# ใบรับรองวิทยานิพนธ์

**บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์**

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วนศาสตร์)

**ปริญญา**

| วนวัฒนวิทยา | วนวัฒนวิทยา |
|---|---|
| **สาขา** | **ภาควิชา** |

**เรื่อง** การผลิตกล้ายูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยระบบ Temporary Immersion แบบขวดคู่

*In Vitro* Seedling of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. Using Temporary Immersion System with Twin Flasks

**นามผู้วิจัย** นายรุ่งอรุณ สุ่มแก้ว

**ได้พิจารณาเห็นชอบโดย**

**ประธานกรรมการ** .....

( ผู้ช่วยศาสตราจารย์ลดาวัลย์ พวงจิตร, D.Sc. )

**กรรมการ** .....

( อาจารย์ยุพา มงคลสุข, M.S. )

**กรรมการ** .....

( รองศาสตราจารย์สมคิด สิริพัฒนดิลก, Ph.D. )

**หัวหน้าภาควิชา** .....

( ผู้ช่วยศาสตราจารย์มณฑล จำเริญพฤกษ์, Ph.D. )

**บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว**

.....

( รองศาสตราจารย์วินัย อาจคงหาญ, M.A. )

**คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย**

**วันที่ 5 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2550**

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

# การผลิตกล้ายูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยระบบ Temporary Immersion แบบขวดคู่

# *In Vitro* Seedling of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. Using Temporary Immersion System with Twin Flasks


โดย

นายรุ่งอรุณ สุ่มแก้ว


เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วนศาสตร์)
พ.ศ. 2550

รุ่งอรุณ สุ่มแก้ว 2550: การผลิตกล้ายูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยระบบ Temporary Immersion แบบขวดคู่ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วนศาสตร์) สาขาวนวัฒนวิทยา ภาควิชาวนวัฒนวิทยา ประธานกรรมการที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ลดาวัลย์ พวงจิตร, D.Sc. 108 หน้า

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยระบบ Temporary Immersion (TIS) ถูกนำมาพัฒนาเพื่อผลิตต้นกล้ายูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส โดยเปรียบเทียบระบบ TIS แบบขวดคู่กับแบบขวดสองชั้น พบว่าระบบภาชนะที่ใช้ในแบบขวดคู่สามารถสร้างได้จากการดัดแปลงวัสดุที่หาได้ง่าย และมีราคาถูกกว่าแบบขวดสองชั้นอยู่ถึง 5 เท่า โดยพบว่าการให้สารละลายอาหารด้วยความถี่ 8 ชั่วโมงต่อครั้ง นานครั้งละ 1 นาที ปริมาณอาหาร 100 มิลลิลิตรต่อชุดเพาะเลี้ยง และจำนวนยอดเริ่มต้นเท่ากับ 50 ยอดให้อัตราการผลิตยอดสูงที่สุดเท่ากับ 4.97 เท่า

เมื่อเปรียบเทียบอัตราการผลิตยอด การเกิดราก การย้ายปลูกสู่สภาพธรรมชาติ และต้นทุนการผลิตของกล้ายูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยระบบอาหารกึ่งแข็ง ระบบอาหารเหลว ระบบ TIS แบบขวดสองชั้น และระบบ TIS แบบขวดคู่ที่สร้างขึ้น พบว่า ภายใน 4 สัปดาห์ ระบบ TIS แบบขวดสองชั้น ให้อัตราการผลิตยอดมากที่สุดคือ 5.15 เท่า ในขณะที่ระบบ TIS แบบขวดคู่ ให้อัตราการผลิตยอด 4.75 เท่า ส่วนการชักนำให้เกิดรากและย้ายปลูกสู่สภาพธรรมชาติ พบว่ายอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงทั้งสี่ระบบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากบนอาหารสูตร 1/6 MS ที่เติม NAA1mg/l ในเวลา 30วัน และต้นกล้ามีอัตราการรอดตาย และการเติบโตหลังการย้ายปลูกไม่ต่างกัน แต่เมื่อวิเคราะห์ต้นทุนการผลิตกล้ายูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส พบว่า ระบบ TIS จะมีการติดตั้งอุปกรณ์ราคาแพงกว่า จำนวนภาชนะที่ใช้จะน้อยกว่า แต่ได้จำนวนกล้าเพิ่มมากกว่า และต้นทุนต่อกล้าของการใช้ระบบ TIS แบบขวดคู่มีค่าต่ำสุดเท่ากับ 2.02 บาทต่อกล้า ในขณะที่ระบบ TIS แบบขวดสองชั้นมีต้นทุนต่อกล้าเท่ากับ 2.44 บาท โดยมีระยะเวลาคืนทุนของการจัดสร้างชุดเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIS แบบขวดคู่ที่ระยะเวลา 8 เดือน สามารถผลิตต้นกล้ายูคาลิปตัสได้ถึง 38,988 ต้น

28 / พ.ค. / 50

สายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่อประธานกรรมการ

Rungarun Sumkaew 2007: *In Vitro* Seedling of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. Using Temporary Immersion System with Twin Flasks. Master of Science (Forestry), Major Field: Silviculture, Department of Silviculture. Thesis Advisor: Assistant Professor Ladawan Puangchit, D.Sc. 108 pages.

Micropropagation by using Temporary Immersion System (TIS) was developed for low cost production of *Eucalyptus camadulensis* seedling. Installation of TIS with twin flasks was compared to that with two layers. The results showed that materials needed for making the containers for twin flasks are readily available at much lower cost than those needed for the two layers (5 times). Different factors, i.e. frequency and duration of nutrient solution feeding, amount of nutrient, and initial numbers of shoot were evaluated for the best new shoots formation. The results revealed that giving nutrient solution given every 8 hours for 1 minute each at the amount of 100 ml with 50 initial shoots per a set of twin flasks, gave the highest number of shoots per container (4.97 times). Furthermore, multiplication rate, rooting and transplanting of shoots grown in TIS with twin flasks were compared with other systems, i.e. semi-solid medium system, liquid medium system and TIS with two layers for a period of 4 weeks. TIS with two layers gave the highest increase of multiplication rate (5.15 times), followed by that of the TIS with twin flasks (4.75 times). For rooting and transplanting, it was found that rooting occurred on 1/6 MS supplemented with 0.1 mg/l NAA in 30 days. However, transplanting seedlings of these four systems were almost the same in survival percentage and growth. Economical analysis showed that the lowest cost per seedling was obtained using twin flasks (2.02 Baht/plant) while two layers system cost 2.44 Baht/plant. Moreover, the investment return period of TIS with twin flask was only 8 months giving the production capacity as high as 38,988 seedlings.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

28 / May / 07

# กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ได้ด้วยความกรุณาจาก ผศ. ดร.ลดาวัลย์ พวงจิตร ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ อาจารย์ยุพา มงคลสุข รศ. ดร.สมคิด สิริพัฒนดิลก คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่สละเวลาอันมีค่าในการให้คำปรึกษาแนะนำในการศึกษาวิจัย พร้อมทั้งแก้ปัญหาต่างๆ และตรวจสอบแก้ไขเรียบเรียงวิทยานิพนธ์ รวมทั้ง รศ.ดร.อมรา ทองปาน ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัยที่กรุณาให้คำแนะนำพร้อมข้อเสนอแนะ เพื่อให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณคุณอาบุญยัง สุ่มแก้ว คุณอาบุญยอง สุ่มแก้วและบุคคลทุกๆ คนในครอบครัวที่คอยเป็นกำลังใจ และให้การสนับสนุนการศึกษาด้วยดีตลอดมา อีกทั้งพี่ๆ น้องๆ ที่หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพฯ สถาบันผลิตผลเกษตรฯ รวมทั้งเพื่อนร่วมรุ่นทุกคนที่คอยห่วงใยและช่วยเหลือในด้านต่างๆ

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบเพื่อเป็นเครื่องบูชาพระคุณ คุณตาอ้อม บุญเลิศ คุณปู่พยม สุ่มแก้ว คุณย่าลูกอินทร์ สุ่มแก้ว พ่อประยูร สุ่มแก้ว แม่อุ่นเรือน สุ่มแก้ว ผู้เป็นที่ตั้งแห่งความรัก และกำลังใจมาโดยตลอด และอยู่เบื้องหลังความสำเร็จของลูก ให้การอบรมและให้โอกาสในการศึกษา ครูบาอาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่านที่ให้ความรัก ความเอาใจใส่ ให้ทุกสิ่งทุกอย่าง

รุ่งอรุณ สุ่มแก้ว

พฤษภาคม 2550

# สารบัญ

**หน้า**


| | |
|---|---|
| สารบัญ | (1) |
| สารบัญตาราง | (2) |
| สารบัญภาพ | (5) |
| คำนำ | 1 |
| วัตถุประสงค์ | 3 |
| การตรวจเอกสาร | 4 |
| อุปกรณ์และวิธีการ | 21 |
| ผลและวิจารณ์ | 35 |
| สรุปและข้อเสนอแนะ | 69 |
| สรุป | 69 |
| ข้อเสนอแนะ | 70 |
| เอกสารและสิ่งอ้างอิง | 71 |
| ภาคผนวก | 80 |

# สารบัญตาราง


| ตารางที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 1 | จำนวนยอดเฉลี่ยและอัตราการผลิตยอด ของยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส ที่ใช้ความถี่ของการให้สารละลายอาหาร และใช้ปริมาณของสารละลายอาหาร ต่างกันในสัปดาห์ที่ 2 และ สัปดาห์ที่ 4 | 40 |
| 2 | จำนวนยอดเฉลี่ยและอัตราการผลิตยอด ของยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส ที่ใช้ความถี่ของการให้สารละลายอาหาร และใช้ปริมาณของสารละลายอาหาร ต่างกันที่ 2 และ 4 สัปดาห์ | 41 |
| 3 | จำนวนยอดเฉลี่ยและอัตราการผลิตยอดของยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส ที่ใช้ช่วงเวลาการให้สารละลายอาหารและใช้จำนวนยอดเริ่มต้นต่างกัน ที่ 2 และ 4 สัปดาห์ | 44 |
| 4 | จำนวนยอดเฉลี่ยและอัตราการผลิตยอดของยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส ที่ใช้ช่วงเวลา การให้สารละลายอาหารและใช้จำนวนยอดเริ่มต้นต่างกัน ที่ 2 และ 4 สัปดาห์ | 45 |
| 5 | อัตราการผลิตยอดของยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส ด้วยวิธีการเลี้ยงต่างๆ กัน ที่ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ | 48 |
| 6 | เปอร์เซ็นต์การเกิดรากเฉลี่ยและจำนวนรากเฉลี่ยของยูคาลิปตัสที่ได้จาก การเพิ่มปริมาณด้วยระบบที่แตกต่างกันที่ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ | 51 |
| 7 | เปอร์เซนต์การรอดตาย และความสูงของกล้ายูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่ม ปริมาณด้วยระบบที่แตกต่างกันเมื่ออายุ 1 เดือน | 56 |
| 8 | เปอร์เซนต์การรอดตาย และความสูงของกล้ายูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่ม ปริมาณด้วยระบบที่แตกต่างกันเมื่ออายุ 2 เดือน | 56 |
| 9 | ต้นทุนเพื่อการผลิตกล้ายูคาลิปตัสใน 1 รอบการผลิต | 65 |
| 10 | ต้นทุนและผลตอบแทนจากการผลิตกล้ายูคาลิปตัสเ มื่อทำการเพิ่มปริมาณ ยอดในพื้นที่1 เมตร$^2$ จำนวน 12 รอบการผลิตด้วยระบบการเพาะเลี้ยง การเพิ่มปริมาณยอดแตกต่างกัน | 67 |

# สารบัญตาราง (ต่อ)


| ตางรางผนวกที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 1 | การขยายพันธุ์พืชด้วยระบบ TIS ในพืชชนิดต่างๆ ที่มีการศึกษาในต่างประเทศ | 85 |
| 2 | อาหารสูตรมาตรฐานสำหรับยูคาลิปตัส (Siripatanadilok and Thaiutsa, 1990) | 91 |
| 3 | การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดของยูคาลิปตัส ที่เพิ่มปริมาณด้วย TIS แบบขวดคู่ ที่มีความถี่ในการให้สารละลายอาหาร 3-12 ชั่วโมง เมื่อครบ 2 สัปดาห์ และ 4 สัปดาห์ | 92 |
| 4 | การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดของยูคาลิปตัส ที่เพิ่มปริมาณด้วย TIS แบบขวดคู่ ที่มีช่วงเวลาในการให้สารละลายอาหาร 0.5-3 นาทีต่อครั้ง เมื่อครบ 2 สัปดาห์ และ 4 สัปดาห์ | 93 |
| 5 | การวิเคราะห์ความแปรปรวนของอัตราการผลิตยอดของยอดยูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณยอดด้วยระบบการเพาะเลี้ยงแตกต่างกัน | 94 |
| 6 | การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์การเกิดราก และจำนวนรากของยอด ยูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณยอดด้วยระบบการเพาะเลี้ยงแตกต่างกัน | 94 |
| 7 | การวิเคราะห์ความแปรปรวนความสูงและมวลชีวภาพรวมกล้ายูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณยอดด้วยระบบการเพาะเลี้ยงแตกต่างกัน เมื่ออายุ 1 และ 2 เดือน | 94 |
| 8 | อุปกรณ์ที่จำเป็นในระบบภาชนะสำหรับการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIS แบบขวดคู่ | 95 |
| 9 | อุปกรณ์ที่จำเป็นในระบบไฟฟ้าสำหรับการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIS แบบ ขวดคู่ | 96 |
| 10 | อุปกรณ์ที่จำเป็นในระบบลมสำหรับการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIS แบบขวดคู่ | 97 |
| 11 | ต้นทุนต่อชุดเพาะเลี้ยงและอุปกรณ์ที่จำเป็นสำหรับการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIS แบบขวดคู่ จำนวน 60 ชุด | 98 |

# สารบัญตาราง (ต่อ)


| ตางรางผนวกที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 12 | จำนวนยอด และ ต้นกล้ายูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสที่คาดว่าจะผลิตได้ต่อ 1 รอบการผลิต จากการใช้ระบบการเพาะเลี้ยงการเพิ่มปริมาณยอดต่างกัน ในพื้นที่ 1 ตารางเมตร | 99 |
| 13 | ต้นทุนการดำเนินงานเตรียมอาหารและการถ่ายเนื้อเยื่อ (อุปกรณ์ สารเคมี ค่าไฟฟ้า พลังงาน และน้ำ) ของหน่วยปฏิบัติการ เทคโนโลยีชีวภาพเพื่ออุตสาหกรรม สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร | 101 |
| 14 | ต้นทุนอาหารสูตรมาตรฐานสำหรับยูคาลิปตัสของ Siripatanadilok and Thaiutsa (1990) | 104 |
| 15 | ต้นทุนรวมต่อ 1 รอบการผลิตของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส โดยเพิ่มปริมาณยอดด้วยระบบรอาหารกึ่งแข็ง | 105 |
| 16 | ต้นทุนรวมต่อ 1 รอบการผลิตของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส โดยเพิ่มปริมาณยอดด้วยระบบอาหารเหลว | 106 |
| 17 | ต้นทุนรวมต่อ 1 รอบการผลิตของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส โดยเพิ่มปริมาณยอดด้วยระบบ TIS แบบขวดสองชั้น | 107 |
| 18 | ต้นทุนรวมต่อ 1 รอบการผลิตของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส โดยเพิ่มปริมาณยอดด้วยระบบ TIS แบบขวดคู่ | 108 |

# สารบัญภาพ


| ภาพที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 1 | ยอดยูคาลิปตัสที่แตกออกมาจากกิ่งที่นำมาปักชำในเรือนอนุบาล พร้อมที่จะนำไปใช้ในขั้นตอนการฟอกฆ่าเชื้อ | 22 |
| 2 | แบบของส่วนฝาปิดและท่อเชื่อม | 24 |
| 3 | อุปกรณ์สำหรับจัดสร้างระบบภาชนะเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIS แบบขวดคู่ | 25 |
| 4 | อุปกรณ์สำหรับจัดสร้างระบบลม | 26 |
| 5 | อุปกรณ์สำหรับจัดสร้างระบบไฟฟ้า | 27 |
| 6 | ระบบภาชนะที่ประกอบเข้าด้วยกันเป็นชุดเพาะเลี้ยง | 35 |
| 7 | การติดตั้งและต่อสายลมจากปั๊มลม | 36 |
| 8 | การต่อสายลมและสายไฟเข้ากับวาล์วชนิดทำงานโดยใช้โซลินอยด์ซึ่งควบคุมการปิดเปิดโดยใช้ไฟฟ้า | 37 |
| 9 | การติดตั้งระบบไฟฟ้าบนแผงควบคุม | 38 |
| 10 | การเจริญเติบโตของยอดยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสที่ใช้ความถี่ของการให้สารละลายอาหาร และใช้ปริมาณของสารละลายอาหารต่างกัน 4 สัปดาห์ | 42 |
| 11 | การเจริญเติบโตของยอดยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสที่ใช้ช่วงเวลาการให้สารละลายอาหาร และจำนวนยอดเริ่มต้นต่างกัน 4 สัปดาห์ | 46 |
| 12 | เปรียบเทียบความหนาแน่นของยอดต่อพื้นที่ภาชนะเพาะเลี้ยงของยูคาลิปตัสที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบการเพาะเลี้ยงต่างกัน | 49 |
| 13 | การเกิดรากของยอดยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบการเพาะเลี้ยงที่ต่างกัน เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรมาตรฐานชักนำการเกิดรากเป็นเวลา 30 วัน | 52 |
| 14 | ลักษณะต้นกล้ายูคาลิปตัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เมื่อทำการย้ายปลูกสู่สภาพแวดล้อมภายนอก เป็นเวลา 15 วัน | 53 |
| 15 | ลักษณะต้นกล้ายูคาลิปตัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เมื่อทำการย้ายปลูกสู่สภาพแวดล้อมภายนอก อายุ 1 เดือน | 57 |

# สารบัญภาพ (ต่อ)

**ภาพที่** **หน้า**


16 ลักษณะต้นกล้ายูคาลิปตัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เมื่อทำการย้ายปลูกสู่สภาพแวดล้อมภายนอก อายุ 2 เดือน 58

17 มวลชีวภาพของใบ ลำต้น และราก (ก) และอัตราส่วนยอดต่อราก(ข) ของกล้ายูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบการเพาะเลี้ยงที่แตกต่าง เมื่อ อายุ 2 เดือน 59

18 การติดตั้งอุปกรณ์ที่จำเป็นของชุดเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIS แบบขวดคู่สำหรับขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอดยูคาลิปตัส 60

19 ขั้นตอนการผลิตกล้ายูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส 1 รอบการผลิตจากการใช้ยอดที่ได้จากการเพิ่มปริมาณยอดด้วยระบบการเพาะเลี้ยงแตกต่างกัน 4 ระบบ 63


**ภาพผนวกที่**


1 ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้วยเทคนิค TIS 81

2 การทำงานของระบบ TIS แบบขวดสองชั้น 82

3 การทำงานของระบบ TIS แบบขวดคู่ 82

4 แผนผังการทดลองความถี่ในการให้สารละลายอาหารและปริมาณอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณยอดยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสโดยระบบ TIS แบบขวดคู่ที่พัฒนาขึ้น 83

5 แผนผังการทดลองช่วงเวลาการให้อาหารและจำนวนยอดเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณยอดยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส โดยระบบ TIS แบบขวดคู่ที่พัฒนาขึ้น โดยใช้ความถี่ในการให้สารละลายอาหารและปริมาณอาหารที่เหมาะสมจากการทดลองความถี่ในการให้สารละลายอาหารและปริมาณอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณยอดยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสโดยระบบ TIS แบบขวดคู่ที่พัฒนาขึ้น 84

# การผลิตกล้ายูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยระบบ Temporary Immersion แบบขวดคู่

# *In Vitro* Seedling of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. Using Temporary Immersion System with Twin Flasks

## คำนำ

ในปัจจุบันประเทศไทยกำลังอยู่ในวิกฤตการณ์ที่ไม่สามารถพึ่งตนเองได้ต่อไปในการผลิตไม้ เนื่องจากในอดีตไม้ส่วนใหญ่ที่นำมาใช้ได้จากป่าธรรมชาติ แต่ในปี พ.ศ. 2532 ได้มีการยกเลิกสัมปทานการทำไม้ในป่าธรรมชาติ จึงทำให้ขาดแคลนไม้ใช้สอยในประเทศ ต้องมีการนำเข้าไม้จากต่างประเทศปีละหลายล้านบาท ด้วยเหตุนี้ภาครัฐและเอกชนจึงเห็นว่ามีความจำเป็นต้องเร่งให้มีการส่งเสริมการปลูกไม้เพื่อนำมาใช้ทดแทนไม้จากป่าธรรมชาติ การปลูกสร้างสวนป่าจึงเริ่มมีบทบาทสำคัญสำหรับประเทศไทย และประเทศต่างๆ ทั่วโลกโดยเฉพาะไม้ยุคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสเป็นไม้โตเร็วชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพในการผลิตเนื้อไม้ค่อนข้างสูง และเริ่มมีบทบาทในทางเศรษฐกิจ ดังนั้นเพื่อให้การปลูกสร้างสวนป่าประสบความสำเร็จนอกจากการจัดการที่ดีจำเป็นต้องใช้กล้าไม้คุณภาพดี แต่การผลิตต้นกล้าจากเมล็ดเป็นเรื่องยากต่อการกำหนดและควบคุมคุณภาพ เนื่องจากเมล็ดคุณภาพดีที่ได้รับการปรับปรุงเพื่อการปลูกสร้างสวนป่านั้นมีไม่เพียงพอ ดังนั้นจึงต้องอาศัยการผลิตต้นกล้าด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งจะได้พืชที่มีคุณสมบัติและลักษณะทุกประการเหมือนกับแม่พันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกและทดสอบแล้วว่ามีการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตสูง และมีความสม่ำเสมอได้ผลตอบแทนคุ้มกับการลงทุน ปัจจุบันการขยายพันธุ์พืชด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนใหญ่เป็นการเลี้ยงชิ้นส่วนพืชด้วยระบบอาหารกึ่งแข็ง ซึ่งใช้ระยะเวลาและบุคลากรที่มีความชำนาญในการปฏิบัติงานในขั้นตอนการตัดแยกและถ่ายยอดที่เกิดหรือเพิ่มขึ้นมาลงในอาหารขวดขั้นตอนการยืดยอด และขั้นตอนการชักนำการออกรากทำให้มีต้นทุนสูงประมาณ 40-60 เปอร์เซ็นต์ของต้นทุนการผลิตทั้งหมดและแนวโน้มการเปลี่ยนงานของบุคลากรที่มีความชำนาญ เนื่องจากสภาพร่างกายและอายุที่มากขึ้น ประกอบกับต้นทุนของค่าวัสดุที่นำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงก็สูงขึ้นทุกปี ดังนั้นหากมีการพัฒนาปรับปรุงระบบการเพาะเลี้ยง เพื่อเสริมและเพิ่มประสิทธิภาพให้กับบุคลากรและหน่วยงาน จะทำให้ต้นทุนการผลิตลดลงได้ และการเพาะเลี้ยงระบบ Temporary Immersion System (TIS) ก็เป็นอีกระบบหนึ่งที่น่าสนใจ

ระบบ TIS เป็นการพัฒนาเทคโนโลยีการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยต่อยอดจากองค์ความรู้ในเรื่องการขยายพันธุ์พืชด้วยระบบการเพาะเลี้ยงอาหารกึ่งแข็งและอาหารเหลวที่ทำการดัดแปลงถังหมัก (fermentor) ซึ่งเดิมใช้เพื่อการเลี้ยงจุลินทรีย์หรือผลิตโปรตีนเซลล์เดียวต่างๆ มาใช้เป็นภาชนะเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยระบบมีการแบ่งภาชนะออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนใส่สารละลายอาหาร และส่วนเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืช ซึ่งเป็นการนำข้อดีของระบบอาหารกึ่งแข็งและอาหารเหลวมาผสมผสานกัน คือการใช้อาหารเหลวชิ้นส่วนพืชจะได้รับสารละลายอาหารอย่างสม่ำเสมอทำให้สามารถเติบโตได้อย่างรวดเร็ว ส่วนในอาหารกึ่งแข็งชิ้นส่วนพืช ยอด หรือกล้าที่ผลิตได้มีลักษณะและการเติบโตแบบปกติแม้จะทำการเพาะเลี้ยงอย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน เพราะระบบการเพาะเลี้ยงนี้สามารถกำหนดการให้ธาตุอาหารและอากาศตามระยะเวลาที่เหมาะสมได้ มีช่วงเวลาของการเปียกหรือได้รับสารอาหารสลับกับช่วงเวลาแห้งหรือไม่ได้รับสารอาหารนั่นเอง ลักษณะการได้รับสารละลายอาหารของชิ้นส่วนพืชอย่างนี้เพียงพอต่อการเติบโตของชิ้นส่วนพืชและอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมทำให้มีการเติบโต สามารถเพิ่มมวลชีวภาพ อีกทั้งยังสามารถเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนพืชได้เป็นจำนวนมาก แล้วยังเป็นระบบที่มีการทำงานเป็นแบบกึ่งอัตโนมัติทำให้สามารถเพิ่มขนาดภาชนะให้ใหญ่ขึ้นได้ มีความสะดวกรวดเร็วและง่ายในการเปลี่ยนอาหารและทำความสะอาดภาชนะที่ใช้แล้ว อย่างไรก็ตามระบบและชุดเพาะเลี้ยงแบบต่างๆ เช่นระบบ TIS แบบขวดสองชั้น และแบบขวดคู่ ซึ่งมีจำหน่ายมีราคาสูงจนประเทศกำลังพัฒนาเช่นประเทศไทยไม่สามารถนำมาใช้ผลิตพืชในเชิงการค้าได้ หากสามารถสร้างชุดเพาะเลี้ยงที่สามารถใช้กับระบบการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIS โดยเฉพาะแบบขวดคู่ที่มีศักยภาพสามารถประยุกต์ใช้อุปกรณ์ที่มีภายในประเทศเพื่อนำมาออกแบบและจัดสร้างได้เองก็สามารถลดต้นทุนในการลงทุน และช่วยเพิ่มกำลังการผลิตต้นพืชพันธุ์ดีให้กับเกษตรกรได้มากขึ้น

การนำวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ในการผลิตต้นกล้าไม้เชิงพาณิชย์ทำกันอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสซึ่งได้มีการพัฒนาอาหารสังเคราะห์สูตรมาตรฐานเพื่อใช้เลี้ยงไม้ชนิดนี้มาเป็นเวลานาน แต่การศึกษาการผลิตกล้ายูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยระบบ TIS แบบขวดคู่นี้ยังไม่เคยมีการศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาก่อนซึ่งวิธีนี้นอกจากสามารถผลิตต้นกล้ายูคาลิปตัสแล้วยังประยุกต์ใช้กับพืชชนิดอื่นๆ ที่มีศักยภาพในการปลูกเชิงพานิชย์ในประเทศต่อไปได้

# วัตถุประสงค์

การศึกษาการผลิตกล้ายูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยระบบ TIS แบบขวดคู่มีวัตถุประสงค์ดังนี้

1. พัฒนาอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชด้วยระบบ TIS แบบขวดคู่จากวัสดุที่สามารถจัดหาได้ภายในประเทศ

2. เปรียบเทียบอัตราการผลิตยอดและคุณภาพของยอดและกล้าที่ได้จากการเพิ่มยอดจากระบบการเลี้ยงที่แตกต่างกันระหว่าง ระบบอาหารกึ่งแข็ง อาหารเหลว ระบบ TIS แบบขวดสองชั้น และระบบ TIS แบบขวดคู่ที่พัฒนาขึ้น

3. ประเมินความคุ้มทุนในการผลิตกล้ายูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสจากยอดที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบการเลี้ยงที่แตกต่างกันระหว่างระบบอาหารกึ่งแข็ง อาหารเหลว ระบบ TIS แบบขวดสองชั้น และระบบ TIS แบบขวดคู่ที่พัฒนาขึ้นเพื่อประโยชน์ในเชิงพานิชย์

# การตรวจเอกสาร

## ลักษณะทั่วไปของไม้ยูคาลิปตัส คาลมาดูเลนซิส

ยูคาลิปตัสเป็นพันธุ์ไม้ที่อยู่ในวงศ์ Mytraceace และในสกุล *Eucalyptus* ในสกุลนี้มีทั้งหมดประมาณกว่า 530 ชนิด โดยมีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปออสเตรเลียเป็นส่วนใหญ่ (ประสิทธิ์, 2522) ในประเทศออสเตรเลีย ยูคาลิปตัสสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้หลายแบบ สามารถเติบโตได้ในดินทุกชนิด ในธรรมชาติ ยูคาลิปตัสเกือบทุกชนิดมีการขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด ส่วนใหญ่แล้วสามารถผลิตเมล็ดขนาดเล็กจำนวนมาก สามารถแพร่พันธุ์เมื่อต้นถูกทำลายโดยไฟ ความแห้งแล้ง การทำลายโดยมนุษย์หรือสัตว์ได้มีการนำยูคาลิปตัสเข้ามาปลูกในประเทศไทยเป็นครั้งแรกในปี พ.ศ. 2493 (จำนงค์, 2525) แต่มีการทดลองปลูกจริง ๆ เมื่อปี พ.ศ. 2507 ปรากฏว่ามีอยู่ 8 ชนิดที่เหมาะสม และที่นิยมปลูกในประเทศไทยขณะนี้มีอยู่เพียง 2 ชนิดเท่านั้น คือ ยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซิส และ ยูคาลิปตัสดีกลุ๊ปต้า (*Eucalyptus deglupta* Blume) (มนตรี, 2525; กรมป่าไม้, 2528) และจากการทดสอบชนิดพันธุ์พบว่ายูคาลิปตัส คาลมาดูเลนซิส มีความสามารถในการเติบโตได้ดีในดินเกือบทุกสภาพของประเทศไทย และเป็นชนิดที่นิยมปลูกกันทั่วโลกทั้งในประเทศเขตร้อน (tropics) และเขตหนาว(temperate) เช่นประเทศในทวีปอเมริกา อัฟริกา ยุโรป และอาเซียน (อนิวรรต, 2528)

ยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.) มีชื่อพื้นเมืองหลายชื่อ คือ river red gum, red gum, Murray red gum และ river gum เป็นไม้ขนาดปานกลางถึงขนาดใหญ่ มีถิ่นกำเนิดและขอบเขตการกระจายกว้างขวาง ทั้งในเขตร้อน และเขตอบอุ่นของประเทศออสเตรเลีย ระหว่างเส้นรุ้งที่ 15.5-38 องศาใต้ สามารถขึ้นได้ดีในสภาพพื้นที่กึ่งแห้งแล้งและแห้งแล้งตามริมลำธารและแม่น้ำทางภาคตะวันออกเฉียงใต้ของทวีปออสเตรเลีย (FAO, 1980; มณฑี, 2528) เป็นไม้ขนาดกลางถึงขนาดใหญ่และเป็นชนิดที่มีการนำไปปลูกนอกถิ่นกำเนิดมากที่สุด มีความสูงประมาณ 25-50 เมตร รูปทรง เปลาตรง กิ่งตั้งฉากออกจากลำต้น ใบเป็นใบเดี่ยวเรียงตัวแบบสลับ (alternate) ขนาดกว้าง 1.8-3.0 เซนติเมตร ยาว 10-13 เซนติเมตร เปลือกเรียบสีชมพู ครีม หรือขาว ลอกเป็นแผ่นกว้างๆ ได้ ดอกเกิดเป็นช่อตามซอกใบ ระยะการออกดอกของไม้ยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซิสในประเทศไทยสามารถออกดอกได้เกือบตลอดทั้งปี ผลส่วนใหญ่แก่ ราวเดือนเมษายน-พฤษภาคม และระหว่างเดือนสิงหาคม-กันยายนของทุกปี (เธียรชัย, 2527) ปริมาณน้ำฝนที่เหมาะสมสำหรับการปลูกสร้างสวนป่ายูคาลิปตัสในเชิงเศรษฐกิจ ไม่ควรต่ำกว่า 600 มิลลิเมตรต่อปี สามารถ

ขึ้นได้ตั้งแต่ระดับน้ำทะเลไปจนถึงระดับความสูงกว่า 1,200 เมตรอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตคือ 27-35 องศาเซลเซียส (FAO, 1981) ไม้ชนิดนี้สามารถขึ้นได้ในดินเกือบทุกชนิด ไม่ว่าจะเป็น ดินทราย ดินเหนียว หรือดินเค็ม แต่ไม่ทนต่อดินที่มีปริมาณหินปูนสูงซึ่งมีปริมาณแคลเซียมสูง จะปรากฏอาการใบเหลือง (chlorosis) อันเนื่องมาจากขาดธาตุ โบรอน (B) ลักษณะดินที่เหมาะสำหรับการเจริญเติบโต ควรมีปฏิกิริยาดิน (pH) ประมาณ 6-7 และเป็นดินร่วนปนทรายหรือดินทรายที่มีการระบายน้ำได้ดี (ธนิต และ ประสิทธิ์, 2525)

**การใช้ประโยชน์จากไม้ยูคาลิปตัส**

ไม้ยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซิสสามารถใช้ประโยชน์ได้หลาย ๆ ด้านดังนี้

1. เยื่อ และกระดาษ (pulp and paper) พบว่า ผลผลิตส่วนใหญ่ของยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซิสใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมเยื่อและกระดาษ ในรูปแบบเยื่อสั้น จากการศึกษาคุณสมบัติของเส้นใย (fiber) ของไม้ยูคาลิปตัสคามาลดูเลนซิสที่มีอายุ 10 ปี โดยทัศนีย์ และคณะ (2525) พบว่ามีความยาวของเส้นใย 1.1895 มิลลิเมตร มีความกว้างของเส้นใย 0.0220 มิลลิเมตร และมีความกว้างของ fiber lumen 0.0150 มิลลิเมตร และจากการที่เส้นใยยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซิสมีผนังเซลล์บาง ทำให้มีแนวโน้มที่เส้นใยยึดติดกันได้ดี ทำให้แรงยึดระหว่างเส้นใยสูง เมื่อใช้ทำกระดาษจะได้กระดาษที่แข็งแรงและเหนียว

2. ไม้แปรรูป (lumber) ไม้ยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซิสที่มีอายุมาก เนื้อไม้มีแก่นสีน้ำตาล สีของแก่นต่างจากสีของกระพี้ เนื้อไม้ค่อนข้างละเอียดมักบิดเมื่อแห้ง ลักษณะของเสี้ยนเป็นเสี้ยนสนและเสี้ยนเป็นคลื่นมีความหนาแน่นของเนื้อไม้ 980 กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตร (FAO, 1981) แต่ถ้ามีอายุน้อยความหนาแน่นจะต่ำกว่านั้น เนื้อไม้แตกได้ง่ายถ้ารักษาไม่ดี การแปรรูปสามารถกระทำได้แต่ควรทำขณะไม้ยังสดอยู่ เพราะถ้าทิ้งไว้ให้แห้งจะทำให้แตกร้าวได้ จากลักษณะดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าเนื้อไม้ยูคาลิปตัสคามาลดูเลนซิสมีความยุ่งยากในการแปรรูป มีความแกร่งสูง เปราะและแตกหักได้ง่าย

3. ไม้ฟืน และถ่าน (fuel and charcoal) เนื้อไม้ยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซิสสามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงในครัวเรือนหรือในอุตสาหกรรมบางชนิด ทั้งในรูปของถ่าน หรือฟืน โดยฟืนไม้ยูคา

ลิปตัส คามาลดูเลนซิสมีค่าความร้อนประมาณ 4.74 กิโลกรัมแคลอรีต่อกรัม และถ่านไม้ยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซิสมีค่าความร้อน 7.35 กิโลกรัมแคลอรีต่อกรัม (อรุณ และวินัย, 2528)

4. ไม้เสาเข็ม (pole) ไม้ยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซิสนิยมใช้ทำเสาเข็ม โดยเฉพาะในอุสาหกรรมการก่อสร้างขนาดของเสาเข็มที่ใช้ โดยทั่วไปมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางตรงกลางท่อน 3, 4, 5 และ 6 เมตรตามลำดับ (ชวลิต และสวลี, 2527)

5. การใช้ประโยชน์ด้านอื่น ๆ นอกจากการใช้ประโยชน์ในด้านที่กล่าวมาแล้วไม้ยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซิสยังใช้เป็นวัตถุดิบในอุสาหกรรมแผ่นชิ้นไม้อัด แผ่นใยไม้อัด ชิ้นไม้ผสมปูนซีเมนต์ (สุชาติ, 2528) ปลูกเป็นแนวรั้ว เป็นแนวกันลม (พิทยา และจักรพล, 2528) ปลูกเพื่อช่วยควบคุมการพังทลายของดิน ดอกใช้เลี้ยงผึ้ง สกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบยูคาลิปตัส (มนตรี และคณะ, 2529) การย้อมสีเส้นใยด้วยสีจากใบยูคาลิปตัส (วนิดา และคณะ, 2531) และมีการนำเปลือกไม้ยูคาลิปตัสมาผลิตเป็นปุ๋ยหมัก (สมบัติ, 2544)

**การพัฒนาระบบ Temporary Immersion (TIS)**

การขยายพันธุ์พืชที่ได้รับการคัดเลือกแล้ว ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปัจจุบันนิยมใช้ระบบอาหารกึ่งแข็ง ซึ่งเป็นวิธีการที่ทำให้ได้ต้นพืชที่มีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนกับแม่พันธุ์ (cloning) ในเวลาที่รวดเร็ว และปริมาณที่มาก แต่เทคโนโลยีการผลิตพืชด้วยระบบนี้ก็ยังมีข้อจำกัดหลายประการ เช่นมีต้นทุนการผลิตสูง เพราะต้องใช้ภาชนะสำหรับเลี้ยงที่มีขนาดเล็กเป็นจำนวนมาก เนื่องจากการเพิ่มปริมาณยอดเป็นการเพิ่มปริมาณทางด้านข้าง ในขั้นตอนนี้ต้องใช้แรงงานมากสำหรับตัดถ่ายต้นที่เพิ่มขึ้นลงในอาหารใหม่ทุกๆ 6-8 สัปดาห์เพราะเนื้อเยื่อมีการเติบโตและพัฒนาอย่างต่อเนื่อง พืชจึงใช้ธาตุอาหารในขวดเก่าจนหมด นอกจากนี้ยังเกิดจากความหนาแน่นของจำนวนต้นที่เพิ่มขึ้น ซึ่งความช้าหรือเร็วในการเปลี่ยนถ่ายอาหารนี้ถูกจำกัดโดยขนาดของภาชนะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงนั่นเอง (Maene and Debergh, 1981; Chu, 1995) ต้นทุนการผลิตที่สูงนี้นับว่าเป็นปัจจัยสำคัญในการจำกัดการใช้วิธีการดังกล่าวในเชิงการค้า และเหมาะสมเฉพาะการขยายพันธุ์พืชที่มีมูลค่าต่อหน่วยสูง เช่น ไม้ดอก ไม้ประดับ และไม้ผลที่ได้รับการคัดเลือกแล้ว (Simonton *et al.*, 1991) โดยทั่วไปค่าแรงงานถือเป็นต้นทุนการผลิตประมาณ 40-60 เปอร์เซ็นต์ของต้นทุนทั้งหมด ในการตัดเพิ่มปริมาณเนื้อเยื่อพืชซึ่งถือว่าเป็นขั้นตอนที่มีต้นทุนการผลิตที่สูงที่สุดของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Chu, 1995) แม้ว่าต้นทุนค่าแรงงานจะถือว่าเป็นส่วนหลักของงานและของระบบการ

เพาะเลี้ยงทั้งหมดแล้ว ยังต้องนับรวมถึงการต้นทุนในการทำความสะอาด การเตรียมอาหาร และการเรียงขวดเพาะเลี้ยงจำนวนมาก (Maene and Debergh, 1985) นอกจากนี้ต้นทุนหลักยังมาจากการสูญเสียกล้าไม้ด้วยอาการฉ่ำน้ำของต้นและราก และระหว่างการนำต้นกล้าไม้ออกปลูกสู่สภาพแวดล้อมภายนอก ด้วยเหตุนี้จึงทำให้มีการใช้ระบบการเพาะเลี้ยงนี้ในวงจำกัดของพืชการค้าเพียงไม่กี่ชนิด ซึ่งหากจะมีการใช้อย่างแพร่หลายเชิงการค้า จำเป็นต้องมีเทคโนโลยีใหม่ที่มีขั้นตอนการทำงานเป็นอัตโนมัติมากขึ้น และวิธีการปรับสภาพต้นไม้ต้องได้รับการพัฒนา

การใช้ระบบอาหารเหลวจึงเป็นแนวความคิดที่ถูกนำมาใช้ในการขยายพันธุ์พืชด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อช่วยลดการใช้แรงงานและวัสดุสิ้นเปลืองเช่น วุ้นซึ่งเป็นวัตถุตัวเติมที่แพงที่สุดของต้นทุนอาหารทำให้การทำงานเป็นอัตโนมัติมากขึ้นเพราะสามารถนำระบบลมมาใช้ในการให้สารละลายอาหารกับชิ้นส่วนพืช ส่งผลให้การผลิตมีความมั่นคง ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของบุคลากร และทำให้ต้นทุนรวมของการผลิตลดลง (Aitken-Christie, 1995) ซึ่งที่ผ่านมาประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารเหลวมักจะถูกจำกัดโดยปัญหาทางด้านเทคนิค เช่น การขาดอากาศ อาการฉ่ำน้ำ เสียรูปร่าง และต้องการเครื่องมือและอุปกรณ์จำนวนมาก เพื่อเป็นการหลีกเลี่ยงปัญหาข้างต้น จึงมีใช้วัสดุพยุงเพื่อรองรับชิ้นส่วนพืช และพัฒนาระบบการเลี้ยงแบบใหม่ เช่น การเติมอาหารเหลวเพิ่มในการเลี้ยงด้วยระบบอาหารกึ่งแข็ง และการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIS (Maene and Debergh, 1985; Etienne *et al.*, 1997) โดยการพัฒนาระบบ TIS มีจุดเริ่มจาก Harris and Mason (1983) สังเกตพบว่าการเลี้ยงแครอท (*Daucus carota*) ของ Stewart *et al.* (1952) ชิ้นส่วนรากที่นำมาเลี้ยงหยุดเติบโตอย่างกะทันหัน เมื่อจมอยู่ในอาหารเหลวเนื่องจากชิ้นส่วนพืชขาดออกซิเจน ทั้งสองจึงได้ศึกษาและออกแบบเครื่องมือที่รู้จักกันในชื่อของ “auxophyton” ซึ่งเป็นชุดเพาะเลี้ยงที่ได้ออกแบบให้มีการหมุนหรือเอียงภาชนะเลี้ยงพืช ทำให้ต้นพืชได้รับออกซิเจน สลับกับจมลงในอาหารเป็นช่วงสลับกันไป หลังจากเพาะเลี้ยงได้ 20 วัน ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อของแครอทมีน้ำหนักมากกว่า 2.6 เท่าเมื่อเทียบกับเนื้อเยื่อที่เลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง จากการศึกษานี้เกิดผลดีต่อระบบการเลี้ยงด้วยอาหารเหลว ทำให้เกิดการพัฒนาดัดแปลงชุดเพาะเลี้ยงแบบ bioreactor หรือ fermentor ซึ่งเดิมมีวัตถุประสงค์เพื่อการเพิ่มปริมาณสิ่งมีชีวิตพวกจุลินทรีย์ให้มากขึ้นในเวลาอันรวดเร็ว แต่ไม่ได้คำนึงถึงความต้องการจำเพาะขั้นพื้นฐานของเซลล์พืช ที่มีความอ่อนไหวต่อแรงกดด้านข้าง การทำลายโครงสร้างด้านกายภาพ และการเกิดฟองในระหว่างการให้อากาศในชุดเพาะเลี้ยง สภาพแวดล้อมต่างๆจึงไม่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์พืช ดังนั้นจึงต้องมีการพัฒนาปรับปรุงเพื่อให้สามารถเลี้ยงชิ้นส่วนพืชในอาหารเหลวได้ในชุดเพาะเลี้ยง (Teisson *et al.*, 1996) การพัฒนาระบบ TIS จึงสามารถใช้อาหารเหลวเพื่อการขยายพันธุ์พืชได้โดยปราศจากผลข้างเคียง

เช่น อาการฉ่ำน้ำที่มักจะพบได้บ่อยในการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างต่อเนื่องด้วยอาหารเหลว และระบบนี้ยังมีข้อดีอีกหลายประการเช่น การปฏิบัติงานในส่วนของการเปลี่ยนอาหารทำได้สะดวกและรวดเร็ว ด้วยการเตรียมอาหารแยกไว้ในขวดต่างหากซึ่งสามารถนำไปเปลี่ยนกับขวดอาหารเก่าได้ทันที ทำให้สามารถลดขั้นตอนของการการตัดเพิ่มปริมาณเนื้อเยื่อพืช (subculture) จากแบบเดิมที่ต้องใช้วิธีการตัดแต่งและปักลงในอาหารใหม่แบบยอดต่อยอด ลดโอกาสที่จะเกิดการปนเปื้อนให้น้อยลด สามารถเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนพืชได้เป็นจำนวนมากในเวลาที่รวดเร็ว ส่งผลให้สามารถลดค่าใช้จ่ายในส่วนของค่าแรง ซึ่งสำหรับงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ค่าแรงถือเป็นต้นทุนที่สูงที่สุดประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ของต้นทุนทั้งหมด ลดการใช้พื้นที่สำหรับขั้นตอนการเพิ่มปริมาณลงได้มาก หากพืชสามารถเพิ่มปริมาณในแนวตั้งได้จะทำให้ใช้พื้นที่น้อยกว่าการการเพิ่มปริมาณพืชในแนวราบ ซึ่งจะทำให้ให้ต้นทุนการผลิตต่อหน่วยต่ำลง ดังนั้นพืชที่มีราคาต่อหน่วยต่ำก็มีโอกาสใช้ระบบการเพาะเลี้ยงการขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมากขึ้นโดยเฉพาะไม้ป่า หรือพืชที่มีค่าต่อหน่วยสูงเช่นไม้ดอก ไม้ประดับก็จะมีต้นทุนการผลิตต่ำลงเช่นเดียวกัน

หลังจาก Harris and Mason (1983) ได้ออกแบบชุดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชโดยใช้ระบบ TIS และประสบความสำเร็จในการเพาะเลี้ยง จากการศึกษานี้ทำให้นักวิจัยมีความรู้เกี่ยวกับการเลี้ยงพืชด้วยอาหารเหลวและบทบาทของระบบ TIS มากขึ้น จึงทำให้มีผู้สนใจนำระบบ TIS มาใช้ประโยชน์ในการเพาะเลี้ยงพืชชนิดต่างๆ โดยมีวิวัฒนาการของการออกแบบระบบ TIS จากการศึกษาของ Etienne and Berthouly (2002) สามารถแบ่งได้เป็น 4 ระบบคือ

ระบบที่ 1 เป็นระบบที่ Tisserat and Vandercook (1985) พัฒนาโดยแยกส่วนของภาชนะเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชและภาชนะใส่สารละลายอาหารออกกัน ทำให้สามารถเพิ่มขนาดของภาชนะเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชให้มีขนาดใหญ่มากขึ้นได้ นอกจากนี้ยังได้ออกแบบให้ภาชนะส่วนนี้มีการเอียงเพื่อให้สารละลายไหลกลับขวดใส่สารละลายอาหารได้ง่าย และระบบจะมีการเติมสารละลายอาหารใหม่ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ ระบบนี้ประกอบด้วยท่อยางซิลิโคน ปั๊ม 2 ตัว ขวดแก้วสำหรับใส่สารละลายอาหาร 2 ขวด วาว์ลสเตนแลส 3 ทาง ภาชนะเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และระบบควบคุมการทำงานในการให้สารละลายอาหารไหลเข้าสู่ภาชนะเพาะเลี้ยง และไหลกลับขวดสารละลายอาหาร (ภาพผนวกที่ 1 ก)

ระบบที่ 2 ได้รับการออกแบบโดย Aitken-Christie and Jone (1987) ระบบมีการแยกส่วนของภาชนะเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชและภาชนะใส่สารละลายอาหารออกกันเช่นเดียวกับระบบที่ 1 แต่

ชิ้นส่วนพืชจะอยู่บนวัสดุพยุงเช่น วุ้น เซลลูโลส และการให้สารละลายอาหารไม่ท่วมชิ้นส่วนพืชทั้งหมด ระบบนี้ประกอบด้วยท่อยางซิลิโคน ปั๊ม 2 ตัว ขวดแก้วสำหรับใส่สารละลายอาหาร 2 ขวด วาว์ลสเตนแลส 3 ทาง ภาชนะเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชขนาด 25 × 39 × 12 เซนติเมตร และระบบควบคุมการทำงานในการให้สารละลายอาหารไหลเข้าสู่ภาชนะเพาะเลี้ยง และไหลกลับขวดสารละลายอาหาร (ภาพผนวกที่ 1 ข)

ระบบที่ 3 พัฒนาขึ้นโดย Simonton *et al.* (1991) ระบบมีการแยกส่วนของภาชนะเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชและภาชนะใส่สารละลายอาหารออกกันเช่นเดียวกับระบบที่ 1 และชิ้นส่วนพืชได้รับสารละลายอาหารเพียงบางส่วนเช่นเดียวกับระบบที่ 2 แต่ได้พัฒนาให้มีภาชนะส่วนเพาะเลี้ยงมากขึ้นเป็น 4 ภาชนะโดยใช้ขวดใส่สารละลายอาหารขวดเดียวกัน ระบบนี้ประกอบด้วยท่อยางซิลิโคน ปั๊ม 1 ตัว ขวดแก้วสำหรับใส่สารละลายอาหารขนาด 7 ลิตร 1 ขวด วาว์ลชนิดทำงานด้วยไฟฟ้า ภาชนะเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 4 ภาชนะ และระบบคอมพิวเตอร์ควบคุมการทำงานในการให้สารละลายอาหารไหลเข้าสู่ภาชนะเพาะเลี้ยง และไหลกลับขวดสารละลายอาหาร (ภาพผนวกที่ 1 ค)

ซึ่งจาก 3 ระบบนี้พบว่าอุปกรณ์ชุดเพาะเลี้ยงมีขนาดใหญ่สลับซับซ้อน อีกทั้งเสี่ยงต่อการปนเปื้อนจากการใช้ภาชนะใส่อาหารขนาดใหญ่เพื่อใช้เลี้ยงชิ้นส่วนพืชทั้งระบบ ทำให้มีความยุ่งยากในการใช้ จึงมีพัฒนาเป็นระบบที่ 4 เพื่อให้สะดวกต่อการใช้ เช่นการเปลี่ยนถ่ายอาหารสามารถทำได้รวดเร็วและไม่จำเป็นต้องเคลื่อนย้ายชิ้นส่วนพืชจากภาชนะเดิม จากการพัฒนาระบบที่ผ่านมาสามารถแบ่งได้เป็น 2 ระบบย่อยคือ

ระบบที่ 4.1 เพื่อให้สะดวกต่อการทำงาน และลดระบบท่อนำสารละลายอาหารที่มากเกินไป Alvard *et al.*(1993) จึงประยุกต์ใช้ชุดกรองจุลินทรีย์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และต่อมา Teisson and Alvard (1995) ได้ออกแบบชุดเพาะเลี้ยงที่มีลักษณะเช่นเดียวกับชุดกรอง คือ รวมชุดภาชนะสำหรับเลี้ยงชิ้นส่วนเนื้อเยื่อและภาชนะใส่สารละลายอาหารเข้าด้วยกันเป็นภาชนะเดียว โดยภายในภาชนะจะแบ่งออกเป็น 2 ส่วนคือ ด้านบนเป็นส่วนเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และด้านล่างเป็นส่วนใส่สารละลายอาหาร นำระบบลมมาใช้ในการให้สารละลายอาหารกับชิ้นส่วนพืชด้วยการแทนที่ของอาหารด้วยอากาศดันให้สารละลายอาหารไหลขึ้นไปตามท่อของชุดกรอง หรือช่องด้านข้างของภาชนะที่ได้รับการพัฒนาเข้าไปท่วมชิ้นส่วนพืชที่อยู่ส่วนบนและอาศัยแรงโน้มถ่วงของโลกทำให้สารละลายอาหารไหลนั้นกลับสู่ภาชนะส่วนร่าง ซึ่งชุดเพาะเลี้ยงที่ได้รับการพัฒนามีลักษณะดังภาพผนวกที่ 1 ง ระบบนี้ประกอบด้วยภาชนะเพาะเลี้ยง ระบบลม และระบบไฟฟ้าซึ่งสามารถตั้ง

โปรแกรมการเปิด-ปิดระบบลมด้วยเครื่องตั้งเวลาควบคุมการทำงานของวาล์วที่ทำงานด้วยไฟฟ้า (solenoid valve) หรือเครื่องอัดอากาศที่ตั้งเวลาควบคุมการเปิด-ปิดแรงดันลมให้กับระบบ ซึ่งระบบย่อยนี้ผู้วิจัยเรียกว่าระบบ TIS แบบขวดสองชั้น (two layer flasks) ปัจจุบันได้ผลิตออกมาจำหน่ายเชิงการในต่างประเทศภายใต้เครื่องหมายการค้า RITA®

ระบบที่ 4.2 เป็นระบบที่ Teisson and Alvard (1999) และ Escalona *et al.* (1999) ประยุกต์ใช้วัสดุและอุปกรณ์ที่สามารถจัดหาได้ง่ายเพื่อสร้างชุดเพาะเลี้ยง มีการทำงานเช่นเดียวกับระบบย่อยที่ 4.1 แต่แยกส่วนของภาชนะเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชและภาชนะใส่สารละลายอาหารออกจากกันเป็น 2 ขวดเช่นเดียวกับระบบที่ 1-3 เชื่อมขวดทั้งสองด้วยสายยางซิลิโคน นำระบบลมมาใช้ในการให้สารละลายอาหารกับชิ้นส่วนพืชด้วยการแทนที่อาหารด้วยอากาศดันสารละลายอาหารให้ไหลไปตามท่อเชื่อมเข้าท่วมชิ้นส่วนพืชในขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และดันให้สารละลายอาหารนั้นไหลกลับสู่ขวดใส่สารละลายอาหาร จากภาพผนวกที่ 1 จ ระบบนี้ประกอบด้วยระบบภาชนะได้แก่ ขวดเพาะเลี้ยงและขวดสำหรับใส่สารละลายอาหาร ท่อยางซิลิโคน ชุดกรองอากาศ เครื่องอัดอากาศที่จ่ายลมอัดให้กับระบบ และระบบไฟฟ้าซึ่งสามารถตั้งโปรแกรมการเปิด-ปิดระบบลมด้วยเครื่องตั้งเวลาควบคุมการทำงานของวาล์วที่ทำงานด้วยไฟฟ้า(solenoid valve) และ ซึ่งระบบย่อยนี้ผู้วิจัยเรียกว่าระบบ TIS แบบขวดคู่ (Twin Flasks system) ซึ่งปัจจุบันได้ผลิตออกมาจำหน่ายเชิงการในต่างประเทศภายใต้เครื่องหมายการค้า BIT®

**หลักการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้วยระบบ TIS**

การเพาะเลี้ยงพืชด้วยระบบ TIS คือการให้สารละลายอาหารโดยอาศัยระบบลม (Pneumatic system) ที่ผ่านการกรองเชื้อจุลินทรีย์ด้วยชุดกรองที่มีแผ่นกรองความละเอียด 0.2 ไมโครเมตรกับชิ้นส่วนพืชตามระยะเวลาและความถี่ที่สามารถกำหนดได้ด้วยเครื่องตั้งเวลา (Timer) ซึ่งมีการทำงานเป็นแบบกึ่งอัตโนมัติ ปัจจุบันหลักการนี้ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายโดยนักวิจัยในหลายประเทศ โดยอ้างอิงแนวทางการปฏิบัติที่ Teisson *et al.* (1999) ได้รวบรวมข้อจำกัดและข้อดีของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้วยระบบ TIS ไว้ดังนี้

1. หลีกเลี่ยงการจมอย่างต่อเนื่อง ซึ่งจะทำให้การเจริญเติบโตและรูปร่างลักษณะผิดปกติ

2. จัดหาและเปลี่ยนถ่ายออกซิเจนให้เพียงพอ ลดการขาดออกซิเจนของพืช เนื่องจากมีการเติมอากาศเข้าไปในขวดโดยผ่านชุดกรองเชื้อให้แก่ชิ้นส่วนพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง

3. จัดให้มีช่วงของการให้อาหาร (duration time or flush time : ช่วงเวลาที่ต้นพืชสัมผัสกับอาหาร) และความถี่ในการให้อาหาร (frequency time or rest time : ช่วงเวลาที่ต้นพืชไม่สัมผัสกับอาหาร) ที่เหมาะสม ทำให้ชิ้นส่วนพืชได้รับสารละลายอาหารที่เพียงพอเพราะในการให้อาหารแต่ละครั้งจะทำให้เกิดฟิล์มบางๆ ของสารละลายอาหารห่อหุ้มชิ้นส่วนพืช สามารถป้องกันการแห้งของชิ้นส่วนพืชที่ทำการเพาะเลี้ยง

4. ใช้แรงดันได้จำกัดไม่เกิน 1 บาร์

5. สามารถให้อาหารเป็นระยะแบบอัตโนมัติ โดยอาศัยระบบลมดันสารละลายอาหารเข้าและออกจากภาชนะเพาะเลี้ยงนอกจากนี้ยังลดการสะสมของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซเอทธิลีน เนื่องจากเป็นระบบเปิดทำให้อัตราการเพิ่มปริมาณต้นหรือชิ้นส่วนมากขึ้น

6. ลดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ เพราะมีการป้องกันการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ จากการกรองอากาศด้วยชุดกรองอากาศที่มีแผ่นกรองความละเอียด 0.2 ไมโครเมตร

7. ลดต้นทุนการผลิตในส่วนของต้นทุนค่าจ้างแรงงานที่ต้องตัดถ่ายเนื้อเยื่อลงในอาหารใหม่ (subculture) เนื่องจากการเพาะเลี้ยงด้วยสารละลายอาหารเหลวทำให้สามารถเปลี่ยนอาหารใหม่ได้ง่าย โดยไม่ต้องเปลี่ยนภาชนะเลี้ยงชิ้นส่วนใหม่ แล้วยังใช้พื้นที่ในการเพาะเลี้ยงน้อย เนื่องจากขวดมีขนาดไม่ใหญ่มากนักแต่ให้ปริมาณชิ้นส่วนพืชหรือต้นพืชเป็นจำนวนมากต่อขวด

นอกจากข้อจำกัดและข้อดีของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้วยระบบ TIS แล้วสิ่งที่จำเป็นต้องทราบอีกประการหนึ่งคือ หลักการทำงานของระบบ TIS ระบบต่างๆ ที่นำมาใช้ทั้งนี้เพื่อให้การเพาะเลี้ยงประสบความสำเร็จ ซึ่งจากระบบ TIS 4 ระบบที่กล่าวไว้ข้างต้นระบบที่ 1-3 ใช้อุปกรณ์ที่มีราคาแพงและมีขนาดใหญ่ทำให้ไม่สะดวกต่อการใช้งาน ดังนั้นปัจจุบันระบบที่ได้รับความนิยมนำมาใช้อย่างแพร่หลายคือระบบที่ 4 ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 ระบบย่อยคือ ระบบ TIS แบบขวดสองชั้นและระบบ TIS แบบขวดคู่ ซึ่งระบบทั้งสองมีหลักการทำงานดังนี้

ระบบ TIS แบบขวดสองชั้น

จากภาพผนวกที่ 2 มีความแตกต่างกันของระบบภาชนะเพาะเลี้ยง เนื่องจากภาพผนวกที่ 2ก เป็นการประยุกต์ใช้ชุดกรองจุลินทรีย์ดังนั้นระบบภาชนะจะประกอบด้วยภาชนะส่วนบนสำหรับเลี้ยงชิ้นส่วนพืช และ ภาชนะส่วนล่างสำหรับใส่สารละลายอาหารซึ่งสามารถถอดแยกออกจากกันได้ ส่วนภาพผนวกที่ 2ข เป็นระบบที่ได้รับการพัฒนาต่อจากชุดกรองดังกล่าวระบบภาชนะไม่สามารถถอดแยกออกจากกันได้ แต่มีการแบ่งพื้นที่ภายในภาชนะหลักด้วยถ้วยพลาสติกคว่ำที่มีก้านเป็นท่อลมพลาสติกและตะแกรงรองรับชิ้นส่วนพืชเมื่อประกอบเข้าด้วยกันภาชนะจะถูกแบ่งเป็น 2 ส่วนคือ ชั้นบนเป็นส่วนรองรับและเลี้ยงชิ้นส่วนพืช ส่วนชั้นล่างสำหรับใส่สารละลายอาหารเหลวเช่นเดียวกับในภาพแรก นอกจากนี้ทิศทางของลมเข้า-ออกก็มีความแตกต่างกันโดยชุดกรองจุลินทรีย์ในภาพผนวกที่ 2ก ลมอัดจะผ่านชุดกรองอากาศทางด้านข้างของส่วนใส่สารละลายอาหาร เมื่อระบบลมทำงาน อากาศจะเข้าไปแทนที่สารละลายอาหารเหลว ดันให้อาหารเหลวไหลขึ้นไปตามท่อยางซิลิโคนที่อยู่บริเวณกลางภาชนะเข้าท่วมชิ้นส่วนพืชที่อยู่ในภาชนะด้านบน ระหว่างที่ชิ้นส่วนจมอยู่ในสารละลายอาหารนั้น จะได้รับออกซิเจนจากฟองอากาศที่ขึ้นมาจากท่อเชื่อมที่อยู่กลางภาชนะและออกสู่บรรยากาศภายนอกโดยผ่านชุดกรองที่อยู่ด้านบน ส่วนภาพผนวกที่ 2ข ลมอัดจะผ่านชุดกรองอากาศทางด้านบนของภาชนะผ่านก้านท่อลมพลาสติกเข้าสู่ถ้วยซึ่งคว่ำอยู่ในสารละลายอาหาร เมื่อระบบลมทำงาน อากาศจะเข้าไปแทนที่สารละลายอาหารเหลว ดันให้อาหารเหลวไหลขึ้นไปตามช่องว่างด้านข้างระหว่างถ้วยคว่ำและภาชนะหลักเข้าท่วมชิ้นส่วนพืชที่อยู่ในภาชนะด้านบนระหว่างที่ชิ้นส่วนจมอยู่ในสารละลายอาหารนั้น จะได้รับออกซิเจนจากฟองอากาศที่ดันและจะกวนจากทางด้านข้าง และออกสู่บรรยากาศภายนอกโดยผ่านชุดกรองที่อยู่ด้านบน แม้ว่าภาชนะทั้งสองแบบจะมีความแตกต่างกันบ้างในรายละเอียดแต่มีหลักการทำงานเหมือนกันคือ

ระยะที่ 1 ช่วงเวลาหรือช่วงต่อระหว่างเวลาได้รับสารละลายอาหารครั้งล่าสุดก่อนที่จะได้รับสารละลายอาหารครั้งใหม่ ตามระยะเวลาและความถี่ที่ได้ตั้งไว้ด้วยเครื่องควบคุมเวลา

ระยะที่ 2 เมื่อครบเวลาที่ตั้งไว้เครื่องอัดอากาศจะทำงานปล่อยอากาศให้มาผ่านชุดกรองอากาศที่มีแผ่นกรองขนาด 0.2 ไมโครเมตรเพื่อกรองเชื้อจุลินทรีย์ จากนั้นอากาศที่สะอาดจะเข้าไปแทนที่อากาศภายในภาชนะส่วนที่ใส่สารละลายอาหารดันให้สารละลายอาหารที่อยู่ในภาชนะส่วนล่างไหลขึ้นไปยังภาชนะส่วนบนที่มีชิ้นส่วนพืชอยู่

ระยะที่ 3 สารละลายอาหารสัมผัสกับชิ้นส่วนพืช ระยะเวลานี้มีความยาวนานเท่าใดขึ้นกับชนิดของพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงและการศึกษาความเหมาะสม โดยระหว่างที่ชิ้นส่วนสัมผัสกับสารละลายอาหารชิ้นส่วนจะได้รับอากาศใหม่หรือออกซิเจนจากฟองอากาศ พร้อมทั้งดันอากาศเก่าและก๊าซที่สะสมอยู่ออกจากชุดเพาะเลี้ยง

ระยะที่ 4 เมื่อครบกำหนดเครื่องอัดอากาศหยุดทำงานสารละลายอาหารจะไหลลงสู่ภาชนะส่วนล่างโดยอาศัยแรงโน้มถ่วงของโลก

ระบบ TIS แบบขวดคู่

เนื่องจากระบบ TIS แบบขวดสองชั้นที่ผลิตออกมาจำหน่ายมีราคาแพง และมีส่วนประกอบขนาดเล็กเป็นจำนวนมากซึ่งอาจสูญหายได้ง่าย ดังนั้น จึงมีการประยุกต์ใช้วัสดุที่สามารถหาได้ง่ายในแต่ละประเทศที่นักวิจัยนั้นอาศัยอยู่มาพัฒนาเป็นระบบภาชนะโดยแยกภาชนะออกจากกันเป็น 2 ขวด คือ ขวดสำหรับเลี้ยงเนื้อเยื่อ และขวดสำหรับใส่สารละลายอาหาร แล้วจึงเชื่อมทั้ง 2 ขวดด้วยระบบท่อลม ซึ่งการทำเช่นนี้มีข้อดีคือความยืดหยุ่นในการใช้ขนาดของภาชนะซึ่งสามารถขยายขนาดของภาชนะได้จาก 0.25 – 10 ลิตร จากภาพผนวกที่ 3ก เป็นการประยุกต์ใช้ภาชนะเพาะเลี้ยงของระบบขวดแบบสองชั้นที่ถอดอุปกรณ์ภายในออกของ Teisson and Alvard (1999) ส่วนภาพผนวกที่ 3 ข เกิดจากการพัฒนาของ Escalona *et al.* (1999) ซึ่งได้นำขวดแก้วมาใช้เป็นขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และขวดใส่สารละลายอาหาร ซึ่งทั้งสองภาพมีความแตกต่างกันเล็กน้อยคือรูปร่างของภาชนะเท่านั้น ส่วนทิศทางเข้า-ออกของลมและหลักการทำงานเหมือนกัน แต่เนื่องจากภาชนะแยกออกจากกันท่อซิลิโคนที่เชื่อมทั้ง 2 ขวดจึงเป็นหัวใจสำคัญของระบบนี้ คือเมื่อให้แรงดันอากาศกับขวดที่บรรจุสารละลายอาหารเหลว อากาศจะเข้าไปแทนที่สารละลายอาหารเหลว ดันให้อาหารเหลวเคลื่อนที่ผ่านท่อเชื่อมเข้าท่วมชิ้นส่วนพืชที่อยู่ในขวดสำหรับเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ระยะเวลาที่ชิ้นส่วนได้รับอาหารคือช่วงเวลาที่ชิ้นส่วนพืชถูกท่วมด้วยสารละลายอาหารและได้รับออกซิเจนจากฟองอากาศที่มาตามท่อเชื่อม เมื่อถึงเวลาตามที่กำหนดไว้แรงดันอากาศจะถูกปล่อยมายังภาชนะที่มีอาหารเหลวท่วมชิ้นส่วนพืชอยู่ ซึ่งอาหารจะถูกอากาศดันให้ไหลกลับสู่ภาชนะเดิมเป็นวงจรเช่นนี้ตามที่ผู้เลี้ยงได้กำหนดไว้ โดยมีหลักการทำงานดังนี้

ระยะที่ 1 เมื่อครบเวลาที่ตั้งไว้วาล์วที่ทำงานด้วยไฟฟ้าตัวที่ 1 จะทำงานปล่อยอากาศให้มาผ่านชุดกรองอากาศที่มีแผ่นกรองขนาด 0.2 ไมโครเมตรเพื่อกรองเชื้อจุลินทรีย์ทางระบบท่อลมที่อยู่

ด้านบนของขวดใส่สารละลายอาหาร จากนั้นอากาศที่สะอาดจะเข้าไปแทนที่อากาศดันให้สารละลายอาหารไหลผ่านท่อยางซิลิโคนที่เชื่อมขวดทั้งสองเข้าสู่ขวดที่มีชิ้นส่วนพืช

ระยะที่ 2 สารละลายอาหารสัมผัสกับชิ้นส่วนพืช ระยะเวลานี้มีความยาวนานเท่าใดขึ้นกับชนิดของพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงและการศึกษาความเหมาะสม โดยระหว่างที่ชิ้นส่วนสัมผัสกับสารละลายอาหารชิ้นส่วนจะได้รับอากาศใหม่หรือออกซิเจนจากฟองอากาศที่มาตามท่อเชื่อมพร้อมทั้งดันอากาศเก่าและก๊าซที่สะสมอยู่ออกจากชุดเพาะเลี้ยงทางท่อลมที่อยู่ด้านบนของขวดเลี้ยงชิ้นส่วนพืช

ระยะที่ 3 เมื่อครบกำหนดวาล์วที่ทำงานด้วยไฟฟ้าตัวที่ 2 ทำงานปล่อยให้อากาศผ่านแผ่นกรองดันให้สารละลายอาหารที่ท่วมชิ้นส่วนพืชอยู่ไหลกลับไปยังขวดสำหรับใส่สารละลายอาหารเช่นเดิม

**การใช้ระบบ TIS เพื่อการขยายพันธุ์พืช**

การใช้ระบบ TIS ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในต่างประเทศได้มีการศึกษาและรายงานการศึกษาเกี่ยวกับพืชเกษตรและป่าไม้ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจกว่า 30 ฉบับเช่น การผลิตหัวพันธุ์ขนาดเล็กของมันฝรั่ง (*Solanum tuberosum*) (Jimenez *et al.*, 1999; Teisson and Alvard, 1999) มันเทศ (*Dioscorea* spp.) (Jova *et al.*, 2005) การเกิดยอดของกล้วย (*Musa acuminata*) (Alvard *et al.*, 1993; Roels *et al.*, 2005) กล้วยไม้ (*Potinera* spp.) (Tisserat and Vandercook, 1985) เบอร์รี่ (*Amelanchier grandiflora*) ( Kruege *ret al*., 1991) สน (*Pinus radiata*) Aitken-Christie and Jone (1987) สับปะรด (*Ananas comosus* (L.)) (Escalona *et al.*, 1999; González *et al.*, 2005) สตรอเบอร์รี่ (*Fragaria ananassa*) (Hanhineva *et al*., 2005) ยูคาลิปตัส (*Eucalyptus* spp.) (McAlister *et al.*, 2005) องุ่น (*Vitis vinifera*) (Harris and Mason, 1983) อ้อย (*Saccharum* spp.) (Lorenzo *et al.*, 1998; Lorenzo *et al.*, 2001) แอปเปิล (Zhu *et al.*, 2005) แอสเทอร์ (*Callistephus hortensis*) (Tisserat and Vandercook, 1985) calabash tree (*Crescetia cujete*) (Murch *et al*., 2004) cow tree (*MItragyna inermis*) (Tisserat and Vandercook, 1985) การเกิดโซมาติกเอ็มบริโอของกาแฟ (*Coffea arabica*) (Berthouly *et al*., 1999; Etienne, 1997; Etienne *et al.*, 1999) กล้วย (*Musa* spp.) (Escalant *et al*., 1994) ชา (*Camellia sinensis* (L.)) (Akula *et al.*, 2000) ยางพารา (*Hevea brasiliensis*) (Etienne *et al.*, 1997) ส้ม (*Citrus deliciosa*) (Cabassaon *et al.*, 1997) อินทผาลัม

(*Phenix dactylifera*) (Tisserat and Vandercook, 1985) การผลิตสารทุติยภูมิจากพืชของสับปะรด (*Ananas comosus* (L.)) (Pérez *et al.*, 2003; Pérez *et al.*, 2004) *Hypericum perforatum* L. cv. 'New Stem' (Zobayed *et al.*, 2004) พืชดัดแปลงพันธุกรรมของสับปะรด (*Ananas comosus* (L.)) (Espinosa *et al.*, 2002) และการศึกษาผลของกระบวนการทางสรีระต่อต้นพืช ยางพารา (*Hevea brasiliensis*) (Martre *et al.*, 2001) สับปะรด (*Ananas comosus* (L.)) (Escalona *et al.*, 2003) ดังรายละเอียดในตารางผนวกที่ 1

ส่วนประเทศไทยมีรายงานการศึกษาการขยายพันธุ์พืชด้วยระบบ TIS อยู่น้อยมาก จากการศึกษาของยุพา และวิเศษลักษณ์ (2543) ได้ทำการเพาะเลี้ยงยอดกล็อกซีเนียในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สภาพการเลี้ยงแตกต่างกัน 3 วิธีคือ การเลี้ยงในสภาพอาหารเหลวโดยใช้ระบบ TIS ให้อาหารเป็นเวลา 1 และ 15 นาที ทุก 12 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับการเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง ผลการศึกษาพบว่าสภาพการเลี้ยงที่สามารถเพิ่มปริมาณยอดได้สูงสุดที่เวลา 60 วันคือระบบ TIS โดยที่ชิ้นส่วนได้รับอาหารเป็นเวลา 15 นาทีทุก 12 ชั่วโมง วิธีนี้สามารถผลิตยอดได้มากกว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งในอัตราการผลิตยอดประมาณ 6 เท่า จึงสรุปว่าระบบ Temporary immersion เป็นระบบการเพาะเลี้ยงที่น่าสนใจนำมาใช้ศึกษาเพื่อลดต้นทุนการผลิตต้นพืชด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

ยุพาและคณะ (2545) ศึกษาการเพิ่มปริมาณยอดบุกไข่ด้วยระบบ TIS โดยนำชิ้นส่วนของบุกไข่ระยะเพิ่มยอดขนาดประมาณ 0.5 – 1 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยง โดยเปรียบเทียบ 4 วิธีการได้แก่ การเลี้ยงด้วยอาหารเหลวระบบ TIS (ชิ้นส่วนพืชได้รับอาหารทุก 4 ชั่วโมง นานครั้งละ 1 นาที) อาหารเหลวบนเครื่องเขย่า อาหารเหลวที่มีแผ่นพยุง (supporter) และอาหารกึ่งแข็งเป็นเวลา 25 วัน พบว่าชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIS อาหารเหลวที่มีแผ่นพยุง (supporter) และอาหารเหลวบนเครื่องเขย่า มีจำนวนยอดเฉลี่ยไม่แตกต่างกันคือ 7.61 7.56 และ 7.06 ยอดตามลำดับโดยยอดที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIS มีลักษณะสมบูรณ์ที่สุด ในขณะที่ชิ้นส่วนในอาหารเหลวบนเครื่องเขย่ามีลักษณะฉ่ำน้ำและมีตายอดจำนวนมากที่ไม่สามารถพัฒนาเป็นยอดได้ นอกจากนี้ยังพบว่าชิ้นส่วนยอดที่เลี้ยงในอาหารแข็งมีลักษณะสมบูรณ์แต่มีจำนวนต่ำที่สุดคือ 5.28 ยอด

นพมณี และคณะ (2548 a) ทำการศึกษาระยะเวลาและจำนวนครั้งในการได้รับอาหารของระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวแบบขวดแฝดที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้นจิ๋วของปทุมมาลูกผสม “CW 06” โดยกำหนดระยะเวลาและจำนวนครั้งในการได้รับอาหารแตกต่างกัน 4 แบบคือ

การได้รับอาหาร 1 นาที 2 ครั้งต่อวัน, 1 นาที 6 ครั้งต่อวัน, 15 นาที 2 ครั้งต่อวัน และ 15 นาที 6 ครั้งต่อวัน เปรียบเทียบกับอาหารแข็งและอาหารเหลวโดยทำทั้งสิ้น 2 ครั้ง เมื่อครบ 6 สัปดาห์พบว่า ในการทดลองครั้งที่ 1 การให้อาหาร 1 นาที 6 ครั้งต่อวัน จะให้ต้นต่อขวดสูงสุดคือ 1,516.67 ต้นต่อขวด ถัดมาได้แก่ การให้อาหาร 15 นาที 6 ครั้งต่อวัน คือ 792.67 ต้นต่อขวด แต่การให้อาหาร 1 นาที 2 ครั้งต่อวัน กลับให้จำนวนต้นต่อขวดต่ำ เนื่องจากระยะการได้รับอาหารของต้นจิ๋วปทุมมามีระยะห่างมากเกินไป ชิ้นส่วนพืชไม่สามารถทนต่อแรงกระแทก จึงช้ำและตายในที่สุด ต่อมาเมื่อต้นจิ๋วในการทดลองที่ 1 มาเป็นชิ้นส่วนตั้งต้นของการทดลองที่ 2 ผลการทดลองพบว่า การเลี้ยงต้นจิ๋วปทุมมาในไบโอรีแอคเตอร์ทุกทรีตเมนต์ให้จำนวนต้นสูงใกล้เคียงกัน คือ อยู่ระหว่าง 1,100-1,300 ต้นต่อภาชนะ

**ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**

ความถี่และช่วงเวลาในการให้สารละลายอาหาร

ประสิทธิภาพของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้วยระบบ TIS ขึ้นกับ ความถี่และช่วงเวลาในการให้สารละลายอาหาร เนื่องจากเป็นปัจจัยที่ควบคุมการได้รับออกซิเจน และอาหารจากการสัมผัสกันของชิ้นส่วนพืชกับสารละลายอาหาร ซึ่งที่ผ่านมาการผสมผสานกันลักษณะนี้ไม่เคยเกิดขึ้นกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยระบบอาหารเหลว

การเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIS พบว่าความถี่และช่วงเวลาในการให้สารละลายอาหารนั้นมีความสำคัญต่อระบบการเพาะเลี้ยงเพราะเป็นปัจจัยที่กำหนดการได้รับสารละลายอาหารและควบคุมไม่ให้ชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อพืชผิดปกติเมื่อเลี้ยงด้วยสารละลายอาหารต่อเนื่องกันเป็นเวลานาน เช่น การเกิดอาการฉ่ำน้ำของชิ้นส่วนพืช ที่ผ่านมาจนถึงปัจจุบันได้มีการนำเอาระบบนี้มาประยุกต์ใช้การขยายพันธุ์พืชชนิดต่างๆ โดยความถี่และช่วงเวลาที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงพืชชนิดต่างด้วยระบบ TIS นั้นแสดงไว้ในตารางผนวกที่ 1

Etienne *et al*. (1997) ได้ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อมันฝรั่ง กาแฟอาราบิกา (*C. arabica*) และยางพารา (*H. brasilliensis*) พบว่า การให้สารละลายอาหารด้วยความถี่ 6 ชั่วโมงต่อครั้ง โดยมีช่วงเวลาการให้สารละลายอาหารนานครั้งละ 1 ชั่วโมงมีความเหมาะสมต่อการชักนำการเกิดหัวของมันฝรั่ง ในขณะที่การให้สารละลายอาหารด้วยความถี่ 12 ชั่วโมงต่อครั้ง และมีช่วงเวลาการให้

อาหารสั้นๆ นานครั้งละ 1 นาทีเหมาะสมต่อการกระตุ้นการการเกิดและพัฒนาเป็นต้นอ่อนจากเซลล์ร่างกายของกาแฟ และยางพารา เช่นเดียวกันกับการศึกษาของ Harris and Mason (1983) ซึ่งพบว่าการใช้ความถี่และช่วงเวลาในการให้อาหารสั้นๆ (ให้สารละลายอาหารด้วยความถี่ทุก 30 วินาที นานครั้งละ 30 วินาที) เหมาะสมต่อการชักนำการเกิดยอดขององุ่น

Krueger *et al.* (1991) แสดงให้เห็นถึงความสำคัญของความถี่และช่วงเวลาในการให้สารละลายอาหารสำหรับการเพิ่มปริมาณยอดของเบอร์รี่โดยพบเมื่อให้สารละลายอาหารด้วยความถี่ 30 นาที่ ช่วงเวลาการให้อาหาร 5 นาทีต่อครั้งสามารถเพิ่มปริมาณของยอดได้มากแต่ยอดที่ได้มีอาการฉ่ำน้ำ ส่วนการให้สารละลายอาหารด้วยความถี่ 60 นาทีโดยยังใช้ช่วงเวลาการให้สารละลายอาหารเท่าเดิมไม่พบอาการนี้แต่มีการเพิ่มปริมาณของยอดน้อย ดังนั้นผู้วิจัยจึงเสนอว่าควรใช้ความถี่และช่วงเวลาในการให้อาหารครั้งแรกในในขั้นตอนการปริมาณยอด และใช้ความถี่และช่วงเวลาการให้สารละลายอาหารครั้งสุดท้ายเพื่อให้ได้ยอดมีคุณภาพเหมาะสมต่อการนำไปใชในขั้นตอนต่อไป เนื่องจากพบว่าหลังการปรับสภาพการเลี้ยงโดยใช้ความถี่และช่วงเวลาการให้สารละลายอาหารครั้งสุดท้ายยอดที่มีอาการฉ่ำน้ำจะกลับคืนสู่สภาพปกติซึ่งสามารถเจริญเติบโตได้ต่อไป

Preil and Hempfling (2002) พบว่ากล้วยไม้ *Phalaenopsis* ได้รับผลกระทบจากช่วงเวลาและความถี่ในการให้อาหารที่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตโดยพบว่าการให้อาหาร 8 ครั้งเป็นเวลา 10 นาทีต่อวันให้อัตราการเจริญเติบโตที่สูงที่สุด

ปริมาณของสารละลายอาหาร

การใช้ปริมาณอาหารต่อชุดหรือขวดเพาะเลี้ยงต้องสร้างประโยชน์ให้กับระบบ TIS ให้มากที่สุดโดยเฉพาะระบบ TIS แบบขวดสองชั้น และแบบขวดคู่เนื่องจากเป็นระบบที่ไม่มีการปรับสภาพความเป็นกรด-ด่างของสารละลายอาหาร

Lorenzo *et al*. (1998) พบว่าปริมาณอาหาร 50 มิลลิลิตรต่อขวดทำให้ยอดของอ้อย (*Saccharum* spp.) เพิ่มมากที่สุด เมื่อเลี้ยงด้วยระบบ TIS แบบขวดคู่ โดยเพิ่มจาก 8.3 ยอดเป็น 23.9 ยอดในเวลา 30 วัน และไม่กระทบต่อความยาวของยอด แต่การใช้ปริมาณอาหารมากกว่านี้ทำให้

การเพิ่มปริมาณยอดของอ้อยลดลง เพราะสารเคมีที่พืชสร้างขึ้นมาภายนอกเซลล์ซึ่งกระตุ้นการสร้างยอดถูกทำให้เจือจางเนื่องจากปริมาณอาหารที่ใช้มากเกินไป

Escalona *et al*. (1999) ได้ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสับปะรดด้วยระบบ TIS แบบขวดคู่ โดยใช้ปริมาณอาหาร 200 มิลลิลิตรต่อขวดสามารถเพิ่มปริมาณยอดได้มากที่สุด แต่การใช้ปริมาณอาหารที่มากกว่านี้ทำให้อัตราการเพิ่มปริมาณยอดลดลง

จำนวนยอดเริ่มต้น

McAlister *et al.* (2005) รายงานว่าการใช้จำนวนยอดเริ่มต้นมีผลต่อความถี่และช่วงเวลาในการให้สารละลายอาหารของการขยายพันธุ์ยูคาลิปตัสด้วยระบบ TIS แบบขวดสองชั้น โดยการใช้จำนวนยอดเริ่มต้น 50 ยอดให้อัตราการเพิ่มปริมาณยอดสูงที่สุดทุกความถี่ของการให้สารละลายอาหาร สำหรับการใช้จำนวนยอดเริ่มต้น 50 ยอดร่วมกับการให้สารละลายอาหารครั้งละ30 วินาทีด้วยความถี่ 10 และ 20 นาทีให้อัตราการเพิ่มปริมาณยอดมากกว่าการใช้จำนวนยอดเริ่มต้น 100 และ 150 ยอด ทั้งนี้เนื่องจากการใช้จำนวนยอดเริ่มต้นต่อขวดมากทำให้ความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารในสารละลายอาหารหมดลงด้วยอัตราที่เร็วกว่าการใช้จำนวนยอดเริ่มต้นน้อยกว่า

**เศรษฐศาสตร์การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**

การผลิตกล้ายูคาลิปตัส ซึ่งมีราคาต่อหน่วยต่ำสามารถนำวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ผลิตกล้าได้ เนื่องจากการขาดแคลนต้นกล้าพันธุ์ดีสำหรับใช้ในการปลูกสร้างสวนป่า ทำให้ภาคเอกชนที่มีความต้องการวัตถุดิบสำหรับอุตสาหกรรมเยื่อและกระดาษเป็นจำนวนมากให้การสนับสนุนการวิจัยและพัฒนาวิธีการขยายพันธุ์ยูคาลิปตัส ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แต่เนื่องจากต้นทุนการผลิตสูง จึงศึกษาพัฒนานำวิธีการนี้มาประยุกต์ใช้เพื่อการผลิตต้นแม่พันธุ์สำหรับปลูกลงแปลงผลิตยอดแล้วใช้วิธีการปักชำเพื่อการผลิตกล้าแทน จนกระทั่งปัจจุบันสามารถผลิตกล้าได้เป็นจำนวนมากและมีต้นทุนที่ต่ำลง แต่วิธีการดังกล่าวสามารถใช้ได้ดีกับบางสายต้นเท่านั้น เพราะยังมีสายต้นอีกมากที่มีปัญหาในการผลิตด้วยวิธีนี้ ซึ่งยังจำเป็นต้องผลิตจากห้องปฏิบัติการซึ่งต้นทุนการผลิตสูงและมีแนวโน้มจะเพิ่มมากขึ้นต่อไปในอนาคตอันใกล้ การจะตัดสินใจใช้เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยระบบใหม่เพื่อผลิตกล้าไม้ยูคาลิปตัสสำหรับการปลูกป่านั้น ก็เปรียบเสมือนการดำเนินธุรกิจอย่างหนึ่ง จำเป็นต้องรู้ค่าใช้จ่ายและต้นทุนในการผลิตเสียก่อน เพื่อให้การตัดสินใจว่าจะใช้

เทคโนโลยีใหม่เพื่อเสริมการผลิตขององค์กรด้วยการลงทุนติดตั้งระบบใหม่แล้วผลิตเอง หรือจะจ้างห้องปฏิบัติการที่มีอยู่แล้วผลิตให้ อย่างไหนจึงจะคุ้มค่ากว่ากัน เพื่อให้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีราคาถูกลง และคุ้มค่าต่อการลงทุน

ต้นทุนของการผลิตกล้าด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การผลิตโดยเน้นทางด้านการเกษตร อาจหมายถึง การเปลี่ยนแปลงรูปร่างปัจจัยการผลิต (input factor resource) ตั้งแต่ สองชนิดขึ้นไปให้เห็นผลผลิต (output factor resource) ปัจจัยการผลิตต่างๆ เหล่านี้อาจประกอบด้วย 4 อย่างได้แก่ ที่ดิน (พื้นที่และทรัพยากรธรรมชาติ, land), แรงงาน (labor), ทุน (capital) หรือการจัดการที่นำมาผสมผสานกันแล้วก่อให้เกิดผลผลิตขึ้น และผู้ประกอบการ (entrepreneur) (จรัญ, 2546)

จรัญ (2546) ได้นิยามต้นทุนการผลิต (cost of production) ว่าหมายถึงค่าชดเชยที่บรรดาเจ้าของปัจจัยการผลิตได้รับจากผู้ผลิตเป็นค่าชดเชยในการให้ใช้ปัจจัยการผลิตต่างๆ ที่ตนอำนวยให้ เนื่องจากต้นทุนการผลิตเกิดจากกระบวนการผลิต เพราะในการผลิตนั้นผู้ผลิตจำเป็นต้องใช้ปัจจัยการผลิตชนิดต่างๆ เพื่อนำมาผลิตสินค้าและบริการในรูปแบบใหม่ขึ้น หรือ การเปลี่ยนปัจจัยการผลิต (in put) ให้ออกมาเป็นผลผลิต (out put) รวมถึงสินค้าและบริการ แต่ปัจจัยการผลิตชนิดต่างๆ เหล่านั้นมีปริมาณจำกัด เมื่อผู้ผลิตต้องการได้ปัจจัยการผลิตชนิดต่างๆ เหล่านี้มาทำการผลิต จึงจำเป็นต้องจ่ายค่าตอบแทนให้แก่บรรดาเจ้าของปัจจัยการผลิตชนิดต่างๆ เหล่านั้น สามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่คือ

(1) ต้นทุนคงที่ (fixed cost) คือต้นทุนที่ไม่เปลี่ยนแปลงไม่ว่าจะผลิตผลผลิตเป็นปริมาณเท่าไรก็ตาม หรือแม้ว่าไม่ผลิตเลยก็ตามก็ต้องจ่ายเป็นปริมาณเท่าเดิมไม่เปลี่ยนแปลง ต้นทุนคงที่มักเกิดจากการให้ปัจจัยคงที่ ซึ่งเป็นปัจจัยการผลิตที่ปริมาณไม่เปลี่ยนแปลงในช่วงเวลาที่ทำการผลิต ต้นทุนคงที่จึงเป็นอิสระกับปริมาณผลผลิต ในการผลิตทางด้านการเกษตรและด้านป่าไม้นั้นต้นทุนคงที่เงินสดได้แก่ ค่าภาษีที่ดิน ค่าเช่าที่ดิน ค่าเบี้ยประกัน ค่าชุดเพาะเลี้ยง ค่าเครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ รวมทั้งค่าติดตั้ง เป็นต้น ส่วนต้นทุนคงที่แฝงหรือจำบังนั้นได้แก่ ค่าเสื่อมราคาของอุปกรณ์เครื่องมือ โรงเรือน ดอกเบี้ยของเงินลงทุน และค่าการจัดการ

(2) ต้นทุนผันแปร (variable cost) คือต้นทุนที่เปลี่ยนแปลงไปตามปริมาณผลผลิตที่ทำการผลิต ต้นทุนผันแปรเกิดจากปริมาณปัจจัยผันแปรที่ใช้ในช่วงเวลาที่ทำการผลิตคูณกับราคาปัจจัยผัน

แปรนั้น ถ้าผู้ผลิตทำการผลิตมากขึ้นจะทำให้เกิดการใช้ปัจจัยผันแปรมากขึ้นซึ่งเป็นผลให้ต้นทุนผันแปรมากขึ้นด้วย แต่ถ้าผู้ผลิตทำการผลิตน้อยลงก็จะทำให้เสียต้นทุนผันแปรน้อยลง เช่นในระหว่างการผลิตได้มีการใช้สารละลายธาตุอาหารและชิ้นส่วนยอดเปลี่ยนแปลงไปเท่านั้นต้นทุนผันแปรจึงเกิดจากสารละลายธาตุอาหารและชิ้นส่วนยอด

อภิชาติ และ พิมพ์ใจ (2535) ได้คำนวณต้นทุนกล้าไม้สักจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยทำการเลี้ยงกล้าสักจำนวน 50,000 กล้า แล้วทำการประเมินหาต้นทุนการผลิตพบว่า ต้นทุนการผลิตกล้าสักจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะมีราคาประมาณ 86 – 107 บาท ต่อ 100 ยอด ในปริมาณการผลิต 3,000,000 และ 1,000,000 กล้าต่อปี ตามลำดับ ซึ่งราคาการผลิตนี้ไม่รวมค่าปักชำให้แตกราก (rooting) และค่าย้ายปลูก (transplanting) ให้เป็นต้นกล้า

นพมณี และคณะ (2548 b) รายงานการวิเคราะห์ต้นทุนการพัฒนาการผลิตต้นปทุมมาด้วยการใช้ระบบ TIS แบบขวดคู่เปรียบเทียบกับระบบอาหารกึ่งแข็ง พบว่าแม้ว่าระบบ TIS แบบขวดคู่จะมีต้นทุนการติดตั้งอุปกรณ์ราคาแพง แต่จำนวนภาชนะที่ใช้ลดลงมาก จึงทำให้ต้นทุนต่ำกว่าระบบอาหารกึ่งแข็ง นอกจากนี้เมื่อคำนวณการผลิตต้นปทุมมา 1 ล้านต้นพบว่าสามารถร่นระยะเวลาการผลิตจาก 54 สัปดาห์ เป็น 38 สัปดาห์ ลดจำนวนคนงานในการตัดถ่ายเนื้อเยื่อจาก 46 เหลือ 7 คน และลดพื้นที่ห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อจาก 20 ห้องเหลือ 1 ห้อง

McAlister *et al.* (2005) ศึกษาการใช้ระบบ TIS แบบขวดสองชั้นเพื่อผลิตกล้ายูคาลิปตัสจำนวน 10,000 กล้าเปรียบเทียบกับระบบอาหารกึ่งแข็ง สรุปว่าค่าใช้จ่ายในกระบวนการผลิตของระบบอาหารกึ่งแข็งจะมีลำดับจากมากไปหาน้อยดังนี้คือ ค่าแรง ค่าวัตถุดิบ และต้นทุนคงที่หรือค่าลงทุน ส่วนระบบ TIS แบบขวดสองชั้นมีต้นทุนคงที่หรือค่าลงทุน มากที่สุดรองลงมาคือ ค่าวัตถุดิบ และค่าแรงตามลำดับ เมื่อนำมาเปรียบเทียบกันพบว่าระบบ TIS ทำให้ต้นทุนค่าวัตถุดิบ และค่าแรงลดลงมาก เนื่องจากในการเตรียมอาหารสังเคราะห์สามารถตัดวัตุตัวเติมซึ่งมีราคาแพงที่สุดในส่วนประกอบของอาหารคือ วุ้น ทำให้ราคาของอาหารลดลงและง่ายต่อการเตรียมเพราะไม่ต้องหลอมวุ้น การบรรจุอาหารต่อชุดเพราะเลี้ยงทำได้สะดวก ใช้ภาชนะน้อยกว่า เสียค่าใช้จ่ายในการนึ่งฆ่าเชื้อจุลินทรีย์น้อยกว่า ส่วนในขั้นตอนการตัดถ่ายเนื้อเยื่อลงอาหารใหม่ใช้แรงงานและเวลาในการทำงาน รวมถึงใช้พื้นที่ชั้นเพาะเลี้ยงน้อยลงด้วย และมีอัตราการเพิ่มปริมาณยอดมากกว่าในระบบอาหารกึ่งแข็ง นอกจากนี้ยังสามารถลดเวลาการเพาะเลี้ยงลงเท่ากับครึ่งหนึ่งของระบบอาหารกึ่งแข็งและต้นกล้าที่ได้มีคุณภาพที่ดีกว่า

# อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษาผลของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส โดยระบบ TIS แบบขวดคู่ที่พัฒนาขึ้นต่อการเพิ่มปริมาณยอดในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอด คุณภาพของกล้าจากการใช้ยอดที่เพิ่มปริมาณด้วยระบบนี้ และความคุ้มทุนในการผลิต ดำเนินการ โดยออกแบบและจัดสร้างระบบ TIS แบบขวดคู่ซึ่งประกอบด้วยอุปกรณ์ขวดเพาะเลี้ยงหรือระบบภาชนะ ระบบลม และระบบไฟฟ้าจากวัสดุที่หาได้ภายในประเทศ จากนั้นหาสภาพการเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณยอดด้วยการเลี้ยงชิ้นส่วนยอดยูคาลิปตัสในขวดเพาะเลี้ยงที่ได้จัดสร้างขึ้น โดยใช้ความถี่ในการให้สารละลายอาหาร (ทุกๆ 3, 4, 6, 8 และ 12 ชั่วโมง) ร่วมกับปริมาณอาหารต่อขวด (25, 50 และ 100 มิลลิลิตร) ต่างๆ กัน และ การใช้ช่วงเวลาในการให้สารละลายอาหาร (นาน 0.5, 1, 1.5, 2 และ 3 นาทีต่อครั้ง) ร่วมกับจำนวนยอดเริ่มต้นต่อขวด (25, 50 และ 100 ยอด) ในระดับต่างๆ กัน เพื่อติดตามการเพิ่มจำนวนของยอดและอัตราการผลิตยอดหลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อทราบสภาพการเลี้ยงในระบบ TIS แบบขวดคู่ที่เหมาะสมแล้วจึงทำการเพาะเลี้ยงยอดยูคาลิปตัสด้วยระบบที่แตกต่างกัน 4 ระบบเพื่อเปรียบเทียบการเพิ่มปริมาณยอดได้แก่ ระบบอาหารกึ่งแข็ง อาหารเหลว TIS แบบขวดสองชั้น และ TIS แบบขวดคู่ที่พัฒนาขึ้น และสุดท้ายทำการประเมินความคุ้มทุนในการผลิตกล้าจากยอดที่ใช้ระบบที่แตกต่างกันในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณ ซึ่งรายละเอียดของขั้นตอนต่างๆ มีดังนี้

**การเตรียมยอดยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสสำหรับใช้ในการทดลอง**

เริ่มจากการคัดเลือกแม่ไม้ และการเก็บตัวอย่างจากแปลงปลูกที่จังหวัดกำแพงเพชร โดยคัดเลือกไม้ยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซิสที่มีลักษณะดี มีลำต้นเปลาตรง เติบโตดี และให้เนื้อไม้มาก แล้วเก็บตัวอย่างกิ่งที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5-3 นิ้ว ตัดเป็นท่อนๆ ยาวประมาณ 30-50 เซนติเมตร นำมาปักชำในเรือนอนุบาล ให้น้ำ เช้า-เย็น จนกระทั่งมีตาแตกออกมาจากกิ่งเป็นยอดเล็กๆจำนวนมาก (ภาพที่ 1) เมื่อยอดที่แตกออกมายาวประมาณ 5-10 เซนติเมตร ตัดยอดที่ได้มาทำความสะอาดโดยฉีดด้วย 70% ethanol แล้วนำไปฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 1 ด้วย 15 % Clorox เติมน้ำยาล้างจานซันไลต์ 1-2 หยด แช่เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆ ละ 1 นาที จากนั้นนำไปฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 2 โดยใช้10 % Clorox แช่เป็นเวลา 15 นาที และดำเนินการซ้ำเช่นเดียวกับการฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 1 จากนั้นนำยอดที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อมาเลี้ยงบนอาหารสูตรมาตรฐานเพิ่มปริมาณยอดสำหรับยูคาลิปตัส (MS6) (Siripatanadilok and Thaiutsa, 1990) ที่

ประกอบด้วยธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรอง สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติมวิตามิน สารควบคุมการเจริญเติบโตและสารเติมอื่นๆ ดังแสดงในตารางผนวกที่ 2 นำไปวางในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และทำการตัดถ่ายเนื้อเยื่อลงบนอาหารใหม่ภายในตู้ปลอดเชื้อทุกๆ 30 วัน เพื่อให้ชิ้นส่วนมีการเติบโตและพัฒนามีจำนวนเพียงพอเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป ก่อนนำยอดไปใช้ในการทดลองทำการเปลี่ยนอาหารใหม่โดยย้ายยอดที่ได้นำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อลดอิทธิพลของ BA เป็นเวลา 20 วันจึงนำไปใช้ในการทดลองในขั้นต่อๆ ไป

**ภาพที่ 1** ยอดยูคาลิปตัสที่แตกออกมาจากกิ่งที่นำมาปักชำในเรือนอนุบาล พร้อมที่จะนำไปใช้ในขั้นตอนการฟอกฆ่าเชื้อ

**การเตรียมอาหาร**

อาหารที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ใช้อาหารสูตรมาตรฐานสำหรับยูคาลิปตัสของ Siripatanadilok and Thaiutsa (1990) ประกอบด้วยธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองตามสูตร MS น้ำตาลซูโคส 30 กรัมต่อลิตร ในกรณีของระบบอาหารกึ่งแข็งใช้วุ้น 6 กรัมต่อลิตร ซึ่งอาหารในการเลี้ยงยูคาลิปตัสสามารถแบ่งชนิดออกเป็น 3 ชนิดคือ อาหารเป็นอาหารเพิ่มปริมาณยอด ซึ่งเติมฮอร์โมนประเภทไซโตไคนิน (Cytokinin) ได้แก่ kinetin, benzylaminopurine (BAP) 0.2 และ 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ อาหารยืดยอดดัดแปลงโดยเติม $GA_3$ และผงถ่าน (activated charcoal) 1 กรัมต่อลิตร และอาหารชักนำการออกรากทำการลดความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองตามสูตร MS ลง 1/6 และใช้ napthaleneacetic acid (NAA) 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางผนวกที่ 2 ทำการเตรียมโดยปรับค่า pH เป็น 5.6 ก่อนนำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที โดยใช้ปริมาณอาหารในการเพิ่มปริมาณยอดในระบบการเพาะเลี้ยงต่าง ๆ ดังนี้

- ระบบอาหารกึ่งแข็งใส่อาหารปริมาตร 30 มิลลิลิตรลงในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร

- ระบบอาหารเหลวใส่อาหารปริมาตร 20 มิลลิลิตรลงในขวดชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร

- ระบบ TIS แบบขวดสองชั้นใส่อาหารลงในภาชนะส่วนล่างสำหรับใส่สารละลายอาหารปริมาตร 50 มิลลิลิตร

- ระบบ TIS แบบขวดคู่ใส่อาหารปริมาตร 25, 50 และ 100 มิลลิลิตร ลงในขวดสำหรับใส่อาหารคู่ขนาด 1,000 มิลลิลิตร

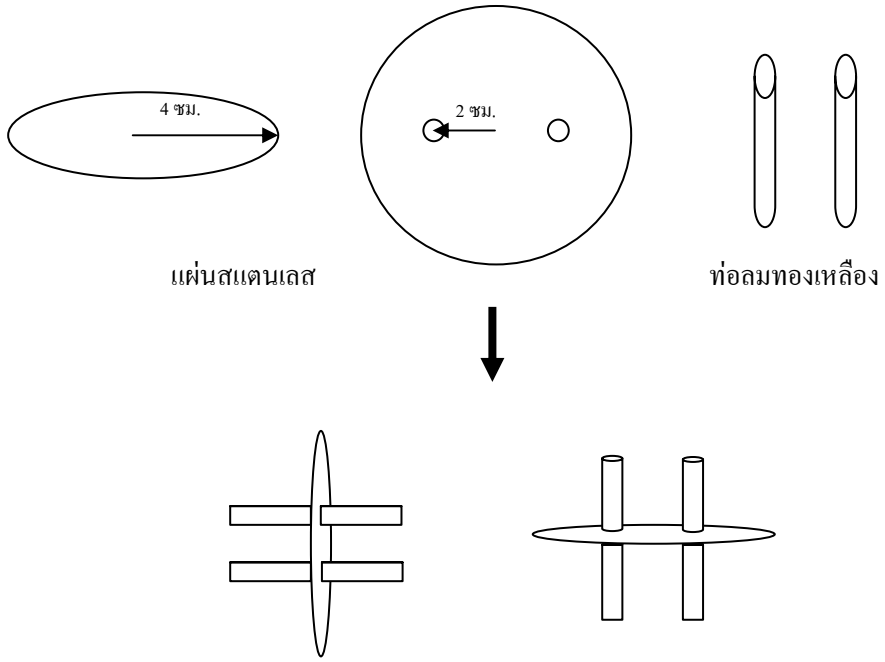
สำหรับขั้นตอนการการยืดยอด และชักนำการออกรากทำการบรรจุอาหารปริมาตร 30 มิลลิลิตรลงในขวดแก้วขนาด 250 มิลลิลิตร

นำขวดทั้งระบบอาหารกึ่งแข็ง อาหารเหลว TIS แบบขวดสองชั้น และTIS แบบขวดคู่ไปเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงที่มีความเข้มแสงเฉลี่ย 3,000 ลักซ์ในสภาพได้รับแสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมง ควบคุมอุณหภูมิ 25$\pm$2 องศาเซลเซียส

**การสร้างและติดตั้งอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชด้วยระบบ TIS แบบขวดคู่**

ระบบภาชนะ

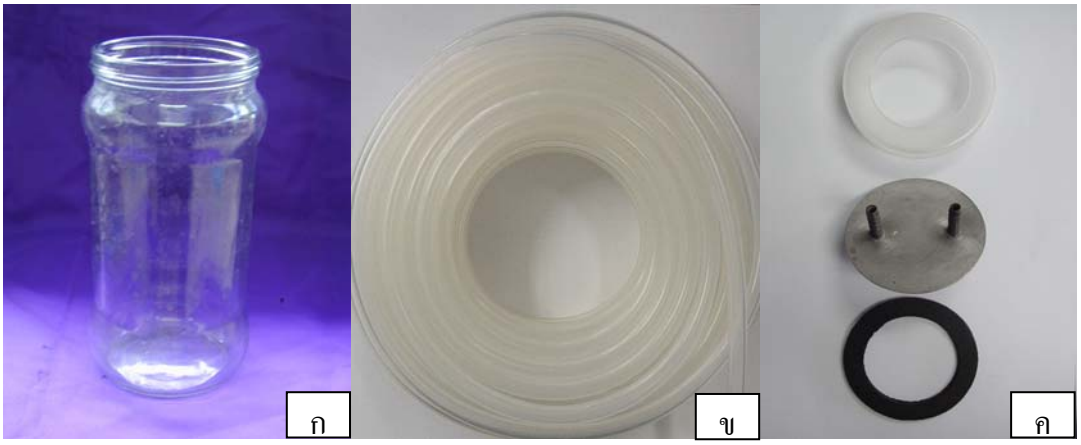
การออกแบบส่วนฝาปิดและท่อเชื่อมได้เลือกสเตนเลสหนา 0.5 มิลลิเมตรเป็นวัสดุในการสร้างโดยตัดสเตนเลสออกเป็นแผ่นขนาด 10× 10 เซนติเมตร จากนั้นนำไปกลึงเป็นแผ่นกลมมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 เซนติเมตร ทำการเจาะรู 2 รูโดยมีระยะห่างจากจุดศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร จากนั้นนำท่อลม 2 ท่อซึ่งทำด้วยทองเหลืองมาประกอบเข้าด้วยกันโดยบัดกรีด้วยตะกั่วจากนั้นนำมาขัดให้เรียบและตรวจสอบความเรียบร้อยของฝาปิดและท่อเชื่อมอีกครั้งหนึ่งดังภาพที่ 2




**ภาพที่ 2** แบบของส่วนฝาปิดและท่อเชื่อม

ตัวภาชนะเลือกใช้ขวดแก้วปริมาตร 1 ลิตรนำมาใช้เป็นระบบภาชนะ (ภาพที่ 3ก) ส่วนวัสดุสำหรับเชื่อมขวดใส่ชิ้นส่วนพืชและขวดใส่สารละลายอาหารเลือกใช้สายยางซิลิโคนขนาด 8 มิลลิเมตร (ภาพที่ 3ข) ซึ่งมีขนาดเท่ากับท่อลมทองเหลือง ฝาครอบใช้ฝาทนความร้อนซึ่งซื้อพร้อมขวดแก้วมาเจาะเอาเนื้อฝาออกโดยมีรัศมีจากศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร การป้องกันลมรั่วออกจากระบบภาชนะจะใช้แผ่นยางทนความร้อนตัดเป็นวงกลมกำหนดให้รัศมีวงนอกเท่ากับ 4 เซนติเมตร

รัศมีวงในเท่ากับ 2.5 เซนติเมตรใช้เป็นประเก็นยางสำหรับรองส่วนฝาปิดและท่อเชื่อมกับปากของขวดแก้ว (ภาพที่ 3ค)




**ภาพที่ 3** อุปกรณ์สำหรับจัดสร้างระบบภาชนะเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIS แบบขวดคู่

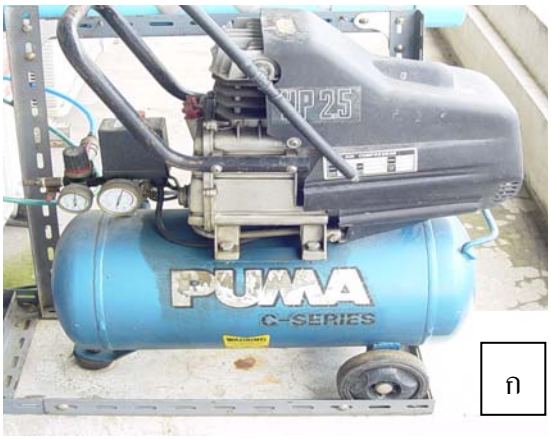
ก. ขวดแก้วปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

ข. สายยางซิลิโคนขนาด 8 มิลลิเมตร

ค. ฝาครอบ ฝาปิดและท่อลม และประเก็นยาง (จากบนลงล่าง)

ระบบลม

ใช้ปั๊มลมไฟฟ้า 220 โวลท์ ขนาด 2.5 แรงม้ามีถังเก็บลมขนาด 25 ลิตร ซึ่งสามารถปล่อยลมอัดไม่ต่ำกว่า 0.2 บาร์ (ภาพที่ 4 ก) เครื่องกรองลมอัดและควบคุมลมอัด ซึ่งได้รวมวาล์วลดความดันและเครื่องกรองลมไว้ด้วยกันเพื่อเป็นเครื่องควบคุมความดัน สำหรับเครื่องกรองมีส่วนกรองน้ำและน้ำมันที่ปนมากับลมอัด มีขนาดรูพรุน 0.01 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4 ข) พร้อมทั้งจัดซื้อสายลมชนิดไนลอนขนาด 8 มิลลิเมตรเพื่อนำมาใช้เป็นท่อนำลมอัดเข้าสู่ระบบ (ภาพที่ 4 ค) โดยต่อท่อลมเข้ากับอุปกรณ์ต่างๆด้วยหัวต่อและข้อต่อลมทั้งชนิดต่อตรง ข้องอ 90 องศา และท่อแยกสามทางรูปตัว T (ภาพที่ 4 ง) นำมาติดตั้งและประกอบเป็นระบบลมเพื่อจ่ายลมดันให้อาหารไปเลี้ยงชิ้นส่วนพืชและดันอาหารกลับภาชนะเดิม




ก

ข

ค

ง

**ภาพที่ 4** อุปกรณ์สำหรับจัดสร้างระบบลม

ก. ปั๊มลมไฟฟ้า

ข. เครื่องกรองลมอัดและควบคุมลมอัด

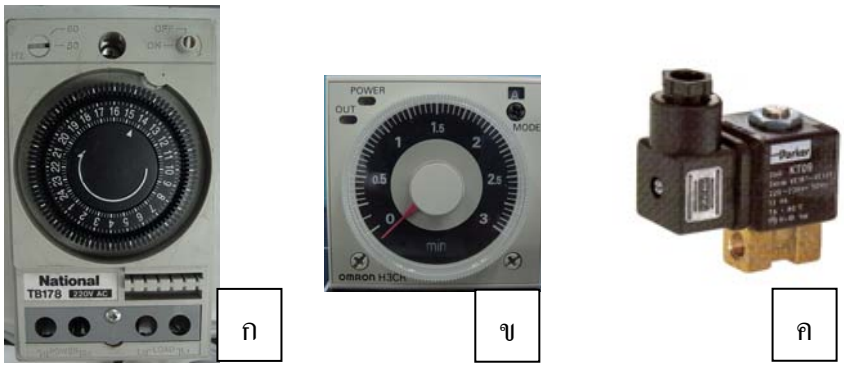
ค. สายลม

ง. หัวต่อและข้อต่อลม

ระบบไฟฟ้า

จัดซื้อเครื่องควบคุมเวลาทั้งชนิดหยาบ (ภาพที่ 5 ก) ซึ่งสามารถตั้งเวลาปิด-เปิดได้ครั้งละ 15 นาที และชนิดละเอียด (ภาพที่ 5 ข) สามารถตั้งเวลาได้ครั้งละ 1 วินาที มีไฟบอกสถานะการทำงาน แผงหน้าปัดสามารถตั้งเวลาและเปลี่ยนหน่วยเวลาได้ในหน่วยของชั่วโมง นาที และวินาที เพื่อใช้ควบคุมความถี่และช่วงเวลาในการให้สารละลายอาหารกับชิ้นส่วนพืช และโซลินอยด์วาล์ว (ภาพที่ 5 ค) ควบคุมการทำงานด้วยไฟฟ้า หรือโซลินอยด์วาล์วซึ่งใช้กับไฟฟ้ากระแสสลับขนาด 220 โวลท์ เพื่อควบคุมการเปิด-ปิดลมที่จะไหลเข้าสู่ระบบ โดยทำการต่อระบบไฟฟ้าเข้าเครื่อง

ควบคุมเวลาชนิดหยาบจากนั้นต่อไฟออกมาสู่เครื่องควบคุมเวลาชนิดละเอียดซึ่งจะทำการเดินสายไฟฟ้าเพื่อใช้ควบคุมการเปิดปิดโซลินอยด์วาล์วอีกครั้งหนึ่ง




ก ข ค

**ภาพที่ 5** อุปกรณ์สำหรับจัดสร้างระบบไฟฟ้า

ก. เครื่องควบคุมเวลาชนิดหยาบ

ข. เครื่องควบคุมเวลาชนิดละเอียด

ค. โซลินอยด์วาล์ว

**การเปรียบเทียบการเพิ่มปริมาณการผลิตยอดยูคาลิปตัสในระยะเพิ่มยอดของระบบ TIS แบบขวดคู่ที่พัฒนาขึ้นกับการเลี้ยงด้วยระบบอาหารกึ่งแข็ง อาหารเหลว และระบบ TIS แบบขวดสองชั้น**

การทดลองที่ 1 การศึกษาความถี่ในการให้อาหารและปริมาณอาหารต่อชุดเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณยอดยูคาลิปตัสของระบบ TIS แบบขวดคู่ที่พัฒนาขึ้น

วางแผนการทดลองแบบ split plot in RCBD ใช้อาหารสูตรมาตรฐานสำหรับยูคาลิปตัสสูตรเพิ่มปริมาณยอด (MS6) ของ Siripatanadilok and Thaiutsa (1990)โดยนำชิ้นส่วนยอดของยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส ลงเลี้ยงในชุดเพาะเลี้ยง ให้มีความถี่ในการให้อาหาร หรือช่วงเวลาที่ต้นพืชไม่สัมผัสกับอาหาร เป็นหน่วยทดลองหลัก (main plot) และปริมาณของสารละลายอาหารเป็นหน่วยทดลองรอง (sub plot) โดยใช้ความถี่ในการให้อาหาร 5 ระดับคือให้อาหารทุก 3, 4, 6, 8 และ 12 ชั่วโมงโดยมีช่วงเวลาในการให้สารละลายอาหารเท่ากันคือ 30 วินาที และใช้ปริมาณของสารละลายอาหารที่ให้แตกต่างกันคือ 25, 50 และ 100 มิลลิลิตรต่อชุดเพาะเลี้ยง วางแผนแบบสุ่มในบล็อคสมบูรณ์ที่มี 4 บล็อค โดยในการทดลองจะใช้ชิ้นส่วนยอด 50 ยอดต่อ 1 ชุดเพาะเลี้ยงเป็น

1 ซ้ำ ดังแสดงในแผนผังการทดลอง (ภาพผนวกที่ 4) ทำการเปลี่ยนอาหารเมื่อครบ 2 สัปดาห์ และบันทึกจำนวนยอดในสัปดาห์ที่ 2 และ 4

นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวน และตรวจสอบความแตกต่างโดยหาค่า Analysis of variance หากค่า F-value ของข้อมูลแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นำไปตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์ โดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ 99 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

การทดลองที่ 2 การศึกษาช่วงเวลาการให้อาหารและจำนวนยอดเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณยอดยูคาลิปตัสของระบบ TIS แบบขวดคู่ที่พัฒนาขึ้น

วางแผนการทดลองแบบ split plot de in RCBD ใช้อาหารสูตรมาตรฐานสำหรับยูคาลิปตัส สูตรเพิ่มปริมาณยอด (MS6) ของ Siripatanadilok and Thaiutsa (1990)โดยนำชิ้นส่วนยอดของยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสลงเลี้ยงในชุดเพาะเลี้ยง ให้มีช่วงเวลาการให้อาหารหรือช่วงเวลาที่ต้นพืชสัมผัสกับอาหาร เป็นหน่วยทดลองหลัก (main plot) และจำนวนยอดเริ่มต้นเป็นหน่วยทดลองรอง (sub plot) มีช่วงเวลาการให้อาหารนานครั้งละ 0.5, 1, 1.5, 2 และ 3 นาที ใช้จำนวนยอดเริ่มต้นแตกต่างกันคือ 25, 50 และ 100 ยอดต่อชุดเพาะเลี้ยง ในการทดลองนี้ใช้ความถี่ของการให้สารละลายอาหารและปริมาณอาหารที่เหมาะสมซึ่งได้จากการทดลองที่ 1 และใช้ชุดเพาะเลี้ยง 1 ชุดเพาะเลี้ยงเป็น 1 ซ้ำ ดังแสดงในแผนผังการทดลอง (ภาพผนวกที่ 5) บันทึก จำนวนยอดและลักษณะของยอดในสัปดาห์ที่ 2 และ 4 แล้วทำการคำนวณจำนวนยอดที่ได้เป็นอัตราการผลิตยอดหรือสัมประสิทธิ์ของการเพิ่มปริมาณยอด เนื่องจากระบบการเลี้ยงมีความแตกต่างกันคือใช้จำนวนยอดเริ่มต้นต่างกันดังนี้

อัตราการผลิตยอดหรือสัมประสิทธิ์ของการเพิ่มปริมาณยอด

$$K = \frac{N - n}{n}$$

เมื่อ N คือ จำนวนยอด ณ เวลา $T_1$

n คือ จำนวนยอด ณ เวลา $T_0$

K คือ อัตราการผลิตยอดหรือสัมประสิทธิ์ของการเพิ่มปริมาณยอด

นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวน และตรวจสอบความแตกต่างโดยหาค่า Analysis of variance หากค่า F-value ของข้อมูลแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นำไปตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์ โดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ 99 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

การทดลองที่ 3 การเปรียบเทียบการเพิ่มปริมาณยอดของยูคาลิปตัสที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบการเลี้ยงที่ต่างกัน

เมื่อทราบปัจจัยที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIS แบบขวดคู่ที่พัฒนาขึ้นจากการทดลองที่ 1 และ 2 แล้วจึงทำการศึกษาเปรียบเทียบกับการเพิ่มปริมาณยอดด้วยระบบการเลี้ยงซึ่งใช้อาหารสูตรมาตรฐานสำหรับยูคาลิปตัสสูตรเพิ่มปริมาณยอด (MS6) ของ Siripatanadilok and Thaiutsa (1990) ระหว่างระบบอาหารกึ่งแข็ง ระบบอาหารเหลว ระบบ TIS แบบขวดสองชั้น และระบบ TIS แบบขวดคู่ที่พัฒนาขึ้นดังนี้

ระบบอาหารกึ่งแข็งเลี้ยงยอดยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส โดยใช้ขวดขนาด 250 มิลลิลิตร บรรจุอาหารขวดละ 30 มิลลิลิตรใช้จำนวนยอดเริ่มต้น 10 ยอดต่อขวด

ระบบอาหารเหลวเลี้ยงยอดยูคาลิปตัส โดยใช้ขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ใช้สารละลายอาหาร 20 มิลลิลิตร จำนวนยอดเริ่มต้น 50 ยอดต่อขวด นำไปวางบนเครื่องเขย่า และทำการเปลี่ยนสารละลายอาหารใหม่ทุกๆ 1 สัปดาห์จนครบ 4 สัปดาห์

ระบบ TIS แบบขวดสองชั้นใช้ความถี่ในการให้อาหาร (ช่วงเวลาที่ต้นพืชไม่สัมผัสกับอาหาร) ทุกๆ 10 นาที ช่วงเวลาการให้อาหาร (ช่วงเวลาที่ต้นพืชสัมผัสกับอาหาร) เป็นเวลา 30 วินาที และใช้จำนวนยอดเริ่มต้นจำนวน 50 ยอดต่อชุดเพาะเลี้ยง (McAlister *et al.*, 2005) ปริมาณสารละลายอาหาร 50 มิลลิลิตรทำการเปลี่ยนสารละลายอาหารใหม่ทุกๆ 2 สัปดาห์ จนครบ 4 สัปดาห์

ระบบ TIS แบบขวดคู่ที่พัฒนาขึ้นใช้ความถี่ในการให้อาหาร ปริมาณอาหารต่อขวด ความถี่ในการให้สารละลายอาหารและจำนวนยอดเริ่มต้นที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 1 และ 2 ทำการเปลี่ยนสารละลายอาหารใหม่ทุกๆ 2 สัปดาห์ จนครบ 4 สัปดาห์

วางแผนการทดลองแบบ CRD กำหนดให้ภาชนะเพาะเลี้ยงในแต่ละระบบการเพาะเลี้ยงจำนวน 1 ภาชนะเพาะเลี้ยงหรือขวดเป็น 1 ซ้ำ ระบบการเพาะเลี้ยง (ทรีทเมนต์) ละ 10 ซ้ำ บันทึกจำนวนยอดเมื่อครบ 2 สัปดาห์และ 4 สัปดาห์ แต่เนื่องจากระบบการเลี้ยงมีความแตกต่างกันทั้งพื้นที่ของภาชนะเพาะเลี้ยงและจำนวนยอดเริ่มต้นจึงทำการคำนวณจำนวนยอดที่ได้เป็นอัตราการผลิตยอดหรือสัมประสิทธิ์ของการเพิ่มปริมาณยอด และความหนาแน่นของยอดต่อพื้นที่ภาชนะเพาะเลี้ยงดังนี้

$$D = \frac{A}{n}$$

เมื่อ A คือ พื้นที่ของภาชนะเพาะเลี้ยง (ซม.$^2$)

n คือ จำนวนยอด ณ เวลา $T_n$

D คือ ความหนาแน่นของยอดต่อพื้นที่ภาชนะเพาะเลี้ยง (ยอด/ซม.$^2$)

นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวน และตรวจสอบความแตกต่างโดยหาค่า Analysis of variance หากค่า F-value ของข้อมูลแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นำไปตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์ โดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ 99 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

**การเปรียบเทียบการชักนำการออกรากของยอดยูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบเพาะเลี้ยงต่างกัน**

ขั้นตอนหลังจากการเพิ่มปริมาณยอดแล้ว ต้องทำการยืดยอด ก่อนนำไปชักนำให้ออกราก ในการทดลองครั้งนี้จึงนำยอดที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยการเลี้ยงในระบบที่ต่างกันทั้ง 4 ระบบ มากระตุ้นให้เกิดการยืดยาวของยอดโดยการเปลี่ยนอาหารขวดใหม่บนอาหารกึ่งแข็งสูตรยืดยอด เพื่อให้ยอดมีการเติบโตเป็นปกติ และความสม่ำเสมอของยอดจะทำให้ดำเนินงานได้ง่าย จากนั้นนำยอดที่ได้มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นของปริมาณธาตุอาหารลง 1/6 และเติม NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (Siripatanadilok and Thaiutsa, 1990) วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยใช้ชิ้นส่วนยอดการเพิ่มปริมาณด้วยระบบการเพาะเลี้ยงต่างกันจำนวน 10 ยอดต่อ

ขวด เป็น 1 ซ้ำ ทรีทเมนต์ ละ 10 ซ้ำ บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดราก และจำนวนรากต่อต้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน

นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวน และตรวจสอบความแตกต่างโดยหาค่า Analysis of variance หากค่า F-value ของข้อมูลชุดใด แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นำไปตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์ โดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ 99 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

**การเปรียบเทียบการย้ายชำต้นกล้าที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบเพาะเลี้ยงต่างกัน**

นำต้นกล้าที่ออกรากที่ได้จากการเพิ่มปริมาณยอดด้วยระบบอาหารกึ่งแข็ง ระบบอาหารเหลว ระบบ TIS แบบขวดสองชั้น และระบบ TIS แบบขวดคู่ที่พัฒนาขึ้น ออกปลูกเพื่อศึกษาความสามารถในการปรับสภาพของกล้า ตลอดจนลักษณะการเจริญเติบโตของกล้าที่ผลิตได้ด้วยวิธีการต่าง โดยใช้แผนการทดลองแบบ CRD ใช้กล้าไม้จากแต่ละระบบ 1 กล้าต่อ 1 ซ้ำจำนวน 90 ซ้ำโดยนำขวดที่มีต้นกล้ายูคาลิปตัส ที่มีรากสมบูรณ์ มาทำการล้างวุ้นที่รากออกให้หมด แช่ในน้ำยาป้องกันเชื้อราประมาณ 2 นาทีและใช้วัสดุปลูกชื่อการค้า ดินทอปเทนผสมกับถ่านแกลบในอัตรา 1 : 1 (V/V) ปลูกลงในถาดปลูกจากนั้นนำไปอนุบาลในโรงเรือนที่มีการให้น้ำแบบพ่นหมอก ทุก 1 ชั่วโมงครั้งละ 2 นาที เมื่อกล้าไม้ปรับตัวได้ดีทำการย้ายปลูกลงในถุงเพาะชำจัดเรียงกล้าไม้ลงในตะกร้าพลาสติกจำนวน 30 ต้นต่อตะกร้า และ ทำการบำรุงรักษากล้าไม้ตามปกติบันทึก

อัตราการรอดตายของกล้าไม้ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณยอดด้วยระบบเพาะเลี้ยงต่าง ๆ กัน เมื่ออายุได้ 1 และ 2 เดือน วัดความสูงของต้นกล้าโดยสุ่มกล้าไม้ 10 ต้นต่อ 1 ตะกร้า หรือ 30 ต้นต่อระบบ เมื่อต้นกล้ามีอายุได้ 1 และ 2 เดือนตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดการทดลองในเดือนที่ 2 ทำการศึกษาหามวลชีวภาพ (biomass) และอัตราส่วนระหว่างส่วนยอดต่อส่วนราก (shoot/root ratio) ของกล้าไม้ตัวอย่าง โดยสุ่มกล้าไม้ของแต่ละทรีทเมนต์ จำนวน 15 กล้านำมาหาน้ำหนักแห้งของส่วนต่างๆโดยนำต้นกล้ามาล้างรากและตัดแยกส่วนของต้น กิ่งและใบออกจากส่วนที่เป็นรากของกล้าไม้แต่ละต้นนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วชั่งน้ำหนักแห้ง ของแต่ละส่วน เพื่อศึกษาหาอัตราส่วนของยอดต่อส่วนราก (shoot/root ratio) โดยใช้สมการดังนี้

$$\text{shoot/root ratio} = \frac{\text{น้ำหนักแห้งของส่วนยอด}}{\text{น้ำหนักแห้งของส่วนราก}}$$

นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวน และตรวจสอบความแตกต่างโดยหาค่า Analysis of variance หากค่า F-value ของข้อมูลชุดใด แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นำไปตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์ โดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

**การวิเคราะห์ทางเศรษฐศาสตร์**

การศึกษานี้เป็นการศึกษาเชิงพรรณนาโดยการเก็บรวบรวมข้อมูลต้นทุนในการประกอบและติดตั้งชุดเพาะเลี้ยงพร้อมระบบที่จำเป็นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยระบบ TIS แบบขวดคู่ และต้นทุน-ผลตอบแทนจากผลผลิตสุดท้ายที่จะได้รับจากการการใช้ระบบการเพาะเลี้ยงเพื่อการเพิ่มปริมาณยอดแตกต่างกัน 4 ระบบ ในพื้นที่ 1 ตารางเมตรในระยะเวลา 1 เดือน เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการนำไปผลิตกล้ายูคาลิปตัส 1 รอบการผลิต แล้วนำไปคำนวณเป็นจำนวนกล้าที่ผลิตได้ใน 12 รอบการผลิต ได้แก่การผลิตกล้าโดยการเพิ่มปริมาณด้วยระบบอาหารกึ่งแข็ง ระบบอาหารเหลว ระบบ TIS แบบขวดสองชั้น และ ระบบ TIS แบบขวดคู่ที่พัฒนาขึ้น ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยเลือกใช้สูตรอาหารของ Siripatanadilok and Thaiutsa (1990) ซึ่งเป็นสูตรอาหารพื้นฐานที่ใช้ในการขยายพันธุ์ยูคาลิปตัส อย่างกว้างขวางในปัจจุบัน

ต้นทุนการสร้างและติดตั้งชุดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้วยระบบ TIS แบบขวดคู่ที่พัฒนาขึ้น

ทำการคิดต้นทุนการประกอบและติดตั้งชุดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้วยระบบ TIS แบบขวดคู่ โดยเก็บข้อมูลราคาวัสดุ อุปกรณ์ที่มีการจัดซื้อ และจ้างจริงจากหลักฐานใบกำกับภาษีและใบสำคัญรับเงิน ของระบบภาชนะ ระบบลม และระบบไฟฟ้ารวมเป็นค่าใช้จ่ายจริงแล้วคำนวณเป็นค่าเสื่อมราคาของชุดเพาะเลี้ยงต่อเดือนเพื่อนำไปใช้ในการคิดต้นทุนใน 1 รอบการผลิตต่อไปดังนี้

ค่าเสื่อมราคาของชุดเพาะเลี้ยง = (P-S)/L

โดยที่

P = ราคาแรกซื้อชุดเพาะเลี้ยง หรืออุปกรณ์ (บาท)

S = ราคาเมื่อชุดเพาะเลี้ยงหมดอายุ (บาท)

L = อายุการใช้งานของชุดเพาะเลี้ยง

ต้นทุนและผลตอบแทนจากการใช้ระบบการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกันในขั้นตอนการเพิ่มยอดเพื่อการผลิตกล้ายูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส

การศึกษาต้นทุนการผลิตกล้ายูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส

การศึกษานี้ใช้วิธีการวิเคราะห์ต้นทุนในปี พ.ศ. 2550 โดยพิจารณาต้นทุน 3 ประเภท ได้แก่ ต้นทุนค่าลงทุน (capital cost) ต้นทุนค่าวัสดุ (material cost) และต้นทุนค่าแรง (labor cost)

ต้นทุนค่าลงทุน ในที่นี้ จะคิดเป็นค่าเสื่อมราคาครุภัณฑ์โดยใช้วิธีเส้นตรง (straight–line method) ในการคำนวณค่าเสื่อมราคาต่อเดือน

ต้นทุนค่าวัสดุ โดยเก็บข้อมูลราคาซื้อวัสดุ อุปกรณ์ สารเคมีสำหรับเตรียมสารละลายอาหาร วัสดุ อุปกรณ์ ที่มีอายุการใช้งานไม่เกิน 1 ปี ใช้แล้วหมดไปที่มีการจัดซื้อจริงจากหลักฐานใบกำกับภาษีและใบสำคัญรับเงิน เพื่อใช้ในการขยายพันธุ์พืชด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยระบบที่ต่างกันทั้ง 4 ระบบ ประกอบด้วย

ต้นทุนค่าแรง หมายรวมถึงผลประโยชน์ทั้งหมดที่ผู้ทำงานได้รับจากหน่วยงาน เช่น เงินเดือน ค่าจ้างรายวัน ค่าล่วงเวลา สวัสดิการค่ารักษาพยาบาล ฯลฯ ในกรณีที่ไม่มีข้อมูลเงินเดือนหรือค่าจ้างใดๆ จะใช้การประมาณจากอัตราค่าจ้างขั้นต่ำต่อวันในประกาศกระทรวงแรงงาน เรื่อง อัตราค่าจ้างขั้นต่ำ (ตามพระราชบัญญัติคุ้มครองแรงงาน พ.ศ. 2548) ของกรุงเทพมหานครฯ สำหรับปี พ.ศ. 2550 (184 บาทต่อคนต่อวัน) นำมาใช้เป็นตัวแทนข้อมูลค่าแรงต่อวันในการคำนวณ ทั้งนี้คำนวณค่าแรงตามระยะเวลาที่ใช้จริงในขั้นตอนการถ่ายเนื้อเยื่อยอดยูคาลิปตัสทั้ง 4 ระบบการเพาะเลี้ยง

หากต้นทุนประเภทใดมีการใช้ร่วมกับงานอื่นๆ จะคำนวณสัดส่วนต้นทุนเฉพาะที่เกิดขึ้นในงานนี้ โดยพิจารณาจากระยะเวลาที่ใช้ในการผลิตกล้ายูคาลิปตัสเป็นเกณฑ์ในการจัดสรรต้นทุน สำหรับต้นทุนรวมที่ได้จะคำนวณเป็นต้นทุนที่ใช้ในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอดยูคาลิปตัส

ที่เกิดขึ้นจริงในพื้นที่ทดลองต่อ 1 รอบการผลิต คำนวณเป็นต้นทุนต่อปี โดยต้นทุนค่าลงทุนต่างๆ ได้แก่ ค่าเช่าที่ ค่าเสื่อมราคาครุภัณฑ์ ค่าเสียโอกาสต่างๆ โดยเฉลี่ยเป็นต้นทุนต่อ 1 รอบการผลิต จากนั้นประมาณค่าต้นทุนที่เป็นต้นทุนผันแปรอย่างง่าย (ต้นทุนค่าแรงและต้นทุนค่าวัสดุ) และนำมารวมกับต้นทุนคงที่ (ต้นทุนค่าลงทุน) ซึ่งไม่ได้แปรผันตามพื้นที่ที่ใช้วางขวดเพาะเลี้ยงหรือชุดเพาะเลี้ยง แล้วจึงประมาณค่าอย่างง่ายเพื่อคำนวณหาต้นทุนการเพิ่มปริมาณและการผลิตกล้าในพื้นที่ 1 ตารางเมตรใน 12 รอบการผลิต

การศึกษาผลตอบแทนและต้นทุนต่อผลตอบแทน

การศึกษาครั้งนี้ ศึกษาผลตอบแทน (จำนวนเงิน) ที่เกิดจากผลผลิตสุดท้ายที่ต้องการ (กล้ายูคาลิปตัส) ที่คาดว่าจะได้รับจากการผลิตกล้าด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งอาศัยการเพิ่มปริมาณด้วยระบบการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน 4 ระบบ โดยคำนวณให้อยู่ในรูปตัวเงินที่คาดว่าจะได้จากการขายกล้ายูคาลิปตัสจากการเพิ่มปริมาณในพื้นที่ 1 ตารางเมตร ในรอบการผลิต 12 รอบ (กำหนดราคาขายกล้าไม้ยูคาลิปตัสกล้าละ 5 บาท) ดังนี้

รายได้ทั้งหมด = ผลผลิตทั้งหมด × ราคาต่อหน่วย

จากนั้นทำการเปรียบเทียบต้นทุนกับอผลตอบแทนที่คำนวณได้จากระบบการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณยอดยูคาลิปตัสที่แตกกัน 4 ระบบการเพาะเลี้ยง ในพื้นที่ 1 ตารางเมตร เพื่อพิจารณามูลค่าที่เพิ่มขึ้นจากระบบการเพาะเลี้ยงต่างๆ ที่ใช้ในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอดยูคาลิปตัสสำหรับเป็นวัตถุดิบในการผลิตกล้าด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยทำการคำนวณผลตอบแทนสุทธิหรือกำไรสุทธิ (net benefit) และหาระยะเวลาคืนทุน (payback period) ดังนี้

กำไรสุทธิ = รายได้ทั้งหมด – ต้นทุนทั้งหมด

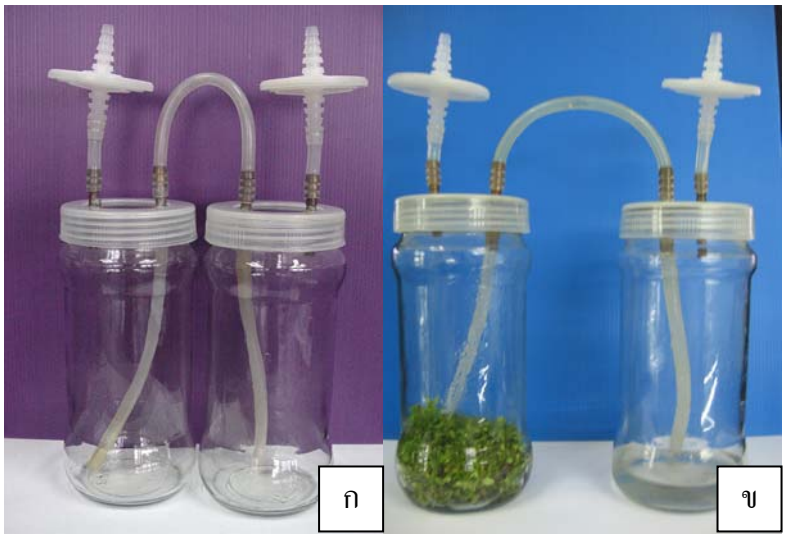
ระยะเวลาคืนทุน = ค่าลงทุน / รายได้สุทธิต่อรอบการผลิต

# ผลและวิจารณ์

## การสร้างและติดตั้งอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชด้วยระบบ TIS แบบขวดคู่

ระบบภาชนะ

นำส่วนประกอบของระบบภาชนะที่จัดเตรียมได้ตามวิธีที่กล่าวไว้ข้างต้นมาติดตั้งเข้าด้วยกัน โดยนำประเก็นยางและสายยางซิลิโคนมาต่อเข้ากับฝาปิดและท่อลม จากนั้นจัดประเก็นยางให้อยู่บนปากของขวดแก้ว ใส่ปลายสายยางซิลิโคนลงในขวดแก้วปิดทับด้วยฝาครอบแล้วหมุนฝาครอบให้แน่น เชื่อมขวดทั้งสองด้วยการนำสายยางซิลิโคนต่อเข้ากับท่อลมเดิมซึ่งอยู่ด้านนอกฝาปิดขวดแต่ละขวด เพื่อใช้เป็นท่อให้อาหารเหลวจากขวดใส่สารละลายอาหารสามารถไหลไปเลี้ยงชิ้นส่วนพืชในขวดเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชได้ นำชุดกรองอากาศที่ต่อเข้ากับสายยางซิลิโคนด้าน outlet ต่อกับท่อลมที่ฝาด้านนอกของขวดใส่สารละลายอาหารและขวดใส่ชิ้นส่วนพืชขวดละ 1 อัน จะทำให้ได้ชุดเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIS แบบขวดคู่ 1 ชุด(ภาพที่ 6 ก) ซึ่งมีราคาถูกกว่าชุดเพาะเลี้ยงแบบขวดสองชั้น 4 เท่า สามารถนำไปใช้เลี้ยงชิ้นส่วนพืชได้ ดังภาพที่ 6 ข สำหรับขั้นตอนการสร้างและติดตั้งอุปกรณ์ในส่วนของระบบภาชนะสามารจัดสร้างชุดเพาะเลี้ยงได้รวม 60 ชุด



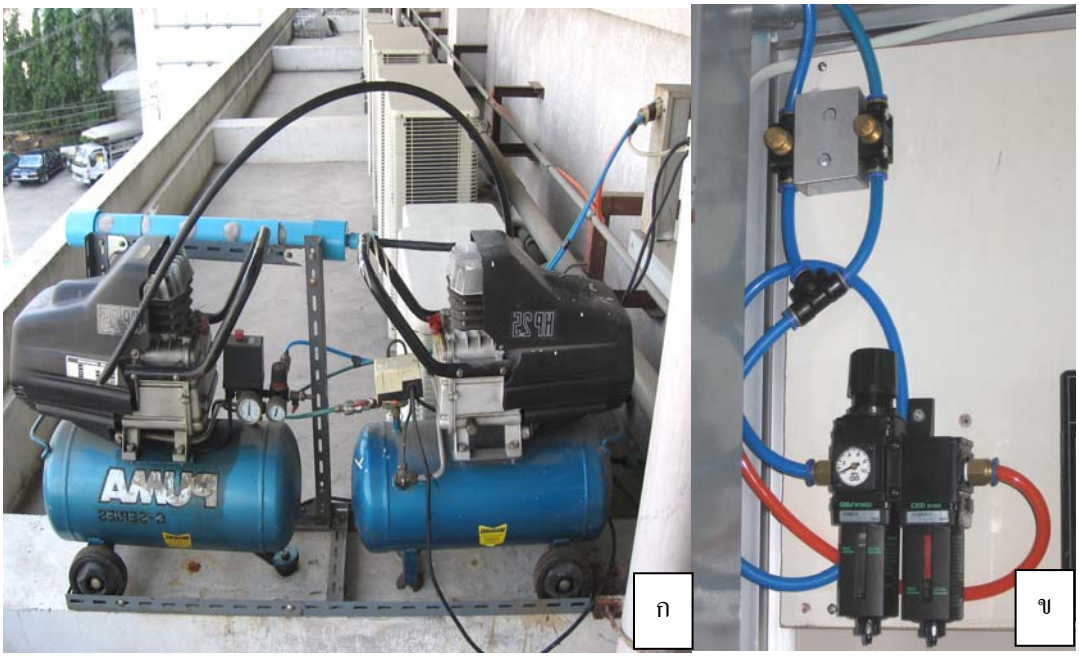

**ภาพที่ 6** ระบบภาชนะที่ประกอบเข้าด้วยกันเป็นชุดเพาะเลี้ยง

ก. ชุดเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIS แบบขวดคู่ 1 ชุด

ข. การเพาะเลี้ยงยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสด้ยระบบ TIS แบบขวดคู่ 1 ชุด

ระบบลม

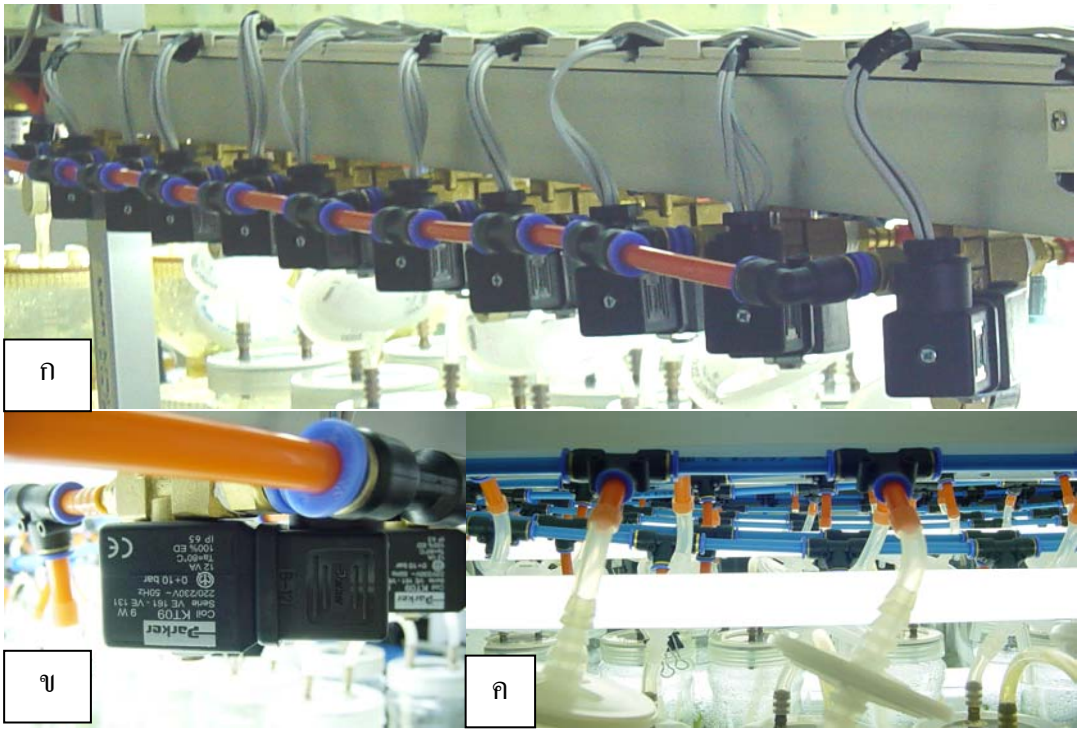
นำสายลมขนาด 8 มิลลิเมตรต่อเข้ากับข้อต่อลมของปั๊มตัวที่ 1 และ 2 ซึ่งตั้งอยู่ภายนอกตัวอาคาร (ภาพที่ 7 ก ) เดินสายลมแต่ละเส้นเข้าสู่ห้องเพาะเลี้ยงและนำมาต่อเข้ากับข้อต่อสามทางรวมลมจากปั๊มลมทั้งสองแล้วนำท่อลมรวมต่อเข้ากับเครื่องกรองลมอัดและควบคุมลมอัดทางด้านลมเข้า (inlet) สำหรับกรองน้ำ น้ำมันที่อาจปนมากับลมอัด และควบคุมแรงดันลมให้สม่ำเสมอ (ภาพที่7 ข) จากนั้นต่อสายลมจากด้านลมออก (outlet) ของครื่องกรองลมอัดและควบคุมลมอัด ไปต่อเข้ากับข้อต่อสามทางเพื่อแยกสายลมไปต่อกับวาล์วชนิดทำงานโดยใช้โซลินอยด์ซึ่งควบคุมการปิดเปิดโดยใช้ไฟฟ้า (ภาพที่ 8 ก และ 8 ข) แล้วนำสายลมที่ต่อออกจากวาล์วชนิดทำงานโดยใช้โซลินอยด์ต่อเข้ากับข้อต่อสามทางรูปตัว T สำหรับปล่อยลมเข้าระบบภาชนะดังภาพที่ 8 ค




**ภาพที่ 7** การติดตั้งและต่อสายลมจากปั๊มลม

ก. การต่อท่อลมเข้ากับปั๊มลม

ข. การต่อท่อลมจากปั๊มลมเข้ากับเครื่องกรองลมอัดและควบคุมลมอัด




**ภาพที่ 8** การต่อสายลมและสายไฟเข้ากับวาล์วชนิดทำงานโดยใช้โซลินอยด์ซึ่งควบคุมการปิดเปิดโดยใช้ไฟฟ้า

ก. การต่อสายลมกับวาล์วชนิดทำงานด้วยโซลินอยด์

ข. สายไฟกับวาล์วชนิดทำงานด้วยโซลินอยด์

ค. การต่อสายลมเพื่อปล่อยลมเข้าระบบภาชนะ

ระบบไฟฟ้า

นำอุปกรณ์ที่จำเป็นได้แก่ สวิทช์ตัดไฟฟ้า เครื่องควบคุมเวลาชนิดหยาบ เครื่องควบคุมเวลาชนิดละเอียดติดตั้งบนแผงควบคุม เพื่อความปลอดภัยและความเป็นระเบียบ ดังภาพที่ 9 โดยทำการต่อไฟฟ้าเข้าที่สวิทช์ตัดไฟ จากนั้นต่อเข้ากับเครื่องควบคุมเวลาชนิดหยาบซึ่งเป็นตัวควบคุมความถี่ในการให้สารละลายอาหารโดยเมื่อได้เวลาตามที่กำหนดไว้เครื่องนี้จะทำการจ่ายกระแสไฟฟ้าให้เครื่องควบคุมเวลาชนิดละเอียดตัวที่ 1 ซึ่งเป็นตัวควบคุมช่วงเวลาการให้สารละลายอาหาร โดยจะปล่อยกระแสไฟฟ้าให้วาล์วชนิดทำงานโดยใช้โซลินอยด์ปล่อยลมดันให้อาหารไหลจากขวดใส่สารละลายอาหาร เข้าไปท่วมชิ้นส่วนพืชที่อยู่ในขวดเลี้ยงชิ้นส่วนพืช เมื่อครบกำหนดเวลาที่ตั้งไว้จะหยุดการทำงาน และปล่อยกระแสไฟฟ้าให้กับเครื่องควบคุมเวลาชนิดละเอียดตัวที่ 2 ซึ่งจะทำ

หน้าที่ปล่อยกระแสไฟฟ้าให้วาล์วชนิดทำงานโดยใช้โซลินอยด์ปล่อยลมดันให้อาหารไหลกลับสู่ขวดใส่สารละลายอาหาร

**ภาพที่ 9** การติดตั้งระบบไฟฟ้าบนแผงควบคุม

**การเปรียบเทียบการเพิ่มปริมาณการผลิตยอดยูคาลิปตัสในระยะเพิ่มยอดของระบบ TIS แบบขวดคู่ที่พัฒนาขึ้นกับการเลี้ยงด้วยระบบอาหารกึ่งแข็ง อาหารเหลว และระบบ TIS แบบขวดสองชั้น**

การศึกษาความถี่ในการให้อาหารและปริมาณอาหารต่อชุดเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณยอดยูคาลิปตัสของระบบ TIS แบบขวดคู่ที่พัฒนาขึ้น

การศึกษาการเพิ่มปริมาณยอดหรือการเกิดยอดใหม่ของชิ้นส่วนยอดของยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส โดยการเพาะเลี้ยงด้วยสารละลายอาหารปริมาณต่างๆ ได้แก่ 25, 50 และ 100 มิลลิลิตรต่อชุดเพาะเลี้ยงร่วมกับการให้สารละลายอาหารด้วยความถี่ทุกๆ 3, 4, 6, 8 และ 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ซึ่งการเพิ่มปริมาณยอดหรือการเกิดยอดใหม่สามารถนำมาใช้ชี้วัดความเหมาะสมของความถี่และปริมาณสารละลายอาหารต่างๆที่ใช้เลี้ยงชิ้นส่วนยอดยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสในชุดเพาะเลี้ยงที่กำหนดไว้ หากมีการเพิ่มปริมาณยอดได้ดี แสดงว่า ความถี่และปริมาณสารละลายอาหารที่ใช้ระดับนั้นมีความเหมาะสม

จากการตรวจนับจำนวนยอดของยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสในชุดเพาะเลี้ยง เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ พบว่าการใช้ความถี่ในการให้อาหารที่ต่างกันทำให้จำนวนยอดและอัตราการ

ผลิตยอดมีความแตกต่างกัน โดยจำนวนยอดมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นเมื่อใช้ความถี่ในการให้สารละลายอาหารเพิ่มขึ้น และจะให้จำนวนยอดสูงที่สุดเมื่อใช้ความถี่ในการให้อาหารทุกๆ 8 ชั่วโมง และเริ่มลดลงเมื่อเพิ่มความถี่ในการให้อาหารเป็นทุกๆ 12 ชั่วโมง (ตารางที่ 1 และ ภาพที่ 10) โดยเฉพาะที่สัปดาห์ที่ 4 พบว่า การให้สารละลายอาหารกับยอดยูคาลิปตัสคามาลดูเลนซีสด้วยความถี่ทุกๆ 8 ชั่วโมงให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงที่สุดเท่ากับ 204.8 ยอดซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการได้รับปริมาณอาหารทุกๆ 12, 6, 4 และ 3 ชั่วโมง ซึ่งให้จำนวนยอดเฉลี่ย 167.8, 156.8, 81.8 และ 78.0 ตามลำดับ ส่วนปริมาณอาหารต่อชุดเพาะเลี้ยงทำให้จำนวนยอดมีความแตกต่างเช่นเดียวกัน โดยชุดเพาะเลี้ยงที่ใช้ปริมาณอาหาร 100 และ 50 มิลลิลิตรให้จำนวนยอดเฉลี่ย 175.3 และ 141.8 ยอด ตามลำดับซึ่งสูงกว่าการใช้ปริมาณอาหาร 25 มิลลิลิตรต่อชุดเพาะเลี้ยงที่ให้จำนวนยอดเฉลี่ยเพียง 96.4 ยอด (ตารางที่ 2 และตารางผนวกที่ 3)

จากผลการทดลอง จะเห็นได้ว่ายอดยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสที่มีการให้สารละลายอาหารด้วยความถี่และปริมาณอาหารต่อชุดเพาะเลี้ยงที่แตกต่างมีการติบโตแตกต่างกันสอดคล้องกับการทดลองของ McAlister *et al.* (2005) ที่รายงานว่ายอดของยูคาลิปตัสที่ได้รับสารละลายอาหารด้วยความถี่ที่แตกต่างกัน ส่งผลให้จำนวนยอดและอัตราการเพิ่มปริมาณยอดต่างกัน ซึ่งในการศึกษานี้ความถี่ในการให้สารละลายอาหารและปริมาณอาหารที่เหมาะต่อการเลี้ยงชิ้นส่วนยอดของยูคาลิปตัสคือ การได้รับสารละลายอาหารทุกๆ 8 ชั่วโมงร่วมกับการใช้สารละลายอาหาร 100 มิลลิลิตรต่อขวด โดยการใช้ความถี่ในการให้อาหารทุก 8 ชั่วโมง ยอดมีการปรับตัวได้ดีมีการแตกยอดจำนวนมาก และเติบโตดีที่สุด แต่ที่ความถี่ 3 และ 4 ชั่วโมงมีการแตกยอดน้อยและเติบโตช้า ซึ่งน่าจะเกิดจากหลังจากได้รับสารละลายอาหารแต่ละครั้งจะมีสารละลายอาหารลักษณะเป็นฟิล์มบางๆเคลือบชิ้นส่วนยอดอยู่ ซึ่งยอดจะใช้อาหารที่เคลือบอยู่นี้ในระหว่างที่ไม่ได้รับอาหารจนกว่าจะถึงเวลาหรือความถี่ในการให้สารละลายอาหารครั้งต่อไป แต่การให้อากาศทุกๆ ชั่วโมง ชั่วโมงละ 1 นาที ทำให้อาหารที่เคลือบอยู่บนยอดระเหยไม่หมดทำให้ยังคงมีอาหารเคลือบอยู่ตลอด ประกอบกับได้รับอาหารบ่อยทำให้ชิ้นส่วนยอดมีฟิลล์สารละลายอาหารปกคลุมอยู่เกือบตลอดเวลา ส่งผลให้การแลกเปลี่ยนก๊าซเพื่อใช้ในกิจกรรมต่างๆ ของชิ้นส่วนพืชเกิดได้น้อยทำให้มีการเจริญเติบโตน้อยตามไปด้วย สอดคล้องกับการรายงานของ Jackson (2002) กล่าวว่าน้ำที่ปกคลุมผิวของพืชจะรบกวนการแลกเปลี่ยนก๊าซของเนื้อเยื่อพืชกับบรรยากาศภายนอก เนื่องจากอัตราการแพร่ของก๊าซในน้ำจะช้ากว่าในอากาศ 10,000 เท่าโดยประมาณ ส่วนการใช้ปริมาณอาหารต่อชุดเพาะเลี้ยงทำให้การเพิ่มของปริมาณยอดแตกต่างกัน ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากการใช้ปริมาณมากทำให้พืชมีธาตุอาหารในรูปที่เป็นประโยชน์อยู่มากด้วย พืชสามารถนำไปใช้ได้นานกว่าการใช้ปริมาณอาหารต่อชุด

เพาะเลี้ยงน้อย ซึ่งจากการทดลองจะเห็นว่าเมื่อใช้ปริมาณอาหารมากขึ้นทำให้การเพิ่มของปริมาณยอดมากขึ้นเช่นเดียวกัน สอดคล้องกับการการศึกษาของ Lorenzo *et al*. (1998) และ Escalona *et al*. (1999) ซึ่งพบว่าเมื่อใช้ปริมาณอาหารมากขึ้นจะทำให้อัตราการเพิ่มปริมาณยอดเพิ่มขึ้นจนถึงปริมาณอาหารที่เหมาะสมหลังจากนั้นแม้ว่าจะเพิ่มปริมาณอาหารให้มากขึ้นแต่อัตราการเพิ่มปริมาณยอดกลับลดลงนั้น ดังนั้นปริมาณอาหารที่เหมาะสมจากการศึกษาในเบื้องต้นนี้อาจยังไม่ใช่ปริมาณอาหารที่เหมาะสมแท้จริง จึงควรมีการทดลองในปริมาณอาหารที่มากกว่านี้เพิ่มเติม

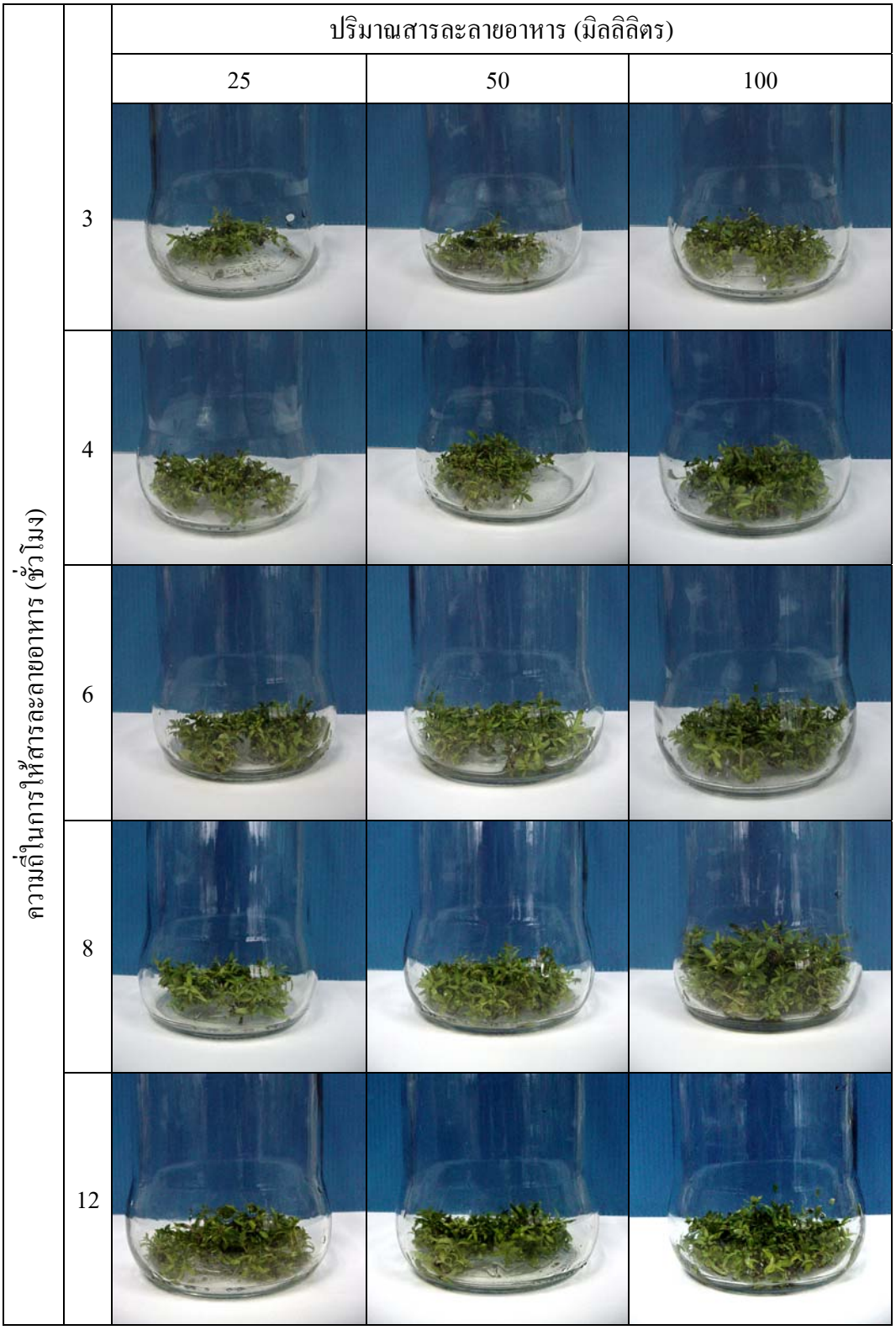
**ตารางที่ 1** จำนวนยอดเฉลี่ยและอัตราการผลิตยอด ของยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส ที่ใช้ความถี่ของการให้สารละลายอาหาร และใช้ปริมาณของสารละลายอาหารต่างกันที่ 2 และ 4 สัปดาห์

| ความถี่ในการให้สารละลายอาหาร | ปริมาณอาหารต่อชุดเพาะเลี้ยง (มิลลิลิตร) | จำนวนยอดเฉลี่ย สัปดาห์ที่ | | อัตราการผลิตยอด สัปดาห์ที่ | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 2 | 4 | 2 | 4 |
| 3 ชั่วโมง | 25 | 76.5 | 64.8 | 0.5 | 0.3 |
| | 50 | 85.3 | 76.0 | 0.7 | 0.5 |
| | 100 | 94.8 | 93.3 | 0.9 | 0.9 |
| 4 ชั่วโมง | 25 | 78.0 | 69.0 | 0.6 | 0.4 |
| | 50 | 86.3 | 76.5 | 0.7 | 0.5 |
| | 100 | 99.3 | 99.5 | 1.0 | 1.0 |
| 6 ชั่วโมง | 25 | 103.8 | 109.3 | 1.1 | 1.2 |
| | 50 | 149.8 | 184.8 | 2.0 | 2.7 |
| | 100 | 176.0 | 209.5 | 2.5 | 3.2 |
| 8 ชั่วโมง | 25 | 124.0 | 133.8 | 1.5 | 1.7 |
| | 50 | 155.5 | 205.8 | 2.1 | 3.1 |
| | 100 | 193.3 | 274.8 | 2.9 | 4.5 |
| 12 ชั่วโมง | 25 | 80.8 | 105.3 | 0.6 | 1.1 |
| | 50 | 141.8 | 165.8 | 1.8 | 2.3 |
| | 100 | 182.8 | 199.3 | 2.7 | 3.0 |

**ตารางที่ 2** จำนวนยอดเฉลี่ยของยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส ที่ใช้ความถี่ของการให้สารละลายอาหาร และใช้ปริมาณของสารละลายอาหารต่างกันที่ 2 และ 4 สัปดาห์

| ความถี่ในการให้สารละลายอาหาร | ปริมาณอาหารต่อชดเพาะเลี้ยง (มิลลิลิตร) | | | ค่าเฉลี่ย |
|---|---|---|---|---|
| | 25 | 50 | 100 | |
| สัปดาห์ที่ 2 | | | | |
| 3 ชั่วโมง | 76.5 | 85.3 | 94.8 | 85.5[d] |
| 4 ชั่วโมง | 78.0 | 86.3 | 99.3 | 87.8[d] |
| 6 ชั่วโมง | 103.8 | 149.8 | 176.0 | 143.2[b] |
| 8 ชั่วโมง | 124.0 | 155.5 | 193.3 | 157.6[a] |
| 12 ชั่วโมง | 80.8 | 141.8 | 182.8 | 135.1[c] |
| ค่าเฉลี่ย | 92.6[c] | 123.7[b] | 149.2[a] | 121.8 |
| สัปดาห์ที่4 | | | | |
| 3 ชั่วโมง | 64.8 | 76.0 | 93.3 | 78.0[e] |
| 4 ชั่วโมง | 69.0 | 76.5 | 99.5 | 81.7[d] |
| 6 ชั่วโมง | 109.3 | 184.8 | 209.5 | 167.8[b] |
| 8 ชั่วโมง | 133.8 | 205.8 | 274.8 | 204.8[a] |
| 12 ชั่วโมง | 105.3 | 165.8 | 199.3 | 156.8[c] |
| ค่าเฉลี่ย | 96.4[c] | 141.8[b] | 175.3[a] | 137.8 |

**หมายเหตุ** ค่าเฉลี่ยในแนวเดียวกันถ้าตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01 โดยวิธีการวิเคราะห์สถิติของ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)




**ภาพที่ 10** การเจริญเติบโตของยอดยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสที่ใช้ความถี่ของการให้สารละลายอาหาร และใช้ปริมาณของสารละลายอาหารต่างกัน 4 สัปดาห์

การศึกษาช่วงเวลาการให้อาหารและจำนวนยอดเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณยอดยูคาลิปตัสของระบบ TIS แบบขวดคู่ที่พัฒนาขึ้น

เมื่อนับจำนวนยอดรวมต่อขวด โดยนับรวมยอดที่มีทั้งหมด ทั้งยอดหลักที่เห็นได้ชัดเจนและยอดขนาดเล็กแล้วคิดเป็นอัตราการผลิตยอดของยูคาลิปตัสที่ได้จากการเลี้ยงด้วยการใช้ช่วงเวลาที่แตกต่างกัน (0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 3.0 นาที) และใช้จำนวนยอดเริ่มต้นต่างกัน (25, 50 และ 100 ยอด) เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ พบว่าการใช้ช่วงเวลาในการให้สารละลายอาหาร 1 นาที ให้อัตราการผลิตยอดสูงที่สุดทั้งในสัปดาห์ที่ 2 และสัปดาห์ที่ 4 รองลงมาคือการใช้ช่วงเวลาในการให้สารละลายอาหาร 1.5, 2.0 3.0 และ 0.5 นาที ตามลำดับ ส่วนการใช้จำนวนยอดเริ่มต้น 50 ยอดให้อัตราการผลิตยอดสูงสุดทั้งในสัปดาห์ที่ 2 และสัปดาห์ที่4 การให้จำนวนยอดเริ่มต้น 100 และ 25 ยอดตามลำดับในสัปดาห์ที่ 2 ส่วนสัปดาห์ที่ 4 รองลงมาคือ 25 และ 100 ยอดตามลำดับ (ตารางที่ 3)

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของอัตราการผลิตยอด พบว่า อิทธิพลของช่วงเวลาในการให้สารละลายอาหาร จำนวนยอดเริ่มต้น และอิทธิพลร่วมมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ และจากการตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan’s New Multiple Range Test (DMRT) พบว่า ยอดยูคาลิปตัสที่เลี้ยงโดยใช้ช่วงเวลาการให้สารละลายอาหารครั้งละ 1 นาทีให้อัตราการผลิตยอดสูงสุดทั้งในสัปดาห์ที่ 2 และสัปดาห์ที่ 4 มีค่าเท่ากับ 1.7 และ 3.3 เท่าตามลำดับ และมีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางกับช่วงเวลาการให้สารละลายอาหาร 1.5, 2.0 และ 3.0 นาทีโดยทั้ง 3 ช่วงเวลาให้อัตราการผลิตยอด 1.6 และ 3.1 เท่าในสัปดาห์ที่ 2 และสัปดาห์ที่ 4 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับช่วงเวลาการให้สารละลายอาหาร 0.5 นาทีที่ให้อัตราการผลิตยอดต่ำที่สุดทั้งสัปดาห์ที่ 2 และสัปดาห์ที่ 4 เพียง 1.4 และ 2.6 เท่าตามลำดับ ส่วนจำนวนยอดเริ่มต้นมีผลทำให้อัตราการผลิตยอดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยในสัปดาห์ที่ 2 การใช้จำนวนยอดเริ่มต้นที่ 50 และ 100 ยอด ให้อัตราการผลิตยอดเฉลี่ยเท่ากับ 2.9 และ 1.2 เท่าตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าการใช้จำนวนยอดเริ่มต้น 25 ยอดที่ให้อัตราการผลิตยอดเพียง 0.6 เท่า ส่วนในสัปดาห์ที่ 4 การใช้จำนวนเริ่มต้น 50 ยอดให้อัตราการผลิตยอดเฉลี่ยสูงสุด ซึ่งมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับอัตราการผลิตยอดที่การใช้จำนวนยอดเริ่มต้น 25 และ 100 ยอดมีอัตราการผลิตยอดเฉลี่ย เท่ากับ 2.2 และ 2.1 ยอดตามลำดับ (ตารางที่ 4 ตารางผนวกที่ 4 และภาพที่ 11)

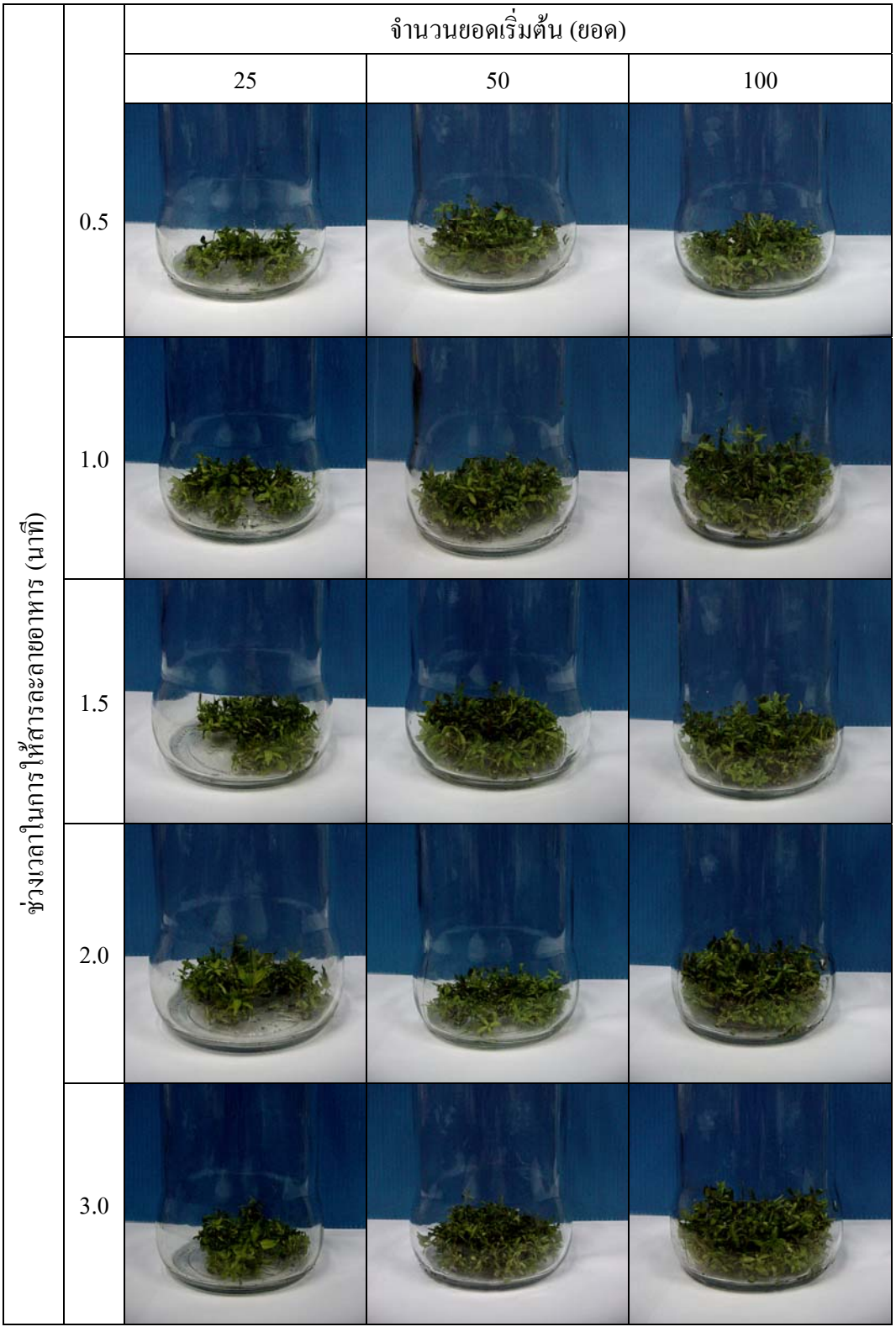
**ตารางที่ 3** จำนวนยอดเฉลี่ยและอัตราการผลิตยอดของยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส ที่ใช้ช่วงเวลาการให้สารละลายอาหารและใช้จำนวนยอดเริ่มต้นต่างกันที่ 2 และ 4 สัปดาห์

| ช่วงเวลาการให้สารละลายอาหาร (นาที) | จำนวนยอดเริ่มต้น (ยอด) | จำนวนยอด (ยอด) | | อัตราการผลิตยอด (เท่า) | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | สัปดาห์ที่ | | สัปดาห์ที่ | |
| | | 2 | 4 | 2 | 4 |
| 0.5 | 25 | 32.8 | 60.0 | 0.3 | 1.4 |
| | 50 | 193.3 | 274.8 | 2.9 | 4.5 |
| | 100 | 201.3 | 284.5 | 1.0 | 1.9 |
| 1.0 | 25 | 46.5 | 89.8 | 0.9 | 2.6 |
| | 50 | 199.8 | 298.3 | 3.0 | 5.0 |
| | 100 | 224.5 | 323.5 | 1.2 | 2.2 |
| 1.5 | 25 | 41.0 | 82.5 | 0.6 | 2.3 |
| | 50 | 198.3 | 291.8 | 3.0 | 4.8 |
| | 100 | 219.5 | 319.3 | 1.2 | 2.2 |
| 2.0 | 25 | 40.3 | 81.3 | 0.6 | 2.3 |
| | 50 | 197.3 | 290.8 | 3.0 | 4.8 |
| | 100 | 218.8 | 319.5 | 1.2 | 2.2 |
| 3.0 | 25 | 40.0 | 80.8 | 0.6 | 2.2 |
| | 50 | 197.3 | 290.3 | 3.0 | 4.8 |
| | 100 | 218.0 | 317.0 | 1.2 | 2.2 |

**ตารางที่ 4** อัตราการผลิตยอดของยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส ที่ใช้ช่วงเวลา การให้สารละลายอาหาร และใช้จำนวนยอดเริ่มต้นต่างกันที่ 2 และ 4 สัปดาห์

| ช่วงเวลาการให้สารละลายอาหาร | อัตราการผลิตยอด (เท่า) | | | ค่าเฉลี่ย |
|---|---|---|---|---|
| | 25 | 50 | 100 | |
| สัปดาห์ที่ 2 | | | | |
| 0.5 นาที | 0.31 | 2.87 | 1.01 | 1.4[b] |
| 1.0 นาที | 0.86 | 3 | 1.24 | 1.7[a] |
| 1.5 นาที | 0.64 | 2.97 | 1.20 | 1.6[a] |
| 2.0 นาที | 0.61 | 2.95 | 1.19 | 1.6[a] |
| 3.0 นาที | 0.6 | 2.95 | 1.18 | 1.6[a] |
| ค่าเฉลี่ย | 0.6[c] | 2.9[a] | 1.2[b] | 1.6 |
| สัปดาห์ที่4 | | | | |
| 0.5 นาที | 1.4 | 4.5 | 1.85 | 2.6[b] |
| 1.0 นาที | 2.59 | 4.97 | 2.24 | 3.3[a] |
| 1.5 นาที | 2.3 | 4.84 | 2.19 | 3.1[a] |
| 2.0 นาที | 2.25 | 4.82 | 2.20 | 3.1[a] |
| 3.0 นาที | 2.23 | 4.81 | 2.17 | 3.1[a] |
| ค่าเฉลี่ย | 2.2[b] | 4.8[a] | 2.1[b] | 3.0 |

**หมายเหตุ** ค่าเฉลี่ยในแนวเดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 โดยวิธีการวิเคราะห์สถิติของ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)




**ภาพที่ 11** การเจริญเติบโตของยอดยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสที่ใช้ช่วงเวลาการให้สารละลายอาหาร และจำนวนยอดเริ่มต้นต่างกัน 4 สัปดาห์

จากการศึกษานี้พบว่าการใช้ช่วงเวลาในให้สารละลายอาหารในระดับต่างๆ กันนั้นยอดมีการเติบโตคล้ายคลึงกัน แต่การใช้จำนวนยอดเริ่มต้นต่างกันนั้นมีผลทำให้อัตราการผลิตยอดแตกต่างกันอย่างชัดเจนกล่าวคือความแตกต่างของอัตราการผลิตยอดจากการใช้จำนวนเริ่มต้นมีความแตกต่างกันสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มคือ จำนวนยอดเริ่มต้น 50 ยอด กับ การใช้ยอดเริ่มต้น 100 และ 25 ยอดต่อขวดตามลำดับ ที่เป็นเช่นนี้เพราะการใช้จำนวนยอดเริ่มต้นต่อขวดมากทำให้ความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารในสารละลายอาหารหมดลงด้วยอัตราที่เร็วกว่าการใช้จำนวนยอดเริ่มต้นน้อยกว่า สอดคล้องกับการศึกษาของ McAlister *et al.* (2005) ที่รายงานว่าการใช้จำนวนยอดเริ่มต้น 50 ยอดร่วมกับการให้สารละลายอาหารครั้งละ30 วินาที ด้วยความถี่ 10 และ 20 นาทีให้อัตราการเพิ่มปริมาณยอดมากกว่าการใช้จำนวนยอดเริ่มต้น 100 และ150 ยอด ส่วนการใช้จำนวนยอดเริ่มต้นจำนวนน้อยคือ 25 ยอดมีผลทำให้สารเคมีที่พืชสร้างขึ้นมาภายนอกเซลล์ซึ่งกระตุ้นการสร้างยอดถูกทำให้เจือจางเนื่องจากจำนวนยอดเมื่อเทียบกับปริมาณอาหารที่น้อยเกินไปเช่นเดียวกับการศึกษาของ Lorenzo *et al*. (1998) ที่พบว่าเมื่อใช้ปริมาณอาหารเพิ่มขึ้นทำให้การเพิ่มปริมาณยอดของอ้อยลดลง

การเปรียบเทียบการเพิ่มปริมาณยอดของยูคาลิปตัสที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบการเลี้ยงที่ต่างกัน

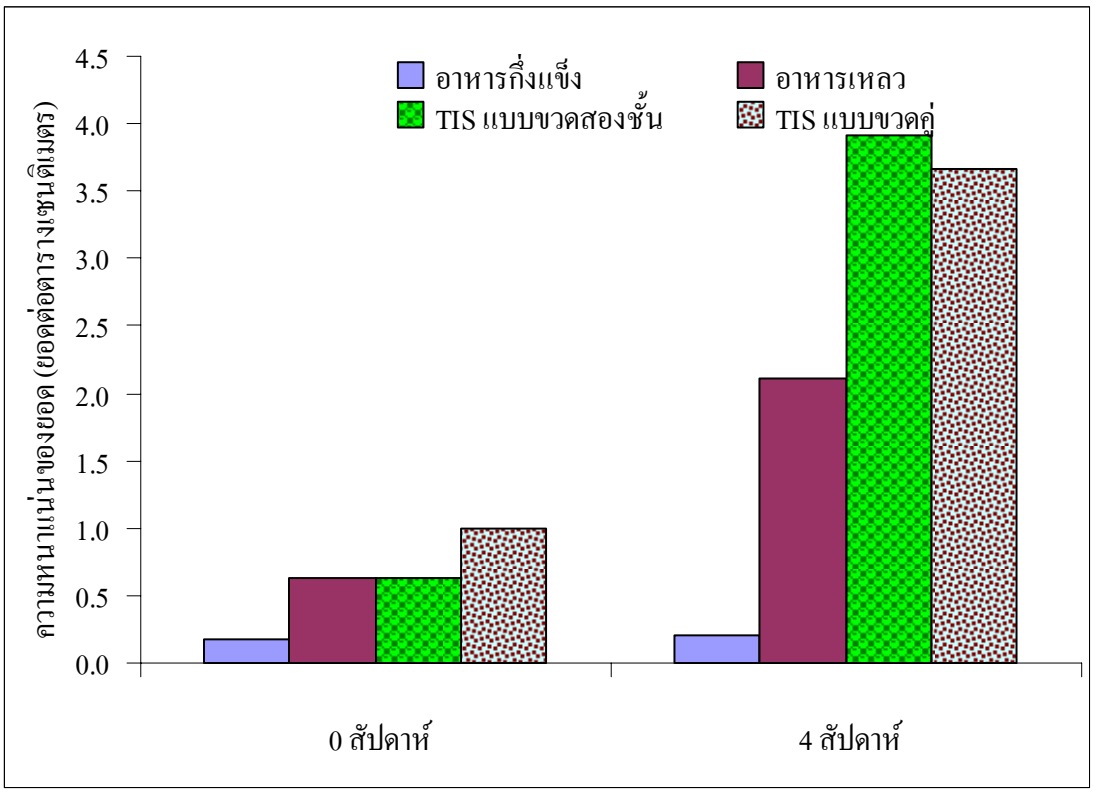
การศึกษาเปรียบเทียบการเพิ่มปริมาณยอดของยูคาลิปตัสที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบการเลี้ยงที่ต่างกัน โดยการเลี้ยงยอดยูคาลิปตัสด้วยระบบการเลี้ยงที่ต่างกัน คือ ระบบอาหารกึ่งแข็ง ระบบอาหารเหลว ระบบ TIS แบบขวดสองชั้น และ ระบบ TIS แบบขวดคู่ เมื่อเลี้ยงครบ 4 สัปดาห์นำค่าเฉลี่ยของอัตราการผลิตยอดมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ตารางผนวกที่ 5) พบว่าในการใช้ระบบเพาะเลี้ยงต่างกันมีผลให้อัตราการผลิตยอดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$) โดยระบบ TIS แบบขวดสองชั้น ให้อัตราการผลิตยอดสูงสุดเท่ากับ 5.15 เท่า รองลงมาได้แก่ ระบบ TIS แบบขวดคู่ ระบบอาหารเหลว และระบบอาหารกึ่งแข็ง เท่ากับ 4.75, 2.32 และ 2.15 เท่าตามลำดับ เมื่อพิจารณาจำนวนต้นเริ่มต้น ต่อพื้นที่ของภาชนะเพาะเลี้ยงของการเพาะเลี้ยงด้วยระบบอาหารกึ่งแข็งระบบอาหารเหลว และระบบ TIS ทั้งสองแบบ พบว่า มีความแตกต่างกันคือ จำนวนเริ่มต้นของระบบอาหารเหลว และระบบ TIS ทั้งสองแบบเริ่มที่ 50 ยอดต่อขวด แต่การเพาะเลี้ยงด้วยระบบอาหารกึ่งแข็งเริ่มที่ 5 ยอดต่อขวด ส่วนพื้นที่ของภาชนะเพาะเลี้ยงจากตารางที่ 3 จะเห็นว่าจำนวนยอดต่อพื้นที่ของการเพาะเลี้ยงด้วยระบบการเพาะเลี้ยง TIS แบบขวดสองชั้น สูงขึ้นจาก 0.637 ยอดต่อตารางเซนติเมตร เป็น 3.917 ยอดต่อตารางเซนติเมตร ใน 4 สัปดาห์ จำนวนยอดต่อพื้นที่ระบบการเพาะเลี้ยง TIS แบบขวดคู่เพิ่มขึ้นจาก 0.995 ยอดต่อตารางเซนติเมตร เป็น 3.662 ยอด

ต่อตารางเซนติเมตร ในขณะที่จำนวนยอดต่อพื้นที่ของการเพาะเลี้ยงด้วยระบบการเพาะเลี้ยงอาหารเหลวเพิ่มจาก 0.637 ยอดต่อตารางเซนติเมตร เป็น 2.115 ยอดต่อตารางเซนติเมตร และจำนวนยอดต่อพื้นที่ของการเพาะเลี้ยงด้วยระบบการเพาะเลี้ยงอาหารกึ่งแข็ง เพิ่มจาก 0.117 ยอดต่อตารางเซนติเมตร เป็น 0.200 ยอดต่อตารางเซนติเมตรเท่านั้นดังแสดงในตารางที่ 5 และภาพที่ 12

**ตารางที่ 5** อัตราการผลิตยอดของยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส ด้วยวิธีการเลี้ยงต่างๆ กันที่ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

| ระบบ | พื้นที่ภาชนะ (ซม.$^2$) | ความหนาแน่นของยอดต่อพื้นที่ภาชนะเพาะเลี้ยง (ยอด/ซม.$^2$) | | อัตราการผลิตยอด (เท่า) |
|---|---|---|---|---|
| | | สัปดาห์ที่ 0 | สัปดาห์ที่ 4 | |
| อาหารกึ่งแข็ง | 28.26 | 0.177 | 0.2 | 2.15a |
| อาหารเหลว | 78.5 | 0.637 | 2.115 | 2.32b |
| TIS แบบขวดสอง ชั้น | 78.5 | 0.637 | 3.917 | 5.15d |
| TIS แบบขวดคู่ | 50.24 | 0.995 | 3.662 | 4.75c |

**หมายเหตุ** ตัวเลขในแนวดิ่งซึ่งตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01 โดยวิธีการวิเคราะห์สถิติของ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)




**ภาพที่ 12** เปรียบเทียบความหนาแน่นของยอดต่อพื้นที่ภาชนะเพาะเลี้ยงของยูคาลิปตัสที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบการเพาะเลี้ยงต่างกัน

ทั้งนี้การคำนวณความหนาแน่นของยอดต่อพื้นที่ภาชนะเพาะเลี้ยง ทำให้เราสามารถเห็นภาพการเจริญเติบโตในรูปแบบใหม่จากการใช้ระบบ TIS คือ ชิ้นส่วนยอดจะเติบโตซ้อนกันขึ้นไปเป็นชั้น ในขณะที่ระบบอาหารแข็งจะไม่มีการเรียงซ้อนกันขึ้นไปเช่นนั้น ทำให้สามารถลดพื้นที่การวางขวดได้ ส่งผลให้สามารถลดพื้นที่ห้องเลี้ยงต้นไม้ที่ต้องการควบคุมอุณหภูมิและแสงได้ส่วนการเพิ่มยอดต่อพื้นที่แตกต่างกันอาจเกิดจากเนื่องจากชิ้นส่วนพืชที่เลี้ยงด้วยอาหารกึ่งแข็งนั้นชิ้นส่วนจะได้รับอาหารจากการสัมผัสกับรอยตัดหรือผิวด้านข้างซึ่งอยู่บริเวณด้านล่างของยอดเพียงทางเดียว ส่วนการเลี้ยงด้วยอาหารเหลวถึงแม้ว่าชิ้นส่วนจะได้รับสารละลายธาตุอาหารอย่างสม่ำเสมอ แต่ปริมาณเป็นปัจจัยจำกัดเนื่องจากไม่สามารถใช้ปริมาณอาหารจำนวนมากได้เพราะหากชิ้นส่วนจมอยู่ในอาหารประมาณ 1-2 วันชิ้นส่วนจะเสียความสามารถในการเจริญเติบโตและมักมีการเจริญเติบโตผิดปกติไป ดังนั้นความมั่นคงทางด้านพลังงานและความสมบูรณ์ของเครื่องเขย่าจึงเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงในการเลี้ยงด้วยระบบนี้

**การเปรียบเทียบการชักนำการออกรากของยอดยูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบเพาะเลี้ยงต่างกัน**

การศึกษาการชักนำให้ยอดเกิดราก โดยการเลี้ยงส่วนยอดยูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณยอดจากระบบอาหารกึ่งแข็ง อาหารเหลว ระบบ TIS แบบขวดสองชั้น และระบบ TIS แบบขวดคู่ ในอาหารสูตรยืดยอดด้วยระบบการเพาะเลี้ยงอาหารกึ่งแข็งเป็นเวลา 20 วัน แล้วนำยอดย้ายไปเลี้ยงบนอาหารชักนำให้ยอดเกิดรากสูตรมาตรฐาน 1/6 MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (Siripatanadilok and Thaiutsa, 1990) วางบนชั้นในห้องเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าสามารถชักนำการเกิดรากได้ดีกับยอดยูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณยอดทุกระบบโดยยอดที่ได้จากระบบอาหารกึ่งแข็งและระบบ TIS แบบขวดสองชั้นให้เปอร์เซ็นต์การเกิดรากเฉลี่ยสูงที่สุดเท่ากับ 82 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ยอดที่ได้จากระบบการเพาะเลี้ยงอาหารเหลว และระบบ TIS แบบขวดคู่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเฉลี่ยเท่ากับ 81 เปอร์เซ็นต์ โดยเริ่มมีรากเกิดขึ้นหลังจากเลี้ยงในอาหารได้ 7 วัน ซึ่งรากที่เกิดขึ้นทั้งหมดมีขนาดเล็ก ยาว และมีรากแขนงละเอียดจำนวนมาก ส่วนจำนวนรากต่อต้น พบว่า ยอดจากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบการเพาะเลี้ยงอาหารกึ่งแข็งมีจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุดคือ 4.2 รากต่อยอด รองลงมาได้แก่ยอดจากระบบการเพาะเลี้ยงอาหารเหลว และระบบการเพาะเลี้ยง Temporary Immersion ระบบขวดสองชั้นและขวดคู่มีจำนวนรากเฉลี่ยเท่ากับ 4.1, 3.9 และ 3.9 รากต่อยอดตามลำดับ (ตารางที่ 6, ภาพที่ 13)

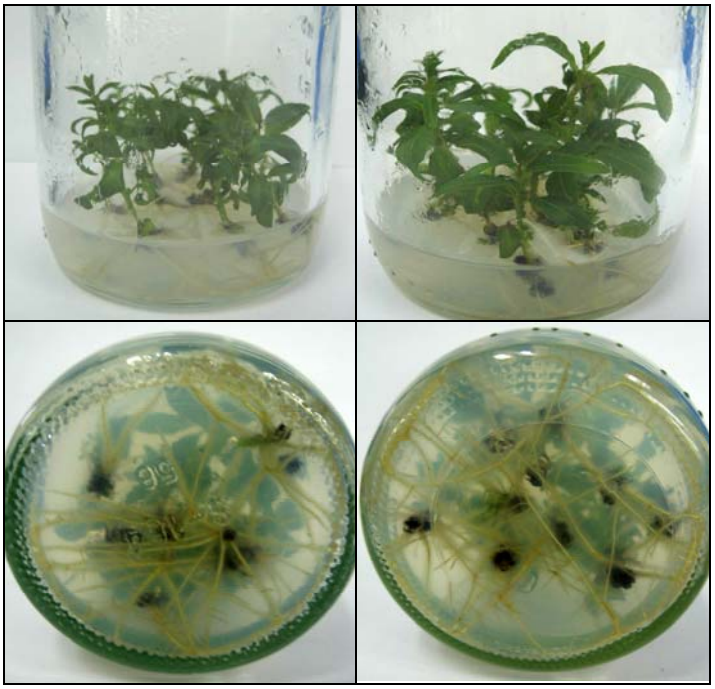
จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์การเกิดรากและจำนวนรากเฉลี่ย พบว่ามีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางผนวกที่ 6) นอกจากจำนวนรากแล้ว จากการทดลองยัง พบว่า รากที่เกิดมีลักษณะการกระจายเหมือนกันคือจะกระจายโดยทั่วตามแนวรัศมี และเมื่อพิจารณาการตอบสนองของชิ้นส่วนยอดยูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณจากวิธีที่แตกต่างกัน 4 วิธีต่ออาหารสูตรมาตรฐานชักนำการเกิดรากที่เติม NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถชักนำให้ชิ้นส่วนยอดจากทุกวิธีเกิดรากได้ดีโดยเฉลี่ยใกล้เคียงกันระหว่าง 81-82 เปอร์เซ็นต์ จำนวนรากเฉลี่ย 3.9-4.2 ยอดต่อราก ซึ่งให้ผลการเกิดรากน้อยกว่าการศึกษาของ พัชรินทร์ (2545) ที่สามารถชักนำการเกิดรากของยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสด้วยอาหารสูตรมาตรฐานชักนำการเกิดรากเดียวกันสามารถชักนำเกิดรากได้ 100 เปอร์เซ็นต์ แต่การที่ยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสในการทดลองนี้มีการเกิดรากน้อยกว่าน่าจะเกิดจากการใช้ยูคาลิปตัสต่างสายต้นกัน (clone) ทำให้ได้รับอิทธิพลทางพันธุกรรมต่างกันเป็นปัจจัยสำคัญ ส่วนการที่ยอดยูคาลิปตัสบางยอดไม่เกิดรากอาจเกิดจากระดับของออกซินภายใน และที่ให้ภายนอกชิ้นส่วนมีความไม่สมดุลย์กันอาจต่ำหรือสูงเกินไป

ทำให้มีผลต่อการเกิดรากของยอดบางยอด ซึ่ง Pierik (1987) อธิบายว่า NAA เป็นสารที่อยู่ในกลุ่มของออกซินเป็นสารสังเคราะห์ มีคุณสมบัติเป็นสารเร่งการเติบโต มีผลกระตุ้นการขยายขนาดของเซลล์ การยืดยาวของเซลล์ และมีผลกระตุ้นการเกิดรากของพืช ความเข้มข้นที่พืชต้องการนั้น จะแตกต่างกันตามชนิดพืช และชนิดของเนื้อเยื่อ พืชบางชนิดมีความสามารถในการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากได้ง่าย และชักนำให้เกิดรากได้ง่ายเช่นกัน แต่บางครั้งการชักนำให้เกิดรากได้ยาก ซึ่งการเกิดรากในลักษณะดังกล่าว นอกจากยังมีปัจจัยอื่นเข้ามาเกี่ยวข้อง อาจเป็นไปได้ว่ายอดพืชมีสารจำเป็นบางชนิดในปริมาณน้อย ที่จะทำงานร่วมกับออกซินในการส่งเสริมให้พืชเกิดราก ซึ่ง รังสฤษดิ์ (2540) กล่าวว่ามีสารบางอย่างในการช่วยในการเกิดรากให้ดียิ่งขึ้น เช่น *Eucalyptus ficifolia* F. Muell. เมื่อใช้ riboflavin ร่วมกับ IBA และเลี้ยงในที่มีแสงความเข้มต่ำ จะช่วยให้รากมีการยืดตัวยาวขึ้น หากไม่มี riboflavin จะทำให้รากค่อนข้างสั้น และรากข้างเจริญเฉพาะบริเวณใกล้ผิวอาหารเท่านั้น นอกจากนี้ Bonga (1987) ได้อธิบายว่าออกซินภายในจะกระตุ้นการยืดตัวของราก ส่วนออกซินภายนอกจะกระตุ้นการเกิดจุดกำเนิดรากจึงจำเป็นต้องมีการทดลองปริมาณออกซิน NAA ที่ใช้เลี้ยง หรือทดลองเลี้ยงในออกซินชนิดอื่น เช่น IBA ต่อไป

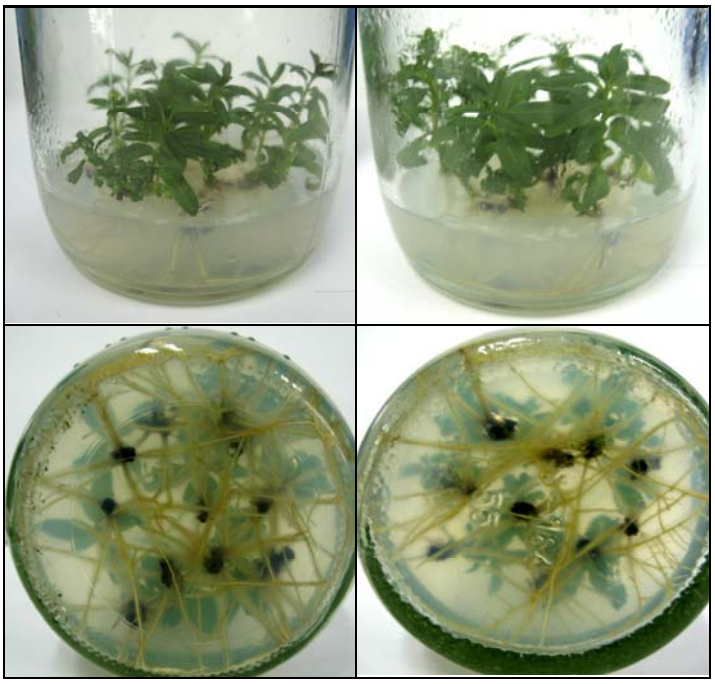
**ตารางที่ 6** เปอร์เซนต์การเกิดรากเฉลี่ยและจำนวนรากเฉลี่ยของยูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบที่แตกต่างกันที่ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

| ระบบ | การเกิดราก (%) | จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ยอด) |
|---|---|---|
| อาหารกึ่งแข็ง | 82 | 3.9 |
| อาหารเหลว | 81 | 3.9 |
| TIS แบบขวดสองชั้น | 82 | 4.2 |
| TIS แบบขวดคู่ | 81 | 4.1 |
| F-test | 0.240 $^{NS}$ | 0.566 $^{NS}$ |

**หมายเหตุ** $^{NS}$ มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ



ก ข



ค ง

**ภาพที่ 13** การเกิดรากของยอดยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบการเพาะเลี้ยงที่ต่างกัน เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรมาตรฐานชักนำการเกิดรากเป็นเวลา 30 วัน
ก. ระบบอาหารกึ่งแข็ง ข. ระบบอาหารเหลว
ค. ระบบ TIS แบบขวดสองชั้น ง. ระบบ TIS แบบขวดคู่

**การเปรียบเทียบการย้ายชำต้นกล้าที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบเพาะเลี้ยงต่างกัน**

เมื่อนำต้นกล้ายูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส จากการการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีรากสมบูรณ์และไม่เกิดราก ออกมาย้ายปลูกในถาดปลูก โดยใช้วัสดุปลูกชื่อการค้า ดินทอปเทนผสมกับถ่านแกลบในอัตรา 1 : 1 (ปริมาตร: ปริมาตร) แล้วคลุมถุงพลาสติกประมาณ 10 วัน หลังจากนั้นนำต้นออกจากถุงพลาสติก อนุบาลในโรงเรือนซึ่งมีระบบควบคุมความชื้น ให้น้ำด้วยการพ่นหมอก หลังการย้ายปลูกเป็นเวลา 60 วัน พบว่ายอดที่ไม่เกิดรากไม่มีการเติบโต ใบมีสีเหลือง ร่วงหล่นและตายในที่สุด ภายหลังการย้ายปลูก 15 วัน เมื่อถอนต้นขึ้นมาดูพบว่า บริเวณโคนต้นมีสีน้ำตาล เน่าลักษณะฉ่ำน้ำ เนื่องจากชิ้นส่วนที่ไม่เกิดรากมีการสร้างแคลลัสขึ้นที่บริเวณโคนต้น ซึ่ง สมปอง (2538) กล่าวว่า การสร้างแคลลัสขึ้นมาที่บริเวณโคนต้นก่อนพัฒนาไปเป็นรากนั้น ถึงแม้ว่าแคลลัสจะมีการพัฒนาต่อไปจนเกิดเป็นรากขึ้น แต่รากที่ได้อาจไม่มีการสร้างท่อน้ำและท่ออาหารที่เชื่อมต่อกับยอด ผลที่ตามมาคือเมื่อย้ายต้นกล้าออกปลูกสู่สภาพแวดล้อมภายนอกที่มีความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ ทำให้ต้นกล้ามีอาการเหี่ยวเฉา อีกทั้งยอดที่มีการสร้างแคลลัสบริเวณโคนต้นก่อนการพัฒนาไปเป็นราก ยังมีผลให้ต้นพืชนั้นถูกเชื้อจุลินทรีย์เข้าทำลายผ่านทางแคลลัสได้ง่ายเมื่อย้ายปลูก ส่วนต้นกล้าที่มีรากสมบูรณ์เมื่อย้ายชำได้ 15 วันจะมีอัตราการรอดตาย 100 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 14)

ก ข ค ง

**ภาพที่ 14** ลักษณะต้นกล้ายูคาลิปตัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เมื่อทำการย้ายปลูกสู่สภาพแวดล้อมภายนอก เป็นเวลา 15 วัน
ก. กล้ายูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบอาหารแข็ง
ข. กล้ายูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบอาหารเหลว
ค. กล้ายูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบ TIS แบบขวดสองชั้น
ง. กล้ายูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบ TIS แบบขวดคู่

จากนั้นย้ายปลูกต้นกล้าจากถาดปลูกลงในถุงพลาสติกนำออกวางเลี้ยงในสภาพธรรมชาติภายในโรงเรือนที่ลดความเข้มแสงได้ 50 เปอร์เซ็นต์หลังการย้ายปลูกได้ 30 และ 60 วัน พบว่า ต้นกล้ายูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสมีอัตราการรอดตายระหว่าง 90-93 เปอร์เซ็นต์ โดยต้นอ่อนที่ย้ายออกปลูกทุกต้นมีการปรับตัวและพัฒนาเกิดใบใหม่ได้ภายใน 15-20 วัน แสดงให้เห็นว่าต้นอ่อนจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีความสมบูรณ์พร้อมที่จะเติบโตได้เมื่อย้ายออกปลูก และมีกล้าบางส่วนตายลงซึ่งน่าจะเกิดจากการกระทบกระเทือนจากการย้ายปลูกลงในถุงพลาสติก และพืชสูญเสียน้ำมากจากการเปิดของปากใบเนื่องจากพืชที่เลี้ยงอยู่ในขวดจะเคยชินกับความชื้นสัมพัทธ์ที่สูง 90-100 เปอร์เซนต์ ประกอบกับที่ผิวใบพืชที่เลี้ยงอยู่ในขวดมีสารเคลือบใบ (epicuticular wax) น้อยเกินไป การสูญเสียน้ำจึงเกิดได้ง่าย และระบบรากก็ยังพัฒนาไม่ดีพอ มีขนรากน้อย การทำงานของระบบรากที่ยังไม่สมบูรณ์การดูดซึมน้ำขึ้นไปเลี้ยงจึงไม่ดีทำให้พืชประสบกับสภาวะการขาดน้ำ (water stress) และการสูญเสียน้ำมากและรวดเร็วเป็นสาเหตุที่ทำให้กล้าที่ย้ายปลูกมาเลี้ยงในสภาพธรรมชาติทันที จึงเกิดการเหี่ยวเฉาและตายในที่สุด (Pierik, 1987; Kyte, 1990; Macdonal, 1990) ดังนั้นการย้ายปลูกจึงควรนำต้นอ่อนที่มีการพัฒนาของระบบรากสมบูรณ์แล้ว และควรหลีกเลี่ยงการย้ายปลูกหลายครั้ง ขณะที่กล้าไม้ยังมีการพัฒนาของระบบรากไม่ดีพอซึ่งจะทำให้กล้าได้รับความกระทบกระเทือนและตาย แนวทางแก้ปัญหาคือ ทำการย้ายปลูกลงในภาชนะเพาะเลี้ยงที่มีขนาดเหมาะสมสามารถเลี้ยงต้นอ่อนได้จนถึงพร้อมนำไปปลูกในพื้นที่ต่อไป หรืออาจใช้สารเคมีเคลือบผิวใบช่วยลดการคายน้ำ เช่น น้ำยางพาราเจือจาง เพื่อลดการคายน้ำของพืช ตลอดจนการใช้วัสดุปลูกที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ช่วยเพิ่มอัตราการรอดตายของพืช

นอกจากนี้การตายของกล้าที่ทำการย้ายปลูก อาจมีสาเหตุจากวัสดุปลูกมีความแน่นและอุ้มน้ำมากเกินไป ส่งผลให้พืชขาดออกซิเจน เพราะออกซิเจนมีอิทธิพลอย่างมากต่อการเติบโตตลอดจนการดึงดูดธาตุอาหารของรากพืช แก๊สออกซิเจนที่รากพืชได้รับมาจากออกซิเจนที่อยู่ในช่องว่างขนาดใหญ่ในวัสดุปลูก ปริมาณออกซิเจนในวัสดุปลูกจะลดลงเมื่อถูกรากพืชหรือจุลินทรีย์ในดินใช้ไป แต่ก็สามารถทดแทนได้โดยอากาศหรือออกซิเจนในอากาศเหนือวัสดุปลูกแพร่กระจายเข้ามาแทนที่ ทั้งนี้ความเร็วของการเข้าแทนที่ของอากาศขึ้นกับขนาดของช่องว่างในวัสดุปลูกและการติดต่อกันของช่องว่างนั้น การที่วัสดุปลูกแน่นและอุ้มน้ำมากมีผลต่อออกซิเจนในวัสดุปลูกคือทำให้การแพร่ของออกซิเจนในช่องว่างวัสดุปลูกที่มีน้ำอยู่เต็มเป็นไปได้ช้ามาก ในกรณีนี้ถ้าออกซิเจนไม่สามารถผ่านตามใบพืชและเคลื่อนไปยังรากพืชได้แล้ว การเจริญเติบโตของรากและพืชจะมีปัญหามาก อาการแรกใบเหี่ยวเฉา ปลายรากเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และเป็นสีดำในที่สุด รากไม่มีขนรากหรือมีน้อยมาก ยอดจะแสดงอาการขาดน้ำ ต้นชะงักการเจริญเติบโต ใบล่างๆ มีสีซีด

ใบเหลือง ขอบใบเป็นสีน้ำตาลและแห้งตาย และต้นพืชจะตายในที่สุด การใช้ทรายเป็นวัสดุปลูกก็อาจแก้ปัญหาดังกล่าวได้ เพราะทรายเป็นวัสดุที่มีคุณสมบัติช่วยในการระบายน้ำและอากาศ ขนาดของเม็ดทรายที่ใช้ต้องนำมาคิดด้วย ทรายที่นิยมนำมาใช้มักเป็นทรายน้ำจืดเพื่อหลีกเลี่ยงความเป็นพิษจากเกลือที่ติดมา เป็นทรายละเอียดที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.05-0.5 มิลลิเมตร การใช้ทรายที่ใหญ่กว่านี้อาจทำให้วัสดุปลูกแห้งง่ายเกินไป และพืชเหี่ยวเฉาได้ แต่ถ้าเล็กเกินไปอาจมีผลต่อการพัฒนาของรากพืช รวมถึงการระบายอากาศของวัสดุปลูก (วิทยา, 2531) ซึ่งก็ควรนำทรายมาทดลองผสมในวัสดุย้ายปลูกต่อไปเพื่อให้การย้ายปลูกสู่สภาพแวดล้อมภายนอกมีอัตราการรอดตายสูง ส่งเสริมให้กระบวนการผลิตกล้าไม้ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชประสบความสำเร็จ เพราะความล้มเหลวของการย้ายปลูกสู่สภาพแวดล้อมภายนอกถือได้ว่าเป็นความล้มเหลวของการเพาะเลี้ยง

เมื่อพิจารณาการเติบโตทางความสูงซึ่งเป็นลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้าไม้ยูคาลิปตัสที่ง่ายต่อการวัด เนื่องจากการวัดความสูงไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องมือที่มีความยุ่งยากสลับซับซ้อนแต่อย่างใด การใช้เทปหรือไม้บรรทัดก็สามารถวัดความสูงของกล้าไม้ได้ นอกจากนี้ความสูงของกล้าไม้ยังเป็นตัวชี้วัดความสามารถในการสังเคราะห์ด้วยแสงของกล้าไม้ และมีความสัมพันธ์กับพื้นที่คายน้ำของกล้าไม้ด้วย เนื่องจากความสูงของกล้าไม้มีความสัมพันธ์โดยตรงกับพื้นที่และจำนวนใบ ซึ่งความสัมพันธ์ดังกล่าวค่าความสูงของกล้าไม้จึงน่าจะเป็นตัวชี้วัดถึงการเติบโตของกล้าไม้ได้ดี ซึ่งจากการพิจารณาการเติบโตทางความสูงของกล้าไม้ยูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกันเมื่อทำการย้ายออกปลูกสู่สภาพธรรมชาติครบ 1 และ 2 เดือน พบว่า ในเดือนที่ 1 กล้าทั้งหมดมีขนาดความสูงใกล้เคียงกัน โดยกล้ายูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบ TIS แบบขวดคู่มีการเติบโตทางด้านความสูงเฉลี่ยมากที่สุด รองลงมาได้แก่กล้าที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบ TIS แบบขวดสองชั้น ระบบอาหารกึ่งแข็ง และระบบอาหารเหลว เท่ากับ 4.96, 4.91, 4.85 และ 4.82 เซนติเมตร ตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดการทดลองในเดือนที่ 2 พบว่ามีลักษณะการเติบโตเช่นเดียวกับในเดือนที่ 1 (ตารางที่ 7-8 และภาพที่ 15-16) จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการเติบโตทางความสูง (ตารางผนวกที่ 7) พบว่ากล้าไม้ที่ได้มาจากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบการเพาะเลี้ยงที่ต่างกันมีการเติบโตทางความสูงแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

**ตารางที่** 7 เปอร์เซนต์การรอดตาย และความสูงของกล้ายูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบที่แตกต่างกันเมื่ออายุ 1 เดือน

| ระบบ | อัตราการรอดชีวิต (%) | ความสูง (ซม.) |
|---|---|---|
| อาหารกึ่งแข็ง | 93 | 4.85 |
| อาหารเหลว | 90 | 4.82 |
| TIS แบบขวดสองชั้น | 92 | 4.91 |
| TIS แบบขวดคู่ | 91 | 4.96 |
| F-test | | 0.241 $^{NS}$ |

**หมายเหตุ** $^{NS}$ มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

**ตารางที่ 8** เปอร์เซนต์การรอดตาย และความสูงของกล้ายูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบที่แตกต่างกันเมื่ออายุ 2 เดือน

| ระบบ | อัตราการรอดชีวิต (%) | ความสูง (ซม.) |
|---|---|---|
| อาหารกึ่งแข็ง | 93 | 12.05 |
| อาหารเหลว | 90 | 11.99 |
| TIS แบบขวดสองชั้น | 92 | 12.07 |
| TIS แบบขวดคู่ | 91 | 12.18 |
| F-test | | 0.339 $^{NS}$ |

**หมายเหตุ** $^{NS}$ มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

**ภาพที่ 15** ลักษณะต้นกล้ายูคาลิปตัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เมื่อทำการย้ายปลูกสู่สภาพแวดล้อมภายนอก อายุ 1 เดือน

ก. กล้ายูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบอาหารแข็ง

ข. กล้ายูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบอาหารเหลว

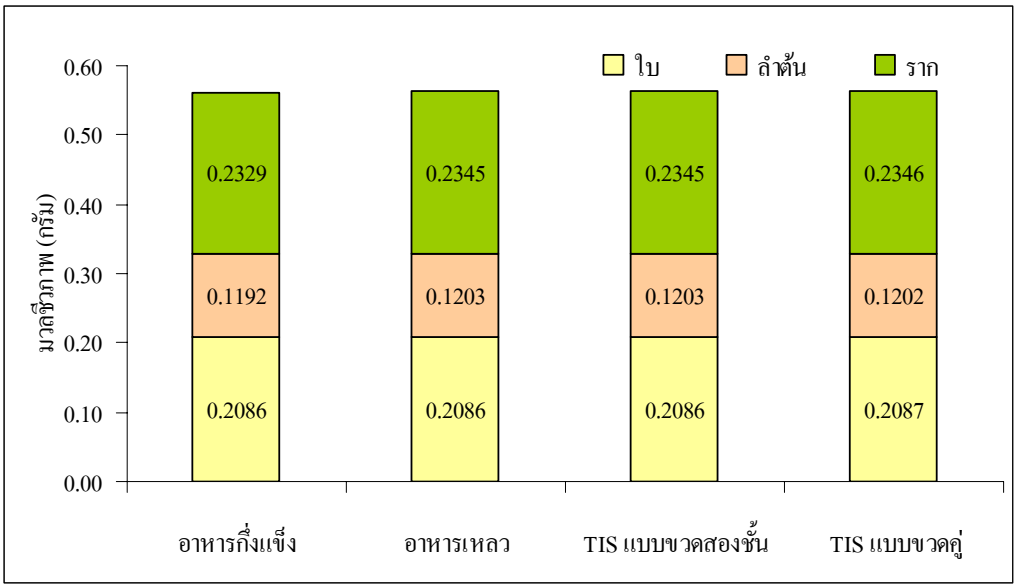
ค. กล้ายูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบ TIS แบบขวดสองชั้น

ง. กล้ายูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบ TIS แบบขวดคู่

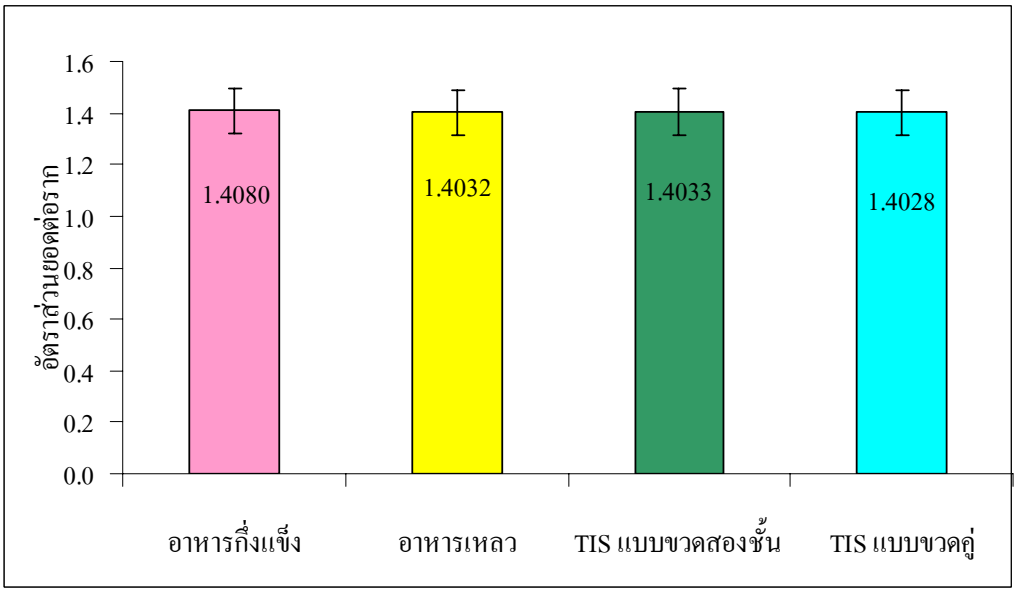
**ภาพที่ 16** ลักษณะต้นกล้ายูคาลิปตัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เมื่อทำการย้ายปลูกสู่สภาพแวดล้อมภายนอก อายุ 2 เดือน
ก. กล้ายูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบอาหารแข็ง
ข. กล้ายูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบอาหารเหลว
ค. กล้ายูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบ TIS แบบขวดสองชั้น
ง. กล้ายูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบ TIS แบบขวดคู่

เมื่อพิจารณามวลชีวภาพและอัตราส่วนของยอดต่อรากของกล้าไม้ซึ่งสามารถใช้เป็นดัชนีวัดการเติบโตได้อีกรูปแบบหนึ่งนั้น กล้าไม้ที่ดีต้องมีความสมดุลระหว่างส่วนยอดและส่วนราก จากการศึกษามวลชีวภาพของกล้ายูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบการเพาะเลี้ยงที่ต่างกันเมื่ออายุได้ 2 เดือน พบว่าจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของมวลชีวภาพรวม (ตารางผนวกที่ 7) ผลผลิตมวลชีวภาพรวม มวลชีวภาพของใบ ลำต้น และราก รวมทั้งอัตราส่วนของยอดต่อรากของกล้ายูคาลิปตัสอายุ 2 เดือนที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบการเพาะเลี้ยงต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 17) โดยทั้งหมดให้อัตราส่วนของยอดต่อรากใกล้เคียงกัน

มีค่าอยู่ระหว่าง 1-2 ซึ่งเป็นสัดส่วนระหว่างเรือนยอดและเรือนรากที่สมดุลย์ แสดงว่ากล้ายูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกันนี้มีการเติบโตที่ดี




(ก)




(ข)

**ภาพที่ 17** มวลชีวภาพของใบ ลำต้น และราก (ก) และอัตราส่วนยอดต่อราก(ข) ของกล้ายูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบการเพาะเลี้ยงที่แตกต่าง เมื่อ อายุ 2 เดือน

**การวิเคราะห์ทางเศรษฐศาสตร์**

ต้นทุนการสร้างและติดตั้งชุดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้วยระบบ TIS แบบขวดคู่ที่พัฒนาขึ้น

ในการศึกษาครั้งนี้ สามารถสร้างและติดตั้งอุปกรณ์ชุดเพาะเลี้ยงด้วยระบบการเพาะเลี้ยง Temporary Immersion ระบบขวดคู่โดยมีชุดภาชนะ 60 ชุด เพื่อใช้ในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอดยูคาลิปตัสซึ่งมีอุปกรณ์ที่จำเป็นได้แก่ ระบบภาชนะ ระบบไฟฟ้า และระบบลม (ภาพที่ 18)

**ภาพที่ 18** การติดตั้งอุปกรณ์ที่จำเป็นของชุดเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIS แบบขวดคู่สำหรับขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอดยูคาลิปตัส

ก. ระบบภาชนะ

ข. ปั๊มลม

ค เครื่องกรองและควบคุมลมอัด

ง. ระบบไฟฟ้า

สำหรับราคาของอุปกรณ์และการทำงานต่างๆมีรายระเอียดดังตารางผนวกที่ 8-10 เมื่อพิจารณาต้นทุนระบบการติดตั้งต่อชุดเพาะเลี้ยงจำนวน 60 ชุด และอุปกรณ์ต่างๆ ซึ่งจากตารางผนวกที่ 11 พบว่า ราคาของชุดเพาะเลี้ยงและอุปกรณ์ทั้งระบบอยู่ที่ 93,190 บาท โดยระบบภาชนะมีราคารวมมากที่สุดคือ 47,400 บาท (51 %) รองลงมาได้แก่ระบบไฟฟ้า และระบบลมมีราคารวมเท่ากับ 24,250 (26%) และ21,540 (23%) บาทตามลำดับ เมื่อพิจารณาต้นทุนค่าเสื่อมราคาของทั้งระบบต่อเดือนพบว่ามีค่าเท่ากับ 1,731 บาท โดยระบบภาชนะมีค่าเสื่อมราคาต่อเดือนมากที่สุดเท่ากับ 1,540 บาทต่อเดือน (89%) รองลงมาได้แก่ระบบไฟฟ้าและระบบลมมีค่าเสื่อมราคาเท่ากับ 101 (6%) และ 90 (5%) บาทต่อเดือนตามลำดับ ซึ่งเมื่อพิจารณาในรายละเอียดตามรายการอุปกรณ์จะพบว่าชุดกรองอากาศมีค่าเสื่อมราคาสูงที่สุดคือ 1,250 บาท หรือคิดเป็น 72 เปอร์เซ็นต์ของค่าเสื่อมราคาทั้งหมดทั้งนี้เนื่องจากอุปกรณ์ชุดกรองนี้มีราคาต่อหน่วยสูง และมีอายุการใช้งานสั้นประมาณ 2 ปี

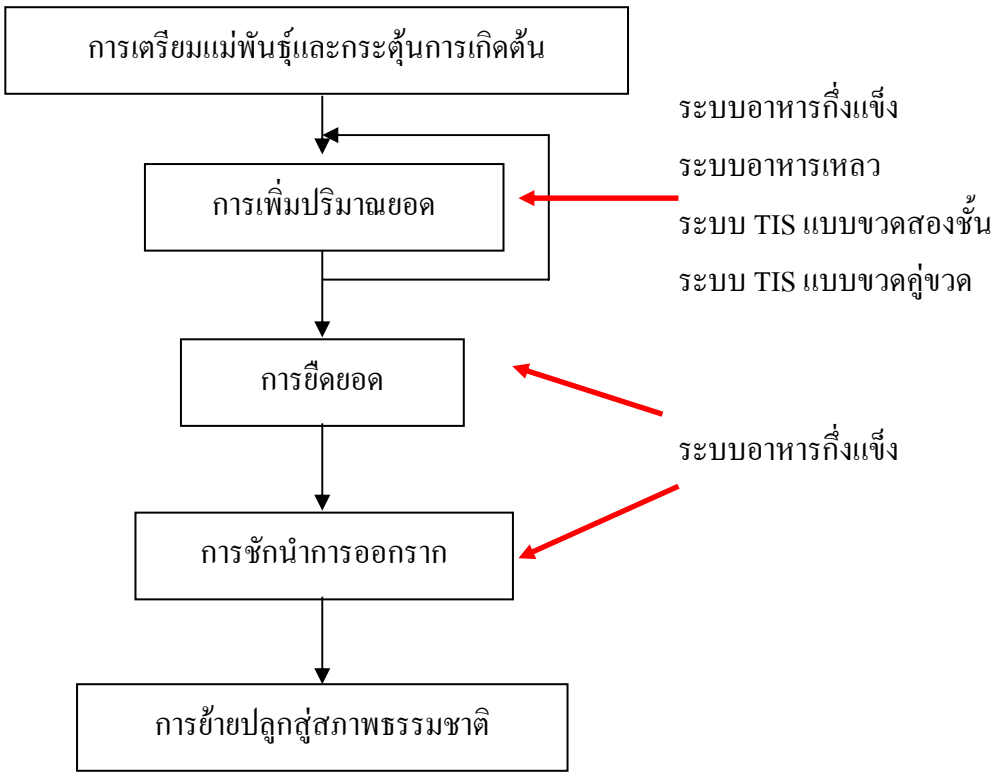
ต้นทุนและผลตอบแทนจากการใช้ระบบการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกันในขั้นตอนการเพิ่มยอดเพื่อการผลิตกล้ายูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส

การศึกษาต้นทุนของการใช้ระบบการเพาะเลี้ยงในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอดแตกต่างกัน 4 ระบบสำหรับใช้เป็นวัตถุดิบในการนำไปผลิตกล้ายูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อซึ่งมี 5 ขั้นตอนสามารถเขียนเป็นแผนการทำงานดังภาพที่ 19 โดยกำหนดให้กำหนดให้ 1 รอบการผลิตใช้ยอดที่ได้จากขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอดในพื้นที่เพาะเลี้ยง 1 ตารางเมตรในระยะเวลา 1 เดือนด้วยระบบการเพาะเลี้ยงที่ต่างกัน คือ ระบบอาหารกึ่งแข็ง ระบบอาหารเหลว ระบบ TIS แบบขวดสองชั้น และระบบ TIS แบบขวดคู่ ส่วนขั้นตอนการยืดยอด และชักนำการออกรากให้นำยอดที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบการเลี้ยงที่ต่างกันมาเลี้ยงด้วยระบบอาหารกึ่งแข็งเหมือนกัน จากนั้นทำการย้ายปลูกและอนุบาลกล้าเป็นเวลา 2 เดือน

การศึกษาต้นทุนการผลิตกล้ายูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส

จากการศึกษาการเพิ่มปริมาณยอดด้วยระบบการเลี้ยงที่แตกต่างกันข้างต้น นำมาคำนวณเป็นจำนวนยอด และต้นกล้ายูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสที่ผลิตได้ต่อ 1 รอบการผลิต ดังตารางผนวกที่ 12 พบว่าระบบอาหารกึ่งแข็งใช้ขวดขนาด 250 มิลลิลิตรหรือ 8 ออนซ์ สามารถวางขวดเลี้ยงในพื้นที่ 1 ตารางเมตรได้ 135 ขวดมีอัตราการผลิตยอดเฉลี่ย 2.15 ยอดต่อเดือนเมื่อใช้

จำนวนยอดเริ่มต้น 5 ยอดต่อขวด จะสามารถผลิตยอดในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอดได้ 1,451 ยอด เมื่อนำยอดที่ได้มาเลี้ยงในขั้นตอนการยืดยอด การชักนำการออกราก และย้ายปลูกสู่สภาพธรรมชาติ จะได้ต้นกล้าจำนวน 993 ต้น ระบบอาหารเหลวทำการเลี้ยงโดยใช้ขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เลี้ยงบนเครื่องเขย่าสามารถวางขวดเลี้ยงในพื้นที่ 1 ตารางเมตรได้ 48 ขวดมีอัตราการผลิตยอดเฉลี่ย 2.32 ยอดต่อเดือน เมื่อใช้จำนวนยอดเริ่มต้น 50 ยอดต่อขวด จะสามารถผลิตยอดในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอด ได้ 5,568 ยอด เมื่อนำยอดที่ได้มาเลี้ยงในขั้นตอนการยืดยอด การชักนำการออกราก และย้ายปลูกสู่สภาพธรรมชาติจะได้ต้นกล้าจำนวน 3,809 ต้น ระบบ TIS แบบขวดสองชั้น ชุดเพาะเลี้ยงขนาด 1,000 มิลลิลิตรสามารถวางชุดเพาะเลี้ยงในพื้นที่ 1 ตารางเมตรได้ 60 ชุด มีอัตราการผลิตยอดเฉลี่ย 5.15 ยอดต่อเดือน เมื่อใช้จำนวนยอดเริ่มต้น 50 ยอดต่อชุดเพาะเลี้ยง จะสามารถผลิตยอดในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอด ได้ 15,450 ยอด เมื่อนำยอดที่ได้มาเลี้ยงในขั้นตอนการยืดยอด การชักนำการออกราก และย้ายปลูกสู่สภาพธรรมชาติจะได้ต้นกล้าจำนวน 10,568 ต้น และระบบ TIS แบบขวดคู่ชุด เพาะเลี้ยงประกอบด้วยขวดขนาด 1,000 มิลลิลิตร 2 ขวด สามารถวางชุดเพาะเลี้ยงในพื้นที่ 1 ตารางเมตรได้ 60 ชุด มีอัตราการผลิตยอดเฉลี่ย 4.75 ยอดต่อเดือน เมื่อใช้จำนวนยอดเริ่มต้น 50 ยอดต่อชุดเพาะเลี้ยง จะสามารถผลิตยอดในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอดได้ 14,250 ยอด เมื่อนำยอดที่ได้มาเลี้ยงในขั้นตอนการยืดยอด การชักนำการออกราก และย้ายปลูกสู่สภาพธรรมชาติจะได้ต้นกล้าจำนวน 9,747 ต้น




**ภาพที่ 19** ขั้นตอนการผลิตกล้ายูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส 1 รอบการผลิตจากการใช้ยอดที่ได้จากการเพิ่มปริมาณยอดด้วยระบบการเพาะเลี้ยงแตกต่างกัน 4 ระบบ

การศึกษาต้นทุนรวมต่อ 1 รอบการผลิตของการใช้ระบบการเพาะเลี้ยงในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอดแตกต่างกัน 4 ระบบโดยใช้ข้อมูลพื้นฐานในตารางผนวกที่ 12-14 สำหรับคำนวณต้นทุนรวม โดยแบ่งประเภทของต้นทุนออกเป็น 2 ประเภท (1) ต้นทุนคงที่ คือ ต้นทุนค่าลงทุน (capital costs) (2) ต้นทุนผันแปร ประกอบด้วย ต้นทุนค่าวัสดุ (material costs) และต้นทุนค่าแรง (labor costs) โดยจำแนกขั้นตอนออกเป็น 3 ขั้นตอนได้แก่ ขั้นตอนการเพิ่มยอด, การยืดยอดและการชักนำราก พบว่าสัดส่วนโครงสร้างของต้นทุนการผลิตกล้าโดยใช้ระบบเพาะเลี้ยงเพื่อการเพิ่มปริมาณยอดที่แตกต่างกันของทั้ง 4 ระบบ มีความแตกต่างกันในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอดโดยการเพิ่มยอดด้วยระบบอาหารเหลว ระบบ TIS แบบขวดสองชั้น และแบบขวดคู่ มีสัดส่วนของต้นทุนค่าลงทุนมากที่สุด รองลงมาคือต้นทุนค่าวัสดุและต้นทุนค่าแรง ตามลำดับ ส่วนการเพิ่มปริมาณยอดด้วยระบบอาหารกึ่งแข็ง มีสัดส่วนของต้นทุนค่าวัสดุมากที่สุด รองลงมาคือต้นทุนค่าแรงและต้นทุนค่าลงทุน ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากการนำระบบอาหารเหลว และระบบ TIS มาใช้ในการเพิ่มปริมาณยอดนั้นต้องลงทุนเริ่มต้นเกี่ยวกับครุภัณฑ์และอุปกรณ์ที่จำเป็นต่อการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เช่น เครื่องเขย่า และชุดเพาะเลี้ยงโดยเฉพาะชุดกรองอากาศซึ่งมีราคาค่อนข้างแพง ส่วน

ขั้นตอนการยืดยอดและชักนำการเกิดรากพบว่าสัดส่วนของต้นทุนเป็นในทางเดียวกันทั้ง 4 ระบบ โดยพบว่ามีสัดส่วนของต้นทุนค่าวัสดุมากที่สุด รองลงมาคือต้นทุนค่าแรงและต้นทุนค่าลงทุนตามลำดับ (ตารางผนวกที่ 15-18)

เมื่อนำต้นทุนรวมต่อ 1 รอบการผลิตของขั้นตอนทั้งหมดของทั้ง 4 ระบบ (ตารางผนวกที่ 15-18) มาเปรียบเทียบกันพบว่าการผลิตกล้าโดยการเพิ่มปริมาณด้วยระบบอาหารแข็งมีต้นทุนรวมต่ำที่สุดเท่ากับ 2,389 บาท จำแนกเป็นต้นทุนค่าลงทุน 741 บาท ต้นทุนค่าวัสดุ 1,134 บาท และต้นทุนค่าแรง 514 บาทตามลำดับ รองลงมาได้แก่ ระบบอาหารเหลว ระบบ TIS แบบขวดคู่ และระบบ TIS แบบขวดสองชั้น เท่ากับ 8, 513, 19,676 และ 25,819 บาทตามลำดับ จำแนกเป็นต้นทุนค่าลงทุน 3,554, 8,582 และ 13,818 บาท ต้นทุนค่าวัสดุ 3,179, 7,056 และ 7,627 บาท และต้นทุนค่าแรง 1,780, 4,038 และ 4,374 บาทตามลำดับ แต่จำนวนกล้าที่ผลิตได้พบว่า ระบบ TIS แบบขวดสองชั้นให้กล้าไม้มากที่สุดเท่ากับ 10,568 ต้น รองลงมาได้แก่ ระบบ TIS แบบขวดคู่ ระบบอาหารเหลว และระบบอาหารแข็งเท่ากับ 9,747, 3,809 และ 993 ต้นตามลำดับ ซึ่งเมื่อคิดต้นทุนต่อกล้าปรากฏว่ากล้าที่ได้จากระบบ TIS แบบขวดคู่ มีต้นทุนต่อกล้าต่ำที่สุดคือ 2.02 บาท รองลงมาได้แก่ต้นกล้าจากระบบอาหารเหลว ระบบอาหารกึ่งแข็ง และ ระบบ TIS แบบขวดสองชั้น เท่ากับ 2.23, 2.41 และ 2.44 บาทตามลำดับ (ตารางที่ 9)

**ตารางที่ 9** ต้นทุนเพื่อการผลิตกล้ายูคาลิปตัสใน 1 รอบการผลิต

| ประเภทของต้นทุน | ระบบการเพาะเลี้ยงที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณยอด | | | |
|---|---|---|---|---|
| | อาหารกึ่งแข็ง | อาหารเหลว | TIS แบบขวดสองชั้น | TIS แบบขวดคู่ |
| **ต้นทุนคงที่ (fixed cost)** | | | | |
| **ต้นทุนค่าลงทุน (capital costs)** | **741** | **3,554** | **13,818** | **8,582** |
| ค่าเช่าพื้นที่ 1 ตารางเมตร (100 บาท/เดือน) | 739.0 | 2,623.0 | 7,032.0 | 6,560.0 |
| ค่าเสียโอกาสเงินลงทุน | | 0.0 | 0.0 | |
| -ค่าเสียโอกาสพื้นที่ | 2.2 | 7.7 | 20.5 | 19.1 |
| -ค่าเสียโอกาสจากการลงทุนครุภัณฑ์ต่างๆ | 0.0 | 224.3 | 994.6 | 271.8 |
| ค่าเสื่อมราคาครุภัณฑ์ | 0.0 | 699.0 | 5771.0 | 1731.0 |
| **ต้นทุนผันแปร (variable cost)** | | | | |
| **ต้นทุนค่าวัสดุ (material costs)** | **1,134** | **3,179** | **7,627** | **7,056** |
| ค่าสารละลายอาหาร | 244.5 | 646.7 | 1878.6 | 1741.3 |
| ค่าวัสดุในขั้นตอนการเตรียมอาหาร/ล้าง | 294.4 | 533.9 | 617.5 | 578.0 |
| ค่าวัสดุในขั้นตอนการถ่ายเนื้อเยื่อ | 70.1 | 211.3 | 502.9 | 464.6 |
| ค่าวัสดุในขั้นตอนการเลี้ยงเนื้อเยื่อ | 276.8 | 834.7 | 1986.1 | 1835.1 |
| ค่าวัสดุปลูก | 248.3 | 952.3 | 2642.0 | 2436.8 |
| **ต้นทุนค่าแรง (labor costs)** | **514** | **1,780** | **4,374** | **4,038** |
| การเตรียมอาหาร/ล้าง | 75.0 | 226.2 | 538.2 | 497.3 |
| การถ่ายเนื้อเยื่อ | 240.1 | 791.7 | 1722.2 | 1591.3 |
| ค่าย้ายปลูกและการดูแลกล้าไม้ | 198.6 | 761.8 | 2113.6 | 1949.4 |
| **ต้นทุนรวม (บาท)** | **2,389** | **8,513** | **25,819** | **19,676** |
| **จำนวนกล้าที่ผลิตได้ (ต้น)** | **993** | **3,809** | **10,568** | **9,747** |
| **ต้นทุนต่อกล้า (บาท/กล้า)** | **2.41** | **2.23** | **2.44** | **2.02** |

สำหรับผลตอบแทนจากการผลิตกล้ายูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสจากการเพิ่มปริมาณยอดด้วยระบบการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน ในการศึกษานี้พิจารณาจากจำนวนกล้าที่ได้จากการชักนำยอดให้เกิดรากและนำออกปลูกสู่สภาพธรรมชาติ โดยคิดจากพื้นที่สำหรับขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอด 1 ตารางเมตร ทำการเพิ่มปริมาณยอดจำนวน 12 ครั้ง เพื่อนำไปผลิตกล้า 12 รอบ

การผลิต (ตารางที่ 10) พบว่า การผลิตยอดจากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบ TIS แบบขวดสองชั้นให้จำนวนยอดต่อ 12 รอบการผลิตมากที่สุดเท่ากับ 185,400 ยอด รองลงมาคือ ระบบ TIS แบบขวดคู่ ระบบอาหารเหลว และระบบอาหารกึ่งแข็งให้จำนวนยอดเท่ากับ 171,000, 66,816 และ 17,412 ยอด ตามลำดับ เมื่อนำมาชักนำให้ออกรากและออกปลูกสู่สภาพธรรมชาติระบบการเพาะเลี้ยงที่ให้จำนวนกล้ามากที่สุดคือระบบ TIS แบบขวดสองชั้น รองลงมาคือระบบ TIS แบบขวดคู่ ระบบอาหารเหลว และระบบอาหารกึ่งแข็งให้จำนวนกล้าเท่ากับ 126,816, 116,964, 45,708 และ 11,916 ต้นตามลำดับ

เมื่อคำนวณจำนวณเงินที่จะได้รับจากการขายกล้ายูคาลิปตัสที่จะผลิตได้จากขั้นตอนเพิ่มยอดในพื้นที่ 1 ตารางเมตรต่อ 12 รอบการผลิต เมื่อกำหนดราคาขายต่อกล้าที่ราคา 5 บาทต่อกล้า พบว่า ผลตอบแทนรวมที่คาดว่าจะได้จากกล้าที่ใช้ระบบ TIS แบบขวดสองชั้นได้จำนวนเงินจากการขายกล้ามากที่สุดเท่ากับ 634,080 บาทรองลงมาได้แก่ระบบ TIS แบบขวดคู่ ระบบ อาหารเหลว และระบบอาหารกึ่งแข็ง เท่ากับ 584,820, 228,540 และ 59,580 บาทตามลำดับ แต่เมื่อพิจารณาถึงผลตอบแทนสุทธิที่จะได้รับกลับพบว่าผลตอบแทนสุทธิจากกล้าที่ใช้ระบบ TIS แบบขวดคู่มีค่ามากที่สุดเท่ากับ 348,711 บาท รองลงมาได้แก่ระบบ TIS แบบขวดสองชั้น ระบบอาหารเหลว และระบบอาหารกึ่งแข็ง มีค่าเท่ากับ 324,249, 126,389 และ 30,913 บาท ตามลำดับ สำหรับระยะเวลาคืนทุนจากการลงทุนซื้ออุปกรณ์ในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอด พบว่า ระบบอาหารกึ่งแข็งมีระยะเวลาในการคืนทุนต่ำที่สุดเท่ากับ 1 รอบการผลิต รองลงมาได้แก่ระบบ TIS แบบขวดคู่ ระบบอาหารเหลว และระบบ TIS แบบขวดสองชั้น มีค่าเท่ากับ 4, 8 และ 13 รอบการผลิต (ตารางที่ 10) แต่เมื่อพิจารณาจำนวนยอดที่ผลิตได้ในพื้นที่ 1 ตารางเมตร และรายได้ต่อ 1 รอบการผลิตระหว่างการเพิ่มปริมาณยอดด้วยระบบอาหารแข็งและระบบ TIS แบบขวดคู่ จะพบว่าระบบ TIS แบบขวดคู่ ให้จำนวนยอดและรายได้มากกว่าประมาณ 10 เท่า หรือจะสามารถลดพื้นที่เพาะเลี้ยงลงได้ประมาณ 10 เท่า เมื่อทำการเพิ่มปริมาณยอดด้วยระบบอาหารกึ่งแข็งเพื่อให้ได้จำนวนยอดและกล้าเท่ากันนั่นเอง

ทั้งนี้ผลที่ได้จากการคำนวณครั้งนี้ มิใช่ผลตอบแทนหรือรายได้ที่ผู้ประกอบการห้องปฏิบัติการขยายพันธุ์พืชด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาดเล็กถึงขนาดกลางพึงได้จากการขยายหรือเพิ่มปริมาณยอดยูคาลิปตัส เพื่อนำไปใช้ผลิตกล้ายูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสสำหรับใช้ในงานปลูกสร้างสวนป่า เนื่องจากปัจจุบันภาคอุตสาหกรรมหรือบริษัทเอกชนขนาดใหญ่ทำการผลิตกล้าด้วยวิธีการปักชำ โดยใช้ต้นแม่พันธุ์ที่ผลิตจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อลดต้นทุนการผลิตกล้า จึงไม่

มีราคาอ้างอิงของการขายกล้ายูคาลิปตัสที่ผลิตได้จากวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยตรง ดังนั้นผู้วิจัยจึงพิจารณาผลตอบแทนจากมูลค่าของกล้าที่ผลิตได้ ซึ่งเป็นผลที่คาดว่าจะเกิดขึ้นในขั้นตอนสุดท้ายจากชิ้นส่วนยูคาลิปตัสที่ใช้ระบบการเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณที่แตกต่างกัน 4 ระบบในพื้นที่เพาะเลี้ยงเท่ากัน (1 ตารางเมตร) โดยคำนวณในระยะเวลา 12 รอบการผลิต เปรียบเทียบว่าเมื่อใช้ระบบการเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณยอดด้วยระบบที่แตกต่างกันจะให้ผลผลิตแตกต่างกันอย่างไร ทั้งนี้เมื่อนำไปคำนวณเป็นรายได้หรือเงินสดแล้ว ทำให้มีมูลค่าแตกต่างกันอย่างไร โดยอยู่บนสมมติฐานว่า กล้ายูคาลิปตัสที่ผลิตได้จากระบบการเพาะเลี้ยงทั้ง 4 มีคุณภาพเหมาะสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์ในการปลูกสร้างสวนป่า

**ตารางที่ 10** ต้นทุนและผลตอบแทนจากการผลิตกล้ายูคาลิปตัสเ มื่อทำการเพิ่มปริมาณยอดในพื้นที่ 1 ตารางเมตร จำนวน 12 รอบการผลิตด้วยระบบการเพาะเลี้ยงการเพิ่มปริมาณยอดแตกต่างกัน

| ต้นทุน | อาหารกึ่งแข็ง | อาหารเหลว | TIS แบบขวด2ชั้น | TIS แบบขวดคู่ |
|---|---|---|---|---|
| ต้นทุนรวมต่อ 1 รอบการผลิต (บาท) | 2,389 | 8,513 | 25,819 | 19,676 |
| ต้นทุนรวมต่อ 12 รอบ (บาท) | 28,667 | 102,151 | 309,831 | 236,109 |
| **ผลได้** | | | | |
| จำนวนยอดที่ได้จากขั้นตอนเพิ่มยอด 1 รอบ (ยอด) | 1,451 | 5,568 | 15,450 | 14,250 |
| จำนวนยอดที่ได้จากขั้นตอนเพิ่มยอด 12 รอบ (ยอด) | 17,412 | 66,816 | 185,400 | 171,000 |
| จำนวนกล้าที่ได้จากขั้นตอนเพิ่มยอด 1 รอบ (ต้น) | 993 | 3,809 | 10,568 | 9,747 |
| จำนวนกล้าที่ได้จากขั้นตอนเพิ่มยอด 12 รอบ (ต้น) | 11,916 | 45,708 | 126,816 | 116,964 |
| ผลตอบแทนจากการขายกล้าต่อ 1 รอบการผลิต (บาท) | 4,965 | 19,045 | 52,840 | 48,735 |
| ผลตอบแทนจากการขายกล้าต่อ 12 รอบ (บาท) | 59,580 | 228,540 | 634,080 | 584,820 |
| **ผลตอบแทนสุทธิ** | **30,913** | **126,389** | **324,249** | **348,711** |
| **ต้นทุนต่อกล้า (บาท/กล้า)** | **2.41** | **2.23** | **2.44** | **2.02** |
| **ระยะเวลาคืนทุน (รอบการผลิต)** | **1** | **8** | **13** | **4** |
| **ระยะเวลาคืนทุน (เดือน)** | **5** | **12** | **17** | **8** |

อย่างไรก็ตามผลการเปรียบเทียบต้นทุนกับผลตอบแทนและผลตอบแทนสุทธิที่ได้ จึงเป็นการชี้ให้เห็นว่าเมื่อนำระบบ TIS มาใช้ในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอด เพื่อประโยชน์ในการผลิตกล้ายูคาลิปตัสจะสามารถเพิ่มผลตอบแทนทั้งจากจำนวนต้นกล้าที่มากขึ้น รวมถึงมูลค่าเป็นตัวเงินหรือรายได้จากกล้าไม้ที่คาดว่าจะได้มากกว่าการใช้ระบบการเพาะเลี้ยงอาหารกึ่งแข็งซึ่งเป็นระบบการเพาะเลี้ยงดั้งเดิมที่มีการใช้โดยทั่วไป เมื่อใช้พื้นที่เพาะเลี้ยงเท่ากัน พบว่าการใช้ระบบ TIS แบบขวดคู่ และระบบอาหารกึ่งแข็งให้ผลตอบแทนสุทธิเป็นบวก (กำไร) ทั้งคู่ แต่ระบบ TIS แบบขวดคู่ให้กำไรมากกว่าระบบอาหารกึ่งแข็ง 10 เท่า เมื่อใช้พื้นที่สำหรับขั้นตอนการเพิ่มปริมาณเท่ากัน ซึ่งจะสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการตัดสินใจเลือกระบบการเพาะเลี้ยงการเพิ่มปริมาณยอดเพื่อผลิตกล้าไม้ยูคาลิปตัสสำหรับใช้ในการปลูกสร้างสวนป่า แต่ในการตัดสินใจลงทุนในอุตสาหกรรมการผลิตกล้าเชิงการค้าในขนาดเล็กถึงขนาดกลางควรศึกษาต่อไปถึงความคุ้มค่าตลอดทั้งกระบวนการผลิตกล้าในโรงเรือนอนุบาลหรือการย้ายปลูกสู่สภาพธรรมชาติ เพื่อให้สามารถนำไปใช้ในการตัดสินใจลงทุนได้ดียิ่งขึ้น ซึ่งควรที่จะศึกษาเพิ่มเติมต่อไป ถึงการใช้ระบบการเพาะเลี้ยง TIS กับขั้นตอนต่างๆ เพื่อก่อให้เกิดประโยชน์ในการใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการตัดสินใจลงทุนมากยิ่งขึ้น

# สรุปและข้อเสนอแนะ

## สรุป

จากการทดลอง ศึกษาการผลิตกล้ายูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยระบบ TIS แบบขวดคู่ในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอด สามารถสรุปผลการทดลองได้ ดังนี้

1. การพัฒนาระบบ TIS แบบขวดคู่ ได้จัดสร้างและติดตั้งระบบด้วยการใช้วัสดุภายในประเทศ ทำให้ต้นทุนของระบบโดยเฉพาะระบบภาชนะถูกกว่าที่ต้องนำเข้า โดยมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกัน

2. การใช้ความถี่ของการให้สารละลายอาหารทุกๆ 8 ชั่วโมง ร่วมกับการใช้ปริมาณอาหาร 100 มิลลิลิตรต่อขวดให้จำนวนยอดมากที่สุด ส่วนช่วงเวลาในการให้สารละลายอาหารร่วมกับจำนวนยอดเริ่มต้นพบว่า การใช้ช่วงเวลาการให้สารละลายอาหารนานครั้งละ 1 นาทีร่วมกับการใช้จำนวนยอดเริ่มต้นที่เหมาะสมคือจำนวน 50 ยอดต่อขวดให้อัตราการผลิตยอดมากที่สุด เมื่อทำการทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการเพาะเลี้ยงด้วยระบบการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกันพบว่า ระบบTIS แบบขวดสองชั้น ให้อัตราการเพิ่มยอดปริมาณยอดมากกว่า ระบบ TIS แบบขวดคู่ อาหารเหลว และอาหารแข็งตามลำดับ

3.. การชักนำการเกิดรากในอาหารมาตรฐานของยูคาลิปตัส สูตร MS ที่ลดความเข้มข้นของปริมาณธาตุอาหารลง 1/6 และเติม NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า สามารถชักนำให้ยอดที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกันสามารถชักนำให้เกิดรากได้มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ และมีจำนวนราก 3.93-4.21 รากต่อต้น ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

4. การย้ายปลูกกล้ายูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยระบบการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน 4 ระบบการเพาะเลี้ยง พบว่า ต้นกล้าที่ได้จากระบบการเพาะเลี้ยงการเพิ่มปริมาณที่แตกต่างกันนั้นมีผลให้ อัตราการรอดตาย มวลชีวภาพ และอัตราส่วนของยอดต่อส่วนรากไม่ต่างกัน

5. การใช้ระบบ TIS แบบขวดคู่ให้กล้ายูคาลิปตัสที่ผลิตได้จากขั้นตอนเพิ่มยอดต่อพื้นที่ 1 ตารางเมตร ต่อ 12 รอบการผลิต เท่ากับ 116,964 ต้น ให้ผลตอบแทนสุทธิมากที่สุด เท่ากับ 348,711 บาท และมีต้นทุนต่อกล้าต่อกล้าต่ำสุดเท่ากับ 2.02 บาทต่อกล้า ในขณะที่การใช้ระบบอาหารเหลว ระบบ TIS แบบขวดสองชั้น และอาหารกึ่งแข็งจะมีต้นทุนต่อกล้าสูงกว่า แสดงให้เห็นว่า การลงทุนใช้ระบบ TIS แบบขวดคู่ จะให้ผลตอบแทนที่มากกว่าการใช้ระบบการเพาะเลี้ยงอื่น เมื่อใช้พื้นที่ในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอด 1 ตารางเมตร ต่อ 12 รอบการผลิต โดยมีระยะเวลาคืนทุนของระบบขวดคู่ (อุปกรณ์และภาชนะ) ที่ใช้กับระบบ TIS เท่ากับ 4 รอบการผลิต หรือระยะเวลาเท่ากับ 8 เดือน ผลการศึกษาที่ได้นี้ สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการตัดสินใจเลือกระบบการเพาะเลี้ยงการเพิ่มปริมาณยอดเพื่อประโยชน์ในการผลิตกล้าไม้ยูคาลิปตัสและพืชชนิดอื่น ๆ ต่อไป

## ข้อเสนอแนะ

การทดลองศึกษาการผลิตกล้ายูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยระบบการเพาะเลี้ยง TIS แบบขวดคู่ในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอด สามารถใช้เป็นแนวทางสำหรับการขยายพันธุ์ซึ่งจะช่วยให้สามารถขยายพันธุ์ไม้ยูคาลิปตัสสายต้นที่มีลักษณะดีให้ได้จำนวนมากในระยะเวลาที่รวดเร็ว และลดต้นทุนค่าแรงในขั้นตอนการปฏิบัติงานและพื้นที่เพาะเลี้ยง อย่างไรก็ดี การทดลองดังกล่าวมีข้อสังเกตที่น่าสนใจศึกษาต่อไป เช่น การประยุกต์ใช้อุปกรณ์ที่มีอยู่ภายในประเทศสำหรับสร้างชุดเพาะเลี้ยงด้วยระบบการเพาะเลี้ยง TIS แบบขวดคู่ โดยเฉพาะส่วนของชุดกรองอากาศซึ่งมีราคาต่อหน่วยสูง และต้องนำเข้าจากต่างประเทศ หากมีการศึกษาพัฒนาวัสดุที่มีภายในประเทศให้มีประสิทธิภาพในการทำงานเท่าเทียมหรือดีกว่าเพื่อทดแทนชุดสำเร็จรูปจากต่างประเทศ จะทำให้ระบบการเพาะเลี้ยงนี้ได้รับความสนใจพัฒนาต่อไป นอกจากนี้ควรทำการศึกษาและปรับปรุงระบบในส่วนของรูปร่าง องค์ประกอบ และปัจจัยที่มีผลต่อการเติบโตของชิ้นส่วนพืชให้สามารถใช้งานได้ง่าย มีประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณและคุณภาพของต้นพืชที่ทำการผลิตด้วย เพื่อรองรับงานด้านการปรับปรุงพันธุ์ การผลิตสารทุติยภูมิจากการเลี้ยงเซลล์ และอวัยวะของพืช ตลอดจนการศึกษาวิธีการอนุบาลกล้าไม้เพื่อให้สามารถผลิตต้นกล้าคุณภาพดีที่จะช่วยส่งเสริมงานขยายพันธุ์ทั้งไม้ยูคาลิปตัส และพืชเศรษฐกิจอื่นๆ ที่และมีลักษณะดีอันจะส่งผลให้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อประสบความสำเร็จและมีประสิทธิภาพสูงสุดได้

# เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมป่าไม้. 2528. **ยูคาลิปตัส**. ปีต้นไม้แห่งชาติ 2528–2531. กรมป่าไม้ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

จรัญ ไทยานนท์. 2546. **เศรษฐศาสตร์การผลิตทางการเกษตร** เล่ม1. ภาควิชาเศรษฐศาสตร์เกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น.

จำนงค์ โพธิสาโร. 2525. การปลูกไม้ยูคาลิปตัสในประเทศไทย, น. 11-13. *ใน* **รายงานการสัมมนาไม้ยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซิส**. กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ.

ชวลิต อุรุพีพัฒนพงศ์ และสวลี ลาชโรจน์. 2527. การศึกษาการใช้ไม้และการตลาดในอนาคต, น. 258-282. *ใน* **รายงานการสัมมนาไม้ยูคาลิปตัสคามาลดูเลนซิส**, 30 ตุลาคม–1 พฤศจิกายน 2527. กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ.

ทัศนีย์ รัติวานิช, อรรณพ อภิชาติบุตร และเพ็ญศรี นามประเสริฐ. 2525. **การผลิตเยื่อซัลเฟตจากไม้ ยูคาลิปตัสคามาลดูเลนซิส**. กองวิจัยผลิตผลป่าไม้ กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ.

ธนิต ยิ่งวรรณศิริ และ ประสิทธิ์ สอาดวุธ. 2525. ยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส, น. 1-17 *ใน* **เอกสารประชุมการ ป่าไม้ประจำปี 2525.** กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ.

เธียรชัย พร้อมมูล. 2527. การเก็บเมล็ดไม้และอัตราการงอกของเมล็ดไม้ยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส. น. 79-89. *ใน* **รายงานการสัมมนาไม้ยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส,** 30 ตุลาคม–1 พฤศจิกายน 2527**.** กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ.

นพมณี โทปุญญานนท์, นรวรา ชัยเลิส และ พรศักดิ์ บุญมณี. 2548. การศึกษาระยะเวลาและจำนวนครั้งในการได้รับอาหารของไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวแบบขวดแฝดในการเพิ่มปริมาณต้นจิ๋วปทุมมาลูกผสม CW06. น. 111-114. *ใน* **รายงานการประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติครั้งที่ 5**. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

นพมณี โทปุญญานนท์, ปวีณา นวมเจริญ, วิภาดา ทองทักษิณ, สุปัน ไม้ดัดจันทร์, รังสิมา อัมพวัน, ทิพย์สุดา ปุกมณี และ พรศักดิ์ บุญมณี. 2548. **การพัฒนาระบบการผลิตต้นปทุมมาต้นทุนต่ำด้วยการใช้ไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว**. มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่.

ประสิทธิ์ สอาดอาวุธ. 2522. ลักษณะทั่วไปของไม้ยูคาลิปตัส, น. 1-13. *ใน* **เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการเล่มที่ 4**. กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ.

พิทยา หิรัญพันธุ์ และ จักรพล จักรพลวรฤทธิ์. 2528. การปลูกไม้ยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซิส โดยระบบวนเกษตร, น. 125-141. *ใน* **รายงานการสัมมนาไม้ยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซิส, 30 ตุลาคม–1 พฤศจิกายน 2527.** กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ.

พัชรินทร์ พันธรักษ์. 2545. **การขยายพันธุ์ยูคาลิปตัสชนิดคามาลดูเลนซิส ซิตริโอโดร่า โคลอีเซียน่า เทอเรทติคอนิสและยูโรฟิลล่า โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

มนตรี ลิ้ม. 2525. ยูคาลิปตัส, ไม้โตเร็วที่ให้ผลคุ้มค่า. **สรุปข่าวธุรกิจ 13 (2)**, น. 22-28.

มนตรี สนิทประชากร. สมศักดิ์ มนัสศรีสุขใส และ สัมฤทธิ์ กิตติธรกุล. 2529. **การปลูกยูคาลิปตัสในประเทศไทย.** สำนักงานส่งเสริมการปลูกป่าภาคเอกชน กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ.

มณฑี โพธิ์ทัย. 2528. **คู่มือการปลูกไม้ยูคาลิปตัส**. องค์การอุตสาหกรรมป่าไม้, กรุงเทพฯ.

ยุพา มงคลสุข, วราพร วีระพลากร และพัชราวดี วัฒนวิกย์กิจ. 2545. การเพิ่มปริมาณยอดบุกไข่ด้วยระบบ Temporary immersion, น. 194-198. *ใน* **การประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 40**. กรุงเทพฯ.

_____, และวิเศษลักษณ์ พงษ์จันทร์. 2543. การขยายพันธุ์กล็อกซิเนีย (*Sinningia speciosa*) โดยระบบ Temporary immersion, น. 387-390. ใน **การประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 38**. กรุงเทพฯ.

รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2540. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**: หลักการและระบบการเพาะเลี้ยง. ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วนิดา สุพรรณเสณี, สมควร สวิตชาต และ ประเชิญ สร้อยทองคำ. 2531. **สีธรรมชาติจากพืชและสัตว์ในประเทศไทย.** เลขที่ ร. 088 กองวิจัยผลิตผลป่าไม้ กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ.

สมบัติ งามเสมอ. 2544. **การผลิตปุ๋ยหมักจากเปลือกไม้ยูคาลิปตัส**. สยามทรีสาร 3 (7): 8-10.

สุชาติ ไทยเพ็ชร. 2528. คุณสมบัติของไม้ยูคาลิปตัสคามาลดูเลนซิสและการใช้ประโยชน์, น. 222 - 224. ใน **รายงานการสัมมนาไม้ยูคาลิปตัสคามาลดูเลนซิส**, 30 ตุลาคม – 1 พฤศจิกายน 2527. กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ

อนิวรรต เฉลิมพงษ์. 2528. โรคที่เป็นอันตรายต่อไม้ยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซิส, น. 151-166. *ใน* **รายงานการสัมมนาไม้ยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซิส.** กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ.

อรุณ ชมชาญ และวินัย ปัญญาธัญญะ. 2528. ไม้ยูคาลิปตัสกับการผลิตถ่าน, น. 249 – 256. *ใน* **รายงานการสัมมนาไม้ยูคาลิปตัสคามาลดูเลนซิส**, 30 ตุลาคม–1 พฤศจิกายน 2527. กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ.

อภิชาติ ขาวสอาด และพิมพ์ใจ อาภาวัชรุฒ. 2535. การขยายพันธุ์ไม้สักโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. น. 154 - 168. *ใน* **สัมมนา 50 ปี สวนสักห้วยทาก เฉลิมพระเกียรติ 60 พรรษา มหาราชินี**, 5–8 สิงหาคม 2535. กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ.

Aitken-Christie, J. and C. Jone. 1987. Towards automation Radiata pine shoot heges *in vitro*. **Plant Cell, Tissue Organ Culture** 8: 185-196.

_____, T. Kozai and S. Takayama. 1995. Automation in plant tissue culture. general introduction and overview. pp. 1-18. *In* J. Aitken-Christie, T. Kozai and M.A.L. Smith, eds. **Automation and Environmental Control in Plant Tissue Culture**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

Akula, A., D. Berker and M. Bateson. 2000. High-yielding repetitive somatic embryogenesis and plant recovery in a selected tea clone, 'TRI-2025', by Temporary Immersion. **Plant Cell Rep**. 19: 1140-1145.

Alvard, D., F. Cote and C. Teisson. 1993. Comparison of methods of liquid medium culture for banana micropropagation. Effects of Temporary immersion of explants. **Plant Cell, Tissue Organ Culture** 32: 55-60.

Berthouly, M. and H. Etienne. 1999. Somatic embryogenesis of coffee. pp. 259-288. *In* Jain, S. M., P.K. Gupta and R.J. Newton, eds. **Somatic Embryogenesis in Woody Plant**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

Bonga, J.M. 1987. **Tissue Culture in Forestry**. Vol 1. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht.

Cabasson, C., D. Alvard, D. Dambier, P. Ollitrault and C. Teisson. 1997. Improvement of *Citrus* somatic embryo development by Temporary immersion. **Plant Cell, Tissue Organ Culture** 50: 33-37.

Chu, I. 1995. Economic analysis of automated micropropagation. pp. 19-27. *In* J. Aitken-Christie, T. Kozai and M.A.L. Smith, eds. **Automation and Environmental Control in Plant Tissue Culture**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

Escalant, J.V., C. Teisson and F. Cote. 1994. Amplified somatic embryogenesis from male flower of triploid banana and plantain cultivars (*Musa* spp.). ***In vitro*** **Cell Dev. Biol.-Plant** 30: 181-186.

Escalona, M., G. Samsan, C. Borroto and Y. Desjardins. 2003. Physiology of effects of temporary immersion bioreactors on micropropagated pineapple plantlets. ***In vitro*** **Cell Dev. Biol.-Plant** 39: 651-656.

Escalona, M., J.C. Lorenzo, B. González, M. Daquinta, J.L. González, Y. Deajardins and C.G. Borroto. 1999. Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) micropropagation in Temporary immersion systems. **Plant Cell Reports** 18: 743-748.

Espinosa, P., J.C. Lorenzo, A. Iglesias, L. Yabor, E. Menéndez, J. Borroto, L. Hernández and A. D. Arencibia. 2002. Production of pineapple transgenic plants assisted by Temporary immersion bioreactors. **Plant Cell Reports** 21: 136-140.

Etienne, D.B., B. Bertrand, N. Vasquez and H. Etienne. 1999. Direct sowing of *Coffea arabica* somatic embryos mass-produced in a bioreactor and regeneration of plants. **Plant Cell Reports** 19: 111-117.

Etienne, H. and M. Berthouly. 2002. Temporary immersion system in plant micropropagation. **Plant Cell, Tissue Organ Culture** 69: 215-231.

_____, M. Lartaud, N. Michaux–Ferriere, M.P. Carron, M. Berthouly and C. Teisson. 1997. Improvement of somatic embryogenesis in *Hevea brasiliensis* (MÜLL. ARG.) using the Temporary immersion technique. ***In vitro*** **Cell Dev. Biol.-Plant** 33: 81-87.

FAO. 1980. **Forestry for Local Community Development**. Forestry Paper No. 7, Rome, Italy.

_____. 1981. **Eucalyptus for Planting**. FAO Forest Series No. 11, Rome, Italy.

González-Olmedo, J.L., Z. Fundora, L.A. Molina, J. Abdulnour, Y. Desjardins and M. Escalona. 2005. New contributions to propagation of pineapple (*Annanas comosus* L. Merr) in Temporary immersion bioreactors. ***In vitro*** **Cell Dev. Biol.-Plant** 41: 87-90.

Hanhineva, K., H. Kokko and S. Kárenlampi. 2005. Shoot regeneration from leaf explants of five strawberry (*Fragaria ×Ananassa*) cultivars in Temporary immersion bioreactor system. ***In vitro*** **Cell Dev. Biol.-Plan**t 41: 826-831.

Harris, R.E. and E.B. Mason. 1983. Two machines for *in vitro* propagation of plants in liquid media. **Can. J. Plant Sci.** 63: 311-316.

Jackson, M.B. 2002. Ventilation of plant tissue culture. pp. 56-57. *In* **Symposium of 1 st International Symposium on Liquid System for *In Vitro* Mass Propagation of Plants**. Cost 843 Working Group. Aas, Norway.

Jiménez, E., N. Pérez, M. de Feria, R. Barbón, A. Capote, M. Chávez, E. Quiala and C. Pérez. 1999. Improved production of potato microtubers using a Temporary immersion system. **Plant Cell, Tissue Organ Culture** 59: 19-23.

Jova, M.C., R.G. Kosky, M.B. Pérez, A.S. Pino, V.M. Vega, J.L. Torres, A.R. Cabrera, M.G. García and J.C. Ventura. 2005. Production of yam microtubers using a Temporary immersion system. **Plant Cell, Tissue Organ Culture** 83: 103-107.

Krueger, S., C. Robacker and W. Simonton. 1991. Culture of *Amelanchier grandiflora* in programmable micropropagation apparatus. **Plant Cell, Tissue Organ Culture** 27: 219-226.

Kyte, L. 1990. **Plant from Test Tube: An Introduction to Micropropagation**. TimberPress. Portland, Oregon.

Lorenzo, J.C., B.L. González, M. Escalona, C. Teisson, P. Espinosa and C. Borroto. 1998. Sugarcane shoot formation in improved Temporary immersion system. **Plant Cell, Tissue Organ Culture** 54: 197-200.

Lorenzo, J.C., M.A. Blanco, O. Peláez, A. González, M. Cid, A. Iglesias, B. González, M. Escalona, P. Espinosa and C. Borroto. 2001. Sugarcane micropropagation and phenolic excretion. **Plant Cell, Tissue Organ Culture** 65: 1-8.

Macdonal, B. 1990. **Practical Woody Plant Propagation for Nursery Growers**. Vol I. Timber Press. Portland, Oregon.

Maene, L.and P. Debergh. 1981. A scheme for commercial propagation of namental plants by tissue culture. **Sci. Hort.** 14: 335-345.

_____ and P. Debergh. 1985. Liquid medium additions to establishe tissue culture to improve elongation and rooting *in vitro*. **Plant Cell, Tissue Organ Culture** 5: 23-33.

Martre, P., D. Lacan, D. Just and C. Teisson. 2001. Physiological effects of Temporary immersion on Hevea brasilliensis (Mull. Arg.) callus. **Plant Cell, Tissue Organ Culture** 67: 25-35.

McAlister, B., J. Finnie, M.P. Watt and F. Blakeway. 2005. Use of the Temporary immersion bioreactor system (RITA®) for production of commercial *Eucalyptus* clones in Mondi Forest (SA). **Plant Cell, Tissue Organ Culture** 81: 347-358.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiol. Plant** 15: 473-479.

Pérez, A., L. Nápoles, C. Carvajal, M. Hernandez and J.C. Lorenzo. 2004. Effect of sugar, inorganic salts, inosital and thiamine on excretion during pineapple culture in Temporary immersion bioreactors. ***In vitro*** **Cell Dev. Biol.-Plant** 40: 311-316.

_____, _____ , J.C. Lorenzo and M. Hernandez. 2003. Protease excretion during pineapple micropropagation in Temporary immersion bioreactors. ***In vitro*** **Cell Dev. Biol.-Plant** 39: 311-315.

Roels, S., M. Escalona, I. Cejas, C. Noceda, R. Rodriguez, M.J. Canal, J. Sandoval and P. Debergh. 2005. Optimization of plantain (Musa AAB) micropropagation by Temporary immersion system. **Plant Cell, Tissue Organ Culture** 82: 57-66.

Pierik, R.L.M. 1987. ***In Vitro*** **Culture of Higher Plants**. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht.

Preil, W. and T. Hempfling. 2002. Application temporary immersion system in propagation of *Phalaenopsis*. pp. 47-48. *In* **International Symposium on Liquid Systems *In Vitro* Mass Propagation of Plants**. Cost 843 Working Group. Aas, Norway.

Simonton, W., C. Robacker and S. Krueger. 1991. A programmable micropropagation apparatus using cycled medium. **Plant Cell, Tissue Organ Culture** 27: 211-218.

Siripatanadilok, S. and B. Thaiutsa. 1990. **Application of Vegetative Propagation to Improve Timber Yield of Red Gum (*Eucalyptus camaldulensis Dehnh*.)**. Dep. Forest Biology, Fac. Forestry, Kasetsart Univ. Report No. 1, Bangkok. 10 p.

Steward, F.D., S. Caplin and F.K. Millar. 1952. Investigations on growth and metabolism of plant cells. I. New technique for the investigations of metabolism, nutrition and growth in undifferentiated cell. **Ann. Bot**. 16: 57-77.

Murch, J.S., L. Chunzhao, M.R. Rosaura and K.S. Praren. 2004. *In vitro* culture and Temporary immersion biorectors producrion of Crescetia cujete. **Plant Cell, Tissue Organ Culture** 78: 63-68.

Teisson, C. and D. Alvard. 1995. A new concept of plant *in vitro* cultivation liquid medium: Temporary immersion. pp 105 – 110. *In* M. Terzi, R. Cella, and A. Falavigna, eds. **Current Issues in Plant Molecular and Cellular Biology**. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht.

Teisson, C. and D. Alvard. 1999. *In vitro* production of potato microtubers in liquid medium using Temporary immersion. **Potato Research** 42: 499-504.

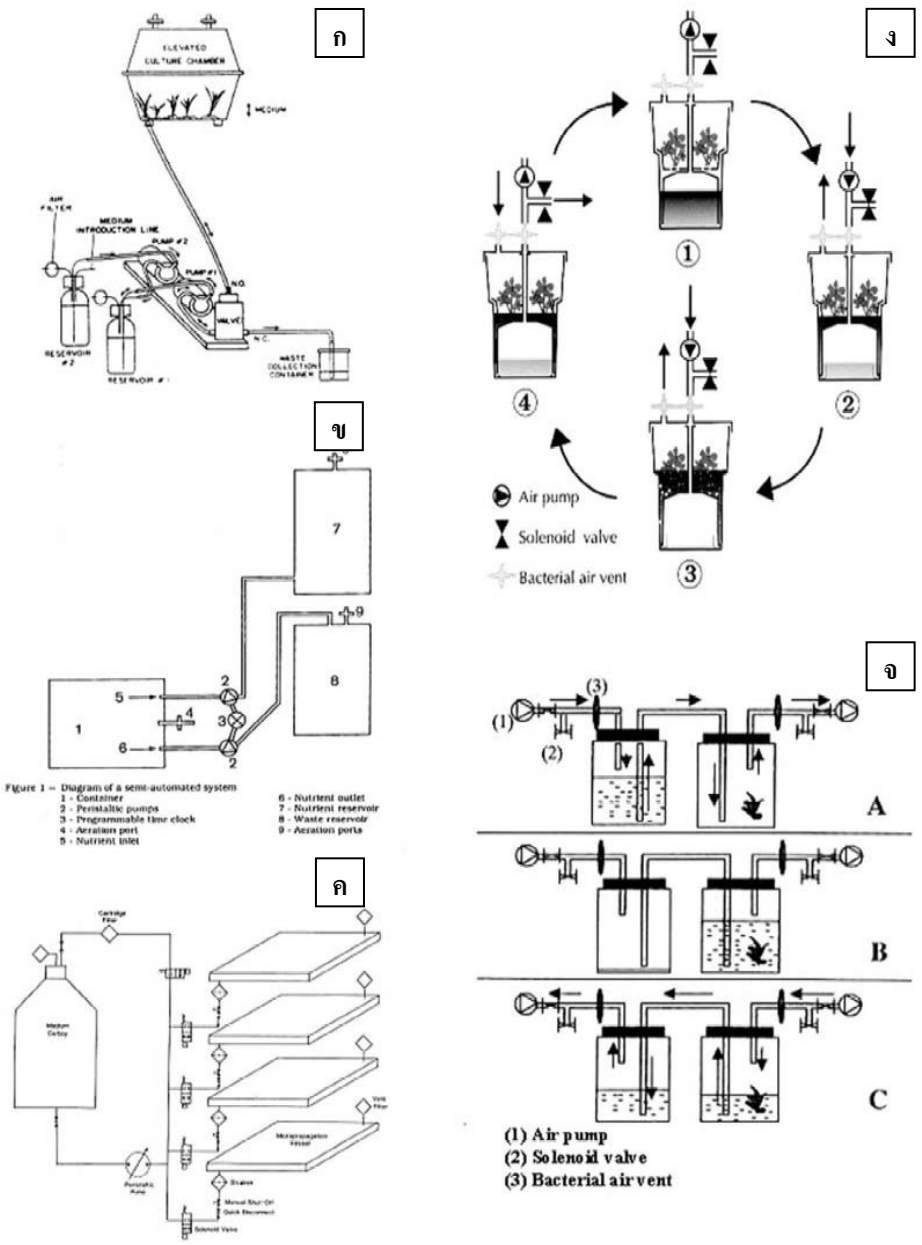
_____, _____, B. Berthouly, F. Cote, J. Escalant, H. Etienne and M. Lartaud. 1996. Simple apparatus to perform plant tissue culture by Temporary immersion. **Acta Horticultureae** 440: 521 – 526.

Tisserat, B. and C.E. Vandercock. 1985. Development of an automated plant culture system. **Plant Cell, Tissue Organ Culture** 5: 107-117.

Zhu, L.H., X.Y. Li and M. Welander. 2005. Optimisation of growing condition for the apple rootsock M26 grown in RITA containers using Temporary immersion principle. **Plant Cell, Tissue Organ Culture** 81: 313-318.

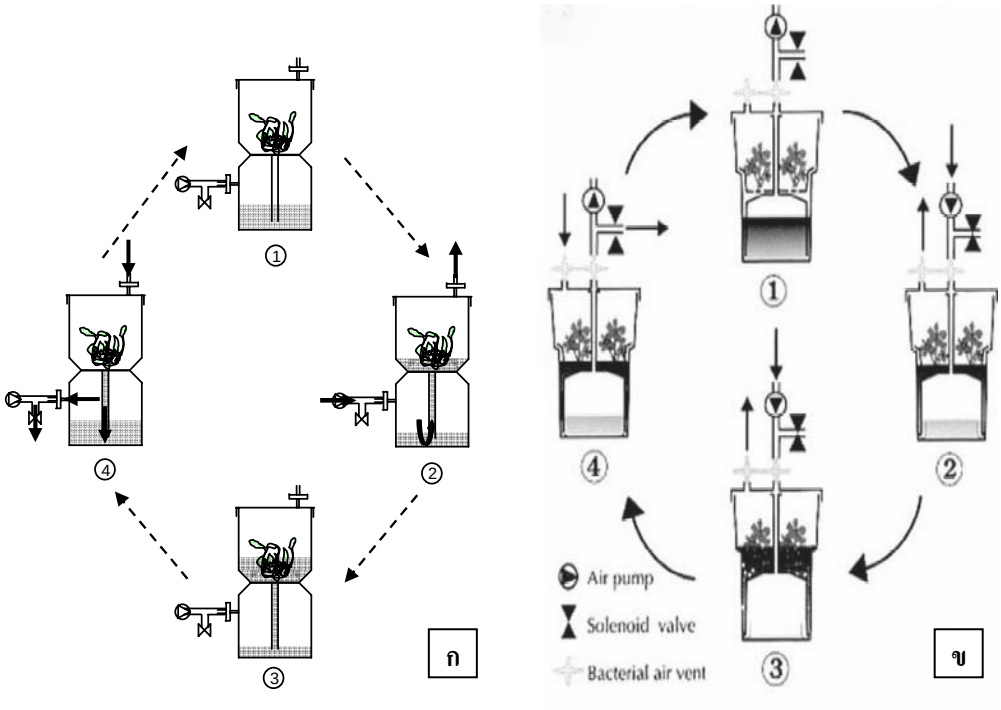
Zobayed, S.M.A., S.J. Murch, H.P.V. Rupasinghe and P.K. Saxena. 2004. *In vitro* production and chemical characterization of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L. cv 'New Stem'). **Plant Science** 166: 333-340.

# ภาคผนวก



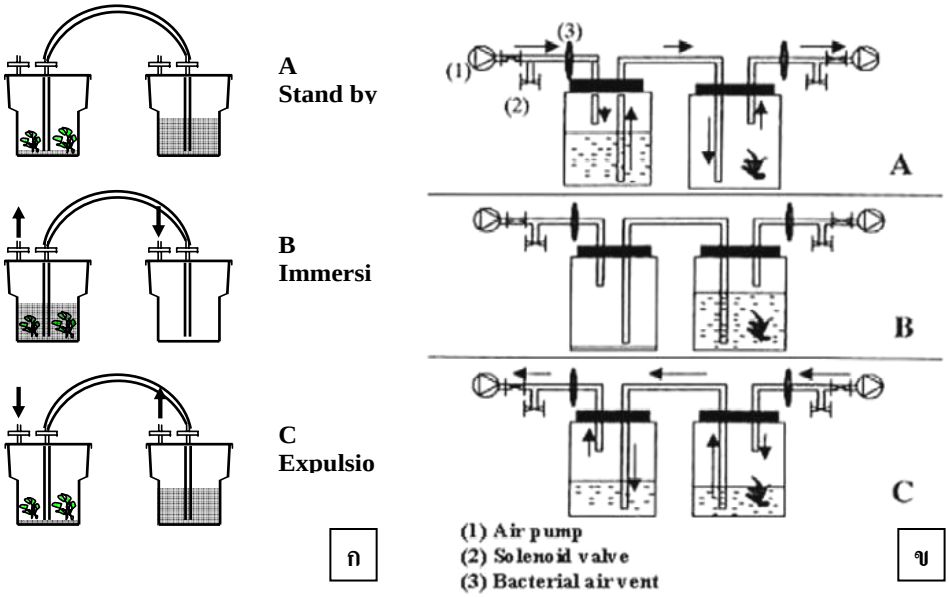

**ภาพผนวกที่ 1** ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้วยเทคนิค TIS

**ที่มา**: Etienne and Berthouly (2002)




**ภาพผนวกที่ 2** การทำงานของระบบ TIS แบบขวดสองชั้น

**ที่มา**: **(ก)** Alvard *et al.*(1993) และ **(ข)** Teisson and Alvard (1995)




**ภาพผนวกที่ 3** การทำงานของระบบ TIS แบบขวดคู่

**ที่มา**: **(ก)** Teisson and Alvard. (1999) และ **(ข)** Escalona *et al.* (1999)

| ความถี่การให้สารละลายอาหาร (ชั่วโมง) | 3 | | 8 | | 4 | | 12 | | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| บล็อคที่ 1 | A | | B | | C | | B | | A |
| | B | | C | | A | | C | | B |
| | C | | A | | B | | A | | C |
| บล็อคที่ 2 | B | | A | | C | | C | | C |
| | C | | B | | A | | B | | A |
| | A | | C | | B | | A | | B |
| บล็อคที่ 3 | C | | A | | B | | A | | B |
| | A | | B | | C | | C | | A |
| | B | | C | | A | | B | | C |
| บล็อคที่ 4 | A | | B | | C | | B | | A |
| | B | | C | | A | | A | | C |
| | C | | A | | B | | C | | B |

**หมายเหตุ** A = ปริมาณของสารละลายอาหารที่ให้ 25 มิลลิลิตรต่อขวด
B = ปริมาณของสารละลายอาหารที่ให้ 50 มิลลิลิตรต่อขวด
C = ปริมาณของสารละลายอาหารที่ให้ 100 มิลลิลิตรต่อขวด

**ภาพผนวกที่ 4** แผนผังการทดลองความถี่ในการให้สารละลายอาหารและปริมาณอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณยอดยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสโดยระบบ TIS แบบขวดคู่ที่พัฒนาขึ้น

| ช่วงเวลาการให้อาหาร (นาที) | 3 | | 1 | | 0.5 | | 1.5 | | 2 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| บล็อคที่ 1 | A | | B | | C | | C | | B |
| | C | | A | | B | | A | | C |
| | B | | C | | A | | B | | A |
| บล็อคที่ 2 | C | | A | | B | | A | | C |
| | A | | C | | C | | C | | B |
| | B | | B | | A | | B | | A |
| บล็อคที่ 3 | C | | C | | C | | A | | B |
| | B | | A | | B | | C | | A |
| | A | | B | | A | | B | | C |
| บล็อคที่ 4 | B | | B | | C | | A | | B |
| | C | | A | | B | | B | | C |
| | A | | C | | A | | C | | A |

**หมายเหตุ** A = จำนวนยอดเริ่มต้น 25 ยอดต่อชุดเพาะเลี้ยง
B = จำนวนยอดเริ่มต้น 50 ยอดต่อชุดเพาะเลี้ยง
C = จำนวนยอดเริ่มต้น 100 ยอดต่อชุดเพาะเลี้ยง

**ภาพผนวกที่ 5** แผนผังการทดลองช่วงเวลาการให้อาหารและจำนวนยอดเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณยอดยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส โดยระบบ TIS แบบขวดคู่ที่พัฒนาขึ้น โดยใช้ความถี่ในการให้สารละลายอาหารและปริมาณอาหารที่เหมาะสมจากการทดลองความถี่ในการให้สารละลายอาหารและปริมาณอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณยอดยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสโดยระบบ TIS แบบขวดคู่ที่พัฒนาขึ้น

**ตารางผนวกที่ 1** การขยายพันธุ์พืชด้วยระบบ TIS ในพืชชนิดต่างๆ ที่มีการศึกษาในต่างประเทศ

| ชนิดพืช | การศึกษา | ระบบ | เวลาให้อาหาร | อัตราการเพิ่มยอดเทียบกับอาหารแข็ง | เอกสารอ้างอิง |
|---|---|---|---|---|---|
| **ผัก สมุนไพรและผลไม้** | | | | | |
| ***Vitis vinifera*** (องุ่น) | การเกิดยอด | TRM | 30 วินาทีทุกๆ 30 วินาที | ยอดมากกว่า 7 เท่า ความยาวยอดและการเกิดรากเกิดได้ดีกว่า | Harris and Mason (1983) |
| ***Callistephus hortensis*** (Aster) | การเกิดยอด | APCS | 5 นาทีทุกๆ 12 ชั่วโมง | มวลชีวภาพของยอดมากกว่า 2 เท่า | Tisserat and Vandercook (1985) |
| ***Musa acuminata*** (กล้วย) | การเกิดยอด | RITA® | 20 นาทีทุกๆ 2 ชั่วโมง | ยอด > 2.5 เท่า และการสะสมน้ำหนักแห้งมากกว่า 2-5 เท่า | Alvard *et al*. (1993) |
| **Triploid banana and plantain** (*Musa* spp.) | การเกิดและพัฒนาเป็นต้นอ่อนจากเซลล์ร่างกาย | RITA® | 1 นาทีทุกๆ 6 ชั่วโมง | ต้นอ่อนมากกว่า 3 เท่า | Escalant *et al.* (1994) |
| ***Hypericum perforatum*** L. cv. 'New Stem' (St. John's wort) | ผลิตเอ นไซม์ (Protease) | RITA® | 5 นาทีทุกๆ 3 ชั่วโมง | จำนวนต้นและปริมาณคลอโรฟิลล์ a, b มากกว่า แต่ปริมาณสารน้อยกว่าการเลี้ยงในอาหารแข็ง | Zobayed *et al.* (2004) |
| ***Musa spp.*** (กล้วย, *Musa* AAB) | การเกิดยอด | - | 4 นาทีทุกๆ 3 ชั่วโมง | ต้นอ่อนมากกว่า13 เท่า ใน 28 วัน | Roels *et al.* (2005) |
| ***Fragaria x ananassa*** (สตรอเบอร์รี่) | การเกิดยอด | RITA® | 5 นาทีทุกๆ 4 ชั่วโมง | ไม่แตกต่างกัน แต่เวลาที่ใช้ในการปฏิบัติงานลดลง 50% | Hanhineva *et al.* (2005) |

**ตารางผนวกที่ 1_(ต่อ)**

| ชนิดพืช | การศึกษา | ระบบ | เวลาให้อาหาร | อัตราการเพิ่มยอดเทียบกับอาหารแข็ง | เอกสารอ้างอิง |
|---|---|---|---|---|---|
| **พืชเศรษฐกิจ** | | | | | |
| ***Potinera* spp.** (กล้วยไม้) | การเกิดยอด | APCS | 5 นาทีทุกๆ 12 ชั่วโมง | น้ำหนักสดของยอดมากกว่า 4 เท่า | Tisserat and Vandercook (1985) |
| ***Coffea arabica*** (กาแฟ) | การเกิดและพัฒนาเป็นต้นอ่อนจากเซลล์ร่างกาย | RITA® | 1 นาทีทุก 24 ชั่วโมง | จำนวนต้นอ่อนมากกว่า 2 เท่า<br>90% พัฒนาเป็นต้นอ่อนระยะ Torpedo (ในอาหารเหลว มี 30%) | Etienne *et al.* (1997) |
| ***Saccharum* spp.** (อ้อย) | การเกิดยอด | TWF | 2 นาทีทุกๆ 9 ชั่วโมง | จำนวนยอดมากกว่า 2 เท่า<br>ลดต้นทุนการผลิตได้ประมาณ 46 % | Lorenzo *et al.* (1998) |
| ***Solanum tuberosum*** (มันฝรั่ง) | การเกิดหัว | TWF | - | ประมาณ 2.6<br>(1). ความยาวของยอดเพิ่มขึ้น 3 เท่า<br>( 2) จำนวนข้อปล้อง/ชิ้น | Jimenez *et al.* (1999) |
| ***Solanum tuberosum*** (มันฝรั่ง) | การเกิดหัว | RITA® | - | ประมาณ 4<br>30-60 % น้ำหนักสดหัวคือ 0.5 กรัม<br>10-40 % น้ำหนักสดหัว > 0.8 กรัม | Teisson and Alvard (1999) |
| ***Ananas comosus* (L.)** (สับปะรด) | การเกิดยอด | TWF | 2 นาทีทุก 3 ชั่วโมง. | จำนวนยอด > 3 เท่า (อาหารเหลว)<br>> 4 เท่า (อาหารแข็ง) | Escalona *et al.* (1999) |

**ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)**

| ชนิดพืช | การศึกษา | ระบบ | เวลาให้อาหาร | อัตราการเพิ่มยอดเทียบกับอาหารแข็ง | เอกสารอ้างอิง |
|---|---|---|---|---|---|
| ***Coffea arabica*** | การเกิดและพัฒนาเป็น | RITA® | 15 นาทีทุก 6 ชั่วโมง | จำนวนยอดมากกว่า 2 เท่า | Berthouly *et al.* (1999) |
| ***Coffea canephora*** | ต้นอ่อนจากเซลล์ร่างกาย | | 1นาทีทุก 6 ชั่วโมง | | |
| (กาแฟ) | | | | | |
| ***Coffea arabica*** | การเกิดและพัฒนาเป็น | RITA® | 1 นาทีทุกๆ 12 ชั่วโมง | 1. 90% พัฒนาเป็นต้นอ่อนระยะ | Etienne *et al.* (1999) |
| (กาแฟ) | ต้นอ่อนจากเซลล์ร่างกาย | | (พัฒนาเป็นต้นอ่อน) | Torpedo (ในอาหารเหลว มี 30%) | |
| | | | 5 นาทีทุกๆ12 ชั่วโมง | 2. 75% เป็นต้นกล้าสมบูรณ์เมื่อหว่าน | |
| | | | (พัฒนาเป็นต้นสมบูรณ์) | ลงวัสดุปลูกโดยตรงในสภาพธรรมชาติ | |
| ***Camellia sinensis* (L.)** | การเกิดและพัฒนาเป็น | RITA® | 1 นาทีทุกๆ6 ชั่วโมง | น้ำหนักสดมากกว่า 2 เท่า | Akula *et al.* (2000) |
| (ชา) | ต้นอ่อนจากเซลล์ร่างกาย | | | ให้จำนวนต้นสมบูรณ์ > 6 เท่า | |
| ***Saccharum* spp.** | การเจริญเติบโตในแปลง | TWF | 2 นาทีทุกๆ 9 ชั่วโมง | การเจริญเติบโตและผลผลิตไม่แตกต่าง | Lorenzo *et al.* (2001) |
| (อ้อย) | | | | กันแต่ลดต้นทุนของกล้าที่ใช้ได้ | |
| ***Saccharum* spp.** | การเกิดยอด | TWF | 2 นาทีทุกๆ 9 ชั่วโมง | การเกิดยอดใหม่เพิ่มขึ้นเมื่อเลี้ยง 30 วัน | Lorenzo *et al.* (2001) |
| (อ้อย) | | | | แต่ลดลงเมื่อเลี้ยง 31- 40 วัน | |
| ***Ananas comosus* (L.)** | Transgenic plant | TWF | - | ชักนำให้เป็นต้นสมบูรณ์ได้ 6.6 % | Espinosa *et al.* (2002) |
| (สับปะรด) | | | | | |

**ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)**

| ชนิดพืช | การศึกษา | ระบบ | เวลาให้อาหาร | อัตราการเพิ่มยอดเทียบกับอาหารแข็ง | เอกสารอ้างอิง |
|---|---|---|---|---|---|
| ***Ananas comosus* (L.)** (สับปะรด) | ผลของกระบวนการทางด้านสรีระต่อต้นพืช | TWF | 2 นาทีทุก 3 ชั่วโมง | การนำธาตุอาหารและการสังเคราะห์ด้วยแสงเกิดได้ดีกว่า ทำให้มีปริมาณน้ำตาลมวลชีวภาพและพื้นที่ใบมากกว่า | Escalona *et al.* (2003) |
| ***Ananas comosus* (L.)** (สับปะรด) | ผลิตเอนไซม์ (Protease) | TWF | 2 นาทีทุก 3 ชั่วโมง | พบการปล่อย Protease ลงในอาหารในช่วงที่เลี้ยงในอาหารยืดยอด ( GA 2.8 uM และ BA 2.2 uM) | Perez *et al.* (2004) |
| ***Ananas comosus* (L.)** (สับปะรด) | ผลิตเอนไซม์ (Protease) | TWF | 2 นาทีทุก 3 ชั่วโมง | น้ำตาลซูโครส 262.8 m*M* ในอาหารสูตรMS ที่มี thiamine 0.3 m*M* และไม่เติมinositol คือสูตรที่ให้ปริมาณสารมากที่สุด | Perez *et al.* (2004) |
| ***Ananas comosus* (L.)** (สับปะรด) | การเกิดยอด | TWF | 2 นาทีทุก 3 ชั่วโมง | การเพิ่มของมวลชีวภาพ พื้นที่ใบของตา ปริมาณคลอโรฟิลล์ มากกว่าและลดต้นทุนการผลิต | González *et al.* (2005) |
| ***Dioscorea* spp.** (มันเทศ) | การเกิดหัว | TWF | 10 นาทีทุก 6 ชั่วโมง | จำนวนหัวมากกว่าและหัวมีน้ำหนักมากกว่าสามารถนำไปปลูกได้โดยไม่ต้องปรับสภาพ/เก็บรักษาได้ยาวนาน | Jova *et al.* (2005) |

**ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)**

| ชนิดพืช | การศึกษา | ระบบ | เวลาให้อาหาร | อัตราการเพิ่มยอดเทียบกับอาหารแข็ง | เอกสารอ้างอิง |
|---|---|---|---|---|---|
| **ไม้ยืนต้น** | | | | | |
| ***Phenix dactylifera*** (อินทผาลัม) | การเกิดและพัฒนาเป็นต้นอ่อนจากเซลล์ร่างกาย | APCS | 5 นาที ทุกๆ 12 ชั่วโมง | น้ำหนักสดของแคลลัส > 3.2 เท่า | Tisserat and Vandercook (1985) |
| ***Mitragyna inermis*** (cow tree) | การเกิดยอด | APCS | 5 นาทีทุกๆ 12 ชั่วโมง | น้ำหนักสดของยอดมากกว่า 1.8 เท่า | Tisserat and Vandercook (1985) |
| ***Pinus radiata*** (สน) | การเกิดยอด | RITA® | 4 ชั่วโมงทุกๆ 3 วัน | น้ำหนักสดของยอดมากกว่า 1.2 เท่า และคุณภาพดีกว่า 2 เท่า | Aitken-Christie and Jones (1987) |
| ***Amelanchierxgrandiflora*** princess Diana' (serviceberry) | การเกิดยอด | Simomton (1991) | 5 นาทีทุกๆ 30 และ 60 นาที | จำนวนยอดมากกว่า 2.6 เท่า น้ำหนักและความยาวยอดมากกว่า 2.1 และ 1.2 เท่าตามลำดับ | Krueger *et al.* (1991) |
| ***Hevea brasiliensis*** (ยางพารา) | การเกิดและพัฒนาเป็นต้นอ่อนจากเซลล์ร่างกาย | RITA® | 1 นาทีทุกๆ 12 ชั่วโมง | 1.ต้นอ่อนเกิดขึ้นพร้อมๆ กัน 2.ต้นอ่อนที่ผิดปกติลดลง50 % | Etienne *et al.* (1997) |
| ***Citrus deliciosa*** (ส้ม) | การเกิดและพัฒนาเป็นต้นอ่อนจากเซลล์ร่างกาย | RITA® | 1 นาทีทุกๆ 4 ชั่วโมง | ช่วยพัฒนาการเกิดอวัยวะต่างๆ ขึ้นพร้อมกัน | Cabassaon *et al.* (1997) |

**ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)**

| ชนิดพืช | การศึกษา | ระบบ | เวลาให้อาหาร | อัตราการเพิ่มยอดเทียบกับอาหารแข็ง | เอกสารอ้างอิง |
|---|---|---|---|---|---|
| ***Hevea brasiliensis*** (ยางพารา) | ผลของกระบวนการทางด้านสรีระต่อแคลลัส | RITA® | 1 นาที ทุกๆ 1, 12 และ 24 ชั่วโมงต่อวัน | 1.ช่วงเวลาการให้อาหารมีผลต่ออัตราการเติบโตสัมพัทธ์<br>2. เอนไซม์ Superoxidase และ Lipid peroxidase เพิ่มขึ้นในช่วงได้อาหาร | Martre *et al.* (2001) |
| ***Crescentia cujete*** (Calabash tree) | การเกิดยอด | RITA® | 3 นาทีทุกๆ 3 ชั่วโมง | การเพิ่มของมวลชีวภาพ จำนวนใบ ความยาวของยอด คุณภาพของสาร | Murh *al.* (2004) |
| ***Malus domestica*** Borkh. (แอปเปิล) | การเกิดยอด | RITA® | 16 ครั้งต่อวัน<br>8 ครั้งต่อวัน | 1.ให้อัตราการเพิ่มยอดสูงสุด<br>2. ให้ความยาวยอดมากที่สุด<br>การออกราก 90 % | Zhu *et al.* (2005) |
| ***Eucalyptus* spp.** (ยูคาลิปตัส) | การเกิดยอด | RITA® | 30 วินาทีทุก 10 นาที | ประมาณ 2 เท่า โดยใช้เวลาเพียงครึ่งหนึ่งของเวลาที่ใช้ในอาหารแข็ง | McAlister *et al.* (2005) |

**หมายเหตุ**

TRM = Tilting and rocker machines

APCS = Automated plant culture System

RITA® = Recipient for Automation Temporary Immersion System

TWF = Twin Flasks System

**ตารางผนวกที่ 2** อาหารสูตรมาตรฐานสำหรับยูคาลิปตัส (Siripatanadilok and Thaiutsa, 1990)

| stock | สารเคมี | สูตร MS6 (mg/l) | สูตรยืดยอด (mg/l) | สูตรเกิดราก (mg/l) |
|---|---|---|---|---|
| | สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตร MS (Murashige & Skoog, 1962) | | | |
| 1 | $NH_4NO_3$ | 1,650 | 1,650 | 1/6 เท่าของการ |
| | $KNO_3$ | 1,900 | 1,900 | เตรียมอาหาร |
| | $CaCl_2.2H_2O$ | 440 | 440 | สูตร MS |
| | $MgSO_4.7H_2O$ | 370 | 370 | |
| | $KH_2PO_4$ | 170 | 170 | |
| 2 | $H_3BO_3$ | 0.62 | 0.62 | |
| | $MnSO_4.4H_2O$ | 16.90 | 16.90 | |
| | $ZnSO_4.7H_2O$ | 8.60 | 8.60 | |
| | KI | 0.850 | 0.850 | |
| | $Na_2MoO_4.2H_2O$ | 0.025 | 0.025 | |
| | $CuSO_4.5H_2O$ | 0.025 | 0.025 | |
| | $CoCl_2.6H_2O$ | 0.0025 | 0.0025 | |
| 3 | $Na_2$-EDTA | 3.724 | 3.724 | |
| | $FeSO_4.7H_2O$ | 2.785 | 2.785 | |
| 4 | Glycine | 2.0 | 2.0 | |
| | Nicotinic acid | 0.50 | 0.50 | |
| | Pyridoxine-HCL | 0.50 | 0.50 | |
| | Thiamine-HCL | 0.10 | 0.10 | |
| | Myo-inositol | 100 | 100 | |
| | **ร่วมกับ** | | | |
| | Kinetin | 0.200 | 0.5 | - |
| | BAP | 0.300 | 0.125 | - |
| | Biotin | 0.100 | 0.025 | - |
| | D-Pan.calcium salt | 0.100 | 0.025 | - |
| | GA3 | - | 0.5 | - |
| | Charcoal | - | 0.5% (0.1)* | - |
| | NAA | - | - | 1 |
| | Sucrose | 2% (0.3)* | 2% (0.3)* | 2% (0.3)* |
| | Agar | 0.8% (0.6)* | 0.8% (0.6)* | 0.8% (0.6)* |

**ตารางผนวกที่ 3** การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดของยูคาลิปตัส ที่เพิ่มปริมาณด้วยระบบ TIS แบบขวดคู่ ที่มีความถี่ในการให้สารละลายอาหาร 3-12 ชั่วโมงและให้ปริมาณสาละลายอาหาร 25-100 มิลลิลิตร เมื่อครบ 2 สัปดาห์ และ 4 สัปดาห์

| Source of Variation | 2 สัปดาห์ | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **df** | **SS** | **MS** | **F** |
| **Main Unit** | | | | |
| Block | 3 | 33.67 | 11.22 | $1.54^{NS}$ |
| Freq. | 4 | 52,618.17 | 13,154.54 | 1,810.95** |
| Error (freq) | 12 | 87.17 | 7.26 | |
| **Sub Unit** | | | | |
| Volume | 2 | 32,140.13 | 16,070.07 | 1,794.42** |
| Freq.×Volume | 8 | 10,836.53 | 1,354.57 | 151.25** |
| Error (Volume) | 30 | 268.67 | 8.96 | |
| Total | 59 | 95,984.33 | | |

| Source of Variation | 4 สัปดาห์ | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **df** | **SS** | **MS** | **F** |
| **Main Unit** | | | | |
| Block | 3 | 43.87 | 14.62 | $1.99^{NS}$ |
| Freq. | 4 | 149,644.77 | 37,411.19 | 5,084.19** |
| Error (freq) | 12 | 88.30 | 7.36 | |
| **Sub Unit** | | | | |
| Volume | 2 | 62,641.30 | 31,320.65 | 1,885.52** |
| Freq.×Volume | 8 | 20,771.03 | 2,596.38 | 156.30** |
| Error (Volume) | 30 | 498.33 | 16.61 | |
| Total | 59 | 233,687.60 | | |

**ตารางผนวกที่ 4** การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดของยูคาลิปตัส ที่เพิ่มปริมาณด้วย TIS แบบขวดคู่ ที่มีช่วงเวลาในการให้สารละลายอาหาร 0.5-3 นาทีต่อครั้ง เมื่อครบ 2 สัปดาห์ และ 4 สัปดาห์

| Source of Variation | 2 สัปดาห์ | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **df** | **SS** | **MS** | **F** |
| **Main Unit** | | | | |
| Block | 3 | 10.98 | 3.7 | $0.7^{NS}$ |
| Flush. | 4 | 1,366.27 | 341.6 | 63.1** |
| Error (flush) | 12 | 64.93 | 5.4 | |
| **Sub Unit** | | | | |
| Buds | 2 | 341,956.69 | 170,978.3 | 33343.6** |
| Flush.×Buds | 8 | 32,517.48 | 4,064.7 | 792.7** |
| Error (Buds) | 30 | 153.83 | 5.1 | |
| Total | 59 | 376,070.18 | | |

| Source of Variation | 4 สัปดาห์ | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **df** | **SS** | **MS** | **F** |
| **Main Unit** | | | | |
| Block | 3 | 7.5 | 2.5 | $0.6^{NS}$ |
| Flush. | 4 | 6,744.7 | 1,686.2 | 391.1** |
| Error (flush) | 12 | 51.7 | 4.3 | |
| **Sub Unit** | | | | |
| Buds | 2 | 538,939.1 | 269,469.6 | 39,725.2** |
| Flush.×Buds | 8 | 124,866.0 | 15,608.2 | 2301.0** |
| Error (Buds) | 30 | 203.5 | 6.8 | |
| Total | 59 | 670,812.58 | | |

**ตารางผนวกที่ 5** การวิเคราะห์ความแปรปรวนของอัตราการผลิตยอดของยอดยูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณยอดด้วยระบบการเพาะเลี้ยงแตกต่างกัน

| ANOVA | SOV | df | SS | MS | F |
|---|---|---|---|---|---|
| การผลิตยอด | Treatment | 3 | 126.826 | 42.275 | 22,090.793** |
| | Error | 36 | 0.069 | 0.002 | |
| | Total | 39 | 126.895 | | |

**ตารางผนวกที่ 6** การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์การเกิดราก และจำนวนรากของยอดยูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณยอดด้วยระบบการเพาะเลี้ยงแตกต่างกัน

| ANOVA | SOV | df | SS | MS | F |
|---|---|---|---|---|---|
| %การออกราก | Treatment | 3 | 0.10 | 0.033 | 0.240 NS |
| | Error | 36 | 5 | 0.139 | |
| | Total | 39 | 5.10 | | |
| จำนวนราก | Treatment | 3 | 0.675 | 0.225 | 0.566 NS |
| | Error | 36 | 14.300 | 0.397 | |
| | Total | 39 | 14.975 | | |

**ตารางผนวกที่ 7** การวิเคราะห์ความแปรปรวนความสูงและมวลชีวภาพรวมกล้ายูคาลิปตัสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณยอดด้วยระบบการเพาะเลี้ยงแตกต่างกัน เมื่ออายุ 1 และ 2 เดือน

| ANOVA | SOV | df | SS | MS | F |
|---|---|---|---|---|---|
| ความสูงของ | Treatment | 3 | 0.348 | 0.116 | 0.241 NS |
| กล้าอายุ 1 เดือน | Error | 116 | 55.845 | 0.481 | |
| | Total | 119 | 56.193 | | |
| ความสูงของ | Treatment | 3 | 0.551 | 0.184 | 0.339 NS |
| กล้าอายุ 2 เดือน | Error | 116 | 62.809 | 0.541 | |
| | Total | 119 | 63.360 | | |
| มวลชีวภาพรวม | Treatment | 3 | 0.000 | 0.000 | 0.035 NS |
| กล้าอายุ 2 เดือน | Error | 116 | 0.044 | 0.001 | |
| | Total | 119 | 0.044 | | |

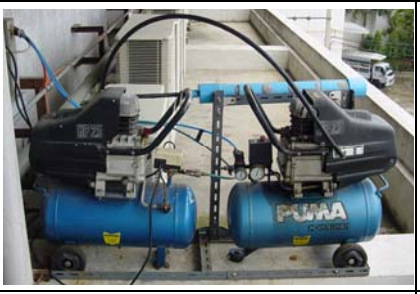
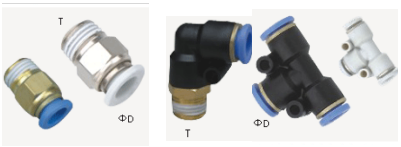
**ตารางผนวกที่ 8** อุปกรณ์ที่จำเป็นในระบบภาชนะสำหรับการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIS แบบขวดคู่

| ลำดับ | ชนิดอุปกรณ์ และการใช้งาน | ภาพตัวอย่าง | ราคา/ชุด (บาท) |
|---|---|---|---|
| 1 | ขวดแก้วใสพร้อมฝา ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร สำหรับระบบขวดคู่ใช้ขวด 2 ขวด คือ ขวดที่ใส่สารละลายอาหารเหลวและขวดที่ใส่ชิ้นส่วนพืช สามารถทนความร้อนเมื่อนำไปนึ่งฆ่าเชื้อได้ | | 12×2 รวม **24** |
| 2 | ระบบฝาปิดประกอบด้วย<br>- แผ่นแสตนเลทหนา 0.3 มม.กลึงให้เป็นแผ่นกลมรัศมี4.3 เซนติเมตร เจาะรู 2 รู ห่างจากศูนย์กลางด้านละ 2 เซ็นติเมตร<br>- ท่อลมขนาด 8 มม. ทำจากทองเหลือง สำหรับนำไปเชื่อมต่อกับแผ่นแสตนเลทสามารถนำไปนึ่ง<br>- ฝาขวดใสและแผ่นยางกันซึม | <br> | 10×2<br>10×4<br>8×2<br>รวม **76** |
| 3 | สายยางซิลิโคน<br>- เป็นสายยางทำจาก Silicone สำหรับเชื่อมต่อขวดอาหารและขวดเพาะเลี้ยง ตลอดจนชุดกรองอากาศเข้าด้วยกัน มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5×8 มม. ใช้ได้กับลม น้ำ และ สามารถนำไปเนื่องฆ่าเชื้อได้ | | 10×4 รวม **40** |
| 4 | ชุดกรองอากาศ<br>สามารถกรองเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ โดยมีขนาดรูพรุน 0.2 ไมโครเมตร นำกลับมาใช้ใหม่ และสามารถนำไปเนื่องฆ่าเชื้อได้ | | 200×3 รวม **600** |

**ตารางผนวกที่ 9** อุปกรณ์ที่จำเป็นในระบบไฟฟ้าสำหรับการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIS แบบขวดคู่

| ลำดับ | ชนิดอุปกรณ์ และการใช้งาน | ภาพตัวอย่าง | ราคา/ชุด (บาท) |
|---|---|---|---|
| 1 | เครื่องควบคุมเวลา<br>- ชนิดหยาบ (24 ชั่วโมง) สามารถตั้งเวลาปิด-เปิดได้ครั้งละ 15 นาที<br>- ชนิดละเอียดสามารถตั้งเวลาปิด-เปิดได้ครั้งละ 1 วินาที มีไฟบอกสถานะการทำงาน มีแผงหน้าปัดสามารถตั้งเวลาและปรับหน่วยเวลาได้ในหน่วยชั่วโมง, นาที และวินาที | <br>ชนิดหยาบ ชนิดละเอียด | 800×5<br>950×10<br>รวม<br>**13,500** |
| 2 | โซลินอยด์วาล์ว<br>- เป็นวาล์วที่ทำงานด้วยไฟฟ้า กระแสสลับ 220 โวลท์ การเปิด-ปิดเพื่อให้ลมไหลเข้าระบบหรือหยุดควบคุมโดยเครื่องควบคุมเวลา | | 500×20<br>รวม<br>**10,000** |

**ตารางผนวกที่ 10** อุปกรณ์ที่จำเป็นในระบบลมสำหรับการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIS แบบขวดคู่

| ลำดับ | ชนิดอุปกรณ์ และการใช้งาน | ภาพตัวอย่าง | ราคา/ชุด (บาท) |
|---|---|---|---|
| 1 | ปั๊มลม<br>เป็นปั๊มลมแห้งแบบไร้น้ำมัน สามารถปล่อยลมอัดไม่ต่ำกว่า 0.2 บาร์ ถังเก็บลมขนาด 25 ลิตร ใช้ไฟฟ้า 220 โวลท์ |  | 5,000×2<br>รวม<br>**10,000** |
| 2 | เครื่องกรองลมอัดและควบคุมลมอัด<br>โดยรวมวาล์วลดความดันและเครื่องกรองลมไว้ด้วยกันใช้งานเป็นเครื่องควบคุมความดัน สำหรับเครื่องกรองมีส่วนกรองน้ำและน้ำมันที่ปนมากับลมอัด มีขนาดรูพรุน 0.01 ไมโครเมตร | | **3,500** |
| 3 | หัวต่อและข้อต่อลม<br>ใช้สำหรับต่อลมอัดจากอุปกรณ์ต่างๆ เข้าด้วยกัน ทั้งชนิดต่อตรง ข้องอ 90 องศา และท่อแยกสามทาง |  | 50×150<br>รวม<br>**7,500** |
| 4 | สายลม<br>เป็นท่อหรือสายนำลมอัดเข้าสู่ระบบโดยต่อเข้ากับอุปกรณ์และวาล์วต่างๆ เป็นสายลมชนิดไนลอน ขนาด 8 มิลลิเมตร ทนความดันได้สูงถึง 140 kgf/cm$^2$ | | **540** |

**ตารางผนวกที่ 11** ต้นทุนต่อชุดเพาะเลี้ยงและอุปกรณ์ที่จำเป็นสำหรับการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIS แบบขวดคู่ จำนวน 60 ชุด

| รายการ | (1) ราคา (บาท) | (2) จำนวน (หน่วย) (60 ชุด) | (3) ราคา (บาท) (1)*(2) | (4) อายุ (เดือน) | (5) ราคาซาก (บาท) | (6) ค่าเสื่อม (บาท/เดือน) [(3)-(5)]/(4) | (7) % ((6)*100) /1,731 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **ระบบภาชนะ** | | | **47,400(51%)** | | | **1,540** | **89** |
| ชุดกรองอากาศ | 200 | 150 | 30,000 | 24 | 0 | 1,250 | **72.2** |
| ฝาแสตนเลส | 80 | 150 | 12,000 | 60 | 0 | 200 | 11.6 |
| -แผ่นสเตนเลส | 10 | | - | | | | |
| -ท่อลม 2 ท่อ | 40 | | - | | | | |
| -ค่าจ้างสร้าง | 30 | | - | | | | |
| ขวดแก้ว | 12 | 150 | 1,800 | 60 | 0 | 30 | 1.7 |
| ฝาขวด | 8 | 150 | 1,200 | 60 | 0 | 20 | 1.2 |
| ท่อยางซิลิโคน | 10 | 240 | 2,400 | 60 | 0 | 40 | 2.3 |
| **ระบบลม** | | | **21,540(23%)** | | | **90** | **5** |
| ปั๊มลม | 5,000 | 2 | 10,000 | 240 | 0 | 42 | 2.4 |
| เครื่องกรองลม | 3,500 | 1 | 3,500 | 240 | 0 | 15 | 0.8 |
| สายลม 8 mm. | 18 | 30 | 540 | 240 | 0 | 2 | 0.1 |
| หัวต่อและข้อต่อ | 50 | 150 | 7,500 | 240 | 0 | 31 | 1.8 |
| **ระบบไฟฟ้า** | | | **24,250(26%)** | | | **101** | **6** |
| สายไฟฟ้า | 750 | 1 | 750 | 240 | 0 | 3 | 0.2 |
| Timerหยาบ | 800 | 5 | 4,000 | 240 | 0 | 17 | 1.0 |
| Timerละเอียด | 950 | 10 | 9,500 | 240 | 0 | 40 | 2.3 |
| โซลินอยด์วาล์ว | 500 | 20 | 10,000 | 240 | 0 | 42 | 2.4 |
| **รวมเป็นเงินทั้งหมด** | | | **93,190** | | | **1,731** | 100 |

**ตารางผนวกที่ 12** จำนวนยอด และ ต้นกล้ายูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีสที่คาดว่าจะผลิตได้ต่อ 1 รอบการผลิต จากการใช้ระบบการเพาะเลี้ยงการเพิ่มปริมาณยอดต่างกัน ในพื้นที่ 1 ตารางเมตร

| ขั้นตอน | เวลาที่ใช้ (สัปดาห์) | จำนวนยอดเริ่มต้น (ยอด) | ผลผลิตต่อชิ้นส่วน (ยอด) | ผลผลิตต่อขั้นตอน (ยอดหรือต้น) | จำนวนยอด/ขวด (ยอด) | จำนวนขวดที่ใช้ (ขวด) | พื้นที่ชั้นเพาะเลี้ยง (เมตร$^2$) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **ระบบการเพาะเลี้ยงอาหารกึ่งแข็ง** | | | | | | | |
| การเพิ่มปริมาณยอด | 4 | 675 | 2.15 | 1,451 | 5 | 135 | 1 |
| การยืดยอด | 4 | 1,451 | 0.8 | 1,161 | 10 | 145 | 1.07 |
| การชักนำการออกราก | 4 | 1,161 | 0.9 | 1,045 | 10 | 116 | 0.86 |
| การย้ายปลูกสู่สภาพธรรมชาติ | 8 | 1,045 | 0.95 | 993 | - | - | - |
| **ระบบการเพาะเลี้ยงอาหารเหลว** | | | | | | | |
| การเพิ่มปริมาณยอด | 4 | 2,400 | 2.32 | 5,568 | 50 | 48 | 1 |
| การยืดยอด | 4 | 5,568 | 0.8 | 4,454 | 10 | 557 | 4.13 |
| การชักนำการออกราก | 4 | 4,454 | 0.9 | 4,009 | 10 | 445 | 3.3 |
| การย้ายปลูกสู่สภาพธรรมชาติ | 8 | 4,009 | 0.95 | 3,809 | - | - | - |

**ตารางผนวกที่ 12** (ต่อ)

| ขั้นตอน | เวลาที่ใช้ (สัปดาห์) | จำนวนยอดเริ่มต้น (ยอด) | ผลผลิตต่อชิ้นส่วน (ยอด) | ผลผลิตต่อขั้นตอน (ยอดหรือต้น) | จำนวนยอด/ขวด (ยอด) | จำนวนขวดที่ใช้ (ขวด) | พื้นที่ชั้นเพาะเลี้ยง (เมตร$^2$) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **ระบบการเพาะเลี้ยง Temporary Immersion ระบบขวดสองชั้น** | | | | | | | |
| การเพิ่มปริมาณยอด | 4 | 3,000 | 5.15 | 15,450 | 50 | 60 | 1 |
| การยืดยอด | 4 | 15,450 | 0.8 | 12,360 | 10 | 1,545 | 11.44 |
| การชักนำการออกราก | 4 | 12,360 | 0.9 | 11,124 | 10 | 1,236 | 9.16 |
| การย้ายปลูกสู่สภาพธรรมชาติ | 8 | 11,124 | 0.95 | 10,568 | - | - | - |
| **ระบบการเพาะเลี้ยง Temporary Immersion ระบบขวดคู่** | | | | | | | |
| การเพิ่มปริมาณยอด | 4 | 3,000 | 4.75 | 14,250 | 50 | 60 | 1 |
| การยืดยอด | 4 | 14,250 | 0.8 | 11,400 | 10 | 1,425 | 10.56 |
| การชักนำการออกราก | 4 | 11,400 | 0.9 | 10,260 | 10 | 1,140 | 8.44 |
| การย้ายปลูกสู่สภาพธรรมชาติ | 8 | 10,260 | 0.95 | 9,747 | - | - | - |

**ตารางผนวกที่ 13** ต้นทุนการดำเนินงานเตรียมอาหารและการถ่ายเนื้อเยื่อ (อุปกรณ์ สารเคมี ค่าไฟฟ้า พลังงาน และน้ำ) ของหน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพเพื่ออุตสาหกรรม สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร

| **ต้นทุนการเตรียมอาหาร** | จำนวน | บาท/ถัง | ใช้ได้ (วัน) | บาท/วัน | ขวดอาหาร/วัน | บาท/ขวด |
|---|---|---|---|---|---|---|
| คลอรอกซ์ | 1 | 250 | 60 | 4.17 | 1,120 | 0.0037 |
| ซันไลต์ | 1 | 329 | 90 | 3.66 | 1,120 | 0.0034 |
| ผงซักฟอก | 1 | 363 | 60 | 6.05 | 1,120 | 0.0054 |
| เดททอล | 1 | 650 | 60 | 10.83 | 1,120 | 0.0097 |
| ถุงขยะ | 1 | 38 | 3 | 2.53 | 1,120 | 0.0023 |

| -ไฟฟ้าและเชื้อเพลิง | จำนวน | วัตต์ | บาท | ชั่วโมง | หน่วย | อาหาร(ลิตร)/วัน | หน่วย/ลิตร | บาท/ขวด |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ตาชั่ง | 1 | 17.60 | | 1.00 | 0.02 | 50.00 | 0.0004000 | 0.000027 |
| autoclave | 1 | 2,000.00 | | 1.50 | 3.00 | 78 ขวด/ ครั้ง | 0.10 | 0.1035 |
| gas | 2 ถัง | | 260.00 | 21.00 | 24.76 | 50.00 | 0.50 | 0.01653 |

| -ค่าน้ำ | 1 ปี(วัน) | ใช้(ลิตร/วัน) | 1ปี(ลิตร) | สึกหรอ/L | ค่าน้ำปะปา | ค่าไฟฟ้า | บาท/ขวด |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| น้ำ RO | 307 | 50 | 15,350 | 0.73 | 0.063 | 0.355 | 0.0383 |

**รวมต้นทุนค่าวัสดุในขั้นตอนการเตรียมอาหาร/ล้าง** **0.1826**

**ตารางผนวกที่ 13** (ต่อ)

| **ต้นทุนการถ่ายเนื้อเยื่อ** | จำนวน | วัตต์ | บาท | ลิตร | ชั่วโมง | บาท | หน่วย/วัน | ขวด/วัน | หน่วย/ขวด | บาท/ขวด |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| -lam.mortor | 1 | 80 | | | 10.00 | | 0.80 | 200 ขวด/ วัน | 0.0040 | 0.0108 |
| -uv | 1 | 18 | | | 2.00 | | 0.04 | 200 ขวด/ วัน | 0.0002 | 0.0005 |
| -fluorescence | 1 | 18 | | | 10.00 | | 0.18 | 200 ขวด/ วัน | 0.0009 | 0.0024 |
| -ใบมีด | 2 | | 5 | | | | | 200 ขวด/ วัน | | 0.0500 |
| -Alc. 95 | 1 | | | 18 | | 560 | 0.200 | 200 ขวด/ วัน | 0.0010 | 0.0311 |
| -Alc. 70 | 1 | | | 18 | | 560 | 0.250 | 200 ขวด/ วัน | 0.0013 | 0.0272 |
| **ต้นทุนการถ่ายเนื้อเยื่อ** | จำนวน | วัตต์ | บาท | ลิตร | ชั่วโมง | บาท | หน่วย/วัน | ขวด/วัน | หน่วย/ขวด | บาท/ขวด |
| -ถุงมือ | 1 | | | 100 | | 220 | 1 | 200 | 0.0050 | 0.0550 |
| **รวมต้นทุนค่าวัสดุในขั้นตอนการถ่ายเนื้อเยื่อ** | | | | | | | | | | **0.1770** |
| **ต้นทุนการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช** | จำนวน | | วัตต์ | | ชั่วโมง | | หน่วย | ยูนิต/เดือน | ยูนิต/เดือน/ขวด | ขวด/เดือน (บาท) |
| -แอร์ห้องเลี้ยง | 5 | | 3,575.00 | | 12.00 | | 214.50 | 6,649.50 | 0.14 | 0.3680 |
| -หลอดไฟชั้น | 335 | | 36.00 | | 16.00 | | 192.96 | 5,981.76 | 0.12 | 0.3311 |
| **รวมต้นทุนค่าวัสดุในขั้นตอนการเลี้ยงเนื้อเยื่อ** | | | | | | | | | | **0.6991** |

**ตารางผนวกที่ 13** (ต่อ)

| **ต้นทุนค่าแรงงาน** | เงินเดือน | เวลาทำงาน(วัน) | ขวด/วัน/คน | พนักงาน | ขวด/เดือน/คน | บาท/ขวด |
|---|---|---|---|---|---|---|
| เตรียมอาหาร/ทำความสะอาด | 4,880 | 23 | 1,120 | 2 | 25,760 | **0.1894** |
| ถ่ายเนื้อเยื่อ | 4,880 | 23 | 350 | 1 | 8,050 | **0.6062** |

**ตารางผนวกที่ 14** ต้นทุนอาหารสูตรมาตรฐานสำหรับยูคาลิปตัสของ Siripatanadilok and Thaiutsa (1990)

| ลำดับ | สารเคมี | (1) ปริมาณ (mg/l) | (2) ราคา (บาท) | (3) บรรจุ (ก./ขวด) | (4) ราคาเฉลี่ย บาท/มก. (2)/(3*1000) | (5) MS6 (บาท/ล.) (4)*(3)[1] | (6) ยืดยอด (บาท/ล.) (4)*(3)[2] | (7) ออกราก (บาท/ล.) (4)*(3)[3] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | $NH_4NO_3$ | 1650 | 941.6 | 500.00 | 0.001883 | 3.1073 | 3.1073 | 0.5179 |
| 2 | $KNO_3$ | 1900 | 695.5 | 1,000.00 | 0.000696 | 1.3215 | 1.3215 | 0.2202 |
| 3 | $CaCl_2.2H_2O$ | 440 | 663.4 | 1,000.00 | 0.000663 | 0.2919 | 0.2919 | 0.0486 |
| 4 | $MgSO_4.7H_2O$ | 370 | 877.4 | 1,000.00 | 0.000877 | 0.3246 | 0.3246 | 0.0541 |
| 5 | $KH_2PO_4$ | 170 | 834.6 | 1,000.00 | 0.000835 | 0.1419 | 0.1419 | 0.0236 |
| 6 | $H_3BO_3$ | 6.2 | 663.4 | 1,000.00 | 0.000663 | 0.0041 | 0.0041 | 0.0007 |
| 7 | $MnSO_4.4H_2O$ | 22.3 | 1,765.0 | 500.00 | 0.003530 | 0.0787 | 0.0787 | 0.0131 |
| 8 | $ZnSO_4.7H_2O$ | 8.6 | 1,230.5 | 500.00 | 0.002461 | 0.0212 | 0.0212 | 0.0035 |
| 9 | KI | 0.83 | 2,033.0 | 1,000.00 | 0.002033 | 0.0017 | 0.0017 | 0.0003 |
| 10 | $Na_2MoO_4.2H_2O$ | 0.25 | 1,819.0 | 1,000.00 | 0.001819 | 0.0005 | 0.0005 | 0.0001 |
| 11 | $CuSO_4.5H_2O$ | 0.025 | 470.0 | 500.00 | 0.000940 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 |
| 12 | $CoCl_2.6H_2O$ | 0.025 | 802.5 | 100.00 | 0.008025 | 0.0002 | 0.0002 | 0.0000 |
| 13 | $Na_2$-EDTA | 37.3 | 663.4 | 250.00 | 0.002654 | 0.0990 | 0.0990 | 0.0165 |
| 14 | $FeSO_4.7H_2O$ | 27.8 | 909.5 | 500.00 | 0.001819 | 0.0506 | 0.0506 | 0.0084 |
| 15 | Glycine | 2 | 588.5 | 250.00 | 0.002354 | 0.0047 | 0.0047 | 0.0008 |
| 16 | Nicotinic acid | 0.5 | 909.5 | 100.00 | 0.009095 | 0.0045 | 0.0045 | 0.0008 |
| 17 | PyridoxineHCL | 0.5 | 1,123.5 | 10.00 | 0.112350 | 0.0562 | 0.0562 | 0.0094 |
| 18 | Thiamine-HCL | 0.1 | 1,284.0 | 25.00 | 0.051360 | 0.0051 | 0.0051 | 0.0009 |
| 19 | Myo-inositol | 100 | 1,391.0 | 100.00 | 0.013910 | 1.3910 | 1.3910 | 0.2318 |
| 20 | Sucrose | 30000 | 23.5 | 1,000.00 | 0.000024 | 0.7062 | 0.7062 | 0.7062 |
| 21 | Agar | 8500 | 12,305.0 | 1,000.00 | 0.001231 | 10.4593 | 10.4593 | 10.4593 |
| 22 | Kinetin | 0.2[1], 0.5[2] | 3959 | 1 | 3.959 | 0.7918 | 1.9795 | - |
| 23 | BAP | 0.3[1],0.125[2] | 1070 | 1 | 1.07 | 0.321 | 0.13375 | - |
| 24 | Biotin | 0.1[1],0.025[2] | 4280 | 1 | 4.28 | 0.428 | 0.107 | - |
| 25 | D- Cal Pan. | 0.1[1],0.025[2] | 2075 | 25 | 0.083 | 0.0083 | 0.002075 | - |
| 26 | GA3 | 0.5[2] | 2782 | 1 | 2.782 | - | 0.1391 | - |
| 27 | Charcoal | 1,000[2] | 556.4 | 1,000 | 0.0005564 | - | 0.5564 | - |
| 28 | NAA | 1[3] | 1605 | 25 | 0.0642 | - | - | 0.0642 |
| ต้นทุนเฉลี่ยต่อลิตร (ระบบการเพาะเลี้ยงอาหารกึ่งแข็ง) | | | | | | 19.6192 | 20.9879 | 12.3804 |
| ต้นทุนเฉลี่ยต่อลิตร (ระบบการเพาะเลี้ยง Temporary Immersion) | | | | | | 9.1599 | 20.9879 | 12.3804 |

**ตารางผนวกที่ 15** ต้นทุนรวมต่อ 1 รอบการผลิตของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส โดยเพิ่มปริมาณยอดด้วยระบบอาหารกึ่งแข็ง

| ประเภทของต้นทุน | ขั้นตอน | | | | | รวม |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | เพิ่มยอด | เพิ่มยอด | ชักนำราก | อนุบาลกล้า | อนุบาลกล้า | |
| **ต้นทุนค่าลงทุน (capital costs)** | **100.29** | **107.31** | **86.25** | **223.65** | **223.65** | **741.16** |
| ค่าเช่าพื้นที่ 1 ตารางเมตร (100 บาท/เดือน) | 100 | 107 | 86 | 223 | 223 | 739.00 |
| ค่าเสียโอกาสเงินลงทุน | | | | | | |
| -ค่าเสียโอกาสพื้นที่ | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.7 | 0.7 | 2.16 |
| -ค่าเสียโอกาสจากการลงทุนครุภัณฑ์ต่างๆ | - | - | - | - | - | 0.00 |
| ค่าเสื่อมราคาครุภัณฑ์ | - | - | - | - | - | 0.00 |
| **ต้นทุนค่าวัสดุ (material costs)** | **443.53** | **245.73** | **196.58** | **248.25** | **0.00** | **1,134.10** |
| ค่าสารละลายอาหาร | 78.4768 | 92.22 | 73.78 | - | - | 244.47 |
| ค่าวัสดุในขั้นตอนการเตรียมอาหาร/ล้าง | 246.78 | 26.477 | 21.18 | - | - | 294.44 |
| ค่าวัสดุในขั้นตอนการถ่ายเนื้อเยื่อ | 23.895 | 25.67 | 20.53 | - | - | 70.09 |
| ค่าวัสดุในขั้นตอนการเลี้ยงเนื้อเยื่อ | 94.3785 | 101.37 | 81.10 | - | - | 276.84 |
| ค่าถุงและวัสดุปลูกถุงละ 0.25 บาท | - | - | - | 248.25 | - | 248.25 |
| **ต้นทุนค่าแรง (labor costs)** | **107.41** | **115.37** | **92.30** | **198.60** | **0.00** | **513.68** |
| การเตรียมอาหาร/ล้าง | 25.57 | 27.47 | 21.98 | - | - | 75.02 |
| การถ่ายเนื้อเยื่อ | 81.84 | 87.90 | 70.32 | - | - | 240.06 |
| ค่าย้ายปลูกกล้าถุงละ 0.2 บาท | - | - | - | 198.60 | - | 198.60 |
| **ต้นทุนรวม (บาท)** | **651.23** | **468.41** | **375.13** | **670.50** | **223.65** | **2,388.93** |

**ตารางผนวกที่ 16** ต้นทุนรวมต่อ 1 รอบการผลิตของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส โดยเพิ่มปริมาณยอดด้วยระบบอาหารเหลว

| ประเภทของต้นทุน | ขั้นตอน | | | | | รวม |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | เพิ่มยอด | ยืดยอด | ชักนำราก | อนุบาลกล้า | อนุบาลกล้า | |
| **ต้นทุนค่าลงทุน (capital costs)** | **1,024** | **414** | **331** | **893** | **893** | **3,554** |
| ค่าเช่าพื้นที่ 1 ตารางเมตร (100 บาท/เดือน) | 100 | 413 | 330 | 890 | 890 | 2,623 |
| ค่าเสียโอกาสเงินลงทุน | | | | | | |
| - ค่าเสียโอกาสพื้นที่ | 0 | 1 | 1 | 3 | 3 | 8 |
| - ค่าเสียโอกาสจากการลงทุนครุภัณฑ์ต่างๆ | 224 | - | - | - | - | 224 |
| ค่าเสื่อมราคาครุภัณฑ์ | 699 | - | - | - | - | 699 |
| **ต้นทุนค่าวัสดุ (material costs)** | **529** | **944** | **754** | **952** | **-** | **3,179** |
| ค่าสารละลายอาหาร | 9 | 354 | 283 | - | - | 647 |
| ค่าวัสดุในขั้นตอนการเตรียมอาหาร/ล้าง | 351 | 102 | 81 | - | - | 534 |
| ค่าวัสดุในขั้นตอนการถ่ายเนื้อเยื่อ | 34 | 99 | 79 | - | - | 211 |
| ค่าวัสดุในขั้นตอนการเลี้ยงเนื้อเยื่อ | 134 | 389 | 311 | - | - | 835 |
| ค่าวัสดุปลูกถุงละ 0.25 บาท | - | - | - | 952 | - | 952 |
| **ต้นทุนค่าแรง (labor costs)** | **153** | **443** | **422** | **762** | **-** | **1,780** |
| การเตรียมอาหาร/ล้าง | 36 | 106 | 84 | - | - | 226 |
| การถ่ายเนื้อเยื่อ | 116 | 338 | 338 | - | - | 792 |
| ค่าย้ายปลูกกล้าถุงละ 0.2 บาท | - | - | - | 762 | - | 762 |
| **ต้นทุนรวม (บาท)** | **1,705** | **1,801** | **1,507** | **2,607** | **893** | **8,513** |

**ตารางผนวกที่ 17** ต้นทุนรวมต่อ 1 รอบการผลิตของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยูคาลิปตัส คามาลดูเลน ซีส โดยเพิ่มปริมาณยอดด้วยระบบ TIS แบบขวดสองชั้น

| ประเภทของต้นทุน | ขั้นตอน | | | | | รวม |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | เพิ่มยอด | ยืดยอด | ชักนำราก | อนุบาลกล้า | อนุบาลกล้า | |
| **ต้นทุนค่าลงทุน (capital costs)** | **6,866** | **1,147** | **846** | **2,479** | **2,479** | **13,818** |
| ค่าเช่าพื้นที่ 1 ตารางเมตร (100 บาท/เดือน) | 100 | 1,144 | 844 | 2,472 | 2,472 | 7,032 |
| ค่าเสียโอกาสเงินลงทุน | | | | | | - |
| ค่าเสียโอกาสพื้นที่ | 0.3 | 3 | 2 | 7 | 7 | 21 |
| ค่าเสียโอกาสจากการลงทุนครุภัณฑ์ต่างๆ | 995 | - | - | - | - | 995 |
| ค่าเสื่อมราคาครุภัณฑ์ | 5,771 | - | - | - | - | 5,771 |
| **ต้นทุนค่าวัสดุ (material costs)** | **272** | **2,618** | **2,095** | **2,642** | **-** | **7,627** |
| ค่าสารละลายอาหาร | 110 | 983 | 786 | - | - | 1,879 |
| ค่าวัสดุในขั้นตอนการเตรียมอาหาร/ล้าง | 110 | 282 | 226 | - | - | 617 |
| ค่าวัสดุในขั้นตอนการถ่ายเนื้อเยื่อ | 11 | 273 | 219 | - | - | 503 |
| ค่าวัสดุในขั้นตอนการเลี้ยงเนื้อเยื่อ | 42 | 1,080 | 864 | - | - | 1,986 |
| ค่าวัสดุปลูกถุงละ 0.25 บาท | - | - | - | 2,642 | - | 2,642 |
| **ต้นทุนค่าแรง (labor costs)** | **48** | **1,229** | **983** | **2,114** | **-** | **4,374** |
| การเตรียมอาหาร/ล้าง | 11 | 293 | 234 | - | - | 538 |
| การถ่ายเนื้อเยื่อ | 36 | 937 | 749 | - | - | 1,722 |
| ค่าย้ายปลูกกล้าถุงละ 0.2 บาท | - | - | - | 2,114 | - | 2,114 |
| **ต้นทุนรวม (บาท)** | **7,186** | **4,995** | **3,925** | **7,235** | **2,479** | **25,819** |

**ตารางผนวกที่ 18** ต้นทุนรวมต่อ 1 รอบการผลิตของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซีส โดยเพิ่มปริมาณยอดด้วยระบบ TIS แบบขวดคู่

| ประเภทของต้นทุน | ขั้นตอน | | | | | รวม |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | เพิ่มยอด | ยืดยอด | ชักนำราก | อนุบาลกล้า | อนุบาลกล้า | |
| **ต้นทุนค่าลงทุน (capital costs)** | **2,103** | **1,059** | **846** | **2,287** | **2,287** | **8,582** |
| ค่าเช่าพื้นที่ 1 ตารางเมตร (100 บาท/เดือน) | 100 | 1056 | 844 | 2280 | 2280 | 6560.00 |
| ค่าเสียโอกาสเงินลงทุน | | | | | | |
| -ค่าเสียโอกาสพื้นที่ | 0.3 | 3.1 | 2.5 | 6.7 | 6.7 | 19.13 |
| -ค่าเสียโอกาสจากการลงทุนครุภัณฑ์ต่างๆ | 271.80 | - | - | - | - | 271.80 |
| ค่าเสื่อมราคาครุภัณฑ์ | 1,731.0 | - | - | - | - | 1731.00 |
| **ต้นทุนค่าวัสดุ (material costs)** | **272** | **2,415** | **1,932** | **2,437** | **-** | **7,056** |
| ค่าสารละลายอาหาร | 110 | 906 | 725 | - | - | 1,741 |
| ค่าวัสดุในขั้นตอนการเตรียมอาหาร/ล้าง | 110 | 260 | 208 | - | - | 578 |
| ค่าวัสดุในขั้นตอนการถ่ายเนื้อเยื่อ | 11 | 252 | 202 | - | - | 465 |
| ค่าวัสดุในขั้นตอนการเลี้ยงเนื้อเยื่อ | 42 | 996 | 797 | - | - | 1,835 |
| ค่าวัสดุปลูกถุงละ 0.25 บาท | - | - | - | 2437 | | 2,437 |
| **ต้นทุนค่าแรง (labor costs)** | **48** | **1,134** | **907** | **1,949** | **-** | **4,038** |
| การเตรียมอาหาร/ล้าง | 11 | 270 | 216 | - | - | 497 |
| การถ่ายเนื้อเยื่อ | 36 | 864 | 691 | - | - | 1,591 |
| ค่าย้ายปลูกกล้าไม้ถุงละ 0.22บาท | - | - | - | 1,949 | - | 1,949 |
| **ต้นทุนรวม (บาท)** | **2,423** | **4,608** | **3,685** | **6,673** | **2,287** | **19,676** |