เอกสารประกอบการอบรมเชิงปฏิบัติการ

การปรับปรุงพันธุ์พืชด้วยรังสี และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างง่าย

ภายใต้โครงการ ศูนย์รวมผู้เชี่ยวชาญด้านเทคโนโลยีการผลิตไม้ดอกไม้ประดับ

14-15 สิงหาคม 2568

ณ สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน)
อ.องครักษ์ จ.นครนายก

คำนำ

สำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ได้เล็งเห็นถึงความสำคัญในการพัฒนาองค์ความรู้และสนับสนุนงานวิจัยด้านไม้ดอกไม้ประดับ โดยได้จัดสรรงบประมาณโครงการศูนย์รวมผู้เชี่ยวชาญด้านเทคโนโลยีการผลิตไม้ดอกไม้ประดับ ภายใต้การดำเนินงานของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) โดยการทำงานร่วมกันระหว่างหน่วยงานในสถาบันอุดมศึกษา สถาบันวิจัย หน่วยงานภาครัฐและเอกชน เพื่อมุ่งเน้นผลสำเร็จในการนำผลงานวิจัย นวัตกรรม และเทคโนโลยีไปใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับไม้ดอกไม้ประดับได้อย่างมีประสิทธิภาพ สนับสนุนการพัฒนาเทคโนโลยีและนวัตกรรม เพื่อประโยชน์ต่อการพัฒนางานวิจัยในอนาคต

ศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีนิวเคลียร์ สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน) เป็นหน่วยงานทางด้านการวิจัยทำหน้าที่ศึกษาวิจัยและพัฒนาตลอดจนเผยแพร่ความรู้และสนับสนุนการใช้ประโยชน์จากพลังงานนิวเคลียร์ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชก็เป็นหนึ่งในส่วนที่มีความสำคัญในการปรับปรุงและพัฒนาพันธุ์พืช เพิ่มความหลากหลายของพันธุ์พืชให้มีลักษณะบางประการที่ดีขึ้น โดยรังสีที่ใช้ในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในพืช ได้แก่ รังสีแกมมา นิวตรอน หรืออิเล็กตรอน ซึ่งสามารถใช้ได้กับส่วนขยายพันธุ์ต่าง ๆ ของพืช เช่น เมล็ด กิ่งตา หน่อ ไหล เป็นต้น หรือการฉายชิ้นส่วนพืชที่อยู่ในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อให้เป็นการถ่ายทอดความรู้เกี่ยวกับการปรับปรุงพันธุ์พืชให้แพร่หลายและเกิดประโยชน์ จึงได้มีการจัดการฝึกอบรมถ่ายทอดความรู้เชิงปฏิบัติการขึ้นเพื่อส่งเสริมและประยุกต์ใช้เทคโนโลยีนิวเคลียร์ทางการเกษตร โดยมีหัวข้อการอบรมเรื่อง การปรับปรุงพันธุ์พืชด้วยรังสีและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างง่ายโดยจะมีเนื้อหาเกี่ยวกับความรู้ทางด้านเทคนิคในการปรับปรุงพันธุ์พืชด้วยรังสี ขั้นตอนการเตรียมอาหารและการย้ายเนื้อเยื่อเพื่อเพาะเลี้ยง ซึ่งเป็นเทคนิคพื้นฐานเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ซึ่งในครั้งนี้ได้จัดอบรมให้กับบุคคลทั่วไปที่สนใจเป็นระยะเวลา 2 วัน และเพื่อประโยชน์ในการเรียนรู้และฝึกอบรม ทางคณะผู้จัดทำจึงได้จัดทำเอกสารประกอบการอบรมเชิงปฏิบัติการนี้ขึ้น

ทางคณะผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าเอกสารประกอบการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการเล่มนี้จะเป็นคู่มือในการถ่ายทอดองค์ความรู้ต่อผู้ที่เข้ารับการฝึกอบรมในครั้งนี้และต่อบุคคลทั่วไปที่สนใจศึกษาเกี่ยวกับการปรับปรุงพันธุ์พืชด้วยรังสีและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้เป็นอย่างดี

คณะผู้จัดทำ

กรกฎาคม 2568

กำหนดการ

การฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ

เรื่อง "การปรับปรุงพันธุ์พืชด้วยรังสีและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างง่าย"

วันที่ 14 – 15 สิงหาคม 2568

ณ อาคาร 8 สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน)

อำเภอองครักษ์ จังหวัดนครนายก

วันพฤหัสบดี ที่ 14 สิงหาคม 2568

08:00 - 08:45 น. ลงทะเบียน

08:45 - 09:00 น. **กล่าวรายงาน**
โดย ดร.อนันต์ พิริยะภัทรกิจ
(นักวิจัยอาวุโส สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) และ ผู้บริหารจัดการ ศูนย์รวมผู้เชี่ยวชาญด้านเทคโนโลยีการผลิตไม้ดอกไม้ประดับ)
กล่าวเปิดงาน
ประธานในพิธี โดย ดร.วิภารัตน์ ดีอ่อง
ผู้อำนวยการสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.)

09:00 - 10:00 น. การบรรยายเรื่อง การปรับปรุงพันธุ์พืชด้วยรังสี
โดย นางสาวปิยนุช อ้อพงษ์
(นักวิทยาศาสตร์นิวเคลียร์ สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน))

10:00 - 11:00 น. การบรรยายเรื่อง พื้นฐานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างง่าย
โดย นางสาววรารัตน์ คำหวาน
(นักวิทยาศาสตร์นิวเคลียร์ สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน))

11:00 - 11.15 น. รับประทานอาหารว่าง

11:15 - 12:15 น. การบรรยายเรื่อง เทคโนโลยีนิวเคลียร์กับวัสดุเพาะปลูกทางการเกษตร
โดย ดร.ละมัย ใหม่แก้ว และ ดร.ธนกร แสงทวีสิน
(นักวิทยาศาสตร์นิวเคลียร์ชำนาญการ สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน))

12:15 - 13:00 น. พักรับประทานอาหารกลางวัน

13:00 - 14:30 น. แบ่งกลุ่มปฏิบัติการ

กลุ่มที่ 1 เข้าเรียนฐานที่ 1 เรื่อง การเตรียมอาหารเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างง่าย
นางสาวปิยนุช อ้อพงษ์ (วิทยากรฐานที่ 1)

กลุ่มที่ 2 เข้าเรียนฐานที่ 2 เรื่อง การฟอกและเตรียมเนื้อเยื่อพืช

นางสาววรารัตน์ คำหวาน (วิทยากรฐานที่ 2)

กลุ่มที่ 3 เข้าเรียนฐานที่ 3 เรื่อง การเพิ่มจำนวนของเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง

นายวิชัย ภูริปัญญวานิช และ นางสาวภัทรา เลิศศราวุธ (วิทยากรฐานที่ 3)

กลุ่มที่ 4 เข้าเรียนฐานที่ 4 เรื่อง การออกอนุบาลไม้เนื้อเยื่อ

ดร.ละมัย ใหม่แก้ว และ ดร.ธนกร แสงทวีสิน (วิทยากรฐานที่ 4)

14:30 - 15:00 น. รับประทานอาหารว่าง

15.00-16.30 น. แบ่งกลุ่มปฏิบัติการ

กลุ่มที่ 4 เข้าเรียนฐานที่ 1 เรื่อง การเตรียมอาหารเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างง่าย

นางสาวปิยนุช อ้อพงษ์ (วิทยากรฐานที่ 1)

กลุ่มที่ 1 เข้าเรียนฐานที่ 2 เรื่อง การฟอกและเตรียมเนื้อเยื่อพืช

นางสาววรารัตน์ คำหวาน (วิทยากรฐานที่ 2)

กลุ่มที่ 2 เข้าเรียนฐานที่ 3 เรื่อง การเพิ่มจำนวนของเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง

นายวิชัย ภูริปัญญวานิช และ นางสาวภัทรา เลิศศราวุธ (วิทยากรฐานที่ 3)

กลุ่มที่ 3 เข้าเรียนฐานที่ 4 เรื่อง การออกอนุบาลไม้เนื้อเยื่อ

ดร.ละมัย ใหม่แก้ว และ ดร.ธนกร แสงทวีสิน (วิทยากรฐานที่ 4)

<u>วันศุกร์ที่ 15 สิงหาคม 2568</u>

09.00-10.00 น. การบรรยายเรื่อง แนวทางการปรับปรุงและพัฒนาสายพันธุ์ไม้ดอกไม้ประดับ เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม โดย ดร.อนันต์ พิริยะภัทรกิจ (นักวิจัยอาวุโส สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) และผู้บริหารจัดการ ศูนย์รวมผู้เชี่ยวชาญด้านเทคโนโลยีการผลิตไม้ดอกไม้ประดับ)

10.00-10.30 น. รับประทานอาหารว่าง

10:30 - 12:00 น. แบ่งกลุ่มปฏิบัติการ

กลุ่มที่ 3 เข้าเรียนฐานที่ 1 เรื่อง การเตรียมอาหารเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างง่าย
นางสาวปิยนุช อ้อพงษ์ (วิทยากรฐานที่ 1)

กลุ่มที่ 4 เข้าเรียนฐานที่ 2 เรื่อง การฟอกและเตรียมเนื้อเยื่อพืช
นางสาววรารัตน์ คำหวาน (วิทยากรฐานที่ 2)

กลุ่มที่ 1 เข้าเรียนฐานที่ 3 เรื่อง การเพิ่มจำนวนของเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง
นายวิชัย ภูริปัญญวานิช และ นางสาวภัทรา เลิศศราวุธ (วิทยากรฐานที่ 3)

กลุ่มที่ 2 เข้าเรียนฐานที่ 4 เรื่อง การออกอนุบาลไม้เนื้อเยื่อ
ดร.ละมัย ใหม่แก้ว และ ดร.ธนกร แสงทวีสิน (วิทยากรฐานที่ 4)

12:00 - 13:00 น. พักรับประทานอาหารกลางวัน

13:00 - 14:30 น. แบ่งกลุ่มปฏิบัติการ

กลุ่มที่ 2 เข้าเรียนฐานที่ 1 เรื่อง การเตรียมอาหารเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างง่าย
นางสาวปิยนุช อ้อพงษ์ (วิทยากรฐานที่ 1)

กลุ่มที่ 3 เข้าเรียนฐานที่ 2 เรื่อง การฟอกและเตรียมเนื้อเยื่อพืช
นางสาววรารัตน์ คำหวาน (วิทยากรฐานที่ 2)

กลุ่มที่ 4 เข้าเรียนฐานที่ 3 เรื่อง การเพิ่มจำนวนของเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง
นายวิชัย ภูริปัญญวานิช และ นางสาวภัทรา เลิศศราวุธ (วิทยากรฐานที่ 3)

กลุ่มที่ 1 เข้าเรียนฐานที่ 4 เรื่อง การออกอนุบาลไม้เนื้อเยื่อ
ดร.ละมัย ใหม่แก้ว และ ดร.ธนกร แสงทวีสิน (วิทยากรฐานที่ 4)

14:30 - 14:45 น. รับประทานอาหารว่าง

14:45 - 16:00 น. เยี่ยมชมเครื่องฉายรังแกมมา และเครื่องเร่งอนุภาค ของ สทน.

16.00 - 16.30 น. สรุปผล ตอบคำถาม แลกเปลี่ยนประสบการณ์ และประเมินหลักสูตร

หมายเหตุ: กำหนดการอาจปรับและเปลี่ยนแปลงได้ตามความเหมาะสม

การถ่ายทอดความรู้เชิงปฏิบัติการเพื่อส่งเสริมและประยุกต์ใช้เทคโนโลยีนิวเคลียร์ทางการเกษตร
เรื่อง การปรับปรุงพันธุ์พืชด้วยรังสีและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างง่าย

หลักการและเหตุผล

ประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตไม้ดอกไม้ประดับที่สำคัญ นอกจากนี้ยังเป็นศูนย์กลางในการผลิตและปลูกเลี้ยงกล้วยไม้อันดับหนึ่งของประเทศและระดับภูมิภาคเอเชีย ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน การผลิตกล้วยไม้สามารถทำรายได้เข้าประเทศมากกว่าสองพันล้านบาทต่อปี เนื่องจากข้อได้เปรียบทางสภาพภูมิประเทศและภูมิอากาศ สำหรับไม้ดอกเศรษฐกิจที่มีความสำคัญรองลงมา ได้แก่ การผลิตหัวพันธุ์ปทุมมา หรือสยามทิวลิป นอกจากพรรณไม้ตัดดอกแล้ว บางพื้นที่ยังมีศักยภาพและสภาพอากาศที่เหมาะสมต่อการผลิตไม้ดอกไม้ประดับในรูปแบบพรรณไม้กระถาง ไม้ถุง และไม้ขุดล้อม อย่างเช่น อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย ซึ่งเป็นแหล่งที่ผลิตต้นคริสต์มาสที่ใหญ่ที่สุดของประเทศไทย เพราะมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญต่อการเจริญเติบโตของต้นคริสต์มาส หลากหลายสายพันธุ์ แต่ในปัจจุบันการผลิตและปลูกเลี้ยงไม้ดอกไม้ประดับมีจำนวนลดลง ในขณะที่ความต้องการจากผู้ใช้หรือผู้บริโภคไม้ดอกไม้ประดับยังมีจำนวนมากขึ้นอย่างต่อเนื่อง จึงจำเป็นต้องมีการพัฒนาสายพันธุ์ให้มีความหลากหลายตรงตามความต้องการของผู้บริโภค

อย่างไรก็ตาม การผลิตและปลูกเลี้ยงไม้ดอกไม้ประดับในประเทศไทย ยังจำเป็นต้องอาศัยองค์ความรู้ด้านวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีรูปแบบใหม่ ๆ อย่างเช่น การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออย่างง่าย การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีจากรังสีในการปรับปรุงและพัฒนาสายพันธุ์พืช ระบบการปลูกเลี้ยงที่ทันสมัย การเพิ่มผลผลิต รวมทั้งการสร้างผลผลิตที่มีคุณภาพ เนื่องจากเกษตรกรผู้ผลิตไม้ดอกไม้ประดับส่วนใหญ่ ยังไม่สามารถผลิตให้ได้คุณภาพและมาตรฐานของสินค้าที่ตรงตามความต้องการของตลาด ทั้งในประเทศและต่างประเทศ

ศูนย์รวมผู้เชี่ยวชาญด้านเทคโนโลยีการผลิตไม้ดอกไม้ประดับ ได้ดำเนินงานร่วมกับหน่วยงานเครือข่ายสถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน) ซึ่งมีทีมนักวิจัยที่มีองค์ความรู้ ความเชี่ยวชาญในเรื่องของการปรับปรุงพันธุ์พืชด้วยรังสีและมีเครื่องมืออุปกรณ์ที่สามารถถ่ายทอดให้ความรู้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสายพันธุ์ไม้ดอกไม้ประดับ จึงมุ่งเน้นนำเทคโนโลยีที่ทันสมัยไปถ่ายทอดความรู้ด้วยหลักสูตรฝึกอบรมส่งเสริมพัฒนาทักษะและองค์ความรู้ให้กับ

เครือข่ายนักวิจัย และผู้ประกอบการ ในหัวข้อเรื่อง “การปรับปรุงพันธุ์พืชด้วยรังสีและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างง่าย” เพื่อให้สามารถนำไปขยายผลต่อยอดในงานวิจัยและพัฒนาสายพันธุ์ไม้ดอกไม้ประดับให้มีความหลากหลายต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อพัฒนาทักษะการปรับปรุงและพัฒนาสายพันธุ์ไม้ดอกไม้ประดับให้กับเครือข่ายนักวิจัย และผู้ประกอบการ โดยการใช้เทคโนโลยีนิวเคลียร์และรังสีทำให้เกิดการกลายพันธุ์และมีความหลากหลายของสายพันธุ์พืช
2. เพื่อพัฒนาองค์ความรู้ด้านการขยายพันธุ์ไม้ดอกไม้ประดับด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างง่าย สามารถนำเทคโนโลยีและนวัตกรรมจากงานวิจัยไปประยุกต์ใช้ได้จริงในการผลิตและพัฒนาสายพันธุ์พืชต่อไป

สารบัญ

ภาคบรรยาย **หน้า**

บทที่ 1 สไลด์ประกอบการบรรยาย 1

การปรับปรุงพันธุ์พืชด้วยรังสี 2

ปิยนุช อ้อพงษ์ 2

พื้นฐานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างง่าย 12

วรารัตน์ คำหวาน 12

เทคโนโลยีนิวเคลียร์กับวัสดุเพาะปลูกทางการเกษตร 29

ดร.ละมัย ใหม่แก้ว และ ดร.ธนกร แสงทวีสิน 29

บทที่ 2 การปรับปรุงพันธุ์พืชด้วยรังสี (Plant Mutation Breeding) 43

บทที่ 3 ปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 56

เครื่องมือและอุปกรณ์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 57

รูปภาพเครื่องมือและอุปกรณ์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 59

สารเคมีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 62

การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 63

หลักการเตรียมอาหารในห้องปฏิบัติการ 64

ประเภทการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 65

การเตรียมโดยใช้ Stock Solution 65

การเตรียมอาหารโดยใช้อาหารสำเร็จรูป 68

การฟอกฆ่าเชื้อ (Surface Sterilization) 69

การตัดขยายเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง 73

การฉายรังสีเพื่อปรับปรุงพันธุ์พืช 74

การย้ายปลูกเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง 77

เอกสารอ้างอิง 78

คณะผู้จัดทำ 79

บทที่ 1

สไลด์ประกอบการบรรยาย

การปรับปรุงพันธุ์พืชด้วยรังสี

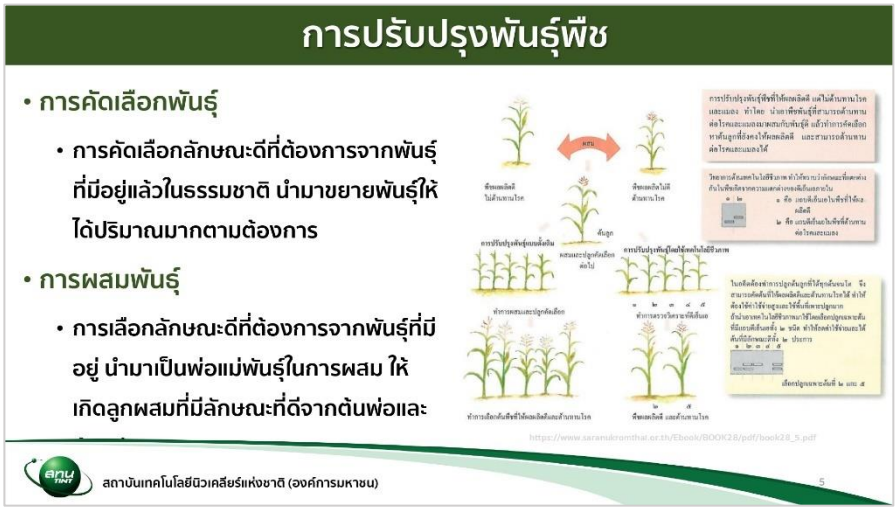
ปิยนุช อ้อพงษ์

นักวิทยาศาสตร์นิวเคลียร์

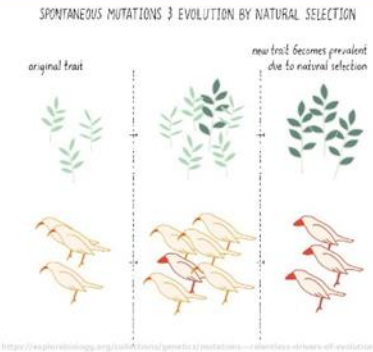
ศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีนิวเคลียร์

สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน)
ศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยี
นิวเคลียร์
Agriculture
Beam Utilization
Archaeology
Energy
Environment
Health & Cosmetics
Food & Herbs
Materials
การทำหมันแมลง
พอลิเมอร์ดูดซึมน้ำสูง
บรรเทาปัญหาขาดแคลนน้ำ
ไคโตซานฉายรังสี
กระตุ้นความต้านทานโรคพืช
สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน)
3

การปรับปรุงพันธุ์พืช
"การพัฒนาพันธุ์พืชให้มีลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม
มีลักษณะพันธุ์ดีกว่าเดิม ตรงตามความต้องการ
และสามารถนำไปขยายพันธุ์ต่อได้"
ผลผลิตเพิ่มสูงขึ้น
ต้านทานต่อโรคและแมลง
ทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่พึงประสงค์
เพิ่มความหลากหลายความสวยงาม
สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน)
4

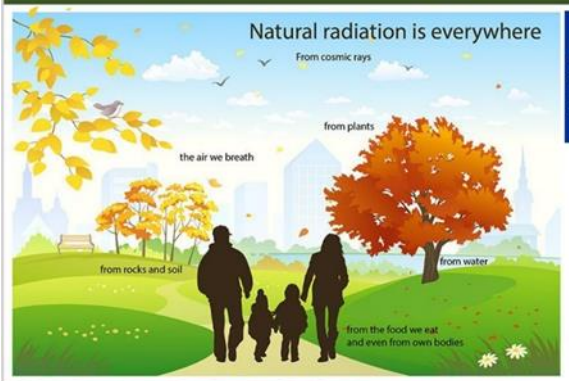

การปรับปรุงพันธุ์พืช
• การคัดเลือกพันธุ์
• การคัดเลือกลักษณะดีที่ต้องการจากพันธุ์ที่มีอยู่แล้วในธรรมชาติ นำมาขยายพันธุ์ให้ได้ปริมาณมากตามต้องการ
• การผสมพันธุ์
• การเลือกลักษณะดีที่ต้องการจากพันธุ์ที่มีอยู่ นำมาเป็นพ่อแม่พันธุ์ในการผสม ให้เกิดลูกผสมที่มีลักษณะที่ดีจากต้นพ่อและ
สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน)
5

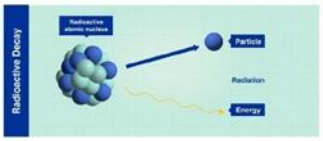
การปรับปรุงพันธุ์พืช



- การกลายพันธุ์
  - การกลายพันธุ์โดยธรรมชาติ (Spontaneous mutation)
  - การกลายพันธุ์โดยการชักนำ (Induced mutation)
    - สารเคมี - Ethyl methane sulfonate (EMS), Cochicine
    - รังสี
    - พันธุวิศวกรรม

รังสี



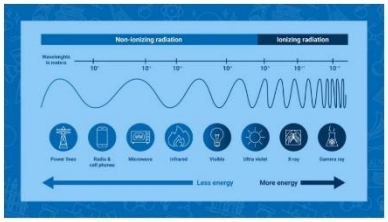


"พลังงานในรูปแบบหนึ่ง ที่สามารถเคลื่อนที่ จากที่หนึ่งไปยังที่หนึ่งได้ ในรูปของ คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าหรือ อนุภาค"

ประเภทของรังสี ตามแหล่งกำเนิด

(Dose values are from New Edition Radiations in the Living Environment 2011, Nuclear Safety Research Association)

ประเภทของรังสี ตามปฏิกิริยาของตัวกลางที่รังสีวิ่งผ่าน



- **รังสีชนิดไม่ก่อไอออน (Microwave, Infrared, UV)**
  - พลังงานต่ำ
  - ไม่มีพลังงานมากพอที่จะทำให้อิเล็กตรอนในตัวกลางที่วิ่งผ่านหลุดออกจากอะตอมหรือโมเลกุล
  - อาจกระตุ้นให้เกิดการสั่นของโมเลกุลหรือเกิดความร้อน
- **รังสีชนิดก่อไอออน (Gamma, alpha, neutron)**
  - พลังงานสูง
  - มีพลังงานมากพอที่ทำให้อิเล็กตรอนในตัวกลางที่วิ่งผ่านหลุดออกจากอะตอมหรือโมเลกุล

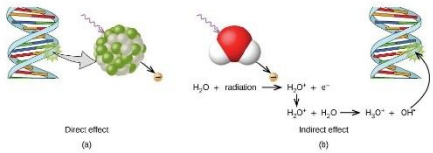
สัญลักษณ์หรือเครื่องหมายทางรังสี

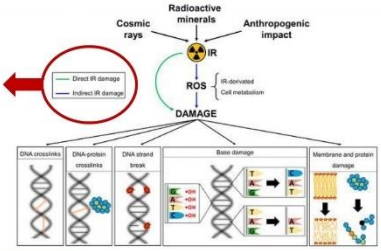
สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน)

เครื่องฉายรังสี

สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน)

ผลของรังสีต่อสิ่งมีชีวิต



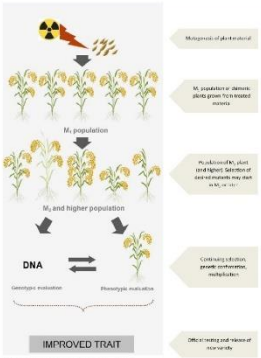


ดีเอ็นเอเสียหาย → ซ่อมแซมได้

ดีเอ็นเอเสียหาย → ไม่สามารถซ่อมแซมได้ → เซลล์ตายหรือกลายพันธุ์

สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน)

การปรับปรุงพันธุ์พืชด้วยรังสี



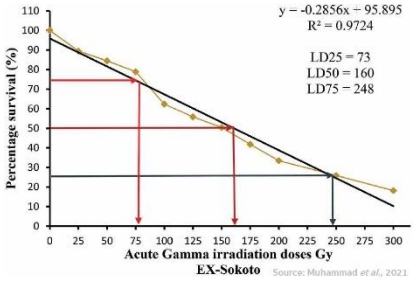
Source: SD Johnson et al., 2017

- เลือกชนิดและชิ้นส่วนของพืช
- กำหนดลักษณะที่ต้องการปรับปรุงพันธุ์
  - ให้ผลผลิตสูง
  - เปลี่ยนแปลงรูปร่างหรือลักษณะ (สีหรือรูปทรง)
  - ทนต่อโรค แมลง สภาพแวดล้อมต่างๆ
- เลือกชนิดและปริมาณรังสี
  - กำหนดปริมาณรังสีที่เหมาะสม
- ฉายรังสี ทดสอบ คัดเลือกลักษณะพันธุ์กลาย

ชิ้นส่วนพืชที่นำมาปรับปรุงพันธุ์

ส่วนของพืชที่สามารถนำมาขยายพันธุ์ให้เกิดต้นใหม่ได้

ปริมาณรังสีที่เหมาะสม



Source: Muhammad *et al.*, 2021

LD_{50} (Lethal Dose-50)

- ปริมาณรังสีที่ทำให้ตัวอย่างที่รับรังสีเกิดการตาย 50 เปอร์เซนต์

- **LD_{50} (Lethal Dose-50)**

- **GR_{50} (Growth Reduction-50)**

คัดเลือกลักษณะพันธุ์

คัดเลือกลักษณะกลายที่ต้องการ และทดสอบความคงตัวของพันธุ์กลายที่ได้

Thailand Institute of Nuclear Technology (Public Organization)

15

ตัวอย่างพืชที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์ด้วยรังสี

ข้าว

- กข 6 (ข้าวเหนียว) - 200 Gy gamma ข้าวขาวดอกมะลิ 105
  - ผลผลิตเพิ่มสูงขึ้น ต้านทานโรคใบจุดสีน้ำตาล
- กข 10 - 1 Gy fast neutron ข้าวกข 1
  - ผลผลิตเพิ่มสูงขึ้น
- กข 15 - 150 Gy gamma ข้าวขาวดอกมะลิ 105
  - ผลผลิตเพิ่มสูงขึ้น และทนต่อสภาวะแห้งแล้ง

ถั่วเหลือง

- ดอยคำ –150 Gy gamma สจ 4
  - ผลผลิตเพิ่มสูงขึ้น ขนาดเมล็ดใหญ่ขึ้น
  - ต้านทานโรคราสนิม

สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน)

16

ตัวอย่างงานวิจัยปรับปรุงพันธุ์พืชด้วยรังสี

ม่วงเทพรัตน์
(*Exacum affine* Balf.f. ex Regel.)

Irradiated with gamma radiation

Limtiyayotin *et al.*, 2018.

สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน)

17

ตัวอย่างงานวิจัยปรับปรุงพันธุ์พืชด้วยรังสี

Nagatomi S and Degi K, 2009.

เบญจมาศ

พันธุ์เดิม
Taihei

พันธุ์กลาย
เกษตรสาสตร์ 60 G (Kasetsart 60 G)

www.sci.ku.ac.th/Gamma/database/Benchamas/43/43_char_table.htm

WT BS IB-1-1 IB-1-2 IB-2-1 IB-2-2

Fig. 1. Flowers of wild-type 'Jimba' and its flower color mutants. WT, wild type; BS, bud sport; IB-1-1 and IB-1-2, flower color mutants obtained by heavy-ion-beam irradiation of BS; IB-2-1 and IB-2-2, flower color mutants obtained by heavy-ion-beam irradiation of IB-1-1.
Ohmiya *et al.*, 2012.

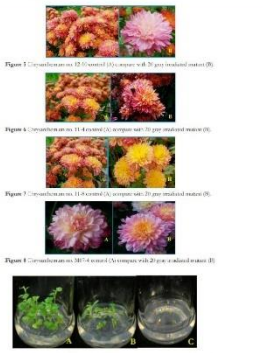


Figure 2 Twelve weeks chrysanthemum plantlets after treated by 0 (A), 20 (B), 40 (C) gray gamma irradiation.

Puripunyavanich *et al.*, 2019.

สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน)

18

สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ
(องค์การมหาชน)

พลาสมา กับ เกษตร

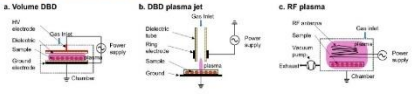
โดยความร่วมมือระหว่าง
ศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีนิวเคลียร์ และศูนย์วิศวกรรมและเทคโนโลยีนิวเคลียร์ชั้นสูง
สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน)

19

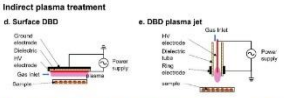
พลาสมากับการประยุกต์ใช้ด้านพืช

สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ
(องค์การมหาชน)

Direct plasma treatment



Indirect plasma treatment



Indirect treatment using plasma-activated water (PAW)

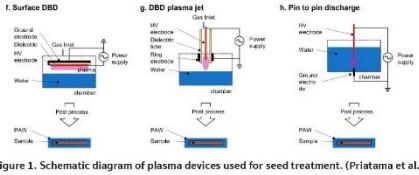


Figure 1. Schematic diagram of plasma devices used for seed treatment. (Priatama et al., 2022)

- **ฉายพลาสมา**
  ตัวอย่างได้รับพลาสมาโดยตรง
- **น้ำพลาสมา**
  ตัวอย่างไม่ได้รับพลาสมาโดยตรง จะได้รับผลจากน้ำพลาสมา จากการนำไปใช้ในกระบวนการต่างๆ ของพืช

✓ กระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์
- ❑ เพิ่มความงอก
- ❑ เพิ่มความแข็งแรงของพืช

✓ เพิ่มการเจริญเติบโตของพืช
- ❑ เพิ่มผลผลิต
- ❑ เพิ่มปริมาณสารสำคัญในพืช

✓ ควบคุมโรคและศัตรูพืช
- ❑ ลดปริมาณเชื้อก่อโรค

กระบวนการผลิตน้ำพลาสมาและผลผลิตจากพลาสมา

สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน)

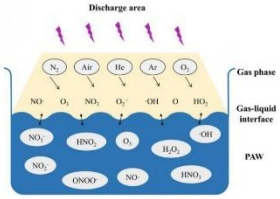


Figure 1. Schematic diagram of the formation of PAW components.

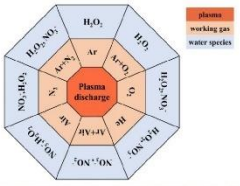


Figure 4. Effects of working gas on formation of major species in water.

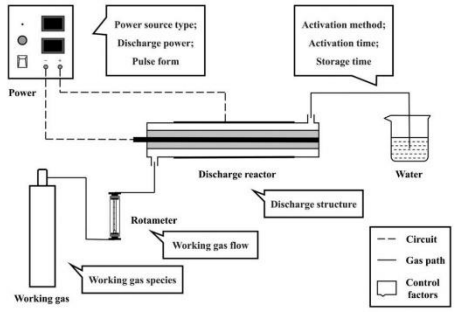


Figure 2. PAW production process and control factors.

Source: Guo et al., 2021. Plasma-activated water production and its application in agriculture. Journal of the Science of Food and Agriculture, 101(12), 4891–4899. doi:10.1002/jsfa.11258

ตัวอย่างงานวิจัย การฉายพลาสมากับพืช

สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน)

กระตุ้นการงอก ของเมล็ด

เสริมการเจริญเติบโต ของต้นกล้า

เพิ่มปริมาณและคุณภาพ ของผลผลิต

- **ถั่วเหลือง** (Ling และคณะ, 2014)

  เมล็ดถั่วเหลือง ได้รับ cold plasma 0, 60, 80, 100 และ 120 W เป็นเวลา 15 วินาที
  ผลการศึกษา การฉายที่ 80W ให้ผลดีที่สุด เปอร์เซนต์การงอก การเจริญเติบโตของต้นกล้า ความสูงต้น ความยาวราก น้ำหนักแห้งต้นและราก ปริมาณ soluble sugar และโปรตีน เพิ่มสูงขึ้น

- **ข้าวสาลี** (Dobrin และคณะ, 2015)

  เมล็ดข้าวสาลี ได้รับ non-thermal plasma ที่เวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที
  ผลการศึกษา การฉายที่เวลา 15 นาที ให้ผลดีที่สุด เปอร์เซนต์การงอก การเจริญเติบโตของต้นกล้า ความสูงต้น ความยาวราก น้ำหนักต้นและราก เพิ่มสูงขึ้น

- **แตงโม** (Lotfy, 2017)

  เมล็ดแตงโม ได้รับ cold atmospheric plasma jet ที่เวลา 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 นาที
  ผลการศึกษา การฉายที่เวลา 4 นาที ให้ผลดีที่สุด เปอร์เซนต์การงอก การเจริญเติบโตของต้นกล้า ความสูงต้น น้ำหนักต้น เพิ่มสูงขึ้น

- **พริก** (อรพินธ์ และคณะ, 2020)

  เมล็ดพริก ได้รับ cold plasma 0, 0.41, 0.48, 0.55 และ 0.61 W
  ผลการศึกษา การฉายที่ 0.41-0.61 W ให้ผลดีที่สุด จำนวนวันที่ออกดอกติดผลที่เร็วกว่าการไม่ได้รับพลาสมา การเจริญเติบโต ปริมาณ คุณภาพของผลผลิตพริก เพิ่มสูงขึ้น

ตัวอย่างงานวิจัย การฉายพลาสมากับพืช

สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน)

- **ข้าว** (Puripunyavanich และคณะ, 2021)

WALAILAK JOURNAL — Applied Sciences
http://wjst.wu.ac.th — https://doi.org/10.48048/wjst.2021.12051

Effects of Plasma Focus on Seed Germination and Seedling Growth of 14 Thai Rice Varieties

Vichai PURIPUNYAVANICH[1,*], Arlee TAMMAN[2], Piyanuch ORPONG[1], Roppon PICHA[1], Mayuree LIMTIYAYOTHIN[1], Pasit WONGHABUT[2], Warthichok SANGWANG[2], Kewalee NILGUMHANG[2] and Jiraporn PROMPING[2]

[1]Research and Development Division Thailand Institute of Nuclear Technology, Nakhon Nayok 26120, Thailand
[2]Center of Advanced Nuclear Technology, Thailand Institute of Nuclear Technology, Nakhon Nayok 26120, Thailand

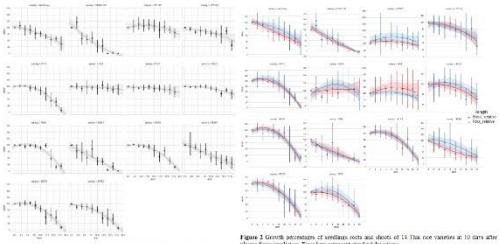
([*]Corresponding author's e-mail: vichaip@tint.or.th)

Received: 19 August 2020, Revised: 28 December 2020, Accepted: 5 January 2021

เมล็ดข้าว 14 สายพันธุ์ ฉายพลาสมาโฟกัส (plasma focus) ด้วยเครื่อง Thailand Plasma Focus 2 (TPF-2) ที่พลังงาน 2.16 kJ ซึ่งสามารถปลดปล่อย sharp x-ray pulses ได้

สายพันธุ์ข้าวที่ทดสอบ ข้าวเจ๊กเชย, ข้าวขาวดอกมะลิ 105, ข้าวขาวตาแห้ง 17, ข้าวเหลืองประทิว 123, ข้าวปทุมธานี 1, ข้าวกข1, ข้าวกข7, ข้าวกข31, ข้าวกข41, ข้าวกข47, ข้าวกข49, ข้าวกข67, ข้าวกข79และข้าวสุพรรณบุรี2

ผลการศึกษา การตอบสนองของข้าวแต่ละสายพันธุ์แตกต่างกัน เมื่อได้รับพลาสมาโฟกัสที่จำนวนชอตต่างๆ โดยที่จำนวนชอตต่ำๆ สามารถเพิ่มอัตราการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าได้ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม



ตัวอย่างงานวิจัย การฉายพลาสมากับพืช

สถาบันเทคโนโลยีชีวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน)

เพิ่มปริมาณสารสำคัญ

- ข้าวกล้องงอก (Sookwong และคณะ, 2014)
  เมล็ดข้าวกล้อง ได้รับ plasma jet 10 w เวลา 5 วินาที
  ผลการศึกษา เพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอก เพิ่มปริมาณสารโพลีฟีนอลิก เพิ่มปริมาณสารแกมมาอะมิโนบิวไทริค แอซิด (GABA) และเพิ่มสารประกอบอื่นๆ เช่น กลุ่มฟีโนลิก ไพแรนส์พูแรนควิโนน และกรดไขมันอิสระ ในข้าวกล้องงอกสูงกว่ากลุ่มควบคุม
- ข้าวกล้องงอก (Chen และคณะ, 2016)
  เมล็ดข้าวกล้อง ได้รับ low-pressure plasma ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 3 kV เวลา 10 นาที
  ผลการศึกษา เพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอก เพิ่มปริมาณเอ็นไซม์แอลฟาอะไมเลส และเพิ่มปริมาณสารแกมมาอะมิโนบิวไทริค แอซิด (GABA) ในข้าวกล้องงอกสูงกว่ากลุ่มควบคุม

ลดปริมาณเชื้อก่อโรคและเชื้อปนเปื้อน

- พริก (อังคณา และคณะ, 2015)
  เมล็ดพริกพันธุ์จักรพรรดิ ได้รับ atmospheric pressure plasma 120 และ 180 w เวลา 5, 7 และ 10 นาที
  ผลการศึกษา เมล็ดพันธุ์ที่ผ่านพลาสมาสามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อราได้ โดยเฉพาะเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านพลาสมา 180 w นาน 5 นาที สามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อรา *Curvularia sp.*, *Aspergillus sp.* และ *Cladosporium sp.* บนเมล็ดพันธุ์พริกได้ถึง 100%
- ผักและผลไม้สด (Apurva และคณะ, 2019)
  เมล็ดข้าวกล้อง ได้รับ atmospheric cold plasma ที่เวลา 1, 3, 5 และ 10 นาที
  ผลการศึกษา ลดเชื้อโรคเน่าเสียจุลินทรีย์ที่ติดอยู่กับผักกาดอย่างมีประสิทธิภาพ และกำจัดเชื้อโรคที่มากับอาหารจากผลผลิตสดหรือผักได้เทียบเท่ากับการชำระล้างด้วยคลอลีน

ตัวอย่างงานวิจัย การใช้น้ำพลาสมากับพืช

สถาบันเทคโนโลยีชีวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน)

กระตุ้นการงอก ของเมล็ด

เสริมการเจริญเติบโต ของต้นกล้า

เพิ่มปริมาณและคุณภาพ ของผลผลิต

- ข้าวไรย์ (rye) (Naumova และคณะ, 2011)
  เมล็ดข้าวไรย์ ได้รับ gas discharge activation water 5 นาที
  ผลการศึกษา เปอร์เซนต์การงอกเพิ่มสูงขึ้น 50% การเจริญเติบโตของต้นกล้า ความยาวต้น ความยาวราก เพิ่มสูงขึ้น 1.5-2 เท่า เมื่อเทียบกับชุดควบคุม
- ข้าวสาลี (Kucerova และคณะ, 2019)
  เมล็ดข้าวสาลี ได้รับ transient spark discharge activation water
  ผลการศึกษา เปอร์เซนต์การงอกเพิ่มสูงขึ้น การเจริญเติบโตของต้นกล้า ความยาวต้น น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง เพิ่มสูงขึ้น ปริมาณคลอโรฟิลล์และ soluble protein เพิ่มสูงขึ้น เมื่อเทียบกับชุดควบคุม
- ถั่วเขียว (Fan และคณะ, 2020)
  เมล็ดถั่วเขียว ได้รับ non-thermal plasma activation water
  ผลการศึกษา เปอร์เซนต์การงอกเพิ่มสูงขึ้น การเจริญเติบโตของต้นกล้าเพิ่มสูงขึ้น ปริมาณ total phenolic และ flavonoid เพิ่มสูงขึ้น เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ได้รับน้ำปกติ
- ถั่วเหลือง (Guragain และคณะ, 2021)
  เมล็ดถั่วเหลือง ได้รับ dielectric barrier discharge (DBD) activation water
  ผลการศึกษา เปอร์เซนต์การงอกและอัตราการงอกเพิ่มสูงขึ้น การเจริญเติบโตของต้นกล้า ความยาวต้น เพิ่มสูงขึ้น เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ได้รับน้ำปกติ

25

ตัวอย่างงานวิจัย การใช้น้ำพลาสมากับพืช

สถาบันเทคโนโลยีชีวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน)

- มะเขือเทศ (Punith และคณะ, 2019)
  ได้รับน้ำพลาสมาที่มีปริมาณไนโตรเจนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ จากการกระตุ้นด้วยพลาสมา ที่ระยะเวลาต่างกัน คือ 0, 10, 20 และ 30 นาที

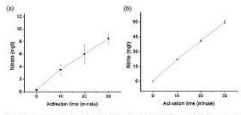


Fig. 2. (a) Nitrate (mg/l) production with different activation time. (b) Nitrite (mg/l) production with different activation time.

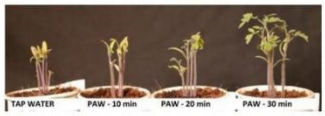


Fig. 7. Pictorial view of plants grown using PAW for different activation time and tap water.

ผลการศึกษา ต้นที่ได้รับน้ำพลาสมา PAW-30 มีความยาวต้นส่วนยอดเพิ่มสูงขึ้น 1.5 เท่า จำนวนใบเพิ่มสูงขึ้น 4 เท่า และปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบเพิ่มสูงขึ้นมากกว่า 2 เท่า และมีน้ำหนักสดเพิ่มสูงขึ้น 61% เมื่อเทียบกับชุดควบคุม

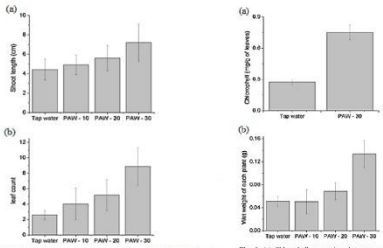


Fig. 5. (a) Shoot length of tomato with tap, PAW 10, 20, 30 min. (b) Leaf Count with different PAW and tap water.

Fig. 6. (a) Chlorophyll comparison between tap water and PAW (b) Wet weight of each plant for different PAW-10, 20, 30 min and Tap water.

26

ตัวอย่างงานวิจัย การใช้น้ำพลาสมากับพืช

สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน)

เพิ่มปริมาณสารสำคัญ

ลดปริมาณเชื้อก่อโรคและเชื้อปนเปื้อน

- ต้นอ่อนถั่วเขียว (Xiang และคณะ, 2019)
  ต้นอ่อนถั่วเขียว แช่ใน plasma activation water 10, 20 และ 30 นาที
  ผลการศึกษา ต้นอ่อนที่แช่น้ำพลาสมา 30 นาที มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ยีสต์และรา ลดลง 2.32 ถึง 2.84 $\log_{10}$ CFU/g โดยปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในต้นอ่อนไม่มีการเปลี่ยนแปลง เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ได้รับน้ำปกติ

- มะเขือเทศ (Adhikari และคณะ, 2019)
  ต้นอ่อนมะเขือเทศ ได้รับ cold plasma activation water ที่กระตุ้นด้วยพลาสมาที่ระยะเวลา 15, 30 และ 60 นาที
  ผลการศึกษา ต้นอ่อนที่ได้รับน้ำพลาสมา มีการเจริญเติบโตเพิ่มสูงขึ้น มีปริมาณ salicylic acid และ jasmonic acid ซึ่งเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันเพิ่มสูงขึ้น และมีการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวกับการตอบสนองต่อเชื้อเพิ่มสูงขึ้น เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ได้รับน้ำปกติ

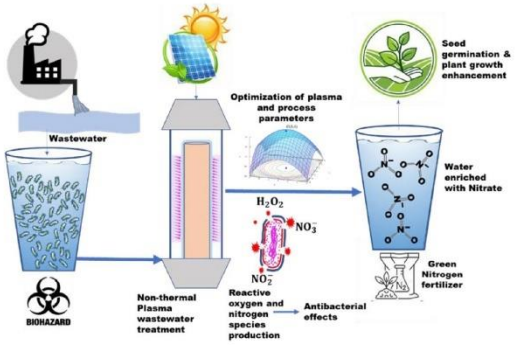
- แอปเปิ้ล (Liu และคณะ, 2020)
  แอปเปิ้ลหั่นสด แช่ plasma activation water ที่กระตุ้นด้วยพลังงานต่างกัน 6, 8 และ 10 kV
  ผลการศึกษา แอปเปิ้ลหั่นสดที่ได้รับน้ำพลาสมา มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ยีสต์และรา ลดลง 0.64 ถึง 1.05 $\log_{10}$ CFU/g ที่ระยะการเก็บ 12 วัน ช่วยลดการเกิดสีน้ำตาลที่ผิวของเนื้อแอปเปิ้ล โดยปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในผลที่ได้รับน้ำพลาสมาไม่มีการเปลี่ยนแปลง เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ได้รับน้ำปกติ

27

ตัวอย่างงานวิจัย การใช้น้ำพลาสมากับพืช

สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน)

- บำบัดน้ำเสียและนำกลับมาใช้ประโยชน์ใหม่ (Kooshki และคณะ, 2023)



น้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม

↓

ฉาย non-thermal plasma

↓

ลดปริมาณเชื้อ
และเพิ่มปริมาณสารอนุมูลอิสระ

↓

น้ำพลาสมาที่มีปริมาณไนเตรทสูง

↓

ช่วยเพิ่มการงอกและเจริญเติบโตของพืช

28

ข้อมูลการติดต่อนักวิจัย

สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน)

สนใจข้อมูลเพิ่มเติม

https://www.tint.or.th/ หรือ
https://rdd.tint.or.th/

ศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีนิวเคลียร์

- นายวิชัย ภูริปัญญวานิช
  - vichaipuri@gmail.com
- ดร. ละมัย ใหม่แก้ว
  - lamai@tint.or.th
- นางสาวปิยนุช อ้อพงษ์
  - piyanuch@tint.or.th
- นางสาววรารัตน์ คำหวาน
  - vararas@tint.or.th

ศูนย์วิศวกรรมและเทคโนโลยีนิวเคลียร์ชั้นสูง

- ดร. อาหลี ตำหมัน
  - arleet@tint.or.th

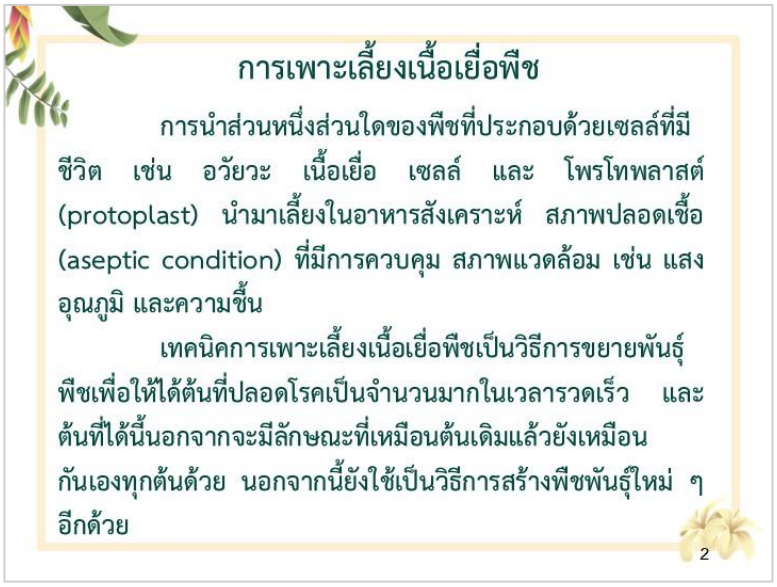
29

พื้นฐานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างง่าย

วรารัตน์ คำหวาน

นักวิทยาศาสตร์นิวเคลียร์

ศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีนิวเคลียร์



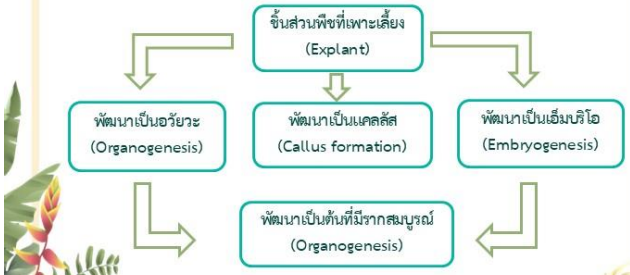
Gottlieb Haberlandt เป็นคนแรกที่เริ่มการทดลองเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และได้รับยกย่องว่าเป็น บิดาของเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ในประเทศไทยได้มีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาเข้าหลักสูตรระดับมหาวิทยาลัย ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2517 และได้มีการดัดแปลงเทคนิคให้ง่ายยิ่งขึ้น และนำเข้ามาอยู่ในหลักสูตรระดับมัธยมศึกษา ในปี พ.ศ. 2533

3

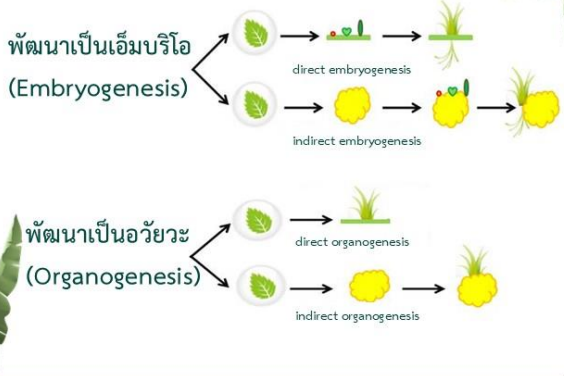
การเจริญเติบโตและพัฒนาของเนื้อเยื่อพืช

การเจริญเติบโตและพัฒนาของเนื้อเยื่อพืช ที่เลี้ยงในอาหารวิทยาศาสตร์ในสภาพปลอดเชื้อนั้นมีหลายรูปแบบ ดังนี้



* หลักการสำคัญ คือ aseptic condition

4



5

ชิ้นส่วนของพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารวิทยาศาสตร์ ในสภาพปลอดเชื้อนี้จะมีการพัฒนาไปในรูปแบบไหนก็ได้ เช่น พัฒนาไปเป็นอวัยวะต่างๆ ได้แก่ หน่อ ราก ดอก ผล หัว หรือพัฒนาเป็นแคลลัส หรือพัฒนาเป็นเอ็มบริโอ ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ ชนิดของพืช (plant species) ส่วนของพืช (explant) ปัจจัยทางเคมี (chemical factor) และปัจจัยทางกายภาพ (physical factor) แต่ไม่ว่าจะพัฒนาไปเป็นแบบใดก่อนก็ตาม ในที่สุดก็บังคับให้เกิดเป็นต้นที่มีรากที่สมบูรณ์นำออกปลูกในดินและรอดตายได้สำเร็จ

6

1. การขยายพันธุ์พืช (Micropropagation)

การนำเทคโนโลยีของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชไปใช้ประโยชน์ทางด้านการขยายพันธุ์พืชให้ได้ต้นปลอดโรคจำนวนมาก อย่างรวดเร็ว (rapid asexual propagation) สามารถผลิตต้นพันธุ์ได้ตลอดปี ซึ่งเมื่อนำไปปลูก จะได้ต้นลักษณะเหมือนเดิม

7

2. การอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืช (Germplasm conservation, gene bank)

เป็นการเก็บรักษาพันธุ์พืช คือ เก็บแคลลัสของพืชที่อุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส (cryopreservation) ควบคุมโดยใช้ไนโตรเจนเหลว สามารถเก็บไว้ได้เป็นเวลานาน และเมื่อนำมาบังคับให้เกิดต้น ต้นที่ได้ไม่มี การกลายพันธุ์ หรือการเก็บรวบรวมพันธุ์พืชโดยบังคับให้พืชโตช้า ๆในขวด (minimal growth)

การอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืชในขวดนี้ใช้พื้นที่น้อยนอกจากจะอยู่ในสภาพลอดเชื้อแล้ว ยังปลอดจากภัยธรรมชาติอีกด้วย ในประเทศไทยได้มีการวิจัยรวบรวมพันธุ์ ส้ม ไผ่ มันสำปะหลัง กล้วย พืชตระกูลขิง และพืชสมุนไพรไว้ในขวด

8

3. การแลกเปลี่ยนพันธุ์พืชกับต่างประเทศ (International transfer)

การแลกเปลี่ยนพันธุ์พืชในสภาพที่อยู่ในขวด สะดวกกว่าการใช้เมล็ด หรือส่วนอื่น ๆ ของพืช เพราะพืชในขวดสะอาดและปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ และรา

9

4. การผลิตสารทุติยภูมิ (Secondary metabolite)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสมุนไพรต่าง ๆ แบบเซลล์แขวนลอย (suspension culture) สามารถผลิตสารต่าง ๆ ได้ เช่น ผลิตสารใช้เป็นยาฆ่าแมลงที่ใช้ในทางการเกษตร ผลิตยารักษาโรคที่ใช้ในทางการแพทย์ และผลิตสารที่ทำให้กุ้งลอกคราบที่ใช้ทางการประมง

10

5. การปรับปรุงพันธุ์พืช (Plant Breeding)

ประโยชน์มหาศาล ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือ การปรับปรุงพันธุ์พืช สามารถสร้างพันธุ์พืชต่าง ๆ ได้ตามความประสงค์ ซึ่งมีหลายวิธีการ

5.1 การเพาะเลี้ยงเอมบริโอ หรือ การเพาะเลี้ยงคัพภะ (embryo culture) สามารถช่วยชีวิตพืชพันธุ์ต่าง ๆ ให้รอดชีวิต

11

5.2 การเพาะเลี้ยงอับละอองเกสร และละอองเกสรของพืช (anther และ pollen culture) ในอาหารสังเคราะห์ จะได้เป็นต้น พืชที่มีโครโมโซมชุดเดียว (haploid plant) ซึ่งสามารถเพิ่มโครโมโซมได้เป็น 2 ชุด (homozygous diploid) ซึ่งเป็นพันธุ์แท้โดยใช้สารจำพวกโคลชิซีน (colchicine) ปกติแล้วการทำพืชพันธุ์แท้ ทำได้โดยผสมตัวเองซ้ำหลายๆ ชั่วอายุ (generations)

12

5.3 การชักนำให้พืชกลายพันธุ์เป็นต้นใหม่ (induced mutation)

สามารถทำได้ ซึ่งปกติแล้วการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยผ่านแคลลัส เลี้ยงไปเรื่อยๆ เป็นเวลาหลายๆปี ก็เป็นสาเหตุทำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ ที่เรียกว่า somaclonal variation การกลายพันธุ์เกิดการเพิ่มหรือการขาดหายไปของโครโมโซม หรือยีนส์ที่ควบคุมลักษณะทางพันธุกรรม ถ้าต้องการ ต้นที่กลายพันธุ์ในปริมาณที่มากขึ้นก็สามารถนำไป treat ด้วยสารเคมีที่ เรียกว่า chemical mutagen ได้แก่ EMS (ethyl methane sulfonate) หรือนำไปฉายรังสี (irradiation) เช่น รังสีแกมมา (gamma-ray) เป็นวิธีการสร้างพืชพันธุ์ใหม่ ๆ ขึ้นมา

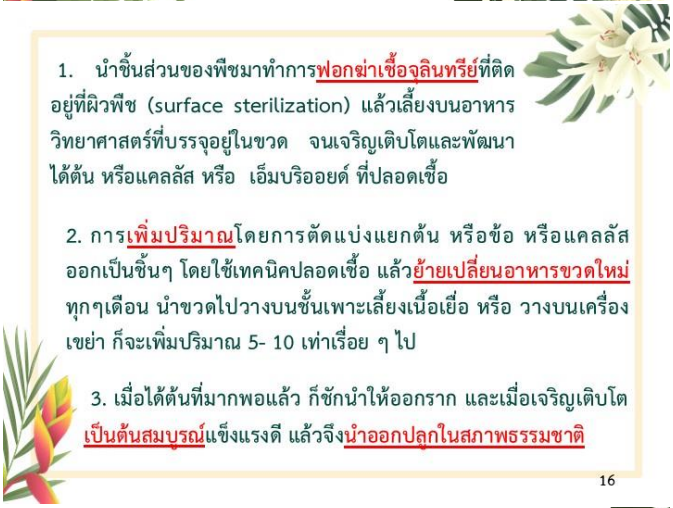
13

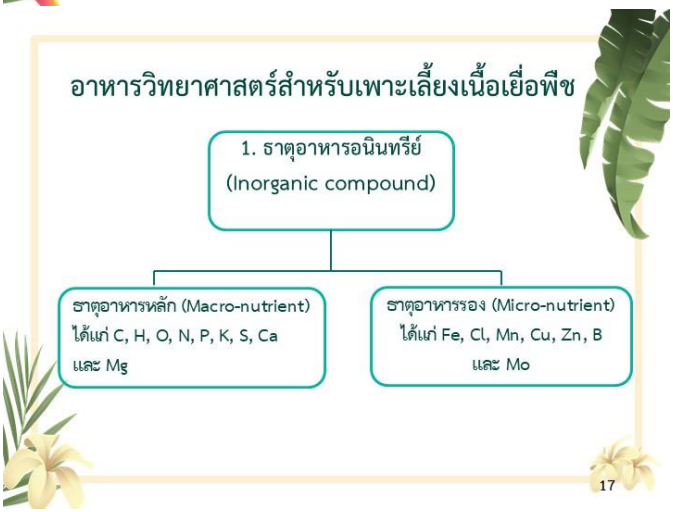
ในปัจจุบันนี้เทคโนโลยีชีวภาพขั้นสูงที่นักวิจัยในต่างประเทศสร้างพืชพันธุ์ใหม่ๆ ขึ้นก็โดยวิธีรวมโปรโตพลาสต์ (protoplast fusion) เป็นการรวมของเซลล์โซมาติ(somatic cell) จึงเรียกว่าเป็นการทำ somatic hybridization ซึ่งแตกต่างจาก zygotic hybridization ที่จะสามารถบังคับให้พืชต่างชนิด ต่างสกุล ต่างหมู่ต่างเหล่าผสมกันได้ โดยใช้สารเคมีได้แก่ PEG (polyethylene glycol) หรือ แคลเซียมคลอไรด์(calcium chloride) หรือใช้กระแสไฟฟ้าเป็นตัวกระตุ้น

นอกจากนี้มีการใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรม (genetic engineering) หรือ recombinant DNA หรือ DNA-technology อีกด้วย

14

เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชต้องใช้เทคนิคปลอดเชื้อ
มีขั้นตอนสำคัญ ดังนี้
15


1. นำชิ้นส่วนของพืชมาทำการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดอยู่ที่ผิวพืช (surface sterilization) แล้วเลี้ยงบนอาหารวิทยาศาสตร์ที่บรรจุอยู่ในขวด จนเจริญเติบโตและพัฒนาได้ต้น หรือแคลลัส หรือ เอ็มบริออยด์ ที่ปลอดเชื้อ
2. การเพิ่มปริมาณโดยการตัดแบ่งแยกต้น หรือข้อ หรือแคลลัสออกเป็นชิ้นๆ โดยใช้เทคนิคปลอดเชื้อ แล้วย้ายเปลี่ยนอาหารขวดใหม่ทุกๆเดือน นำขวดไปวางบนชั้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หรือ วางบนเครื่องเขย่า ก็จะเพิ่มปริมาณ 5- 10 เท่าเรื่อย ๆ ไป
3. เมื่อได้ต้นที่มากพอแล้ว ก็ชักนำให้ออกราก และเมื่อเจริญเติบโตเป็นต้นสมบูรณ์แข็งแรงดี แล้วจึงนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติ
16


อาหารวิทยาศาสตร์สำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช
1. ธาตุอาหารอนินทรีย์ (Inorganic compound)
ธาตุอาหารหลัก (Macro-nutrient) ได้แก่ C, H, O, N, P, K, S, Ca และ Mg
ธาตุอาหารรอง (Micro-nutrient) ได้แก่ Fe, Cl, Mn, Cu, Zn, B และ Mo
17

อาหารวิทยาศาสตร์สำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (ต่อ)

2. สารประกอบคาร์บอนที่ให้พลังงาน ได้แก่ น้ำตาลซูโครส ในปริมาณ 2-4 เปอร์เซ็นต์

3. วิตามินและสารอื่น ๆ ได้แก่ thiamine, nicotinic acid, pyridoxine, inosital, pantothenic acid และ biotin

4. สารควบคุมการเจริญเติบโต (growth regulator) กลุ่ม Auxin เช่น IAA (3-indoleacetic acid) หรือ IBA (3-indolebutyric acid) และกลุ่ม Cytokinin เช่น Kinetin (6-furfurylamino purine), BA (6-benzylamino purine), Zeatin

18

สูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

สูตรอาหารที่นิยมใช้กันมาก ได้แก่

1. สูตรอาหารดัดแปลง VACIN AND WENT (VW)(1949) เหมาะสำหรับใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้

2. สูตรอาหาร MURASHIGE AND SKOOG MEDIUM (MS) (1962) ใช้สำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแทบทุกชนิด ไม่ว่าจะเป็นพืชสวน พืชไร่ พืชปลูก พืชป่า หรือ พืชชั้นต่ำ เช่น เฟิร์น ก็ได้

19

สูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

3. สูตรอาหาร อรดี สหวัชรินทร์ (OD 1987, OD 1995)

เนื่องจากสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ที่นิยมใช้กันในต่างประเทศมีราคาแพง และมีวิธีการเตรียมที่ยุ่งยาก ใช้ระยะเวลานาน ดังนั้น จึงขอแนะนำสูตรอาหารแบบง่าย ที่มีราคาถูก วิธีการเตรียมอาหารก็ไม่ยุ่งยาก เหมาะสำหรับนักเรียนระดับมัธยมศึกษา และผู้สมัครเล่น

20

อาหารสูตร OD 1987 ใน 1 ลิตร ประกอบด้วย

องค์ประกอบ	ปริมาณ
ปุ๋ยเกล็ด 12-22-32	2 กรัม
น้ำตาลทราย	30 กรัม
น้ำมะพร้าว	150 มิลลิลิตร
วุ้น	6.2 กรัม

ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH = 5.6)

21

อาหารสูตร OD 1995 ใน 1 ลิตร ประกอบด้วย

องค์ประกอบ	ปริมาณ
ปุ๋ยเกล็ด 25-5-5	1 กรัม
น้ำตาลทราย	30 กรัม
แคล-โบโร	2 มิลลิลิตร
โบรมาริน	2 มิลลิลิตร
เซราดิกซ์	1 มิลลิลิตร
วุ้น	6.2 กรัม

ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH = 5.6)

22

ขั้นตอนการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

23

เครื่องมือและอุปกรณ์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

1. พันธุ์พืชที่จะนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ควรจะสะอาด ปราศจากโรค และใช้ส่วนที่ยังอ่อนอยู่

24

เครื่องมือและอุปกรณ์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

เครื่องชั่งสาร

เครื่องกวนสาร

แท่งแม่เหล็กกวนสาร

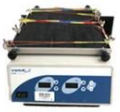
เครื่องวัดความเป็นกรดเบส

ปิเปตต์แบบปริมาตร

เครื่องดูดจ่ายสารละลาย

25

เครื่องมือและอุปกรณ์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช


เครื่องเขย่าสาร

เครื่องควบคุมเวลา

ขวดดูแรน

ตะเกียงแอลกอฮอล์

ปากคีบ

มีดผ่าตัด

26

เครื่องมือและอุปกรณ์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

บีกเกอร์

จานเพาะเลี้ยง

ตะแกรงหลอดทดลอง

กระบอกตวง

นาฬิกาจับเวลาดิจิตอล

27

เครื่องมือและอุปกรณ์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ

ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

28

วิธีการฟอกฆ่าเชื้อ

1. นำชิ้นส่วนของพืชมาล้างน้ำให้สะอาด
2. ชุบด้วยเฮทิลแอลกอฮอล์ 70 %
3. แช่ในน้ำยาคลอร็อกซ์ 10 % เป็นเวลา 15 นาที
4. แช่ในน้ำยาคลอร็อกซ์ 5 % เป็นเวลา 10 นาที
5. ล้างด้วยน้ำที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เอาน้ำยาคลอร็อกซ์ออกให้หมด
6. ใช้เทคนิคปลอดเชื้อตัดชิ้นส่วนที่ต้องการไปเลี้ยงบนอาหาร

29

วิธีเพิ่มปริมาณแคลลัส หรือ ต้น

เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ต้องการจนได้เป็น แคลลัส หรือต้นแล้ว ขั้นตอนสำคัญขั้นตอนต่อไปก็คือ การทำให้แคลลัสหรือต้นเหล่านั้นเพิ่มปริมาณขึ้น ซึ่งวิธีการโดยทั่วไปมีดังนี้คือ

1. ทำการตัดแบ่งแคลลัสออกเป็นชิ้นเล็ก ๆ หรือถ้าเป็นต้นก็ทำการตัดแบ่งออกเป็น ลำต้น ใบ หรือราก ย้ายไปเลี้ยงในอาหารใหม่ทุกเดือนเรื่อย ๆ ไป ก็สามารถจะเพิ่มปริมาณได้มากมายไม่มีที่สิ้นสุด

2. สำหรับแคลลัสนั้นจำเป็นที่จะต้องบังคับให้เกิดเป็นต้น โดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตพวกออกซินร่วมกับไซโตไคนิน

30

วิธีการนำต้นออกปลูก

หลังจากเพิ่มปริมาณต้นได้มากจนเป็นที่พอใจแล้วขั้นตอนสุดท้ายที่จะเป็นตัวชี้ความสำเร็จคือการนำต้นออกปลูก ซึ่งมีวิธีการคือ

1. ใช้ปากคีบดึงเอาต้นออกจากอาหารรุ้น
2. ล้างน้ำให้สะอาด
3. แช่ในน้ำยากันราและแบคทีเรีย
4. นำออกปลูกลงดิน หรือวัสดุปลูกชนิดอื่นที่เหมาะสม เก็บไว้ในที่ร่มและมีความชื้นสูงชั่วระยะเวลาหนึ่ง
5. เมื่อต้นตั้งตรงดีแล้วจึงย้ายลงแปลงต่อไป

31

การเพาะเลี้ยงเมล็ดอ่อนกล้วยไม้จากฝัก

การเพาะเลี้ยงเมล็ดอ่อนกล้วยไม้ ใช้อาหารสูตร VW (1949) หรือ OD (1995) อายุที่น้อยที่สุดของฝักกล้วยไม้ที่นำมาเพาะได้

แคทรียา (Cattaleya)	80 วัน
หวาย (Dendrobium)	60 วัน
ออนซิเดียม (Oncidium)	60 วัน
เอื้องกุหลาบ (Aerides)	80 วัน
ม้าวิ่ง (Doritis)	65 วัน
ฟาแลนนอปซิส (Phalaenopsis)	70 วัน
รีแนนเธอร์ร่า (Renanthera)	70 วัน
แวนด้า (Vanda)	70 วัน

การเพาะเลี้ยงเมล็ดอ่อนกล้วยไม้จากฝัก
01 ล้างฝักกล้วยไม้ให้สะอาด
02 ชุบฝักด้วยเอทธิลแอลกอฮอล์ 70 %
03 ลนไฟให้ลุกนอกเปลวตะเกียง
04 วางบนจานแก้ว ตัดหัวท้ายของฝัก และผ่ากลางด้วยมีด
33

การเพาะเลี้ยงเมล็ดอ่อนกล้วยไม้จากฝัก
05 คีบเอาเมล็ดมาเพาะในอาหารวุ้นสูตร VW + CW 15 % หรือสูตร OD (1995)
06 เก็บไว้ในที่มืดหรือสว่างก็ได้จนกระทั่งเมล็ดงอกได้เป็นก้อนของโปรโต คอร์ม (protocorm)
07 ย้ายอาหารใหม่ทุกเดือนจนได้ต้นที่มีราก
08 นำออกปลูกบนขุยมะพร้าว แล้วย้ายไปปลูกในโรงเรือน จะได้ต้นกล้วยไม้ที่มีดอกสีต่าง ๆ เหมาะที่จะทำการคัดพันธุ์ต้นที่ดี
34

วิธีการเพาะเลี้ยงข้อกุหลาบหรือข้อเบญจมาศ
ใช้อาหารสูตร MS (1962) หรือ OD (1987)
1. นำกิ่งกุหลาบหรือข้อเบญจมาศที่ยังอ่อนอยู่มาล้างน้ำ
2. ชุบด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 70 %
3.ตัดเอาข้อที่มีตาติดอยู่มาฟอกด้วยน้ำยาคลอร็อกซ์ 10 % เป็นเวลา 15 นาที
4. นำไปล้างน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อโรคแล้ว
5. ใช้มีดตัดข้อโดยใช้เทคนิคปลอดเชื้อ
35

วิธีการเพาะเลี้ยงข้อกุหลาบหรือข้อเบญจมาศ

ใช้อาหารสูตร MS (1962) หรือ OD (1987)

6. นำไปเลี้ยงบนอาหารแข็ง เก็บไว้ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

7. ใช้เทคนิคปลอดเชื้อตัดข้อแล้วย้ายไปเลี้ยงในอาหารใหม่ทุกเดือนก็จะได้ต้นเพิ่มเป็นจำนวนมาก

8. ทำให้รากออก (ชักนำให้เกิดราก)

9. ทำการตัดยอดไปชำให้ออกราก แล้วย้ายปลูกลงแปลงเพื่อผลิตเป็นต้นไม้ตัดดอก

10. นำออกปลูกในทรายผสมถ่านแกลบและขุยมะพร้าว

36

การเพาะเลี้ยงเมล็ดอ่อนกล้วยไม้

ทำ การผสมเกสรกล้วยไม้สกุลหวาย ได้ฝักอ่อนอายุ 2 เดือน

ชุบฝักในแอลกอฮอล์ 70% แล้วลนไฟ เพาะเมล็ดบนอาหาร

เจริญเติบโตเป็นโปรโตคอร์มและต้นบนอาหารสูตร VW + 15% CW

เมื่อนำต้นออกปลูกแต่ละต้นให้ดอกที่มีสีแตกต่างกัน ทำการคัดพันธุ์ดี

37

การเพาะเลี้ยงกล้วยไม้สกุลหวายจากตา

คัดพันธุ์กล้วยไม้พันธุ์ดี นำตายอดและตาข้างมาขยายพันธุ์

เลี้ยงตาในอาหารสูตรอาหาร VW+15% CW เกิด PLB จำนวนมาก

ย้าย PLB ไปเลี้ยงบนอาหารแข็ง ทำให้เกิดต้นที่มีรากแข็งแรง

นำต้นออกปลูกในโรงเรือน ให้ดอกที่มีคุณภาพดีสีเหมือนกันหมด

38

การเพาะเลี้ยงก้านช่อดอกกล้วยไม้
กล้วยไม้ที่ก้านช่อดอกมีตาตรงข้อ ได้แก่ ฟาแลนนอปซิส
ม้าวิ่ง (ดอไรติส) หรือแดงอุบล
เฮพิแดนดรัม หรือชนิดอื่น ๆ เช่น ออนซิเดียม
ฟอกฆ่าเชื้อก้านช่อดอก เลี้ยงช่อบน VW + CW 15% เกิดเป็นต้น
39

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเยอบีราจากดอกอ่อน
เยอบีราสายพันธุ์ยุโรป ใช้เป็นไม้ตัดดอก นำดอกอ่อนมาฟอกฆ่าเชื้อ
เลี้ยงบนอาหาร MS ดัดแปลง เกิดแคลลัส และต้นจำนวนมาก
นำต้นออกปลูกในทรายผสมถ่านแกลบ ให้ต้นตั้งตัวได้ดี
ย้ายลงปลูกในแปลง ให้ดอกที่มีคุณภาพดี สีเหมือนกันหมด
40

การเพาะเลี้ยงหน้าวัวจากใบอ่อน
หน้าวัวนิยมปลูกเป็นไม้ตัดดอก ขยายพันธุ์จากใบอ่อนที่ยังม้วนอยู่
ชักนำให้เกิดแคลลัส โดยเลี้ยงบนอาหารสูตร MS + 0.5 mg/L 2,4-D
ทำให้เกิดต้นที่มีรากที่แข็งแรง บนอาหารสูตร MS
นำออกปลูกในแปลงเพื่อผลิตดอก
41

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อลิลลี่จากส่วนต่าง ๆ ของดอก

ลิลลี่ปากแตร มีทั้งชนิดดอกสีขาว สีม่วง และเหลืองส้ม

ลิลลี่กลุ่มเอเชียติก มีดอกหลายสี

ลิลลี่กลุ่มออเรียนตอล มีสีชมพู สีขาว และมีกลิ่นหอม

ส่วนต่าง ๆ ของดอกและต้น นำมาขยายพันธุ์ผลิตหัวได้ทั้งนั้น

42

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยจากปลายยอด

กล้วยทุกชนิด ขยายพันธุ์ได้จากปลายยอด ของหน่อ และปลี

ผ่าปลายยอดเป็น 4 ส่วน เลี้ยงบน MS + CW 15% + BA 5 mg/L

ตัดแบ่งเปลี่ยนอาหารใหม่ทุกเดือน เพื่อเพิ่มปริมาณต้น

ทำให้ออกรากใน MS ย้ายปลูกในถุงพลาสติก และในแปลงต่อไป

43

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแคลล่าลิลลี่จากตา

แคลล่าลิลลี่ ใช้เป็นไม้ตัดดอกและไม้กระถาง

นำตาที่อยู่บนส่วนของหัวมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS + BA 2 mg/L

ตัดแบ่งเปลี่ยนอาหารใหม่ทุกเดือนเพื่อเพิ่มปริมาณต้น

ทำให้ออกราก แล้วนำออกปลูกในแปลงเพื่อผลิตหัวและดอกต่อไป

44

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสับปะรดจากเมล็ดอ่อน
การปรับปรุงสับปะรดโดยการผสมเกสร จนติดเมล็ดภายในผล
เมล็ดอ่อนจำนวนมากที่มาเพาะเลี้ยง
เมล็ดงอกบนอาหารสูตร MS + CW 15%
เพิ่มปริมาณต้นและทำให้ออกราก เมื่อนำออกปลูกได้สับปะรดพันธุ์ใหม่
45

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสตรอเบอรี่จากปลายยอด
ปลายยอดของไหลงอกเป็นต้นบนสูตรอาหาร MS + BA 2 mg/L
เพิ่มจำนวนต้นให้ได้ปริมาณมาก โดยการตัดแบ่งย้ายอาหารใหม่
นำต้นออกปลูกในกระถางเพื่อผลิตไหล แล้วนำไปปลูกในแปลง
สตรอเบอรี่ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้ผลผลิตสูง
46

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่ตงจากเมล็ด
ไผ่ตงออกดอกทำให้ต้นตาย ต้องขยายพันธุ์จากเมล็ดเพื่อให้มีอายุยืน
ทำการรวบรวมเมล็ดระหว่างเดือน
มกราคม – มีนาคม
เพาะเมล็ดให้งอกและเพิ่มปริมาณบนอาหารสูตร MS + BA 2 mg/L
ทำให้ออกรากใน MS + NAA 2 mg/L แล้วนำออกปลูกในถุงพลาสติก
47

48

การผลิตต้นพืชปริมาณมากใน
ระยะเวลาอันรวดเร็ว

ผลิตพืชที่ปราศจากโรค

ปรับปรุงพันธุ์พืช

เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยง
เนื้อเยื่อและการนำไปใช้
ประโยชน์

ผลิตพืชต้านทาน /
ทนทาน

ผลิตยาหรือสารเคมีจากพืช

เพื่อศึกษาทางชีวเคมีและ
สรีรวิทยาของพืช

เพื่อเก็บรักษาพันธุ์

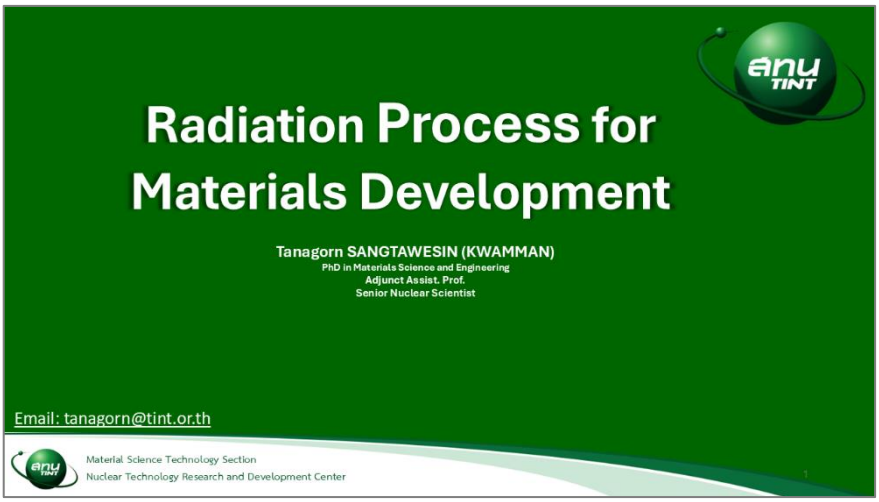
49

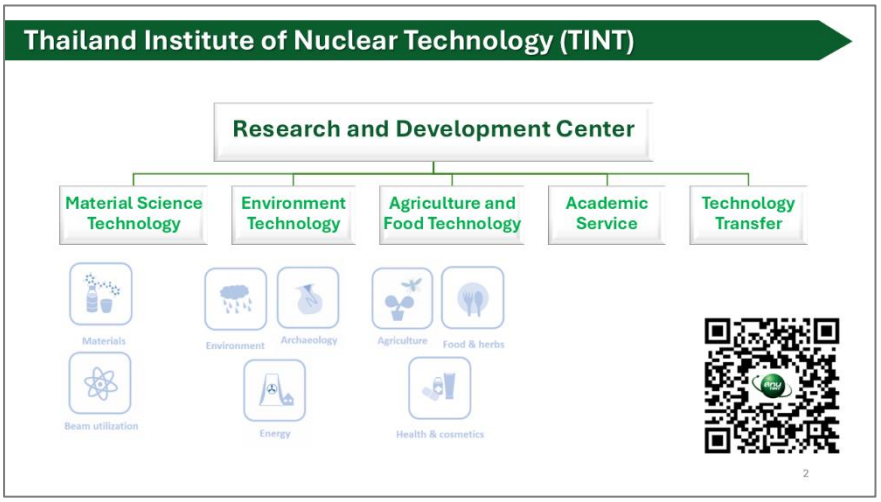
Thank you for your attention.

50

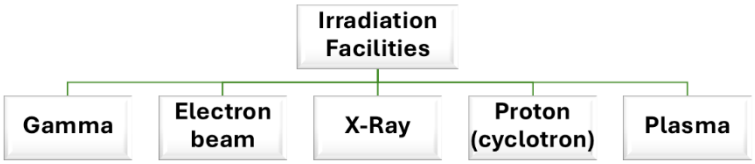
เทคโนโลยีนิวเคลียร์กับวัสดุเพาะปลูกทางการเกษตร

ดร.ละมัย ใหม่แก้ว และ ดร.ธนกร แสงทวีสิน
นักวิทยาศาสตร์นิวเคลียร์ชำนาญการ
ศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีนิวเคลียร์





Irradiation Facilities @TINT



Radiation Sources @ TINT: Available for Commercial Purpose

EB (1 - 3 MeV)	EB (5 - 10 MeV)	Gamma (< 100 kCi)	Gamma (100 - 400 kCi)	X-ray
3 MeV, 500 mA	10 MeV, 500 mA	18 kCi	400 kCi	5 MeV
	20 MeV, 200 mA			

Radiation Sources @ TINT: Available for R&D Purpose

EB (1 - 3 MeV)	EB (5 - 10 MeV)	Gamma (< 100 kCi)	Gamma (100 - 400 kCi)	X-ray
		14 kCi		
		24 kCi		

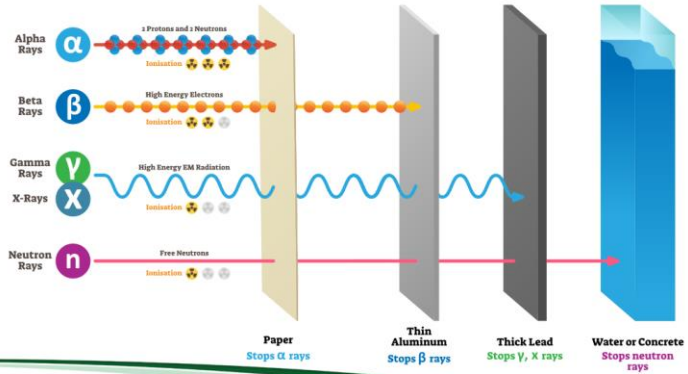
- Gamma Chamber 5000 (BRIT, India)
- 14,000 Ci
- Dose rate = 1.84 kGy/hr

- Ob-Servo Ignis (Izotop, Hungary)
- 24,000 Ci
- Dose rate = 10 kGy/hr
- Installed Feb – Mar 2022
- Now operating

Ionizing Radiation

Ionizing radiation Radiation :

- Radiation from radioactive nuclei (alpha, beta and gamma)
- High-energy charged particles (electrons, protons, deuterons etc.)
- Electromagnetic radiation of short wavelength (X-ray)



Material Science Technology Section
Nuclear Technology Research and Development Center
https://www.ans.org/nuclear/radiation/
6

Interaction of radiation with matter

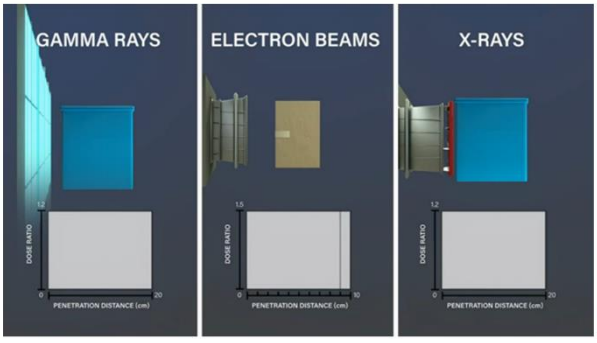
Nuclear radiation includes all elementary particles, both uncharged and charged, with energies more than approximately 100 eV, whether the particles have been produced through nuclear reaction (spontaneous or induced) or have acquired their energy in electrostatic accelerators.

Table Common radioactive emission particle

Radiation	*Type of Radiation*	*Mass (AMU)*	*Charge*	*Shielding material*
Alpha	Particle	4	+2	Paper, skin, clothes
Beta	Particle	1/1836	±1	Plastic, glass, light metals
Gamma	Electromagnetic Wave	0	0	Dense metal, concrete, Earth
Neutrons	Particle	1	0	Water,concrete, polyethylene, oil

7

Ionizing Radiation



Material Science Technology Section
Nuclear Technology Research and Development Center
https://www.ans.org/nuclear/radiation/
8

Radiation Chemistry

Radiation chemistry implies the chemical effect of interactions of ionizing radiation with materials.

Ionizing radiation Radiation :

- Radiation from radioactive nuclei (alpha, beta and gamma)
- High-energy charged particles (electrons, protons, deuterons etc.)
- Electromagnetic radiation of short wavelength (X-ray)

Radiation chemistry:

Each photon or particle can ionize and excite many molecules, which are distributed along its track. The high-energy photons and particles are not selective and may react with any molecule lying in their path, raising it to any one of its possible ionized or excited states

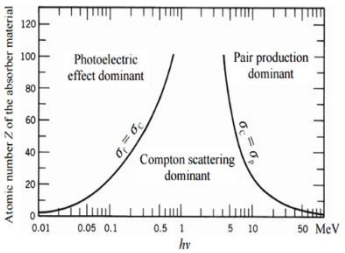
In industry, radiation is applied both as an initiator and as a control mechanism on one hand and as a sustainer of reactions on the other. Among the many industrial uses of radiation, one many mention food preservation, curing of paints, manufacture of wood-plastic composites, synthesis of various graft copolymers, and materials for textile finishing.

Gamma Interactions with Matters

- Potassium-40 ($t_{1/2}$ = 1.251×10^9 years) natural sources of gamma rays.
- Gamma rays **are high-energy** photons (about 10,000 times as much energy as the visible photons)
- **no mass and no electrical** charge
- cannot directly ionize matter
- ionize matter via indirect ionization
- travel with the speed of light
- very penetrating matter (must be shielded by dense materials such as lead or uranium)
- gamma rays frequently accompany

There are three key gamma interaction mechanisms with matter

- Photoelectric effect
- Compton scattering
- Pair production



Gamma Interactions with Matters

Interaction of Radiation with Matter

Gamma radiation - wavelength 10^{-11} - 10^{-15} m (visible 10^{-6} -10^{-7} m)

Three ways to interact with matter :

Photoelectric effect - all of photon energy transferred to target electron $\Rightarrow$ E_e=hν - binding energy

Compton scattering - some energy transferred to orbital electron

γ photon scattered with longer wavelength

Pair production - for γ photons > 1.02 MeV can produce β^+, β^- pair near heavy nucleus

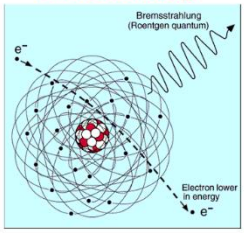
$\Rightarrow$ γ radiation has much greater penetrating power - serious shielding requirements

CPE419/6290 25

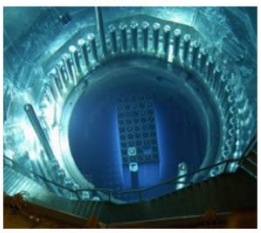
Beta Interactions with Matters

- Inelastic collisions with atomic electrons (Excitation and Ionization)
- Elastic scattering off nuclei
- Bremsstrahlung.
- Cherenkov radiation.
- Annihilation (only positrons)

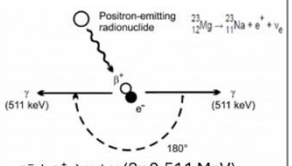
Bremsstrahlung



Cherenkov



Annihilation



$e^- + e^+ \rightarrow \gamma + \gamma$ (2x 0.511 MeV)

12

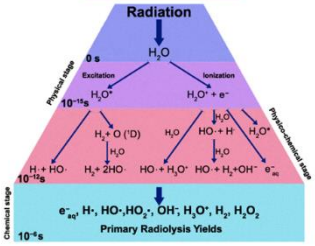
Radiation Processing

Radiation chemistry implies the chemical effect of interactions of ionizing radiation with materials.

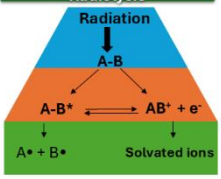
Factors that affect irradiation.

- absorbed doses: J/kg or Gy
- dose rate: Gy/hr
- irradiation environment
- type of materials
- materials state

Water Radiolysis



Organic Compound Radiolysis



Material Science Technology Section
Nuclear Technology Research and Development Center

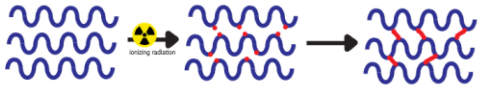
G (or g)-values, which, in this paper, are defined as the number of species formed or destroyed per 100 eV of energy absorbed

13

Radiation Processing in Polymer synthesis and modification

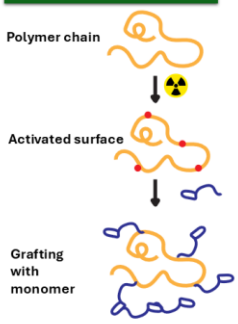
When polymers are submitted to high-energy radiation;
1. cross-link formation (x)
2. chain scission (s)
3. mixture

Polymer Cross-linking



Polymer Chain Scission

Polymer Grafting



Material Science Technology Section
Nuclear Technology Research and Development Center

14

How is radiation involved in worldwide renewable materials and energy applications?

Material Science Technology Section
Nuclear Technology Research and Development Center

15

World applications of radiation process

Irradiation technologies in China

GAMMA >110 facilities

E-BEAM >600 facilities

Applications

- Medical device sterilisation including response to COVID-19
- Food treatment over 1 million tons per year
- Material improvement particularly wire & cable
- Wastewater treatment enabling 70% re-use of wastewater
- On-going research new environmental applications

Impact

- **SAFE** healthcare products for patient wellbeing
- **SAFE** food products for human health
- **HIGH QUALITY** material for safe and robust products
- **ENVIRONMENTAL BENEFITS** for a better world

RADIATION PROCESSING

Environmentally friendly alternative to chemical processing

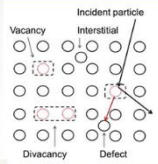
LOW COST POLYMER MATERIAL

Improved properties
THERMAL
MECHANICAL
CHEMICAL

- High performance polymers
- Easier to process materials
- Safe and reliable products

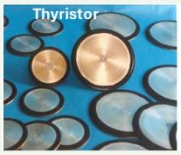
Materials Modification Solutions for Power Semiconductors

Sterigenics
A Sotera Health company



Use E-Beam to achieve feature enhancements in numerous semiconductors

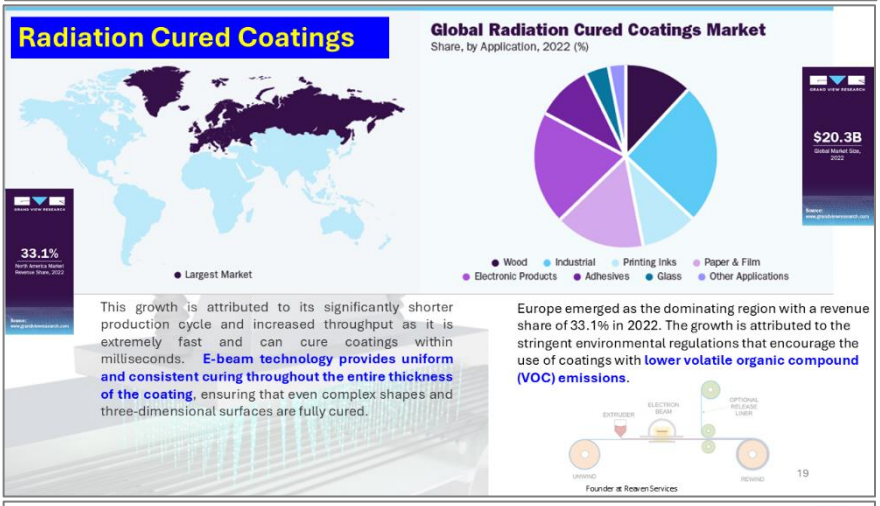
- Diodes
- Thyristors
- Gate Turn Off Thyristors (GTOs)
- Insulated Gate Bipolar Transistors (IGBTs)
- Bipolar Junction Transistors (BJTs)
- Power MOSFETs (their body diodes)
- Silicon wafers
- Components within the solar energy industry
- Components within the electric vehicle industry

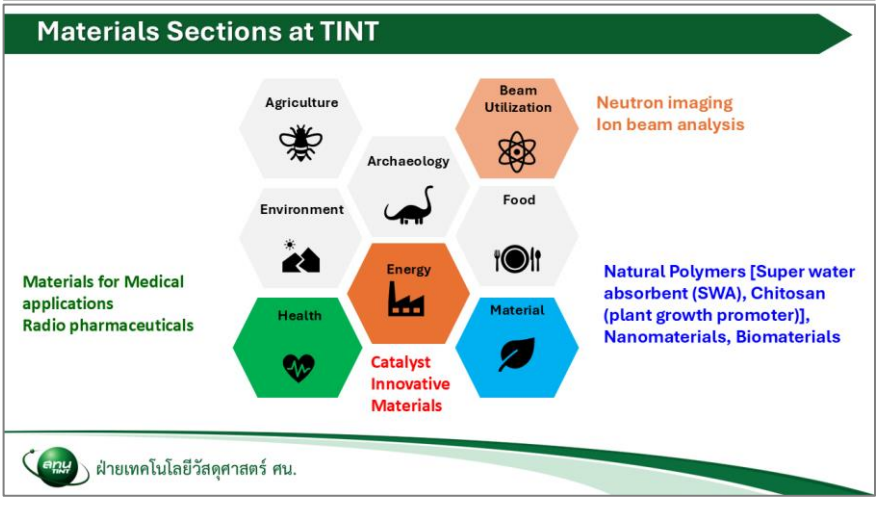


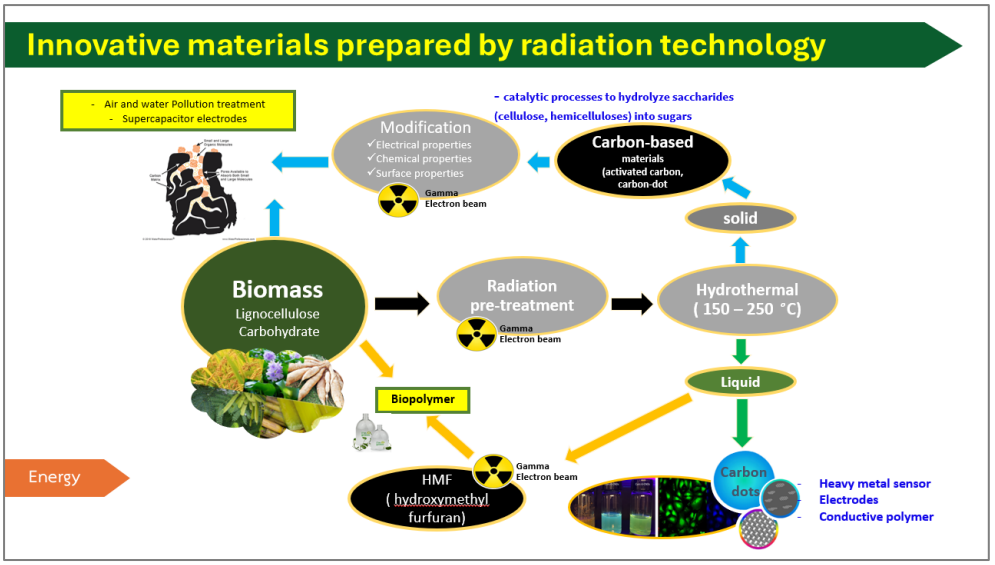
https://doi.org/10.1016/S0168-583X(03)00655-4
https://sterigenics.com/industries/advanced-radiation-processing/semiconductor-material-modification/

17

Advanced Radiation Technology Institute (ARTI)
Korean Atomic Energy Research Institute (KAERI)
We are developing advanced core materials required for futuristic and advanced industries (aerospace, defense, car, information, electronics, biomedical, and energy industries) using eco-friendly and energy-saving radiation fusion technology.
The road to a better tomorrow
• high-performance organic/inorganic composite materials using radiation technology
• smart electronic materials and devices using radiation technology
• advanced bio-functional materials using radiation technology
• functional membranes for energy applications using radiation technology
https://www.kaeri.re.kr/artie/


Radiation Cured Coatings
Global Radiation Cured Coatings Market
Share, by Application, 2022 (%)
33.1%
Largest Market
$20.3B
Wood
Industrial
Printing Inks
Paper & Film
Electronic Products
Adhesives
Glass
Other Applications
This growth is attributed to its significantly shorter production cycle and increased throughput as it is extremely fast and can cure coatings within milliseconds. E-beam technology provides uniform and consistent curing throughout the entire thickness of the coating, ensuring that even complex shapes and three-dimensional surfaces are fully cured.
Europe emerged as the dominating region with a revenue share of 33.1% in 2022. The growth is attributed to the stringent environmental regulations that encourage the use of coatings with lower volatile organic compound (VOC) emissions.
19
Founder at Reaven Services


Materials Sections at TINT
Agriculture
Beam Utilization
Archaeology
Environment
Food
Energy
Health
Material
Neutron imaging
Ion beam analysis
Materials for Medical applications
Radio pharmaceuticals
Natural Polymers [Super water absorbent (SWA), Chitosan (plant growth promoter)], Nanomaterials, Biomaterials
Catalyst
Innovative Materials
ฝ่ายเทคโนโลยีวัสดุศาสตร์ ศน.


Innovative materials prepared by radiation technology
- Air and water Pollution treatment
- Supercapacitor electrodes
- catalytic processes to hydrolyze saccharides (cellulose, hemicelluloses) into sugars
Modification
✓Electrical properties
✓Chemical properties
✓Surface properties
Gamma
Electron beam
Carbon-based
materials
(activated carbon, carbon-dot
solid
Biomass
Lignocellulose
Carbohydrate
Radiation
pre-treatment
Gamma
Electron beam
Hydrothermal
(150 – 250 °C)
Liquid
Biopolymer
Energy
HMF
(hydroxymethyl furfuran)
Gamma
Electron beam
Carbon dots
Heavy metal sensor
Electrodes
Conductive polymer

RADIANT-COIRCOSORP
เรเดียน-คอโคซอร์ฟ
แพลตฟอร์มการใช้ประโยชน์จากขุยมะพร้าวโดยกระบวนการทางรังสี
เพื่อการเกษตรและสิ่งแวดล้อมที่ยั่งยืน

ที่มาและความสำคัญ
วิธีกำจัดขยะจากเปลือกมะพร้าว
ขยะจากเปลือกมะพร้าว
2.4 ตันต่อวัน / 72 ตันต่อเดือน
เผา
ฝังกลบ
ผลกระทบ
ขุยมะพร้าว
120 บาท
ขุยมะพร้าว
มีความอุ้มน้ำ
เก็บรักษาความชื้นได้ดี
น้ำหนักเบา+ระบายน้ำได้ดี
เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม
เพิ่มออกซิเจนให้ราก
ไม่สะอาด
มีแทนนินสูง
https://web.facebook.com/Hicocoproduct
3

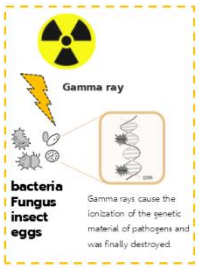
การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีนิวเคลียร์กับขุยมะพร้าว
ขุยมะพร้าว+พีทมอส
ขุยมะพร้าว+ไวนิลมอนอเมอร์
ขุยมะพร้าว
1.
2.
3.
Gamma rays
วัสดุปลูกผสมพีทมอส
ลดเชื้อโรคและไข่แมลง
วัสดุเจลอุ้มน้ำ
กักเก็บความชุ่มชื้นในดิน
วัสดุดูดซับโลหะหนัก
ไฟมแทนนิน
จากน้ำล้างขุยมะพร้าว
4

1. Radiant-Coir : วัสดุปลูกเกรดพรีเมี่ยม

ขุยมะพร้าว

พีทมอส

- อุ้มน้ำได้ดี
- รักษาความเป็นกรด
- มีสารอินทรีย์สูง
- ราคาแพง ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ
- ใช้แล้วหมดไป



ตารางผลของรังสีแกมมาต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในวัสดุปลูกที่เวลา 100 วัน หลังการฉายรังสี

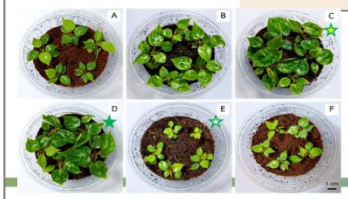
ชื่อตัวอย่าง	Total Plate Count (CFU/mL) *	Yeast and Mold (CFU/mL) **
วัสดุปลูก_ไม่ฉายรังสี	$4.9x10^6$	$1.2x10^4$
วัสดุปลูก_ฉายรังสี 5 kGy	$1.7x10^6$	1
วัสดุปลูก_ฉายรังสี 10 kGy	$3.2x10^6$	1

5

การทดสอบวัสดุเพาะปลูกกับไม้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Philodendron billietiae

การทดลองกับพิโลเดนดรอนก้านส้ม	จำนวนใบ ± SD	ความยาวใบ (cm) ± SD
A. ขุยมะพร้าวละเอียดฉายรังสี 10 kGy	7.56 ± 0.64 ^{cd}	2.19 ± 0.40 ^{d}
B. พีทมอส	8.92 ± 0.60 ^{b}	2.80 ± 0.47 ^{c}
C. ขุยมะพร้าวละเอียดฉายรังสี 10 kGy + พีทมอส (1:1)	9.04 ± 0.60 ^{ab}	3.25 ± 0.51 ^{b}
D. ขุยมะพร้าวละเอียดฉายรังสี 10 kGy + พีทมอส (1:1) + ไคโตซาน (1.5 ml)	9.22 ± 0.74 ^{a}	3.44 ± 0.76 ^{a}
E. ขุยมะพร้าวสำเร็จรูปจากท้องตลาด	7.70 ± 0.65 ^{c}	1.59 ± 0.32 ^{e}
F. ขุยมะพร้าวละเอียดไม่ฉายรังสี (control)	7.38 ± 0.57 ^{d}	2.23 ± 0.35 ^{d}
F-test	*	*
LSD	0.25	0.19



ทดลองในห้องควบคุมอุณหภูมิประมาณ 25±2°C ให้แสงไฟตลอด 24 ชั่วโมง ภายใต้การอนุบาลแบบระบบปิด ไม่มีการให้น้ำเพิ่ม เป็นระยะเวลา 1 เดือน

6

การทดสอบวัสดุเพาะปลูกกับไม้เพาะเมล็ด : กัญชา

การทดสอบกับเมล็ดกัญชา	ความสูงของต้น (cm) ± SD	ความยาวใบ (cm) ± SD
A. ขุยมะพร้าวละเอียดไม่ฉายรังสี (Control)	4.74 ± 0.88 ^{b}	3.98 ± 0.23 ^{b}
B. ขุยมะพร้าวละเอียดฉายรังสี 10 kGy	3.25 ± 0.25 ^{c}	3.58 ± 0.38 ^{b}
C. ขุยมะพร้าวสำเร็จรูปจากท้องตลาด	4.32 ± 0.75 ^{bc}	4.36 ± 0.34 ^{b}
D. พีทมอส	8.61 ± 0.67 ^{a}	15.49 ± 2.04 ^{a}
E. ขุยมะพร้าวผสมพีทมอส_10 kGy	9.07 ± 0.92 ^{a}	14.33 ± 0.58 ^{a}
F-test	*	*
LSD	1.34	1.78

7

ลดการนำเข้าพีทมอสจากต่างประเทศ
- ขุยมะพร้าวมีต้นทุนต่ำกว่าพีทมอส 10-17 เท่า
- ลดการนำเข้าพีทมอสได้ 140 ล้านบาท ต่อปี

จุดเด่นของ Radiant-Coir

การฉายรังสี
- ลดปริมาณเชื้อรา ไข่แมลงและเชื้อก่อโรคในพืช
- ฉายได้ขณะบรรจุถุงแล้ว
- ฉายรังสีได้ปริมาณมาก หลายต้นในรอบฉายเดียว

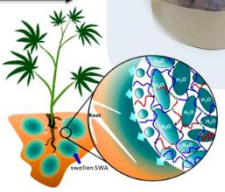
เป็นวัสดุปลูกที่มีคุณภาพ
- ช่วยส่งเสริมการเจริญของพืช ทั้งใบ ลำต้นและรากได้ดีเทียบเท่าพีทมอส

8

2. Radiant-CoirGel : เจลอุ้มน้ำผสมขุยมะพร้าว

ขุยมะพร้าว

ไวนิลมอนอเมอร์



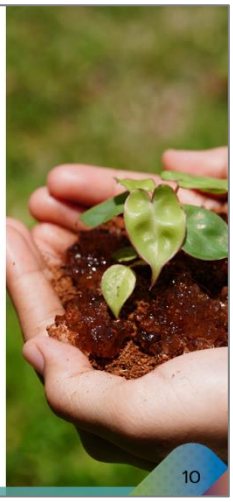
9

การทดสอบเจลอุ้มน้ำกับกัญชา

รูปที่ 1 การพัฒนาของรากต้นกัญชาหลังผ่านการปลูกในวัสดุปลูก 10 วัน
(ก-ข) Radiant-Coir
(ค-ง) Radiant-Coir+Radiant-CoirGel

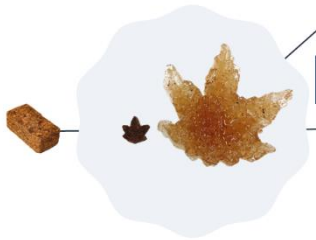
รูปที่ 2 การรอดชีวิตของต้นกัญชาในวัสดุปลูกที่แตกต่างกัน โดยไม่มีการรดน้ำหลังผ่านไป 15 วัน
(ก) Radiant-Coir
(ข) Radiant-Coir + Radiant-CoirGel
(ค) Radiant-Coir + commercial gel

ชนิดน้ำ	ความสามารถในการบวมน้ำ (กรัมเปียก/กรัมแห้ง)
น้ำกลั่น	249.76±14.52
น้ำประปา	127.86±11.16
น้ำผิวดิน	76.67±10.19



10

จุดเด่นของ Radiant-CoirGel



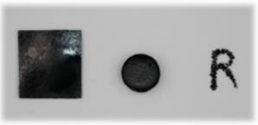
- สามารถย่อยสลายได้ ไม่ตกค้างในธรรมชาติ
- ดูดซับและกักเก็บน้ำได้สูงถึง 100-250 เท่าของน้ำหนักแห้ง
- ไม่ทำให้หน้าดินแข็งตัวในระยะยาว
- ชะลอการให้น้ำได้นานมากถึง 20 วัน

ช่วยลดความเสียหายของผลผลิตที่เกิดขึ้นกับพื้นที่ภัยแล้ง 9.17 ล้านไร่ เป็นมูลค่าราว 39.8 ล้านบาท และประหยัดการให้น้ำได้มากถึง 1,405 บาทต่อไร่ต่อปี

11

3. Radiant-Sorp : โฟมแทนนิน

แทนนินจากน้ำล้าง



จุดเด่นของ Radiant-Sorp

1. ย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ
2. ดูดซับสารละลายเหล็กเข้มเข้ม 20 ppm จากน้ำได้มากกว่า 90 %
3. ผลิตจากแทนนินที่สกัดได้จากน้ำล้างขุยมะพร้าว (zero waste)
4. สามารถขึ้นรูปได้หลายรูปแบบเพื่อให้เหมาะกับการนำไปใช้

12

บทสรุป

สวนมะพร้าว

สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน)

เอกชน

TRL6
ถ่ายทอดเทคโนโลยีเพื่อผลิตออกจำหน่าย

Radiant-Coir

TRL6
ถ่ายทอดเทคโนโลยีเพื่อผลิตออกจำหน่าย

Radiant-Gel

TRL3
อยู่ระหว่างพัฒนาเพื่อพร้อมสู่ตลาดใน 2 ปี

Radiant-Sorp

ตลาด

- ปลอดเชื้อ ส่งออกต่างประเทศได้
- เหมาะกับพืชเชื้อเชื้อเศรษฐกิจ
- ราคา 17 บาท/ลิตร กำไร 54%
- ต้นทุน 11 บาท/ลิตร
- จำหน่าย online/offline
- มีงานวิจัยรองรับ
- ประสิทธิภาพสู้คู่แข่งในตลาดได้

- ส่งออกกลุ่มประเทศแห้งแล้ง
- พืชเศรษฐกิจต้องการน้ำมากในประเทศ
- ต้นทุนการผลิตประมาณ 245 บาท/กก
- ราคาจำหน่ายในตลาดอยู่ที่ 200-800 บาท/กก
- มีงานวิจัยรองรับ
- ประสิทธิภาพสู้คู่แข่งในตลาดได้

13

ผลงานการขอจดอนุสิทธิบัตร

คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร

☐ การประดิษฐ์
☐ การออกแบบผลิตภัณฑ์
☑ อนุสิทธิบัตร

ข้าพเจ้าผู้ลงลายมือชื่อในคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้
ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ตามพระราชบัญญัติสิทธิบัตร พ.ศ. 2522
แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติสิทธิบัตร (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2535
และ พระราชบัญญัติสิทธิบัตร (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2542

สำหรับเจ้าหน้าที่	
วันรับคำขอ 13/02/2567	เลขที่คำขอ
วันยื่นคำขอ	2403000424
สัญลักษณ์จำแนกการประดิษฐ์ระหว่างประเทศ	
ใช้กับแบบผลิตภัณฑ์ ประเภทผลิตภัณฑ์	
วันประกาศโฆษณา	เลขที่ประกาศโฆษณา
วันออกสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร	เลขที่สิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร
ลายมือชื่อเจ้าหน้าที่	

1. ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์/การออกแบบผลิตภัณฑ์ กรรมวิธีการผลิตขุยมะพร้าวเพื่อใช้เป็นวัสดุเพาะกล้าและการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในวัสดุปลูกด้วยกระบวนการฉายรังสีแกมมา

14

ผลงานการขอจดอนุสิทธิบัตร

แบบ สป/สผ/อสป/001-ก
หน้า 1 ของจำนวน 2 หน้า

คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร

☐ การประดิษฐ์
☐ การออกแบบผลิตภัณฑ์
☑ อนุสิทธิบัตร

ข้าพเจ้าผู้ลงลายมือชื่อในคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้
ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ตามพระราชบัญญัติสิทธิบัตร พ.ศ. 2522
แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติสิทธิบัตร (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2535
และ พระราชบัญญัติสิทธิบัตร (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2542

สำหรับเจ้าหน้าที่	
วันรับคำขอ 23/04/2568	เลขที่คำขอ
วันยื่นคำขอ	2503001454
สัญลักษณ์จำแนกการประดิษฐ์ระหว่างประเทศ	
ใช้กับแบบผลิตภัณฑ์ ประเภทผลิตภัณฑ์	
วันประกาศโฆษณา	เลขที่ประกาศโฆษณา
วันออกสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร	เลขที่สิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร
ลายมือชื่อเจ้าหน้าที่	

1. ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์/การออกแบบผลิตภัณฑ์ พอลิเมอร์ดูดซึมน้ำสูงทางเกษตรที่ผลิตจากขุยมะพร้าวด้วยกระบวนการทางรังสีและกรรมวิธีการผลิตพอลิเมอร์ดังกล่าว

14

รางวัลที่ได้รับ

จำนวน 2 รางวัล

1. **รางวัลเหรียญเงิน Silver Medal Award**
2. **รางวัล NRCT Honorable Mention Award จาก Nation Research Council of Thailand (NRCT)**

15

Thank You for Attention

CONTACT

lamai@tint.or.th
tanagorn@tint.or.th
pattra@tint.or.th
vichaip@tint.or.th
chatsuda.tint@gmail.com

บทที่ 2

การปรับปรุงพันธุ์พืชด้วยรังสี (Plant Mutation Breeding)

การปรับปรุงพันธุ์พืช หมายถึง กระบวนการพัฒนาและคัดเลือกพันธุ์พืชให้มีลักษณะที่เหมาะสมต่อการเพาะปลูก ในอดีตการปรับปรุงพันธุ์พืชมักเริ่มต้นจากการคัดเลือกต้นพันธุ์โดยอาศัยลักษณะภายนอกของพืชเกษตรกรจะเลือกต้นที่มีลักษณะดี เช่น แข็งแรง ให้ผลผลิตดี หรือทนแล้งได้ดี แล้วเก็บเมล็ดพันธุ์ไว้สำหรับปลูกในฤดูกาลถัดไป ขณะที่ต้นที่มีลักษณะไม่พึงประสงค์ก็จะถูกคัดออกจากวงจรการปลูก เมื่อความรู้ทางวิทยาศาสตร์ก้าวหน้า โดยเฉพาะในยุคของเกรเกอร์ เมนเดล (Gregor Mendel) ซึ่งได้รับการยกย่องว่าเป็น "บิดาแห่งวิชาพันธุศาสตร์" ได้มีการนำหลักการทางพันธุกรรมมาใช้ในการผสมพันธุ์พืชอย่างเป็นระบบ เพื่อให้สามารถควบคุมและคาดการณ์ลักษณะที่ต้องการได้อย่างมีประสิทธิภาพ ต่อมาได้มีการพัฒนาเทคนิคการใช้รังสี และสารเคมีบางชนิดมาช่วยชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ (induced mutation) แตกต่างจากการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติ (spontaneous mutation)

การกลายพันธุ์ หมายถึง การเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรม (DNA) ภายในเซลล์ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้สามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นลูกหลานได้ผ่านกระบวนการแบ่งเซลล์ การกลายพันธุ์อาจเกิดขึ้นในระดับยีน หรือในระดับโครโมโซม โดยสามารถจำแนกได้เป็น 2 ประเภทหลัก ได้แก่ การกลายพันธุ์ของยีน (Gene Mutation) และการกลายพันธุ์ของโครโมโซม (Chromosome Mutation)

1. การกลายพันธุ์ของยีน

การกลายพันธุ์ประเภทนี้มีอีกชื่อหนึ่งว่า **การกลายพันธุ์เฉพาะจุด (Point Mutation)** ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของยีนที่เกี่ยวข้องกับนิวคลีโอไทด์เบสเพียงไม่กี่โมเลกุล อาจน้อยถึง 1 โมเลกุล จากจำนวนทั้งหมดประมาณ 10^3 – 10^5 นิวคลีโอไทด์ในยีนหนึ่ง ๆ ส่งผลให้รหัสพันธุกรรมของยีนนั้นเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม และอาจมีผลกระทบต่อการแสดงออกของลักษณะทางพันธุกรรม

2. การกลายพันธุ์ของโครโมโซม

การกลายพันธุ์ประเภทนี้หมายถึง การเปลี่ยนแปลงในจำนวนและโครงสร้างของโครโมโซม ซึ่งสามารถจำแนกย่อยได้อีก 2 ลักษณะ คือ

2.1 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโครโมโซม การเปลี่ยนแปลงลำดับหรือจำนวนของส่วนต่างๆ ในโครโมโซมซึ่งอาจส่งผลต่อการแสดงออกของยีนและทำให้เกิดความผิดปกติทางพันธุกรรม สามารถเกิดขึ้นได้หลายรูปแบบ ได้แก่

- การขาดหายไปของส่วนของโครโมโซม (Deletion) ทำให้ยีนบางส่วนสูญหาย
- การเพิ่มขึ้นของส่วนของโครโมโซม (Duplication) ทำให้มียีนซ้ำซ้อนจากปกต
- การกลับทิศทางของส่วนของโครโมโซม (Inversion)
- การแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนระหว่างโครโมโซมต่างคู่กัน (Translocation)

2.2 การเปลี่ยนแปลงในจำนวนโครโมโซม พืชโดยทั่วไปมีจำนวนโครโมโซมเป็นดิพลอยด์ (diploid) ซึ่งเป็นจำนวนที่คงที่ แต่ในหลายกรณีก็สามารถพบพืชที่มีจำนวนโครโมโซมมากกว่าหรือน้อยกว่าปกติได้ ซึ่งมักเกิดจากความผิดปกติในกระบวนการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส เช่น การไม่แยกตัวของโครโมโซม (nondisjunction) หรือการหยุดเคลื่อนที่ของโครโมโซมในระยะแอนาเฟส เหตุการณ์เหล่านี้อาจทำให้เซลล์สืบพันธุ์บางเซลล์มีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นหรือลดลง เมื่อเกิดการผสมพันธุ์ก็จะได้ต้นลูกที่มีจำนวนโครโมโซมผิดปกติ เช่น

- **Aneuploidy** เป็นภาวะที่จำนวนโครโมโซมเปลี่ยนไปเพียงบางส่วน เช่น 2n+1 หรือ 2n-1
- **Polyploidy** เป็นภาวะที่จำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็นชุด เช่น 3n, 4n โดยแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ การเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมที่มีต้นกำเนิดจากพืชชนิดเดียวกัน เรียกว่า Autopolyploidy และการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมที่มาจากการรวมพันธุกรรมของพืชต่างชนิดกัน เรียกว่า Allopolyploidy

การเปลี่ยนแปลงในจำนวนโครโมโซมทั้งสองแบบนี้พบได้ในพืชหลายชนิด โดยที่พืชเหล่านั้นยังสามารถมีชีวิตอยู่ได้ตามปกติ แม้จะมีจำนวนโครโมโซมแตกต่างจากพืชที่มีโครโมโซมเป็นดิพลอยด์ และมักพบว่าพืชโพลีพลอยด์จะมีลักษณะเด่น เช่น ขนาดลำต้นและใบใหญ่กว่าพืชดิพลอยด์

3. สิ่งก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ (Mutagen) แบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ

3.1 สิ่งที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ด้านฟิสิกส์ (physical mutagen) ที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืช ได้แก่ รังสีเอกซ์ แกมมา และนิวตรอน รังสีเหล่านี้สามารถแทรกซึมผ่านเนื้อเยื่อของพืชได้ดี จึงนิยมใช้กับเมล็ดพืช รวมถึงอวัยวะพืชอื่น ๆ เช่น กิ่ง ตา หรือส่วนลำต้นใต้ดิน โดยรังสีเหล่านี้จัดอยู่ในกลุ่ม รังสีไอออไนซ์ (Ionizing Radiation) เนื่องจากสามารถกระตุ้นให้อะตอมหรือโมเลกุลเกิด ไอออไนเซชัน (Ionization) ได้ ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์

แม้ว่า รังสีอุลตราไวโอเลต (Ultraviolet radiation) จะไม่จัดอยู่ในกลุ่มไอออไนซ์เนื่องจากมีพลังงานต่ำกว่ารังสีชนิดอื่น แต่ในช่วงคลื่นประมาณ 260 นาโนเมตร (nm) รังสีอุลตราไวโอเลตสามารถถูกดูดกลืนได้ดีโดยกรดนิวคลีอิก (DNA) ซึ่งอาจก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ในระดับยีน อย่างไร

ก็ตามข้อจำกัดของรังสีชนิดนี้คือ มีอำนาจในการทะลุทะลวงต่ำ จึงใช้ได้เฉพาะกับละอองเรณู หรือเซลล์เพาะเลี้ยงซึ่งเป็นเซลล์เดี่ยวที่ไม่มีเนื้อเยื่อซ้อนกันเท่านั้น

3.2 สารเคมีที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ (Chemical mutagen) สารเคมีที่สามารถกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์มีอานุภาพสูงและเป็นอันตรายต่อผู้ใช้งาน จึงจำเป็นต้องใช้ด้วยความระมัดระวังอย่างยิ่ง ตัวอย่างของสารเคมีที่นิยมใช้ ได้แก่ Ethylmethanesulphonate (EMS), Diethylsulphate (DES), Ethyleneimine (EI), Ethylnitrosourea (ENU) และ Azides

แม้ว่าสารเคมีเหล่านี้จะสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่โดยทั่วไป รังสีเอกซ์ และ รังสีแกมมา ยังเป็นวิธีที่ได้รับความนิยมมากกว่าในการปรับปรุงพันธุ์พืช เนื่องจากมีความสามารถในการทะลุทะลวงสูงและควบคุมปริมาณพลังงานได้แม่นยำกว่า จึงเหมาะสำหรับการฉายรังสีในชิ้นส่วนของพืชที่มีโครงสร้างหนาแน่นหรือมีหลายเซลล์ซ้อนกัน

4. ชนิดของรังสีและแหล่งรังสี

4.1 รังสีเอกซ์ (X-rays) เป็นรังสีในกลุ่มคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ได้จากเครื่องฉายรังสีเอกซ์ ถูกค้นพบครั้งแรกโดย Wilhelm Röntgen นักฟิสิกส์ชาวเยอรมันในปี ค.ศ. 1895 รังสีเอกซ์เกิดขึ้นเมื่ออิเล็กตรอนที่เคลื่อนที่ด้วยความเร็วสูงจากขั้วแคโทดชนกับเป้าหมายโลหะที่เป็นขั้วบวก ซึ่งพลังงานจลน์ของอิเล็กตรอนจะถูกเปลี่ยนเป็นพลังงานรังสีเอกซ์

หลอดรังสีเอกซ์เป็นหลอดสุญญากาศ โดยขั้วแคโทดเป็นลวดทังสเตนที่มีไส้ ส่วนเป้าหมาย (target) ทำด้วยโลหะที่มีจุดหลอมเหลวสูง เช่น ทังสเตน หรือโมลิบดินัม ซึ่งฝังอยู่ในขั้วแอโนดที่ทำจากทองแดง

H.J. Muller เป็นผู้ค้นพบคนแรกที่แสดงให้เห็นว่ารังสีเอกซ์สามารถทำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ในแมลงหวี่ เมื่อปี ค.ศ. 1927 ต่อมา L.J. Stadler ได้แสดงให้เห็นว่ารังสีเอกซ์ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ในข้าวโพดและข้าวบาร์เลย์ได้เช่นเดียวกัน จากการค้นพบนี้ทำให้รังสีเอกซ์กลายเป็นเครื่องมือสำคัญที่ถูกนำมาใช้เพื่อเหนี่ยวนำการกลายพันธุ์ในสิ่งมีชีวิตโดยเฉพาะในพืช

4.2 รังสีแกมมา (Gamma-rays) เป็นรังสีประเภทคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าเช่นเดียวกับรังสีเอกซ์ สามารถทำให้เกิดไอออไนเซชันได้ รังสีแกมมาเกิดจากการสลายตัวของนิวเคลียสของเรดิโอนิวไคลด์ ซึ่งอยู่ในสภาวะไม่เสถียร และพยายามเข้าสู่สภาวะเสถียรโดยปลดปล่อยพลังงานออกมาในรูปของรังสีแอลฟา รังสีเบตา และรังสีแกมมา แหล่งที่นิยมใช้สำหรับผลิตรังสีแกมมาคือ โคบอลท์-60 (Co-60) และซีเซียม-137 (Cs-137)

รังสีแกมมาได้รับความนิยมมากกว่ารังสีเอกซ์ในการเหนี่ยวนำการกลายพันธุ์ เนื่องจากสามารถฉายรังสีได้ทั้ง 2 แบบ คือ การฉายรังสีแบบเฉียบพลัน (acute irradiation) คือ การให้รังสีในปริมาณสูงในระยะเวลาสั้น ตัวอย่างเช่น การฉายรังสีเมล็ดถั่วเขียวปริมาณ 800 เกรย์(Gy) ด้วยเครื่องฉายรังสีแกมมาที่ให้รังสี 10 เกรย์/นาที จะสามารถให้รังสีเสร็จสิ้นในเวลา 80 นาที และการฉายรังสีแบบเรื้อรัง (chronic irradiation) คือการให้รังสีปริมาณน้อยเป็นระยะเวลานาน เช่นเป็นสัปดาห์หรือเป็นเดือน นอกจากนี้เครื่องฉายรังสีแกมมายังมีได้หลายรูปแบบ ตามวัตถุประสงค์ของการใช้งานที่แตกต่างกันไป ดังนี้

4.2.1 สนามรังสีแกมมา (Gamma field)

เป็นพื้นที่กลางแจ้งที่ติดตั้งเครื่องฉายรังสีแกมมา เหมาะสำหรับปลูกพืชหลายชนิดเพื่อการทดลอง โดยพืชจะได้รับรังสีอย่างต่อเนื่องในปริมาณต่ำตลอดช่วงชีวิต ทำให้สามารถศึกษาผลของรังสีได้ทุกช่วงการเจริญเติบโต ตัวอย่างเช่น ไร่รังสีแกมมา ที่ Ohmiya-machi จังหวัดอิบารากิ ประเทศญี่ปุ่น ใช้โคบอลท์-60 เป็นต้นกำเนิดรังสี มีลักษณะเป็นแท่งบรรจุอยู่ในหม้อตะกั่ว เมื่อต้องการฉายรังสี มีการบังคับระยะไกล ให้ต้นกำเนิดรังสีเลื่อนออกมาจากที่เก็บ พืชที่ปลูกไว้ในไร่รังสีแกมมาได้รับรังสีมากน้อยต่างกันไป ขึ้นอยู่กับระยะทางระหว่างต้นกำเนิดรังสีกับพืช และมีภูเขาล้อมรอบทำหน้าที่เป็นเกราะป้องกันรังสีธรรมชาติ โดยให้อยู่ในระดับที่ไม่เป็นอันตรายต่อประชาชน

4.2.2 เรือนรุกขรังสี (Gamma greenhouse)

เป็นเรือนกระจกที่ผนังทำจากคอนกรีตหนาเพื่อกันรังสี ส่วนหลังคาเป็นวัสดุโปร่งแสง ภายในติดตั้งเครื่องฉายรังสีแกมมาไว้ตรงกลางหรือด้านข้าง ใช้ฉายรังสีแบบเรื้อรังให้พืชในกระถางได้รับรังสีอย่างต่อเนื่อง ใช้ได้กับพืชขนาดใหญ่ เช่น ท่อนพันธุ์มันสำปะหลัง อ้อย กิ่งปักชำหน่อกล้วย เป็นต้น ตัวอย่างที่สำคัญคือเรือนรุกขรังสีของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ซึ่งเป็นแห่งเดียวในประเทศไทยและในเอเชียอาคเนย์ เริ่มใช้งานในปี พ.ศ. 2505 โดยใช้โคบอลท์-60 กำลังเริ่มต้น 16 คูรี และต่อมาได้เปลี่ยนเป็น 100 คูรีเนื่องจากโคบอลท์-60 มีค่าเครื่องชีวิตสั้นประมาณ 5.3 ปี เมื่อใช้ไปได้ระยะหนึ่งความแรงของรังสีลดน้อยลงจึงได้เปลี่ยนเพื่อความเหมาะสมในการใช้งาน

4.2.3 เครื่องฉายรังสีแกมมาแบบปิด

เครื่องฉายรังสีประเภทนี้มีความแรงรังสีสูงกว่าเรือนรุกขรังสี ใช้สำหรับการฉายรังสีแบบเฉียบพลันในเวลาสั้น เช่น วินาทีถึงชั่วโมง

4.2.4 ห้องรังสีแกมมา

มีลักษณะคล้ายเรือนรุกขรังสี แต่มีเพดานคอนกรีตเพื่อความปลอดภัย ใช้สำหรับการฉายรังสีแบบเฉียบพลันในพืชขนาดใหญ่หรือจำนวนมาก ควบคุมเครื่องฉายรังสีจากภายนอกห้องเช่นเดียวกับเรือนรุกขรังสี

4.3 รังสีนิวตรอน (Neutron radiation) เป็นรังสีประเภทอนุภาค ได้จากปฏิกิริยาในปฏิกรณ์นิวเคลียร์ เช่น การแตกตัวของยูเรเนียม-235 หรือจากเครื่องนิวตรอนเจเนเรเตอร์ รังสีชนิดนี้มีความรุนแรงมากกว่ารังสีเอกซ์และรังสีแกมมา โดยสามารถทำอันตรายได้มากกว่าประมาณ 10 เท่าในปริมาณที่เท่ากัน เนื่องจากความยุ่งยากในการฉายรังสี จึงไม่นิยมเท่ารังสีแกมมาหรือรังสีเอกซ์

4.4 อิเล็กตรอนบีม (Electron beam) เป็นรังสีอีกประเภทหนึ่งที่ใช้ปรับปรุงพันธุ์พืชอย่างแพร่หลายในประเทศพัฒนาแล้ว เช่น สหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น และเยอรมนี ลำอิเล็กตรอนจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงจุดเล็ก ๆ หลายจุดบนโครโมโซม ทำให้เกิดการกลายพันธุ์เฉพาะจุด ลดการตายของเซลล์เนื่องจากการฉายรังสี และทำให้พันธุ์กลายมีความแข็งแรงมากกว่าพันธุ์กลายจากรังสีประเภทอื่น การใช้ลำอิเล็กตรอนพลังงานสูง (10 MeV) ยังถูกศึกษาพบว่าสามารถก่อให้เกิดการแตกหักของสาย DNA ทั้งสองเส้น (double strand break) ได้ในระดับที่สูงกว่ารังสีแกมมา (Zhu et al., 2008)

5. ผลของรังสีที่มีต่อพืช

5.1 การเจ็บป่วยและการตายของพืช (Plant Injury and Lethality) ผลกระทบจากรังสีต่อพืชที่เห็นได้ชัดในช่วงแรกคือ การบาดเจ็บและการตาย ซึ่งเกิดจากความเสียหายทางสรีรวิทยา (physiological damage) อันเนื่องมาจากกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) ของเซลล์ถูกขัดขวาง ทำให้กิจกรรมภายในเซลล์ดำเนินไปอย่างผิดปกติหรือมีประสิทธิภาพลดลง โดยทั่วไปอาการเหล่านี้มักปรากฏเฉพาะในรุ่นแรก (M1) และไม่ถ่ายทอดทางพันธุกรรมไปยังรุ่นลูกหลาน

ความเสียหายทางสรีระนี้อาจมีสาเหตุจากการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซม หรืออาจไม่เกี่ยวข้องกับโครโมโซมก็ได้ ระดับของการเจ็บป่วยและการตายสามารถใช้เป็นตัวชี้วัดความเหมาะสมของปริมาณรังสีหรือความเข้มข้นของสารเคมีที่ใช้ในการเหนี่ยวนำการกลายพันธุ์ โดยเป้าหมายคือ

ให้ได้อัตราการกลายพันธุ์สูงสุด ควบคู่กับการมีต้นพืชรอดชีวิตในจำนวนเพียงพอสำหรับการคัดเลือกและศึกษาต่อไป

ความไวต่อรังสี (radiosensitivity) ของพืชจะแตกต่างกันไปตามชนิด พันธุ์ และส่วนของพืช เช่น เมล็ดจะมีความไวต่อรังสีน้อยกว่ากิ่งหรือตา การหาปริมาณรังสีที่เหมาะสมสามารถพิจารณาจากความสูงของต้นกล้า เช่น ค่าที่ทำให้ความสูงลดลง 50% เรียกว่า GR_{50} (50% Growth Reduction) หรือพิจารณาจากอัตราการตายของพืช เช่น ค่าที่ทำให้พืชตาย 50% เรียกว่า LD_{50} (50% Lethal Dose)

5.2 ผลที่มีต่อการแบ่งเซลล์และโครโมโซม (Cytological Effects) รังสีอาจส่งผลต่อกระบวนการแบ่งเซลล์และโครงสร้างของโครโมโซม เช่น ทำให้เกิดการขาดหายของโครโมโซม (deletion) หรือการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนระหว่างโครโมโซมต่างกัน (translocation) ซึ่งส่งผลให้ตำแหน่งของยีนเปลี่ยนไป ยีนที่เคยอยู่ด้วยกัน (linkage) อาจถูกแยกออกจากกัน นำไปสู่การแสดงลักษณะใหม่ที่แตกต่างจากเดิม

5.3 ความเป็นหมัน (Sterility) รังสีอาจทำให้พืชที่ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดสูญเสียความสามารถในการสืบพันธุ์ ส่งผลให้เกิดภาวะเป็นหมัน ความเป็นหมันนี้มักปรากฏเฉพาะในรุ่นแรก (M1) และไม่ถ่ายทอดไปยังรุ่นถัดไป แต่ในบางกรณีอาจถ่ายทอดต่อไปได้

5.4 ลักษณะความเป็นด่างที่ใบ (Leaf Chimerism or Variegation) ลักษณะใบด่างหรือมีสีไม่สม่ำเสมอ มักพบในรุ่นแรกหลังจากการฉายรังสี โดยเฉพาะหากการกลายพันธุ์เกิดขึ้นในกลุ่มเซลล์ที่ไม่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์ ลักษณะเหล่านี้มักไม่ถ่ายทอดไปยังรุ่นถัดไป แต่หากเกิดขึ้นในเซลล์สืบพันธุ์ ก็มีโอกาสถ่ายทอดลักษณะดังกล่าวไปยังลูกหลาน ทำให้เกิดลักษณะใหม่ที่แตกต่างจากพันธุ์เดิมอย่างถาวร

6. การเปลี่ยนแปลงของเซลล์เมื่อได้รับรังสี

เมื่อเซลล์พืชได้รับรังสี เช่น รังสีเอกซ์ รังสีแกมมา หรือรังสีนิวตรอน รังสีจะถ่ายเทพลังงานให้กับโมเลกุลต่าง ๆ ภายในเซลล์ ทำให้โมเลกุลเหล่านั้นแตกตัวเป็นไอออนและอนุมูลอิสระ (free radicals) เกิดการจัดเรียงตัวใหม่ และมีปฏิกิริยาเคมีระหว่างกัน ส่งผลให้เกิดโมเลกุลใหม่ที่มีคุณสมบัติทางชีวเคมีเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม รังสีถ่ายเทพลังงานโดยตรงไปยังชีวโมเลกุล เรียกว่า Direct Action หรือทางอ้อมคือ ส่งผ่านไปยังโมเลกุลของน้ำในเซลล์ ทำให้น้ำแตกตัวเป็นไอออน

และอนุมูลอิสระรวมเรียกว่า radiolytic products ซึ่งสามารถทำลายชีวโมเลกุลอื่น ๆ ในเซลล์ เช่น DNA, โปรตีน หรือไขมัน ส่งผลต่อโครงสร้างและการทำงานของเซลล์ เรียกว่า Indirect Action

ดังนั้น ความเสียหายจากรังสีจึงเป็นผลรวมของทั้งผลโดยตรงและทางอ้อม และระดับผลกระทบขึ้นอยู่กับความสำคัญของชีวโมเลกุลที่ได้รับผลกระทบ หากไม่รุนแรง เซลล์อาจยังมีชีวิตอยู่ แต่การแบ่งเซลล์จะล่าช้าหรือผิดปกติ เช่น เกิดการเปลี่ยนแปลงในสารพันธุกรรม หรืออาจนำไปสู่การตายในที่สุด

กระบวนการซ่อมแซม DNA (DNA Repair Process) เซลล์มีกระบวนการภายในที่ช่วยลดผลกระทบจากรังสี โดยการซ่อมแซม DNA ที่ได้รับความเสียหายให้กลับสู่สภาพปกติ หรือให้สามารถทำหน้าที่เดิมได้ การซ่อมแซมนี้สามารถเกิดขึ้นได้ก่อน ระหว่าง หรือหลังการจำลอง DNA โดยมีกลไกหลัก เช่น Excision Repair ซึ่งประกอบด้วยขั้นตอนต่อเนื่องกัน ได้แก่ Endonuclease ทำงานโดยเริ่มตัดตรงบริเวณที่ที่มีความเสียหายเกิดขึ้น Exonuclease ย่อยสลายชิ้นส่วนที่เสียหาย หลังจากนั้นเอนไซม์ Polymerase จะทำการสังเคราะห์นิวคลีโอไทด์ใหม่โดยอาศัยสายแม่ที่สมบูรณ์ และเอนไซม์ Ligase เชื่อมต่อสาย DNA ใหม่กับสายเดิมให้สมบูรณ์ อย่างไรก็ตามหากความเสียหายของ DNA ไม่รุนแรง ระบบซ่อมแซมจะสามารถฟื้นฟูให้กลับสู่สภาพปกติได้ แต่หากเป็นความเสียหายที่รุนแรงหรือซับซ้อน เซลล์จะไม่สามารถซ่อมแซมได้ ส่งผลให้เซลล์ตาย

ความผิดพลาดในการซ่อมแซมและการกลายพันธุ์ (Mutation) กระบวนการซ่อมแซม DNA อาจเกิดความผิดพลาด เช่น การเติมนิวคลีโอไทด์ผิดชนิด หรือการเชื่อมสาย DNA ผิดตำแหน่ง ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ เช่น deletion, inversion, หรือ translocation ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมที่อาจถ่ายทอดต่อไปได้ หากเกิดขึ้นในเซลล์ที่สามารถแบ่งตัว และมักเกิดขึ้นกับโครโมโซมในลักษณะที่สามารถสังเกตได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เช่น การขาดหายของชิ้นส่วน (break), การเกิดสะพาน (bridges), การกลับด้านของโครโมโซม (inversion), การแลกเปลี่ยนชิ้นส่วน (translocation), การขาดหายบางส่วน (deletion), หรือการเกิดนิวเคลียสเล็ก (micronucleus)

นอกจากนี้ยังมีผลกระทบอื่น ๆ ที่รังสีอาจก่อให้เกิด ได้แก่ การยับยั้งการสังเคราะห์ DNA ในระยะอินเตอร์เฟส การยับยั้งกระบวนการ oxidative phosphorylation และการทำลายโครงสร้างของโปรตีนที่เป็นเอนไซม์ ซึ่งสิ่งเหล่านี้ส่งผลให้กระบวนการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสและไมโอซิสล่าช้าลง ลดความสามารถในการอยู่รอด และส่งผลต่อการสืบพันธุ์ของเซลล์โดยรวม

7. ขั้นตอนการปรับปรุงพันธุ์พืชด้วยรังสี

7.1 การเพิ่มความแปรปรวนทางพันธุกรรม เป็นการใช้รังสีเพื่อชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ ซึ่งชิ้นส่วนที่ใช้ (เช่น เมล็ด กิ่ง หรือเนื้อเยื่อ) และชนิดของพืชจะเป็นตัวกำหนดปริมาณรังสีที่เหมาะสม โดยสามารถเลือกวิธีการฉายรังสีได้ทั้งแบบเฉียบพลัน (acute irradiation) หรือแบบเรื้อรัง (chronic irradiation)

7.2 การคัดเลือกลักษณะที่ต้องการ เป็นขั้นตอนที่สำคัญที่สุดของกระบวนการปรับปรุงพันธุ์ ความสำเร็จขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการปรับปรุงพันธุ์ การสังเกตที่รอบคอบ ประสบการณ์ของผู้วิจัย และการใช้เทคนิคอื่น ๆ ร่วมด้วย เช่น การทดสอบทางสรีรวิทยา หรือเครื่องหมายโมเลกุล เพื่อช่วยยืนยันลักษณะกลายพันธุ์ที่ต้องการ

7.3 การทดสอบเพื่อยืนยันพันธุ์กลายที่ได้ เป็นการตรวจสอบว่าพันธุ์พืชที่ได้จากการกลายพันธุ์มีลักษณะตามต้องการอย่างแท้จริง มีความสม่ำเสมอของลักษณะภายในสายพันธุ์ และสามารถถ่ายทอดลักษณะเหล่านั้นไปยังรุ่นถัดไปได้อย่างมั่นคง

8. การปรับปรุงพันธุ์พืชด้วยรังสีสามารถใช้ได้กับพืชทุกชนิด เช่น

8.1 พืชผสมตัวเอง (Self-fertilizing species) เช่น ข้าว ถั่ว มะเขือเทศ เป็นต้น พืชกลุ่มนี้ส่วนใหญ่ขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด และไม่มีปัญหามากในการปรับปรุงพันธุ์ด้วยรังสี โอกาสเกิดการกลายพันธุ์ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น จำนวนยีนที่ควบคุมลักษณะนั้น หากเป็นลักษณะที่ควบคุมด้วยหลายยีน เช่น ผลผลิต จะมีโอกาสกลายต่ำกว่าลักษณะที่ควบคุมด้วยยีนเพียงคู่เดียว โดยทั่วไป การกลายจากลักษณะเด่น (dominance) เป็นลักษณะด้อย(recessive) จะเกิดขึ้นง่ายกว่าการกลายจากลักษณะด้อยไปเป็นลักษณะเด่น

8.2 พืชผสมข้าม (Cross-fertilizing species) เช่น ข้าวโพด โดยทั่วไปนิยมใช้วิธีการปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิม เนื่องจากมีความยุ่งยากในการคัดเลือกลักษณะกลายพันธุ์ และการคงลักษณะด้อยที่เปลี่ยนจากลักษณะเด่นไว้ได้ยาก ปัญหาสำคัญคือความไม่เป็นเนื้อเดียวกันของยีน (heterozygosity) ทำให้แยกแยะลักษณะกลายพันธุ์ออกจากการแปรผันอื่น ๆ ได้ยาก อย่างไรก็ตาม มีงานวิจัยหลายชิ้นที่ประสบความสำเร็จในการปรับปรุงพันธุ์พืชกลุ่มนี้ด้วยรังสี

8.3 พืชขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (Vegetatively propagated species) เช่น ไม้ดอกไม้ประดับ ไม้ผล พืชหัว และพืชอาหารสัตว์บางชนิด พืชเหล่านี้ขยายพันธุ์ด้วยกลีบใบ (bulb), รากหัว (tuber), ลำต้นใต้ดิน (rhizome), ไหล (stolon) หรือติดตา-ต่อกิ่ง (grafting) ซึ่งช่วยรักษาลักษณะประจำพันธุ์ไว้ได้ดี อีกทั้งยังใช้กับพืชที่ไม่สามารถสร้างเมล็ดหรือมีเมล็ดที่ไม่งอก

การใช้รังสีในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในพืชกลุ่มนี้สามารถทำได้จากส่วนใดก็ได้ที่สามารถขยายพันธุ์ เช่น ตา (buds) หรือชิ้นส่วนพืชต่าง ๆ การกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเรียกว่า “การกลายพันธุ์ของส่วนร่างกาย” (somatic mutation) ซึ่งอาจเกิดลักษณะกลายเฉพาะบางส่วนของพืช ถ้าเซลล์ที่กลายกลายเป็นต้นใหม่ จะได้ต้นที่กลายพันธุ์ทั้งต้น (solid mutant) แต่หากมีทั้งเซลล์กลายและไม่กลายในต้นเดียวกัน จะเรียกว่า “ไคเมรา” (chimeras) ซึ่งมักไม่มีประโยชน์ทางพันธุกรรมมากนัก แต่อาจนำมาคัดเลือกต่อไปได้

ทั้งนี้ ควรพิจารณาลักษณะทางกายวิภาคของพืช และเลือกช่วงระยะที่เหมาะสมในการฉายรังสีเพื่อเพิ่มโอกาสในการได้ต้นที่กลายพันธุ์ทั้งต้น เช่น การใช้ตาที่มีใบ 4–8 ใบ พบว่ามีโอกาสประสบผลสำเร็จสูงสุด หรืออาจใช้เทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลอง (*in vitro* culture) เพื่อช่วยลดปัญหาเรื่องไคเมรา ซึ่งปัจจุบันมีพืชหลายชนิดที่สามารถเพาะเลี้ยงโดยวิธีนี้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

9. ลักษณะที่สามารถชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในพืช

- ผลผลิต (Yielding ability)
- ระยะเวลาออกดอกและการสุกของผล (Flowering and ripening time)
- ความสามารถในการปรับตัวต่อสภาพแวดล้อม (Adaptability)
- ลักษณะทางสัณฐานและการเจริญเติบโตของพืช (Plant type and growth habit)
- ความต้านทานต่อการล้มและหักของต้น (Resistance to lodging and stem breakage)
- ความต้านทานต่อการแตกร่วงของฝักหรือเมล็ด (Shattering and shedding resistance)
- ความทนทานต่อสภาพแวดล้อม เช่น ความเย็น ความร้อน ความแล้ง และดินเค็ม (Tolerance to low temperature, heat, drought, and salinity)
- ความต้านทานต่อโรคและแมลง (Disease and pest resistance)
- ลักษณะทางคุณภาพ (Quality traits) เช่น ปริมาณแป้ง (% starch) โปรตีน (Protein content) น้ำมัน (Oil content) และสารพิษ (Toxic substance) เป็นต้น

แม้ว่านักวิทยาศาสตร์จะเริ่มทดลองใช้รังสีในการปรับปรุงพันธุ์พืชมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2473 แต่แนวทางนี้ได้รับการยอมรับและนำมาใช้แพร่หลายมากขึ้นตั้งแต่ประมาณปี พ.ศ. 2493 เนื่องจากสามารถช่วยแก้ปัญหาที่วิธีการปรับปรุงพันธุ์แบบเดิมไม่สามารถทำได้ โดยมีเหตุผลสำคัญ 2 ประการ ประการแรกคือ **ข้อจำกัดของแหล่งพันธุกรรมเดิม** ความหมายคือพืชเศรษฐกิจหลายชนิดโดยเฉพาะพวกธัญพืช (เช่น ข้าว ข้าวโพด) ได้ผ่านการปรับปรุงพันธุ์มาแล้วอย่างต่อเนื่อง บางลักษณะสำคัญ เช่น ความต้านทานโรค มักไม่พบในพันธุ์ธรรมชาติ หรือหากพบก็ยากจะผสมรวมกับพันธุ์ที่มีลักษณะดีอื่น ๆ ได้ และประการที่สอง **การสูญเสียความหลากหลายทางพันธุกรรม** เนื่องมาจากการเพิ่มขึ้นของประชากรมนุษย์ ทำให้พื้นที่เพาะปลูกเพิ่มขึ้นและพืชพื้นเมืองถูกทำลาย ส่งผลให้พันธุ์พืชใหม่ที่ถูกพัฒนาขึ้นมามักมีความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำ เช่น กรณีตัวอย่างของมันฝรั่งในยุโรปที่เกิดโรคระบาดและสร้างความเสียหายอย่างรุนแรง เนื่องจากปลูกพันธุ์ที่มีพื้นฐานทางพันธุกรรมจากพ่อแม่พันธุ์เดียวกัน

อย่างไรก็ตาม การใช้รังสีชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในพืช ก็เป็นวิธีการหนึ่งที่จะแก้ปัญหาในการสร้างความแปรปรวนในสายพันธุ์ของพืช ทำให้เกิดลักษณะใหม่ที่ไม่พบในแหล่งพันธุกรรมเดิม นอกจากนี้การใช้รังสีมีข้อดีในแง่ของการปรับปรุงพันธุ์พืช คือ จะเปลี่ยนแปลงเฉพาะบางลักษณะโดยไม่กระทบต่อลักษณะดีอื่น ๆ ที่พืชมีอยู่เดิม

10. การใช้ประโยชน์จากพันธุ์กลายในงานปรับปรุงพันธุ์พืช

10.1 การใช้โดยตรง (Direct use) พันธุ์กลายที่ได้จากการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์อาจมีลักษณะดีเพียงพอที่จะส่งเสริมเป็นพันธุ์ใหม่ได้ทันที มักเป็นการกลายพันธุ์จากพันธุ์เดิมที่ดีอยู่แล้วแต่ต้องการปรับปรุงเพียงบางลักษณะ ทำให้ระยะเวลาในการพัฒนาพันธุ์สั้นลงมาก

10.2 การใช้ประโยชน์ทางอ้อม (indirect use) ในกรณีที่พันธุ์กลายยังไม่ดีพอจะใช้โดยตรง อาจนำไปใช้ใน **การผสมพันธุ์** เพื่อถ่ายทอดลักษณะที่ต้องการไปยังพันธุ์อื่น วิธีนี้ใช้เวลาพัฒนาใกล้เคียงกับการปรับปรุงพันธุ์ทั่วไป

จากรายงานสถิติการใช้พันธุ์กลาย (ข้อมูลจาก Maluszynski ปี พ.ศ. 2543) พบว่ามีพันธุ์กลายที่ได้รับการส่งเสริมทั้งหมด 2,252 พันธุ์ ในจำนวนนี้แบ่งเป็น ธัญพืช 1,072 พันธุ์ พืชตระกูลถั่ว 311 พันธุ์ พืชผัก 66 พันธุ์ พืชน้ำมัน 59 พันธุ์ พืชอุตสาหกรรม 81 พันธุ์ ไม้ดอกไม้ประดับ 552 พันธุ์ และพืชอื่น ๆ 111 พันธุ์ ในจำนวน 2,252 พันธุ์นี้ เป็นการนำไปใช้โดยตรง 1,585 พันธุ์ (ส่วนใหญ่จากการใช้รังสี = 1,411 พันธุ์) ที่เหลือ 667 พันธุ์ได้จากการนำพันธุ์กลายไปผสมข้าม

ประเทศที่มีจำนวนพันธุ์กลายมากที่สุดคือ จีน รองลงไปเป็น อินเดีย รัสเซีย เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา และญี่ปุ่น ตามลำดับ

ตัวอย่างงานปรับปรุงพันธุ์ในประเทศไทย

1. ข้าว (โดยสถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร)
   - **กข 6** ได้จากการนำพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ฉายรังสีแกมมา 200 เกรย์ ได้ข้าวเหนียวผลผลิตสูงขึ้น 23% ต้านทานโรคไหม้และใบจุดสีน้ำตาล
   - **กข 10** ได้จากการนำพันธุ์ข้าว กข 1 ฉายอนุภาคนิวตรอนเร็ว 10 เกรย์ ได้ข้าวเหนียวลักษณะต้นเตี้ย ผลผลิตสูงคุณภาพในการหุงต้มดีขึ้น ค่อนข้างทนทานต่อโรคไหม้ เมล็ดยาวขึ้น
   - **กข 15** ได้จากการนำพันธุ์ข้าวเจ้าขาวดอกมะลิ 105 ฉายรังสีแกมมา 150 เกรย์ ได้เป็นพันธุ์ข้าวเจ้าหอมเหมือนพันธุ์เดิม ต้นเตี้ยกว่า ผลผลิตเพิ่มขึ้น 4.6 % ทนแล้งได้ดี
2. ถั่วเหลือง (โดยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์)
   - **พันธุ์ดอยคา** นำถั่วเหลืองพันธุ์ สจ. 4 ฉายรังสีแกมมา 150 และ 300 เกรย์ คัดเลือกได้พันธุ์ที่ ทนโรคราสนิม

การผสมผสานเทคโนโลยี: *In Vitro* Mutation Breeding

การใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อร่วมกับการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ ช่วยให้คัดเลือกพันธุ์กลายได้แม่นยำและขยายพันธุ์ได้รวดเร็ว เหมาะกับพืชที่ขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ ตัวอย่างในประเทศไทย ได้แก่

1. เบญจมาศพันธุ์ Golden Cremon ได้จากการฉายรังสีแกมมาขนาด 10 เกรย์กับเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงของพันธุ์ Cremon ได้ลักษณะกลายจากกลีบดอกเปลี่ยนจากสีขาวเป็นสีทอง
2. เก๊กฮวยพันธุ์ KU 1 ได้จากการฉายรังสีแกมมาขนาด 15 เกรย์ กับเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงพันธุ์ Hangzhou ได้ขนาดดอกใหญ่ขึ้น และทนโรค
3. คาร์เนชั่นพันธุ์ชัยชุมพล ได้จากการฉายรังสีแกมมาขนาด 10 เกรย์กับเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงพันธุ์ White Sim ได้ลักษณะกลีบดอกมีขีดชมพูจากเดิมที่เป็นสีขาวล้วน

4. กล้วยหอมทองพันธุ์ KU 1 ได้จากการฉายรังสีแกมมาขนาด 25 เกรย์กับเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงกล้วยหอมทอง ได้หวีที่มีขนาดใหญ่ขึ้น

จะเห็นได้ว่ารังสีมีประโยชน์อย่างมากต่องานด้านการปรับปรุงพันธุ์พืช โดยช่วยย่นระยะเวลาในการพัฒนาพันธุ์ใหม่ และปรับปรุงเฉพาะลักษณะที่ต้องการเพื่อรักษาลักษณะดีเดิมไว้ แม้จะมีข้อจำกัดอยู่บ้างที่จะต้องใช้ประชากรจำนวนมาก และพื้นที่มากในระยะแรก บางการกลายพันธุ์อาจไม่สามารถสังเกตด้วยสายตา ต้องใช้เทคนิควิเคราะห์ทางพันธุกรรมร่วมด้วย ดังนั้นควรมีจุดมุ่งหมายที่ชัดเจน เพื่อให้การปรับปรุงมีประสิทธิภาพ และพัฒนาเทคนิคเสริม เช่น marker-assisted selection (MAS) เพื่อคัดเลือกอย่างแม่นยำให้งานปรับปรุงพันธุ์พืชด้วยรังสีประสบผลสำเร็จยิ่งขึ้น

บทที่ 3

ปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

เครื่องมือและอุปกรณ์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ส่วนที่ 1 : การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ลำดับ	ชื่ออุปกรณ์ (ไทย)	ชื่ออุปกรณ์ (อังกฤษ)	หน้าที่
1.	เครื่องชั่งสาร	Analytical balance	ชั่งน้ำหนักสารจำนวนน้อย มีความแม่นยำสูง
2.	เครื่องวัดความเป็นกรด-เบส	pH meter	บอกค่าความเป็นกรดเบสที่แม่นยำ
3.	หม้อนึ่งความดันไอ	Autoclave	ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์หรืออุปกรณ์ด้วยไอน้ำแรงดันสูง
4.	เครื่องกวนสาร	Magnetic stirrer	หมุนกวนสารในบีกเกอร์ด้วยแท่งแม่เหล็ก
5.	แท่งแม่เหล็กกวนสาร	Magnetic bar	ใส่ในภาชนะแล้วหมุนกวนสารด้วยแม่เหล็ก
6.	ช้อนตักสาร	Spatula	ตวงสารเคมีชนิดผงในปริมาณน้อยก่อนนำไปชั่ง
7.	ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	Tissue culture bottle	ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ
8.	ขวดสารเคมี/ขวดดูแรน	DURAN bottle	ขวดแก้วทนความร้อน มีฝาปิด
9.	กระบอกตวง	Graduated Cylinder	อุปกรณ์สำหรับวัดปริมาตรของเหลว
10.	แก้วรูปกระบอก/บีกเกอร์	Beakers	ใช้ผสมหรือให้ความร้อนกับสาร
11.	เครื่องดูดจ่ายสารละลาย	Micropipette	อุปกรณ์ดูดสาร ใช้ในงานระดับไมโครลิตร
12.	หลอดวัดปริมาตร	Volumetric Pipette	ใช้ดูดและจ่ายของเหลว

ส่วนที่ 2 : ปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ลำดับ	ชื่ออุปกรณ์ (ไทย)	ชื่ออุปกรณ์ (อังกฤษ)	หน้าที่
1.	ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ	Laminar air-flow cabinet	ใช้กรองอากาศให้ปราศจากเชื้อและมีหลอด UV ช่วยในการฆ่าเชื้อ
2.	มีดผ่าตัด	Scalpel	ตัดชิ้นเนื้อเยื่อก่อนย้ายลงขวด
3.	ปากคีบ	Forceps	ใช้จับชิ้นเนื้อเยื่อระหว่างย้าย
4.	จานเพาะเลี้ยง	Petri dish	สำหรับวางชิ้นเนื้อเยื่อ
5.	ตะแกรงหลอดทดลอง	Test tube rack stainless	ใช้สำหรับตั้งหลอดทดสอบหรืออุปกรณ์

ลำดับ	ชื่ออุปกรณ์ (ไทย)	ชื่ออุปกรณ์ (อังกฤษ)	หน้าที่
6.	ตะเกียงแอลกอฮอล์	Turnal	ใช้ในการเผาฆ่าเชื้ออุปกรณ์
7.	ตะเกียงแก๊ส	Bunsen burner	ใช้ในการเผาฆ่าเชื้ออุปกรณ์
8.	เครื่องเขย่าสาร	Shaker	เขย่าเพื่อเติมออกซิเจนให้กับเนื้อเยื่อ หรือในขั้นตอนฟอกฆ่าเชื้อ
9.	เครื่องควบคุมเวลา	Timer	ตั้งเวลาการให้แสงที่เหมาะสมต่อการเจริญของเนื้อเยื่อ

รูปภาพเครื่องมือและอุปกรณ์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เครื่องชั่งสาร

เครื่องกวนสาร

แท่งแม่เหล็กกวนสาร

เครื่องวัดความเป็นกรดเบส

เครื่องดูดจ่ายสารละลาย

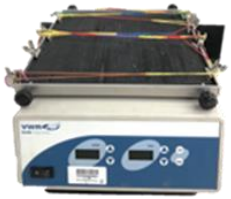
หลอดวัดปริมาตร

เครื่องดูดจ่ายสารละลาย

ขวดดูแรน

ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ

เครื่องควบคุมเวลา



เครื่องเขย่าสาร

ตะเกียงแอลกอฮอล์

ปากคีบ

มีดผ่าตัด

ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

บีกเกอร์

จานเพาะเลี้ยง

ตะแกรงหลอดทดลอง

นาฬิกาจับเวลาดิจิตอล

กระบอกตวง

สารเคมีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

ลำดับ	ชื่อสารเคมี	สูตรโครงสร้างเคมี
1.	อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสูตร MS (Murashige and Skoog medium)	-
2.	Agar (วุ้นเพาะเลี้ยง)	-
3.	Sucrose (น้ำตาลซูโครส)	$C_{12}H_{22}O_{11}$
4.	Glucose (บางสูตร)	$C_6H_{12}O_6$
5.	ไฮเตอร์ (โซเดียมไฮโปคลอไรท์)	NaOCl
6.	ฮอร์โมนพืช Naphthaleneacetic acid (NAA)	$C_{12}H_{10}O_2$
7.	ฮอร์โมนพืช 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)	$C_8H_6Cl_2O_3$
8.	ฮอร์โมนพืช Indole-3-acetic acid (IAA)	$C_{10}H_9NO_2$
9.	ฮอร์โมนพืช 6-Benzylaminopurine (BAP)	$C_{12}H_{11}N_5$
10.	ผงถ่าน (Activated charcoal)	-
11.	Potassium Hydroxide	KOH
12.	Hydrochloric acid	HCl
13.	Ammonium nitrate	NH_4NO_3
14.	Potassium nitrate	KNO_3
15.	Calcium chloride	$CaCl_2.2H_20$
16.	Potassium dihydrogen phosphate	KH_2PO_4
17.	Boric acid	H_3BO_3
18.	Sodium molybdate	$Na_2MoO_4.2H_20$
19.	Potassium iodide	KI
20.	Cobalt chloride	$CoCl_2.6H_20$
21.	Magnesium sulfate	$MnSO_4.4H_20$
22.	Zinc sulfate	$ZnSO_4.7H_20$

ลำดับ	ชื่อสารเคมี	สูตรโครงสร้างเคมี
23.	Copper sulfate	$CuSO_4.5H_20$
24.	Ferrous sulfate	$FeSO_4.7H_20$
25.	EDTA	Na_2-EDTA.$2H_20$
26.	My - inositol	-
27.	Glycine	-
28.	Nicotinic acid (B3)	-
29.	Pyridoxine-HCl (Bg)	-
30.	Thiamine-HCl (B1)	-

การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ความสำเร็จของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย โดยเฉพาะอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งมีบทบาทสำคัญไม่ยิ่งหย่อนไปกว่าการเลือกชิ้นส่วนพืชที่เหมาะสม เนื่องจากในสภาวะปลอดเชื้อพืชไม่สามารถดูดซึมสารอาหารจากดิน แสง หรือบรรยากาศได้ จึงต้องพึ่งพาอาหารสังเคราะห์ในการเจริญเติบโต

องค์ประกอบของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

โดยทั่วไปอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อจะต้องประกอบด้วยองค์ประกอบหลัก 3 ประเภท

1. **แหล่งพลังงาน** เช่น น้ำตาลซูโครส ซึ่งทำหน้าที่เป็นแหล่งพลังงานหลัก เนื่องจากพืชไม่สามารถสังเคราะห์อาหารเองในหลอดทดลองได้เหมือนในธรรมชาติ
2. **วิตามิน** แม้พืชจะสามารถสังเคราะห์วิตามินได้เองบางส่วน แต่การเติมวิตามินในอาหารช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต โดยเฉพาะกลุ่มวิตามินบี เช่น ไทอามีน (Vitamin B1)
3. **สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (Plant Growth Regulators)** เช่น ออกซิน (Auxins), ไซโตไคนิน (Cytokinins), จิบเบอเรลลิน (Gibberellins) ซึ่งจำเป็นต่อการกระตุ้นให้เกิดกระบวนการพัฒนาเซลล์ เช่น การแบ่งเซลล์ การสร้างราก หรือยอด ทั้งนี้ปริมาณและชนิดของฮอร์โมนจะขึ้นอยู่กับชิ้นส่วนพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง และวัตถุประสงค์ของการเพาะเลี้ยง

สูตรอาหารที่นิยมใช้

สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีหลายสูตรที่ได้รับการพัฒนาและใช้งานอย่างแพร่หลาย โดยสูตรที่นิยมมากที่สุดคือ

1. **สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962)** เป็นสูตรมาตรฐานที่ให้ปริมาณเกลือแร่สูง โดยเฉพาะไนโตรเจน เหมาะกับการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชส่วนใหญ่ เช่น แคลลัส ยอด และโซมาติกเอ็มบริโอ
2. **สูตร Nitsch and Nitsch (1969)** ให้ปริมาณเกลือแร่ต่ำ เหมาะกับการเพาะเลี้ยงอับเรณูและการสร้างต้นจากเรณู
3. **สูตร White (1951) และ สูตร Nitsch (1951)** เหมาะกับรากและเนื้อเยื่อที่ต้องการปริมาณเกลือแร่น้อย

หลักการเตรียมอาหารในห้องปฏิบัติการ

ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช การเตรียมอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อจำเป็นต้องใช้สารประกอบหลายชนิด ซึ่งบางชนิดมีปริมาณการใช้น้อยมาก การชั่งสารในปริมาณน้อยอาจเกิดข้อผิดพลาดได้ง่าย ทั้งในด้านความแม่นยำและความสะดวก ดังนั้นจึงนิยมเตรียมสารเป็น สารละลายเข้มข้น (Stock solution) ที่มีความเข้มข้นมากกว่าความเข้มข้นใช้งานจริงประมาณ 10–200 เท่า เพื่อลดเวลาในการเตรียม และลดความคลาดเคลื่อนจากการชั่งสารโดยตรง

การจัดกลุ่มสารเคมีในการเตรียม Stock solution ควรแบ่งเป็นกลุ่มเพื่อป้องกันการเกิดตะกอนและรักษาเสถียรภาพของสารละลายเคมี ได้แก่ มหธาตุ (Macronutrients) จุลธาตุ (Micronutrients) เหล็ก (ต้องเตรียมแยกต่างหาก เนื่องจากไวต่อแสงและเสื่อมสภาพง่าย) สารอินทรีย์ (Vitamins & Amino Acids) ฮอร์โมนพืช (Plant Growth Regulators) เช่น Auxin, Cytokinin ซึ่ง ในแต่ละกลุ่มควรเตรียมสารละลายแยกต่างหากเพื่อลดความเสี่ยงในการตกตะกอน เช่น $MgSO_4$ และ $CaCl_2$ ควรแยกจากเกลือแร่หลัก

<u>ข้อควรระวัง</u> ควรละลายสารตามลำดับอย่างเหมาะสม เพื่อป้องกันการตกตะกอน เช่น สารละลายเหล็กอาจต้องใช้ความร้อนช่วยละลาย แต่ไม่ควรเกิน 80 °C เพื่อป้องกันการเกิด Fe-oxide สารบางชนิดต้องละลายในตัวทำละลายเฉพาะ เช่น $Ca_3(PO_4)$ ต้องใช้กรดเกลือ (HCl) หรือกรดไนตริค (KNO_3) เจือจาง และ Folic acid ต้องละลายในสารละลายโซดาไฟ (NaOH) หรือ

โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) เจือจาง และสารควบคุมการเจริญเติบโต เช่น Auxin มักละลายในแอลกอฮอล์ 95% ก่อน แล้วจึงเติมน้ำ

การเก็บรักษาสารละลายเข้มข้น ควรเก็บสารละลายในขวดที่มีขีดตวง เพื่อลดการปนเปื้อน และเก็บในอุณหภูมิ 2–4 °C เพื่อชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ สารอินทรีย์และฮอร์โมนพืชควรเก็บในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ –20 °C ตลอดเวลา หากพบการเจริญของจุลินทรีย์ในสารละลายใด ต้องทิ้งและเตรียมใหม่ เนื่องจากสารพิษจากจุลินทรีย์อาจไม่สามารถทำลายได้ด้วยการนึ่งฆ่าเชื้อ

ประเภทการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภทหลัก

1. **การเตรียมแบบใช้สารละลายเข้มข้น (Stock Solution)**

เป็นการเตรียมสารละลายสารเคมีแต่ละกลุ่มแยกกันในรูปของสารละลายเข้มข้น เช่น 10–200 เท่าของความเข้มข้นที่ต้องการใช้จริง แล้วนำมาตวงผสมเมื่อต้องการเตรียมอาหาร วิธีนี้ช่วยลดเวลาและความผิดพลาดในการชั่งสารเคมีปริมาณน้อย

2. **การเตรียมแบบสำเร็จรูป (Commercial Ready-Made Medium)**

เป็นการใช้อาหารสำเร็จรูปที่มีจำหน่ายในรูปผง ซึ่งผู้ใช้เพียงชั่งตามปริมาณที่ระบุและละลายกับน้ำกลั่น ก็สามารถนำไปใช้ได้ทันทีหลังปรับค่า pH เติมวุ้นและนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว

ตัวอย่างการเตรียมอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962)

การเตรียมโดยใช้ Stock Solution

(ตัวอย่าง: MS Stock 20x หรือ 200x)

เตรียมสารละลายแยกเป็น 6 กลุ่ม (สามารถดูรายละเอียดแต่ละกลุ่มได้จากตารางด้านล่าง)

- **A:** Macronutrients
- **B:** Micronutrients
- **C:** Iron
- **D:** Vitamins
- **E:** ฮอร์โมน (Growth Regulators)
- **F:** Carbon Source (หากแยกเก็บ)

หมายเหตุ: ในการเตรียม Stock ควรเติมน้ำกลั่นประมาณ 50% ของปริมาตรสุดท้ายก่อน แล้วเติมสารเคมีตามลำดับทีละตัว คนให้ละลายหมดก่อนเติมตัวถัดไป จากนั้นปรับปริมาตรด้วยขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask) และควรระบุชื่อสาร ปริมาณที่ใช้ต่อ 1 ลิตร วันที่ และชื่อผู้เตรียมให้ชัดเจน

สูตรคำนวณปริมาตรของ Stock Solution ที่ต้องใช้

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

M_1 = ความเข้มข้นของ Stock

V_1 = ปริมาตร Stock ที่ต้องใช้

M_2 = ความเข้มข้นที่ต้องการ

V_2 = ปริมาตรสุดท้ายของอาหาร

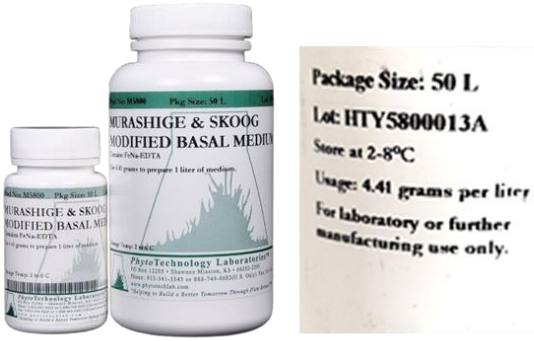
Stock	ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ปริมาณ 1 เท่า (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ 20 เท่า (กรัม)	ปริมาณ 200 เท่า (กรัม)	ปริมาตรที่ใช้เตรียมต่ออาหาร 1 ลิตร
A	Ammonium nitrate	NH_4NO_3	1.65	33	-	50 ml
	Potassium nitrate	KNO_3	1.9	38	-	
B	Calcium chloride	$CaCl_2.2H_2O$	0.44	8.8	-	50 ml
C	Potassium dihydrogen phosphate	KH_2PO_4	0.17	-	34	5 ml
	Boric acid	H_3BO_3	0.0062	-	1.24	
	Sodium molybdate	$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.00025	-	0.05	
	Potassium iodide	KI	0.00083	-	0.166	
	Cobalt chloride	$CoCl_2.6H_2O$	0.000025	-	0.005	
D	Magnesium sulfate	$MgSO_4.7H_2O$	0.37	-	74	5 ml
	Manganese sulfate	$MnSO_4.4H_2O$	0.0223	-	4.46	
	Zinc sulfate	$ZnSO_4.7H_2O$	0.0086	-	1.72	
	Copper sulfate	$CuSO_4.5H_2O$	0.000025	-	0.005	
E	Ferrous sulfate	$FeSO_4.7H_2O$	0.0278	-	5.56	5 ml
	EDTA	Na_2-EDTA.$2H_2O$	0.0373	-	7.46	
F	My - inositol		0.1	-	20	5 ml
	Glycine		0.002	-	0.4	
	Nicotinic acid (B3)		0.005	-	0.1	
	Pyridoxine-HCl (B_6)		0.005	-	0.1	
	Thiamine-HCl (B1)		0.0001	-	0.02	

ขั้นตอนการเตรียมอาหาร 1 ลิตร

1. เติมน้ำกลั่นประมาณ 500 ml ลงในภาชนะทนความร้อน
2. เติม Stock A - F ตามลำดับที่คำนวณไว้
3. เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร
4. เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (เช่น 2,4-D, BAP, NAA) ตามความเข้มข้นที่ต้องการ
5. ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น
6. ปรับค่า pH ให้อยู่ระหว่าง 5.7–5.8 โดยใช้ HCl หรือ NaOH เจือจาง
   (ควรสอบเทียบเครื่องวัด pH ด้วยบัฟเฟอร์ pH 4.0 และ 7.0 ก่อนใช้งาน)
7. เติมวุ้น (Agar) ประมาณ 8.0–8.5 กรัมต่อลิตร (0.8–1.5% w/v)
   ต้มจนวุ้นละลายจนหมดและเป็นเนื้อเดียวกัน
8. ตวงอาหารใส่ขวดเพาะเลี้ยง ให้มีปริมาตรสม่ำเสมอ ความสูงของอาหารประมาณ 0.5–0.7 ซม. จากก้นขวด
9. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Autoclave ที่ 121 °C ความดัน 15 psi เป็นเวลา 15–30 นาที
10. ปล่อยให้เย็นในอุณหภูมิห้อง เมื่อแรงดันใน Autoclave ลดลงจนเป็นศูนย์ แล้วนำออกจากเครื่องแล้วปิดฝาภาชนะให้แน่นรอนำไปใช้งาน

การเตรียมอาหารโดยใช้อาหารสำเร็จรูป

1. ชั่งอาหารผงสำเร็จรูปตามที่ระบุบนฉลาก (เช่น MS powder 4.41 กรัมต่อลิตร)
2. ละลายด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ
3. ปฏิบัติตามขั้นตอนข้อ 3–10 เช่นเดียวกับการเตรียมแบบ Stock Solution



การฟอกฆ่าเชื้อ (Surface Sterilization)

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ชิ้นส่วนพืช (explants) ที่นำมาจากสภาพแวดล้อมภายนอกมักมีจุลินทรีย์ปนเปื้อนติดมาด้วย ซึ่งอาจเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วบนอาหารสังเคราะห์ที่มีแร่ธาตุและน้ำตาลอันเป็นสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมทั้งต่อพืชและจุลินทรีย์ จึงจำเป็นต้องทำการ ฟอกฆ่าเชื้อผิวภายนอก (surface sterilization) ของชิ้นส่วนพืชก่อนการเพาะเลี้ยง เพื่อป้องกันการปนเปื้อน

การเลือกชิ้นส่วนพืช (Explants Selection)

ขนาดของชิ้นเนื้อเยื่อ

- เนื้อเยื่อขนาดใหญ่มีโอกาสปนเปื้อนสูง
- เนื้อเยื่อขนาดเล็กอาจตอบสนองช้า และเสี่ยงต่อการช็อกจากการแยกออกจากต้นแม่

แนวทางปฏิบัติ: ใช้เนื้อเยื่อขนาดเล็กหลายชิ้นต่อขวด เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโต แต่ต้องเฝ้าระวังการเกิดแคลลัสเร็วเกินไปซึ่งอาจต้องเปลี่ยนอาหารบ่อย เพิ่มโอกาสปนเปื้อนและสิ้นเปลืองทรัพยากร

การเลือกต้นแม่พันธุ์ (Mother Plant Selection)

- เลือกพันธุ์พืชที่ตอบสนองต่อการเพาะเลี้ยงได้ดี (เช่น พืชที่ปักชำง่าย)
- ควรเลือกต้นที่แข็งแรง ปลอดโรค
- หลีกเลี่ยงต้นที่แสดงอาการอ่อนแอหรือมีเชื้อโรค

ชิ้นส่วนพืชที่นิยมนำมาเพาะเลี้ยง

ชิ้นส่วนพืชที่เหมาะสมควรมีเนื้อเยื่อเจริญ (meristematic tissue) ซึ่งมีการแบ่งเซลล์อย่างแข็งขัน มักพบได้ในส่วนต่างๆของพืช ตัวอย่างเช่น

- ปลายยอดลำต้น (Shoot apex)**:** มีการแบ่งเซลล์สูงสุด
- ปลายราก (Root apex): ถัดจากส่วนของหมวกราก มีเนื้อเยื่อเจริญคล้ายปลายยอด
- เนื้อเยื่อเจริญในท่อลำเลียง (Vascular cambium): พบบริเวณส่วนของลำต้นและรากซึ่งอยู่ระหว่างกลุ่มของท่ออาหาร และท่อน้ำ
- เนื้อเยื่อเจริญระหว่างปล้อง (Intercalary meristem)**:** พบในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว เช่น หญ้า ข้าวโพด
- เปลือกชั้นใน (Inner bark): รวมเนื้อเยื่อของชั้น phloem และ cortex

- ไส้กลางลำต้น (Pith): เซลล์ parenchyma ใจกลางลำต้น
- ใบ (Leaf): เซลล์ palisade และ spongy parenchyma นิยมใช้แยกโปรโตพลาสต์
- ดอก (Flower): เซลล์ parenchyma ทั่วไป ยกเว้นในฐานรองดอกบางชนิด เช่น เยอบีร่า ซึ่งมีเนื้อเยื่อเจริญ
- ผล (Fruit): เซลล์ parenchyma

  ชนิดที่ผลมีเปลือกหุ้มผลนิ่มทั้งผล (Berry) เช่น กล้วย มะละกอ

  ชนิดผลที่ภายในนิ่มทั้งผล (Pepo) เช่น แตงกวา ฟักทอง

  ชนิดผลที่มีเปลือกหนาข้างในผลแยกส่วนชัดเจน (Hesperidium) เช่น ส้ม
- เมล็ด (Seed): ประกอบด้วยคัพภะ (embryo), ใบเลี้ยง (cotyledon), และ endosperm ซึ่งตอบสนองต่อการเพาะเลี้ยงได้ดี

หลักการและขั้นตอนในการฟอกฆ่าเชื้อ

การกำจัดเชื้อจุลินทรีย์และเชื้อราที่อาจติดมากับชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อพืชเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญยิ่งในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เพื่อให้ได้เนื้อเยื่อที่บริสุทธิ์และปลอดเชื้อ ปัจจัยสำคัญที่ควรพิจารณา ได้แก่ การเลือกชนิดของน้ำยาฆ่าเชื้อ (Sterilizing agent) ความเข้มข้นของสารละลาย และระยะเวลาในการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมกับชนิดของพืชและชิ้นส่วนที่ใช้

สารเคมีที่นิยมใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ

- เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol): ความเข้มข้นที่ใช้ 70% โดยจุ่มหรือแช่ชิ้นส่วนพืชในสารละลายแอลกอฮอล์ในเวลาสั้น ๆ มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ดี แต่มีความเป็นพิษต่อเนื้อเยื่อพืชหากสัมผัสเป็นเวลานาน
- โซเดียมไฮโปคลอไรต์ (Sodium hypochlorite): ตัวอย่างผลิตภัณฑ์เช่น คลอรอกซ์ (Clorox), ไฮเตอร์ มีคุณสมบัติเป็นสารฟอกขาว มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียหลากหลายชนิด นิยมใช้ในงานเกษตร อุตสาหกรรม และในครัวเรือน
- แคลเซียมไฮโปคลอไรต์ (Calcium hypochlorite): เป็นสารเคมีที่ละลายน้ำได้ดีมากเมื่อละลายน้ำจะปล่อยก๊าซคลอรีน ซึ่งมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อนิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น การฆ่าเชื้อวัตถุดิบและน้ำ

- ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide): มีคุณสมบัติเป็นของเหลวใส สลายตัวเป็นออกซิเจนและน้ำ ใช้เป็นน้ำยาฆ่าเชื้อ ฟอกสี และทำความสะอาด ควรเก็บไว้ในภาชนะทึบแสงเพื่อป้องกันการเสื่อมสภาพจากแสงและความร้อน

ขั้นตอนการฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อพืช

1. เตรียมชิ้นส่วนพืช
    - ตัดแต่งชิ้นส่วนเนื้อเยื่อพืชให้มีขนาดเหมาะสม
    - ล้างด้วยน้ำประปาที่ไหลผ่าน และใช้น้ำยาล้างจานช่วยทำความสะอาดเบื้องต้น
2. เตรียมห้องปฏิบัติการ
    - ทำความสะอาดอุปกรณ์ เช่น ขวดเพาะเลี้ยง ด้วยแอลกอฮอล์ 70%
    - ทำความสะอาดภายในตู้ปลอดเชื้อก่อนเริ่มปฏิบัติการ
3. ฆ่าเชื้ออุปกรณ์
    - อุปกรณ์ภายในตู้ปลอดเชื้อ เช่น มีดผ่าตัด กรรไกร และปากคีบ ให้ฆ่าเชื้อโดยแช่ในแอลกอฮอล์ 95% จำนวน 3 ครั้ง ลนไฟเพื่อฆ่าเชื้อก่อนใช้งาน
4. ฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช
    - ทำตามขั้นตอนที่กำหนดในตารางสูตรเฉพาะ (ตาราง)
5. ย้ายชิ้นส่วนพืชลงในอาหารเพาะเลี้ยง
    - ใช้ปากคีบวางชิ้นส่วนลงในขวดเพาะเลี้ยงที่เตรียมไว้
    - ลนไฟปากขวดก่อนเปิดและหลังปิดฝาขวดทุกครั้งเพื่อป้องกันการปนเปื้อน
6. ปิดฝาขวดและพันพาราฟิล์ม
    - ปิดฝาให้แน่นสนิท และพันพาราฟิล์มรอบปากขวดเพื่อป้องกันการปนเปื้อน
7. นำไปเพาะเลี้ยง
    - วางขวดบนชั้นวางเพาะเลี้ยงในห้องปลอดเชื้อ
    - ควบคุมอุณหภูมิที่ 25°C ให้แสงไฟวันละ 12–16 ชั่วโมง
8. ติดตามผลการเพาะเลี้ยง
    - ตรวจสอบการปนเปื้อนทุกสัปดาห์

- หากพบขวดที่มีการติดเชื้อ ให้แยกออกและฆ่าเชื้อด้วย Autoclave หรือทำความสะอาดด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ

9. การเปลี่ยนอาหาร (Subculture)
    - หลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี 2,4-D เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ให้นำชิ้นส่วนที่ได้ไปย้ายลงในอาหารใหม่ที่เติมฮอร์โมน BA เพื่อกระตุ้นการเกิดยอด

ข้อควรระวัง ห้ามไม่ให้อุปกรณ์ภายในตู้ปลอดเชื้อสัมผัสมือโดยตรง โดยเฉพาะปลายกรรไกรหรือปลายปากคีบ หากเกิดการสัมผัส ต้องแช่อุปกรณ์ในแอลกอฮอล์ 95% อย่างน้อย 30 วินาที และลนไฟก่อนนำกลับมาใช้งานอีกครั้ง

<u>ตัวอย่างการฟอกฆ่าเชื้อ</u>

การฟอกเมล็ดถั่วพูและข้าวโพดหวานสำหรับการเพาะเลี้ยงคัพภะ (Embryo Culture)

การเพาะเลี้ยงคัพภะ (Embryo Culture) คือการนำเอ็มบริโอที่ยังไม่เจริญเต็มที่จากพืชในสภาพธรรมชาติมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อกระตุ้นให้พัฒนาเป็นต้นกล้า หรือเนื้อเยื่ออื่น ๆ

ขั้นตอนการปฏิบัติ

1. ทำความสะอาดเมล็ด - ล้างเมล็ดถั่วพู/ข้าวโพดหวานด้วยน้ำเปล่า จากนั้นแช่ในเอทานอล 70% เป็นเวลา 2 นาที
2. ฟอกด้วยสารฆ่าเชื้อ - แช่เมล็ดใน Clorox 20% (ปริมาตร 50–100 มิลลิลิตร) นาน 2–3 นาที
3. ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ - ล้างซ้ำ 3 ครั้ง ครั้งละประมาณ 5 นาที หรือจนไม่มีฟอง
4. แยกเอ็มบริโอ - ใช้มีดผ่าตัดและปากคีบ แยกคัพภะ (เอ็มบริโอ) ออกมา
5. เพาะเลี้ยงบนอาหาร - วางคัพภะลงในขวดอาหารแข็งที่เติมน้ำมะพร้าว 10% ขวดละ 1 ชิ้น ปิดฝาให้สนิท และพันพาราฟิล์ม
6. เพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อพืช - อุณหภูมิ 25°C ให้แสงวันละ 12–16 ชั่วโมง
7. ติดตามผล – ตรวจสอบการเจริญเติบโตและการปนเปื้อนอย่างสม่ำเสมอ หากพบการปนเปื้อน ให้นำขวดไปฆ่าเชื้อด้วย Autoclave

ตารางการฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อพืช

เนื้อเยื่อ	ขั้นตอนการฟอก		
	ก่อนการฟอก	ช่วงการฟอก	หลังการฟอก
เมล็ด	จุ่มในเอทานอล 70% นาน 5 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นที่สะอาด	แช่เมล็ดใน 10%) แคล-เซียม ไฮเพอร์คลอไรด์หรือ 20% Clorox นาน 20 นาที	ล้างด้วยน้ำกลั่นที่สะอาด แล้ววางในจานเพาะเลี้ยงที่มีกระดาษกรองรองอยู่
ผล	ล้างด้วยเอทานอล 70%	แช่ใน 2% (w/v) โซ-เดียม ไฮเพอร์คลอไรด์หรือ 10% Clorox นาน 10 นาที	ล้างด้วยน้ำกลั่นที่สะอาด 3 ครั้ง
ชิ้นส่วนของลำต้น	ถูล้างด้วยน้ำประปา ตามด้วยเอทานอล 70%	แช่ใน 2% (w/v) โซ-เดียม ไฮเพอร์คลอไรด์หรือ 10% Clorox นาน 15 นาที	ล้างด้วยน้ำกลั่นที่สะอาด 3 ครั้ง
อวัยวะเก็บสะสม	ถูล้างให้สะอาดในน้ำประปา	แช่ในสารละลายไฮเพอร์คลอไรด์ 2% (w/v) หรือ 20% Clorox นาน 15-20 นาที	ล้างด้วยน้ำกลั่นที่สะอาด 3 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรอง

การตัดขยายเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง

เมื่อได้ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่ผ่านกระบวนการฟอกฆ่าเชื้อ และเพาะเลี้ยงจนเจริญเติบโตเป็นต้นอ่อนในสภาพปลอดเชื้อเรียบร้อยแล้ว (ใช้ระยะเวลาโดยเฉลี่ยประมาณ 30–60 วัน ขึ้นอยู่กับชนิดของพืชและสูตรอาหารที่ใช้) ขั้นตอนถัดไปคือ **การตัดขยาย (Subculture)**

การตัดขยายมีจุดประสงค์เพื่อ

- เพิ่มปริมาณเนื้อเยื่อหรือต้นอ่อน
- เปลี่ยนถ่ายอาหารใหม่ เพื่อให้สารอาหารเพียงพอต่อการเจริญเติบโตอย่างต่อเนื่อง
- ปรับสูตรอาหาร เช่น การเติมฮอร์โมนควบคุมการเจริญเติบโต (เช่น Cytokinin เพื่อชักนำยอด หรือ Auxin เพื่อชักนำราก) เพื่อกระตุ้นการพัฒนาในส่วนที่ต้องการ

- เปลี่ยนภาชนะเพาะเลี้ยง ให้มีขนาดเหมาะสมกับการเจริญเติบโตของต้นอ่อน

การตัดขยายจึงเป็นขั้นตอนสำคัญในการ เพิ่มปริมาณต้นกล้าเนื้อเยื่อ และ เตรียมต้นกล้าให้พร้อมสำหรับการอนุบาลในโรงเรือน หรือการย้ายปลูกในสภาพแวดล้อมจริงต่อไป

การตัดขยายเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง

การฉายรังสีเพื่อปรับปรุงพันธุ์พืช

การฉายรังสีสามารถทำได้กับ เมล็ด หรือ ชิ้นส่วนต่าง ๆ ของพืช และยังสามารถประยุกต์ใช้ร่วมกับเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งช่วยเร่งการเพิ่มจำนวนและคัดเลือกลักษณะกลายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยแบ่งออกเป็น 2 วิธีหลักดังนี้

1. **การฉายรังสีก่อนเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**

เป็นการนำชิ้นส่วนของพืชที่สามารถใช้ขยายพันธุ์ได้ เช่น เมล็ด ตาข้าง ตายอด ใบ หรือกิ่ง มาทำการฉายรังสีในระดับที่เหมาะสม หลังจากฉายรังสีแล้วจึงนำชิ้นส่วนพืชมาฟอกฆ่าเชื้อและเพาะเลี้ยงในอาหารวิทยาศาสตร์ ข้อดีของวิธีนี้คือเป็นวิธีที่ง่ายและตรงไปตรงมา แต่อาจมีปัญหาเรื่องการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ภายหลังการฟอกฆ่าเชื้อ จำนวนต้นพืชที่รอดและเจริญได้อาจน้อยลง

และโอกาสในการพบลักษณะกลายพันธุ์ที่ต้องการก็อาจลดลงตามจำนวนต้นที่เพาะได้เช่นกัน

2. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อก่อนฉายรังสี

เริ่มจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้ได้ต้นพืชอ่อน เช่น ต้นอ่อน โซมาติกเอ็มบริโอ แคลลัส (Callus) เซลล์แขวนลอย หรือโปรโตพลาสต์ จากนั้นนำเนื้อเยื่อที่ได้ไปฉายรังสีและเปลี่ยนอาหารเพาะเลี้ยงใหม่ทันที ซึ่งวิธีนี้มีข้อดีคือลดความเสี่ยงจากการปนเปื้อน ได้จำนวนต้นพืชรวมทั้งเพิ่มโอกาสในการคัดเลือกลักษณะกลายพันธุ์ที่พึงประสงค์ได้มากขึ้น

10. 1 วิธีการทดลองสำหรับการฉายรังสีส่วนของเมล็ด

1. การเตรียมเมล็ดก่อนฉายรังสี

คัดเลือกเมล็ดพันธุ์ที่สะอาด มีความสมบูรณ์ และมีอัตราการงอกสูง นำไปตรวจสอบความชื้นของเมล็ดด้วยวิธีมาตรฐาน โดยเริ่มจากบดเมล็ดตัวอย่างให้ละเอียด ชั่งน้ำหนักเมล็ดก่อนอบ จากนั้นอบเมล็ดในตู้อบที่อุณหภูมิ 130°C เป็นเวลา 60 นาที พักให้เย็นใน Desiccator อย่างน้อย 20 นาที ชั่งน้ำหนักเมล็ดหลังอบและคำนวณ % ความชื้น จากสูตร

$$\text{ความชื้นในเมล็ด (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} x100$$

ค่าความชื้นที่เหมาะสม สำหรับฉายรังสีควรอยู่ระหว่าง 12 – 14%

2.การกำหนดปริมาณรังสีที่ใช้

พืชแต่ละชนิดมี ความไวต่อรังสี (Radiosensitivity) แตกต่างกัน ซึ่งสามารถประเมินได้จากค่าดังต่อไปนี้

- LD_{50} (Lethal Dose-50%): ปริมาณรังสีที่ทำให้พืชนั้นอยู่รอดหรือตายไป 50%
- GR_{50} (Growth Reduction-50%): ปริมาณรังสีที่ทำให้พืชนั้นเจริญเพิ่มขึ้นหรือลดลง 50%

วิธีการหาค่าที่เหมาะสม

- ทดลองฉายรังสีเมล็ดด้วยระดับรังสีต่าง ๆ

- นำเมล็ดที่ฉายรังสีไปเพาะ สังเกตอัตราการงอกและการเจริญเติบโตหลัง 30 วัน

- สร้างกราฟโดยให้ปริมาณรังสี (Gy) อยู่บนแกน X และเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดหรือการเจริญอยู่บนแกน Y

  หาค่า LD_{50} หรือ GR_{50} จากกราฟ เพื่อใช้เป็นค่ารังสีที่เหมาะสมในการทดลอง

การฉายรังสีแกมมา

- จำนวนเมล็ดที่ใช้ไม่มีจำนวนตายตัว แต่ยิ่งใช้เมล็ดมากยิ่งมีโอกาสพบลักษณะกลายพันธุ์ที่พึงประสงค์มากขึ้น ขึ้นอยู่กับขนาดการทดลองและวัตถุประสงค์
- นำเมล็ดที่เตรียมไว้บรรจุลงในถุงกระดาษหรือถุงพลาสติก นำไปฉายรังสีแกมมาปริมาณรังสีที่ใช้ขึ้นกับค่าที่ได้จากการหาค่า LD_{50} หรือ GR_{50}

10.2 วิธีการทดลองสำหรับการฉายรังสีเนื้อเยื่อในขวดเพาะเลี้ยง

การฉายรังสีเนื้อเยื่อพืชในขวดเพาะเลี้ยงเป็นขั้นตอนหนึ่งของการ ชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ เพื่อใช้ในงานปรับปรุงพันธุ์พืช โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. เตรียมตัวอย่างเนื้อเยื่อ คัดเลือกส่วนต่างๆ ของเนื้อเยื่อที่ต้องการ เช่น ปลายยอด ใบ ราก หรือชิ้นเนื้อเยื่ออื่น ๆ นำมาทำการ ฟอกฆ่าเชื้อ เพื่อลดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ และเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อ ที่เหมาะสม (MS หรือสูตรอื่นตามชนิดพืช)

2. เพิ่มปริมาณเนื้อเยื่อ เพิ่มปริมาณของเนื้อเยื่อที่ต้องการให้เพียงพอต่อโดยการตัดขยาย หลีกเลี่ยงการใช้ฮอร์โมน ในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อทั้งก่อนและหลังฉายรังสี (ถ้าเป็นไปได้) เพื่อไม่ให้ผลของฮอร์โมนรบกวนลักษณะของการกลายพันธุ์

3. การฉายรังสี ฉายรังสีให้เนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงที่ต้องการตามปริมาณรังสีที่เหมาะสม หลังฉายรังสีแล้วจะต้องทำการย้ายเนื้อเยื่อลงในอาหารใหม่ทันที เพื่อหลีกเลี่ยงผลกระทบจากอาหารเดิมที่อาจถูกแปรสภาพจากรังสี และเปลี่ยนอาหารเพาะเลี้ยง ทุกเดือน เพื่อให้สารอาหารเพียงพอต่อการเจริญของเนื้อเยื่อ

4. การคัดเลือกและย้ายปลูกในโรงเรือน คัดเลือกเนื้อเยื่อที่แสดงลักษณะกลายพันธุ์โดดเด่นและอาจใช้ ตัวคัดเลือก (selection agents) เช่น สารเคมี (เกลือ, กรด) หรือสภาวะแวดล้อม (อุณหภูมิต่ำ/สูง, ความเค็ม, ความแห้งแล้ง) เมื่อต้นกล้าโตพอสมควรทำการกระตุ้นให้เกิดการออกราก และ

นำต้นกล้าที่มีรากสมบูรณ์ออกจากขวดเพาะเลี้ยงย้ายปลูกลงในวัสดุปลูกในโรงเรือน เพื่อทดสอบการแสดงออกของลักษณะกลายพันธุ์ ในสภาพธรรมชาติต่อไป

การย้ายปลูกเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง

ต้นพืชจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อมักมีลักษณะอ่อนแอและบอบบางกว่าพืชที่เจริญในธรรมชาติ การย้ายปลูกจึงเป็นขั้นตอนสำคัญที่ต้องกระทำด้วยความระมัดระวัง เพื่อป้องกันการช้ำ การติดเชื้อ และการขาดน้ำ ซึ่งอาจทำให้ต้นพืชเสียหายหรือตายได้

ขั้นตอนการย้ายปลูกเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง

1. เตรียมวัสดุปลูก ควรใช้วัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของดินปลูกผสมขุยมะพร้าว หรือดินปลูกผสมแกลบ ในอัตราส่วน 1:1 สำหรับเลี้ยงต้นกล้าในระยะแรก

2. ดึงต้นพืชออกจากขวดเพาะเลี้ยง โดยใช้ปากคีบนำต้นออกจากขวดอย่างระมัดระวังไม่ให้รากขาดหรือเสียหาย

3. ตัดแต่งรากหรือใบ ล้างเศษวุ้นที่ติดอยู่ที่บริเวณรากออกให้หมดเพื่อไม่ให้เกิดการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งอาจก่อโรคหรือขัดขวางการเจริญของต้นพืช

4. แช่สารยับยั้งเชื้อราหรือน้ำยาเร่งราก นำต้นกล้าที่ล้างวุ้นออกแล้วจุ่มด้วยน้ำยาป้องกันเชื้อรา หรือน้ำยาเร่งรากที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมก่อนปลูกลงในภาชนะ

5. ปลูกลงในวัสดุปลูก โดยในระยะแรกต้องควบคุมสภาพแวดล้อมให้เหมาะสม เช่น ความชื้น แสง อุณหภูมิ เพื่อเป็นการอนุบาลในระยะที่ต้นยังอ่อนแอ เมื่อต้นเจริญเติบโตแข็งแรงแล้วจึงย้ายออกปลูกในสภาพปกติยังโรงเรือนต่อไป

จะเห็นได้ว่าในขั้นตอนการย้ายปลูกเนื้อเยื่อเป็นขั้นตอนที่ กำหนดความสำเร็จของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หากต้นกล้ามีรากและลำต้นที่สมบูรณ์ แข็งแรง ก็จะสามารถฟื้นตัว ปรับตัว และเจริญเติบโตในสภาพแวดล้อมใหม่ได้ดี ซึ่งนำไปสู่การใช้ประโยชน์ตามวัตถุประสงค์ เช่น การขยายพันธุ์ การปลูกเชิงพาณิชย์ หรือการวิจัยพันธุกรรม

เอกสารอ้างอิง

พันทิพา ลิ้มสงวน และคณะ. 2560. การปรับปรุงพันธุ์โดยชักนำการกลายพันธุ์ในเบญจมาศโดยใช้รังสีแกมมา และการตรวจสอบการกลายพันธุ์โดยวิธีเอเอฟแอลพี. หน้า 334–345. ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สิรนุช ลามศรีจันทร์ อรุณี วงศ์ปิยะสถิตย์ และพีรนุช จอมพุก. 2559. เทคนิคการเหนี่ยวนำให้กลายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อร่วมกับการฉายรังสี. หน้า 46-52. ในเอกสารประกอบการฝึกอบรมการถ่ายทอดเทคโนโลยีการปรับปรุงพันธุ์ไม้ดอกไม้ประดับโดยการฉายรังสีแกมมาสู่เกษตรกร. ศูนย์วิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพโมเลกุลและชีวสารสนเทศ. การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และการฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อ. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

วัฒนาลัย ปานบ้านเกร็ด และ สรวง อุดมวรภัณฑ์. 2536. วิธีการฉายรังสีส่วนของเมล็ด. หนังสือคู่มือปฏิบัติการวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพ. 5(37-41). คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

พีรนุช จอมพุก. 2560. ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อร่วมกับการฉายรังสี. หน้า 67-69. ในหนังสือฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการการใช้เทคนิคการกลายพันธุ์เพื่อสร้างความหลากหลายทางพันธุกรรมและการปรับปรุงพันธุ์พืชรุ่นที่ 9. ศูนย์วิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิชัย ภูริปัญญวานิช และ วไลลักษณ์ แพทย์วิบูลย์. การปรับปรุงพันธุ์พืชด้วยรังสี (Plant Mutation Breeding). หน้า 1-12. กรุงเทพฯ.

คณะผู้จัดทำ

ลำดับ	ชื่อ-นามสกุล	ตำแหน่ง	หน่วยงาน
1.	นายวิชัย ภูริปัญญวานิช	ผู้เชี่ยวชาญวิทยาศาสตร์นิวเคลียร์	สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ
2.	ดร.ละมัย ใหม่แก้ว	นักวิทยาศาสตร์นิวเคลียร์ชำนาญการ	สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ
3.	นางสาววรารัตน์ คำหวาน	นักวิทยาศาสตร์นิวเคลียร์	สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ
4.	นางสาวปิยนุช อ้อพงษ์	นักวิทยาศาสตร์นิวเคลียร์	สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ
5.	นางสาวสมใจ งามจบ	ผู้ช่วยวิจัย	สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ
6.	นางสาวชลธาร ชูวงษ์	ผู้ช่วยวิจัย	สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ
7.	นางสาวรวิพร ขำสวัสดิ์	ผู้ช่วยวิจัย	สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ
8.	นางสาวรวิภา ขำสวัสดิ์	ผู้ช่วยวิจัย	สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ
9.	นางสาวฉัตรสุดา คงเพ็ง	ผู้ช่วยวิจัย	สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ
10.	นางสาววีรรัศมิ์ ดำสีนิล	ผู้ช่วยวิจัย	สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ
11.	นายจักรกฤษ กลั่นมาก	ผู้ช่วยวิจัย	สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ

ติดต่อ: ฝ่ายเทคโนโลยีเกษตรและอาหาร ศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีนิวเคลียร์

โทรศัพท์: 02-401-9889

Email: tintrd.mgmt@gmail.com

เอกสารใช้ประกอบการอบรมเท่านั้น (ไม่อนุญาติให้ดัดแปลงแก้ไข หรือจำหน่าย)