต่างๆ แล้วตัดส่วนคัพภะและลำต้นอ่อนมาเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) ร่วมกับ kinetin ที่ความเข้มข้น 0.2 , 2 และ 20 ไมโครโมลต่อลิตร และใช้เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ปรากฏว่า 2 สัปดาห์หลังจากเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้เกิดแคลลัสขึ้นบนส่วนคัพภะของโกงกางญี่ปุ่น ในอาหารที่เติม 2,4-D 2 ไมโครโมลต่อลิตร ร่วมกับ kinetin 0.2 ไมโครโมลต่อลิตร เพียง 18 ขวดใน 96 ขวดที่ทำการทดลอง เมื่อแคลลัสเจริญจนได้ขนาด 10 มิลลิเมตร จึงตัดแบ่งเป็น 4 ชิ้นย่อยเพื่อขยายจำนวนแคลลัสด้วยการลดความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตลงเหลือ 1 ใน 10 ของความเข้มข้นเดิม พบว่า แคลลัสมีการเจริญลดลง บางส่วนเปลี่ยนเป็นสีดำ และพบปัญหาการบนเปื้อนจากเชื้อราและแบคทีเรียสูง(มาลี จินตนา และ วิพัทธ์ จินตนา, 2536)

ในการชักนำให้เกิดยอดได้ทดลองโดยย้ายแคลลัสที่ได้ไปเลี้ยงในอาหารที่เติมเฉพาะ kinetin หรือ BAP และส่วนผสมของออกซิน(2,4-D , IAA และNAA) และไซโตไคนิน (BAP และkinetin) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆกัน ภายใต้ความเข้มแสง 5,700 ลักซ์ ระยะเวลาให้แสง 12 ชั่วโมงต่อวัน 8 สัปดาห์ พบว่าในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 2 ไมโครโมลต่อลิตร และ kinetin 0.2 ไมโครโมลต่อลิตรมีการพัฒนาของกลุ่มเซลล์แคลลัสโดยพัฒนารูปทรงจากทรงกลมยื่นยาวออกมาคล้ายเข็ม 3 วันถัดมากลุ่มเซลล์นี้เจริญเติบโต มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 มิลลิเมตร สูงประมาณ 2-3 มิลลิเมตร 2 วันถัดมาส่วนปลายของกลุ่มเซลล์นี้ได้ขยายกว้างขึ้นและสีได้เปลี่ยนจากสีชมพูอ่อนไปเป็นสีค่อนข้างเขียว และที่บริเวณส่วนปลายยอดของกลุ่มเซลล์นี้แผ่ขยายออกคล้ายยอดที่แตกใบอ่อนเล็กๆ หลังจากนั้นไม่สามารถสังเกตการพัฒนาในขั้นต่อไปได้

นอกจากนั้นนำยอดของ *Avicennia marina* และพังกาหัวสุมดอกแดงมาฆ่าเชื้อบริเวณผิวด้านนอกแล้วตัดแต่งยอด *Avicennia marina* ให้มีความยาวประมาณ 1 เซนติเมตร และตัดแต่งยอดของพังกาหัวสุมดอกแดงให้มีความยาว 3 - 5 เซนติเมตร จากนั้นเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญออกซิน (IAA, NAA และ2,4-D)ผสมกับไซโตไคนิน(kinetin และ BAP) ที่ความเข้มข้น 0.2, 2 และ 20 ไมโครโมลต่อลิตร โดยเลี้ยงที่

อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 5,700 ลักซ์ ได้รับแสง 12 ชั่วโมงต่อวัน พบว่าตาข้างของ *Avicennia marina* ที่เลี้ยงในอาหารที่เติม NAA 2 ไมโครโมลต่อลิตรและ BAP 20 ไมโครโมลต่อลิตร มีการเจริญหลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 2-3 สัปดาห์ สำหรับตาข้างของพังกาหัวสุมดอกแดงที่เลี้ยงในอาหารที่เติมเฉพาะ BAP ที่ความเข้มข้น 2 และ 20 ไมโครโมลต่อลิตร มีการพัฒนาตาข้างเป็นใบ หลังจากที่เลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ จากเอกสารอ้างอิงที่ได้รับไม่มีรายละเอียดเกี่ยวกับจำนวนชิ้นของแคลลัสที่พัฒนาไปเป็นยอด อัตราการตาย และอัตราการรอดชีวิตของยอด(มาลี จินดนา และวิพักตร์ จินดนา, 2536)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย