

คู่มือส่งเสริมการเรียนรู้ด้านพืช

# “การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ไม้ดอกไม้ประดับ”

บ้านวิทยาศาสตร์สิรินธร





## คู่มือส่งเสริมการเรียนรู้ด้านพืช “การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ไม้ดอกไม้ประดับ”

ดร.ธรรธร ทิระขุฑิตี ดร.อรนุช ลีลาพร ดร.ยินดี ชาญวิวัฒนา  
ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (ไบโอเทค)

ลิขิต มณีสินธุ์

นักวิชาการอิสระ

ร่วมกับ

ฝ่ายบริหารค้ายวิทยาศาสตร์

สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.)

กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

# คู่มือส่งเสริมการเรียนรู้ด้านพืช “การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม้ดอกไม้ประดับ”

ISBN: 978-616-12-0371-9

จำนวน 2,000 เล่ม (พิมพ์ครั้งที่ 2 มีนาคม พ.ศ. 2559)

สงวนลิขสิทธิ์ พ.ศ. 2558 ตาม พ.ร.บ.ลิขสิทธิ์ พ.ศ. 2537

โดย ดร.ธราธร ทิรขุทธิติ ดร.อรนุช ลีลาพร ดร.ยินดี ชาญวิวัฒนา

ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (ไบโอเทค)

ลิขิต มณีสินธุ์ นักวิชาการอิสระ

## ร่วมกับ

ฝ่ายบริหารค้ายวิทยาศาสตร์

สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.)

111 อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถนนพหลโยธิน

ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

โทรศัพท์ 0-2529-7100

โทรสาร 0-2529-7147

ไม่อนุญาตให้คัดลอก ทำซ้ำ และดัดแปลง ส่วนใดส่วนหนึ่งของหนังสือฉบับนี้  
นอกจากได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจากเจ้าของลิขสิทธิ์เท่านั้น

Copyright©2015 by:

National Science and Technology Development Agency (NSTDA)

111 Thailand Science Park, Phahonyothin Rd.

Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand

Tel. +66 2529 7100

Fax. +66 2529 7147

คู่มือส่งเสริมการเรียนรู้ด้านพืช “การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม้ดอกไม้ประดับ”/โดย ธราธร ทิรขุทธิติ ...  
[และคนอื่นๆ]. พิมพ์ครั้งที่ 2. ปทุมธานี : สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ, 2558.

56 หน้า : ภาพประกอบ

ISBN : 978-616-12-0371-9

1. การเพาะเลี้ยง (ชีววิทยา) 2. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 3. พืช -- การขยายพันธุ์

I. สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

II. ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

III. ชื่อเรื่อง

QK725

581.538



## ประสานงาน

วิชชานันท์ งามถิ่น

จิตากาญจน์ สีหาราช

พิรุณรัตน์ ปุณยลิขิต

## ออกแบบและสร้างสรรค์ โดย

งานออกแบบ ฝ่ายสื่อวิทยาศาสตร์

สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

# บทนำ



ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีความหลากหลายทางชีวภาพ มีวิถีชีวิตความเป็นอยู่และวัฒนธรรมที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับพืชพรรณต่างๆ มากมาย การปลูกฝังเยาวชนรุ่นใหม่ให้เห็นถึงคุณค่าและความงดงามของพืชพรรณ จนเกิดความสนใจที่จะทำการศึกษาทดลองอย่างง่าย ในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ในโรงเรียน เป็นแนวทางหนึ่งในการบ่มเพาะให้เยาวชนมีจิตสำนึกในการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช คณะผู้จัดทำได้นำพรรณไม้ดอกปทุมมาและหงส์เหินที่อยู่ในวิถีการดำรงชีวิตของไทย และมีการนำไปใช้ประโยชน์เชิงธุรกิจที่มีมาตรฐานการยอมรับในระดับสากล มาเป็นตัวอย่างพืชพรรณไม้ดอกในการสร้างความรู้ ความเข้าใจ เกี่ยวกับหลักการพื้นฐานของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเบื้องต้น

คู่มือส่งเสริม การเรียนรู้ด้านพืช “การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม้ดอกไม้ประดับ” ประกอบด้วย 3 ส่วน คือ ความรู้ทั่วไป ขั้นตอนการลงมือฝึกปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และแนะนำแหล่งเรียนรู้ปทุมมาและหงส์เหินที่จะเป็นต้นแบบของการศึกษาวิชาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและเซลล์พืช เพื่อให้เยาวชนตระหนักในการใช้ประโยชน์จากธรรมชาติอย่างเหมาะสม ตลอดจนการสงวนรักษาไว้เพื่อการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืนของประเทศชาติสืบต่อไป





# สารบัญ

## ตอนที่ 1 5

### ไม้ดอกไม้ประดับกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

- ปทุมมา หงส์เหิน.....ไม้ดอกแห่งสุวรรณภูมิ
- ปทุมมา (Curcuma)
- หงส์เหิน (Globba)

## ตอนที่ 2 14

### เรื่องน่ารู้.... การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

- ทำไม..ต้องมีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
- แนะนำอุปกรณ์ที่จำเป็นต้องใช้
- ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
- ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
  - การเตรียมอาหาร
  - การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนของพืช
  - การเพิ่มจำนวน
  - การชักนำรากพืช
  - การย้ายออกปลูก

## ตอนที่ 3 39

### บทบาทในสังคมไทย กับงานวิจัยเพื่อเพิ่มศักยภาพของปทุมมา และหงส์เหินในตลาดโลก

- เทคโนโลยีการผลิตต้นพันธุ์ปทุมมาและหงส์เหินเพื่อการส่งออก
- ปทุมมา หงส์เหิน.....บทบาทในตลาดโลก

## ตอนที่ 4 47

### แหล่งเรียนรู้ปทุมมาและหงส์เหิน

### เกมทบทวนความรู้ 53

### เอกสารอ้างอิง 54

### สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 55



# ตอนที่ 1

## ไม้ดอกไม้ประดับ กับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

**ม่วงเทพรัตน์** (*Exacum affine* Balf.f. ex Regel) หรือ Persian Violet เป็นไม้ล้มลุก ซึ่งเป็นพืชท้องถิ่นของเกาะโซโคตรา ประเทศเยเมน ในมหาสมุทรอินเดีย ใบมีสีเขียวเข้ม รูปไข่ ยาวไม่เกิน 4 เซนติเมตร ความสูงในสภาพธรรมชาติประมาณ 60 เซนติเมตร ออกดอกในช่วงหน้าร้อน และฤดูใบไม้ผลิ กลีบดอกมีสีม่วงอมฟ้า รูปร่างของดอกเมื่อบานเต็มที่แล้วมีรูปทรงคล้ายดาว มีเกสรตัวผู้สี่เหลี่ยม มีกลิ่นหอมอ่อนๆ

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริของสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) ได้รับพระราชทานเนื้อเยื่อพันธุ์พืชต่างๆ จากสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ให้ขยายพันธุ์ และเก็บรักษาพันธุ์ไว้ โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ได้จากการทูลเกล้าฯ ถวายในวันที่ทรงเปิดงานนิทรรศการเทิดพระเกียรติฯ ณ ศูนย์ประชุมอุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย เมื่อวันที่ 27 มีนาคม พ.ศ. 2551 และในพืชหลายชนิดนั้นพบว่า มีพืชชนิดหนึ่งที่สามารถขยายพันธุ์ต่อได้ดี และสามารถออกดอกในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทาง อพ.สธ. จึงได้ขอพระราชทานชื่อ **exacum** จากสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี และทรงพระราชทานนามว่า “ม่วงเทพรัตน์” ในวันที่ 29 กันยายน พ.ศ. 2552

ที่มา : [www.rspg.or.th](http://www.rspg.or.th), ดร.ปิยรัชฎ์ เจริญทรัพย์ “ดอกไม้งาม ม่วงเทพรัตน์”



### เรื่องน่ารู้

ต้นม่วงเทพรัตน์สามารถขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและออกดอกสวยงามในขวด และสามารถนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติเพื่อเป็นไม้ประดับต่อไป



# ปทุมมา หงส์เหิน ไม้ดอกแห่งสุวรรณภูมิ

ประเทศไทยเป็นแหล่งพันธุกรรมและความหลากหลายที่สำคัญของพืชกลุ่มปทุมมา (*Curcuma sp.*) และ หงส์เหิน (*Globba sp.*) ซึ่งพบกระจายพันธุ์อยู่ทั่วทุกภาคของประเทศ กล่าวได้ว่า พืชทั้งสองกลุ่มนี้

เป็นไม้ดอกพื้นเมืองของไทย ประเทศไทยเป็นประเทศเดียวในโลก ที่มีศักยภาพในการผลิตหัวพันธุ์ และ คัดเลือกพันธุ์เพื่อการส่งออก



แหล่งธรรมชาติที่พบ  
ต้นปทุมมา  
(คณะผู้จัดทำ พ.ศ. 2545 - 2555)



## ปทุมมา (*Curcuma sp.*)

พืชในกลุ่มปทุมมาจัดอยู่ในวงศ์ขิง (Zingiberaceae) สกุลขมิ้น (*Curcuma*) เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว มีลำต้นใต้ดินทำหน้าที่สะสมอาหารที่เรียกว่าเหง้า (Rhizome) ส่วนลำต้นเหนือดินหรือลำต้นเทียม (Pseudostem) เกิดจากการอัดเรียงตัวกันของกาบใบ ลำต้นเทียมที่มีต้นกำเนิดเกิดจากตาข้างของเหง้า นั้นใบเป็นใบเดี่ยวรูปหอกหรือรูปไข่ รากเป็นฝอย โดยมีรากจำนวนหนึ่งสะสมอาหารใกล้ปลายราก ทำให้รากบวมเป็นตุ่มขนาดใหญ่สีขาว การออกดอกเป็นช่อดอก (Inflorescence) ที่ปลายของลำต้นเทียม โดยช่อดอกประกอบด้วยกลีบของกลีบประดับ (Bract) เวียนซ้อนกันเกิดเป็นช่อ กลีบประดับมีสีเขียว เฉพาะส่วนล่างของช่อและมีสีอื่นในส่วนบนของช่อ ซึ่งในสีส่วนบนนี้จะต่างกันไปตามชนิดและพันธุ์ สำหรับกลีบประดับส่วนบนของช่อนั้นยาวกว่ากลีบประดับ

ส่วนล่างเล็กน้อย และไม่มีดอกจริงที่ชอกกลีบประดับ และกลีบประดับส่วนบนนี้มีชื่อว่า Coma bract ซึ่งมีสีหลากหลายและสวยงาม เช่น ขาว ชมพูอ่อน ชมพูแก่ ชมพูอมม่วง และม่วงเข้ม ปทุมมาส่วนใหญ่มีก้านช่อดอก (Flower stalk) ยาวกว่าความสูงของทรงพุ่ม

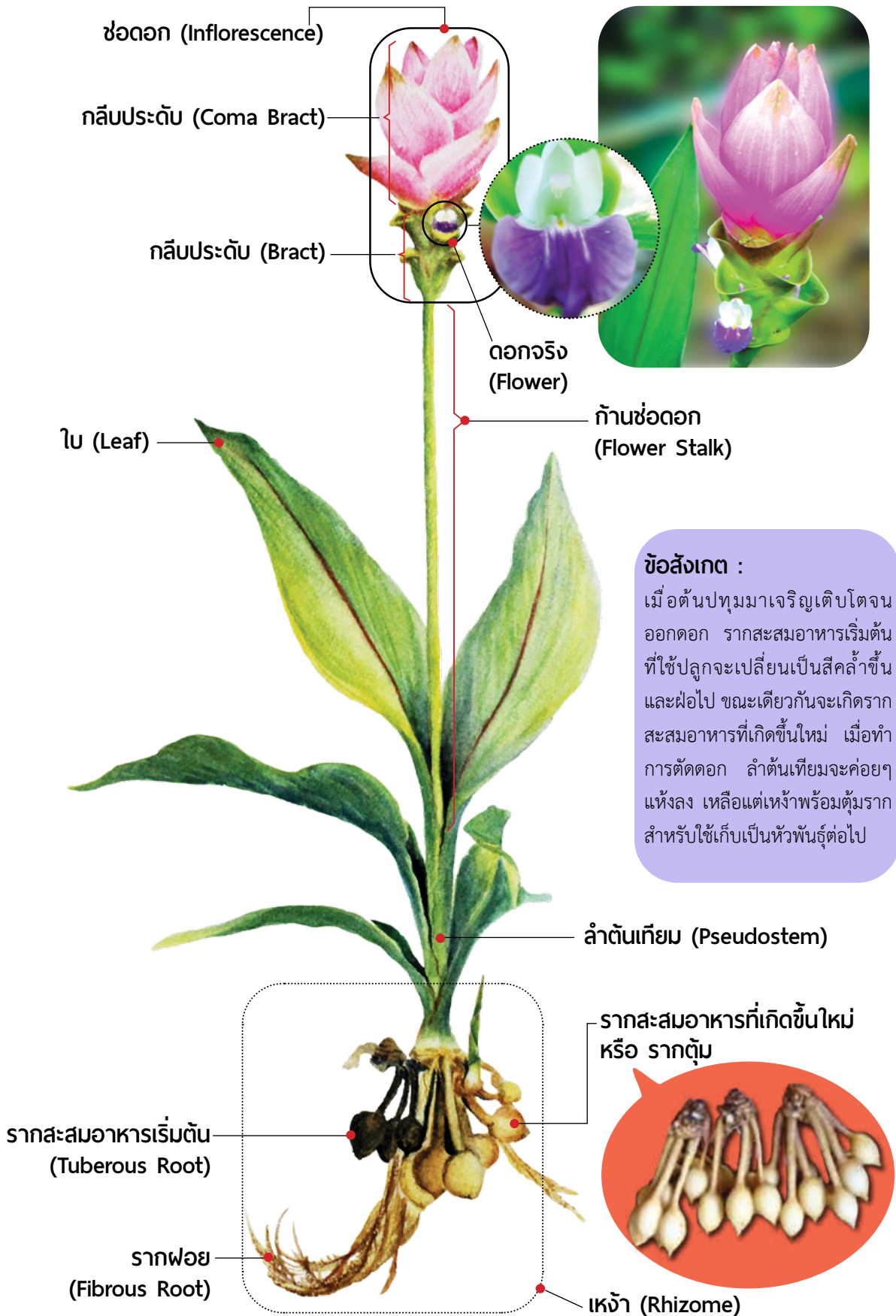
ความสูงของลำต้นเทียมตั้งแต่ 20-100 เซนติเมตร ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ ส่วนดอกจริง (Flower) เป็นดอกที่ไม่มีก้านดอก กลีบดอกและกลีบเลี้ยงสีขาวแต่ปากมีสีม่วงน้ำเงิน

ประโยชน์ของปทุมมา หรือเป็นที่รู้จักในนาม “กระเจียว” นิยมใช้เป็นไม้ดอกจัดแจกันและตกแต่งสถานที่ต่างๆ เนื่องจากดอกปทุมมาอยู่ได้นานหลายวัน นอกจากนี้ยังนิยมใช้เป็นไม้กระถางและประดับสวน





# ส่วนประกอบของต้นปทุมมา (*Curcuma alismatifolia*)



**ข้อสังเกต :**  
 เมื่อต้นปทุมมาเจริญเติบโตจนออกดอก รากสะสมอาหารเริ่มต้นที่ใช้ปลูกจะเปลี่ยนเป็นสีคล้ำขึ้นและฝ่อไป ขณะเดียวกันจะเกิดรากสะสมอาหารที่เกิดขึ้นใหม่ เมื่อทำการตัดดอก ลำต้นเทียมจะค่อยๆแห้งลง เหลือแต่เหง้าพร้อมตุ่มรากสำหรับใช้เก็บเป็นหัวพันธุ์ต่อไป





แปลงผลิตหัวพันธุ์ปทุมมาพันธุ์การค้ากลุ่มเชียงใหม่พิงค์ (*Curcuma alismatifolia*) ในจังหวัดเชียงใหม่

ปทุมมามีความสำคัญในการผลิตเชิงพาณิชย์ มีการส่งออกในรูปแบบหัวพันธุ์สู่ต่างประเทศ ปีละไม่ต่ำกว่า 2 ล้านหัวต่อปี มูลค่า 15-30 ล้านบาทต่อปี พื้นที่ปลูกปทุมมา เพื่อผลิตหัวพันธุ์เพื่อการส่งออกมีประมาณ 200 ไร่ ในเขตจังหวัดเชียงใหม่ ปัจจุบันพันธุ์ที่เหมาะสมในการผลิตเชิงการค้ามากที่สุด คือ ปทุมมาเชียงใหม่พิงค์



ปทุมมาสายพันธุ์การค้า (กลุ่มเชียงใหม่พิงค์) เรียงตามลำดับหมายเลข ดังนี้

1. พันธุ์ขาวปลายแดง (White Red Tip)
2. พันธุ์เพลพิงค์ (Pale Pink)
3. พันธุ์เชียงใหม่พิงค์ (Chiang mai Pink)
4. พันธุ์เชียงใหม่เรด (Chiang mai Red)
5. พันธุ์บิ๊กเรด (Big Red)





การผลิตปทุมมาเป็นไม้ดอกไม้ประดับในประเทศไทยสามารถแบ่งได้เป็น 3 ประเภทคือ การผลิตหัวพันธุ์ การผลิตปทุมมาตัดดอก และปทุมมาถุง ซึ่งมีการผลิตจากเกษตรกร ดังนี้

## การผลิตหัวพันธุ์

พันธุ์ที่สำคัญที่ผลิตหัวพันธุ์จะยึดหลักผลิตพันธุ์ที่สามารถส่งออกต่างประเทศได้ เช่น กลุ่มเชียงใหม่พิงค์ ซึ่งยังคงมีการผลิตเป็นอันดับหนึ่งประมาณ 60-70% ของการผลิตทั้งหมดเนื่องจากยังคงเป็นพันธุ์ที่นิยมที่สุดในต่างประเทศ



หัวพันธุ์ปทุมมา

หัวพันธุ์ที่เกษตรกรผลิตได้จะคัดเกรดออกเป็น 2 เกรดหลัก คือเกรดส่งออก และหัวพันธุ์ตกรวดส่งออกไปไม่ได้ ซึ่งเกษตรกรใช้เป็นแม่พันธุ์สำหรับผลิตในปีต่อไป และจำหน่ายให้กับผู้ผลิตปทุมมาถุง (ไม้กระถาง) ในประเทศ ประเทศที่เป็นผู้นำเข้าได้แก่ เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น จีน อิตาลี เป็นต้น

## การผลิตปทุมมาตัดดอก

ปทุมมาตัดดอกที่มีจำหน่ายในประเทศได้มาจากผลพลอยได้ของการผลิตหัวพันธุ์ เกษตรกรผู้ผลิตหัวพันธุ์จะเป็นผู้ส่งปทุมมาตัดดอกไปยังตลาดค้าส่งไม้ดอกไม้ประดับในกรุงเทพฯ เช่น ตลาดไท ปากคลองตลาด หรือมีพ่อค้าคนกลางมารับปทุมมาตัดดอกส่งไปจำหน่ายในจังหวัดอื่นๆ

พันธุ์ปทุมมาตัดดอก ที่เป็นที่นิยมในตลาดในประเทศ มักเป็นพันธุ์ใหม่ๆ ซึ่งกลุ่มสีที่นิยมคือ สีขาว สีชมพู เช่น ปทุมรัตน์ มองบลังค์



ปทุมมาตัดดอกในตลาดเชียงใหม่



## การผลิตปทุมมาฤดู

กลุ่มผู้ผลิตรายใหญ่อยู่ที่ อำเภอรูเรือ จังหวัดเลย ซึ่งพันธุ์เชียงใหม่พิงค์ เป็นพันธุ์ที่นิยมมากที่สุดประมาณ 80% ของการผลิต (ข้อมูลปี 2553) โดยฤดูการผลิตเริ่มปลูกในเดือนเมษายน และจำหน่ายผลผลิตตั้งแต่เดือนกรกฎาคมเป็นต้นไปจนถึงเดือนกันยายน

ตามธรรมชาติไม้ดอกกลุ่มปทุมมาเป็นไม้หัวที่มีการพักตัวในช่วงวันสั้น โดยไม้ดอกเหล่านี้จะเริ่มพักตัว หลังช่วงปลายเดือนกันยายนของทุกปี เมื่อสิ้น

ฤดูปลูกปีแรก ไม้ดอกกลุ่มนี้จะพักตัวโดยใบและลำต้นเทียมจะค่อยๆ เหี่ยวลง และยุบหายไปเหลือแต่เหง้าพร้อมตุ่มรากฝังอยู่ใต้ดิน สามารถนำมาปลูกใหม่ในฤดูปลูกปีถัดไปในช่วงปลายเดือนมีนาคม ปกติผู้ปลูกเลี้ยงไม้ดอกมักจะเริ่มปลูกราวกลางเดือนเมษายนถึงต้นเดือนมิถุนายน ขึ้นอยู่กับความสามารถในการจัดการน้ำเพื่อนำมาใช้ในแปลงของเกษตรกรแต่ละราย

### การผลิตปทุมมาในรอบการผลิตหนึ่งปี

เมษายน

พฤษภาคม

มิถุนายน ถึง กันยายน

ตุลาคม ถึง พฤศจิกายน

ธันวาคม

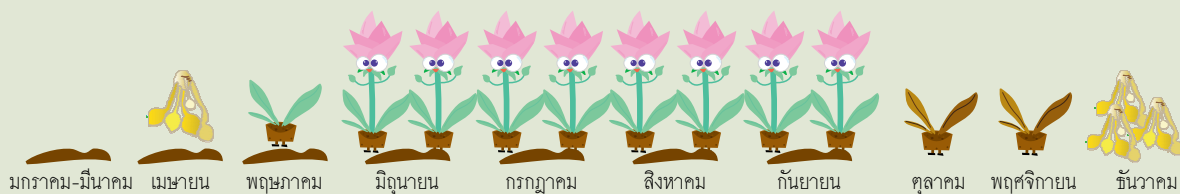
เริ่มปลูกหัวพันธุ์

ปทุมมาจะเริ่มออกดอก

เก็บและตัดดอก

ลำต้นเทียมจะเริ่มแห้งและเฉาลง

เก็บหัวพันธุ์ (ตุ่มราก) สำหรับปลูกในรอบต่อไปหรือนำไปจำหน่าย







## หงส์เหิน (*Globba sp.*)

หงส์เหินเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae และอยู่ในสกุล *Globba* เป็นไม้พื้นเมืองของไทย ที่เกิดในป่าร้อนชื้น ขึ้นกระจายอยู่ทุกภาค แต่บริเวณ ภาคเหนือและภาคกลางมีความหลากหลายของพันธุ์ มากกว่าภาคอื่นๆ



หงส์เหินเป็นพืชที่มีลำต้นเป็นหัวใต้ดินประเภท เหง้าแบบ Rhizome มีรากสะสมอาหารลักษณะอวบน้ำ ค้ำยรากกระจายเรียงอยู่โดยรอบหัว และส่วนของ ลำต้นเหนือดิน คือ กาบใบที่เรียงตัวกันแน่น ทำหน้าที่ เป็นต้นเทียมเหนือดิน มักเกิดเป็นกลุ่มกอสูงประมาณ 30-70 เซนติเมตร ใบเป็นใบเดี่ยวเรียวยาว รูปใบหอก คล้ายใบกระชาย แต่มีขนาดเล็กกว่า ออกเรียงสลับ ซ้ายขวาเป็นสองแถวในระนาบเดียวกัน ดอกออกเป็น ช่อแทงออกมาจากยอดของลำต้นเทียม ช่อจะโค้ง และห้อยตัวลงอย่างอ่อนช้อยสวยงาม มีก้านดอก ย่อยเรียงอยู่โดยรอบประกอบด้วยดอกจริง 1-3 ดอก มีกลีบประดับ (bract) ที่แตกต่างกันหลายรูปทรง และหลายสี หนึ่งปีจะออกดอกเพียงครั้งเดียวช่วง เทศกาลวันเข้าพรรษา จึงมีชื่อเรียกว่าดอกเข้าพรรษา





## หงส์เหินสายพันธุ์ต่างๆ และดอกเข้าพรรษาที่ใช้ตัดบาตรดอกไม้

สำหรับหงส์เหิน ปัจจุบันมีการส่งออกหัวพันธุ์ไปยังต่างประเทศ เช่น ญี่ปุ่น เนเธอร์แลนด์ เหตุผลที่การส่งออกยังมีไม่มากนัก เนื่องจากผลผลิตยังมีปริมาณ

ไม่เพียงพอที่จะส่งออก ทั้งที่ตลาดต่างประเทศมีความต้องการมาก



### เรื่อนำรู้ เกี่ยวกับหงส์เหิน



งานประเพณีตัดบาตรดอกเข้าพรรษา จังหวัดสระบุรี ถือเป็นประเพณีที่มีแห่งเดียวในโลก ที่เป็นเอกลักษณ์ของจังหวัดสระบุรีโดยถือเอาวันเข้าพรรษาในวันแรม 15 ค่ำ เดือน 8 ของทุกปี ประชาชนจะนำดอกไม้ชนิดหนึ่งที่มีดอกหลากสีและพบในช่วงเข้าพรรษา เรียกว่า “ดอกเข้าพรรษา” มารอใส่บาตรพระสงฆ์เพื่อนำขึ้นไปสักการะรอยพระพุทธรูปที่ประดิษฐานบนพระมณฑปภายในวัดพระพุทธบาท





## ตอนที่ 2

เรื่องน่ารู้....

### การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

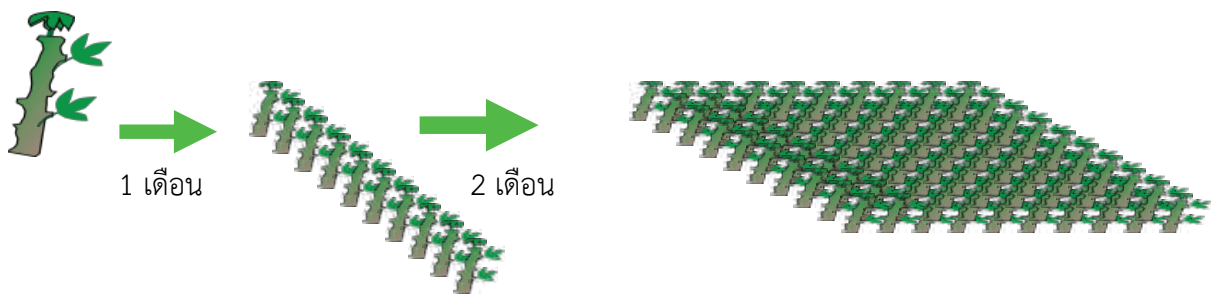


**การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช** เป็นวิธีการขยายพันธุ์พืชวิธีหนึ่ง โดยนำชิ้นส่วนของพืชได้แก่ ลำต้น ยอด ตาข้าง ดอก ใบ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ ภายใต้สภาวะที่ควบคุมในเรื่องของความสะดวกแบบปลอดเชื้อ อุดมทงุมิ และแสง เพื่อให้ชิ้นส่วนเหล่านั้นสามารถเจริญและพัฒนาเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ สามารถนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติได้

### ทำไม... ต้องมี การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

- การขยายพันธุ์พืช (Micropropagation)
  - ผลิตต้นพันธุ์ปลอดโรคปริมาณมากในระยะเวลาอันรวดเร็ว ตัวอย่างเช่น เพิ่มปริมาณได้ 10 เท่า ต่อการย้ายเนื้อเยื่อลงอาหารใหม่ทุกเดือน เมื่อเวลา 2 เดือนสามารถผลิตต้นพันธุ์พืชได้ถึง 100 ต้น
  - ต้นพันธุ์ที่ได้มีลักษณะตรงตามพันธุ์เหมือนต้นแม่





• การปรับปรุงพันธุ์พืช (Plant improvement)

- การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ (Embryo culture) เป็นการสร้างลูกผสมโดยช่วยชีวิตเอ็มบริโอซึ่งรอดชีวิตได้ยากในสภาพธรรมชาติ
- การเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูและละอองเรณู (Pollen and anther culture) เป็นการสร้างต้น Haploid plant เพื่อลดระยะเวลาในการสร้างพันธุ์แท้
- การชักนำการกลายพันธุ์ (Induced mutation) โดยใช้สารเคมี หรือรังสี เพื่อให้ได้พืชกลายพันธุ์
- การใช้เทคโนโลยีชีวภาพ เช่น การรวมโปรโตพลาสต์ (Protoplast fusion) และเทคโนโลยีพันธุวิศวกรรม (Genetic engineering)

• การอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช (Germplasm conservation, Gene bank)

- การเก็บรักษาพันธุ์พืชหายาก โดยชักนำให้พืชในเขตเพาะเลี้ยงมีอัตราการเจริญอย่างช้าๆ สามารถคงสภาพและมีชีวิตได้ในเวลาที่ยาวนาน เป็นการประหยัดพื้นที่และแรงงาน
- การเก็บรวบรวมพันธุ์พืชในเขตเพาะเลี้ยงเพื่อเป็นแหล่งพันธุกรรมที่มีสำรองตลอดเวลา

• การแลกเปลี่ยนพันธุ์พืชระหว่างประเทศ (International transfer)

- การแลกเปลี่ยนพันธุ์พืชที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อช่วยลดความเสี่ยงของการแพร่กระจายโรคพืช

• การผลิตสารทุติยภูมิ (secondary metabolite production)

- การผลิตสารต่างๆ ที่ใช้ทางการแพทย์และการเกษตร

## ข้อจำกัดของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้านการลงทุน

1. การสร้างห้องปฏิบัติการ เนื่องจากการปฏิบัติงานต้องมีการจัดการพื้นที่ทำงาน และการใช้เครื่องมือและสารเคมีที่มีราคาค่อนข้างสูง
2. การอบรมและฝึกฝนผู้ปฏิบัติงาน เนื่องจากการทำงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีการทำงานด้วยเทคนิคปลอดเชื้อและทำงานตามลำดับขั้นตอนตั้งแต่การพอกฆ่าเชื้อ วิธีการตัดและวางเนื้อเยื่อพืช การเพิ่มปริมาณต้น การชักนำราก รวมถึงการฆ่าเชื้อเพื่อทำความสะอาดของเครื่องมือที่ใช้
3. การค้นคว้าวิจัยในการค้นหาเทคนิคและสูตรอาหารเพาะเลี้ยงพืชที่เหมาะสม รวมถึงการเลือกชนิดและปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม เพื่อให้ต้นพืชมีการเจริญเติบโตและพัฒนาพร้อมกัน และลดการเกิดลักษณะของต้นพืชที่แตกต่างไปจากเดิม (Somaclonal variation)





# การเจริญของชิ้นส่วนพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ เพื่อให้เกิดเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์

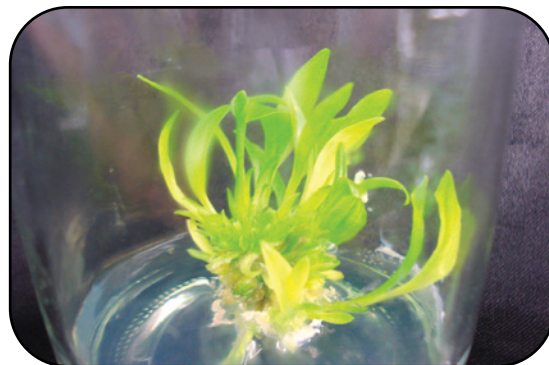
มีกระบวนการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ 3 แบบ คือ



แคลลัส คือ กลุ่มเซลล์ที่ยังไม่พัฒนาเป็นยอดและราก



ยอดหรือราก โดยเกิดเป็นอิสระต่อกัน เรียกกระบวนการนี้ว่า organogenesis

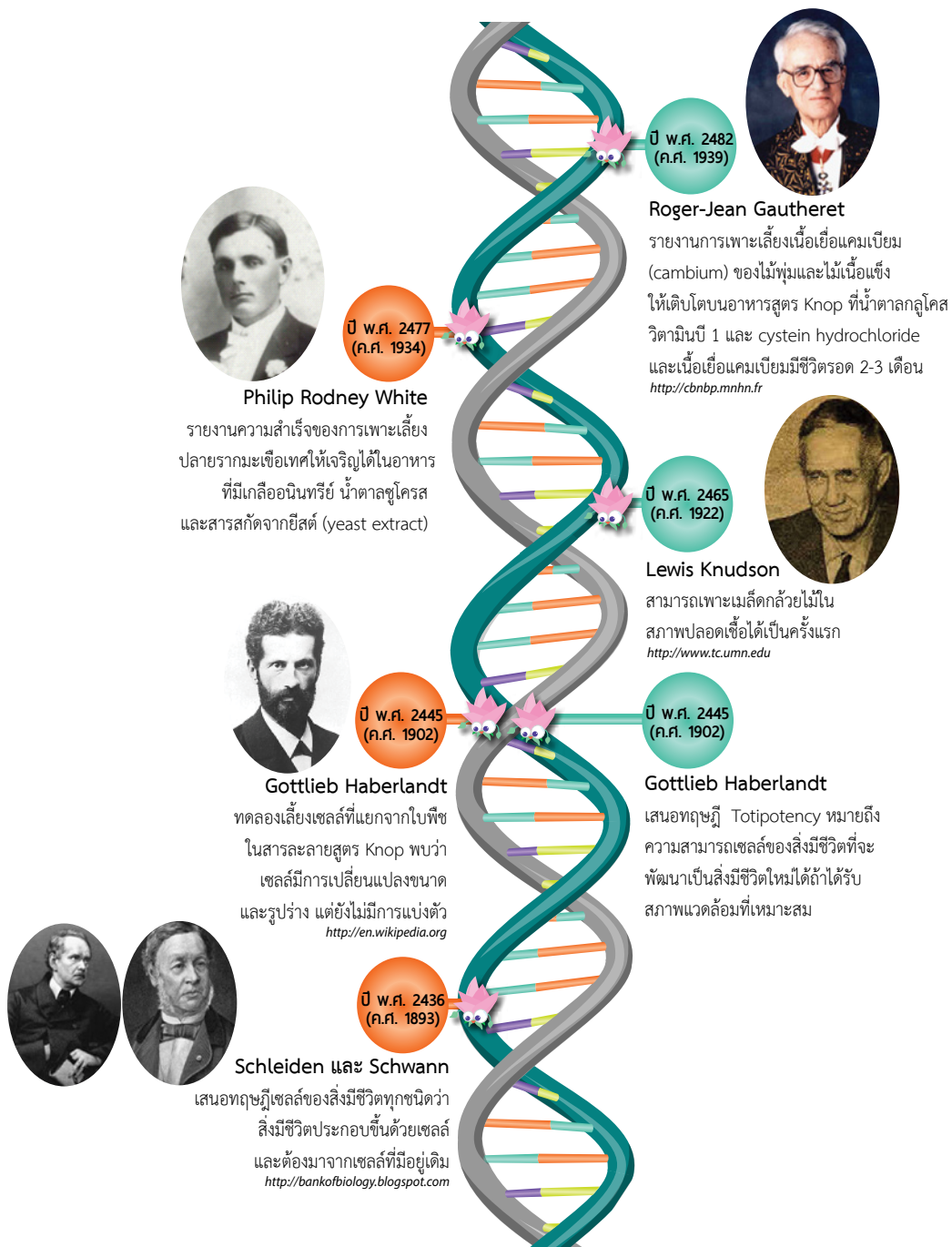


เอ็มบริอยด์ (embryoid) มีขั้นตอนการพัฒนาเหมือนเอ็มบริโอจนเป็นต้น แต่มีจุดกำเนิดจากเซลล์ร่างกาย เรียกกระบวนการนี้ว่า embryogenesis



Totipotency (any part of the plant can give rise to an entire new plant given the right conditions)

ความสามารถของเซลล์พืชที่พร้อมจะพัฒนากลับไปเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ใหม่ได้เมื่อได้รับสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม

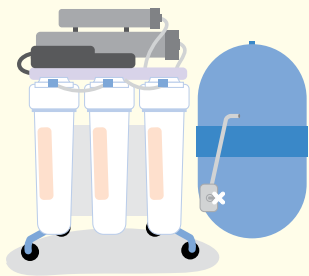


นับจากนั้นมา มีรายงานความก้าวหน้าของงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชตลอดมา และแม้ว่าเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชและเซลล์จะไม่ใช้เทคโนโลยีใหม่ แต่มีการพัฒนาอยู่ตลอดเวลาทั้งในเรื่องเทคโนโลยีเพาะเลี้ยงเองและการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตใหม่ๆ เพื่อเพิ่มศักยภาพการเจริญและพัฒนาจากชิ้นส่วนพืชไปเป็นต้นพันธุ์ที่สมบูรณ์



# แนะนำอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

## เครื่องกรองน้ำ



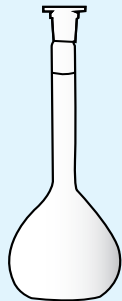
เครื่องกรองน้ำ

## สารเคมี

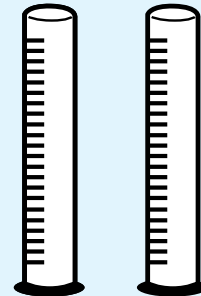


สารเคมี จัดวางในตู้หรือบนชั้นวางของอย่างเป็นหมวดหมู่หรือเรียงตามอักษร ควรอยู่บริเวณเดียวกับที่วางเครื่องชั่ง

## เครื่องแก้ว



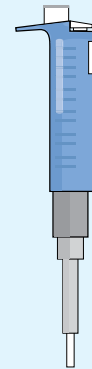
ขวดปรับปริมาตร



กระบอกตวง



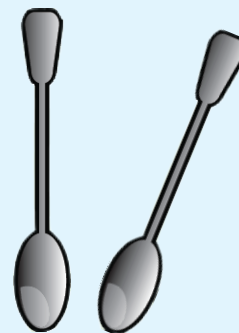
พลาสติกหรือขวดรูปชมพู่



ปิเปต ดูดจ่ายสารละลาย

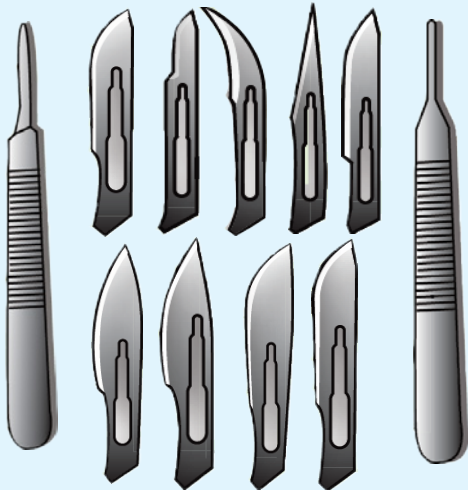


ปิกเกอร์ และแท่งแก้ว

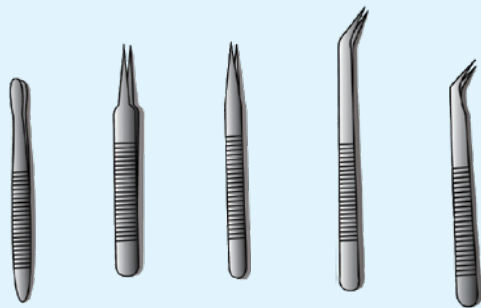


ช้อนตักสาร





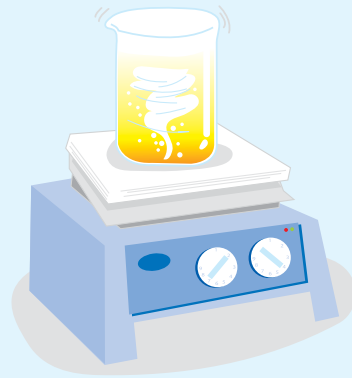
ใบมีดผ่าตัดพร้อมด้ามมีด



ปากคีบแบบต่างๆ



- เครื่องชั่งอย่างละเอียดสามารถชั่งได้เป็นมิลลิกรัม หรือทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- เครื่องชั่งอย่างหยาบ ชั่งได้เป็นกรัม หรือทศนิยม 2 ตำแหน่ง



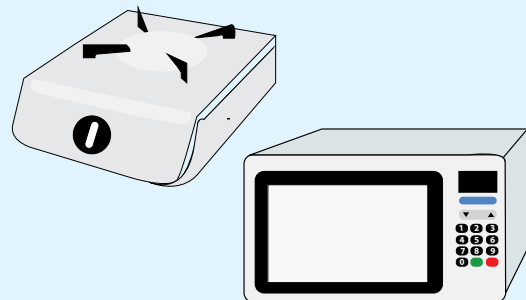
เครื่องกวนหรือคนสารละลาย (Magnetic stirrer)  
ใช้สำหรับการกวนหรือคนสารละลาย  
ขณะเตรียมอาหาร



เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH-meter)  
ใช้วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ของอาหารเพาะเลี้ยง

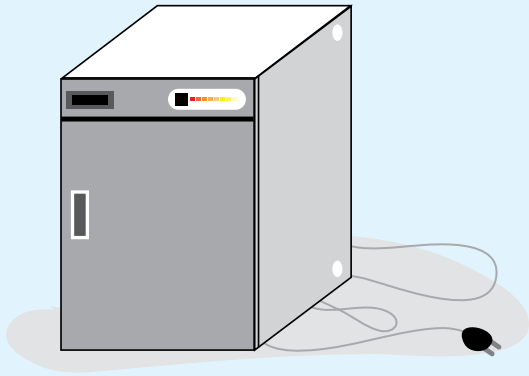


ตะเกียงแอลกอฮอล์



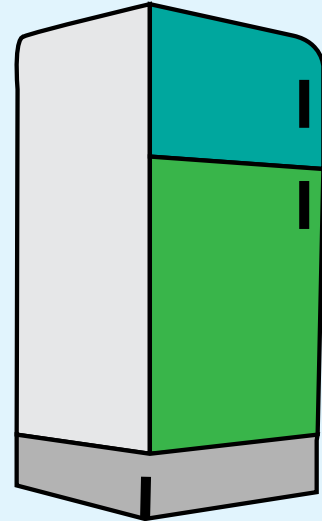
เตาต้มอาหาร อาจเป็นเตาไฟฟ้าหรือเตาแก๊ส  
หรือเตาไมโครเวฟ



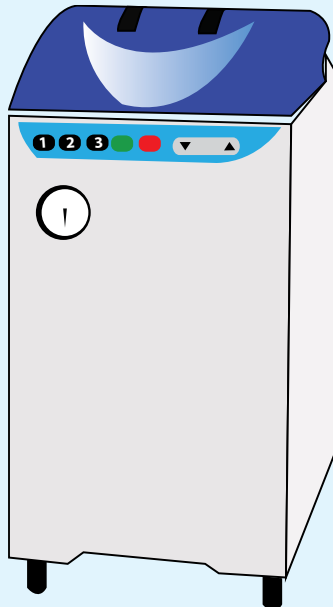


ตู้อบความร้อนแห้ง (Hot air oven)

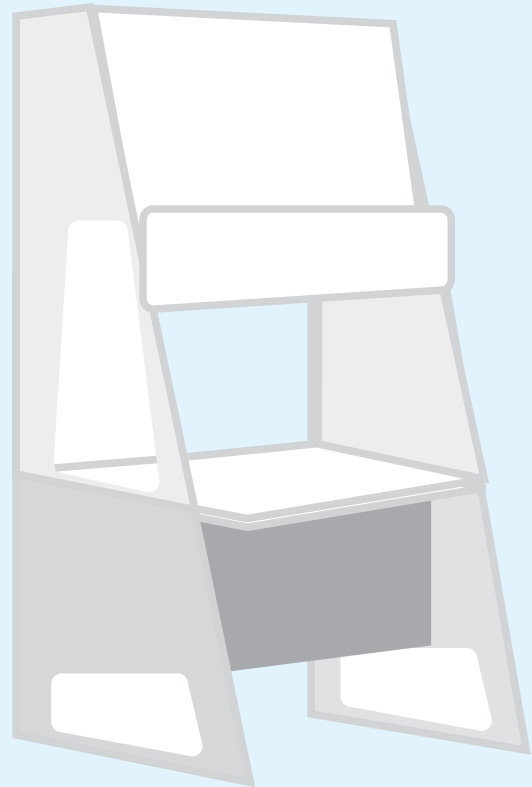
ใช้ในการอบฆ่าเชื้ออุปกรณ์ที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง



ตู้เย็นเก็บสารเคมี



หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) ใช้ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเพาะเลี้ยง โดยใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15-20 นาที



ตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ

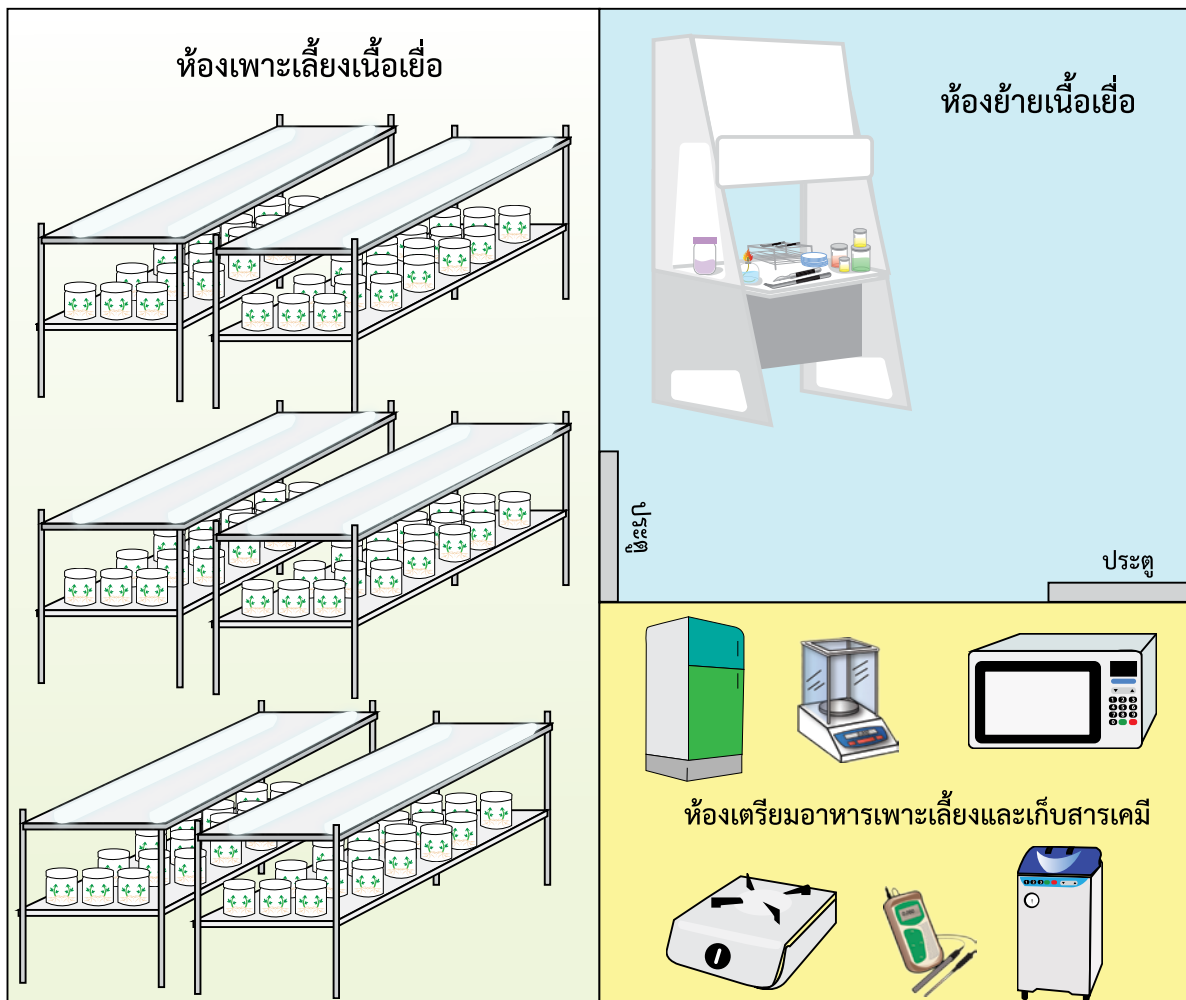


# ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ  
แบ่งออกเป็น 3 ห้องหลัก คือ

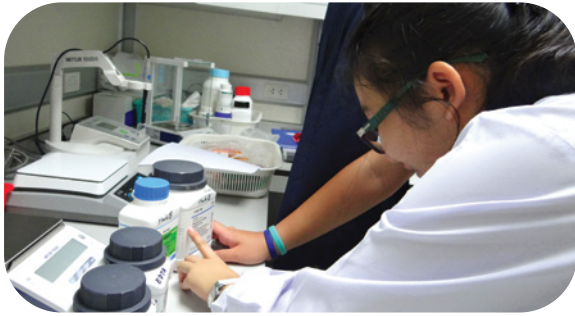
1. ห้องเตรียมอาหารและเก็บสารเคมี
2. ห้องย้ายเนื้อเยื่อ
3. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ  
การจัดวางเครื่องมือและอุปกรณ์ต้องคำนึงถึง  
ความสะดวกในการใช้งานภายในห้องต่างๆ ดังนี้





# 1. ห้องเตรียมอาหารและเก็บสารเคมี



เป็นห้องที่ใช้เก็บสารเคมีและวัสดุอุปกรณ์เพื่อการชั่งสาร หรือผสมอาหารเพาะเลี้ยง ประกอบไปด้วย

1. บริเวณเตรียมอาหาร ควรเป็นโต๊ะหรือพื้นที่ที่มีความสูงและมีพื้นที่ในการทำงาน
2. เครื่องกรองน้ำ สำหรับเตรียมน้ำสะอาดในการเตรียมอาหาร อาจใช้เครื่องกรองน้ำดื่มตามบ้านได้
3. บริเวณล้างทำความสะอาดและอ่างน้ำ ใช้สำหรับล้างทำความสะอาดเครื่องมือต่างๆ
4. สารเคมี จัดวางในตู้หรือบนชั้นวางของอย่างเป็นหมวดหมู่หรือเรียงตามอักษร ควรอยู่บริเวณเดียวกับที่วางเครื่องชั่ง
5. เครื่องแก้ว ปัจจุบันนิยมใช้เป็นพลาสติกเพราะลดความเสียหายจากการแตกร้าว ควรมีที่เก็บมิดชิด
  - พลาสติกหรือขวดรูปชมพู่ ขนาด 50-1,000 มิลลิลิตร
  - ปีกเกอร์ ใช้ปรับปริมาตรของอาหาร ขนาด 20-1,000 มิลลิลิตร
  - กระบอกตวง ขนาด 5-1,000 มิลลิลิตร
  - ปิเปต ใช้ดูดสารละลายปริมาณน้อย ขนาด 0.1-10 มิลลิลิตร
6. เครื่องชั่ง มี 2 แบบ คือ เครื่องชั่งอย่างละเอียดและเครื่องชั่งอย่างหยาบ
  - เครื่องชั่งอย่างละเอียด สามารถชั่งได้เป็นมิลลิกรัม หรือทศนิยม 4 ตำแหน่ง ใช้สำหรับชั่งสารเคมี วิตามิน และสารควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งใช้ปริมาณที่น้อยมาก

- เครื่องชั่งอย่างหยาบ ชั่งได้เป็นกรัม หรือทศนิยม 2 ตำแหน่ง ใช้สำหรับชั่งสารเคมีที่ใช้ปริมาณมาก เช่น ฐาน และน้ำตาล
7. เครื่องกวนหรือคนสารละลาย (Magnetic stirrer) ใช้สำหรับการกวนหรือคนสารละลายเมื่อใส่แท่งแม่เหล็ก (Magnetic bar) ขณะเตรียมอาหาร
  8. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH-meter) ใช้วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ของอาหารเพาะเลี้ยง
  9. เตาต้มอาหาร อาจเป็นเตาไฟฟ้าหรือเตาแก๊ส หรือไมโครเวฟ ใช้สำหรับต้มอาหารเพื่อให้วุ้นละลาย
  10. ตู้อบความร้อนแห้ง (Hot air oven) ใช้ในการอบฆ่าเชื้อเครื่องแก้วและอุปกรณ์ในการตัดย้ายเนื้อเยื่อ โดยใช้อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง
  11. หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) ใช้ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเพาะเลี้ยง โดยใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15-20 นาที อาจเป็นแบบหม้อไฟฟ้าอัตโนมัติ หรือเป็นแบบที่ใช้ความร้อนจากเตาแก๊ส มีทั้งแบบแนวตั้งและแนวนอน และมีราคาค่อนข้างสูง
    - หม้อนึ่งความดันไอน้ำแบบใช้ไฟฟ้าแนวตั้ง เป็นแบบที่ได้รับความนิยมใช้ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
    - หม้อนึ่งความดันไอน้ำ แบบใช้ไฟฟ้าแนวนอน สามารถนึ่งอาหารได้ปริมาณมากกว่าหม้อแบบแนวตั้ง
    - หม้อนึ่งความดันไอน้ำ แบบใช้แก๊ส ใช้หลักการเดียวกับหม้อนึ่งเชื้อเห็ด สามารถควบคุมอุณหภูมิและความดันให้คงที่



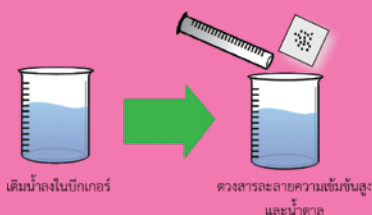
## การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยง

เริ่มต้นจากการชั่งสารตามสูตรอาหารที่ต้องการเป็นสารละลายเข้มข้น (Stock solution) เนื่องจากเป็นสารที่ใช้ในปริมาณน้อย เพื่อใช้ในการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยง ที่มีขั้นตอนสำหรับอาหาร 1 ลิตรดังนี้

1. ชั่งสารเคมีที่ใช้ปริมาณมาก ด้วยเครื่องชั่งอย่างหยาบ (ทศนิยม 2 ตำแหน่ง) เช่น น้ำตาล หรือวัน



2. ใส่น้ำสะอาดปริมาตร 500 มิลลิลิตร และตวงสต็อกสารละลายเข้มข้นตามปริมาณที่กำหนดไว้ เติมน้ำควบคุมการเจริญเติบโต เติมน้ำตาลซูโครส ปรับปริมาตรด้วยน้ำจนได้ปริมาตรที่ต้องการ 1 ลิตร ผสมส่วนประกอบต่างๆ ให้เข้ากันได้หมด ควรใช้เครื่องคนหรือกวนสารละลายร่วมกับแท่งคนแม่เหล็ก



3. วัดความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่ระดับ 5.8 ซึ่งเหมาะต่อการนำธาตุอาหารไปใช้ในการเจริญเติบโตของพืช ยกเว้นอาหารบางสูตร เช่น อาหารกล้วยไม้ ที่ใช้ระดับ pH 5.2



4. เติมน้ำ หลอมอาหารจนเข้ากันได้ โดยใช้เตาแก๊สหรือไมโครเวฟ




5. เทอาหารใส่ขวดเพาะเลี้ยง เช่น ขวด กล่องพลาสติก หรือ ถังที่ทนความร้อน ปิดฝาให้สนิท แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

6. การนึ่งฆ่าเชื้ออาหารเพาะเลี้ยง ด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15-20 นาที (ระยะเวลาปรับตามขนาดของภาชนะ และปริมาณของอาหาร) เมื่อนำอาหารออกจากหม้อนึ่งความดัน ควรปิดฝาให้แน่นเนื่องจากฝาขวดอาจขยายตัวขณะนึ่งฆ่าเชื้อ ควรเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงและนึ่งฆ่าเชื้อภายในวันเดียวกัน



## 2. ห้องย้ายเนื้อเยื่อ

เป็นห้องที่มีกิจกรรมเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ควรเป็นห้องที่มีระบบป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อ ผิวพื้นห้องทุกด้านทั้งฝาผนัง พื้นห้อง ควรมีผิวเรียบมัน ไม่เป็นที่สะสมของฝุ่นละออง ทำความสะอาดง่าย วัสดุอุปกรณ์ที่อยู่ในห้องนี้จะประกอบด้วย

 **ตู้ปลอดเชื้อที่ใช้กับงานตัดย้ายชิ้นพืช** มีระบบการหมุนเวียนของอากาศภายในตู้ที่สะอาดปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ตลอดเวลาของการปฏิบัติงาน ด้วยระบบการถ่ายเทอากาศผ่านแผ่นกรองที่มีรูพรุน ขนาดเล็กประมาณ 0.3 ไมครอน ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ไม่สามารถผ่านได้ ทั้งนี้ควรเช็ดทำความสะอาดตู้ทั้งก่อนปฏิบัติงานและหลังเลิกงานในแต่ละวัน โดยการเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ รวมทั้งการเปลี่ยนแผ่นกรองเชื้อจุลินทรีย์ตามกำหนดเวลา เพื่อรักษาประสิทธิภาพของตู้ปลอดเชื้อ

 **วัสดุหรือเครื่องมือที่ใช้ตัดเนื้อเยื่อภายในตู้ปลอดเชื้อ**

- **มีดผ่าตัด** นิยมใช้ด้ามมีดเบอร์ 3 กับใบมีดเบอร์ 10 หรือ 11
- **ปากคีบ (forcep)** ใช้คีบจับชิ้นพืช มีขนาดต่างกันไปขึ้นกับความสะดวกในการใช้งาน
- **ตะแกรงสำหรับวางมีดและปากคีบ**
- **ตะเกียงแอลกอฮอล์ (แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์)**
- **จานรองหรือกระดาษ** ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วใช้รองตัดชิ้นเนื้อเยื่อ

วัสดุเหล่านี้ก่อนนำมาตัดเนื้อเยื่อต้องผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำหรือการอบความร้อนแห้ง และภายหลังสิ้นสุดการปฏิบัติงานทุกครั้งต้องนำเครื่องมือเหล่านั้นมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำยาล้างจาน ผึ่งให้แห้ง ห่อด้วยกระดาษ แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อเพื่อการนำมาใช้ใหม่ในครั้งต่อไป



**อุปกรณ์ในการทำงานอื่นๆ ได้แก่**

1. แก้วอิมมูนสำหรับพนักงานตัดย้ายเนื้อเยื่อ
2. รถเข็นสำหรับวางขวดอาหารเพาะเลี้ยง



**อุปกรณ์ดับเพลิง** เนื่องจากขณะปฏิบัติงานมีการลนไฟฆ่าเชื้อวัสดุอุปกรณ์ตลอดเวลา อาจเกิดอุบัติเหตุไฟลุกไหม้ภายในตู้





## กิจกรรมภายในห้องย้ายเนื้อเยื่อ

### การปฏิบัติตัวเมื่อทำงานในสภาพปลอดเชื้อ

1. การรักษาความสะอาดด้วยการล้างมือให้สะอาดด้วยสบู่ และสวมชุดปฏิบัติการ ประกอบด้วย ถุงมือ ผ้าคลุมผม ผ้าปิดปากปิดจมูก และเปลี่ยนรองเท้าก่อนเข้าห้องปฏิบัติการทุกครั้ง
2. ไม่สวมเครื่องประดับ ได้แก่ แหวน นาฬิกา และสร้อยข้อมือ เมื่อทำงานในตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ
3. เช็ดทำความสะอาดตู้ปลอดเชื้อก่อนใช้งานด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ และควรเปิดสวิตซ์ตู้ให้ระบบต่างๆ ภายในตู้ทำงานก่อนปฏิบัติงาน 15-30 นาที
4. ฉีดพ่นมือหรือเช็ดมือจนถึงข้อศอก ด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ทุกครั้งเมื่อนำมือเข้าตู้ย้ายเนื้อเยื่อ



5. วางอุปกรณ์ที่ใช้ตัดเนื้อเยื่อในตำแหน่งที่เหมาะสมและสะดวกต่อการปฏิบัติงาน



6. ลนไฟเครื่องมือ (แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์) ที่ใช้ปฏิบัติงานเพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ก่อนเริ่มตัดเนื้อเยื่อ



7. เริ่มตัดเนื้อเยื่อ



8. นำชิ้นพืชที่ตัดแบ่งวางบนอาหารในขวดก่อนปิดฝา



9. ลนไฟบริเวณปากภาชนะ



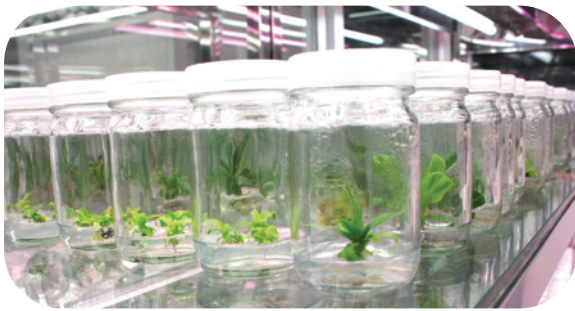


10. ลงบันทึกชนิดพืชและวัน/เดือน/ปี ที่ตัดย้ายเนื้อเยื่อ

11. นำขวดเนื้อเยื่อวางบนชั้นในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ควบคุมแสงและอุณหภูมิ

12. ทำความสะอาดตู้ย้ายเนื้อเยื่อโดยการฉีดพ่นด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์และเช็ดทำความสะอาดทุกครั้ง และเปิดหลอดไฟ UV ก่อนและหลังปฏิบัติงาน

### 3. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ



เป็นห้องปลอดเชื้อควบคุมอุณหภูมิประมาณ 25-28 องศาเซลเซียส เป็นสถานที่ที่ใช้วางขวดเนื้อเยื่อพืช เป็นห้องที่ไม่อนุญาตให้ผู้ที่ไม่มีส่วนเกี่ยวข้องเข้าออก เนื่องจากจะทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้เกิดความเสียหายกับต้นพืชได้ อุปกรณ์ที่สำคัญที่ติดตั้งอยู่ในห้อง ได้แก่

1. ชั้นวางเนื้อเยื่อพืช ใช้วัสดุที่ทำด้วยไม้ เหล็กฉาก สแตนเลส หรืออลูมิเนียม เป็นต้น ขนาดกว้าง x ยาว x สูง ประมาณ 60 x 125 x 200 เซนติเมตร มีชั้นวาง 5 ชั้น แต่ละชั้นห่างกันประมาณ 30 เซนติเมตร โดยส่วนที่ทำเป็นพื้นอาจเป็นกระจกหรือฟอร์ไมก้าสีขาวหรือเป็นตาข่ายโปร่ง มีหลอดไฟฟ้าที่ให้ความสว่างแก่พืช



โดยติดตั้งให้หลอดอยู่ห่างจากชั้นวางเนื้อเยื่อในระยะประมาณ 20 เซนติเมตรและแต่ละหลอดอยู่ห่างกันประมาณ 30 เซนติเมตร เพื่อให้ได้ความเข้มแสง 2,000-3,000 ลักซ์ นิยมใช้หลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ชนิดธรรมดาที่เข้ากับอาคารบ้านเรือนก็ได้ โดยเปิดไฟติดต่อกันเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน มักมีระบบตั้งเวลาการควบคุมการปิด-เปิดไฟฟ้า (timer)

2. เครื่องเขย่าใช้สำหรับเนื้อเยื่อพืชที่เลี้ยงในอาหารเหลว เป็นการเพิ่มออกซิเจนลงไปในการเพื่อให้นเนื้อเยื่อพืชได้รับออกซิเจนอย่างเพียงพอต่อการเจริญเติบโต นิยมใช้ความเร็วรอบ 100-150 รอบต่อนาที





กิจกรรมภายในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ



1. ทำความสะอาดชั้นวางขวดเนื้อเยื่อพืชด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ก่อนการจัดวางขวดเนื้อเยื่อทุกครั้ง
2. ตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ทุกวัน เมื่อพบต้องเก็บทันที และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อก่อนล้างทำความสะอาดภาชนะใส่อาหารเพาะเลี้ยง ในกรณีพบเชื้อราหากปล่อยทิ้งไว้จะทำให้สปอร์ของเชื้อราแพร่กระจายออกจากขวดสู่บรรยากาศของห้องได้
3. บันทึกรายละเอียดและลักษณะของชิ้นพืช
4. จัดเตรียมส่งต้นพันธุ์ที่สมบูรณ์เพื่อย้ายออกปลูกในสภาพโรงเรือน



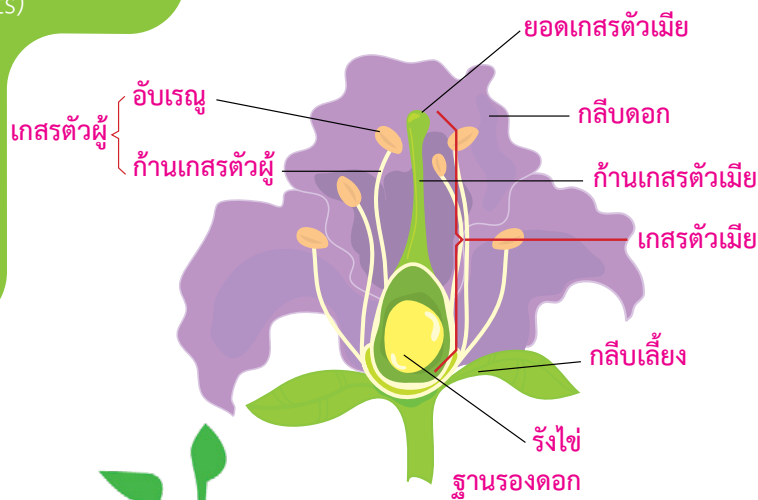


# ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อความสำเร็จของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

- ชิ้นส่วนพืช - ชนิด อายุของพืช และระยะเวลาที่เก็บ
- การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนของพืช
- อาหารที่เพาะเลี้ยง
  - น้ำ
  - สารอินทรีย์
  - ธาตุอาหารหลัก (Macroelements) พืชต้องการในปริมาณมาก
  - ธาตุอาหารรอง (Microelements) พืชต้องการในปริมาณน้อย
  - สารอินทรีย์ ได้แก่ น้ำตาล กรดอะมิโน และวิตามิน
- สารควบคุมการเจริญเติบโต

## ชิ้นส่วนพืช - ชนิดอายุของพืช และระยะเวลาที่เก็บ

ทุกส่วนของพืชที่ประกอบด้วย เซลล์ที่มีชีวิตสามารถนำมาทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้



**ดอก (flower)**  
 ส่วนของดอกส่วนใหญ่ประกอบด้วยเซลล์ประเภท parenchyma

**ใบ (leaf)**  
 ในส่วนของใบมีเซลล์ของแผ่นใบที่เรียกว่า palisade parenchyma และ spongy parenchyma อยู่จำนวนมาก

**ผล (fruit)**  
 เนื้อเยื่อของผลส่วนใหญ่ประกอบด้วยเซลล์ประเภท parenchyma

**ลำต้น**

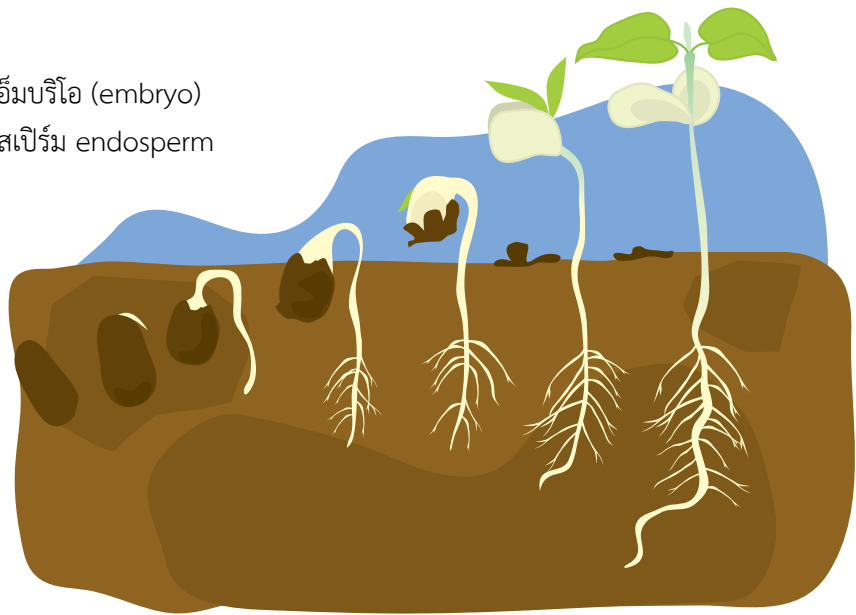
- ส่วนของเปลือกชั้นใน (inner bark) ประกอบด้วยเนื้อเยื่อของชั้น phloem และ cortex
- ส่วนไส้ (pith) เป็นส่วนในใจกลางสุดของลำต้นซึ่งประกอบด้วยเซลล์ประเภท parenchyma

**ราก (root)**  
 ส่วนของปลายราก

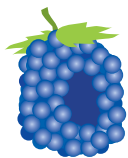


**เมล็ด (seed)**

ในส่วนของเมล็ดซึ่งประกอบด้วยเอ็มบริโอ (embryo) ไบเลียง (cotyledon) และเอนโดสเปิร์ม endosperm



**Freshy fruit**



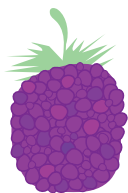
Aggregate fruit



Berry



Drupe



Multiple fruit



Pome

ที่มา : [www.biologyreference.com](http://www.biologyreference.com) (ดัดแปลง)

**Dry fruit**

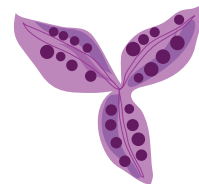
Achene



Acorn



Capsule



Folicle



Grain

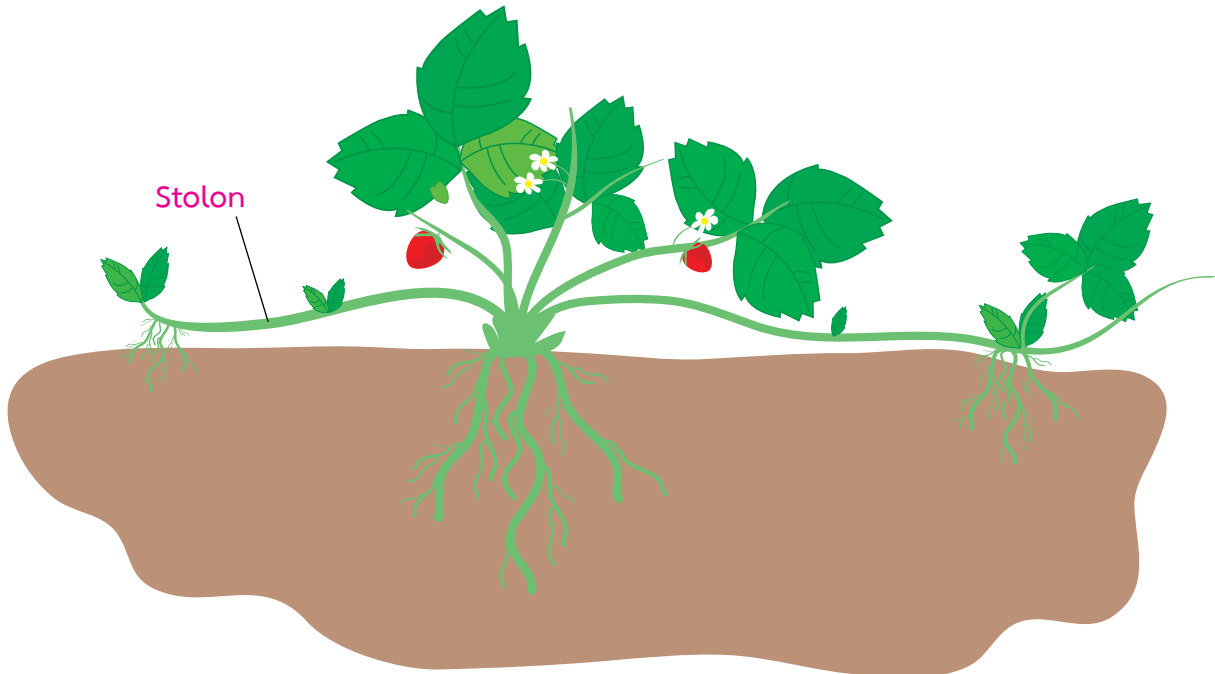


Legume

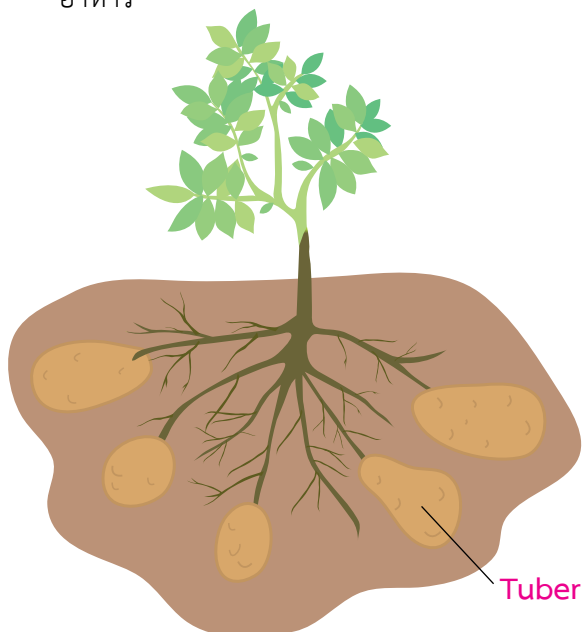


## ลำต้นชนิดอื่นๆ ได้แก่

1. **Stolon หรือ Runner** เป็นลำต้นที่ทอดเลื้อยขนานกับพื้น มีรากเกิดขึ้นบริเวณข้อ และตาบริเวณส่วนข้อมีการแตกเป็นแขนงยาวไปตามพื้นเกิดเป็นต้นใหม่ที่ปลายแขนง



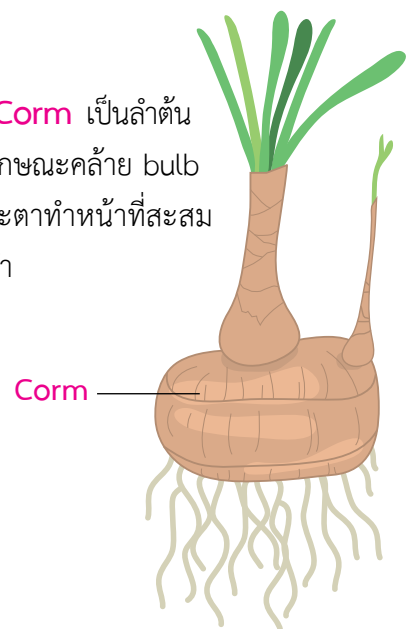
2. **หัวแบบ Tuber** เป็นลำต้นใต้ดินขนาดใหญ่ที่มี 3-4 ปล้อง เนื่องจากมีการสะสมอาหาร ส่วนของตา (bud) เจริญเป็นลำต้นเหนือดินเพื่อสังเคราะห์อาหาร



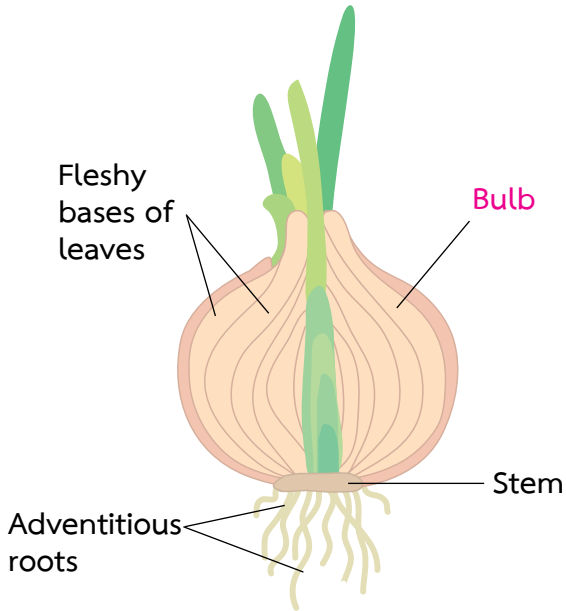
3. **เหง้า (Rhizome)** เป็นลำต้นใต้ดินที่ขนานกับพื้น มีข้อและปล้องชัดเจน ตาอาจแตกเป็นลำต้นเหนือดินหรือเป็นแขนงใต้ดิน



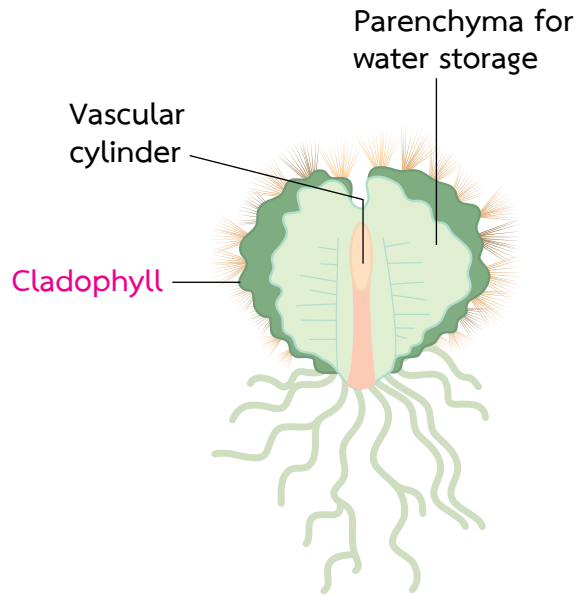
4. **หัวแบบ Corm** เป็นลำต้นใต้ดินที่มีลักษณะคล้าย bulb แต่มีข้อและตาทำหน้าที่สะสมอาหารในลำ



5. หัวแบบ Bulb เป็นลำต้นใต้ดินที่มีขนาดเล็ก ตั้งตรงมีปล้องสั้นจำนวนมากบริเวณปล้อง มีลักษณะเป็นกาบซ้อนกันเป็นชั้นห่อหุ้มลำต้นไว้ จนเกิดเป็นหัวทำหน้าที่สะสมอาหาร

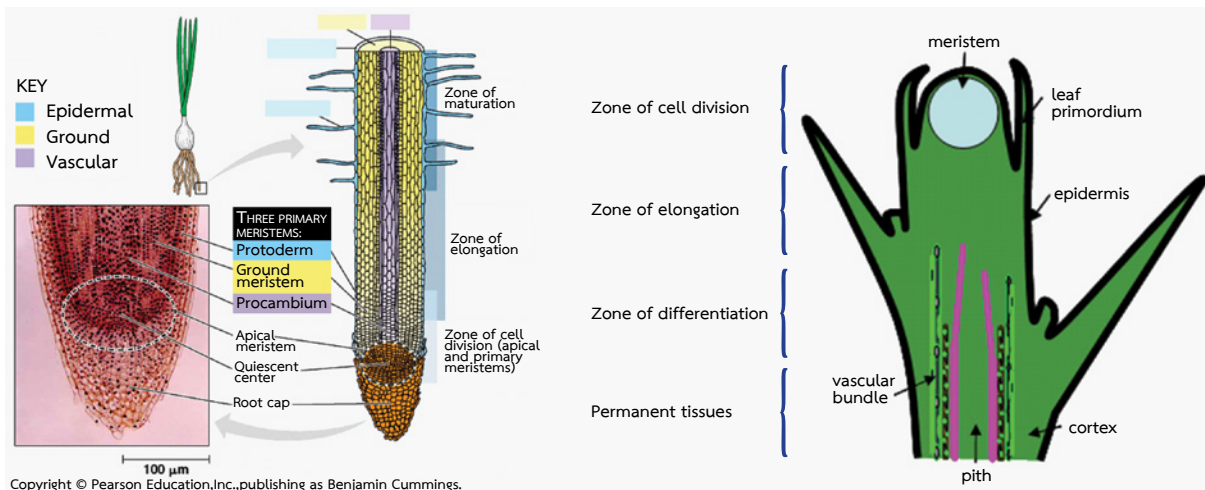


6. Cladophyll เป็นลำต้นที่เปลี่ยนรูปเป็นแผ่นแบบ คล้ายใบ หรือเป็นเส้น เพื่อทำหน้าที่สังเคราะห์แสง เช่น ลำต้นกระบองเพชร



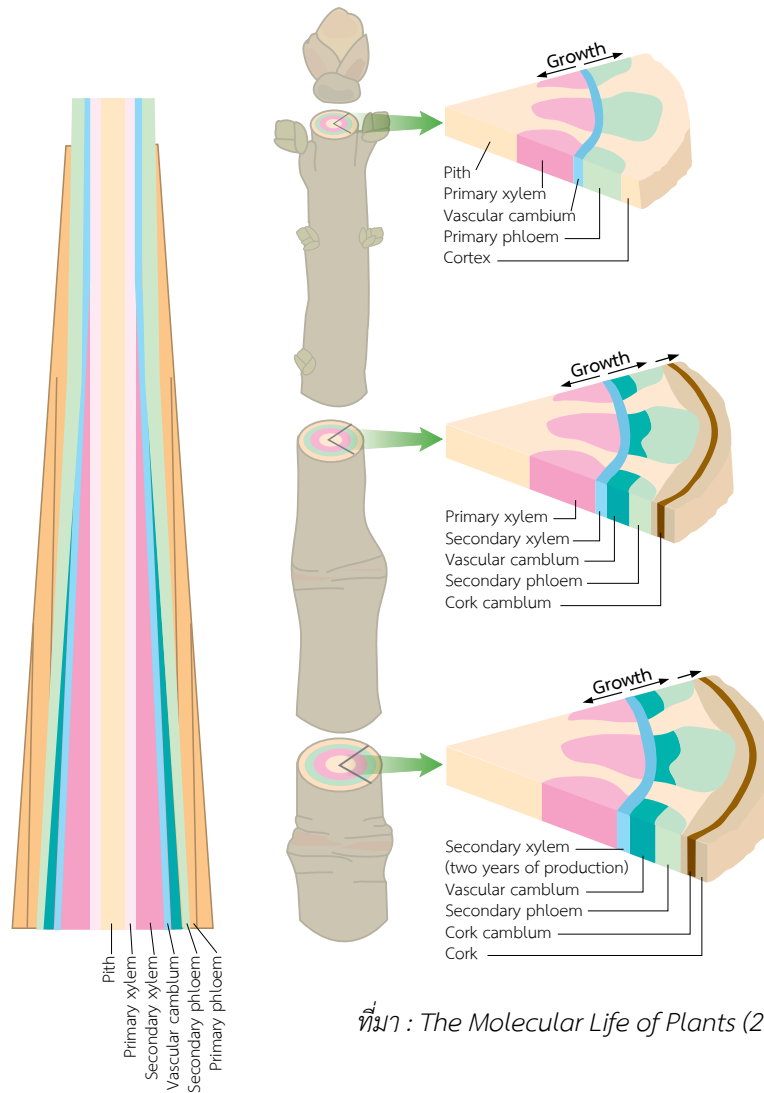
ที่มา : The Molecular Life of Plants (2013) (modified)

เนื้อเยื่อพืชส่วนที่มีเซลล์ที่มีความสามารถในการเจริญเติบโตและพัฒนามากที่สุดคือเนื้อเยื่อเจริญที่พบได้ในส่วนของปลายยอดของลำต้น (shoot apex) และปลายราก (root apex) เป็นบริเวณที่เซลล์มีการแบ่งตัวมากที่สุด และเนื้อเยื่อเจริญในท่อลำเลียง (vascular cambium) ซึ่งอยู่ระหว่างกลุ่มของท่ออาหาร และท่อน้ำ



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.





ที่มา : *The Molecular Life of Plants (2013) (modified)*

## ชนิดของเนื้อเยื่อพืช

1. เนื้อเยื่อเจริญ (meristematic tissue) แบ่งเป็น 3 ชนิดคือ
  - 1.1 เนื้อเยื่อเจริญส่วนปลาย (apical meristem) บริเวณปลายยอดและปลายรากเมื่อแบ่งเซลล์ทำให้ลำต้นและรากยืดยาว
  - 1.2 เนื้อเยื่อเจริญเหนือข้อ (intercalary meristem) อยู่บริเวณเหนือข้อ
  - 1.3 เนื้อเยื่อเจริญด้านข้าง (lateral meristem) แบ่งตัวออกทางด้านข้าง ทำให้ลำต้นและรากขยายขนาด
2. เนื้อเยื่อถาวร (permanent tissue) เป็นเนื้อเยื่อที่เจริญเปลี่ยนแปลงมาจากเนื้อเยื่อเจริญ แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

- 2.1 เนื้อเยื่อถาวรเชิงเดี่ยว (simple permanent tissue) แบ่งได้หลายชนิดตามหน้าที่และส่วนประกอบภายในเซลล์ ได้แก่ เอพิเดอร์มิส (epidermis) พาเรนไคมา (parenchyma) คอลเลนไคมา (collenchyma) และสเกลอเรนไคมา (sclerenchyma)
- 2.2 เนื้อเยื่อถาวรเชิงซ้อน (complex permanent tissue) ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์หลายชนิดมาทำงานร่วมกัน ได้แก่ เนื้อเยื่อท่อลำเลียง (vascular tissue) ซึ่งประกอบด้วย
  1. ไซเลม (xylem) ทำหน้าที่ลำเลียงน้ำและแร่ธาตุ
  2. โพลเอม (phloem) ทำหน้าที่ลำเลียงสารอาหาร



# ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเตรียมอาหาร คือ การนำธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองที่พืชต้องการในการเจริญเติบโต มาผสมกับวิตามิน น้ำตาล ฮอร์โมนและน้ำในอัตราส่วนที่เหมาะสม แล้วนำไปฆ่าเชื้อ

สูตรอาหารสังเคราะห์แต่ละสูตร ประกอบด้วยสารประกอบต่างๆ เป็นจำนวนมาก และมีปริมาณน้อย จึงเตรียมเป็นสารละลายเข้มข้น (stock solution) แล้วจึงตวงมาใช้เตรียมอาหารต่อไป

1. การเตรียมอาหาร
2. การพอกฆ่าเชื้อ
3. การเพิ่มจำนวน
4. การชักนำรากพืช
5. การย้ายออกปลูก

อาหารแข็ง (Solid medium) - เติมน้ำลงในอาหาร 7-10 กรัม ต่ออาหาร 1 ลิตร เพื่อช่วยพยุงชิ้นพืชให้สามารถเจริญเติบโตอยู่บนอาหารได้



อาหารเหลว (Liquid medium) - ไม่มีส่วนผสมของน้ำ แต่ต้องเลี้ยงบนเครื่องเขย่า (Shaker) เพื่อช่วยให้ออกซิเจนละลายลงในอาหาร ส่งผลดีต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืช

## 1. การเตรียมอาหาร

อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ประกอบด้วย

- น้ำ
- สารอินทรีย์
  - ธาตุอาหารหลัก (Macroelements) พืชต้องการในปริมาณมากเพื่อใช้สร้างโครงสร้าง ได้แก่ ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) กำมะถัน (S)
  - ธาตุอาหารรอง (Microelements) พืชต้องการในปริมาณน้อย ได้แก่ สังกะสี (Zn) เหล็ก (Fe) โบรอน (B) แมงกานีส (Mn) ทองแดง (Cu) คลอรีน (Cl) โคบอล (Co) นิกเกิล (Ni) โมลิบดีนัม (Mo)
- สารอินทรีย์
  - น้ำตาล ใช้เป็นแหล่งพลังงาน
  - กรดอะมิโน
  - วิตามิน

อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แบ่งตามการเติมวัสดุค้ำจุน เช่น วัช แบ่งเป็นอาหารแข็ง และอาหารเหลว

## อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

- VW (Vacin and Went, 1949) ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้
- MS (Murashige and Skoog, 1962) เป็นสูตรมาตรฐานที่ใช้โดยทั่วไป
- Hidebrandt (1962) ใช้เพาะเลี้ยงแคลลัสยาสูบ
- White (1963) ใช้เพาะเลี้ยงส่วนราก
- Miller (1963) ใช้เพาะเลี้ยงอับละอองเกสรของข้าว
- Y3 (Eeuwens, 1967) ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตระกูลปาล์ม
- B5 (Gamborg, 1970)
- WPM (Lloyd and McCown, 1980) ใช้เพาะเลี้ยงพืชที่เป็นไม้เนื้อแข็ง (Woody species)



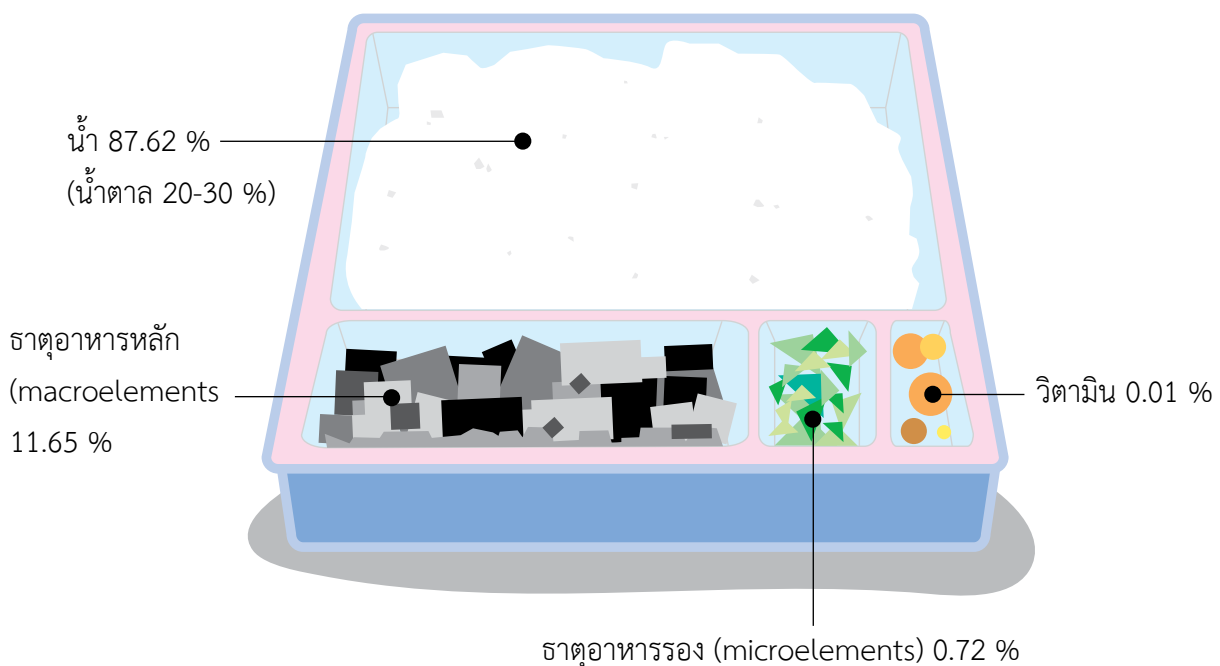


## สารละลายเข้มข้น

เป็นสารละลายความเข้มข้นสูงกว่าความเข้มข้นจริง 10-200 เท่า เรียกว่า Stock solution เมื่อเตรียมเสร็จเรียบร้อยแล้วมักแช่ไว้ในตู้เย็น เพื่อให้เก็บไว้ใช้ได้นาน

Stock solution สูตรอาหาร MS (Murashige and Skoog Medium, 1962)

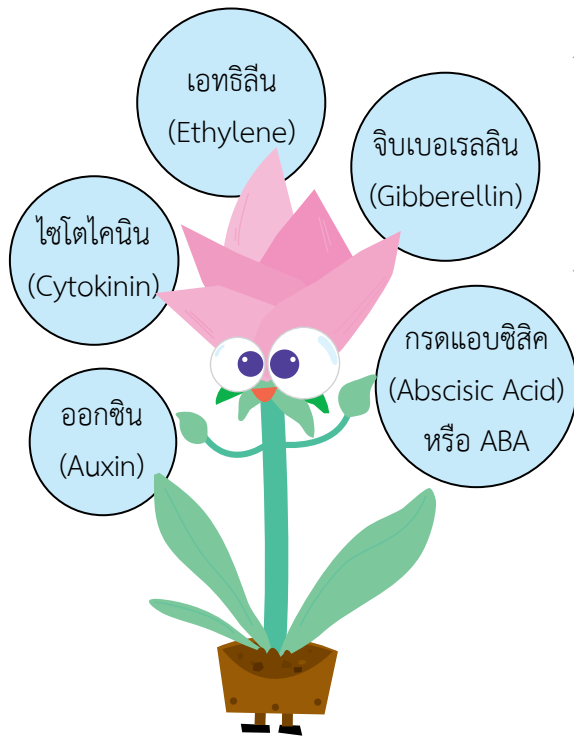
	ชื่อสารเคมี	สูตรทางเคมี	จำนวน เท่า	ปริมาณสารต่อ ลิตร (กรัม)	ปริมาณสารที่ใช้ (มิลลิลิตรต่อลิตร)
1	โปตัสเซียมไนเตรท แอมโมเนียมไนเตรท แคลเซียมคลอไรด์	MS-major salts $\text{KNO}_3$ $\text{NH}_4\text{NO}_3$ $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	50	95.0 82.5 22.0	20
2	บอริกแอซิด โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต โปตัสเซียมไอโอดัด โซเดียมโมลิบเดต โคบอลต์คลอไรด์	MS-minor salts $\text{H}_3\text{BO}_3$ $\text{KH}_2\text{PO}_4$ $\text{KI}$ $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	100	0.62 17.0 0.083 0.025 0.0025	10
3	แมกนีเซียมซัลเฟต แมงกานีสซัลเฟต ซิงค์ซัลเฟต คอปเปอร์ซัลเฟต	MS-minor salts $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	100	37.0 1.69 0.86 0.0025	10
4	เอททีลินไดอามีนเตตราอะซิเตท เฟอร์รัสซัลเฟต	Iron Chelate Solution $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	100	3.725 2.785	10
5	ไกลซีน นิโคตินิกแอซิด ไทอามีนไฮโดรคลอไรด์ ไพริดอกซินไฮโดรคลอไรด์ ไมโอ-อินซิทอล	MS-vitamins Glycine Nicotinic acid Thiamine-HCl Pyridoxine-HCl Myo-Inositol	100	0.2 0.05 0.01 0.05 10.0	10





**ฮอร์โมนพืช** เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่พืชสังเคราะห์ในปริมาณที่น้อยมาก จากบริเวณหนึ่งแล้วเคลื่อนย้ายไปยังบริเวณอื่น มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของเนื้อเยื่อ และอวัยวะของพืชซึ่งได้รับฮอร์โมนนั้น

ฮอร์โมนพืช ได้แก่



**สารควบคุมการเจริญเติบโต (Plant Growth Regulator)** เป็นสารสังเคราะห์ที่มีคุณสมบัติเหมือนฮอร์โมนพืช

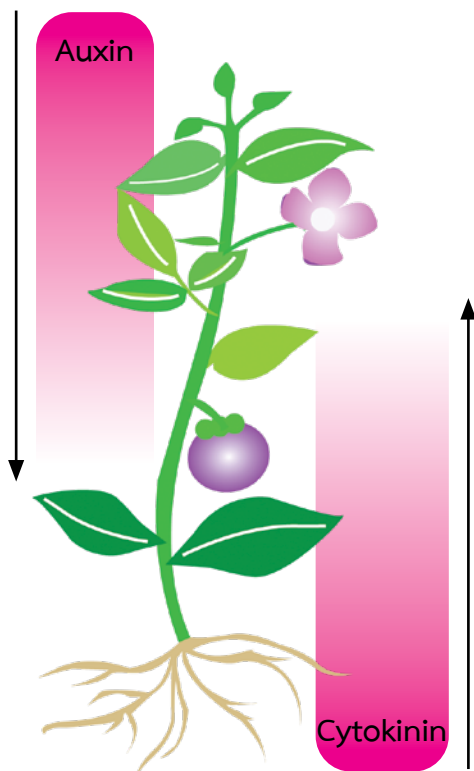


**สารควบคุมการเจริญเติบโต** ที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้แก่ กลุ่มออกซิน (Auxin) และ ไซโตไคนิน (Cytokinin)

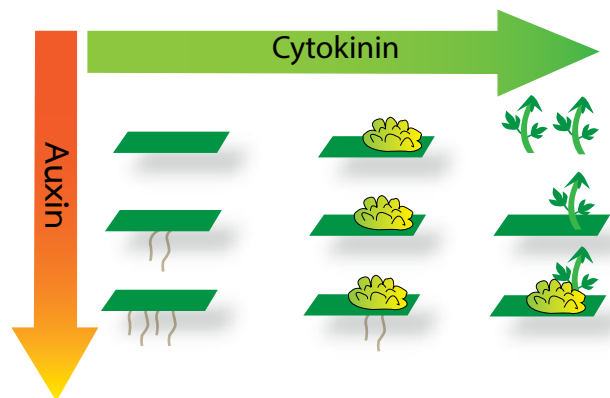
**ออกซิน (auxins)** เป็นกลุ่มของสารที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการขยายขนาดของเซลล์ (cell enlargement) การเกิดแคลลัส ยับยั้งการเกิดยอด แต่ส่งเสริมการเกิดราก สร้างบริเวณส่วนยอด

**ไซโตไคนิน (cytokinins)** เกี่ยวข้องกับการแบ่งเซลล์ของพืช กระตุ้นการเกิดยอด ยับยั้งการเกิดราก และกระตุ้นให้เกิดแคลลัสเมื่อใช้ร่วมกับออกซิน สร้างบริเวณปลายรากและใบอ่อน

การเคลื่อนที่ของออกซิน



การเคลื่อนที่ของไซโตไคนิน



AUXIN > CYTOKININ -----root differentiation

CYTOKININ > AUXIN -----shoot formation





## สารควบคุมการเจริญเติบโต (Plant growth regulators)

Auxin		dissolved in dilute NaOH or aqueous ethanol
4-chlorophenoxyacetic acid		4-CPA
2,4-Dichlorophenoxyacetic acid		2,4-D
Indole-3-acetic acid		IAA
Indole-3-butyric acid		IBA
$\alpha$ -Naphthaleneacetic acid		NAA
$\beta$ -Naphthoxyacetic acid		NOA
Cytokinin		dissolved in dilute NaOH or aqueous ethanol
6-Benzylaminopurine		BA
6-( $\gamma,\gamma$ -Dimethylallylamino) purine		2iP
6-Furfurylaminopurine (Kinetin)		Kinetin
Zeatin		Zeatin
Thiadiazuron		TDZ
Gibberellin		dissolved in water or aqueous ethanol
Gibberellic acid		GA3
Abscisic acid		dissolved in dilute NaOH or aqueous ethanol
Abscisic acid		ABA

ที่มา : [www.sigma-aldrich.com](http://www.sigma-aldrich.com)

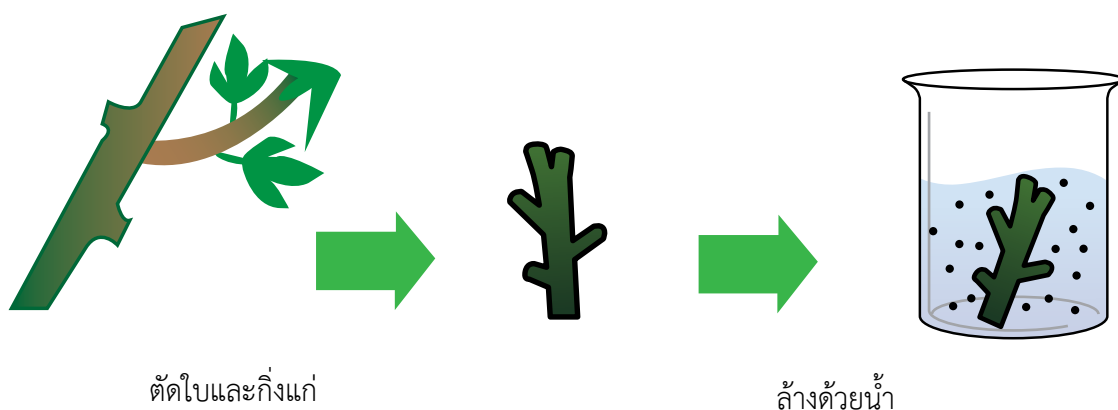


## 2. การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนของพืช

การทำให้ชิ้นส่วนของพืชปลอดเชื้อ โดยการใช้สารเคมีหรือความร้อน ซึ่งทำหน้าที่ให้ส่วนประกอบที่สำคัญของจุลินทรีย์เสียไปก่อนที่จะนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

สารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อพืช

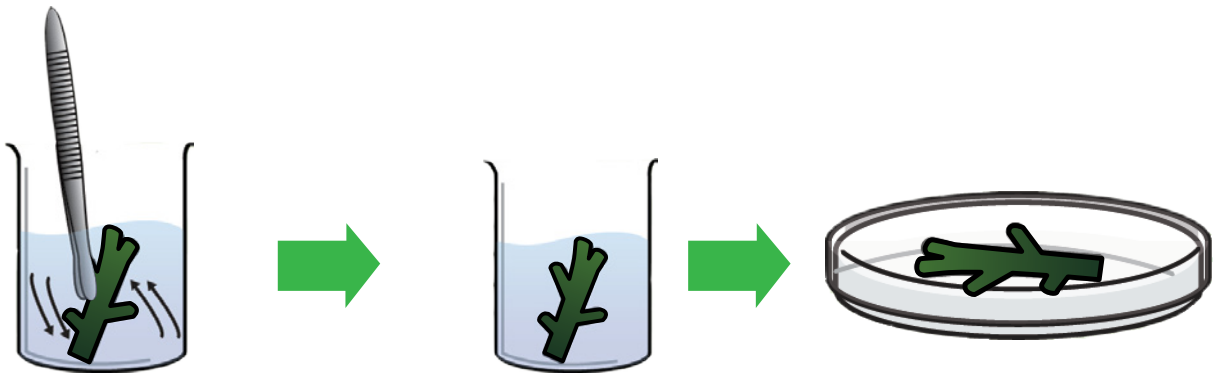
- แอลกอฮอล์ (Alcohol)
- สารโซเดียม/แคลเซียมไฮโปคลอไรท์ (Sodium/Calcium hypochlorite) เช่น Clorox ที่มีโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 5.25 % ปริมาณที่ใช้ คือ 10-20 %
- เมอร์คิวริกคลอไรด์ (Mercuric chloride)
- ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide)
- ซิลเวอร์ ไนเตรท (Silver nitrate)
- ยาปฏิชีวนะ (Antibiotic)





### วิธีการฟอกฆ่าเชื้อพืชด้วยสารเคมี

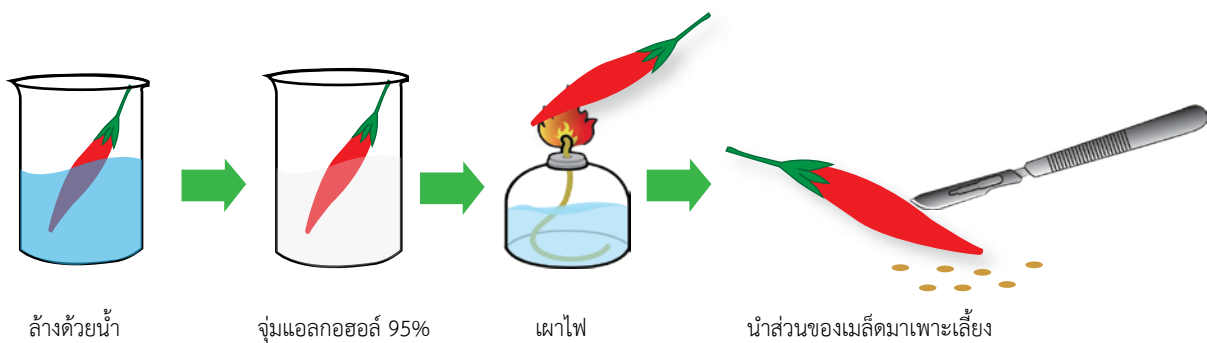
- ล้างชิ้นส่วนพืชให้สะอาดหรือเช็ดทำความสะอาด
- แช่ชิ้นส่วนพืชในแอลกอฮอล์เข้มข้น 70 %
- แช่ชิ้นส่วนพืชในสารละลายคลอโรกซ์ 10-20 % เป็นเวลา 5-20 นาที
- ล้างด้วยน้ำสะอาดที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว
- ตัดชิ้นส่วนพืชให้มีส่วนที่ต้องการเพาะเลี้ยงอยู่



ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอโรกซ์หรือสารอื่นๆ

### วิธีการฟอกฆ่าเชื้อพืชด้วยความร้อน

- ล้างชิ้นส่วนพืชให้สะอาดหรือเช็ดทำความสะอาด
- จุ่มชิ้นส่วนพืชในแอลกอฮอล์เข้มข้น 95 % เป็นเวลา 1-2 นาที แล้วนำมาลนไฟ
- ตัดชิ้นส่วนพืชให้มีส่วนที่ต้องการเพาะเลี้ยงอยู่



ล้างด้วยน้ำ

จุ่มแอลกอฮอล์ 95%

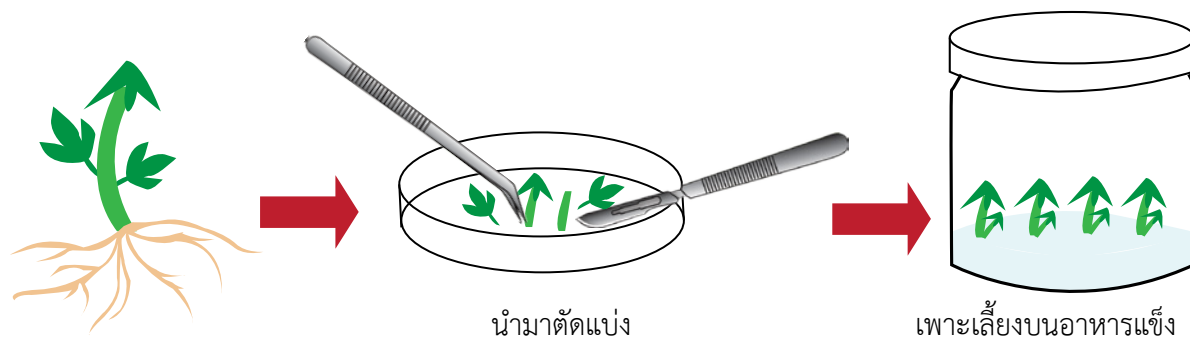
เผาไฟ

นำส่วนของเมล็ดมาเพาะเลี้ยง



### 3. การเพิ่มจำนวน

เป็นการนำต้นพืชที่ได้จากการฟอกฆ่าเชื้อมาชักนำให้เพิ่มขยายต้นจำนวนมาก โดยทำการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน



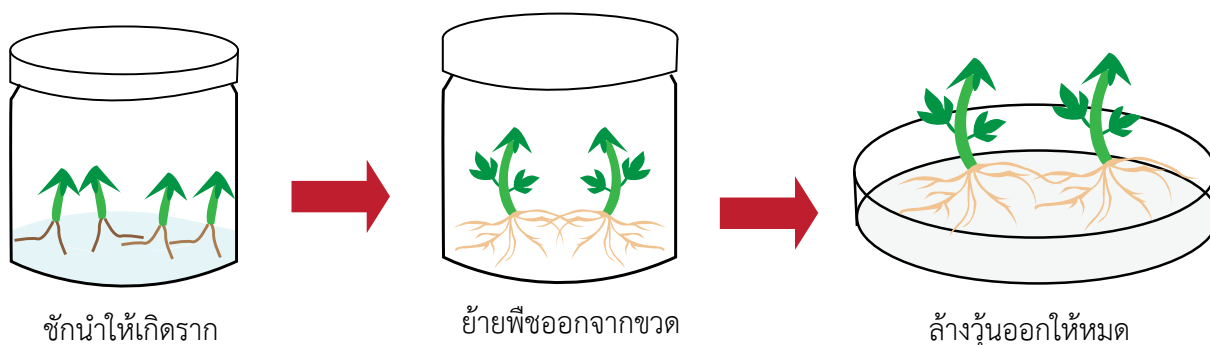
ต้นพืชในสภาพปลอดเชื้อ

นำมาตัดแบ่ง

เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง

### 4. การชักนำรากพืช

เป็นการนำต้นพืชที่ได้จากการเพิ่มจำนวนต้น มาชักนำให้เกิดรากในอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน



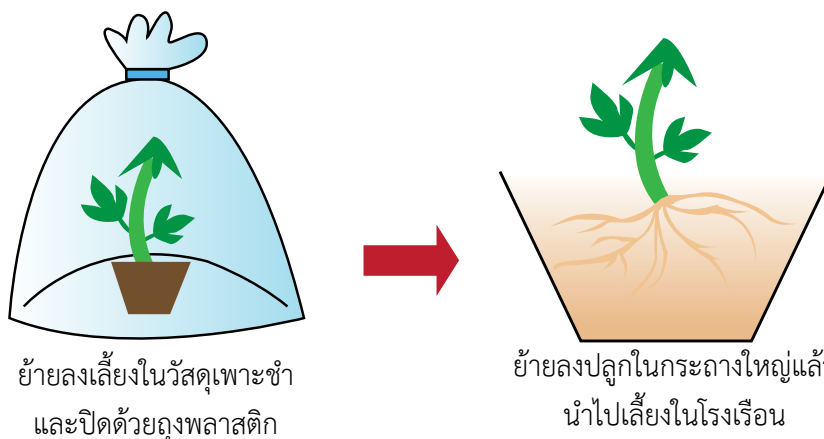
ชักนำให้เกิดราก

ย้ายพืชออกจากขวด

ล้างรากออกให้หมด

### 5. การย้ายออกปลูก

เป็นการย้ายต้นพืชออกจากขวดเพาะเลี้ยงสู่สภาพแวดล้อมภายนอก จำเป็นต้องมีการปรับสภาพของต้นพืชให้ทนต่อสภาพแวดล้อมภายนอกเพื่อลดการตายของต้นพืชเนื่องจากการย้ายปลูก



ย้ายลงเลี้ยงในวัสดุเพาะชำ และปิดด้วยถุงพลาสติก

ย้ายลงปลูกในกระถางใหญ่แล้วนำไปเลี้ยงในโรงเรือน





# ตอนที่ 3

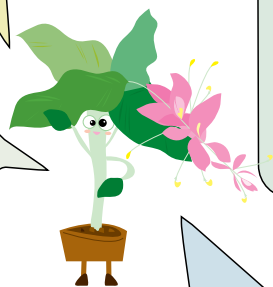
## บทบาทในสังคมไทย กับงานวิจัยเพื่อเพิ่มศักยภาพของ ปทุมมา และหงส์เหินในตลาดโลก

**ประโยชน์**ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและเซลล์ นอกจากเพื่อการผลิตต้นพันธุ์ปทุมมาปริมาณมากในระยะเวลาที่รวดเร็ว ต้นพืชที่ผลิตได้ปลอดโรคและมีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนกับต้นแม่แล้วยังเป็นการเก็บรักษาพันธุ์พืชทั้งในเชิงอนุรักษ์ฐานพันธุกรรม และเชิงการผลิตต้นพันธุ์ได้ตลอดปี แม้ว่าเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชและเซลล์จะ

ไม่ใช่เทคโนโลยีใหม่ แต่ก็มีการพัฒนาอยู่ตลอดเวลา ทั้งในเรื่องเทคโนโลยีเพาะเลี้ยงเองและสารควบคุมการเจริญเติบโตใหม่ๆ เพื่อเพิ่มศักยภาพการเจริญและพัฒนาจากชิ้นส่วนพืชไปเป็นต้นพันธุ์ที่สมบูรณ์ ดังนั้นในปัจจุบันเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและเซลล์จึงถูกนำมาประยุกต์ใช้กับการพัฒนาพันธุ์ปทุมมาดังนี้

1. การเพิ่มจำนวนของสายพันธุ์ปทุมมา เพื่อเป็นแหล่งพันธุกรรมที่สามารถหาได้และมีสำรองตลอดปีสำหรับงานปรับปรุงพันธุ์ ทั้งนี้สืบเนื่องมาจากการที่พืชสกุลนี้มีการพักตัวตั้งแต่เดือนตุลาคมถึงเดือนมีนาคมในปีถัดไป

2. การเพิ่มปริมาณต้นพันธุ์สำหรับใช้เพื่อการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์



4. การเพิ่มจำนวนโครโมโซม (Polyploidization) เพื่อแก้ความเป็นหมันของปทุมมาลูกผสม

5. การรวมโปรโตพลาสต์ (Protoplast fusion หรือ somatic hybridization) เป็นแนวทางหนึ่งในการสร้างลูกผสมจากพืชที่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมเข้าด้วยกัน ซึ่งไม่สามารถทำได้จากการผสมพันธุ์พืชโดยวิธีปกติ

3. การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ (embryo culture) และการช่วยชีวิตเอ็มบริโอ (embryo rescue) จากการผสมข้ามชนิด (interspecific hybridization) หรือผสมข้ามกลุ่ม (intergeneric hybridization) ที่โดยปกติไม่สามารถพัฒนาเป็นเอ็มบริโอและเมล็ดที่สมบูรณ์ได้ ทำให้เอ็มบริโอลูกผสมที่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมสามารถมีชีวิตรอดได้ ทั้งยังเป็นการลดเวลาที่เมล็ดสุกแก่และเข้าสู่การพักตัวอีกหนึ่งฤดูปลูก จึงช่วยร่นระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์ปทุมมา



# เทคโนโลยีการผลิตต้นพันธุ์ปทุมมาและหงส์เหินเพื่อการส่งออก

## ขั้นตอนที่ 1 การผลิต ต้นพันธุ์ปทุมมาและต้นหงส์เหินปลอดโรค

สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) ได้พัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในการเพิ่มปริมาณการผลิตต้นพันธุ์ปทุมมา

และหงส์เหินปลอดโรค (พ.ศ. 2548-2553) เพื่อเพิ่มขีดความสามารถในการผลิตหัวพันธุ์ เพื่อเป็นการลดข้อจำกัดของฤดูกาลในการผลิต



หัวพันธุ์ คือ เหง้าที่มีรากสะสมอาหารเพื่อใช้ในการเจริญเป็นต้นต่อไป

ต้นพันธุ์ คือ ต้นปทุมมา หรือหงส์เหินที่ยังไม่มีการพัฒนาหัวพันธุ์ที่สมบูรณ์



การผลิตต้นพันธุ์หงส์เหินปลอดโรค



การผลิตต้นพันธุ์ปทุมมาปลอดโรค





## ขั้นตอนที่ 2 การผลิตหัวพันธุ์ปทุมมาและหงส์เหิน

สวทช. มีความร่วมมือกับบริษัท รีลชีด จำกัด (พ.ศ. 2548-2553) ในการพัฒนาระบบการผลิต หัวพันธุ์ปทุมมาและหงส์เหินเพื่อการส่งออก สามารถผลิตหัวพันธุ์คุณภาพได้ในระยะเวลา 1 ฤดูปลูก

(5-8 เดือน) จากเดิมต้องใช้เวลาประมาณ 10 เดือน (ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์) ซึ่งเป็นการเพิ่มความสามารถในการกำหนดระยะเวลาการผลิตหัวพันธุ์ให้สอดคล้องกับความต้องการของตลาดต่างประเทศ



ลักษณะของต้นปทุมมาที่ปลูกจากต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ปลูกจากหัวพันธุ์

- 1 ปลูกจากต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยไม่ชักนำให้เกิดรากสะสมอาหาร
- 2 - 3 ปลูกจากต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยชักนำให้เกิดรากสะสมอาหาร
- 4 ปลูกจากหัวพันธุ์ปกติ

### ผลกระทบเชิงเศรษฐกิจ

1. ลดต้นทุนการผลิตหัวพันธุ์  
มีต้นทุนการผลิตต่ำกว่าเนื่องจากใช้เวลาเพียง 1 ฤดูปลูก เปรียบเทียบกับการปลูกเลี้ยงปกติที่ต้องใช้เวลา 2 ฤดูปลูก
2. เพิ่มประสิทธิภาพการผลิตหัวพันธุ์  
หัวพันธุ์ปีเดียวมีคุณภาพที่ดีเทียบเท่ากับหัวพันธุ์ที่ผลิตในระยะเวลาปกติ ทำให้เกษตรกรสามารถผลิตหัวพันธุ์ได้อย่างต่อเนื่องตลอดปี
3. หัวพันธุ์มีคุณภาพสูง เนื่องจากผลิตจากต้นพันธุ์ปลอดโรค





## ปทุมมา หงส์เหิน..... บทบาทในตลาดโลก

“สยามทิวลิป” (Siam tulip) เป็นสมญานามของปทุมมาเมื่อนำเข้าสู่ตลาดยุโรป ด้วยลักษณะคล้ายกับดอกทิวลิป แต่เนื่องด้วยมีถิ่นฐานกำเนิดในประเทศไทย จึงใช้คำว่า “สยาม” นำหน้าอย่างสง่าผ่าเผย ปทุมมาพันธุ์แรก ที่นำเข้าสู่ตลาดต่างประเทศคือ พันธุ์เชียงใหม่พิงค์ (CMP : *Curcuma alismatifolia*)

ตลาดใหญ่ที่สุดของหัวพันธุ์ปทุมมาคือ เนเธอร์แลนด์ ซึ่งเป็นศูนย์กลางการค้าขายไม้ดอกไม้ประดับในกลุ่มประเทศ EU (European Union)

หรือที่เรียกว่าสหภาพยุโรป ซึ่งมีระบบการผลิต การตลาด การขนส่ง ครอบคลุมทั่วยุโรป อาจกล่าวได้ว่าหัวพันธุ์ปทุมมาที่ส่งออกจากไทย 70-80% มีเป้าหมายไปที่เนเธอร์แลนด์

พันธุ์ปทุมมาที่นิยมมากที่สุดในตลาดเนเธอร์แลนด์คือเชียงใหม่พิงค์ และพันธุ์ในกลุ่มของ *Curcuma alismatifolia* เช่น สโนไวท์ เชียงใหม่เรด และขาวปลายแดง เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีพันธุ์ลูกผสม เช่น ซ็อกโกแลต ขาวมะลิ มองปลั่งค์ เป็นต้น



เชียงใหม่พิงค์



มองปลั่งค์





ขาวมะลิ



ขาวปลายแดง



สโนไวท์



ซ็อกโกแลต





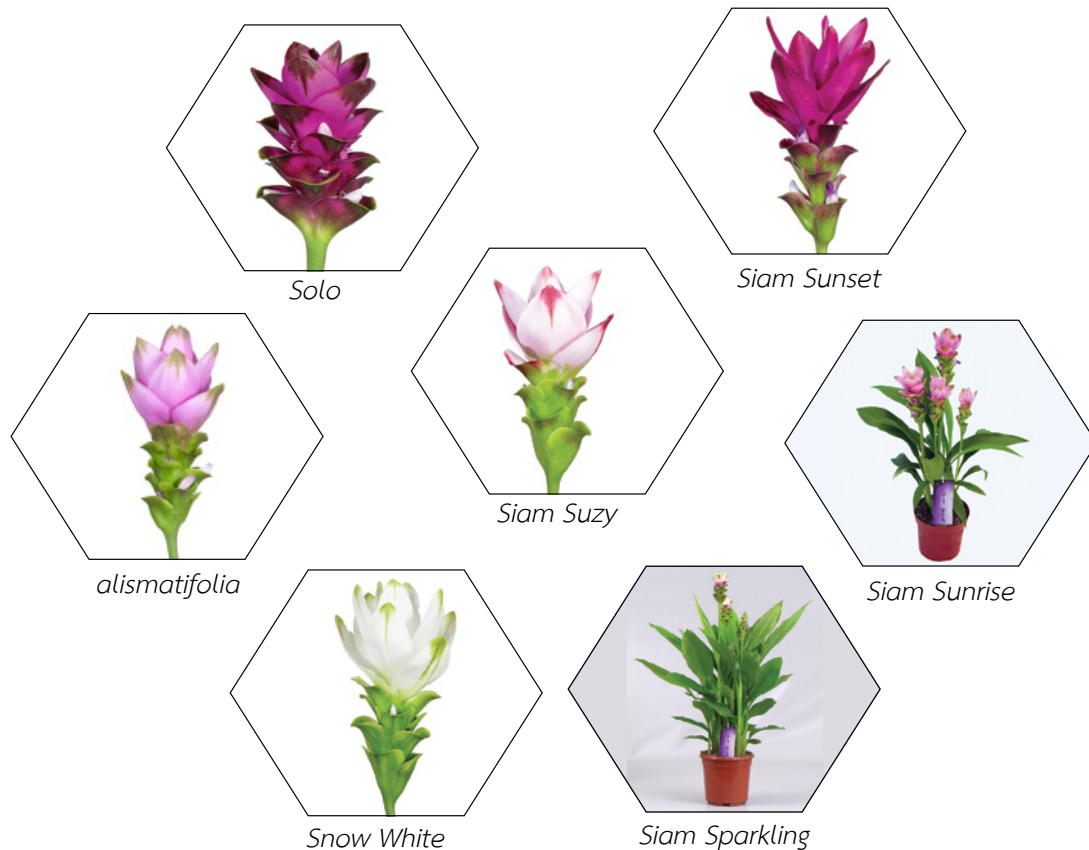


ส่วนมากเป็นทั้งเกษตรกรผู้ผลิตหรือเป็นคนกลางขาย หัวพันธุ์อีกต่อหนึ่ง พันธุ์ที่นำเข้าจึงเป็นพันธุ์ซึ่งทุกคนหาซื้อได้ในรูปหัวพันธุ์จากระบบการตลาดดังกล่าว ทำให้ไม่มีพันธุ์พิเศษในตลาดยุโรป

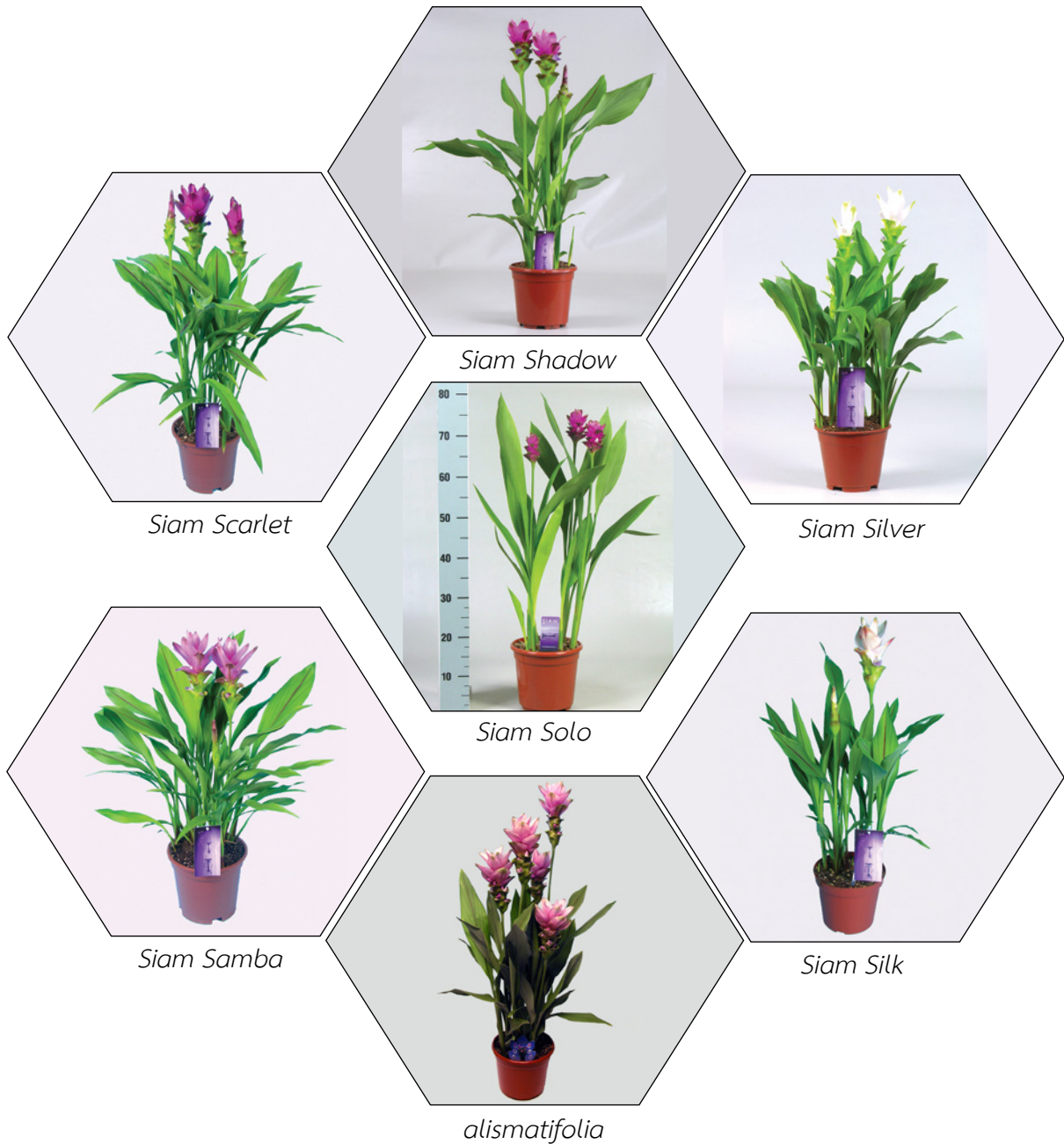
พันธุ์ปทุมมาที่เป็นที่นิยมในเนเธอร์แลนด์ นอกเหนือจากพันธุ์เชียงใหม่พิงค์ เป็นพันธุ์ที่ปรับปรุงพันธุ์โดยบริษัทผู้ค้าปทุมมาชื่อบริษัท K.P. Holland. B.V. ซึ่งนำเสนอพันธุ์ในกลุ่ม Siam™ โดยตั้งชื่อเป็น Siam series ดังนี้

### เส้นทางปทุมมาสู่ตลาดโลก

ผู้นำเข้าหัวพันธุ์ในประเทศเนเธอร์แลนด์มี 4-5 ราย ซึ่งมีการค้าขายกันมานานแล้ว ผู้นำเข้า







ที่มา : (<http://www.kpholland.nl/en/kwekercurcuma>)  
พันธุ์ปทุมมา Siam™ series

การใช้ปทุมมาในตลาดยุโรปแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ ไม้ตัดดอกและไม้กระถาง การผลิตไม้ตัดดอก เกษตรกรจะผลิตในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 18 เซนติเมตร เมื่อตัดดอก 1-2 ดอกแล้ว จะจำหน่ายเป็นไม้กระถาง เมื่อคุณภาพดอกลดลง เกษตรกรผู้ผลิตปทุมมาจะผลิตแล้วจำหน่ายให้แก่ลูกค้าของตนเองหรือผ่านตลาดประมูล Flora Holland ([www.floraholland.com](http://www.floraholland.com)) ในปี 2011 จำนวน

ไม้ตัดดอกปทุมมาผ่านตลาดประมูลคือ 3.4 ล้านดอก กลุ่มพันธุ์ Siam™ (8 พันธุ์) มีจำนวนประมาณ 900,000 ดอก และเชียงใหม่พิงค์ประมาณ 2 ล้านดอก และที่เหลือเป็นพันธุ์อื่นๆ สำหรับไม้กระถาง ตัวเลขจากตลาดประมูล Flora Holland รวม 1.46 ล้านกระถาง เป็นพันธุ์ในกลุ่ม Siam™ (14 พันธุ์) ประมาณ 945,000 กระถาง และเชียงใหม่พิงค์ประมาณ 4 แสนกระถาง และที่เหลือเป็นพันธุ์อื่นๆ





โรงเรือนปทุมมาในประเทศเนเธอร์แลนด์

สำหรับหงส์เหิน มีการคัดเลือกพันธุ์และตั้งชื่อพันธุ์โดยบริษัทผู้ค้าไม้ดอกในเนเธอร์แลนด์ และสามารถศึกษาข้อมูลหงส์เหินในตลาดประมูลไม้ดอกได้จาก <http://www.vanzelderennl/Globba/Globba.html>

The screenshot shows a website for G.J. van Zelder BV De Kwakel. The header includes the company name and a navigation menu with items like Home, Kamerplanten, Snijgroen, Palmen, Curcuma, Globba, and Contact. A phone number +31 (0)297 32 54 62 is displayed. The main content area features a section for 'Goed houdbare bloem' (Good lasting flower) for the Globba product. It describes the Globba as a three-week vase life flower, available in various colors like Britney®, Deep Purple®, and Snow Crystal. A specific section for 'Britney®' notes its striking color and dark foliage. To the right of the text is a photograph of several Globba plants in yellow trays, each with a small label.

ภาพหงส์เหินในตลาดประมูลไม้ดอกในประเทศเนเธอร์แลนด์







# ตอนที่ 4

## แหล่งเรียนรู้ปทุมมาและหงส์เหิน

### อุทยานแห่งชาติป่าหินงาม



ที่มาภาพ : สำนักงานประชาสัมพันธ์ จังหวัดชัยภูมิ

ตั้งอยู่บริเวณเทือกเขาพังเหยในเขตตำบลบ้านไร่ อำเภอสตึก จังหวัดชัยภูมิ

“ทุ่งดอกกระเจียว” เกิดจากดอกปทุมมาป่าหลากหลายสายพันธุ์ที่ขึ้นอย่างหนาแน่นจนกลายเป็นทุ่งรายรอบบริเวณอุทยานแห่งชาติป่าหินงาม มองเห็นดอกสีชมพูปนขาวก้านใบและลำต้นเป็นสีเขียวสดแซมกับสีเขียวขี้ของหญ้าที่ขึ้นมา ต้นกระเจียวจะออกดอกสวยงามตระการตาไปทั่วผืนป่าในช่วงฤดูฝนเดือนมิถุนายน จนถึงเดือนกรกฎาคมของทุกปี







## ศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตร (ศูนย์พันธุ์พืชเพาะเลี้ยง) สำนักงานสุพรรณบุรี

### ทุ่งดอกกระเจียวบานสีอรักวันแม่

ณ ศูนย์พันธุ์พืชเพาะเลี้ยง อำเภอบางเอื้องทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ในช่วงเดือนสิงหาคม

ชมดอกกระเจียวหลากหลายสีและหลายสายพันธุ์ในรูปแบบสวนภูเขาป่าและตระการตา กับ “ปทุมมา” หลากหลายสายพันธุ์ พบกับการจัดนิทรรศการเกี่ยวกับความรู้ทางวิชาการเกษตรและการจำหน่ายสินค้า OTOP เป็นการส่งเสริมแหล่งท่องเที่ยวเชิงเกษตรของจังหวัดสุพรรณบุรี

### สอบถามรายละเอียดเพิ่มเติมได้ที่

ศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตร (ศูนย์พันธุ์พืชเพาะเลี้ยง)

โทรศัพท์ : 0 3543 7704 5

โทรสาร : 0 3543 7705 ต่อ 9

ที่มาข้อมูล : การท่องเที่ยวแห่งประเทศไทย (ททท.) สำนักงานสุพรรณบุรี







## สวนพฤกษศาสตร์ภาคกลาง (พุแค)

### ประวัติความเป็นมา

สวนพฤกษศาสตร์ภาคกลาง (พุแค) ตั้งอยู่ในเขตป่าสงวนแห่งชาติ ป่าพระพุทธรบาท - พุแค ต.พุแค อ.เฉลิมพระเกียรติ จ.สระบุรี แต่เดิมประชาชนที่อยู่บริเวณใกล้เคียง นิยมเรียกกันว่า “สวนสวรรค์” ด้วยสภาพอันร่มรื่น ด้วยไม้ต้นขนาดใหญ่ มีลำธารไหลตลอดปี มีประวัติอันยาวนาน เป็นทั้งแหล่งศึกษา แหล่งพักผ่อน แหล่งท่องเที่ยวทางธรรมชาติ กรมป่าไม้ได้ริเริ่มดูแลรักษาและปรับปรุงสภาพป่าธรรมชาติมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2484 และได้เปิดการดำเนินการในรูปแบบของสวนพฤกษศาสตร์เมื่อปี พ.ศ. 2493

สวนพฤกษศาสตร์ภาคกลาง (พุแค) เริ่มมีการจัดแสดงพันธุ์หงส์เหิน หรือที่รู้จักกันว่า “ดอกเข้าพรรษา” ซึ่งพันธุ์ที่นิยมมาตัดบาตรดอกไม้มีสองสกุลคือ สกุล *Globba* (หงส์เหิน) ลักษณะดอกมีขนาดเล็ก หลากหลายสี เช่น ขาว ม่วง เหลือง และสกุล *Smithartia* ลักษณะดอกมีทั้งขนาดเล็ก และขนาดใหญ่ มีสีขาว และสีขาวอมชมพู







## อุทยานแห่งชาติน้ำตกพาเจริญ



**ในพื้นที่ป่าสงวนแห่งชาติป่าแม่สอด**

อุทยานแห่งชาติน้ำตกพาเจริญ หมู่ที่ 6 ตำบลช่องแคบ  
อำเภอพบพระ จังหวัดตาก 63160

ทางอุทยานได้นำพันธุ์ดอกกระเจียวสีส้ม  
มาปลูกไว้ที่บริเวณด้านหน้าทางขึ้นน้ำตกพาเจริญจน  
เป็นทุ่งดอกกระเจียวสีส้มดูสดใสไปทั่วบริเวณช่วง  
ฤดูฝน ระหว่างเดือนมิถุนายนถึงต้นเดือนกันยายนของ  
ทุกปี

**สอบถามรายละเอียดเกี่ยวกับช่วงเวลาบานของ  
ดอกกระเจียวสีส้มได้ที่**

อุทยานแห่งชาติน้ำตกพาเจริญ  
โทร. 0 5557 7590



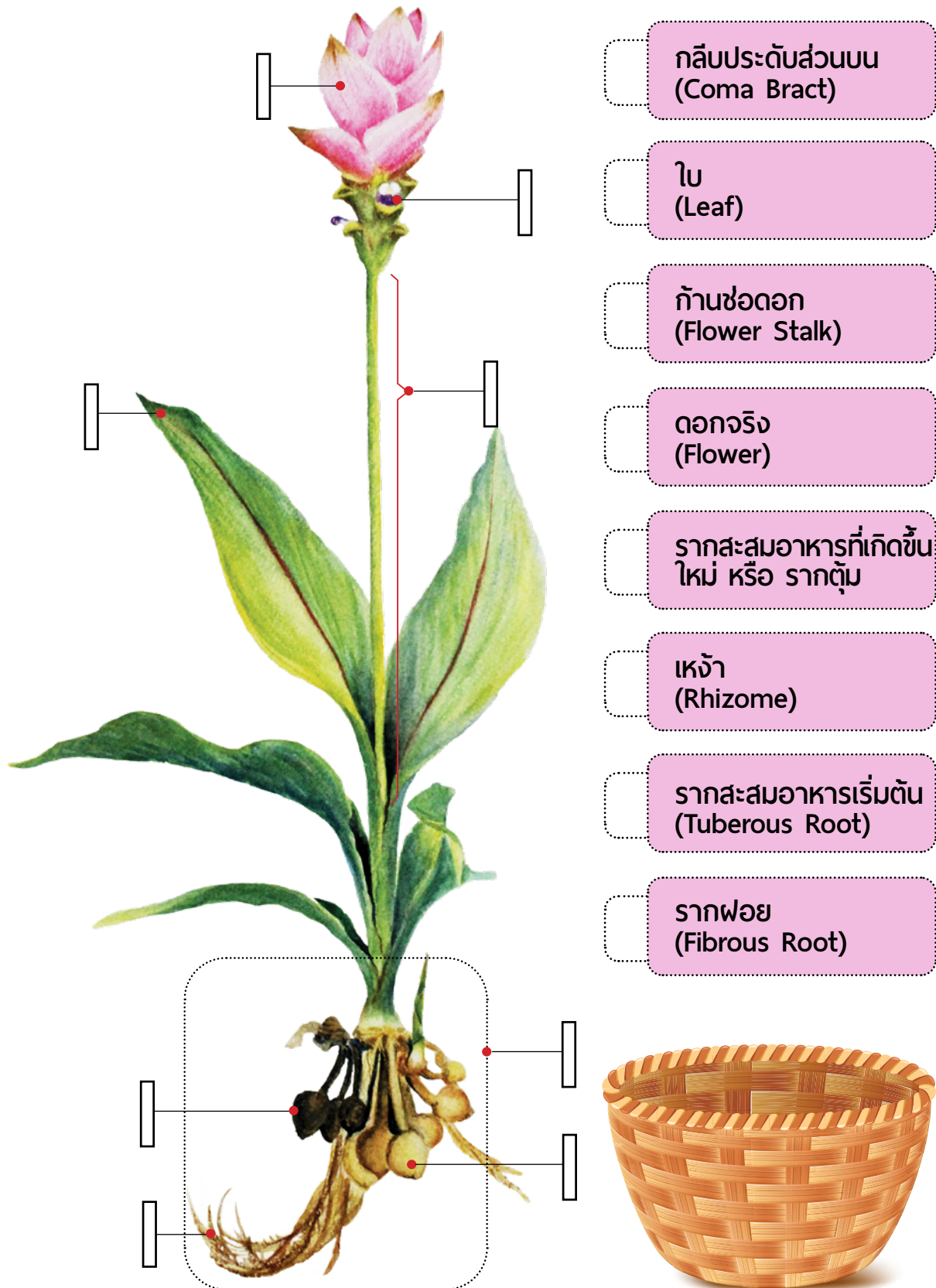
มาเล่นเกมกันเถอะ





# เกมทบทวนความรู้ : ส่วนประกอบของต้นปทุมมา

คำอธิบาย : นำคำศัพท์ในตะกร้ามาใส่ในตำแหน่งต่างๆ ของต้นปทุมมาให้ถูกต้องทั้ง 8 ตำแหน่ง





# เอกสารอ้างอิง

## หนังสือ

Russell, J., Ougham, H., Thomas, H., Waaland, S. 2013. The Molecular Life of Plants, 1<sup>st</sup> Edition. John Wiley & Sons, Ltd. Publication.

## วิทยานิพนธ์ระดับบัณฑิตศึกษา

- วิจิต แพพุล. 2551. การทดสอบหาวิธีการเพิ่มจำนวนต้นพันธุ์การชักนำรากสะสมอาหารโดยเทคนิคการ เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชและการย้ายออกปลูกของปทุมมาพันธุ์ลูกผสมเทพรำลึก (*Curcuma parviflora* hybrid) วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- พรชนก คงสมโอษฐ์. 2554. การร่นระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์ปทุมมาลูกผสมเพื่อเป็นไม้ตัดดอก โดยวิธีการเลี้ยงคัพเพาะ. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- นงคราญ โชติอิมอุตม. 2554. การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอเพื่อร่นระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์ปทุมมา เพื่อเป็นไม้กระถาง. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สุธนา เกตุมาโร. 2555. การสร้างพืชโพลีพลอยด์เพื่อแก้ลักษณะความเป็นหมันในปทุมมาลูกผสม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ ดุษฎีบัณฑิต (พืชสวน) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ญาตานุญสอน. 2556. การเพาะเลี้ยงโปรโตพลาสต์ปทุมมาเชียงใหม่พั้งค์ (*Curcuma alismatifolia*) และปทุมมาลัดดาวัลย์ (*Curcuma* hybrid laddawan). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

## ภาพถ่าย

สุกัญญา ศรีทันดร, วิจิต แพพุล, ภัทรพร ศุภปัญญาพงศ์, สวรรยา เจริญลาภพาณิชย์, พรชนก คงสมโอษฐ์, ทิวา เทพมณี

# ภาพประกอบ

ปกหน้า, หน้า 8, 52

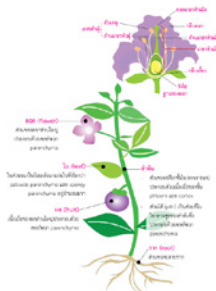


ดวงจิต โตไทยะ

หน้า 21, 24, 28, 35, 45



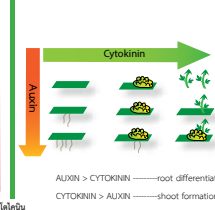
รุ่งโรจน์ รักมิตร



การเคลื่อนที่ของออกซิน



การเคลื่อนที่ของไซโตไคนิน



AUXIN > CYTOKININ → root differentiation  
CYTOKININ > AUXIN → shoot formation



คู่มือส่งเสริมการเรียนรู้ด้านพืช

## สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

Component (mg/l)	Murashige and Skoog (MS) Medium (1962)	Vacin and Went (VW) Medium (1949)	Gamborg-B5 (B5) Medium (1970)	White's Medium (1963)	WPM Lloyd & McCown (1981)
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	1,650				400
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$		500	134		
$\text{H}_3\text{BO}_3$	6.2		3.0	1.5	6.2
$\text{CaCl}_2$	332.2		113.24		
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$					96
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$				200	556
$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$		200			
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025		0.025		
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025		0.025		0.25
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	37.26	37.25	37.3		37.3
$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$		27.85		2.5	
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.8		27.8		
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370	250	122.9	360	370
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	16.9		10	5.04	29.4
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25		0.25		0.25
KCl				65	
KI	0.83		0.75	0.75	
$\text{KNO}_3$	1,900	525	2,500	80	
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	170	250	68		170
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$			130.5		
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$				16.5	
$\text{Na}_2\text{SO}_4$				200	
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$					
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.6	5.7	2.0	2.67	8.6
Myo-Inositol	100				
Folic Acid					
Nicotinic Acid	0.5			0.5	
Thiamine HCl	0.1			0.1	
Pyridoxine HCl	0.5			0.1	
Glycine	2.0			3	
Sucrose	30,000	20,000	20,000	20,000	20,000
pH	5.7	5.2	5.7	5.7	5.7

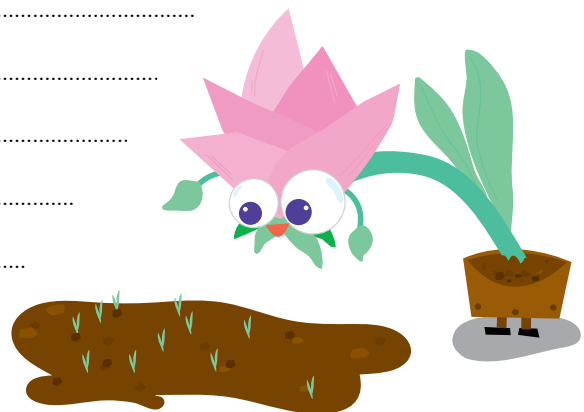
www.sigma-aldrich.com (modified)





# บันทึกข้อความ

Handwriting practice area consisting of multiple horizontal dotted lines for text entry.



ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (ไบโอเทค)

ร่วมกับ

ฝ่ายบริหารค่ายวิทยาศาสตร์

สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.)

กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

