บทที่ 3

ผลการทดลอง

3.1 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการเกิดยอดจำนวนมาก (multiple shoots)

3.1.1 การชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากจากปลายยอดและตาข้างของเปล้าน้อย

Donald (1980) รายงานว่าฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนินสามารถกระตุ้นการเกิดยอดได้ และ Jones และ Hopgood (1979) อ้างถึงใน Pierik (1989) รายงานว่าโฟลโรกลูซินอล (PG) สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ ส่วน GA_3 (กรดจิบเบอเรลลิก) เป็นฮอร์โมนกลุ่มจิบเบอเรลลิน มีผลต่อการยืดยาวของยอด (Zaerr และ Mapes, 1982) ดังนั้นในการทดลองนี้จึงเพาะเลี้ยงปลายยอดและตาข้างของเปล้าน้อยบนอาหาร 10 สูตรคือ MS (control), MS ที่เติมฮอร์โมน Kn หรือ BA ที่ความเข้มข้น 0.5, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และ MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ PG 1.62 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ GA_3 0.03 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามวิธีการในข้อ 2.3.2 พบว่าอาหารสูตร MS สามารถชักนำให้ปลายยอดและตาข้างของเปล้าน้อยพัฒนาเป็นยอดได้ 1 ยอดต่อ 1 ตา หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ และพัฒนาเป็นใบสีเขียวที่บริเวณยอดได้ประมาณ 2-8 ใบ (รูปที่ 3-1) มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดจากปลายยอดและตาข้างได้สูงสุด 40 และ 80 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าบางชิ้นส่วนมีการพัฒนาเป็นแคลลัสสีเขียวอ่อนบริเวณรอยตัดด้านบนชิ้นส่วน และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ สำหรับอาหารที่มีการเติม Kn หรือ BA ทุกความเข้มข้นให้ผลเหมือนกับ MS คือสามารถชักนำให้ตาข้างของเปล้าน้อยพัฒนาเป็นยอดได้ 1 ยอดต่อ 1 ตา และมีแคลลัสสีเขียวอ่อนเกิดขึ้นบนรอยตัดด้านบนและรอบนอกชิ้นส่วน แต่ไม่สามารถชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากได้ โดยอาหารสูตรที่มี Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการแตกกิ่งจากยอดเดิม โดยมีปริมาณกิ่งที่แตกใหม่ได้สูงสุด 2 กิ่ง มีเปอร์เซ็นต์การแตกกิ่ง 20 เปอร์เซ็นต์ (2 ขวดจาก 10 ขวด) แต่ไม่สามารถชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากได้เช่นเดียวกัน (ตารางที่ 3-1) ส่วนในสูตรอาหาร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ PG 1.62 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ GA_3 0.03 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการพัฒนาเป็นตาขนาดเล็กสีเขียวจาง เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์พบว่าเนื้อเยื่อที่สัมผัสอาหารจะเปลี่ยนสีจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาลและ

อาหารเพาะเลี้ยงจะเปลี่ยนจากสีเหลืองอ่อนเป็นสีน้ำตาล เมื่อเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 3 สัปดาห์ เนื้อเยื่อตาที่เกิดขึ้นจะมีสีน้ำตาลและตายในสัปดาห์ที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง ส่วนปลายยอดก็ให้ผลไปในทำนองเดียวกัน (ตาราง 3-2) และมีการตายเกิดขึ้นมาก

ตาราง 3-1 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเกิดยอดจำนวนมากจากส่วนตาข้างของเปล้าน้อย

สูตรอาหาร MS	ชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโต	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนที่เกิดยอด (ชิ้น)	ร้อยละที่เกิดยอด	จำนวนยอดต่อชิ้น
1	-	-	8	80	1
2	Kn	0.5	7	70	1
3		1	7	70	1
4		5	7	70	1
5		10	8	80	1
6	BA	0.5	8	80	1
7		1	7	70	1
8		5	8	80	1
9		10	8	80	1
10	BA+PG+ GA_3	1+1620+0.03	0	00	0

หมายเหตุ ทำการทดลอง 10 ซ้ำต่อสูตรอาหาร

ตาราง 3-2 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเกิดยอดจำนวนมากจากส่วนปลายยอดของเปล้าน้อย

สูตรอาหาร MS	ชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโต	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนที่เกิดยอด (ชิ้น)	ร้อยละที่เกิดยอด	จำนวนยอดต่อชิ้น
1	-	-	4	40	1
2	Kn	0.5	3	30	1
3		1	3	30	1
4		5	2	20	1
5		10	3	30	1
6	BA	0.5	3	30	1
7		1	2	20	1
8		5	2	20	1
9		10	3	30	1
10	BA+PG+ GA_3	1+1620+0.03	0	00	0

หมายเหตุ ทำการทดลอง 10 ซ้ำต่อสูตรอาหาร

รูปที่ 3-1 ยอดที่พัฒนาจากส่วนตาข้างของเปล้าน้อย ภายหลังจากการเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีซูโครส 3%(w/v) เป็นเวลา 5 สัปดาห์

3.1.2 การชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากจากชิ้นส่วนปล้อง

การเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนปล้องเปล้าน้อยบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ซูโครส 3%(w/v), วุ้น 0.7%(w/v) ค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.7 ตามวิธีการในข้อ 2.3.3 พบว่าสูตรอาหารดังกล่าวสามารถชักนำให้เนื้อเยื่อส่วนปล้องของเปล้าน้อยเกิดยอดจำนวนมากได้ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8-9 สัปดาห์ (รูปที่ 3-2) โดยจะเกิดเป็นแคลลัสสีเขียวอ่อนขึ้นบนรอยตัดด้านบนของชิ้นส่วนและมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์ เมื่อเลี้ยงต่อไปในสัปดาห์ที่ 4 แคลลัสดังกล่าวจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่อน มีลักษณะเป็นกลุ่มเซลล์เกาะกันแน่น (compact callus) มีลักษณะเป็นตุ่มเล็กสีขาวและสามารถพัฒนาเป็นยอดสีขาวหรือสีเหลืองอ่อนเล็กๆ บางยอดจะพบลักษณะเนื้อเยื่อแตกเป็นฝอยบริเวณปลายยอดขึ้นบนแคลลัสประมาณ 1-20 ยอด ซึ่งจำนวนยอดเฉลี่ย 6 ยอดต่อชิ้นส่วนปล้อง มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดได้สูงสุดคือ 85 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 9 สัปดาห์ เนื้อเยื่อและแคลลัสบางส่วนจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล สำหรับเนื้อเยื่อที่ไม่มีการพัฒนาเป็นยอด พบว่าแคลลัสเป็นสีเหลืองอ่อนมีลักษณะเป็นกลุ่มเซลล์เกาะกันอย่างหลวมๆ (friable callus) ขึ้นปกคลุมชิ้นส่วนด้านบนและรอบนอกชิ้นส่วนมีการเพิ่มขนาดอย่างรวดเร็วในสัปดาห์ที่ 5 (รูปที่ 3-3) เพาะเลี้ยงต่อไปเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าแคลลัสจะมีสีน้ำตาล และไม่มีการพัฒนาเป็นยอด (รูปที่ 3-4)

รูปที่ 3-2 ยอดที่พัฒนาจากส่วนปล้องของเปล้าน้อย ภายหลังจากเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ซูโครส 3%(w/v) เป็นเวลา 9 สัปดาห์

รูปที่ 3-3 แคลลัสที่มีกลุ่มเซลล์เกาะกันอย่างหลวมๆ (friable callus) ที่พัฒนาจากส่วนปล้องของเปล้าน้อย ภายหลังจากเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีการเติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ซูโครส 3%(w/v) เป็นเวลา 5 สัปดาห์

รูปที่ 3-4 แคลลัสที่มีกลุ่มเซลล์เกาะกันอย่างหลวมๆ (friable callus) ที่พัฒนาจากส่วนปล้องของเปล้าน้อยที่พบว่ามีการสร้างสารสีน้ำตาล (phenolic compound) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

3.2 การเพิ่มปริมาณยอด

3.2.1 ตำแหน่งของปล้อง

จากผลการทดลองที่ 3.1.2 เมื่อทำการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปล้องของเปล้าน้อยจะพบว่ามีแคลลัส 2 กลุ่ม คือ แคลลัสที่มีกลุ่มเซลล์เกาะกันแน่น (compact callus) ซึ่งสามารถพัฒนาเป็นยอดได้ และแคลลัสที่มีกลุ่มเซลล์เกาะกันอย่างหลวมๆ (friable callus) ซึ่งสามารถเจริญเพิ่มขนาดได้รวดเร็วแต่ไม่สามารถพัฒนาเป็นยอดได้ จึงทำการศึกษาตำแหน่งของชิ้นส่วนปล้องที่เพาะเลี้ยงต่อการเกิดยอด โดยเก็บชิ้นส่วนปล้องแบ่งเป็น 3 ตำแหน่งคือ ปล้องที่ 1-3, ปล้องที่ 4-7 และปล้องที่ 8-11 เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามวิธีการในข้อ 2.4.1 พบว่าเนื้อเยื่อบริเวณชิ้นปล้องที่ 4-7 สามารถเกิดยอดได้มากที่สุด มีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนที่เกิดยอดเท่ากับ 88.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งส่วนใหญ่เกิดยอดจำนวนมาก (multiple shoots) บน 1 ชิ้นส่วน และมีจำนวนยอดเฉลี่ยคือ 6.0 ยอดต่อชิ้นส่วน รองลงมาคือเนื้อเยื่อบริเวณปล้องที่ 8-11 และปล้องที่ 1-3 มีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนที่เกิดยอดเท่ากับ 73.0 เปอร์เซ็นต์ และ 26.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีจำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นส่วนเท่ากับ 2.2 และ 1.8 ตามลำดับ (ตาราง 3-3) จากการทดลองพบว่าเนื้อเยื่อบริเวณปล้องที่ 8-11 มีการพัฒนาเป็นยอดได้ 1 ยอดต่อ 1 ชิ้นส่วน การใช้ปล้องที่มีอายุมากเกินไปจะไม่สามารถพัฒนาเป็นยอดได้ แต่จะมีสีน้ำตาลและปล้องมักจะแตกซึ่งจะสามารถพบได้เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน การใช้ปล้องที่มีอายุน้อยเกินไปจะทำให้เกิดแคลลัสที่สามารถเพิ่มปริมาณได้รวดเร็วและไม่สามารถพัฒนาเป็นยอดได้ (friable callus) จึงควรนำเนื้อเยื่อปล้องบริเวณที่ 4-7 มาใช้ในการทดลองต่อไป

ตาราง 3-3 ผลของตำแหน่งปล้องต่อการเกิดยอด

ตำแหน่งปล้อง	จำนวนเนื้อเยื่อเริ่มต้น (ชิ้นส่วนปล้อง)	จำนวนเนื้อเยื่อที่เกิดยอด(ชิ้นส่วนปล้อง)	ร้อยละของชิ้นส่วนปล้องที่เกิดยอด	จำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นส่วน	จำนวนแคลลัสที่ไม่เกิดยอด(ชิ้นส่วนปล้อง)	ร้อยละการเกิดแคลลัสที่ไม่เกิดยอด
ปล้อง 1-3	200	53	26.5	1.8 c[1]	147	73.5
ปล้อง 4-7	200	177	88.5	6.0 a	23	11.5
ปล้อง 8-11	200	146	73.0	1.8 b	54	27.0

[1]ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรแตกต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่มีระดับนัยสำคัญ 0.01

I19307883

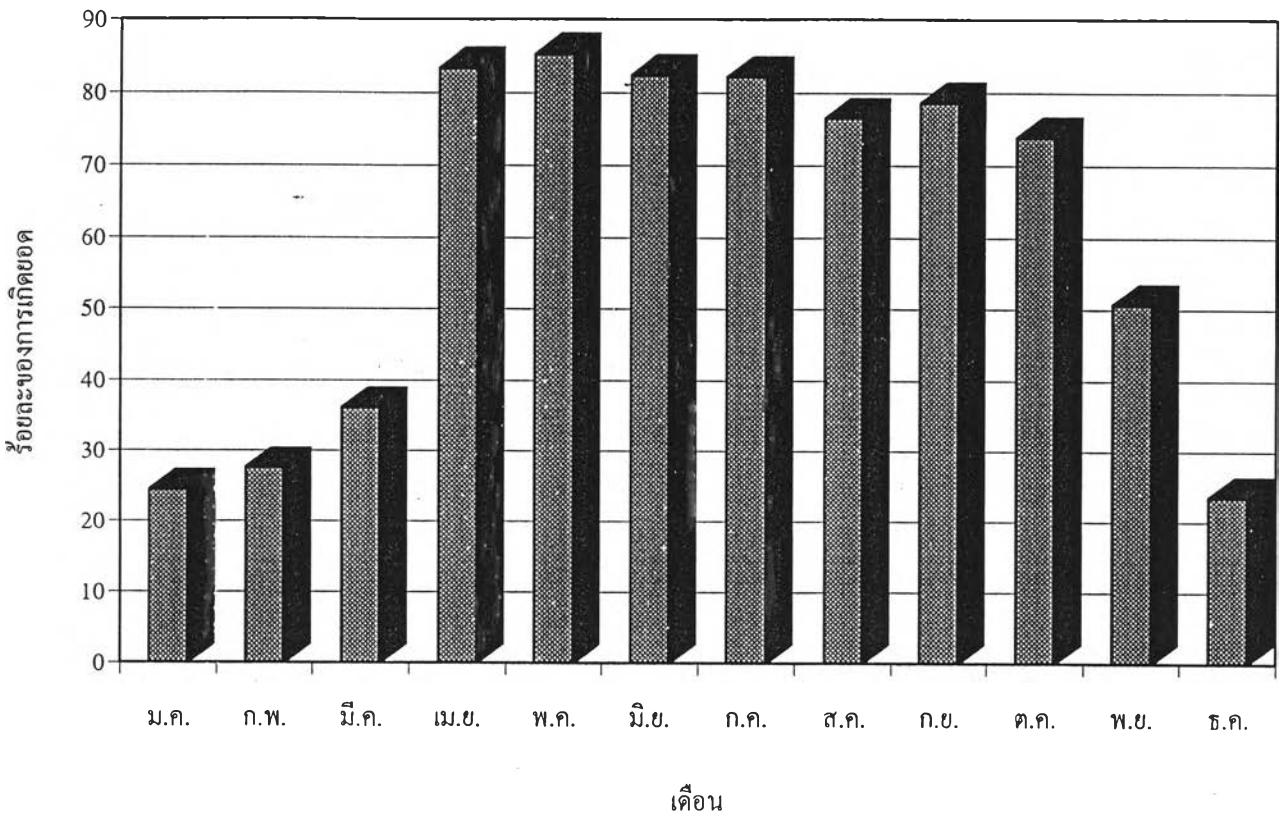
3.2.2 ฤดูกาลที่เก็บชิ้นส่วน

ทำการทดลองศึกษาผลของฤดูกาลที่เก็บชิ้นส่วนเปล้าน้อยโดยเก็บทุกเดือนตั้งแต่เดือนมกราคม จนถึงเดือนธันวาคม ตามวิธีการในข้อ 2.3.3 พบว่าชิ้นส่วนเปล้าน้อยที่เก็บในเดือนพฤษภาคมมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดสูงที่สุดคือ 85.23 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนยอดเฉลี่ย 5.8 ยอดต่อชิ้นส่วน รองลงมาคือชิ้นส่วนเปล้าน้อยที่เก็บในเดือนเมษายน มิถุนายนและเดือนกรกฎาคม โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดเท่ากับ 83.33, 82.35 และ 82.14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีจำนวนยอดเฉลี่ย 5.6, 5.5 และ 5.2 ยอดต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ ส่วนผลการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเปล้าน้อยในเดือนอื่น ๆ แสดงในตาราง 3-4 และรูปที่ 3-5

ตาราง 3-4 แสดงการเกิดยอดจากชิ้นส่วนปล้องของเปล้าน้อยในแต่ละเดือนภายหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

เดือน	จำนวนเนื้อเยื่อเริ่มต้น (ชิ้น)	จำนวนเนื้อเยื่อที่มีการปนเปื้อน (ชิ้น)	จำนวนเนื้อเยื่อที่เกิดยอด (ชิ้น)	ร้อยละการเกิดยอด	จำนวนยอดต่อชิ้น (เฉลี่ย)
ม.ค.	100	18	20	24.39	4.5 ab[1]
ก.พ.	100	20	22	27.50	4.3 ab
มี.ค.	100	17	30	36.14	3.2 bc
เม.ย.	100	10	75	83.33	5.6 a
พ.ค.	100	12	75	85.23	5.8 a
มิ.ย.	100	15	70	82.35	5.5 a
ก.ค.	100	16	69	82.14	5.2 a
ส.ค.	100	15	65	76.47	4.8 a
ก.ย.	100	30	55	78.57	4.5 ab
ต.ค.	100	35	48	73.84	3.2 bc
พ.ย.	100	25	38	50.67	3.2 bc
ธ.ค.	100	15	20	23.35	2.8 c

[1]ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรแตกต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่มีระดับนัยสำคัญ 0.05



รูปที่3-5 ร้อยละการเกิดยอดของเนื่อเยื่อปล้องเปล้าน้อยพันธุ์ IBGE 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในแต่ละเดือนตั้งแต่ มกราคม-ธันวาคม 2540

3.2.3 ผลของการลอกเปลือกต่อการเกิดสีน้ำตาล (Browning) ของชิ้นส่วนปล้อง

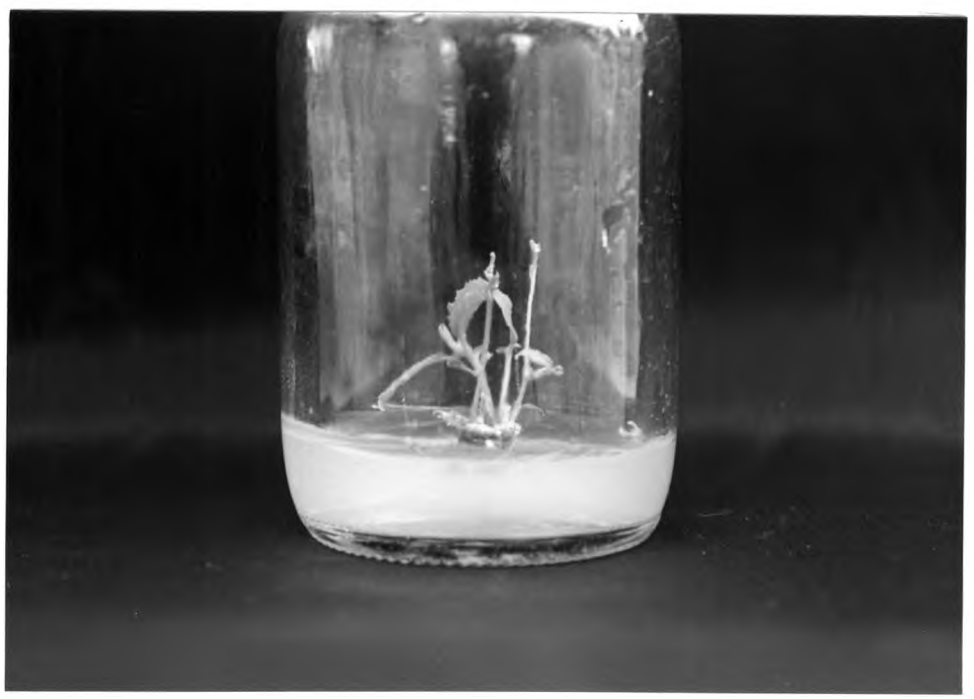
จากผลการทดลอง 3.1.2 เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปล้องเป็นเวลานาน จะเกิดสีน้ำตาล (phenolic compound) บริเวณชิ้นส่วนและแคลลัสรอบนอก ดังนั้นในการทดลองนี้จึงทำการลอกเปลือกชิ้นส่วนปล้อง โดยเพาะเลี้ยงส่วนปล้องเปล้าน้อยแบ่งเป็น 2 วิธีการคือ วิธีการที่ 1 ตัดปล้องขนาด 1 มิลลิเมตร (ไม่ลอกเปลือก) และวิธีการที่ 2 ตัดชิ้นส่วนปล้องแต่ลอกเปลือกชั้นนอกสุดที่เป็นสีเขียวออก ย้ายลงเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตรตามวิธีการในข้อ 2.4.3 พบว่าการตัดวางแบบไม่ลอกเปลือกมีการเจริญเติบโตดีกว่า โดยสามารถเกิดยอดได้บนรอยตัดด้านบนชิ้นส่วนประมาณ 1-15 ยอด มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด 75 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 8-9 สัปดาห์ และมีการเกิดสารสีน้ำตาล (browning) หรือสาร phenolic compound บริเวณแคลลัสบ้างเล็กน้อย ส่วนการตัดวางแบบลอกเปลือก พบว่าไม่สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ ถ้าเป็นชิ้นส่วนที่ยังอ่อนอยู่จะลอกเปลือกได้ยาก ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเกิดขึ้น ถ้าเป็นชิ้นส่วนที่แก่จะลอกเปลือกได้ง่ายกว่าและเกิดแคลลัสเล็กน้อยทำให้สังเกตการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อได้ยาก และจะเกิดสีน้ำตาลรอบนอกเนื้อเยื่อที่ติดกับเปลือกชัดเจน

3.2.4 ขนาดความสูงของยอดที่เหมาะสมก่อนนำมาเพาะเลี้ยงในสภาพที่ให้แสง

หลังจากเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปล้องในสภาพที่ไม่ให้แสงเป็นเวลา 8-9 สัปดาห์ พบว่าสามารถพัฒนาเป็นยอดได้จำนวนมากและมีขนาดความสูงของยอดต่าง ๆ กัน ซึ่งเมื่อนำยอดที่มีความสูงต่าง ๆ กันคือ 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงในที่มีแสงเพื่อให้ได้ต้นที่สมบูรณ์ พบว่ายอดที่มีความสูงช่วง 1.0 ถึง 3.0 เซนติเมตร จะมีการเปลี่ยนแปลงสีของยอดคือ จะเปลี่ยนจากสีขาวเป็นสีเขียว ตรงบริเวณยอดมีการเจริญและพัฒนาเป็นใบสีเขียวขนาดเล็ก ขณะที่ยอดที่มีความสูงเพียง 0.5 เซนติเมตร หรือยอดที่มีความสูงมากกว่า 3 เซนติเมตร คือ 4.0 และ 5.0 เซนติเมตร พบว่ายอดจะเปลี่ยนจากสีขาวเป็นสีเขียวเช่นเดียวกัน แต่จะไม่สามารถแตกเป็นใบ (ตาราง 3-5) และจากการทดลองพบว่าถ้านำกลุ่มยอดที่มีความสูงใกล้เคียงกันคือ 0.5-2.0 เซนติเมตร หรือนำยอดที่มีการแตกฝอยบริเวณปลายยอดที่เลี้ยงในสภาพที่ไม่ให้แสง เมื่อนำออกแสงพบว่าสามารถทำให้ได้ต้นที่สมบูรณ์ มีการเจริญเติบโตได้ดีมีใบเกิดขึ้น (รูปที่ 3-6)

ตาราง 3-5 เปรียบเทียบการเจริญของยอดและเนื้อเยื่อที่นำออกสู่สภาวะแสงเมื่อใช้ความสูงของยอดต่างกัน

ความสูงของยอด (เซนติเมตร)	จำนวนเริ่มต้น (ชิ้น)	จำนวนที่เกิดยอด (ชิ้น)	ร้อยละการพัฒนาเป็นยอดที่สมบูรณ์	ลักษณะการเจริญของยอด
0.5	20	3	15	ไม่มีการเจริญ
1.0	20	14	70	มีการแตกใบสีขียว
1.5	20	15	75	มีการแตกใบสีขียว
2.0	20	16	80	มีการแตกใบสีขียว
3.0	20	12	60	มีการแตกใบสีขียว
4.0	20	2	10	ไม่มีการเจริญ
5.0	20	0	0	ไม่มีการเจริญ



รูปที่ 3-6 กลุ่มยอดที่ได้จากการเพาะลี้ยงชิ้นส่วนปล้องภายหลังจากเลี้ยงในสภาพที่ให้แสงเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์

3.2.5 ผลของการเลี้ยงชิ้นส่วนปล้องในสภาพที่ไม่ให้แสงต่อการเกิดยอดใหม่ที่สมบูรณ์

ภายหลังจากการตัดยอดที่สมบูรณ์ที่เกิดจากชิ้นส่วนปล้องของเปล้าน้อย แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหารเพื่อชักนำให้เกิดราก พบว่ายอดที่เหลือและแคลลัสจากชิ้นส่วนเดิมที่เพาะเลี้ยงในสภาพที่ให้แสงเป็นระยะเวลานานขึ้น จะมีลักษณะเหี่ยว เปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาลจนถึงสีดำ ชะงักการเจริญเติบโต ไม่มีการคลี่ของใบ และเมื่อนำกลับไปเพาะเลี้ยงในสภาพที่ไม่ให้แสงอีกครั้ง พบว่ายอดที่เหลืออยู่และไม่สมบูรณ์สามารถพัฒนาเป็นยอดสีเขียวขึ้นใหม่ได้ตั้งแต่ 1-11 ยอด ส่วนเนื้อเยื่อที่เป็นแคลลัสและยอดเป็นสีคล้ำจะมีการแตกยอดสีขาวออกมาจากเนื้อเยื่อเดิม

3.2.6 การใช้ต้นพันธุ์จากแหล่งต่างๆ ในการชักนำให้เกิดยอด

จากการทดลองที่ผ่านมาได้ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเปล้าน้อยเพียงชนิดเดียวคือ IBGE 2 ซึ่งเป็นชนิดที่มีรายงานว่ามีสารเพลาโนทอลสูง (ชลิดา เล็กสมบูรณ์ และวีระเดช สุขเอียด, 2539) แต่ไม่ได้มีการทดสอบกับเปล้าน้อยชนิดอื่น จึงทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเปล้าน้อยชนิดอื่นเพื่อศึกษาความจำเพาะต่ออาหารเพาะเลี้ยง เนื่องจากมีรายงานของ Karhu (1997) ทำการเพาะเลี้ยง blue honeysuckle 2 พันธุ์ พบว่า *Lonicera caerulea* สามารถเจริญได้ดีในอาหารสูตร MS ส่วน *L. edullis* สามารถเจริญได้ดีในอาหารสูตร MS ที่มีการลดปริมาณสารอาหารลงเหลือเพียง 75 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นการทดลองนี้จึงใช้ต้นเปล้าน้อยที่เก็บรวบรวมไว้ในแปลงทดลอง ได้แก่ IBGE 2, Tiwa 2, TA 1, NP 23, Tone 1, Tone 2 และ SK 1 มาเพาะเลี้ยงตามวิธีการในข้อ 2.3.3 พบว่า IBGE 2 เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปล้องบนอาหารที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถพัฒนาเป็นยอดจำนวนมากได้ และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดสูงสุด 70 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนยอดเฉลี่ย 5.1 ยอดต่อชิ้นส่วน รองลงมาคือ TA 1 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดเท่ากับ 8 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3-6) แต่ชิ้นส่วนปล้อง TA 1 เมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและไม่มีการพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ ส่วนต้นอื่นคือ Tiwa 2, NP 23, Tone 1, Tone 2 และ SK 1 เมื่อนำชิ้นส่วนปล้องมาเพาะเลี้ยง พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงไป 1 สัปดาห์แรกจะมีแคลลัสสีเขียวอ่อนเกิดขึ้นบนชิ้นส่วนเช่นเดียวกับพันธุ์ IBGE 2 แต่เมื่อทำการเพาะเลี้ยงต่อไปจะเกิดการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อเป็นสีน้ำตาลและตายในที่สุด ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกันทั้ง 5 พันธุ์

ตาราง 3-6 เปรียบเทียบต้นเปล้าน้อยจากแหล่งต่างๆ ในการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนปล้องภายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

พันธุ์	จำนวนเนื้อเยื่อเริ่มต้น(ชิ้น)	จำนวนที่เกิดสีน้ำตาล(ชิ้น)	จำนวนแคลลัสที่ไม่เกิดยอด (ชิ้น)	จำนวนที่เกิดยอดจำนวนมาก (ชิ้น)	ร้อยละการเกิดยอดจำนวนมาก	จำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้น
IBGE 2	50	10	5	35	70	5.10 a[1]
Tiwa 2	50	45	5	0	0	0.00 b
TA 1	50	42	8	4	8	0.22 b
NP 23	50	23	5	0	0	0.00 b
Tone 1	50	50	0	0	0	0.00 b
Tone 2	50	50	0	0	0	0.00 b
SK 1	50	40	10	0	0	0.00 b

[1]ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรแตกต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่มีระดับนัยสำคัญ 0.01

3.3 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในการชักนำให้ยอดเปล้าน้อยเกิดราก

จากผลการทดลอง 3.1.1 พบว่าไม่สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนปลายยอดและตาข้างของเปล้าน้อยเกิดยอดจำนวนมากได้ ดังนั้นในการทดลองเกี่ยวกับผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในการชักนำให้เกิดรากจะใช้เฉพาะชิ้นส่วนยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปล้องเท่านั้น เพราะสามารถชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากได้

3.3.1 ผลของการใช้ฮอร์โมนกลุ่มออกซินและผงถ่านในการชักนำให้ยอดจากปล้องเปล้าน้อยเกิดราก

จากรายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเปล้าน้อย (Murai *et al*., 1990; Sankyo และ Kirin-Brew, 1990) สามารถชักนำให้เปล้าน้อยออกรากได้ในอาหารที่มี IAA ซึ่งเป็นฮอร์โมนในกลุ่มออกซิน และรายงานของ Blomstedt *et al*. (1991) สามารถชักนำให้ *Eucalyptus regnans* เกิดรากได้ในอาหารที่มีการเติมผงถ่าน ดังนั้นในการทดลองนี้จึงใช้ฮอร์โมนออกซินร่วมกับผงถ่าน โดยนำยอดเปล้าน้อยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปล้องโดยคัดเลือกยอดที่มีลำต้นและใบสมบูรณ์มีความสูงของยอด 1.0-2.0 เซนติเมตร มีใบจำนวน 2 ใบ เลี้ยงบนอาหารเพื่อชักนำให้เกิดราก 10 สูตรคือ MS, MS ที่มีการเติมผงถ่าน, MS ที่มีการเติม IAA หรือ IBA ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ MS ที่มีการเติม IAA หรือ IBA ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตรเช่นเดียวกัน แต่มีการเติมผงถ่าน 0.3%(w/v) ตามวิธีการในข้อ 2.5.1 ผลแสดงดังตาราง 3-7 พบว่าทุกสูตรมีการเจริญคล้ายคลึงกัน คือใบจะร่วงหมดเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ และสามารถแตกใบใหม่ 2-5 ใบ ได้ในสัปดาห์ที่ 6 ของการเพาะเลี้ยง และใบที่แตกใหม่จะร่วงในสัปดาห์ที่ 8 ต้นจะเหี่ยวโทรม และเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง ในอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้ง IAA และ IBA ที่ไม่มีการเติมผงถ่านทั้งที่ความเข้มข้น 1 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะมีแคลลัสเกิดบริเวณรอยตัดที่สัมผัสอาหาร เมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปไม่พบว่ามีการพัฒนาเป็นราก สำหรับในสูตรอาหารที่มีการเติมผงถ่านพบว่ายอดจะมีสีเหลืองเข้มกว่าสูตรอาหารที่ไม่เติมผงถ่าน และตรงบริเวณรอยตัดที่สัมผัสกับอาหารจะมีสีดำ นอกจากนี้ยังพบว่าไม่มีการพัฒนาเป็นรากเช่นกัน

ตาราง 3-7 เปรียบเทียบผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในการชักนำให้ยอดจากปล้องของเปล้าน้อยเกิดราก

สูตรอาหาร MS	สารควบคุมการเจริญเติบโต	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ผงถ่าน (%w/v)	จำนวนเนื้อเยื่อเริ่มต้น (ชิ้นส่วน)	ร้อยละการเกิดแคลลัส[1]	ร้อยละการเกิดสีน้ำตาล[2]	ร้อยละไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง
1	-	0	0	10	60	20	20
2	-	0	3	10	30	40	30
3	IAA	1.0	0	10	50	30	20
4		1.0	3	10	70	20	10
5		1.5	0	10	50	40	10
6		1.5	3	10	50	30	20
7	IBA	1.0	0	10	50	10	30
8		1.0	3	10	40	40	20
9		1.5	0	10	40	20	40
10		1.5	3	10	80	10	10

การคำนวณ

$$^{1}\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส} = \frac{\text{จำนวนเนื้อเยื่อที่เกิดแคลลัส}}{\text{จำนวนเนื้อเยื่อทั้งหมด}} \times 100$$

$$^{2}\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดสีน้ำตาล} = \frac{\text{จำนวนเนื้อเยื่อที่เกิดสีน้ำตาล}}{\text{จำนวนเนื้อเยื่อทั้งหมด}} \times 100$$

3.3.2 ผลของฮอร์โมนกลุ่มออกซินในการชักนำให้ยอดจากปล้องของเปล้าน้อยเกิดราก

จากผลการทดลอง 3.3.1 พบว่าในอาหารที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้ง IAA หรือ IBA ที่ความเข้มข้นทั้ง 1 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะเกิดแคลลัสที่รอยตัดที่สัมผัสอาหาร ไม่สามารถชักนำให้เกิดรากได้ ดังนั้นการทดลองนี้จึงได้ลดระดับความเข้มข้นของ IAA และ IBA ลงคือ 0.1, 0.3, 0.5 และ 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยนำยอดเปล้าน้อยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปล้องที่มีความสูงของยอด 1.0-2.0 เซนติเมตร มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS, MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA หรือ IBA ที่ระดับความเข้มข้น 0.1, 0.3, 0.5 และ 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามวิธีการในข้อ 2.5.2 เพื่อชักนำให้เกิดราก โดยทำการเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพแสงตามวิธีการ 2.3.2 พบว่าทุกสูตรให้ผลในลักษณะเดียวกัน คือใน 2 สัปดาห์แรกของการเพาะเลี้ยงยังไม่มีการเปลี่ยนแปลง เมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปใบจะเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลืองในสัปดาห์ที่ 4 ของการเพาะเลี้ยง และจะเริ่มร่วงในสัปดาห์ที่ 6 เมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปยอดจะมีสีเหลืองแห้ง และไม่มีการพัฒนาเป็นราก

3.3.3 ผลของฮอร์โมนกลุ่มออกซินและสภาพการเพาะเลี้ยงในการชักนำให้ยอดจากปล้องเปล้าน้อยเกิดราก

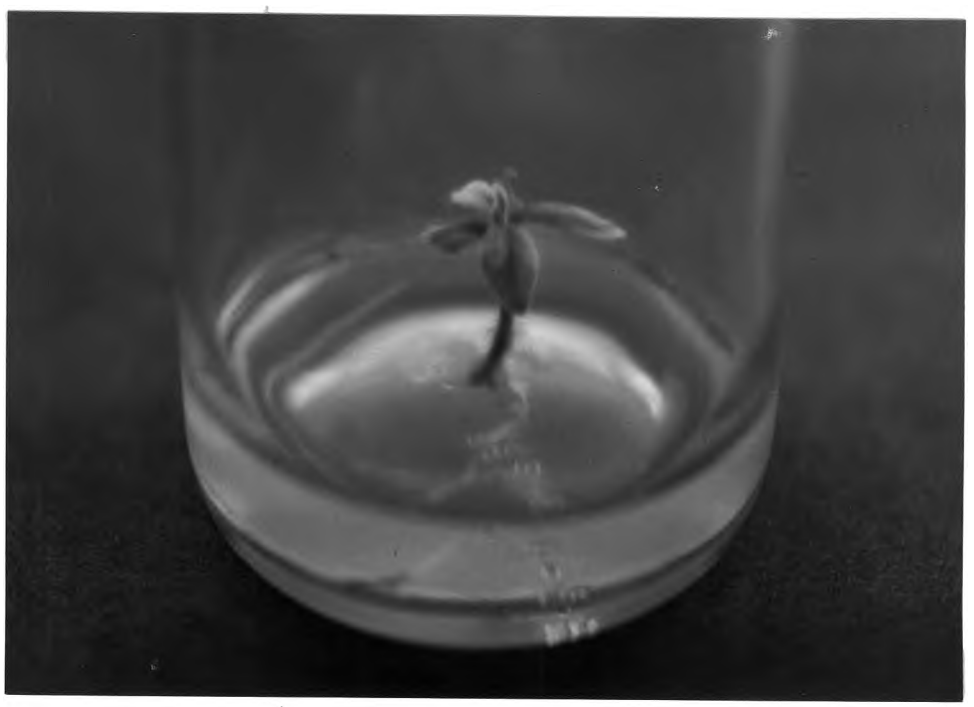
จากการทดลอง 3.3.1 และ 3.3.2 ไม่ว่าจะให้ออกซินเพียงชนิดเดียว หรือให้ออกซินร่วมกับผงถ่าน โดยเลี้ยงในสภาพที่ให้แสงตลอด พบว่าไม่สามารถชักนำให้ยอดจากชิ้นส่วนปล้องเกิดรากได้ แต่มีรายงานของ Quraishi และ Mishra (1998) ว่าสามารถชักนำให้ยอด *Cleistanthus collinus* เกิดรากได้ในสภาพที่ไม่ให้แสง 3 วันก่อนย้ายสู่สภาพแสง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Klerk Brugge และMarinova (1997) ชักนำให้แอปเปิ้ลเกิดรากได้ในอาหารที่มี IAA, IBA และ NAA โดยเลี้ยงในสภาพที่ไม่ได้รับแสง ดังนั้นในการทดลองนี้จึงมีการให้ออกซิน IAA, IBA และได้เพิ่ม NAA อีกหนึ่งชนิด และทำการเพาะเลี้ยงใน 2 สภาพเพื่อหาสภาพที่เหมาะสมในการชักนำให้ยอดจากปล้องเกิดราก โดยนำยอดเปล้าน้อยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปล้องที่มีความสูงของยอด 1.0-2.0 เซนติเมตร มาเลี้ยงบนอาหารเพื่อชักนำให้เกิดรากได้แก่ MS และ MS ที่มีการเติม IAA, IBA และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ระดับความเข้มข้นคือ 0.1, 0.2, 0.5, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามวิธีการในข้อ 2.5.3 โดยทำการเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพที่ไม่ให้แสง 2 สัปดาห์ก่อนนำออกสู่สภาพแสง และสภาพที่ให้แสงตลอด พบว่าอาหารที่มี IAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพที่ไม่ให้แสง 2 สัปดาห์ก่อนนำออกสู่สภาพที่มีแสงสามารถชักนำให้ยอดที่ได้จากปล้องของเปล้าน้อยมีการพัฒนาเป็นรากได้ 26.66 เปอร์เซ็นต์ (4 ขวดจาก 15 ขวด) เมื่อย้ายออกสู่สภาพแสงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ (รูปที่ 3-7) ส่วนอาหารที่เติม IAA และ IBA ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.5, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้งที่เลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพที่ไม่ให้แสงก่อน 2 สัปดาห์หรือในสภาพที่ให้แสงตลอด จะเกิดแคลลัสบริเวณรอยตัดเล็กน้อย แต่ไม่สามารถชักนำให้เกิดรากได้ (ตารางที่ 3-8 และ 3-9) การเลี้ยงในสภาพที่ไม่ให้แสงก่อน ปลายใบจะเป็นสีเหลืองในบางชิ้นส่วน ส่วนในอาหารที่มี NAA พบว่าเกิดแคลลัสตรงบริเวณรอยตัดที่สัมผัสอาหารจำนวนมากในทุกความเข้มข้น โดยมีปริมาณมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น

ตาราง 3-8 เปรียบเทียบผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA, IBA หรือ NAA ในการชักนำให้ยอดจากปล้องของเปล้าน้อยเกิดราก ในสภาพที่ไม่ให้แสงก่อน 2 สัปดาห์

สูตรอาหาร MS	สารควบคุมการเจริญเติบโต	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนเนื้อเยื่อเริ่มต้น(ชิ้นส่วนปล้อง)	ร้อยละการเกิดแคลลัสที่ไม่เกิดยอด	ร้อยละที่ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง	ร้อยละที่เกิดราก
1	-	0.0	15	0.00	100.00	0.00
2	IAA	0.1	15	0.00	100.00	0.00
3		0.2	15	0.00	100.00	0.00
4		0.5	15	0.00	100.00	0.00
5		1.0	15	0.00	73.40	26.66
6		3.0	15	6.66	93.34	0.00
7		5.0	15	6.66	93.34	0.00
8		10.0	15	6.66	93.34	0.00
9	IBA	0.1	15	0.00	100.00	0.00
10		0.2	15	0.00	100.00	0.00
11		0.5	15	0.00	100.00	0.00
12		1.0	15	0.00	100.00	0.00
13		3.0	15	0.00	100.00	0.00
14		5.0	15	6.66	93.34	0.00
15		10.0	15	6.66	93.34	0.00
16	NAA	0.1	15	6.66	93.34	0.00
17		0.2	15	6.66	93.34	0.00
18		0.5	15	6.66	93.34	0.00
19		1.0	15	6.66	93.34	0.00
20		3.0	15	13.33	86.67	0.00
21		5.0	15	13.33	86.67	0.00
22		10.0	15	13.33	86.67	0.00

ตาราง 3-9 เปรียบเทียบผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA, IBA หรือ NAA ในการชักนำให้ยอดจากปล้องของเปล้าน้อยเกิดราก ในสภาพที่ให้แสงตลอด

สูตรอาหาร MS	สารควบคุมการเจริญเติบโต	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนเนื้อเยื่อเริ่มต้น(ชิ้นส่วนปล้อง)	ร้อยละการเกิดแคลลัสที่ไม่เกิดยอด	ร้อยละที่ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง	ร้อยละที่เกิดราก
1	-	0.0	15	0.00	100.00	0.00
2	IAA	0.1	15	0.00	100.00	0.00
3		0.2	15	0.00	100.00	0.00
4		0.5	15	20.00	80.00	0.00
5		1.0	15	13.33	86.67	0.00
6		3.0	15	13.33	86.67	0.00
7		5.0	15	13.33	86.67	0.00
8		10.0	15	6.66	93.34	0.00
9	IBA	0.1	15	0.00	100.00	0.00
10		0.2	15	0.00	100.00	0.00
11		0.5	15	0.00	100.00	0.00
12		1.0	15	20.00	80.00	0.00
13		3.0	15	13.33	86.67	0.00
14		5.0	15	6.66	93.34	0.00
15		10.0	15	6.66	93.34	0.00
16	NAA	0.1	15	0.00	100.00	0.00
17		0.2	15	6.66	93.34	0.00
18		0.5	15	6.66	93.34	0.00
19		1.0	15	6.66	93.34	0.00
20		3.0	15	13.33	86.67	0.00
21		5.0	15	20.00	80.00	0.00
22		10.0	15	13.33	86.67	0.00



รูปที่ 3-7 ยอดที่เกิดรากเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี IAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพมืด 2 สัปดาห์ แล้วย้ายออกสู่สภาพแสง 2 สัปดาห์

3.4 ย้ายต้นที่ได้ออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก

จากผลการทดลอง 3.3.3 เมื่อได้ต้นเปล้าน้อยที่สมบูรณ์มีรากแล้ว จึงทำการย้ายปลูกโดยใช้วัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของดิน : ทราย : ขุยมะพร้าว ในอัตราส่วน 1:1:1 ในสภาพความชื้นสูงในระยะแรก แล้วค่อยๆ ลดปริมาณความชื้นให้ต่ำลง หลังจากย้ายปลูกเป็นเวลา 20 วันพบว่าต้นเปล้าน้อยสามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาพแวดล้อมในเรือนทดลอง และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 75 เปอร์เซ็นต์ (3 ต้น จาก 4 ต้น) (รูปที่ 3-8)

รูปที่ 3-8 ต้นเปล้าน้อยภายหลังจากย้ายปลูกเป็นเวลา 20 วัน

3.5 คำนวณต้นทุนการผลิตและจำนวนต้นที่ได้ในระยะเวลา 1 ปี

3.5.1 ค่าใช้จ่ายในการเพาะเลี้ยง

โดยจะคำนวณจาก

ค่าใช้จ่ายที่ใช้ในการทดลอง แบ่งเป็น

1. ค่าสึกหรอ

1.1 ค่าขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ขวดขนาด 2 ออนซ์ ราคา 4 บาท

ขวดขนาด 4 ออนซ์ ราคา 6 บาท

ในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปล้องจนมีการพัฒนาเป็นยอดจะใช้ขวดขนาด 2 ออนซ์ ในการเพาะเลี้ยงในช่วงแรก (เปลี่ยนอาหาร 2 ครั้ง) และใช้ขวด 4 ออนซ์ในการเพาะเลี้ยงในช่วงที่มีการเกิดยอดแล้ว (เปลี่ยนอาหาร 1 ครั้ง)

ดังนั้นเสียค่าขวด = 4+ 4 + 6 = 14 บาท/ขวด

ในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดจนมีการพัฒนาเกิดราก จะใช้ขวดขนาด 4 ออนซ์ (เปลี่ยนอาหาร 1 ครั้ง) ดังนั้นเสียค่าขวด = 6 บาท/ขวด

รวมค่าขวดเพาะเลี้ยงทั้งหมดในการเพาะเลี้ยงจนได้ต้น = 20 บาท/ขวด

2. ค่าใช้จ่ายที่หมดไป

2.1 ค่าสารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ ได้แก่ คลอรอกซ์ และแอลกอฮอล์

- ค่าคลอรอกซ์ (3.8 ลิตร ราคา 187 บาท)

ใช้คลอรอกซ์ สำหรับฟอกฆ่าเชื้อ 10 มิลลิลิตร

ในการเตรียมอาหาร 1 ลิตร จะได้อาหาร 120 ขวด

ดังนั้นค่าคลอรอกซ์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงจนได้ต้น $= \frac{10 \times 187}{3800} = 0.492$ บาท

ค่าคลอรอกซ์ ต่ออาหารเพาะเลี้ยง 1 ขวด = 0.0041 บาท

- ค่าแอลกอฮอล์ (รวมทั้งฟอกฆ่าเชื้อ และใช้ภายในตู้ปลอดเชื้อ)

(18 ลิตร ราคา 502.7 บาท)

ในการเพาะเลี้ยงจนได้ต้น ใช้แอลกอฮอล์อยู่ในช่วง 200-250 มิลลิลิตร

ค่าแอลกอฮอล์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง = 5.586~6.982 บาท

ค่าแอลกอฮอล์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงต่อ 1 ขวด = 0.047~0.058 บาท

2.2 ค่าน้ำที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

ค่าน้ำที่ขจัดไอออนออกแล้วที่ใช้เตรียมอาหาร 1 ลิตร = 10 บาท

ใช้เตรียมสารละลายเข้มข้น และเติมเพื่อปรับปริมาตรอาหารรวมอยู่ใน

ช่วง 950-1000 มิลลิลิตร คิดเป็นค่าน้ำ = 9.50~10 บาท

ดังนั้นอาหาร 1 ขวดเสียค่าน้ำ = 0.079~0.083 บาท

2.3 ค่าสารเคมีที่ใช้เตรียมอาหาร (ดูในภาคผนวก จ) และตาราง 3-9

- อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสำหรับชักนำให้เกิดยอดหลายยอด

ในอาหาร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 1 ลิตร

อาหาร MS + BA 1 ลิตร เสียค่าใช้จ่าย = 258.312 + 0.66

= 258.972 บาท

อาหาร 1 ขวดเสียค่าใช้จ่าย = 2.158 บาท

- อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสำหรับชักนำให้เกิดราก

ในอาหาร MS ที่เติม IAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 1 ลิตร

อาหาร MS + IAA 1 ลิตร เสียค่าใช้จ่าย = 258.312 + 0.1

= 258.412 บาท

อาหาร 1 ขวดเสียค่าใช้จ่าย = 2.153 บาท

ตาราง 3-10 ราคาสารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร 1 ลิตร

Stock	สารเคมี	ปริมาณที่ใช้ (กรัมต่อลิตร)	ราคา (บาท)
A	แอมโมเนียมไนเทรต	66	92.4
	โพแทสเซียมไนเทรต	76	38
	โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	6.8	4.76
	กรดบอริก	0.248	0.1763
	แมงกานีสซัลเฟต	0.676	0.63544
	โพแทสเซียมไอโอไดด์	0.0332	0.0498
	ซิงค์ซัลเฟต	0.344	0.31992
	โซเดียมโมลิบเดต	0.01	0.099
	โคบอลท์คลอไรด์	0.001	0.00616
	คอปเพอร์ซัลเฟต	0.001	0.00094
B	แคลเซียมคลอไรด์	17.6	14.608
C	แมกนีเซียมซัลเฟต	14.8	12.21
D	ไดโซเดียมเอทิลีนไดอะมีนเทรทะแอซีติก	1.492	3.22272
	เฟอร์รัสซัลเฟต	1.112	0.75616
E	ไมโออิโนซิทอล	4	82
	กรดนิโคทินิก	0.02	0.16
	ไพริดอกซิน	0.02	1.16
	ไทมีนไฮโดรคลอริก	0.004	0.152
	ไกลซีน	0.08	0.488
อื่นๆ	วุ้น	7	6.72
	น้ำตาลทราย	30	0.39
	รวม		258.312
ฮอร์โมน	BA	0.001	0.66
	IAA	0.001	0.1

2.4 ค่าไฟฟ้าที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ได้แก่ หลอดฟลูออเรสเซ็นต์ ไมโครเวฟ pH-meter เครื่องปรับอากาศ และหลอดไฟในตู้เขี่ยเชื้อ (กิโลวัตต์ละ 5 บาท)

- หลอดฟลูออเรสเซ็นต์บนชั้นวางขวดเพาะเลี้ยง (1 ชั้น/อาหาร 400 ขวด)

ใช้หลอด 40 วัตต์ จำนวน 6 หลอด ใช้ไฟ = 240 วัตต์

ชั้นวาง 1 ชั้น สามารถวางขวดเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงได้ 400 ขวด

ในสภาพที่ให้แสงจะให้แสง 16 ชั่วโมง/วัน

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปล้องจนได้ยอด เพาะเลี้ยงในสภาพที่ไม่ให้แสง 45 วัน จึงย้ายสู่สภาพแสง 21 วัน เสียค่าไฟ = $\frac{240 \times 16 \times 21 \times 5}{1000}$ = 403.20 บาท

ดังนั้นการเพาะเลี้ยง 1 ขวดเสียค่าใช้จ่าย = 1.008 บาท

การเพาะเลี้ยงยอดจนได้ต้น เพาะเลี้ยงในสภาพที่ไม่ให้แสง 14 วัน จึงย้ายสู่สภาพแสง 7 วัน เสียค่าไฟ = $\frac{240 \times 16 \times 7 \times 5}{1000}$ = 134.40 บาท

ดังนั้นการเพาะเลี้ยง 1 ขวดเสียค่าใช้จ่าย = 0.336 บาท

- ไมโครเวฟ (ใช้ไฟ 1,200 วัตต์)

การเตรียมอาหาร 1 ลิตรใช้ไมโครเวฟ 10 นาที

เสียค่าไฟในการเตรียมอาหาร 1 ลิตร = $\frac{1200 \times 10 \times 5}{1000 \times 60}$ = 1.00 บาท

อาหารเพาะเลี้ยง 1 ขวดเสียค่าไมโครเวฟ = 0.008 บาท

- pH meter (ใช้ไฟ 22 วัตต์)

การเตรียมอาหาร 1 ลิตรใช้ pH-meter 20 นาที

เสียค่าไฟในการเตรียมอาหาร 1 ลิตร = $\frac{22 \times 20 \times 5}{1000 \times 60}$ = 0.037 บาท

อาหารเพาะเลี้ยง 1 ขวดเสียค่าไฟในการใช้ pH meter = 0.0003 บาท

- เครื่องปรับอากาศ (แอร์)

ห้องเพาะเลี้ยงมีขนาด 5 x 6 = 30 ตารางเมตร

แบ่งได้ 4 แถว โดย 1 แถว สามารถวางขวดเพาะเลี้ยงได้ 5 ชั้น

3 แถว สามารถวางขวดเพาะเลี้ยงได้ 7 ชั้น

รวมมีชั้นวางขวด = 26 ชั้น โดยวาง 400 ขวดต่อ 1 ชั้นวาง

ดังนั้นในห้องเพาะเลี้ยงสามารถวางขวดเพาะเลี้ยงได้ = 10,400 ขวด

ห้องเพาะเลี้ยงมีเครื่องปรับอากาศ 2 ตัว โดยเปิดสลับกัน

แอร์ 35000 BTU ใช้เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 16 ชั่วโมง/วัน ใช้ไฟ 2,700 วัตต์

แอร์ 22000 BTU ใช้เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 ชั่วโมง/วัน ใช้ไฟ 2,000 วัตต์

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปล้องจนได้ยอด เพาะเลี้ยงในสภาพที่ไม่ให้แสง 45 วัน จึงย้ายสู่สภาพแสง 21 วัน รวมเวลาเพาะเลี้ยง = 45+21 = 66 วัน

เสียค่าแอร์ 35000 BTU = $\frac{2700 \times 16 \times 66 \times 5}{1000}$ = 14,256 บาท

เสียค่าแอร์ 22000 BTU = $\frac{2000 \times 8 \times 66 \times 5}{1000}$ = 5,280 บาท

ค่าแอร์ในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปล้องจนได้ยอด = 19,536 บาท

อาหารเพาะเลี้ยง 1 ขวดเสียค่าเครื่องปรับอากาศ (6 ยอด) = 1.878 บาท

การเพาะเลี้ยงจนได้ 1 ยอดเสียค่าแอร์ = 0.313 บาท

การเพาะเลี้ยงยอดจนได้ต้น เพาะเลี้ยงในสภาพที่ไม่ให้แสง 14 วัน จึงย้ายสู่สภาพแสง 7 วัน รวมเวลาเพาะเลี้ยง = 14+7 = 21 วัน

เสียค่าแอร์ 35000 BTU = $\frac{2700 \times 16 \times 21 \times 5}{1000}$ = 4,536 บาท

เสียค่าแอร์ 22000 BTU = $\frac{2000 \times 8 \times 21 \times 5}{1000}$ = 1,680 บาท

ค่าแอร์ในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดจนได้ต้น = 6,216 บาท

อาหารเพาะเลี้ยง 1 ขวดเสียค่าเครื่องปรับอากาศ = 0.598 บาท

ดังนั้นในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปล้องจนได้ต้น (1ต้น) เสียค่าเครื่องปรับอากาศ

= 0.313 + 0.598 = 0.911 บาท

- ตู้ปลอดเชื้อ (ใช้ไฟ 580 วัตต์)

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชิ้นส่วนปล้องจนได้ต้น ใช้ตู้ปลอดเชื้อในการฟอกฆ่าเชื้อ (1 ครั้ง) และเปลี่ยนอาหาร (4 ครั้งๆ หนึ่งใช้เวลา 3 ชั่วโมง)

$$\text{เสียค่าไฟ} = \frac{580 \times 3 \times 5 \times 5}{1000} = 43.50 \text{ บาท}$$

อาหารเพาะเลี้ยง 1 ขวดเสียค่าไฟสำหรับตู้ปลอดเชื้อ = 0.3625 บาท

ดังนั้นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปล้องของเปล้าน้อยจนได้ต้น (1 crop) แบ่งเป็น

1. การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปล้องจนได้ยอด

เพาะเลี้ยงในสภาพที่ไม่ให้แสง 45 วัน จึงย้ายสู่สภาพแสง 21 วัน เปลี่ยนอาหาร 3 ครั้ง คิดโดยแบ่งเป็นค่าใช้จ่ายต่อ 1 crop

1.1 ค่าใช้จ่ายที่ใช้คงที่ (Stable value, Sta)

$$Sta = Flu + Air$$

เมื่อ

Flu = ค่าหลอดฟลูออเรสเซ็นต์

Air = ค่าเครื่องปรับอากาศ

แทนค่า $Sta = 1.008 + 1.878$

$= 2.886$

1.2 ค่าใช้จ่ายที่แปรตามจำนวนการเปลี่ยนอาหาร (Vary value, Var)

$$Var = Nsub\ (Che + Wat + Mic + pH + Lar)$$

เมื่อ

Nsub = จำนวนครั้งที่เปลี่ยนอาหาร

Che = ค่าสารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

Wat = ค่าน้ำที่ใช้การเตรียมอาหาร

Mic = ค่าไมโครเวฟ

pH = ค่า pH meter

Lar = ค่าตู้ปลอดเชื้อ

แทนค่า Var = 3(Che + Wat + Mic + pH + Lar)

= 3 x (2.158 + (0.079~0.083) + 0.008 + 0.0003 + 0.3625)

= 7.823~7.835

รวมค่าใช้จ่ายทั้งหมดในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปล้องจนมีการพัฒนาเป็นยอด

= 2.886 + (7.823~7.835)

= 10.709~10.721 บาท/ขวด

ใน 1 ขวด สามารถพัฒนาเป็นยอดได้เฉลี่ย 6 ยอด

ดังนั้นค่าใช้จ่ายในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปล้องจนพัฒนาเป็นยอด = 1.785~1.787 บาท

2. การเพาะเลี้ยงยอดจนได้ต้น

เพาะเลี้ยงในสภาพที่ไม่ให้แสง 14 วัน จึงย้ายสู่สภาพแสง 7 วัน เปลี่ยนอาหาร 2 ครั้ง

2.1 ค่าใช้จ่ายที่ใช้คงที่ (Stable value, Sta)

Sta = Flu + Air

เมื่อ

Flu = ค่าหลอดฟลูออเรสเซ็นต์

Air = ค่าเครื่องปรับอากาศ

แทนค่า Sta = 0.336 + 0.598

= 0.934

2.2 ค่าใช้จ่ายที่แปรตามจำนวนการเปลี่ยนอาหาร (Vary value, Var)

Var = Nsub (Che + Wat + Mic + pH + Lar)

เมื่อ

Nsub = จำนวนครั้งที่เปลี่ยนอาหาร

Che = ค่าสารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

Wat = ค่าน้ำที่ใช้การเตรียมอาหาร

Mic = ค่าไมโครเวฟ

pH = ค่า pH meter

Lar = ค่าตู้ปลอดเชื้อ

แทนค่า Var = 2(Che + Wat + Mic + pH + Lar)

= 2 x (2.153 + (0.079~0.083) + 0.008 + 0.0003 + 0.3625)

= 5.206~5.214

รวมค่าใช้จ่ายทั้งหมดในการเพาะเลี้ยงยอดจนได้ต้น

= 0.934 + (5.206~5.214)

= 6.14~6.15 บาท/ขวด

ดังนั้นค่าใช้จ่ายในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดจนได้ต้น = 6.14~6.15 บาท

ค่าใช้จ่ายในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปล้องจนได้ต้น = (1.785~1.787) + (6.14~6.15)

= 7.925~7.937 บาท

ดังนั้นค่าใช้จ่ายในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปล้องจนได้ต้น

Total = (Sta + Var) + Alc + Clo

เมื่อ

Total = ค่าใช้จ่ายทั้งหมด

Alc = ค่าแอลกอฮอล์

Clo = ค่าคลอรอกซ์

แทนค่า Total = (7.925~7.937) + (0.047~0.058) + 0.0041

= 7.98~8.00 บาท/ต้น

ค่าขวดที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จากชิ้นส่วนปล้องจนได้ยอด = 14 บาท/ขวด

ค่าขวดที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จากชิ้นส่วนปล้องจนได้ยอด = 6 บาท/ขวด

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเปล้าน้อยใช้เวลา 15 สัปดาห์ (4 เดือน)

ค่าแรงในการเพาะเลี้ยงเดือนละ 5,000 บาท ทำได้วันละ 350 ขวด

ค่าแรงในการเพาะเลี้ยงประมาณ 0.476 บาท/ขวด

ดังนั้นค่าใช้จ่ายทั้งหมดในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปล้องของเปล้าน้อยจนพัฒนาเกิดราก

= (7.98~8.00) + 20 + 0.476 = 28.46~28.48 บาท/ต้น

ค่าใช้จ่ายทั้งหมดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเปล้าน้อยที่รวมค่าสึกหรอ = 28.50 บาท/ต้น

3.5.2 จำนวนต้นที่คาดว่าจะได้ในระยะเวลา 1 ปี

จากผลทดลอง 3.1.2 สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนปล้องของเปล้าน้อยเกิดยอดได้ 85%

เพาะเลี้ยง 100 ขวด เกิดยอดได้ 85 ขวด

1 ขวด เกิดยอดเฉลี่ยได้ 6 ยอด

85 ขวด เกิดยอดได้ 85 x 6 = 510 ยอด

จากผลการทดลอง 3.3.3 ชักนำให้ยอดเกิดรากได้ 26.66 %

ดังนั้นจะได้ต้น $\frac{510 \times 26.66}{100}$ = 136 ต้น

เริ่มต้น 480 ขวด จะได้ต้น 128 ต้น โดยใช้เวลาเพาะเลี้ยง 15 สัปดาห์

ใน 1 ปี (52 สัปดาห์) จะได้ต้น = $\frac{136 \times 52}{15}$ = 472 ต้น

ดังนั้นใน 1 ปีจะได้ต้นเปล้าน้อย = 472 ต้น