

6. การย้ายต้นอ่อนกาแฟจากสภาพปลอดเชื้อสู่สภาพโรงเรือน



อัตราวัสดุเพาะชำ (พีทมอส) ลงในตะกร้าพลาสติกให้แน่น นำเอ็มบริโอมาจุ่มในสารละลายกันราก่อนย้ายลงปลูกนำไปเก็บในโรงเรือนที่ควบคุมอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ ไม่ต่ำกว่า 80 %



ต้นกล้ากาแฟเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

7. การพัฒนาต้นอ่อนให้เจริญเป็นต้นกล้า

เตรียมวัสดุปลูกโดยผสม

ดินแดง : ขุยมะพร้าว :

ปุ๋ยคอก : ปุ๋ยหมัก ในอัตรา

ส่วน 5 : 4 : 3 : 1 ลงใน

ถุงเพาะกล้า นำต้นอ่อนที่มี

ใบจริงย้ายลงปลูกในถุง

พลาสติก เลี้ยงในโรงเรือน

อนุบาลที่มีการให้ความชื้นที่เหมาะสมเป็นเวลา 5-6 เดือน

ต้นอ่อนจะเจริญแข็งแรงเป็นต้นกล้าที่พร้อมจะนำไปปลูก

ในแปลงได้



แปลงกาแฟจากต้นกาแฟเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เรียบเรียง : อรทัย ธนัญชัย, พันธทิพย์ มีสกลิตย
ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร อ.สว. จ.ชุมพร
โทรศัพท์ 077-556191 โทรสาร 077-556026
E-mail : chump1@doa.in.th

DOA
TOGETHER

Hearing for Changing, Acting for Moving forward

การผลิตต้นกล้ากาแฟพันธุ์ดี

จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
โดยวิธี Somatic Embryogenesis



ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร
สถาบันวิจัยพืชสวน

กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์



กาแฟโรบัสตา เป็นพืชผสมข้าม (cross - pollination)

การขยายพันธุ์ต้นกล้าจากการเพาะเมล็ดจะมีความแปรปรวนในด้านผลผลิตและคุณภาพ หากต้องการให้ได้ต้นกล้าที่ตรงตามแม่พันธุ์เดิม จะใช้วิธีการปักชำหรือเสียบยอด แต่มีข้อจำกัดที่ต้องสร้างแปลงแม่พันธุ์จำนวนมาก เพื่อให้ได้กิ่งพันธุ์ในปริมาณที่มาก

ดังนั้นหากต้องการผลิตพันธุ์ในเชิงปริมาณและให้ได้คุณภาพตามต้นแม่พันธุ์ที่ตัดไว้ วิธีการขยายพันธุ์แบบ Somatic embryogenesis จึงเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพและมีความเหมาะสมวิธีการหนึ่ง

Somatic embryogenesis เป็นกระบวนการขยายพันธุ์ที่ได้จากการพัฒนาการเจริญของเนื้อเยื่อจากเซลล์ร่างกาย (somatic cell) ไปเป็นต้นอ่อนโดยไม่มีเซลล์พันธุ์กรรมมาเกี่ยวข้อง เพื่อให้ได้ต้นอ่อนที่ไม่มีความแปรปรวนทางพันธุกรรม การขยายพันธุ์ด้วยวิธีการนี้เป็นเทคนิคที่พัฒนาขึ้นเพื่อใช้ในการขยายพันธุ์พืชที่ต้องการในเชิงอุตสาหกรรม สามารถเพิ่มปริมาณการขยายพันธุ์ได้ทั้งในเชิงปริมาณและคุณภาพในเวลาจำกัดโดยไม่เกิดการกลายพันธุ์



ขั้นตอนการขยายพันธุ์ด้วยเทคนิค Somatic embryogenesis



1. **คัดเลือกใบเพสลาดกาแฟพันธุ์ดี** มาทำความสะอาดด้วยน้ำสบู่ และล้างด้วยน้ำไหลให้สะอาด ฟอกฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 70 % 30 วินาที จากนั้นนำใบแช่ในสารละลายแคลเซียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 40 % 30 นาที และล้างในน้ำกลั่น 3 ครั้ง นำใบกาแฟมาตัดแต่งและวางชิ้นส่วนบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ นำไปเก็บในที่มืด

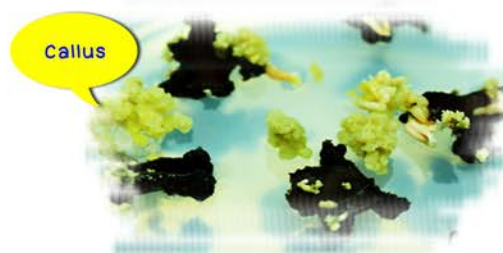


ตัดเพื่อเชื้อใบ
ขนาด 3x3 มิลลิเมตร



explant บัพจากเต้าน้ำเชื้อเชื้อ อาหาร 23A
เก็บในที่มืด เปลี่ยนอาหารทุก 2 เดือน

2. **การชักนำให้เกิด embryogenic callus** ช่วงที่เก็บในที่มืด เปลี่ยนอาหารทุก 2 เดือน ใบจะเริ่มสร้างแคลลัสหลังจากเริ่มเลี้ยงประมาณ 6-8 เดือน การคงสภาพของ embryogenic callus ไม่ควรเกิน 18 เดือน เพื่อเก็บไว้ใช้ในการผลิต torpedo embryo



3. **การเพิ่มปริมาณ embryogenic callus** ในอาหารเหลว

เลือกแคลลัสประมาณ 0.05-0.2 กรัม

ใส่ลงในขวดรูปชมพู่

ขนาด 250 มล.

วางบนเครื่องเขย่า

เป็นเวลา 3 สัปดาห์



4. **การชักนำให้เกิด torpedo embryo** ในอาหารเหลว

นำแคลลัสที่เลี้ยงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มล. มาถ่ายลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 1,000 มล. ที่เตรียมอาหารเหลวไว้ 500 มล. วางบนเครื่องเขย่า เพื่อให้ได้รับออกซิเจนตลอดเวลา เปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 10-12 สัปดาห์ จน torpedo embryo พร้อมที่จะเก็บเกี่ยว



5. **การชักนำ torpedo embryo ให้เป็นต้นอ่อน**

นำ torpedo embryo มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งเป็นเวลา 4-6 เดือน จะได้ต้นอ่อนที่มีใบจริง 1-2 คู่ใบ ก็จะสามารถนำต้นอ่อนไปเลี้ยงต่อได้

