

ความหมายและความสำคัญ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Tissue culture) เป็นการเพาะเลี้ยงส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น ลำต้น ยอด ตาซ้าง กิ่งานช่อดอก ใบ อับละอองเกสร ฯลฯ มาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ โดยมีการควบคุมอุณหภูมิและแสง จนชิ้นส่วนของพืชนั้นสามารถเจริญและพัฒนามาเป็นต้นที่สมบูรณ์ สามารถนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติได้

• ประโยชน์

คุณสมบัติที่ถูกนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์ของวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีหลายข้อพอสรุปได้ดังนี้

1. สามารถผลิตต้นพันธุ์พืชปริมาณมากในระยะเวลาด่วนรวดเร็วตัวอย่าง เช่น หากพืชสามารถเพิ่มปริมาณได้ 3 เท่า ต่อการย้ายลงอาหารใหม่ทุกเดือน ๆ ละ 1 ครั้ง เมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 6 เดือน จะสามารถผลิตต้นพันธุ์พืชได้ถึง 243 ต้น

2. ต้นพืชที่ผลิตได้จะปลอดโรค โดยเฉพาะโรคที่มีสาเหตุจากเชื้อไวรัส นายโคพลาสมา ด้วยการใช้เนื้อเยื่อเจริญที่อยู่บริเวณปลายยอดของลำต้น ซึ่งยังไม่มีการลำเลียงน้ำอาหาร อันเป็นทางเคลื่อนย้ายเชื้อดังกล่าว

3. ต้นพืชที่ผลิตได้ จะมีลักษณะตรงตามพันธุ์กรรมเหมือนต้นแม่ คือ มีลักษณะตรงตามพันธุ์ ดังกล่าวใช้เทคนิคของการเลี้ยงจากชิ้นตาพืชพัฒนาเป็นต้นโดยตรงหลีกเลี่ยงขั้นตอนการปลูกก่อนผลิตที่เรียกว่า แคลลัส
4. ต้นพืชที่ผลิตได้จะมีขนาดสม่ำเสมอ ผลผลิตที่ได้มีมาตรฐานและเก็บเกี่ยวได้คราวละมาก ๆ พร้อมกันหรือในเวลาเดียวกัน

5. เพื่อการเก็บรักษาหรือแลกเปลี่ยนพันธุ์ระหว่างประเทศ
6. เพื่อประโยชน์ด้านการสกัดสารจากต้นพืช นำมาใช้ประโยชน์ด้านต่าง ๆ เช่น ยาฆ่าแมลง ยกรักษาโรค เป็นต้น



• ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

สถานที่สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ควรมีการแบ่งสัดส่วนเพื่อให้เหมาะสมและสะดวกต่อการทำงาน โดยแบ่งอย่างง่าย ๆ ออกเป็น 3 ส่วน คือ

1. ห้องเตรียมอาหาร เป็นห้องที่ใช้เก็บสารเคมีและวัสดุอุปกรณ์เพื่อการสังเคราะห์อาหารผสมอาหาร มีอุปกรณ์ดังนี้
 - 1.1 สารเคมี จัดวางในตู้หรือชั้นวางของอย่างเป็นระเบียบเป็นหมวดหมู่หรือตามตัวอักษร ที่สำคัญควรอยู่บริเวณเดียวกับตัวเครื่องชั่ง
 - 1.2 เครื่องชั่งมี 2 แบบ คือเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่งและ 2 ตำแหน่ง , เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่างของน้ำในการเตรียมอาหารจะมีค่าอยู่ที่ 5.6 อุปกรณ์ตรวจวางอยู่บนโต๊ะที่มีผนังกันสนิมและพื้นง่าย



- 1.3 เครื่องแก้วและเครื่องมืออื่น ๆ ควรมีเก็บมิดชิดและไม่ห่างจากอ่างน้ำมากนัก
- 1.4 อ่างน้ำ ใช้สำหรับล้างทำความสะอาดเครื่องมือต่าง ๆ เพื่อความสะดวกต่อการปฏิบัติงาน อาจอ่างน้ำหนึ่งของบริเวณห้อง

- 1.5 บริเวณเตรียมอาหาร ควรเป็นโต๊ะหรือพื้นที่ที่มีความสูงพอที่จะปฏิบัติงานในลักษณะยืนหรือกึ่งที่ต่ำได้
- 1.6 เครื่องกรองน้ำ อาจใช้เครื่องกรองน้ำดื่มตามบ้านได้

- 1.7 เครื่องคนสารละลายใช้สำหรับคนสารละลายย่นเมื่อใส่แห้งคนไฟฟ้า (Magnetic stirrer) ขณะเตรียมอาหาร
- 1.8 เตาต้มอาหาร อาจเป็นเตาต้มไฟฟ้าหรือเตาแก๊ส ใช้สำหรับต้มอาหาร เพื่อให้สุกละลาย

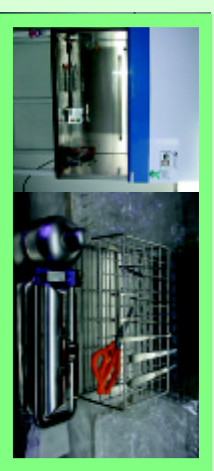
- 1.9 ตู้อบความร้อนแห้ง (Hot air oven) ใช้ในการอบฆ่าเชื้อเครื่องแก้วและอุปกรณ์ในการตัดย้ายเนื้อเยื่อโดยใช้อุณหภูมิ 180 °C เป็นเวลา 2 - 3 ชั่วโมง

- 1.10 เครื่องแก้ว บิวซิโนนิยมใช้เป็นหลอดลึกลับจุลินทรีย์ในอาหารร่วนโดยใช้ความร้อนในตู้ฉนวนภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 - 20 นาที

2. ห้องตัดเนื้อเยื่อ เป็นห้องที่มึ้นเจ้าหน้าที่ปฏิบัติงานมากที่สุด ควรเป็นห้องที่มีระบบป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์หลังการตัดผ่านฝาผนัง พื้นห้อง ควรฉีกฉีกเรียบมัน ไม่เป็นที่สะสมของฝุ่นละออง ทั่วความสะอาดง่าย วัสดุอุปกรณ์ที่อยู่ในห้องนี้ควรประกอบไปด้วย

- 2.1 ตู้ตัดเนื้อเยื่อ เป็นตู้ตัดเนื้อเยื่อที่ใช้ทำงานตัดย้ายชิ้นพืช มีระบบการหมุนเวียนของอากาศภายในตู้ที่สะอาดปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ตลอดเวลาคงจากการปฏิบัติงานด้วยระบบการถ่ายเทอากาศผ่านแผ่นกรองที่มีขนาดเล็กประมาณ 0.3 ไมครอน ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ไม่สามารถลอดลอดผ่านได้ ทั้งนี้ควรฉีดทำความสะอาดตู้ที่ทั้งก่อนและหลังปฏิบัติงานในแต่ละวัน โดยฉีดออกด้านนอกตู้เสมอ ด้วยแอลกอฮอล์ 70% รวบรวมการเปลี่ยนแผ่นกรองเชื้อจุลินทรีย์ตามกำหนดเวลา

- 2.2 วัสดุหรือเครื่องมือที่ใช้ตัดเนื้อเยื่อ ได้แก่
 - มีดผ่าตัด นิยมใช้ด้วยมีดเบอร์ 3 กับ เบอร์ 10 หรือ 11 ปากคิ๊ป (forceps) ใช้หนีบจับชิ้นพืชที่มีความสั้นยาวต่างกันเป็นต้นกับความสะอาดในการปฏิบัติงาน

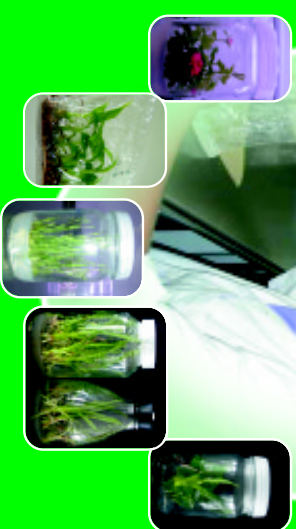


- ตะแกรงสำหรับวางมีดและปากคิ๊ป
- จานรองหรือกระดาษ ฯลฯ ที่นำมาวางผ่าเชื้อแล้วใช้ของตัดชิ้นเนื้อเยื่อ, ตะเกียงแอลกอฮอล์
- 2.3 อุปกรณ์อื่น ๆ ได้แก่
 - รถเข็นสำหรับวางของ
 - แก้วน้ำสำหรับล้างภาชนะตัดเนื้อเยื่อ

- 2.4 อุปกรณ์ดับเพลิง ควรมีในห้อง
3. ห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นห้องปลอดเชื้อ ความอุณหภูมิให้อยู่ระหว่าง 25-28 °C ใช้เป็นสถานที่วางเนื้อเยื่อพืชเป็นห้องที่มึ้นเครื่องมือที่ใช้ก็ไม่เกี่ยวข้องกับเชื้อออกโดย



การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในห้องปฏิบัติการ



ศูนย์เตรียมและจัดเก็บถาวรพันธุกรรม

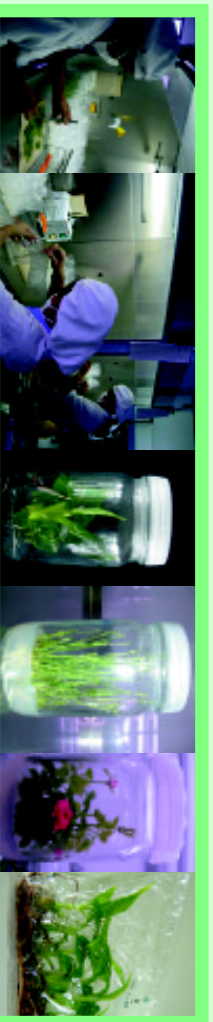
จังหวัดสุพรรณบุรี

(พื้นที่พืชเพาะเลี้ยง)

สำนักส่งเสริมและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 2

จังหวัดสุพรรณบุรี

กรมส่งเสริมการเกษตร



เด็ดขาด เพราะจะทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์
อุปกรณ์ที่สำคัญที่ต้องอยู่ในห้อง ได้แก่

- 3.1 ตู้วางนํ้าเย็นเพื่อพืช ตู้นํ้าเย็นที่ทำด้วยไม้เหล็กลาก
แสดงหลอดหรือตู้มีเยื่อขนาดกว้างยาวสูงประมาณ
60x125x200 ซม. มีชั้นวาง 5 ชั้น แต่จะชั้นห่างกันประมาณ
30 ซม. โดยส่วนที่ทำเป็นพื้น ควรจะเป็นกระจกหรือ
ฟอรั่มที่ทนความร้อนหรือทนไฟมีหลอดไฟที่ความสว่าง
แก่พืชเพื่อการสังเคราะห์แสง นิยมใช้หลอดไฟที่เรียกว่า
Grolux เพราะมีคุณสมบัติของการให้แสงสีแดง ซึ่งเหมาะ
กับการสังเคราะห์แสงของพืช แต่หลอดชนิดนี้มีราคาค่อนข้าง
สูง จึงอาจใช้หลอดไฟฟลูออโรสเซนต์ ชนิดธรรมดาที่ช้
กับอาคารบ้านเรือนก็ได้ ทั้งนี้ควรให้หลอดไฟอยู่ห่างจาก
ตู้วางนํ้าเย็นเยื่อในระยะเวลา 20 ซม. และแต่ละหลอด
อยู่ห่างกันประมาณ 30 ซม. เพื่อให้ความเข้มแสง 2,000-
3,000 ลักซ์ เมื่อวัดด้วยเครื่องมือที่เรียกว่า lux meter โดย
เปิดไฟติดต่อกันนาน 16 ชม ต่อวัน จึงควรนำพืช
ควบคุมการเปิดไฟ (timer) ด้วย
- 3.2 เครื่องฆ่ายาแบบเปียก ใช้สำหรับเนื้อเยื่อพืชที่
เลี้ยงในอาหารเหลว มีลักษณะการเคลื่อนที่ในแนวราบ
กับพื้นโลกอัตรา 100-150 รอบต่อนาทีเป็นการเพิ่ม
ออกซิเจนลงไปในอาหารเพื่อให้เนื้อเยื่อพืชได้รับออกซิเจน
อย่างเพียงพอต่อการเจริญเติบโต

● ขั้นตอนสำหรับการขยายพันธุ์พืชโดยวิธีการเพาะ เลี้ยงเนื้อเยื่อ ควรประกอบไปด้วยข้อจากาดังนี้

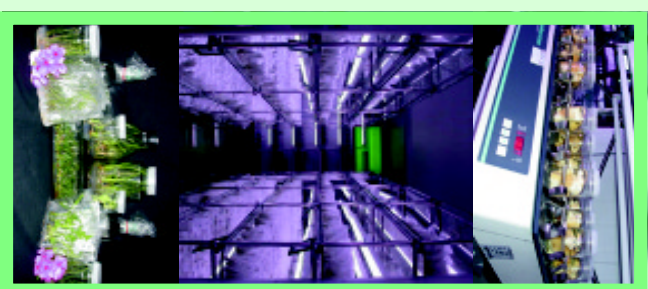
1. การคัดเลือกชิ้นส่วนที่เหมาะสม เพื่อนำไปฟอก
ฆ่าเชื้อและเลี้ยงในอาหารที่เตรียมขึ้น
2. การเพิ่มปริมาณของยอดในอาหารสูตรที่กินน้ำให้
เกิดขึ้นจำนวนมาก
3. การชักนำให้ต้นออกรากและการออกใบ

● วิธีการปลูกถ่ายอวัยวะกับเมล็ดพันธุ์ข้าว

ได้ดังนี้

1. เลือกชิ้นส่วนของพืชที่สะอาดปราศจากโรคและเป็น
ส่วนที่อ่อนอยู่เช่น ตายอดและข้อเป็นส่วนที่ดีที่สุด
2. ล้างให้สะอาดด้วยน้ำสบู่หรือผงซักฟอก
3. ซุบด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 1-2 นาที
4. ฟอกด้วยน้ำยาคลอรีน 10% เป็นเวลา 15 นาที
5. ตัดหรือลอกเอาส่วนที่ต้องการ เช่น กาบใบที่สุกตา
6. ฟอกด้วยน้ำยาคลอรีน 5% เป็นเวลา 10 นาที
7. นำไปล้างน้ำที่ฆ่าเชื้อแล้ว
8. ใช้มีดผ่าตัดที่สะอาดโดยชุบแอลกอฮอล์ในไฟแล้ว
ผ่าตัดตามงานกึ่งกระดุม โดยทำในตู้ดูดนํ้าเย็น
9. ใช้ปากคีบที่สะอาดโดยชุบแอลกอฮอล์ในไฟแล้ว
จับชิ้นส่วนของพืชไปเลี้ยงในอาหารที่เตรียมไว้
10. ลนไฟบริเวณปากขวด/ถุงปิดผนึก

1. นำขวด/ถุงที่เลี้ยงเนื้อเยื่อไปตั้งไว้ที่ห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ
12. ตั้งภาควัสดุที่บรรจุใบไม้ของชิ้นส่วนพืช
13. ตัดแบ่งชิ้นส่วนของพืชให้ตกลงไปสัก 2-3 ชิ้น
14. เมื่อได้ต้นพืชเพียงพอแล้ว นำมาชักนำให้เกิดราก
แล้วส่งอนุบาลต่อไป



ศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตร ส.พ.
ด.พลับพลาไชย อ.อุาดอง จ.สุพรรณบุรี 72160
โทร. 035 - 437704 - 5 ต่อ 120
Fax. 035 - 437705 ต่อ 102