# คู่มือการปฏิบัติงาน

## การเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อเพื่อรองรับการเรียนการสอน ประจำห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

**นางราตรี นิตยเดชพัฒน์**

นักวิทยาศาสตร์ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

มกราคม 2567

# คู่มือการปฏิบัติงาน

## การเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อเพื่อรองรับการเรียนการสอน ประจำห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

**นางราตรี นิตยเดชพัฒน์**

นักวิทยาศาสตร์ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

มกราคม 2567

# คำนำ

คู่มือการปฏิบัติงาน เรื่อง การเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อเพื่อรองรับการเรียนการสอนประจำห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ฉบับนี้ เรียบเรียงขึ้นจากเทคนิคการปฏิบัติงานจริงในห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช เพื่อเป็นข้อมูลให้นักวิทยาศาสตร์ใช้เป็นคู่มือการปฏิบัติงานในการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อเพื่อรองรับการเรียนการสอนและการใช้ประโยชน์อื่น ๆ เช่น การอบรม การผลิตต้นพันธุ์พืชเพื่อบริการเกษตรกร เป็นต้น เป็นข้อมูลในเชิงเทคนิคปฏิบัติ ซึ่งผู้เขียนตั้งใจให้เป็นคู่มือที่สามารถนำข้อมูลไปใช้ประโยชน์ได้อย่างเต็มที่ ลดขั้นตอนการทำงาน ป้องกันการสิ้นเปลืองสารเคมี เวลา และลดขั้นตอนการทำงานในกรณีที่เกิดการปนเปื้อน เป็นการเตรียมความพร้อมในการให้บริการห้องปฏิบัติการอย่างมีคุณภาพ

ผู้เขียนหวังว่าคู่มือเล่มนี้จะเป็นประโยชน์ในการเตรียมตัวอย่างพืชเพื่อบริการการเรียนการสอนให้กับนักศึกษา เปิดโอกาสให้นักศึกษาได้เรียนรู้ในปฏิบัติการทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพพืชอย่างครบถ้วนทุกขั้นตอน นักวิทยาศาสตร์สามารถเตรียมตัวอย่างพืชเพื่อให้นักศึกษาได้เรียนรู้และทำความเข้าใจขั้นตอนการปฏิบัติงาน ตลอดจนได้มีโอกาสในการฝึกฝนทักษะเทคนิคการทำงานทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพพืชด้วยการลงมือปฏิบัติจริง ครบถ้วนทุกขั้นตอนในระยะเวลา 1 ภาคการศึกษา

ราตรี นิตยเดชพัฒน์
นักวิทยาศาสตร์
มกราคม 2567

# กิตติกรรมประกาศ

คู่มือการปฏิบัติงาน เรื่องการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อเพื่อรองรับการเรียนการสอนประจำห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงลงได้ เนื่องจากความกรุณาของผู้อำนวยการศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ทุกท่านตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน ที่ให้การสนับสนุนการทำงานในห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช รองศาสตราจารย์ ดร.ฉัตรชัย กัลยาณปพน ที่อนุมัติให้เริ่มดำเนินโครงการเพื่อขอสนับสนุนงบประมาณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุญส่ง หวังสินทวีกุล ที่ให้คำปรึกษาเรื่องการทำโรงเรือนออกปลูกต้นไม้ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภูวดล บางรักษ์ ที่เปิดโอกาสในการทำงานทดลองและสนับสนุนการดำเนินโครงการวิจัยและบริการวิชาการ ขอขอบคุณรองศาสตราจารย์ ดร.พจมาลย์ สุรนิลพงศ์ ที่เปิดโอกาสให้ร่วมโครงการวิจัยและสนับสนุนในการเขียนเอกสารงานวิจัยเพื่อเผยแพร่ ขอขอบคุณนายมีชัย ส่งแสง พนักงานห้องทดลองที่คอยช่วยเหลือการทำงานในห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืชและงานอื่น ๆ อย่างตั้งใจยิ่ง ขอบคุณนายชุมพล คงนคร นักวิทยาศาสตร์สาขาชีววิทยาที่ให้ความรู้และตัวอย่างในการเขียนคู่มือ ขอบคุณครอบครัวและเพื่อนร่วมงานทุก ๆ ท่านที่เป็นกำลังใจให้พยายามเขียนจนสำเร็จ

ขอขอบคุณงบประมาณจากโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ (อพ.สธ.) ที่ได้อนุมัติโครงการทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพพืชตั้งแต่ปีงบประมาณ พ.ศ. 2561–2566 ซึ่งทำให้ห้องปฏิบัติการมีความพร้อมในด้านวัสดุ อุปกรณ์ และแรงงานในการดำเนินกิจกรรมการผลิตพืชด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออย่างต่อเนื่อง

คุณค่าและประโยชน์ใดที่ผู้อ่านได้รับจากการเรียบเรียงคู่มือครั้งนี้ รวมทั้งความรู้และประโยชน์ที่ผู้เข้ารับบริการห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืชได้รับ ผู้เขียนขอมอบแด่พ่อ แม่ ครู อาจารย์ทุกท่าน โดยเฉพาะ ศาสตราจารย์ ดร.สมปอง เตชะโต ที่ได้มอบความรู้และเทคนิคการทำงานทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพพืชตลอดจนคอยให้การช่วยเหลือและให้คำปรึกษาด้วยดีเสมอมา ผู้เขียนขอน้อมกราบในความปรารถนาดีด้วยความขอบคุณยิ่ง

ราตรี นิตยเดชพัฒน์

# สารบัญ

**หน้า**

**คำนำ** ---- ก
**กิตติกรรมประกาศ** ---- ข
**สารบัญ** ---- ค
**สารบัญภาพ** ---- จ
**สารบัญตาราง** ---- ฉ
**สารบัญภาคผนวก** ---- ช
**บทที่ 1 บทนำ** ---- 1
1.1 ความสำคัญ/ความจำเป็น (ภูมิหลัง) ---- 1
1.2 วัตถุประสงค์ของคู่มือ ---- 3
1.3 ประโยชน์ของคู่มือ ---- 3
1.4 ขอบเขตของคู่มือ ---- 3
1.5 คำนิยาม/คำจำกัดความ ---- 4
**บทที่ 2 หน้าที่ความรับผิดชอบและโครงสร้างการบริหารจัดการ** ---- 6
2.1 หน้าที่ความรับบผิดชอบ ---- 6
2.1.1 บทบาทหน้าที่ความรับผิดชอบของตำแหน่ง ---- 8
2.1.2 ลักษณะงานที่ปฏิบัติ ---- 11
2.2 โครงสร้างการบริหารจัดการ ---- 13
2.2.1 โครงสร้างองค์กร (Organization Chart) ---- 14
2.2.2 โครงสร้างการบริหาร (Administration Chart) ---- 15
2.2.3 โครงสร้างการปฏิบัติการ (Activity Chart) ---- 16
**บทที่ 3 หลักเกณฑ์ วิธีการปฏิบัติงานและเงื่อนไข** ---- 23
3.1 หลักเกณฑ์การปฏิบัติงาน ---- 23
3.2 วิธีการปฏิบัติงาน ---- 24
3.2.1 การคัดเลือกและการเตรียมต้นพืชก่อนนำมาฟอกฆ่าเชื้อ ---- 25
3.2.2 การฟอกฆ่าเชื้อเพื่อเตรียมพืชปลอดเชื้อ (clean culture) ในหลอดทดลอง- 25
3.2.3 การวางเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตรที่เหมาะสม ---- 25

3.2.4 การเพิ่มปริมาณยอดรวม (multiple shoots) ---------- 25
3.2.5 การชักนำราก (rooting) ---------- 26
3.2.6 การออกปลูก (hardening) ในสภาพแปลงปลูก ---------- 26
3.3 เงื่อนไข/ข้อสังเกต/ข้อควรระวัง/สิ่งที่ควรคำนึงในการปฏิบัติงาน ---------- 27
3.4 แนวคิด/งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง---------- 30
**บทที่ 4 เป้าหมายและเทคนิคในการปฏิบัติงานแบบมุ่งผลสัมฤทธิ์** ---------- 45
4.1 เป้าหมายในการปฏิบัติงาน (ตัวชี้วัดในการปฏิบัติงาน) ---------- 45
4.2 เทคนิคในการวางแผน/แผนกลยุทธ์ในการปฏิบัติงาน---------- 49
4.3 เทคนิคในการปฏิบัติงานแต่ละขั้นตอนการปฏิบัติงาน ---------- 53
4.3.1 รายละเอียดของการปฏิบัติงานแต่ละขั้นตอน ---------- 56
4.3.2 เทคนิคในการปฏิบัติงาน ---------- 62
4.4 เทคนิคการติดตามและประเมินผลการปฏิบัติงาน---------- 63
4.5 เทคนิคการทำให้ผู้รับบริการพึงพอใจ ---------- 65
4.5.1 เทคนิคการให้บริการที่ดี---------- 65
4.5.2 เทคนิคการเพิ่มประสิทธิภาพในการทำงาน ---------- 68
4.6 จรรยาบรรณ/คุณธรรม/จริยธรรมในการปฏิบัติงาน ---------- 70
**บทที่ 5 ปัญหา อุปสรรค แนวทางแก้ไข การพัฒนาและข้อเสนอแนะ**---------- 74
5.1 ปัญหาอุปสรรคในการปฏิบัติงาน แนวทางแก้ไขและพัฒนา ---------- 74
5.1.1 ปัญหาด้านบุคลากร---------- 74
5.1.2 ปัญหาด้านสถานที่และการจัดการ ---------- 75
5.1.3. ปัญหาการดำเนินการต่อเนื่องหลังเสร็จสิ้นปฏิบัติการ ---------- 76
5.2 ข้อเสนอแนะ---------- 77
**บรรณานุกรม** ---------- 79
**ภาคผนวก** ---------- 84
**ประวัติผู้เขียน** ----------117

# สารบัญภาพ

**หน้า**

**ภาพที่ 2.1** โครงสร้างองค์กร (Organization Chart)----------14
**ภาพที่ 2.2** โครงสร้างการบริหาร (Administration Chart)----------15
**ภาพที่ 2.3** โครงสร้างการบริหาร (Activity Chart) ----------19
**ภาพที่ 2.4** โครงสร้างการปฏิบัติงาน (Activity Chart) งานห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการเกษตร -------21
**ภาพที่ 3.1** ขั้นตอนและการพัฒนาของเนื้อเยื่อในกระบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช----------31
**ภาพที่ 4.1** ลักษณะของห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ ----------53

# สารบัญตาราง

**หน้า**

**ตารางที่ 3.1** เงื่อนไข/ข้อสังเกต/ข้อควรระวัง/สิ่งที่ควรคำนึงในการปฏิบัติงานแต่ละขั้นตอน ----------28
**ตารางที่ 3.2** ประสิทธิภาพของสารเคมีแต่ละชนิดในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช ----------33
**ตารางที่ 3.3** สารเคมีที่ใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสูตรต่าง ๆ ----------35
**ตารางที่ 3.4** แสดงชนิดตัวทำละลายและการเก็บรักษาสารควบคุมการเจริญเติบโต ----------39
**ตารางที่ 3.5** ตัวอย่างสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่นิยมใช้กันทั่วไปและชนิดพืชที่เหมาะสม -----41
**ตารางที่ 4.1** แผนปฏิบัติงานตามขั้นตอนการทำงานการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อ ----------50
**ตารางที่ 4.2** สัญลักษณ์การเขียนผังงานโดยสถาบันแห่งชาติอเมริกัน----------54
**ตารางที่ 4.3** ขั้นตอนและระยะเวลาในการปฏิบัติงานการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อ ----------55
**ตารางที่ 4.4** การแบ่งสารเคมีในการเตรียมสารละลายเข้มข้นของอาหารสูตร MS----------59
**ตารางที่ 4.5** เทคนิคการติดตามและประเมินผลการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อเพื่อรองรับ
การเรียนการสอน ----------64

# สารบัญภาคผนวก

**หน้า**

**ภาคผนวกที่ 1** แบบฟอร์มรายงานการเตรียมความพร้อมการเปิดให้บริการรายวิชาปฏิบัติการ-------84

**ภาคผนวกที่ 2** แบบฟอร์มสรุปผลการประเมินความพึงพอใจในการใช้ห้องปฏิบัติการ ----------85

**ภาคผนวกที่ 3** แบบฟอร์มสรุปต้นทุนการให้บริการแต่ละรายวิชา----------86

**ภาคผนวกที่ 4** ระเบียบการใช้บริการห้องปฏิบัติการ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี-----87

**ภาคผนวกที่ 5** สารเคมีที่เป็นส่วนประกอบของสูตรอาหารพื้นฐานในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช-------88

**ภาคผนวกที่ 6** ปริมาณสารเคมีที่ใช้ในส่วนประกอบของอาหารสูตร MS ----------89

**ภาคผนวกที่ 7** ตัวอย่างสูตรอาหารที่มีการดัดแปลงสูตร ----------90

**ภาคผนวกที่ 8** การเตรียมสารควบคุมการเจริญเติบโตและความเข้มข้นที่ใช้ทั่วไป----------91

**ภาคผนวกที่ 9** รายละเอียดขั้นตอนการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ----------92

**ภาคผนวกที่ 10** ตัวอย่างการเตรียมพืชปลอดเชื้อในห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช----------93

**ภาคผนวกที่ 11** ข้อบังคับมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ว่าด้วยประมวลจริยธรรมและธรรมาภิบาล นายกสภามหาวิทยาลัย กรรมการสภามหาวิทยาลัย ผู้บริหาร บุคลากร ผู้เรียน ของมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ พ.ศ.2567 ----------108

# บทที่ 1

# บทนำ

การทำงานในห้องปฏิบัติการให้มีประสิทธิผลสูงสุด นักวิทยาศาสตร์ควรมีเป้าหมายและการทำงานในทิศทางเดียวกัน ซึ่งในบทนี้จะกล่าวถึงความสำคัญ/ความจำเป็น วัตถุประสงค์ของคู่มือ ประโยชน์ของคู่มือ ขอบเขต และคำนิยาม/คำจำกัดความต่าง ๆ เพื่อให้นักวิทยาศาสตร์สามารถทำงานภายใต้เป้าหมายเดียวกันคือ นักศึกษามีตัวอย่างที่พร้อมใช้เพื่อรองรับการเรียนการสอน มีการใช้งานห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืชอย่างเต็มศักยภาพ

## 1.1 ความสำคัญ/ความจำเป็น (ภูมิหลัง)

ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ เป็นหน่วยงานในมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ ที่มีภารกิจหลักในการให้บริการห้องปฏิบัติการ ห้องปฏิบัติการที่ให้บริการในศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมี 2 แบบ คือ 1) แบบห้องปฏิบัติการพื้นฐาน เช่น ห้องปฏิบัติการเคมี ห้องปฏิบัติการชีววิทยา เป็นต้น ซึ่งห้องปฏิบัติการพื้นฐานนี้สามารถปรับเปลี่ยนครุภัณฑ์และวัสดุโดยการเคลื่อนย้ายและจัดเตรียมเพื่อให้บริการตามรายละเอียดของแต่ละบทปฏิบัติการ และเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการสามารถหมุนเวียนกันปฏิบัติงานได้ การเตรียมปฏิบัติการเป็นการเตรียมแต่ละบทเป็นการเตรียมแล้วเรียนจบในเวลา 1 คาบ เมื่อเรียนเสร็จนักวิทยาศาสตร์สามารถจัดเก็บวัสดุอุปกรณ์ สารเคมีเข้าที่ได้ เพื่อให้สามารถใช้ห้องปฏิบัติการสำหรับรองรับการให้บริการรายวิชาปฏิบัติการหรือบทปฏิบัติการอื่นต่อไป 2) ห้องปฏิบัติการเฉพาะทาง เป็นห้องปฏิบัติการที่มีการติดตั้งเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ไม่สามารถเคลื่อนย้ายได้ เช่น โรงงานยา ห้องปฏิบัติการแปรรูปนมห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน เป็นต้น ซึ่งในการให้บริการห้องปฏิบัติการเฉพาะทางจะเป็นการทำปฏิบัติการต่อเนื่องจนกระทั่งจบกระบวนการและจะต้องมีเจ้าหน้าที่หรือนักวิทยาศาสตร์ประจำห้องปฏิบัติการหรือเครื่องมือนั้น ๆ

ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ เป็นห้องปฏิบัติการเฉพาะทางที่เปิดให้บริการการเรียนการสอนทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพพืช รองรับการเรียนการสอนหลักสูตรเกษตรศาสตร์และนวัตกรรม สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรมอาหาร และรองรับรายวิชาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสมุนไพร สำนักวิชาเภสัชศาสตร์ ซึ่งนักวิทยาศาสตร์จะต้องมีการจัดเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อประจำห้องปฏิบัติการ เพื่อให้นักศึกษาได้ศึกษาขั้นตอนต่าง ๆ ตามระยะการพัฒนาของเนื้อเยื่อพืช โดยปกติเนื้อเยื่อพืชจะพัฒนาเป็นระยะ

ต่าง ๆ จนเป็นต้นสมบูรณ์จะต้องใช้เวลา 1-3 ปี เช่น การเพาะเนื้อเยื่อบอนสีใช้เวลา 300-450 วัน เพื่อให้เนื้อเยื่อมีการพัฒนาตั้งแต่เริ่มเพาะเลี้ยงจนออกปลูกเป็นต้นสมบูรณ์ (Cao, et al., 2016) ในขณะที่การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชตระกูลปาล์มใช้เวลาไม่น้อยกว่า 3 ปี (Solangi, et al., 2022) ดังนั้นหากนักวิทยาศาสตร์ไม่มีความรู้หรือประสบการณ์เกี่ยวกับเทคนิคการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อ อาจจะทำให้การให้บริการการเรียนการสอนทำได้ไม่ครบตามระยะพัฒนาการของเนื้อเยื่อพืช หรือทำได้ไม่ทันระยะเวลาการให้บริการ 1 ภาคการศึกษา ทำให้นักศึกษาไม่สามารถทำปฏิบัติการได้ครบตามขั้นตอนที่นักศึกษาต้องเรียนรู้ ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อการให้บริการการเรียนการสอน และส่งผลต่อคุณภาพการให้บริการตามมาตรฐานตัวชี้วัด คือ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีต้องสามารถให้บริการการเรียนการสอนได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ทุกรายวิชาและทุกบทปฏิบัติการ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นวิธีการที่มีค่าใช้จ่ายสูง ทั้งในการลงทุนและการดูรักษาต่อเนื่อง การดำเนินการต้องการทรัพยากรและอุปกรณ์พิเศษ รวมถึงค่าใช้จ่ายในการบำรุงรักษา เช่น ห้องปฏิบัติการและอุปกรณ์ที่เฉพาะเจาะจง ห้องปฏิบัติการที่มีการควบคุมสภาพแวดล้อม ตู้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ อุปกรณ์ฆ่าเชื้อ และระบบกรองอากาศ การควบคุมเนื้อเยื่อพืชที่เพาะเลี้ยงต้องการเวลา และทรัพยากรในการบำรุงรักษาอย่างสม่ำเสมอ สารเคมีต่าง ๆ รวมถึงอาหารเพาะเลี้ยงที่มีส่วนผสมของฮอร์โมนพืช น้ำตาล วิตามิน และแร่ธาตุ มีราคาสูง บุคลากรที่ทำงานในห้องปฏิบัติการต้องผ่านการฝึกอบรมที่เฉพาะเจาะจง และมีความเชี่ยวชาญ (สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน), 2022 )

การเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อประจำห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพเพื่อใช้ในการเรียนการสอน นักวิทยาศาสตร์ต้องมีความรู้พื้นฐานในด้านเทคนิคปลอดเชื้อ การเตรียมสารเคมี วิธีการปรับปรุงพันธุ์พืชในสภาพปลอดเชื้อ การเลือกพืชที่มีความเหมาะสมในการเรียนรู้ เช่น ชนิดพืชที่สามารถสร้างแคลลัส (callus) ได้ง่าย หรือชักนำยอดรวม (multiple shoots) ได้รวดเร็ว ตลอดจนการเตรียมพืชที่มีศักยภาพในการพัฒนาต่อในเชิงการค้าหรือการใช้ประโยชน์ในงานวิจัย เช่น พืชที่มีการผลิตสารเพื่อใช้ประโยชน์ในทางยา เป็นต้น ผู้ปฏิบัติงานต้องผ่านการอบรมและฝึกฝน เนื่องจากการทำงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีการทำงานด้วยเทคนิคปลอดเชื้อและทำงานตามลำดับขั้นตอนตั้งแต่การฟอกฆ่าเชื้อ วิธีการตัดและวางเนื้อเยื่อพืช การเพิ่มปริมาณต้น การชักนำราก การฆ่าเชื้อเพื่อทำความสะอาดของเครื่องมือที่ใช้ การค้นคว้าวิจัยในการค้นหาเทคนิคและสูตรอาหารเพาะเลี้ยงพืชที่เหมาะสม รวมถึงการเลือกชนิดและปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม เพื่อให้ต้นพืชมีการเจริญเติบโตและพัฒนา และลดการเกิดลักษณะของต้นพืชที่แตกต่างไปจากเดิม (Somaclonal variation) (ธราธร ทีรฆฐิติ และคณะ, 22 ตุลาคม 2563)

คู่มือฉบับนี้เขียนขึ้นเพื่อให้นักวิทยาศาสตร์ ใช้เป็นคู่มือการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อเพื่อรองรับการเรียนการสอนประจำห้องปฏิบัติการ ในทุกรายวิชาปฏิบัติการมีบทปฏิบัติการเกี่ยวข้องกับ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เช่น วิชาเทคโนโลยีชีวภาพพืช วิชานวัตกรรมการปรับปรุงพันธุ์พืช วิชานวัตกรรมการขยายพันธุ์และเนื้อเยื่อพืช วิชาเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์ และในสาขาเภสัชศาสตร์ คือ วิชาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสมุนไพรเบื้องต้น รวมทั้งรายวิชาอื่น ๆ ที่มาใช้บริการ เช่น การฝึกงานทางด้านพืช วิชาปัญหาพิเศษ เป็นต้น

**1.2 วัตถุประสงค์ของคู่มือ**

1.2.1 เพื่อจัดทำคู่มือปฏิบัติงานการตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อเพื่อรองรับการเรียนการสอนประจำห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช

1.2.2 เพื่ออธิบายแนวทาง ขั้นตอนและวิธีการจัดเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อประจำห้องบริการเทคโนโลยีชีวภาพพืชมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

1.2.3. เพื่อให้นักวิทยาศาสตร์ผู้รับผิดชอบห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืชสามารถปฏิบัติงานได้เป็นมาตรฐานเดียวกัน

**1.3 ประโยชน์ของคู่มือ**

1.3.1 นักวิทยาศาสตร์ผู้รับผิดชอบห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช สามารถปฏิบัติงานในการจัดเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อประจำห้องปฏิบัติการได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น

1.3.2 นักวิทยาศาสตร์ผู้เข้ามาปฏิบัติงานใหม่หรือผู้ปฏิบัติงานแทน สามารถจัดเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อ ประจำห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืชได้ถูกต้อง เป็นแนวทางเดียวกัน

**1.4 ขอบเขตของคู่มือ**

คู่มือการปฏิบัติงานเล่มนี้เป็นคู่มือที่ใช้สำหรับนักวิทยาศาสตร์ผู้รับผิดชอบการเรียนการสอนรายวิชาปฏิบัติการที่เข้ามาใช้ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ เพื่อใช้เป็นคู่มือในการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อให้มีประจำห้องปฏิบัติการ โดยมีขอบเขตดังนี้

1.4.1 ขอบเขตด้านระเบียบ ข้อบังคับและประกาศที่เกี่ยวข้อง ดังนี้

1) ระเบียบการใช้บริการห้องปฏิบัติการ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี รวมถึงแบบฟอร์มที่สำคัญในการให้บริการการเรียนการสอนรายวิชาปฏิบัติการ คือ แบบฟอร์มรายงานการเตรียมความพร้อมการเปิดให้บริการรายวิชาปฏิบัติการ แบบฟอร์มสรุปผลการประเมินความพึงพอใจในการใช้ห้องปฏิบัติการ และแบบฟอร์มสรุปต้นทุนการให้บริการรายวิชา

2) ข้อบังคับมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ ว่าด้วยประมวลจริยธรรมและธรรมาภิบาลนายกสภามหาวิทยาลัย กรรมการสภามหาวิทยาลัย ผู้บริหาร บุคลากร ผู้เรียน ของมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ พ.ศ.2567

1.4.2 ขอบเขตด้านการปฏิบัติงาน 6 ขั้นตอน ได้แก่

1) การคัดเลือกพืชและการเตรียมต้นปลอดเชื้อก่อนนำมาฟอกฆ่าเชื้อ

2) การฟอกฆ่าเชื้อให้ได้พืชปลอดเชื้อ (clean culture)

3) การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (plant media) และการเตรียมสารควบคุมการเจริญเติบโต (plant growth regulator)

4) การเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตรที่เหมาะสมและการเพิ่มปริมาณยอดรวม (multiple shoots)

5) การชักนำราก (rooting) ให้ได้ต้นสมบูรณ์ก่อนออกปลูก (hardening) ในสภาพแปลงปลูก

6) การออกปลูกและการดูแลรักษา

1.4.3 ขอบเขตด้านหลักเกณฑ์การปฏิบัติงาน เป้าหมาย ตลอดถึงขั้นตอนและเทคนิควิธีการปฏิบัติงานโดยละเอียดจากประสบการณ์การเตรียมเพื่อเป็นพื้นฐานการทำงานในการเตรียมพืชปลอดเชื้อเพื่อรองรับการเรียนการสอนประจำห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช

**1.5 คำนิยาม/คำจำกัดความ**

| | | |
|---|---|---|
| พืชปลอดเชื้อ | หมายความว่า | พืชหรือเนื้อเยื่อที่ผ่านกระบวนการฟอกฆ่าเชื้อวางเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ในสภาพปลอดเชื้อในทุกระยะของการพัฒนา รวมทั้งต้นอ่อนขนาดเล็กที่ออกจากขวด |
| สารควบคุมการเจริญเติบโต | หมายความว่า | สารสังเคราะห์ในกลุ่มฮอร์โมนพืชที่ใช้เพื่อควบคุมหรือชักนำการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืช |
| นักวิทยาศาสตร์ | หมายความว่า | นักวิทยาศาสตร์ที่รับผิดชอบในการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อสำหรับให้บริการการเรียนการสอนของห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ |
| ห้องปฏิบัติการ | หมายความว่า | ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ |

| | | |
|---|---|---|
| เทคนิคปลอดเชื้อ | หมายความว่า | เทคนิคการทำงานในสภาพปลอดเชื้อ รวมทั้งกระบวนการเตรียมวัสดุอุปกรณ์ทั้งหมด |
| การฟอกฆ่าเชื้อ | หมายความว่า | การทำความสะอาดเนื้อเยื่อพืชด้วยการใช้สารเคมี เพื่อทำให้เนื้อเยื่อปราศจากเชื้อ |
| การชักนำยอด/ราก | หมายความว่า | การชักนำเนื้อเยื่อพืชที่วางเลี้ยงเพื่อให้มียอด/ราก พัฒนาขึ้น |
| การออกปลูก | หมายความว่า | การนำพืชในสภาพปลอดเชื้อออกมาปลูกในสภาพแปลงปลูก |
| อาหารสังเคราะห์ | หมายความว่า | อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ทราบองค์ประกอบทางเคมีแน่นอน ใช้เป็นตัวกลางในการวางเลี้ยงชิ้นส่วนพืชในสภาพปลอดเชื้อ |
| การปนเปื้อน | หมายความว่า | ชิ้นส่วนพืชปลอดเชื้อที่มีเชื้อราหรือแบคทีเรียเจริญเติบโต |

# บทที่ 2

# หน้าที่ความรับผิดชอบและโครงสร้างการบริหารจัดการ

ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี เป็นหน่วยงานหนึ่งของมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ ตามพระราชบัญญัติมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ พ.ศ. 2535 และมติสภามหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ครั้งที่ 1/2536 วันที่ 21 มิถุนายน พ.ศ. 2536 มีหน้าที่รับผิดชอบ วิสัยทัศน์ พันธกิจ ปรัชญา ปณิธานและโครงสร้างการบริหารงาน ดังนี้

## 2.1 หน้าที่ความรับผิดชอบ

ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ มีหน้าที่ให้บริการการใช้เครื่องมือ ครุภัณฑ์ อุปกรณ์ และทรัพยากรต่าง ๆ เพื่อสนับสนุนการเรียนการสอน การวิจัยแก่นักศึกษา และคณาจารย์ในทุกสาขาวิชาที่เกี่ยวข้อง รวมทั้งการให้บริการวิเคราะห์ทดสอบและบริการวิชาการแก่หน่วยงาน ทั้งภาครัฐและเอกชน ทั้งนี้เพื่อให้มีการใช้ประโยชน์จากเครื่องมือและทรัพยากรอย่างมีประสิทธิภาพสูง สอดคล้องกับนโยบายของมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ คือ “รวมบริการ ประสานภารกิจ” การดำเนินงานของศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเริ่มต้นในช่วง พ.ศ. 2538 ด้วยการเริ่มรับนักวิทยาศาสตร์เข้าปฏิบัติงาน และมีคณาจารย์ของมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ที่ดูแลและเป็นที่ปรึกษาหลักในการบริหารจัดการเกี่ยวกับการเตรียมความพร้อมด้านงบประมาณ เครื่องมือ รูปแบบและห้องปฏิบัติการ ได้แก่ นายแพทย์บัญชา พงษ์พานิช รองศาสตราจารย์ ดร.ชัยวิทย์ ศิลาวัชนาไนย และ ดร.โอภาส ตันติฐากูร ในช่วงต่อมา มีอาจารย์ไพบูลย์ นวลนิล ซึ่งเป็นผู้เชี่ยวชาญด้านเครื่องมือวิทยาศาสตร์จากมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ได้ให้ความช่วยเหลือและให้คำปรึกษาแนะนำ ในการจัดทำรายละเอียดเกี่ยวกับการจัดทำงบประมาณ การจัดการเกี่ยวกับห้องปฏิบัติการต่าง ๆ และการกำหนดลักษณะเฉพาะของครุภัณฑ์ โดยมีวิสัยทัศน์ พันธกิจ ปรัชญาและปณิธาน ดังนี้

**วิสัยทัศน์**

“ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี เป็นต้นแบบห้องปฏิบัติการแบบรวมบริการพร้อมด้วยมาตรฐานงานวิเคราะห์ บ่มเพาะความรู้สู่ชุมชน รับผิดชอบต่อสังคมและสิ่งแวดล้อม”

**พันธกิจ**

1. เป็นต้นแบบห้องปฏิบัติการและที่ทำงานปลอดภัยรับผิดชอบต่อสังคมและสิ่งแวดล้อม
2. ให้บริการการเรียนการสอนวิชาปฏิบัติการด้านวิทยาศาสตร์พื้นฐาน วิทยาศาสตร์สุขภาพ และวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

3. ให้บริการวิเคราะห์ทดสอบที่ได้มาตรฐานสากล ด้วยระบบห้องปฏิบัติการคุณภาพ

4. สนับสนุนงานวิจัยและการบริการวิชาการหน่วยงานต่าง ๆ ทั้งในและนอกมหาวิทยาลัย

**ปรัชญา**

“ห้องปฏิบัติการดี บุคลากรเด่น เน้นบริการเป็นเยี่ยม”

**ปณิธาน**

“บริการดี มีมาตรฐาน ด้วยงานคุณภาพ”

ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ มีการดำเนินงานตามภารกิจอย่างต่อเนื่อง โดยมีภารกิจหลักจำแนกตามกลุ่มงานที่รับผิดชอบดังนี้

1. การเรียนการสอน
    1) ให้บริการการเรียนการสอนวิชาปฏิบัติการซึ่งมีการขยายตัวอย่างต่อเนื่องที่เพียงพอและมีประสิทธิภาพ
    2) สนับสนุนการเรียนการสอนเพื่อผลิตบัณฑิตที่เป็นคนดีและคนเก่ง
2. งานวิจัย
    1) มีโครงสร้างพื้นฐาน เครื่องมือวิจัย และทรัพยากรสนับสนุนอื่น ๆ ที่เกื้อกูลต่องานวิจัยในทิศทางที่มหาวิทยาลัยกำหนดอย่างเพียงพอ
    2) ส่งเสริมให้บุคลากรของศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมีส่วนร่วมในงานวิจัยร่วมกับสำนักวิชา
3. งานบริการวิชาการ
    1) ให้บริการห้องปฏิบัติการแก่ท้องถิ่น เพื่อช่วยพัฒนาคุณภาพการศึกษาขั้นพื้นฐานแก่ชุมชน
    2) จัดอบรมเพื่อพัฒนาทักษะกระบวนการทางวิทยาศาสตร์ให้แก่ระดับประถมศึกษาและมัธยมศึกษา
    3) ให้บริการและคำปรึกษาในด้านห้องปฏิบัติการและทักษะทางวิทยาศาสตร์ แก่หน่วยงานต่าง ๆ ทั้งภายในและภายนอกมหาวิทยาลัย เพื่อแก้ปัญหาทางด้านเทคนิคและพัฒนาอาชีพแก่ชุมชน
4. งานบริการวิเคราะห์ทดสอบ
    1) มีเครื่องมือวิเคราะห์ทดสอบ เครื่องมือต้นแบบที่เหมาะสมในการสนองความต้องการของภาคเกษตรและอุตสาหกรรมและหน่วยงานของรัฐในพื้นที่ภาคใต้ตอนบน
    2) มีเครือข่ายของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ทดสอบภายในประเทศโดยเฉพาะอย่างยิ่งในภาคใต้ที่มีความเข้มแข็งพอที่จะให้บริการวิเคราะห์ ทดสอบในพื้นที่ได้

อย่างครบวงจร

3) มีมาตรฐานในการให้บริการวิเคราะห์ทดสอบในระดับชาติ

5. การพัฒนาและบำรุงรักษาเครื่องมือและอุปกรณ์

ผลิตเครื่องมือเพื่อทดแทนการนำเข้าและเพื่อส่งเสริมให้มีงานวิจัยที่ดี

นอกจากนี้ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยียังมีการบริหารจัดการลักษณะของ “การบริหารจัดการห้องปฏิบัติการระบบรวมบริการ” นักวิทยาศาสตร์ที่ทำงานต้องมีคุณลักษณะตามต้องการดังนี้ คือ เป็นบุคลากรที่มีความสามารถในหน้าที่รับผิดชอบ มีทักษะในการจัดการทรัพยากร การปฏิสัมพันธ์กับผู้ขอใช้บริการอย่างดี มีการพัฒนางานและขีดความสามารถของตนเองอย่างต่อเนื่อง เป็นบุคคลมีเอกภาพในการทำงาน มีวัฒนธรรมองค์กรที่ดี มีการพัฒนาระบบการทำงานและสารสนเทศที่มีคุณภาพต่อเนื่อง

**2.1.1 บทบาทหน้าที่ความรับผิดชอบของตำแหน่ง**

ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ สังกัดศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ มีภารกิจหลักคือการให้บริการการเรียนการสอนรายวิชาปฏิบัติการและงานอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเรียนการสอนหรือการเตรียมความพร้อมของห้องปฏิบัติการเพื่อรองรับการเรียนการสอน เช่น การจัดทำมาตรฐานครุภัณฑ์การศึกษา การบริการวิชาการ การให้บริการวิเคราะห์ทดสอบตัวอย่าง หรืองานอื่น ๆ ที่ได้รับมอบหมาย โดยมีรายละเอียด ดังนี้

1. ด้านการปฏิบัติการ

1) ปฏิบัติงานด้านการควบคุม และดูแลห้องปฏิบัติการเพื่อการเรียนการสอนของมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ ลักษณะงานที่ปฏิบัติ

1.1) ศึกษา วิเคราะห์ วางแผน และจัดระบบงานห้องปฏิบัติการเพื่อการเรียนการสอนของมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

1.2) ติดตามและประเมินผลการดำเนินงาน รวมทั้งรายงานผลการปฏิบัติงาน ปัญหาหรือวิธีการแก้ปัญหาเพื่อนำไปสู่การพัฒนาระบบงานของฝ่ายห้องปฏิบัติการ

1.3) ควบคุมและดูแลนักศึกษาขณะทำปฏิบัติการให้เป็นไปอย่างเรียบร้อยตามหลักความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ

1.4) เตรียมความพร้อมของห้องปฏิบัติการด้านต่าง ๆ ได้แก่ ครุภัณฑ์ วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี และตัวอย่างต่าง ๆ ตามรายละเอียดที่ปรากฏอยู่ในบทปฏิบัติการ

1.5) ทดสอบบทปฏิบัติการร่วมกับอาจารย์ผู้ประสานรายวิชาเพื่อให้ได้กระบวนการและข้อมูลที่เกี่ยวข้องก่อนนักศึกษาเรียนปฏิบัติการ

1.6) จัดเตรียมข้อมูลด้านการบริการห้องปฏิบัติการแก่นักศึกษา เช่น การจัดกลุ่มนักศึกษาในแต่ละห้องปฏิบัติการ การแจ้งตารางกำหนดการเรียนการสอน

และหลังการให้บริการ

1.7) ควบคุมและตรวจสอบความพร้อมของครุภัณฑ์ วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี

1.8) ดูแลความเรียบร้อยของระบบต่าง ๆ ของห้องปฏิบัติการ เช่น ระบบสาธารณูปโภค และสื่อโสตทัศนูปกรณ์ เป็นต้น

1.9) จัดทำขั้นตอนและวิธีการใช้งาน พร้อมทั้งวิธีการดูแลรักษาเบื้องต้นของเครื่องมือ วิทยาศาสตร์ และอุปกรณ์ต่างๆ

1.10) จัดทำสรุปผลการให้บริการรายวิชาปฏิบัติการ

1.11) ให้คำปรึกษาและคำแนะนำแก่พนักงานวิทยาศาสตร์ และพนักงานห้องทดลอง

1.12) ควบคุมดูแลและจัดแยกประเภทของเสียจากห้องปฏิบัติการตามแนวทางการดำเนินงานด้านความปลอดภัยของศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

2) งานมาตรฐานครุภัณฑ์การศึกษา วัสดุการศึกษา และงานปรับปรุงห้องปฏิบัติการ

2.1) รวบรวมเอกสารจากบริษัทต่างๆ และวิเคราะห์เปรียบเทียบข้อมูลเพื่อจัดทำคุณลักษณะเฉพาะของครุภัณฑ์การศึกษา วัสดุการศึกษา และปรับปรุงห้องปฏิบัติการ รวมทั้งเอกสารที่เกี่ยวข้องตามระเบียบพัสดุเพื่อประกอบการจัดซื้อ

2.2) เป็นคณะกรรมการจัดทำคุณลักษณะเฉพาะ ราคากลาง จัดซื้อ/จ้าง ควบคุมงาน หรือตรวจรับพัสดุ/ตรวจการจ้าง

2. ด้านการวางแผน

นักวิทยาศาสตร์มีหน้าที่วางแผนการทำงานที่รับผิดชอบ ร่วมวางแผนการทำงานของหน่วยงานหรือโครงการเพื่อให้การดำเนินงานบรรลุตามเป้าหมายและผลสัมฤทธิ์ที่กำหนด

3. ด้านการประสานงาน

1) ประสานการทำงานร่วมกันระหว่างทีมงานหรือหน่วยงานทั้งภายในและภายนอกเพื่อให้เกิดความร่วมมือและผลสัมฤทธิ์ตามที่กำหนดไว้ เช่น สอบถามความต้องการใช้และรายละเอียดของ ครุภัณฑ์การศึกษา วัสดุการศึกษา และงานปรับปรุงห้องปฏิบัติการจากอาจารย์ผู้รับผิดชอบรายวิชาปฏิบัติการ และสำนักวิชา เป็นต้น

2) ชี้แจงและให้รายละเอียดเกี่ยวกับข้อมูล ข้อเท็จจริง แก่บุคคลหรือหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง เพื่อสร้างความเข้าใจหรือความร่วมมือในการดำเนินงานตามที่ได้รับมอบหมาย

4. ด้านการบริการ

1) งานบริการวิชาการ

1.1) ศึกษาและวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อจัดทำคู่มือการอบรม/คู่มือปฏิบัติการ

1.2) เตรียมความพร้อมของห้องปฏิบัติการด้านต่าง ๆ ได้แก่ ครุภัณฑ์ วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมีและตัวอย่างต่าง ๆ ตามคู่มือปฏิบัติการ

1.3) ทำการทดลองเพื่อทดสอบบทปฏิบัติการ

1.4) จัดทำเอกสารประกอบการสอน (Power Point)

1.5) ดำเนินการจัดอบรม/สอนปฏิบัติการ

1.6) เตรียมแบบประเมินผลการเรียนรู้ และแบบประเมินความพึงพอใจ ดำเนินการประเมิน และสรุปผลการให้บริการ

2) งานให้บริการวิเคราะห์ทดสอบตัวอย่าง และ/หรือสอบเทียบ งานภาคสนาม

2.1) ให้บริการวิเคราะห์ทดสอบตัวอย่างแก่ผู้ขอใช้บริการอย่างเต็มความสามารถ

2.2) ศึกษาวิเคราะห์และประสานงาน เพื่อวางแผนการให้บริการ ตลอดจนการจัดเตรียมความพร้อมเครื่องมือ/วัสดุอุปกรณ์ (กรณีงานภาคสนาม)

2.3) รวบรวมและวิเคราะห์ข้อมูลผลการทดสอบ ตรวจสอบผลการทดสอบ และจัดทำรายงานผลการทดสอบ หรือรายงานผลการทดสอบฉบับสมบูรณ์ พร้อมข้อเสนอแนะและผลการตรวจวัด ทดสอบ (validation) วิธีการทดสอบ (ถ้ามี)

2.4) ให้คำปรึกษาแนะนำแก่ผู้ขอใช้บริการ

3) งานพัฒนาเทคนิควิธีการวิเคราะห์ทดสอบ

3.1) ศึกษาและวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อจัดทำแผนพัฒนาเทคนิควิธีวิเคราะห์

3.2) จัดเตรียมเครื่องมือ วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี เพื่อรองรับการบริการวิเคราะห์

3.3) พัฒนาวิธีวิเคราะห์ทดสอบเชิงคุณภาพและปริมาณ

3.4) ทวนสอบ (Verification) และ/หรือ ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (Method

3.5) ศึกษาและวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อหาค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty) ของ

3.6) จัดท่าขั้นตอนการปฏิบัติงานวิธีการทดสอบ

3.7) จัดทำบันทึกคุณภาพที่เกี่ยวข้องในวิธีการทดสอบ ตลอดจนกระบวนการควบคุม คุณภาพภายในของวิธีการทดสอบ

4) งานระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการตามมาตรฐานสากล

4.1) บริหารจัดการด้านคุณภาพ/บริหารจัดการด้านวิชาการ

4.2) งานควบคุมเอกสาร

4.3) การทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการ

4.4) การฝึกอบรม/การฝึกอบรมในงาน (on the job training)

4.5) การตรวจประเมินจากภายนอก/ภายใน

4.6) การทบทวนการบริหารงานประจำปี

5. งานพัฒนาเครื่องมือ วัสดุและอุปกรณ์เพื่อการเรียนการสอน

5.2) ศึกษา หาข้อมูล และหลักการที่จะพัฒนา

5.2) จำลองต้นแบบเครื่องมือเพื่อทดสอบสมมติฐาน

5.3) สร้างเครื่องมือเพื่อการใช้งานจริง

5.4) งานวิจัย ผู้ร่วมวิจัย ผู้ช่วยวิจัย

5.5) งานบริการห้องปฏิบัติการ/ห้องวิจัย และเครื่องมือสำหรับงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกมหาวิทยาลัย รวมทั้งบัณฑิตศึกษา

6. ปฏิบัติหน้าที่อื่นตามที่ได้รับมอบหมาย

**2.1.2 ลักษณะงานที่ปฏิบัติ**

บทบาทหน้าที่ความรับผิดชอบของตำแหน่งตามที่กล่าวในข้อ 2.1.1 เป็นภารกิจพื้นฐานที่ทุกคนต้องปฏิบัติตามสามารถความเชี่ยวชาญหรือตามที่ได้รับมอบหมาย สำหรับในส่วนของนักวิทยาศาสตร์ที่รับผิดชอบห้องปฏิบัติการทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพพืช ยังมีภารกิจที่ต้องดำเนินการเฉพาะ มีรายละเอียดที่ต้องวางแผนเพื่อให้สามารถให้บริการการเรียนการสอนรายวิชาปฏิบัติการได้ครบถ้วนทุกบทปฏิบัติการ มีตัวอย่างพร้อมสำหรับรองรับการเรียนการสอน โดยมีรายวิชาในหลักสูตรเกษตรศาสตร์และนวัตกรรมที่ต้องรับผิดชอบ ดังนี้

1. ปฏิบัติการการผลิตพืชเบื้องต้น (Principles of Plant Production)
2. ปฏิบัติการนวัตกรรมการขยายพันธุ์พืชและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Inovation of Plant Propagation and Plant Tissue)
3. ปฏิบัติการนวัตกรรมการปรับปรุงพันธุ์พืช (Innovatiom of Plant Breeding)
4. ปฏิบัติการการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน (Soilless Culture)
5. ปัญหาพิเศษ (Special Problem)
6. ปฏิบัติการการชลประทานในพืช (Plant Irrigation)
7. ปฏิบัติการโรคพืชวิทยาทางการเกษตร(Agricultural Plant Pathology)
8. ปฏิบัติการนวัตกรรมการผลิตไม้ผล (Inovation of Fruit Crop Production)
9. ปฏิบัติการการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีเบื้องต้น (Fundamental of Biological Plant Pests)
10. ปฏิบัติการสรีรวิทยาการผลิตพืช (Physiology of Crop Production)

11. ปฏิบัติการกีฏวิทยาทางการเกษตร (Agricultural Entomology)
12. ปฏิบัติการนวัตกรรมการผลิตพืชเครื่องดื่มและสมุนไพร (Inovation of Beverage and Herb Crop)
13. ปฏิบัติการนวัตกรรมการผลิตพืชน้ำมัน (Inovation of Oil Crops)

การให้บริการการเรียนการสอนรายวิชาปฏิบัติการของศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีนั้น ส่วนใหญ่จะให้นักวิทยาศาสตร์ที่มีความรู้เฉพาะทางในสาขานั้น ๆ เป็นผู้รับผิดชอบรายวิชา เพื่อให้สามารถประสานรายละเอียดการทำการทดลองแต่ละบทปฏิบัติการกับอาจารย์ผู้สอนได้ดี นักวิทยาศาสตร์ต้องเตรียมและตรวจสอบความพร้อมของวัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี และครุภัณฑ์ที่ต้องใช้ในแต่ละบทปฏิบัติการ โดยสำนักวิชาที่เปิดสอนรายวิชาปฏิบัติการต้องแจ้งรายละเอียดบทปฏิบัติการล่วงหน้าอย่างน้อย 3 เดือนก่อนเปิดให้บริการ ในการปฏิบัติงาน นักวิทยาศาสตร์จำเป็นต้องมีความรู้พื้นฐานในรายละเอียดที่มีการทำการทดลองในบทปฏิบัติการรายวิชานั้น ๆ ทั้งนี้ หากต้องรับผิดชอบรายวิชาเฉพาะทางที่ใกล้เคียงสายงานแต่ไม่ได้สำเร็จการศึกษามาทางด้านนั้นโดยตรง นักวิทยาศาสตร์ต้องศึกษารายละเอียดเพิ่มเติมจากรายละเอียดปฏิบัติการ หรือประสานงานในรายละเอียดของการทำปฏิบัติการแต่ละบทกับอาจารย์ผู้สอน หากเป็นปฏิบัติการที่รับผิดชอบเป็นการเปิดให้บริการครั้งแรก นักวิทยาศาสตร์ต้องมีการประสานงานกับอาจารย์ผู้สอนและทดสอบปฏิบัติการ (Test Lab) เพื่อทดสอบรายละเอียดของบทปฏิบัติการแต่ละบทว่าให้ผลการทดลองเป็นจริงตามรายละเอียดเนื้อหาของบทปฏิบัติการหรือไม่ ต้องมีการปรับปรุงแก้ไขหรือเพิ่มเติมรายละเอียดส่วนไหนอย่างไร ทั้งนี้เพื่อให้สามารถให้บริการการเรียนการสอนปฏิบัติการบรรลุวัตถุประสงค์ตามบทปฏิบัติการนั้น ๆ ระหว่างที่มีการให้บริการการเรียนการสอนปฏิบัติการ นักวิทยาศาสตร์ต้องดูแลนักศึกษาในการทำการทดลอง ให้คำแนะนำรายละเอียดในการทดลอง พร้อมทั้งกำกับดูแลเรื่องเทคนิคการใช้เครื่องมือตามรายละเอียดในบทปฏิบัติการร่วมกับอาจารย์ผู้สอน หลังเสร็จสิ้นปฏิบัติการแต่ละบทนักวิทยาศาสตร์ต้องดูแลนักศึกษาให้จัดเก็บวัสดุอุปกรณ์และครุภัณฑ์ให้เข้าที่ หรือในกรณีต้องคืนวัสดุอุปกรณ์ ให้เช็ครายการส่งคืนให้เรียบร้อย ตรวจสอบอุปกรณ์ชำรุด สูญหาย (ถ้ามี) มีการสรุปผลประเมินและส่งรายงานค่าใช้จ่ายหลังสิ้นสุดปฏิบัติการ 2 สัปดาห์

นักวิทยาศาสตร์ที่รับผิดชอบการให้บริการห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช ควรมีความรู้พื้นฐานเรื่องเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เช่น เคยลงทะเบียนเรียนวิชาที่เกี่ยวข้องกับการขยายพันธุ์พืชในหลอดทดลองไม่น้อยกว่า 1 รายวิชา หรือสำเร็จการศึกษาทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพโดยตรง เป็นต้น อย่างไรก็ตาม ความรู้และเทคนิคการทำงานต่าง ๆ นักวิทยาศาสตร์สามารถค้นคว้าลงมือทำเพื่อทดลองได้ด้วยตนเอง เพื่อให้บริการตัวอย่างพืชให้มีจำนวนเพียงพอ มีความมุ่งมั่นที่จะให้นักศึกษาได้ฝึกทักษะด้วยการได้ลงมือทำจริง รวมทั้งการใช้ประโยชน์จากห้องปฏิบัติการให้เต็มที่เพื่อ

สร้างศักยภาพและเปิดโอกาสให้นักศึกษาได้เข้ามาเรียนรู้คือสิ่งสำคัญ นั่นคือต้องมีการพัฒนาตัวเองในเรื่องชนิดพืชที่เป็นความต้องการตลาดอยู่เสมอ เพื่อนำมาเป็นพืชตัวอย่างให้นักศึกษาได้เรียนรู้

การเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อประจำห้องปฏิบัติการเป็นปัจจัยสำคัญในการให้บริการ โดยทั่วไปห้องปฏิบัติการควรมีตัวอย่างพืชไม่น้อยกว่า 3 ชนิด และ 3 ระยะพัฒนาการ เพื่อเพิ่มโอกาสในการเรียนรู้ของนักศึกษา เพราะพืชแต่ละชนิดมีการตอบสนองต่อสารความคุมการเจริญเติบโตและสูตรอาหารแตกต่างกัน ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการทำการทดลองเนื่องจากนักศึกษาสามารถเรียนรู้ได้กว้างขึ้น ส่วนการเตรียมเนื้อเยื่อที่มี 3 ระยะพัฒนาการใช้เพื่อทดลองสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยปกติการพัฒนาของเนื้อเยื่อพืชจากเริ่มต้นจนถึงขั้นตอนการออกปลูก ใช้เวลาประมาณ 1 ปี หากนักวิทยาศาสตร์ไม่มีการเตรียมเนื้อเยื่อที่มีพัฒนาการระยะต่าง ๆ ไว้ นักศึกษาก็ไม่สามารถเรียนรู้เทคนิคปฏิบัติจนครบขั้นตอนในระยะเวลา 1 ภาคการศึกษา ทั้งนี้ในกรณีที่นักศึกษาต้องการใช้ตัวอย่างเพื่อทดลองควบคู่ไปกับการศึกษาเทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อจะไม่เสียวลาในการรอการเจริญเติบโตหรือพัฒนาการของตัวอย่างในระยะต่าง ๆ จากเนื้อเยื่อพืชที่นักศึกษานำมาฟอก ทำให้นักศึกษาสามารถทำการทดลองได้เสร็จสิ้นทุกกระบวนการตั้งแต่เทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อ การชักนำการสร้างแคลลัส การชักนำการสร้างยอดหรือกลุ่มตายอด การชักนำรากและการออกปลูก ได้ทันในการเรียนการสอนระยะเวลา 1 ภาคการศึกษา หรือไม่เกิน 3 เดือน

**2.2 โครงสร้างการบริหารจัดการ**

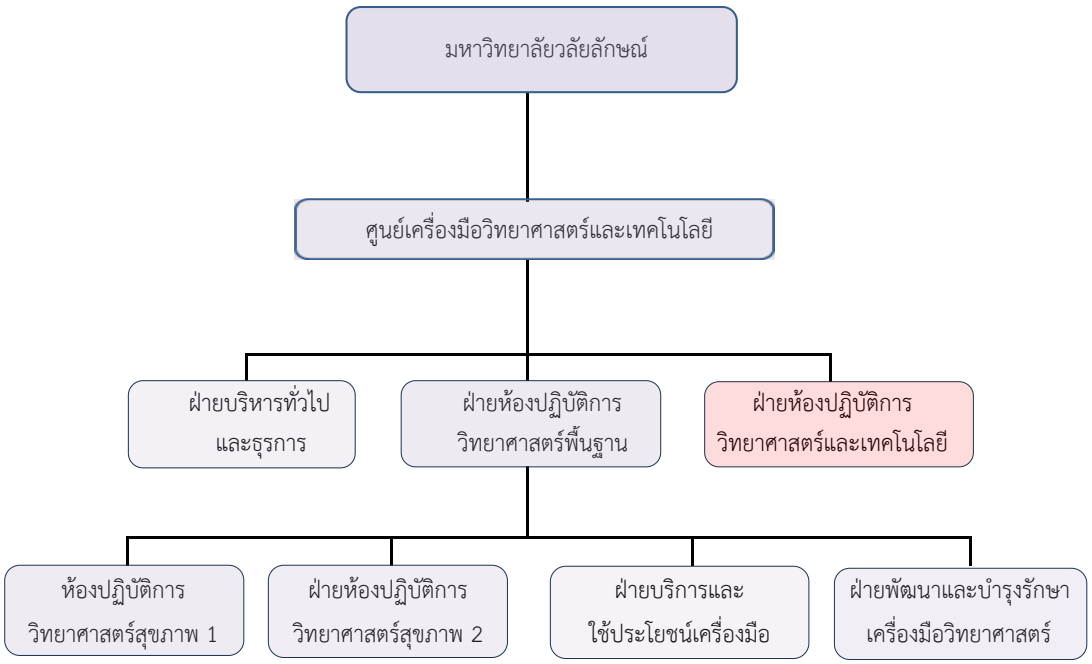
ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเป็นหน่วยงานสนับสนุนการเรียนการสอนหน่วยงานหนึ่งของมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ มีโครงสร้างการบริหารจัดการภายใต้กำกับของมหาวิทยาลัยโดยมีคณะกรรมการประจำศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีตาม ข้อบังคับมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ ว่าด้วยคณะกรรมการประจำสถาบันและศูนย์ พ.ศ. 2562 (19 สิงหาคม 2562) ประกอบด้วย

| | |
|---|---|
| 1. อธิการบดี | ประธาน |
| 2. รองอธิการบดีที่กำกับดูแล | รองประธาน |
| 3. รองอธิการบดีที่อธิการบดีมอบหมาย | กรรมการ |
| 4. ผู้ทรงคุณวุฒิจากภายนอกที่สภาวิชาการแต่งตั้ง (จำนวน 2 คน) | กรรมการ |
| 5. ผู้แทนสำนักวิชาและวิทยาลัย (จำนวน 4 คน) | กรรมการ |
| 6. ผู้อำนวยการศูนย์บริการการศึกษา | กรรมการ |
| 7. ผู้อำนวยการศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี | กรรมการและเลขานุการ |
| 8. รองผู้อำนวยการศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี | ผู้ช่วยเลขานุการ |

คณะกรรมการดังกล่าวมีหน้าที่กำหนดนโยบาย ทิศทาง และสนับสนุนการดำเนินกิจกรรมตามภารกิจของศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี นอกจากนี้ยังมีคณะกรรมการดำเนินงานจากฝ่ายต่าง ๆ ที่ได้รับการแต่งตั้งจากผู้อำนวยการ ทำหน้าที่ดำเนินการสนับสนุนภารกิจ เพื่อให้การบริหาร และการดำเนินงานในระดับศูนย์ และฝ่ายต่าง ๆ เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ ภายใต้นโยบายการบริหารจัดการห้องปฏิบัติการแบบรวมบริการ

**2.2.1 โครงสร้างองค์กร (Organization Chart)**

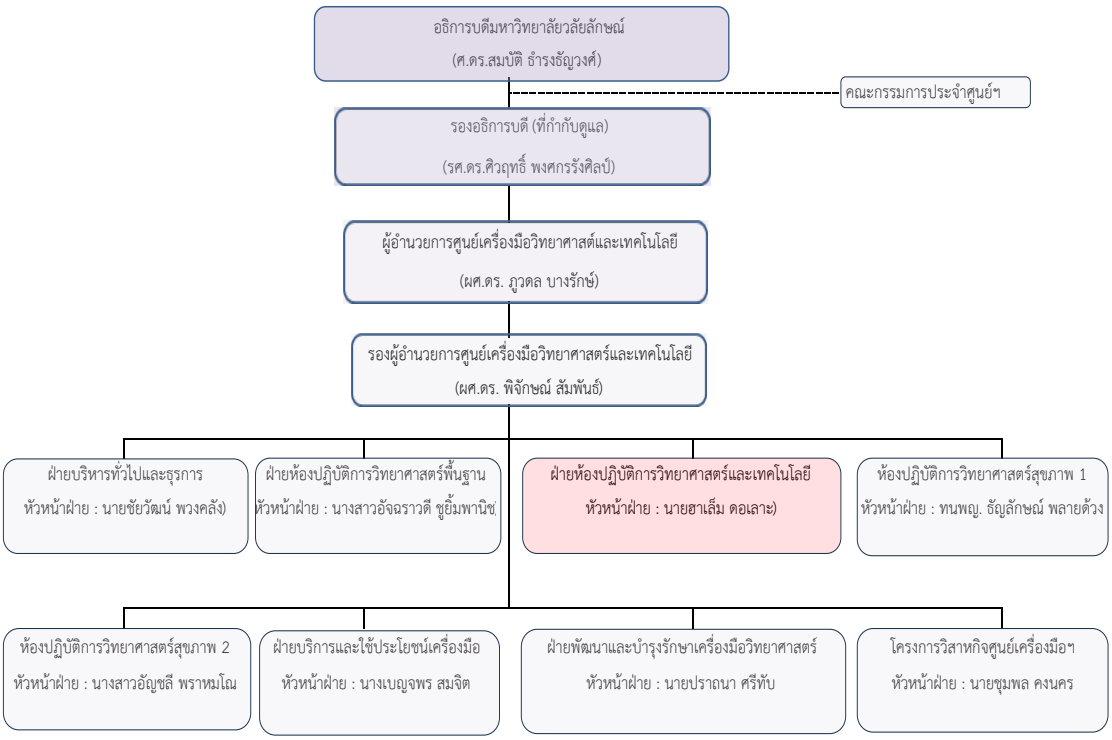
ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเป็นหน่วยงานสนับสนุนหน่วยงานหนึ่งของมหาวิทยาลัย มีการบริหารจัดการภายใต้การกำกับของอธิการบดี รองอธิการบดีที่กำกับดูแล ผู้อำนวยการและรองผู้อำนวยการศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ปัจจุบัน (พ.ศ. 2567) มีการแบ่งส่วนงานเป็น 7 ฝ่าย ตามประกาศมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ เรื่อง การแบ่งส่วนงานของสำนักงานอธิการบดี สำนักวิชา สถาบัน ศูนย์ หรือหน่วยงานที่เรียกชื่ออย่างอื่น พ.ศ. 2565 (25 กรกฎาคม, 2565) (ภาพที่ 2.1)




**ภาพที่ 2.1** โครงสร้างองค์กร (Organization Chart)
ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

### 2.2.2 โครงสร้างการบริหาร (Administration Chart)

ในการดำเนินการของศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มีผู้อำนวยการเป็นประธานบริหารของหน่วยงาน รองผู้อำนวยการเป็นรองประธาน นอกจากนี้ยังมีคณะกรรมการบริหารงานซึ่งประกอบด้วยหัวหน้าฝ่ายและตัวแทนฝ่ายต่าง ๆ ตามประกาศศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี เรื่อง แต่งตั้งคณะกรรมการบริหารศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ลงวันที่ 10 พฤศจิกายน 2566 มีรายละเอียด ดังนี้ (ภาพที่ 2.2)




**ภาพที่ 2.2** โครงสร้างการบริหาร (Administration Chart)
ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

โดยคณะกรรมการบริหารงานศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ตามประกาศประกอบ ด้วยผู้อำนวยการ รองผู้อำนวยการ หัวหน้าฝ่าย หัวหน้าโครงการและผู้แทนฝ่าย ดังนี้

1. ผู้อำนวยการศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ประธานกรรมการ
2. รองผู้อำนวยการศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี รองประธานกรรมการ
3. หัวหน้าฝ่ายห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์พื้นฐาน กรรมการ
4. หัวหน้าฝ่ายห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์สุขภาพ 1 กรรมการ

5. หัวหน้าฝ่ายห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์สุขภาพ 2 กรรมการ
6. หัวหน้าฝ่ายห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี กรรมการ
7. หัวหน้าฝ่ายบริการและการใช้ประโยชน์เครื่องมือ กรรมการ
8. หัวหน้าฝ่ายพัฒนาและบำรุงรักษาเครื่องมือวิทยาศาสตร์ กรรมการ
9. หัวหน้าฝ่ายบริหารทั่วไปและธุรการ กรรมการ
10. หัวหน้าโครงการวิสาหกิจศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี กรรมการ
11. ผู้แทนฝ่ายห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์พื้นฐาน กรรมการ
12. ผู้แทนฝ่ายห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์สุขภาพ 1 กรรมการ
13. ผู้แทนฝ่ายห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์สุขภาพ 2 กรรมการ
14. ผู้แทนฝ่ายห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี กรรมการ
15. ผู้แทนฝ่ายบริการและใช้ประโยชน์เครื่องมือ กรรมการ
16. ผู้แทนฝ่ายพัฒนาและบำรุงรักษาเครื่องมือ กรรมการ
17. ผู้แทนฝ่ายบริหารทั่วไปและธุรการ กรรมการ
18. เจ้าหน้าที่บริหารงานทั่วไป ฝ่ายบริหารทั่วไปและธุรการ กรรมการและเลขานุการ

คณะกรรมการบริหารดังกล่าวมีหน้าที่ในการหารือด้านนโยบาย ทิศทาง และกำหนดแผนการดำเนินงานของศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ให้สอดคล้องกับนโยบายและเป้าหมายของมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ พิจารณาแนวทางประสานงานและความร่วมมือต่าง ๆ ภายในศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี เพื่อดำเนินงานในเป้าหมายของหน่วยงานและเป้าหมายของมหาวิทยาลัย รวมทั้งภาระงานอื่น ๆ ตามที่ได้รับมอบหมายจากผู้บังคับบัญชา

**2.2.3 โครงสร้างการปฏิบัติการ (Activity Chart)**

ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์เปิดให้บริการมากว่า 25 ปี (พ.ศ. 2541-ปัจจุบัน) ปัจจุบันมีห้องปฏิบัติการเพื่อรองรับการเรียนการสอนจำนวน 154 ห้อง ภายใต้การบริหารจัดการจำนวน 8 กลุ่มอาคาร (ชัยวัฒน์ พวงคลัง,.16 มกราคม 2567) โดยมีการแบ่งส่วนงานออกเป็น 7 ฝ่าย กับ 1 โครงการ ซึ่งมีรายละเอียดของการจัดแบ่งส่วนงาน ดังนี้

1) ฝ่ายห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์พื้นฐาน ประกอบด้วย 6 งานหลัก ดังนี้

1.1) งานห้องปฏิบัติการชีววิทยา

1.2) งานห้องปฏิบัติการเคมี

1.3) งานห้องปฏิบัติการฟิสิกส์

1.4) งานห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ทางทะเล

1.5) งานห้องปฏิบัติการชีวเคมี

1.6) งานห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา

2) ฝ่ายห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ประกอบด้วย 10 งานหลัก ดังนี้

2.1) งานห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีเกษตร

2.2) งานห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีอาหารและอุตสาหกรรม

2.3) งานห้องปฏิบัติการวิศวกรรมเคมีและการะบวนการ

2.4) งานห้องปฏิบัติการวิศวกรรมโยธา

2.5) งานห้องปฏิบัติการวิศวกรรมไฟฟ้า

2.6) งานห้องปฏิบัติการวิศวกรรมคอมพิวเตอร์

2.7) งานห้องปฏิบัติการปิโตรเคมี

2.8) งานห้องปฏิบัติการพื้นฐานวิศวกรรม

2.9) งานห้องปฏิบัติการสถาปัตยกรรมและการออกแบบ

2.10) งานห้องปฏิบัติการวิศวกรรมเครื่องกลและหุ่นยนต์

3) ฝ่ายห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์สุขภาพ 1 ประกอบด้วย 6 งานหลัก ดังนี้

3.1) งานห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์

3.2) งานห้องปฏิบัติการอนามัยสิ่งแวดล้อม

3.3) งานห้องปฏิบัติการอาชีวอนามัยและความปลอดภัย

3.4) งานห้องปฏิบัติการกายภาพบำบัด

3.5) งานห้องปฏิบัติการพยาบาลศาสตร์

3.6) งานห้องปฏิบัติการสาธารณสุขชุมชน

4) ฝ่ายห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์สุขภาพ 2 ประกอบด้วย 4 งานหลัก ดังนี้

4.1) งานห้องปฏิบัติการเภสัชศาสตร์

4.2) งานห้องปฏิบัติการแพทยศาสตร์

4.3) งานห้องปฏิบัติการกายวิภาคศาสตร์และสรีรวิทยา

4.4) งานห้องปฏิบัติการแพทย์แผนไทยประยุกต์

5) ฝ่ายพัฒนาและบำรุงรักษาเครื่องมือวิทยาศาสตร์ ประกอบด้วย 1 งานหลัก ได้แก่ งานซ่อมบำรุงและจัดสร้างเครื่องมือวิทยาศาสตร์

6) ฝ่ายบริการและใช้ประโยชน์เครื่องมือ ประกอบด้วย 6 งานหลัก ดังนี้

6.1) งานวิเคราะห์ทดสอบด้วยเครื่องมือขั้นสูง

6.2) งานวิเคราะห์ทดสอบด้านเคมี

6.3) งานทดสอบด้านกายภาพและวิศวกรรม

6.4) งานวิเคราะห์ทางด้านจุลชีววิทยา

6.5) งานสอบเทียบ

6.6) งานธุรการฝ่าย

7) ฝ่ายบริหารทั่วไปและธุรการ ประกอบด้วย 7 งานหลัก ดังนี้

7.1) งานช่วยนักบริหารงาน

7.2) ธุรการและสารบรรณ

7.3) งานทรัพยากรบุคคล

7.4) งานแผนงานและงบประมาณ

7.5) งานการเงินและบัญชี

7.6) งานจัดซื้อและคลังพัสดุ

7.7) งานระบบสารสนเทศ

8) โครงการวิสาหกิจศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ประกอบด้วย 5 กิจกรรมหลัก ดังนี้

8.1) กิจกรรมบริการวิเคราะห์ทดสอบ

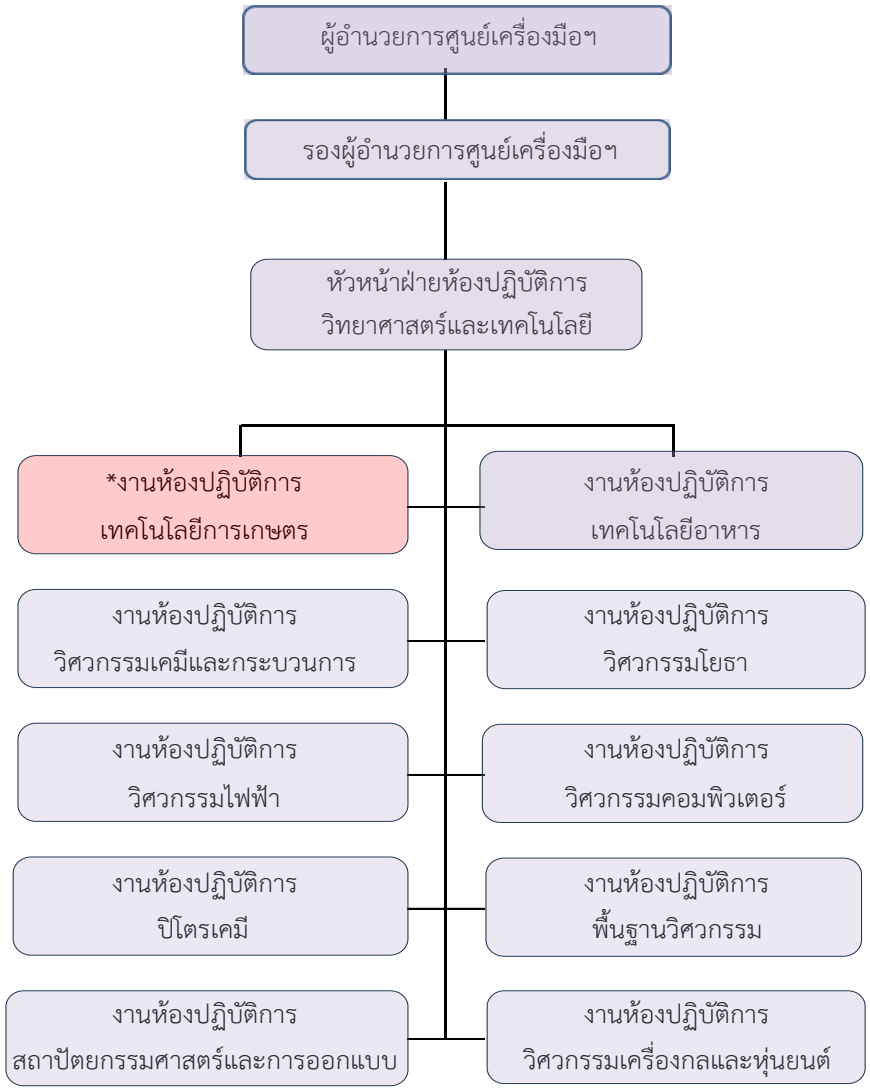
8.2) กิจกรรมบริการซ่อมและสร้างเครื่องมือ

8.3) กิจกรรมฝึกทักษะทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

8.4) กิจกรรมฝึกทักษะทางด้านวิทยาศาสตร์สุขภาพ

8.5) กิจกรรมเพิ่มศักยภาพห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช

นักวิทยาศาสตร์ที่รับผิดชอบห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช อยู่ภายใต้การบริหารกำกับดูแลของผู้อำนวยการ และรองผู้อำนวยการ โดยมีหัวหน้าฝ่ายห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเป็นผู้กำกับดูแลในเบื้องต้น ฝ่ายห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มีพนักงานในฝ่ายทั้งหมดจำนวน 21 คน (ข้อมูล ณ 16 มกราคม 2567) หัวหน้าฝ่ายห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีคนปัจจุบัน คือ นายฮาเล็ม ดอเลาะ บุคลากรในฝ่ายมีวิศวกรหรือนักวิทยาศาสตร์ พนักงานวิทยาศาสตร์และนายช่างเทคนิคที่ประจำงานห้องปฏิบัติการในกลุ่มงานนั้น เป็นผู้รับผิดชอบการให้บริการการเรียนการสอน ปัจจุบันมีการแบ่งงานหลัก ๆ ในฝ่ายเป็น 10 งาน (ภาพที่ 2.3)




* ผู้จัดทำคู่มือ

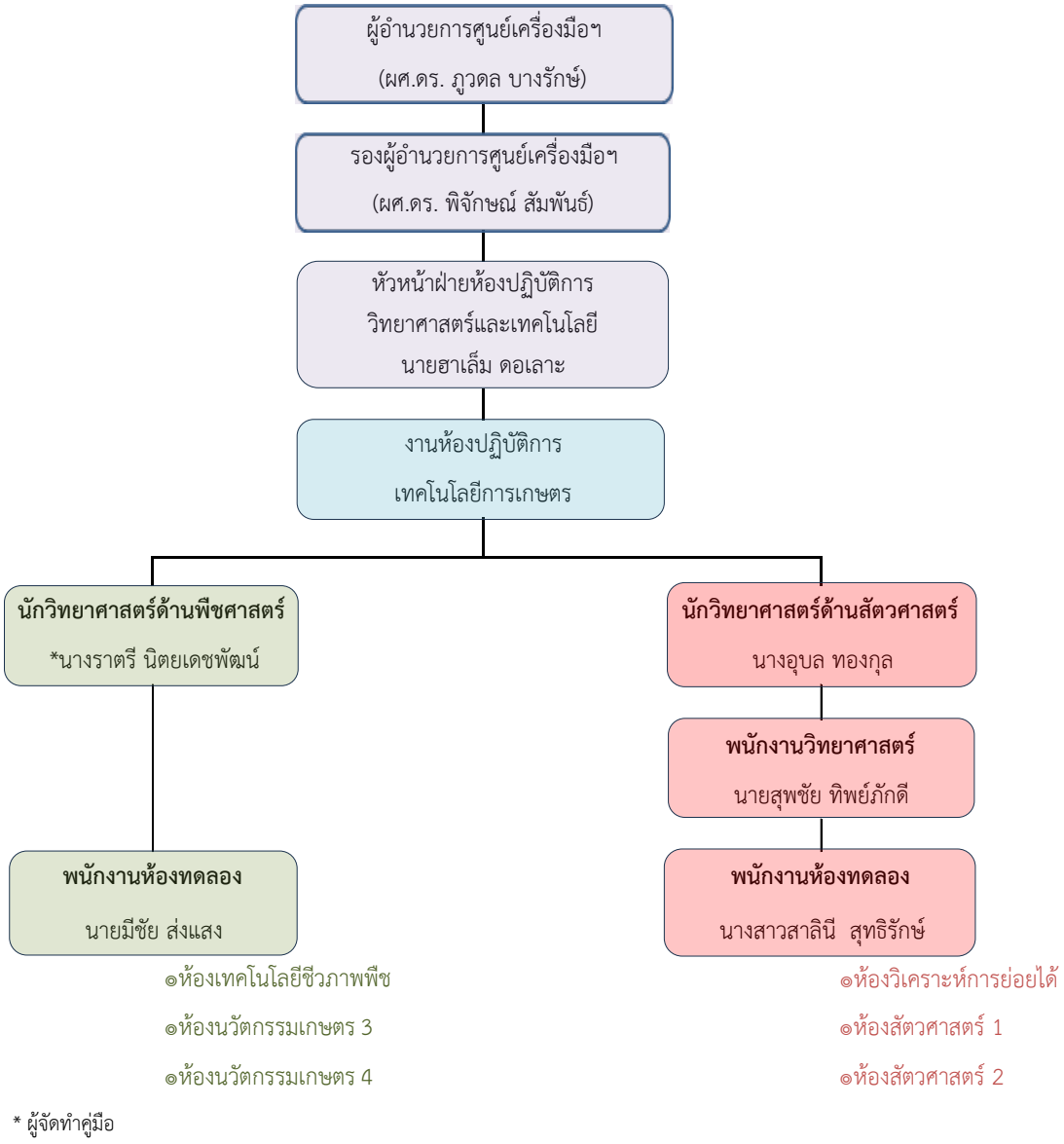
**ภาพที่ 2.3** โครงสร้างการบริหาร (Activity Chart)
ฝ่ายห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

ที่มา : ดัดแปลงจาก โครงสร้างการบริหาร (ชัยวัฒน์ พวงคลัง, 16 มกราคม 2567)

พนักงานในฝ่ายห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมีนักวิทยาศาสตร์/วิศวกรที่ทำหน้าที่รับผิดชอบภาระงาน ดังนี้

1. งานห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีเกษตร
   (**นางราตรี นิตยเดชพัฒน์** นางอุบล ทองกุล และ นายสุพชัย ทิพย์ภักดี)
2. งานห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีอาหารและอุตสาหกรรม
   (นางชลิดา จันทร์ทิน นางสาวนันท์นภัส ยวนแหล นางจารุวรรณ พันธ์ประสงค์ และ นางสาวพรศรี ชื่นชม)
3. งานห้องปฏิบัติการวิศวกรรมเคมีและกระบวนการ
   (นายนิติธร ชูศรี นายธีรโชติ ตรีเภรี และ นายอรุณ พลอยมี)
4. งานห้องปฏิบัติการวิศวกรรมโยธา
   (นายติณห์ เกื้อกาญจน์ และ นายเจริญ สัณฐมิตร)
5. งานห้องปฏิบัติการวิศวกรรมไฟฟ้า
   (นายธีระ พรหมมาศ และ นายเฉลิม เต๊ะสนู)
6. งานห้องปฏิบัติการวิศวกรรมคอมพิวเตอร์
   (นายธีระ พรหมมาศ และ นายเฉลิม เต๊ะสนู)
7. งานห้องปฏิบัติการปิโตรเคมี
   (นายนิติธร ชูศรี และ นายอรุณ พลอยมี)
8. งานห้องปฏิบัติการพื้นฐานวิศวกรรม
   (นายธีรโชติ ตรีเภรี และนายวีระชาติ รานวล)
9. งานห้องปฏิบัติการสถาปัตยกรรมและการออกแบบ
   (นายฮาเล็ม ดอเลาะ และ นายณัฐวุฒิ เนื่องอุทัย
10. งานห้องปฏิบัติการวิศวกรรมเครื่องกลและหุ่นยนต์
    (นายณัฐวุฒิ เนื่องอุทัย และ นายธีรโชติ ตรีเภรี)

ปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ที่รับผิดชอบห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช เป็นนักวิทยาศาสตร์ในงานห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการเกษตร ฝ่ายห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ โดยงานทางด้านเทคโนโลยีการเกษตรแบ่งห้องปฏิบัติการเป็น 2 ด้าน ตามลักษณะการปฏิบัติงาน คือ ห้องปฏิบัติการทางด้านพืชศาสตร์และห้องปฏิบัติการทางด้านสัตวศาสตร์ การเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อเพื่อการเรียนการสอน เป็นภารกิจหลักของการเตรียมตัวอย่างประจำห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช ซึ่งเป็นห้องปฏิบัติการทางด้านพืชศาสตร์ ในงานห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการเกษตร ฝ่ายห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี โดยมีรายละเอียดโครงสร้างการปฏิบัติงานดังนี้ (ภาพที่ 2.4)




**ภาพที่ 2.4** โครงสร้างการปฏิบัติงาน (Activity Chart) งานห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการเกษตร ฝ่ายห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

โดยสรุปในบทที่ 2 ผู้เขียนได้กล่าวถึงภาพรวมของบทบาทหน้าที่ความรับผิดชอบของนักวิทยาศาสตร์และภาพรวมการให้บริการของนักวิทยาศาสตร์และศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ได้แก่ การให้บริการการเรียนการสอนรายวิชาปฏิบัติการ และบทบาทหน้าที่ของนักวิทยาศาสตร์ที่รับผิดชอบห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช รวมทั้งโครงสร้างการบริหารจัดการของศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ส่วนรายละเอียดของการปฏิบัติงานในเรื่องหลักเกณฑ์การปฏิบัติงานและวิธีการรวมทั้งเงื่อนไขต่าง ๆ ที่จำเป็นในการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อเพื่อรองรับการเรียนการสอนประจำห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืชที่ผู้เขียนตั้งใจเรียบเรียงเพื่อเป็นประโยชน์ต่อนักวิทยาศาสตร์ที่รับผิดชอบห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช จะขอกล่าวในบทที่ 3 ต่อไป

# บทที่ 3

# หลักเกณฑ์ วิธีการปฏิบัติงานและเงื่อนไข

ในรายละเอียดของคู่มือการปฏิบัติงานบทนี้จะกล่าวถึงหลักเกณฑ์การปฏิบัติงาน วิธีการปฏิบัติงานเพื่อเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อเพื่อรองรับการเรียนการสอนรายวิชาปฏิบัติการประจำห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช เงื่อนไข/ ข้อสังเกต/ ข้อควรระวัง/ สิ่งที่ควรคำนึงในการปฏิบัติงาน และแนวคิด/งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง เพื่อเป็นข้อมูลในการปฏิบัติงานของนักวิทยาศาสตร์

## 3.1 หลักเกณฑ์การปฏิบัติงาน

การปฏิบัติงานของนักวิทยาศาสตร์ในการให้บริการการเรียนการสอนรายวิชาปฏิบัติการสามารถแบ่งการออกเป็น 3 ระยะ คือ

3.1.1 การเตรียมความพร้อมก่อนการให้บริการรายวิชาปฏิบัติการ

การให้บริการห้องปฏิบัติการในการเรียนการสอนทั่วไปของศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ นักวิทยาศาสตร์เตรียมอุปกรณ์และสารเคมีตามรายละเอียดของแต่ละบทปฏิบัติการ ซึ่งรายละเอียดการให้บริการตั้งแต่การตรวจสอบรายชื่อนักศึกษา ระเบียบปฏิบัติในการใช้ห้องปฏิบัติการ การจัดการของเสีย ฯลฯ นักวิทยาศาสตร์ที่ให้บริการรายวิชาปฏิบัติการสามารถศึกษารายละเอียดจากคู่มือการปฏิบัติงานการเตรียมบทปฏิบัติการรายวิชาปฏิบัติการหลักชีวเคมี ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ (กาญจุรีย์ ว่องไวรัตนกุล, 16 กันยายน 2565) ซึ่งในคู่มือเล่มดังกล่าวผู้เขียนได้อธิบายมาตรฐานในการทำงานของนักวิทยาศาสตร์ไว้อย่างละเอียด สามารถนำมาปรับใช้กับการให้บริการรายวิชาปฏิบัติการทุกรายวิชาโดยใช้ร่วมกับคู่มือปฏิบัติการของแต่ละรายวิชา

ส่วนการให้บริการห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืชมีรายละเอียดที่แตกต่างไปจากห้องปฏิบัติการอื่น ๆ คือ การเตรียมตัวอย่างปลอดเชื้อเพื่อรองรับการเรียนการสอนตามรายละเอียดแต่ละบทปฏิบัติการที่ต้องมีการวางแผนล่วงหน้า รวมทั้งต้องมีการทดสอบระบบห้องปฏิบัติการอย่างต่อเนื่องเพื่อเป็นการลดปัญหาระหว่างการใช้งานห้องปฏิบัติการในการรองรับการเรียนการสอน ทั้งระบบการควบคุมไฟฟ้าแสงสว่างที่ชั้นวางเลี้ยง ระบบควบคุมอุณหภูมิ รวมถึงความเสี่ยงต่าง ๆ เช่น เชื้อราจากความชื้น หรือการเกิดปัญหากระไฟฟ้าขัดข้องที่จะส่งผลต่อการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อเป็นต้น ทั้งนี้ การที่นักวิทยาศาสตร์มีการดำเนินการอย่างต่อเนื่องย่อมส่งผลให้ปัญหาต่าง ๆ เหล่านี้เกิดขึ้นน้อยลง ตรงกันข้ามกับการปิดห้องปฏิบัติการในช่วงที่ไม่มีการให้บริการในบางภาคการศึกษา

อาจส่งผลให้มีปัญหาเรื่องการปนเปื้อนของเชื้อรา ระบบควบคุมอุณหภูมิทำงานไม่ปกติ เป็นปัญหาที่เกิดขึ้นจนไม่สามารถให้บริการการเรียนการสอนได้อย่างเต็มประสิทธิภาพ แต่อย่างไรก็ตาม การเปิดให้บริการห้องปฏิบัติการรวมทั้งระบบควบคุมอุณหภูมิและไฟแสงสว่างตลอดทั้งปีอาจจะทำให้ต้องใช้กระแสไฟฟ้า ซึ่งเป็นต้นทุนที่เพิ่มขึ้น รวมทั้งการย้ายเลี้ยงเพื่อรักษาตัวอย่างพืชปลอดเชื้อต่อเนื่อง ก็เป็นการเพิ่มต้นทุนด้านแรงงาน ดังนั้น เพื่อให้การดำเนินการมีประสิทธิภาพและประสิทธิผลสูงสุด นักวิทยาศาสตร์ต้องมีการวางแผนการทำงานตั้งแต่ขั้นตอนการเลือกชนิดพืช การทดสอบสูตรอาหาร ระยะเวลาในการพัฒนาของเนื้อเยื่อแต่ละระยะ ทั้งนี้เพื่อให้มีความพร้อมในการให้บริการการเรียนการสอนได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามแบบฟอร์มรายงานการเตรียมความพร้อมที่ต้องมีการตรวจเช็คก่อนการเปิดให้บริการทุกรายวิชาปฏิบัติการ (ภาคผนวกที่ 1)

3.1.2 การปฏิบัติงานระหว่างให้บริการรายวิชาปฏิบัติการ

ระหว่างการให้บริการรายวิชาปฏิบัติการ นักวิทยาศาสตร์ต้องทำงานร่วมกับอาจารย์ผู้สอน โดยช่วยดูแลเรื่องเทคนิควิธีการการทำปฏิบัติการของนักศึกษา ตอบข้อซักถามของนักศึกษาและอำนวยความสะดวกในการเรียนการสอนรายวิชาปฏิบัติการโดยมีแบบประเมินการให้บริการการเรียนการสอนทั้งในส่วนของนักศึกษาและอาจารย์ผ่านระบบออนไลน์ เจ้าหน้าที่วิเคราะห์ระบบส่งรายงานให้นักวิทยาศาสตร์ (ภาคผนวกที่ 2) ซึ่งต้องผ่านเกณฑ์ 85 เปอร์เซ็นต์ ตามตัวชี้วัดการดำเนินงานของหน่วยงาน

3.1.3 การจัดการหลังเสร็จสิ้นการให้บริการรายวิชาปฏิบัติการ

หลังเสร็จสิ้นการให้บริการรายวิชาปฏิบัติการ นักวิทยาศาสตร์ต้องมีการจัดเก็บวัสดุอุปกรณ์เข้าที่ จัดการตัวอย่างด้วยการจัดเก็บหรือการดำเนินการต่อเนื่อง เช่น ดูแลให้เจริญเติบโต เพิ่มปริมาณจนสามารถจำหน่ายหรือแจกจ่ายให้กับเกษตรกร รวมทั้งการดูแลต่อเนื่องเพื่อให้มีตัวอย่างรองรับการเรียนการสอนในแต่ละรายวิชาในปีการศึกษาถัดไปรวมทั้งสรุปรายงานต้นทุนการเรียนการสอนแต่ละรายวิชา (ภาคผนวกที่ 3)

หลักเกณฑ์เบื้องต้นสำหรับการทำงานในห้องปฏิบัติการที่นักวิทยาศาสตร์ต้องถือปฏิบัติ คือ ต้องปฏิบัติตามระเบียบการให้บริการห้องปฏิบัติการ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ (13 กรกฎาคม 2563) (ภาคผนวกที่ 4)

**3.2 วิธีการปฏิบัติงาน**

จากหลักเกณฑ์การปฏิบัติงานทั้ง 3 ขั้นตอนดังกล่าวข้างต้นในการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อเพื่อรองรับการเรียนการสอนประจำห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ นักวิทยาศาสตร์ต้องคัดเลือกและจัดเตรียมตัวอย่างพืชที่มีความเหมาะสมกับการเรียนการสอน เพื่อให้นักศึกษาสามารถทำการทดลองได้ทันในระยะเวลา 3 เดือน และต้องเตรียมตัวอย่างปลอดเชื้อไว้

ประจำห้องปฏิบัติการ โดยต้องเตรียมให้ครบทุกระยะพัฒนาการเนื้อเยื่อพืชเพื่อใช้ในการเรียนการสอนในห้องปฏิบัติการ โดยมีวิธีการปฏิบัติงาน ดังนี้

**3.2.1 การคัดเลือกและการเตรียมต้นพืชก่อนนำมาฟอกฆ่าเชื้อ**

หลักการคัดเลือกชนิดพืชที่เหมาะสมในเบื้องต้น พิจารณา 2 ประเด็นหลัก คือ

1) เป็นพืชที่อยู่ในกระแสนิยม เช่น ไม้ด่าง พืชสมุนไพร หรือไม้ประดับ เป็นต้น

2) เป็นพืชที่ตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตได้ดี

ควรเตรียมต้นพืชก่อนการฟอกฆ่าเชื้อด้วยการงดการให้น้ำ การสเปรย์ยากำจัดเชื้อรา หรือการตัดแต่งและพักไว้เพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรีย

**3.2.2 การฟอกฆ่าเชื้อเพื่อเตรียมพืชปลอดเชื้อ (clean culture) ในหลอดทดลอง**

ในการฟอกฆ่าเชื้อมีปัจจัยที่สำคัญอยู่ 2 ประการ คือ

1) ความเข้มข้นของสารฟอกฆ่าเชื้อและระยะเวลาในการฟอก

2) ชนิดของสารฟอกฆ่าเชื้อ

ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ ใช้คลอร็อกซ์เป็นสารพื้นฐาน เนื่องจากหาซื้อได้ง่ายและไม่มีอันตรายต่อสภาพแวดล้อม

**3.2.3 การวางเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตรที่เหมาะสม**

หลังจากฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชแล้วนักวิทยาศาสตร์ต้องนำเนื้อเยื่อที่ตัดแต่งเรียบร้อยไปวางเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เหมาะสม สังเกตและติดตามผลการฟอกฆ่าเชื้อ ในกรณีเนื้อเยื่อพืชมีการปนเปื้อนสามารถสังเกตได้ภายใน 1-3 วัน โดยจะเห็นเป็นรอยเปื้อนของแบคทีเรีย หรือเส้นใยที่ฟูของเชื้อรา ในกรณีมีการปนเปื้อน ห้ามเปิดขวดเนื้อเยื่อ ต้องนึ่งฆ่าเชื้อก่อนล้างขวดทุกครั้ง ส่วนเนื้อเยื่อที่ฟอกฆ่าเชื้อได้เป็นพืชปลอดเชื้อ (clean culture) สามารถวางเลี้ยงในห้องวางเลี้ยงเพื่อชักนำการพัฒนาของยอดรวม (multiple shoots) หรือแคลลัส (callus) การวางเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชควรมีการย้ายเลี้ยง (sub culture) ทุก 1 เดือน ด้วยการย้ายเลี้ยงในอาหารใหม่สูตรเดิมหรือปรับสูตรอาหารตามความต้องการในการใช้ตัวอย่างหรือพัฒนาการของเนื้อเยื่อ

**3.2.4 การเพิ่มปริมาณยอดรวม (multiple shoots)**

หลังจากวางเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อบนอาหารสูตรเริ่มต้นเป็นเวลา 1 เดือน เมื่อเนื้อเยื่อปลอดเชื้อและเริ่มมีการพัฒนา นักวิทยาศาสตร์ต้องมีการปรับสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อให้เนื้อเยื่อพืชมีการพัฒนาตามต้องการ เช่น สูตรชักนำการสร้างแคลลัส สูตรชักนำการสร้างยอดรวม เป็นต้น ซึ่งความแตกต่างของอาหารแต่ละสูตรขึ้นอยู่กับชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เติมลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

**3.2.5 การชักนำราก (rooting)**

เมื่อยอดมีการพัฒนาได้จำนวนที่ต้องการ เช่น 100 ยอด หรือ 1,000 ยอด ตามความต้องการของนักวิทยาศาสตร์หรือความต้องการใช้งาน ขั้นตอนต่อไป คือ การชักนำรากในพืชที่มีการออกรากได้ง่าย อาจจะชักนำรากด้วยการตัดแบ่งต้นที่ต้องการชักนำรากมาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog) ที่ลดสารความคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน ส่วนพืชที่ชักนำการสร้างรากได้ยาก อาจจะใช้การวางเลี้ยงเพื่อชักนำรากในอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน เช่น IBA (indole-3-butyric acid) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

**3.2.6 การออกปลูก (hardening) ในสภาพแปลงปลูก**

ต้นไม้ในขวดที่พัฒนาเป็นต้นสมบูรณ์ สามารถนำมาออกปลูกในสภาพแปลงปลูกได้ ในการออกปลูกพืชแต่ละชนิดมีเทคนิคแตกต่างกัน ทั้งนี้ผู้ปฏิบัติงานต้องสังเกตการเปลี่ยนแปลงหรือการปรับตัวของต้นไม้หลังจากออกปลูก

การทำงานทั้ง 6 ขั้นตอน เริ่มตั้งแต่การคัดเลือกและการเตรียมต้นพืชก่อนนำมาฟอกฆ่าเชื้อ การฟอกฆ่าเชื้อเพื่อเตรียมพืชปลอดเชื้อในหลอดทดลอง (clean culture) การวางเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตรที่เหมาะสม การเพิ่มปริมาณยอดรวม (multiple shoots) การชักนำราก (rooting) และการออกปลูก (hardening) ในสภาพแปลงปลูก นักวิทยาศาสตร์ควรดำเนินการทดลองให้ประสบความสำเร็จก่อนให้บริการการเรียนการสอน เป็นการเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตของพืช ตรวจสอบเทคนิคการทำงานและอุปสรรคต่าง ๆ ที่อาจจะเกิดขึ้นรวมทั้งข้อมูลการพัฒนาของเนื้อเยื่อพืชแต่ละระยะ เพื่อใช้ในการวางแผนการทำงาน โดยสามารถประเมินความสำเร็จในการปฏิบัติงานได้ ดังนี้

**การประเมินความสำเร็จในการเตรียมตัวอย่างพืช** ในการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อเพื่อรองรับการเรียนการสอน ประเมินจากความสำเร็จของการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อ ดังนี้

1. **การฟอกฆ่าเชื้อ** อย่างน้อยต้องมี 1 ชิ้นส่วนที่ปลอดเชื้อ 100 เปอร์เซ็นต์ และเนื้อเยื่อสามารถพัฒนาต่อเป็นกลุ่มตายอดได้
2. **การชักนำการเพิ่มยอด** สามารถชักนำการสร้างยอดจากชิ้นส่วนที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อตามข้อที่ 1 ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยอาจจะผ่านกระบวนการพัฒนาแคลลัสหรือการพัฒนาตายอดโดยตรง มีสูตรอาหารที่เหมาะสมการชักนำการเพิ่มปริมาณ
3. **การชักนำรากและการออกปลูก** สามารถออกปลูกและรอดชีวิตไม่น้อยกว่า 80 เปอร์เซ็นต์

ซึ่งหากนักวิทยาศาสตร์เตรียมตัวอย่างพืชได้สำเร็จ ย่อมส่งผลต่อการประเมิน ซึ่งต้องมีการประเมินดังนี้

**การประเมินการให้บริการของห้องปฏิบัติการ**

1. การประเมินความพร้อมก่อนการเปิดให้บริการ สามารถเปิดให้บริการได้ทุกรายวิชา
2. การประเมินความพึงพอใจในการบริการห้องปฏิบัติการ
   นักศึกษา ≥ 85 เปอร์เซ็นต์
   อาจารย์ ≥ 85 เปอร์เซ็นต์

### 3.3 เงื่อนไข/ข้อสังเกต/ข้อควรระวัง/สิ่งที่ควรคำนึงในการปฏิบัติงาน

นักวิทยาศาสตร์ที่รับผิดชอบห้องปฏิบัติการและการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อ มีหน้าที่หลัก คือ เตรียมความพร้อมปฏิบัติการเพื่อรองรับการเรียนการสอนตามรายละเอียดที่ได้ประสานกับอาจารย์ผู้สอน หรือรายละเอียดในคู่มือปฏิบัติการแต่ละบท นอกจากนี้ ยังต้องมีหน้าที่ดูแลนักศึกษาระหว่างปฏิบัติการให้มีความรับผิดชอบและปฏิบัติตามระเบียบของการใช้ห้องปฏิบัติการทั้งภายในและภายนอกเวลา (ภาคผนวกที่ 4) ตลอดเวลาที่นักศึกษาเข้ามาใช้บริการห้องปฏิบัติการ ในการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อมีเงื่อนไข/ข้อสังเกต/ข้อควรระวัง/สิ่งที่ควรคำนึงในการปฏิบัติงาน (ตารางที่ 3.1) โดยมีรายละเอียด ดังนี้

**ตารางที่ 3.1** เงื่อนไข/ข้อสังเกต/ข้อควรระวัง/สิ่งที่ควรคำนึงในการปฏิบัติงานแต่ละขั้นตอน

| ขั้นตอน | เงื่อนไข/ข้อสังเกต/ข้อควรระวัง/สิ่งที่ควรคำนึงในการปฏิบัติงาน |
|---|---|
| 1. การคัดเลือกและการเตรียมต้นพืชก่อนนำมาฟอกฆ่าเชื้อ | - ควรเป็นพืชที่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจหรือพืชในความนิยม<br>- ตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตได้ดี<br>- เตรียมต้นเพื่อลดการปนเปื้อนด้วยการงดน้ำ หรือการใช้สารป้องกันเชื้อรา |
| 2. การฟอกฆ่าเชื้อเพื่อเตรียมพืชปลอดเชื้อในหลอดทดลอง | - ชนิดสารและความเข้มข้นสารฟอกฆ่าเชื้อเหมาะสม<br>- มีชิ้นส่วนปลอดเชื้อ 100 เปอร์เซ็นต์ ที่สามารถพัฒนาต่อได้ |
| 3. การวางเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตรที่เหมาะสม | - สูตรอาหารที่เหมาะสม<br>- ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต<br>- การทำงานร่วมกันของสารควบคุมการเจริญเติบโต<br>- การย้ายเลี้ยง/แรงงาน/เวลา<br>- เทคนิคปลอดเชื้อ<br>- จำนวนไม่น้อยกว่า 100 ขวดต่อรายวิชา |
| 4. การเพิ่มปริมาณยอดรวม | - สูตรอาหารที่เหมาะสม<br>- ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต<br>- การทำงานร่วมกันของสารควบคุมการเจริญเติบโต<br>- การย้ายเลี้ยง/แรงงาน/เวลา<br>- เทคนิคปลอดเชื้อ<br>- จำนวนไม่น้อยกว่า 100 ขวดต่อรายวิชา |
| 5. การชักนำราก | - ความสมบูรณ์ของต้น<br>- สารควบคุมการเจริญเติบโต<br>- การย้ายเลี้ยง/แรงงาน/เวลา<br>- เทคนิคปลอดเชื้อ<br>- จำนวนต้นที่พร้อมชักนำราก ไม่น้อยกว่า 100 ขวดต่อรายวิชา |
| 6. การออกปลูกในสภาพแปลง | - ควรมีรากพัฒนาขึ้นหลังการชักนำรากเป็นเวลา 1 เดือน<br>- ปรับสภาพไม้ขวดก่อนออกปลูก<br>- วัสดุปลูกที่เหมาะสม<br>- การควบคุมแสง ความชื้น<br>- การดูแลรักษาต่อเนื่องเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ |

การเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อในการให้บริการห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช ต้องเตรียมล่วงหน้าไม่น้อยกว่า 6 เดือน โดยที่ต้องมั่นใจว่าฟอกฆ่าเชื้อผ่าน หากตัวอย่างพืชไม่พร้อมหรือไม่เพียงพอ นักวิทยาศาสตร์ไม่สามารถหาซื้อหรือยืมจากห้องปฏิบัติการอื่นได้ แตกต่างจากการเตรียมสารเคมี เครื่องแก้วหรืออุปกรณ์อื่น ๆ ดังนั้น นักวิทยาศาสตร์ต้องเตรียมตัวอย่างเผื่อไว้ในปริมาณ 1.5–2 เท่าของปริมาณตัวอย่างที่ต้องใช้งานตามจำนวนนักศึกษาที่จะลงทะเบียนเรียนรายวิชาปฏิบัติการที่ต้องใช้ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช โดยการเข้าไปตรวจสอบข้อมูลรายชื่อนักศึกษา ได้จากเว็บไซต์ https://ces.wu.ac.th/registrar/class_info.asp? avs715314668=2

การเตรียมตัวอย่างพืชในห้องปฏิบัติการจะต้องมีการย้ายเลี้ยง (subculture) ทุกเดือน ทำให้แต่ละเดือนมีตัวอย่างเพิ่ม 3-5 เท่า นักวิทยาศาสตร์ควรมีการวางแผนการปฏิบัติงานในการเตรียมตัวอย่างพืช เนื่องจากตัวอย่างที่มากเกินไปต้องมีการคัดทิ้งเพื่อลดภาระในการทำงานของนักวิทยาศาสตร์ การวางแผนที่ดีทำให้การเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อประจำห้องปฏิบัติการไม่เกิดการสูญเสียแรงงาน สูญเสียวัสดุและสารเคมีโดยเปล่าประโยชน์ อย่างไรก็ตาม เนื้อเยื่อพืชที่พัฒนาในระยะต่างๆ เช่น แคลลัส ยอดรวม หรือต้นสมบูรณ์ สามารถรักษาระยะต่างๆ เหล่านี้ไว้ได้เมื่อวางเลี้ยงในสูตรอาหารที่เหมาะสม ดังนั้น เพื่อให้เกิดประโยชน์ในการเรียนรู้และประสิทธิผลสูงสุดในภาพรวมของการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อ และการดำเนินงานของห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช นักวิทยาศาสตร์จึงควรเลือกพืชที่มีศักยภาพในเชิงการค้าหรือไม้ดอกไม้ประดับที่มีการตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตดีและเป็นที่ต้องการของตลาด ทั้งนี้ เพื่อให้ต้นพืชที่เตรียมได้ในห้องปฏิบัติการสามารถเป็นตัวอย่างให้นักศึกษาเข้ามาฝึกทักษะ หรือสามารถนำไปจำหน่ายสร้างรายได้ให้กับมหาวิทยาลัยหรือเกิดประโยชน์ในการบริการชุมชน เช่น การแจกต้นพันธุ์พืชเพื่อปลูกในชุมชน เป็นการสร้างประโยชน์จากตัวอย่างพืชที่ได้จากการเรียนการสอน เป็นต้น

ในการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อ พืชที่เจริญเติบโตในแปลงปลูกหรือในโรงเรือน เป็นพืชที่มีการปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรียในอากาศหรือตามสภาพธรรมชาติเป็นปกติ ดังนั้นการคัดเลือกพืชหรือชิ้นส่วนพืชเพื่อนำมาเตรียมตัวอย่างในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงต้องมี**ข้อควรระวัง** ดังนี้

1) ชิ้นส่วนยอดหรือใบ ในการเตรียมชิ้นส่วนพืชหากมีความจำเป็นต้องนำชิ้นส่วนยอดหรือใบมาใช้ ให้เลือกเก็บใบในช่วงฝนทิ้งช่วงไม่น้อยกว่า 1 สัปดาห์ หรือถ้าต้นมีขนาดไม่โตมากนำต้นปลูกลงกระถางแล้วเลี้ยงใต้โรงเรือนหลังคากันฝน เพื่อป้องกันปัญหาจากการที่ต้นพืชโดนฝน ทำให้มีการปนเปื้อนเชื้อราและแบคทีเรีย ฟอกฆ่าเชื้อให้เป็นชิ้นส่วนพืชที่ปลอดเชื้อเพื่อนำไปวางเลี้ยงได้ยาก โดยเฉพาะพืชที่มีขนบริเวณใบหรือยอด ต้องมีการเตรียมต้นด้วยการรดน้ำไม่ให้โดนแผ่นใบ เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 15 วัน หรืออาจจะต้องมีการสเปรย์สารป้องกันเชื้อรา เช่น คอปเปอร์ซัลเฟต เพื่อให้มีเชื้อราปนเปื้อนน้อยที่สุด ในการเลือก

ยอดหรือแผ่นใบมาฟอกฆ่าเชื้อต้องเลือกชิ้นส่วนที่ไม่มีแผลที่เกิดจากการทำลายของโรคหรือแมลงศัตรู

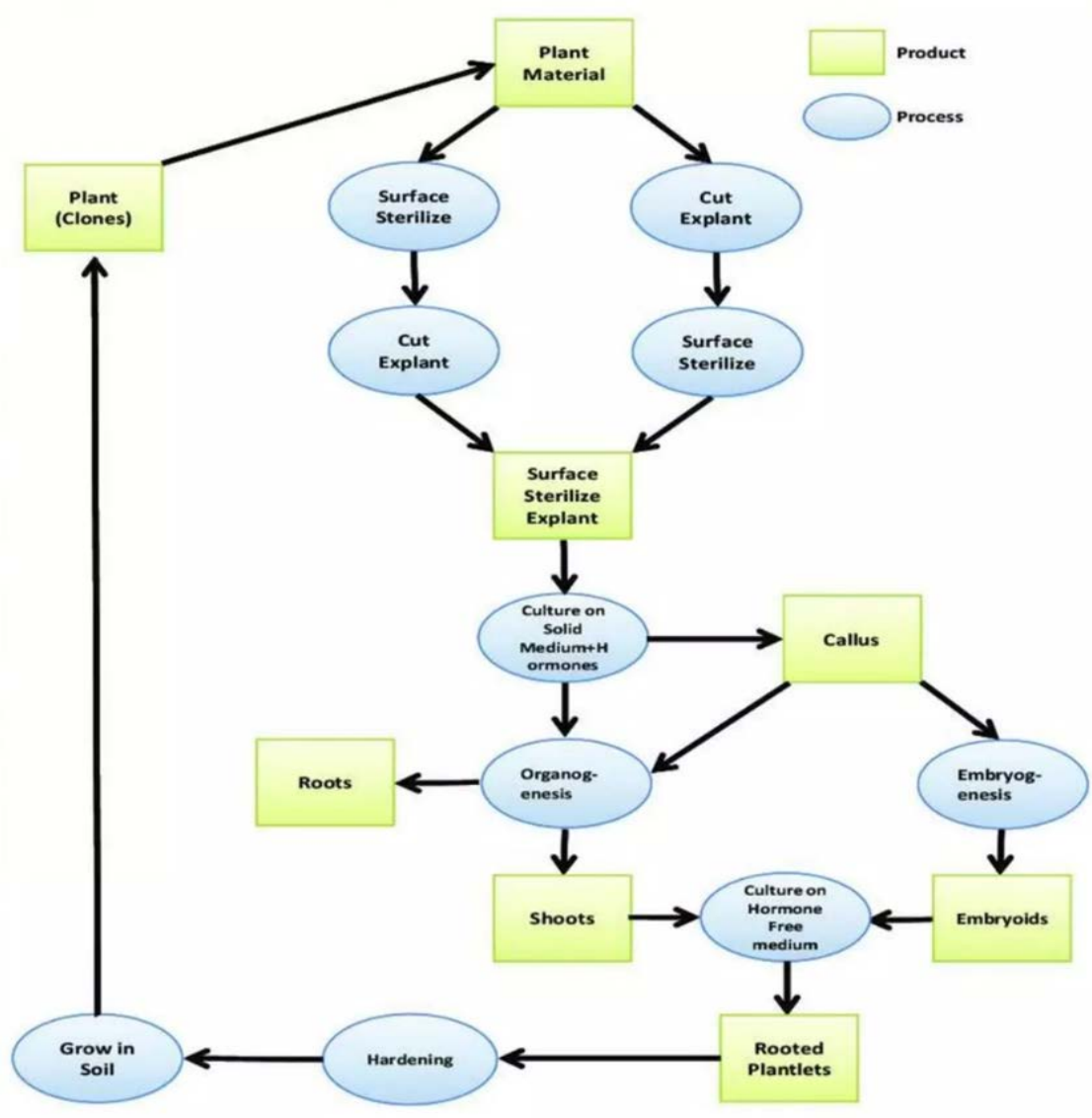
2) ชิ้นส่วนรากหรือหัว ในการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อ หากต้องฟอกฆ่าเชื้อส่วนรากหรือหัวของพืช ให้ถอนและล้างรากหรือหัวที่ต้องการนำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยน้ำประปาให้สะอาด แล้วล้างอีกรอบด้วยน้ำยาล้างจาน อาจจะตัดแต่งบางส่วนทิ้งไปเพื่อให้ทำความสะอาดได้ง่าย แล้วล้างออกด้วยน้ำประปา 2-3 ครั้งให้สะอาด หลังทำความสะอาดเสร็จก็ผึ่งลมไว้ให้ความชื้นระเหยออก กรณีที่พืชหัวบางชนิดมีซอกใบซ้อนกันเป็นชั้น ๆ อาจจะลอกกาบใบออกครึ่งหนึ่งก่อน หลังจากทำความสะอาดและผึ่งลมไว้จนแห้งแล้วค่อย ๆ ลอกกาบออกอีก 1-2 ชั้นให้เหลือกาบใบไว้บางส่วน เพื่อไว้สำหรับปิดเนื้อเยื่อส่วนยอดจากการถูกทำลายซึ่งจะลอกออกหลังจากเสร็จกระบวนการฟอกฆ่าเชื้อ ทั้งนี้ระยะเวลาขึ้นอยู่กับชนิดของพืช **อาจจะใช้เวลาในการผึ่งลม 2 สัปดาห์ - 1 เดือน** อย่างไรก็ตามหากพืชมีอาการเหี่ยวมากระหว่างการผึ่งลม ให้จุ่มรากในน้ำสะอาดเพื่อไม่ให้ต้นพืชเหี่ยวจนตาย

**ข้อสังเกต** ในกรณีที่เตรียมตัวอย่างไม่เพียงพอ หรือเกิดปัญหาอื่น ๆ ในห้องปฏิบัติการ เช่น กระแสไฟฟ้าขัดข้อง เกิดการปนเปื้อน เป็นต้น นักวิทยาศาสตร์สามารถใช้วิธีการเพาะเมล็ดถั่วในสภาพปลอดเชื้อเพื่อเตรียมตัวอย่างรองรับการเรียนการสอนซึ่งสามารถเตรียมตัวอย่างล่วงหน้า 7 วัน ก่อนการใช้ตัวอย่างเพื่อรองรับการเรียนการสอน แต่ผลการทดลองและตัวอย่างที่ได้จะไม่สามารถใช้ประโยชน์หรือเก็บไว้ในห้องปฏิบัติการเพื่อใช้ประโยชน์ต่อเนื่อง เนื่องจากเนื้อเยื่อดังกล่าวไม่สามารถพัฒนาเพื่อนำมาใช้ต่อยอดทางการค้าหรือการทำการทดลองอื่น ๆ เพื่อการเรียนรู้ของนักศึกษา เป็นเพียงวิธีการแก้ปัญหาเฉพาะหน้าในกรณีตัวอย่างพืชปลอดเชื้อไม่เพียงพอ

### 3.4 แนวคิด/งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การให้บริการการเรียนการสอนรายวิชาปฏิบัติการของศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ สิ่งที่สำคัญที่สุดคือการเตรียมตัวอย่างให้พร้อม เพื่อให้ผู้เรียนสามารถเรียนรู้เนื้อเยื่อพืชที่มีระยะการพัฒนาครบทุกขั้นตอน ตั้งแต่การคัดเลือกชิ้นส่วนพืชมาฟอกฆ่าเชื้อ การชักนำแคลลัส การชักนำยอดรวม การชักนำต้นใหม่ และการชักนำรากจนสามารถออกปลูกในสภาพแปลงปลูกได้นั้น ต้องเลือกชนิดพืชและการพัฒนาของเนื้อเยื่อที่เหมาะสม พืชบางชนิดต้องใช้เวลาวางเลี้ยงและขยายพันธุ์มากกว่า 3 ปี จึงสามารถออกปลูกได้ เช่น การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมัน (Farooq et al. , 2012) พืชหรือเนื้อเยื่อที่มีการตอบสนองดี เจริญเติบโตได้ง่ายใช้เวลาไม่น้อยกว่า 8 เดือน เช่น ตัวอย่างการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย (Suman, 2017) เป็นต้น

พืชแต่ละชนิดมีกระบวนการพัฒนาและระยะเวลาในการขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแตกต่างกัน Sushant Gawali (2022) ได้สรุปขั้นตอนและการพัฒนาของเนื้อเยื่อในกระบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชไว้ดังภาพที่ 3.1




**ภาพที่ 3.1** ขั้นตอนและการพัฒนาของเนื้อเยื่อในกระบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

ที่มา : Plant tissue culture method and types of culture methods.
(Sushant Gawali, 2022)

การดำเนินการในการเตรียมพืชปลอดเชื้อเพื่อรองรับการเรียนการสอนประจำห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพืช มีแนวคิด งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการปฏิบัติงาน โดยสรุปดังนี้

**3.4.1 การคัดเลือกพืชและเตรียมต้นพันธุ์ก่อนนำมาฟอกฆ่าเชื้อ**

Farooq et al. (2012) รายงานผลการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผาลัม (*Phoenix dactylifera* L.) ด้วยเหตุผลในการคัดเลือกพืชชนิดนี้คือเป็นพืชสวนที่เก่าแก่ที่สุดชนิดหนึ่งที่มีรสหวานและมีคุณค่าทางโภชนาการ ทนต่ออุณหภูมิสูงและภัยแล้งได้ดี เป็นพืชยืนต้นที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมากที่สุดชนิดหนึ่งในพื้นที่แห้งแล้งของตะวันออกกลาง แอฟริกาเหนือ และทะเลทรายซาฮาร่า อินทผาลัมในปัจจุบันได้ผ่านการคัดเลือกพันธุ์มาหลายศตวรรษ แต่การผลิตลดลงในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมาเนื่องจากข้อจำกัดของน้ำ ความเค็มของดินและน้ำ แมลงและโรค ต้นทุนการผลิตที่เพิ่มขึ้น ตลอดจนปัญหาเรื่องการตลาด การปรับปรุงพันธุ์ที่มีอยู่ให้มีลักษณะที่ดีขึ้นทำได้ยาก เนื่องจากเป็นพืชที่มีวงจรชีวิตยาวนาน ลักษณะเฮเทอโรไซกัสสูง และยากต่อการระบุเพศก่อนออกดอก การผลิตต้นพันธุ์ใช้การขยายพันธุ์จากหน่อทำให้ต้นพันธุ์มีจำนวนจำกัด ส่วนต้นที่ได้จากเมล็ดมีความแปรปรวนสูง ด้วยเหตุนี้ การขยายพันธุ์ในหลอดทดลองจึงเป็นทางเลือกที่ดีที่สุดและเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการรับรองสายพันธุ์ในการขยายพันธุ์อินทผาลัม.

Sharma and Sharma (2013) รายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล็อกซิเนีย (*Sinningia speciosa*) ซึ่งเป็นไม้ประดับเชิงพาณิชย์ที่ได้รับความนิยมชนิดหนึ่งและมีศักยภาพในการส่งออกในฐานะไม้กระถางในหลายประเทศ เป็นพืชที่มีคุณค่าในด้านความสวยงามและมีสีสัน โดยปกติจะขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด ซึ่งค่อนข้างยากเนื่องจากมีอัตราการงอกต่ำทำให้ต้นมีราคาแพง การขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดยังส่งผลให้เกิดการแปรปรวน และพืชอ่อนแอต่อเชื้อโรค โดยทั่วไปแล้วกล็อกซิเนียสามารถขยายพันธุ์ด้วยใบ ลำต้น เหง้าและกิ่งพันธุ์ แต่การผลิตกล็อกซิเนียต้องใช้เวลา 6-7 เดือนจึงออกดอก การขยายพันธุ์พืชด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถผลิตต้นกล้าคุณภาพสูงได้เพียงพอต่อความต้องการในช่วงเวลาสั้น ๆ เพื่อให้สอดคล้องกับความต้องการต้นพันธุ์ในปริมาณมาก ต้นที่ได้มาจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะยังคงลักษณะตรงตามพันธุ์ ราคาไม่แพง และไม่มีโรค อย่างไรก็ตามการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจำเป็นต้องรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับข้อจำกัดของพืชแต่ละชนิดในการขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แล้วจึงพัฒนาขั้นตอนที่ปฏิบัติได้จริงเพื่อให้ได้วิธีการเพาะเลี้ยงที่ดีที่สุด การศึกษาเริ่มต้นจากใบที่เพิ่งออกใหม่ของต้นที่ปลูกในกระถาง นำมาล้างให้สะอาดด้วยน้ำประปาเป็นเวลาครึ่งชั่วโมงเพื่อขจัดสิ่งสกปรกและโคลนที่เกาะอยู่ จากนั้นจึงเขย่าด้วยทวีน-20 ผสมน้ำเป็นเวลา 20 นาที และล้างด้วยน้ำเพื่อขจัดคราบผงซักฟอก การฆ่าเชื้อใช้สารเมอร์คิวริกคลอไรด์ (0.1 เปอร์เซ็นต์) และบาวิสติน (2.0 เปอร์เซ็นต์) ตามด้วยการล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง หลังจากนั้นตัดแต่งส่วนที่ฟอกแล้ววางบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตความเข้มข้นต่างกัน จากนั้นทำการย้ายเลี้ยงทุกหน่อที่ได้ไปยังอาหารสูตรที่ดีที่สุดหรือขยายพันธุ์ต่อไป

ธนากร วงษ์ศา และคณะ (2021) รายงานการเพาะเนื้อเยื่อกล้วยพันธุ์ไข่กำแพงเพชร โดยนำหน่อใบดาบจากต้นที่แข็งแรงและปราศจากโรคมาตัดแต่งจนได้ส่วนของปลายยอดขนาดประมาณ 3 เซนติเมตร ล้างทำความสะอาดแล้วนำมาฟอกฆ่าเชื้อทำความสะอาดผิวชิ้นส่วนโดยแช่ในสารละลายผสมป้องกันกำจัดเชื้อรา (Captan 1 เปอร์เซ็นต์ + Cabendazim 1 เปอร์เซ็นต์) นาน 30 นาที แล้วย้ายไปแช่ในสารละลายเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 นาที แล้วจึงย้ายไปแช่ในสารละลายคลอร็อกซ์ 15 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ต่ออีก 15 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 4-5 ครั้ง ตัดแต่งชิ้นส่วนให้มีขนาดประมาณ 1.5 เซนติเมตร โดยผ่าแบ่งชิ้นส่วนตามแนวยาวออกเป็น 2 ชิ้น แล้วย้ายลงวางเลี้ยงเพื่อทดลองสูตรอาหารต่อไป

**3.4.2 การฟอกฆ่าเชื้อให้ได้พืชปลอดเชื้อ (clean culture)**

เกตุนภา ไทยหนุ่ม และคณะ (2012) รายงานการทดลองฟอกฆ่าเชื้อที่ติดมากับเนื้อเยื่อพืชด้วยสารเคมีชนิดต่าง ๆ ซึ่งพบว่า สารเคมีหลายชนิดมีความสามารถในการฆ่าเชื้อที่ปนเปื้อนเนื้อเยื่อพืชได้ดีมาก เช่น calcium hypochloride ($Ca(OCl)_2$), sodium hypochloride (NaOCl), clorox, bromide water, alcohol และ sulfuric acid ($H_2SO_4$) (ตารางที่ 3.2)

**ตารางที่ 3.2** ประสิทธิภาพของสารเคมีแต่ละชนิดในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช

| ชนิดสารเคมี | ความเข้มข้นที่ใช้ (เปอร์เซ็นต์) | ระยะเวลาที่ใช้ (นาที) | ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ |
|---|---|---|---|
| Calcium hypochloride : $Ca(OCl)_2$ | 9-10 | 5-30 | ดีมาก |
| Sodium hypochloride : NaOCl | 0.25-2.63 | 5-30 | ดีมาก |
| Hydrogen peroxide : $H_2O_2$ | 10-12 | 5-15 | ดี |
| Clorox | 5-10 | 5-20 | ดีมาก |
| Bromide water | 1-2 | 2-10 | ดีมาก |
| Silver nitrate : $Ag(NO_3)$ | 2 | 1 5-30 | ดี |
| Iodine water | 3 | 30 | ดี |
| Mercuric bromide : $HgBr_2$ | 0.5 | 30 | ดี |
| Sulfuric acid : $H_2SO_4$ | 20-70 | 5-20 | ดีมาก |

ที่มา : ดัดแปลงจาก สารที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้ออาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (เกตุนภา ไทยหนุ่ม และคณะ (2012).

Al-Ghasheem *et.al.* (2018) ทำการทดลองฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนปลายยอดและข้อของต้นท้อ (*Prunus persica* L. Batsch) โดยการทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อ 4 ชนิด ที่ความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ ทำการทดลอง 18 การทดลอง ได้แก่ โซเดียมไฮโปคลอไรต์ (NaOCl) ความเข้มข้นสามระดับ คือ 5 เปอร์เซ็นต์ 10 เปอร์เซ็นต์ และ 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 และ 10 นาที ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($H_2O_2$) ความเข้มข้นสองระดับ คือ 5 เปอร์เซ็นต์ และ 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 และ 20 นาที สารป้องกันเชื้อราแคปแทน (50 เปอร์เซ็นต์) ความเข้มข้นสี่ระดับ คือ 1 เปอร์เซ็นต์ 2 เปอร์เซ็นต์ 3 เปอร์เซ็นต์ และ 4 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที และกรดบอริก ($B(OH)_3$) ความเข้มข้นสองระดับ คือ 1 เปอร์เซ็นต์ และ 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 และ 10 นาที ฟอกชิ้นส่วนปลายยอดและข้อวางเลี้ยงในอาหารพื้นฐานสูตร MS ที่เติมซูโครส 30 กรัม และวุ้น 7 กรัม วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 22±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70 ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ ช่วงแสง 16 ชั่วโมงและ 8 ชั่วโมงต่อวัน บันทึกเปอร์เซ็นต์ของการปนเปื้อน อัตราการรอดตาย และการเจริญเติบโตของยอด ผลการทดลองพบว่าสารโซเดียมไฮโปคลอไรท์เป็นสารที่ใช้ในการฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิผลมากที่สุด โดยมีอัตราการรอดชีวิต 50 เปอร์เซ็นต์เมื่อใช้โซเดียมไฮโปครอไรท์ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที และอัตรารอดชีวิต 60 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้โซเดียมไฮโปครอไรท์ 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที หลังจากฆ่าเชื้อแล้วยอดยังคงเติบโตแข็งแรง เนื้อเยื่อสามารถพัฒนาต่อไป

นอกจากนี้ยังมีรายงานการฟอกฆ่าเชื้อซ้ำ 2 ครั้ง เพื่อให้เนื้อเยื่อปราศจากการปนเปื้อน เช่น วิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวไรโซมของไพลด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาที และฟอกอีกครั้งด้วยสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ ทำให้ชิ้นส่วนพืชมีอัตราการรอดชีวิตสูงสุด 77.78 เปอร์เซ็นต์ (รัตนา ขามฤทธิ์ และจิตรกร ปรีแม่น, 2562) เช่นเดียวกับการฟอกฆ่าเชื้อมันเหน็บที่ใช้วิธีการฟอกฆ่าเชื้อซ้ำ 2 ครั้งเช่นกัน (สุชนมา สุขรักษาวงศ์, 2022)

กิตติศักดิ์ โชติกเดชาณรงค์ (2556) รายงานการทดลองเติมน้ำยาฟอกผ้าขาวลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ พบว่า การเติมน้ำยาฟอกผ้าขาวลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อม่วงเทพรัตน์ สามารถลดการปนเปื้อนของเนื้อเยื่อได้

Wamaedeesa et al. (2021) รายงานการศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารเคมีที่เหมาะสมในการทำให้อาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีสภาพปลอดเชื้อ ในการเพาะเลี้ยงปลายยอดฟิโลเดนดรอนพันธุ์รวยทรัพย์ ด้วยการเติม Haiter® และ Betadine® ความเข้มข้น 2 4 และ 6 มิลลิลิตรต่อลิตร ใช้เวลาศึกษา 60 วัน พบว่าการเติม Haiter® กับ Betadine® ทุกระดับความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์บนอาหารได้ ยอดฟิโลเดนดรอนสามารถเจริญเติบโตได้ดี โดยอาหารที่ทำให้ปลอดเชื้อด้วยการเติม Haiter® ที่ระดับความเข้มข้น 2 มิลลิลิตรต่อลิตร ทำให้การเจริญเติบโตทางใบดีที่สุดทั้งจำนวนและความกว้างใบ สำหรับการเจริญเติบโตทางรากพบว่า

อาหารที่เติม Betadine® ทุกระดับความเข้มข้นมีจำนวนและความยาวเฉลี่ยของรากไม่แตกต่างกันแต่มากกว่าอาหารที่ทำให้ปลอดเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันสูง อาหารที่ทำให้ปลอดเชื้อด้วยการเติม Haiter® ทุกระดับความเข้มข้น หลังจากนำออกปลูกในโรงเรือนนาน 30 วัน ต้นอ่อนทุกต้นรอดตายและมีการเจริญเติบโตดี การใช้ Haiter® กับ Betadine® ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อระยะวางเลี้ยงยอดของฟิโลเดนดรอนจึงสามารถทดแทนการนึ่งด้วยหม้อนึ่งความดันสูง ซึ่งเป็นวิธีการที่มีต้นทุนสูงได้

**3.4.3 การเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตรที่เหมาะสม**

ในประเด็นของสูตรอาหารที่เหมาะสม มีปัจจัยที่สำคัญ 2 ปัจจัย คือ องค์ประกอบเกี่ยวกับสารเคมีในสูตรอาหารและองค์ประกอบเกี่ยวกับสารควบคุมการเจริญเติบโต

**1) องค์ประกอบเกี่ยวกับสารเคมีในสูตรอาหาร**

Saad and Elshahed (2018) รายงานส่วนประกอบของสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมี ซึ่งมีส่วนประกอบ คือ ธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรองและธาตุอาหารเสริม หรือวิตามินที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช อาจจะมีการลดหรือเพิ่มปริมาณหรือชนิดสารเคมีเพื่อให้เหมาะกับการวางเลี้ยงพืชแต่ละชนิด (ตารางที่ 3.3)

**ตารางที่ 3.3** สารเคมีที่ใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสูตรต่าง ๆ

| Components ($mg.l^{1-}$) | MS | $G_5$ | W | LM | VW | M | NN |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Macronutrients** | | | | | | | |
| $Ca_3(PO4)_2$ | | | | | 200.0 | | |
| $NH_4NO_3$ | 1650.0 | | | 400.0 | | | 720.0 |
| $KNO_3$ | 1900.0 | 2500.0 | 80.0 | | 525.0 | 180.0 | 950.0 |
| $CaCl_2.2H_2O$ | 440.0 | 150.0 | | 96.0 | | | 166.0 |
| $MgSO_4.7H_2O$ | 370.0 | 250.0 | 720.0 | 370.0 | 250.0 | 250.0 | 185.0 |
| $KH_2PO_4$ | 170.0 | | | 170.0 | 250.0 | 150.0 | 68.0 |
| $(NH4)_2SO4$ | | 134.0 | | | 500.0 | 100.0 | |
| $NaH_2PO_4.H_2O$ | | 150.0 | 16.5 | | | | |
| $CaNO_3.4H_2O$ | | | 300.0 | 556.0 | | 200.0 | |
| $Na_2SO_4$ | | | 200.0 | | | | |
| KCl | | | 65.0 | | | | |
| $K_2SO_4$ | | | | 990.0 | | | |

**ตารางที่ 3.3** สารเคมีที่ใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสูตรต่าง ๆ (ต่อ)

| Components ($mg.l^{1-}$) | MS | $G_5$ | W | LM | VW | M | NN |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Micronutrients** | | | | | | | |
| KI | 0.83 | 0.75 | 0.75 | | | 80.0 | |
| $H_3BO_3$ | 6.20 | 3.0 | 1.5 | 6.2 | | 6.2 | 10.0 |
| $MnSO_4.4H_2O$ | 22.30 | | 7.0 | | 0.75 | 0.075 | 25.0 |
| $MnSO_4.H_2O$ | | 10.0 | | 29.43 | | | |
| $ZnSO_4.7H_2O$ | 8.6 | 2.0 | 2.6 | 8.6 | | | 10.0 |
| $Na_2MoO_4.2H_2O$ | 0.25 | 0.25 | | 0.25 | | 0.25 | 0.25 |
| $CuSO_4.5H_2O$ | 0.025 | 0.025 | | 0.25 | | 0.025 | 0.025 |
| $CoCl_2.6H_2O$ | 0.025 | 0.025 | | | | 0.025 | |
| $Na_2EDTA$ | 37.3 | 37.3 | | 37.3 | | 74.6 | 37.3 |
| $FeSO_4.7H_2O$ | 27.8 | 27.8 | | 27.8 | | 25.0 | 27.8 |
| $MnCl_2$ | | | | | | 3.9 | |
| $Fe(C_4H_4O_6)_3.2H_2O$ | | | | | 28.0 | | |
| **Vitamins and other supplements** | | | | | | | |
| Inositol | 100.0 | 100.0 | | 100.0 | | | 100.0 |
| Glycine | 2.0 | 2.0 | 3.0 | 2.0 | | | 2.0 |
| Thiamine HCl | 0.1 | 10.0 | 0.1 | 1.0 | | 0.3 | 0.5 |
| Pyridoxine HCl | 0.5 | | 0.1 | 0.5 | | 0.3 | 0.5 |
| Nicotinic acid | 0.5 | | 0.5 | 0.5 | | | 5.0 |
| Ca-panthothenate | | | 1.0 | | | | |
| Riboflavin | | | | | | 0.3 | |
| Biotin | | | | | | | 0.05 |
| Folic acid | | | | | | | 0.5 |

ที่มา : ดัดแปลงจาก Plant tissue culture media, Recent advances in plant *in vitro* Culture. (Saad and Elshahed, 2018)

ในการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสูตรต่าง ๆ มีการใช้ชนิดและปริมาณสารเคมีของแต่ละสูตรแตกต่างกันหรือหน่วยน้ำหนักแตกต่างกัน (Gouws, 2010) (ภาคผนวกที่ 5) นักวิทยาศาสตร์ต้องจัดแบ่งสารเคมีตามคุณสมบัติการเข้ากันได้ในการเตรียมสารละลาย ในบางการทดลองอาจจะปรับลดสารเคมีเป็นสูตรอาหารดัดแปลง (Shekarriz, et al., 2014). เพื่อให้ต้นไม้เจริญเติบโตได้ดี (ภาคผนวกที่ 7)

Nurokhman et al. (2019) ศึกษาการวางเลี้ยงชิ้นส่วน แผ่นใบ ก้านใบ ข้อ และปล้องของต้นจักรนารายณ์ สูตรอาหารเริ่มต้นในการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีความสำคัญต่อการตอบสนองและการพัฒนาของเนื้อเยื่อพืชแต่ละชนิด แต่ละสกุล หรือแต่ละชิ้นส่วน การวางเลี้ยงชิ้นส่วนต่าง ๆ ของพืชบนอาหารสูตรเดียวกันเนื้อเยื่อพืชอาจจะตอบสนองต่างกัน เช่นเดียวกับการตอบสนองต่อสูตรอาหารที่แตกต่างกันในการวางเลี้ยงใบและรากของต้นพิษอินเดีย (Dar, et al., 2021).

Sudheer et al. (2022) กล่าวว่าอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นอาหารสังเคราะห์ที่ประกอบไปด้วย 1) แร่ธาตุหลัก (macronutrients) ได้แก่ ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) แคลเซียม (Ca) ซัลเฟอร์ (S) แมกนีเซียม (Mg) และ2) แร่ธาตุอาหารรอง (micronutrients) ได้แก่ เหล็ก (Fe) แมงกานีส (Mn) สังกะสี (Zn) โบรอน (B) ทองแดง (Cu) โคบอลต์ (Co) และโมลิบดีนัม (Mo) บางสูตรมีการเติมไอโอดีน (I) แร่ธาตุเหล่านี้ช่วยให้เกิดการเจริญของเนื้อเยื่อ ราก แคลลัส และเซลล์พืช โดยเลียนแบบความต้องการของพืชในธรรมชาติ แต่เสริมให้มีความสมบูรณ์ของแหล่งคาร์บอนด้วยน้ำตาลให้พลังงานแก่เนื้อเยื่อพืช สารช่วยการเจริญเติบโตของเซลล์ คือ สารกลุ่มวิตามินต่าง ๆ ช่วยในการทำงานของเอนไซม์ และยังมีกรดอะมิโนบางชนิดเพื่อช่วยชักนำให้เกิดราก ยอด และแอมบริโอ นอกจากนี้ยังมีวุ้นเพื่อช่วยในการพยุงลำต้นพืช และน้ำที่ช่วยในการเจริญเติบโต

**2) องค์ประกอบเกี่ยวกับสารควบคุมการเจริญเติบโต**

สารควบคุมการเจริญเติบโตที่เติมลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นปัจจัยที่สำคัญในการพัฒนาของเนื้อเยื่อพืช (Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates, 2019) สารควบคุมการเจริญเติบโตแต่ละชนิดมีความสามารถของการละลายในตัวทำละลายต่างกัน การเก็บรักษาต่างกัน (ตารางที่ 3.5) สารควบคุมการเจริญเติบโตในรูปแบบละลายที่เตรียมเพื่อใช้ทุกตัวต้องเก็บในตู้เย็นเพื่อให้คุณภาพของสารเหมือนกับการเตรียมใหม่ วลัยลักษณ์ เมธาภัทร และเอกณรงค์ อินทรชัย (2017) รายงานการเก็บสารแอมเฟตามีนที่โดยการเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณของสารเมทแอมเฟตามีนในของกลางยาบ้าด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี พบว่า การเก็บสารในตู้เย็น 128 วัน สารยังมีคุณภาพเหมือนกับการเตรียมใหม่ ในกรณีที่ต้องเก็บไว้ใช้เป็นเวลานาน เนื่องจากสารควบคุมการเจริญเติบโตบางชนิดไม่มีการใช้สำหรับการขยายพันธุ์พืชที่เป็นพื้นฐานทั่วไป นักวิทยาศาสตร์อาจจะใช้วิธีการเก็บสารละลายด้วยการแช่แข็ง ในการเตรียมสารละลายความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นักวิทยาศาสตร์สามารถเตรียมด้วยการชั่งสารควบคุมการเจริญเติบโต

ของพืชปริมาณ 100 มิลลิกรัม ลงในขวดวัดปริมาตรหรือภาชนะแก้วอื่น ๆ ขนาด 100 มล. เติมตัวทำละลาย 2-5 มิลลิลิตร เพื่อละลายสารควบคุมการเจริญเติบโต เมื่อละลายหมดให้ปรับปริมาตรด้วยน้ำหรือตัวปรับปริมาตรตามที่แนะนำ อาจต้องคนสารละลายขณะเติมตัวปรับปริมาตรเพื่อสารละลายไม่ตกตะกอน เก็บสารละลายที่เตรียมได้ตามที่แนะนำ (ตารางที่ 3.4)

การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีขั้นตอนการและวิธีการเตรียม (ภาคผนวกที่ 9) ซึ่งเป็นวิธีการปฏิบัติงานพื้นฐานที่ทุกคนที่ทำงานทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพพืชต้องเข้าใจและสามารถปฏิบัติได้

**ตารางที่ 3.4** แสดงชนิดตัวทำละลายและการเก็บรักษาสารควบคุมการเจริญเติบโต

| Product Name | Mol. Wt. | Solution Preparation | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Solvent | Diluent | Powder Storage | Liquid Storage | Steriliz-ation* |
| p-Chlorophenoxyacetic acid (4-CPA) | 186.6 | EtOH | — | RT | 2-8 °C | CA |
| 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid | 221.0 | — | — | RT | 2-8 °C | CA |
| 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid Sodium salt | 243.0 | Water | — | RT | 2-8 °C | CA |
| Indole-3-acetic acid Free acid (IAA) | 175.2 | EtOH/1N NaOH | Water | -0 °C | -0 °C | CA/F |
| Indole-3-acetic acid Sodium salt | 197.2 | Water | Water | 2-8 °C | -0 °C | CA/F |
| Indole-3-acetic acid methyl ester | 189.2 | — | — | 2-8 °C | 2-8 °C | — |
| Indole-3-acetyl-L-aspartic acid | 290.3 | 0.5N NaOH | Water | -0 °C | -0 °C | F |
| Indole-3-butyric acid (IBA) | 203.2 | EtOH/1N NaOH | Water | 2-8 °C | -0 °C | CA/F |
| Indole-3-butyric acid Potassium salt (K-IBA) | 241.3 | Water | — | 2-8 °C | -0 °C | CA/F |
| alpha-Naphthaleneacetic acid Free acid (NAA) | 186.2 | 1N NaOH | Water | RT | 2-8 °C | CA |
| beta-Naphthoxyacetic acid Free acid (NOA) | 202.2 | 1N NaOH | Water | RT | 2-8 °C | CA |
| Phenylacetic acid (PAA) | 136.2 | EtOH | — | RT | 2-8 °C | CA/F |
| Picloram | 241.5 | DMSO | — | RT | 2-8 °C | CA |
| 2,4,5-Trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T) | 255.5 | EtOH | — | RT | 2-8 °C | CA |
| 2,3,5-Triiodobenzoic acid Free acid (TIBA) | 499.8 | 1N NaOH | Water | -0 °C | -0 °C | F |
| Adenine Free base | 135.1 | 1.0 HCl | Water | RT | 2-8 °C | CA |
| Adenine hemisulfate Hemisulfate salt | 184.2 | Water | — | RT | 2-8 °C | CA |
| 6-Benzylaminopurine (BA) | 225.3 | 1N NaOH | Water | RT | 2-8 °C | CA/F |
| 6-Benzylaminopurine Hydrochloride | 261.7 | Water | — | RT | 2-8 °C | CA/F |
| 6-Benzylaminopurine (BA) | 225.3 | 1N NaOH | Water | RT | 2-8 °C | CA/F |
| N-Benzyl-9-(2-tetrahydropyranyl)adenine (BPA) | 309.4 | EtOH | — | -0 °C | -0 °C | CA/F |
| N-(2-Chloro-4-pyridyl)-N'-phenylurea (4-CPPU) | 247.7 | DMSO | — | 2-8 °C | 2-8 °C | F |
| 6-(gamma,gamma-Dimethylallylamino)purine (2iP) | 203.2 | 1N NaOH | Water | -0 °C | -0 °C | CA/F |
| 6-(gamma,gamma-Dimethylallylamino)purine (2iP) | 203.2 | 1N NaOH | Water | -0 °C | -0 °C | CA/F |
| 1,3-Diphenylurea (DPU) | 212.3 | DMSO | — | RT | 2-8 °C | F |

**ตารางที่ 3.4** แสดงชนิดตัวทำละลายและการเก็บรักษาสารควบคุมการเจริญเติบโต (ต่อ)

| Product Name | Mol. Wt. | Solution Preparation | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Solvent | Diluent | Powder Storage | Liquid Storage | Steriliz-ation* |
| Kinetin | 215.2 | 1N NaOH | Water | -0 °C | -0 °C | CA/F |
| Kinetin | 215.2 | 1N NaOH | Water | -0 °C | -0 °C | CA/F |
| Kinetin | 215.2 | 1N NaOH | Water | -0 °C | -0 °C | CA/F |
| Kinetin Hydrochloride | 251.7 | Water | — | -0 °C | -0 °C | CA/F |
| 1-Phenyl-3-(1,2,3-thiadiazol-5-yl)urea | 220.2 | DMSO | — | RT | 2-8 °C | CA/F |
| trans-Zeatin Free base | 219.2 | 1N NaOH | Water | -0 °C | -0 °C | CA/F |
| Zeatin | 219.2 | 1N NaOH | Water | -0 °C | -0 °C | CA/F |
| trans-Zeatin Hydrochloride | 255.7 | Water | — | -0 °C | -0 °C | CA/F |
| trans-Zeatin riboside | 351.4 | 1N NaOH | Water | -0 °C | -0 °C | F |
| (±)-cis,trans-Abscisic acid (ABA) | 264.3 | 1N NaOH | Water | -0 °C | -0 °C | CA/F |
| Ancymidol | 256.3 | DMSO | — | 2-8 °C | -0 °C | CA/F |
| Chlorocholine chloride (CCC) | 158.1 | Water | — | RT | 2-8 °C | F |
| 3,6-Dichloro-o-anisic acid (Dicamba) | 221.0 | EtOH/Water | — | 2-8 °C | 2-8 °C | F |
| Gibberellic acid ($GA_3$) | 346.4 | EtOH | — | RT | 2-8 °C | CA/F |
| Gibberellic acid Potassium salt (K-$GA_3$) | 384.5 | Water | — | 2-8 °C | -0 °C | CA/F |
| Gibberellin $A_4$ Free acid ($GA_4$) | 332.4 | EtOH | — | -0 °C | -0 °C | F |
| (±)-Jasmonic acid | 210.3 | EtOH | — | 2-8 °C | -0 °C | F |
| Phloroglucinol | 126.1 | Water | — | RT | 2-8 °C | CA/F |
| N-(Phosphonomethyl)glycine (Glyphosate) | 169.1 | 1N NaOH | Water | RT | 2-8 °C | F |
| Succinic acid 2,2-dimethylhydrazide | 160.2 | Water | — | 2-8 °C | 2-8 °C | CA/F |

*CA = coautoclavable with other media components. F = filter sterlize. CA/F = coautoclavable with other media components, however, some loss of activity may occur. This can be compensated for by increasing component concentration. Component may be filter sterilized.

ที่มา : ดัดแปลงจาก *Growth Regulators– Plant Tissue Culture Protocol* (Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates, 2019).

**3.4.4 การเพิ่มปริมาณยอดรวม (multiple shoots)**

ธราธร ธีรฆฐิติ และคณะ (2563) รายงานสูตรอาหารที่ใช้ทั่วไปในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชและชนิดพืชที่เหมาะสม เพื่อเป็นแนวทางในการเริ่มต้นการทดลองขยายพันธุ์พืชด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (ตารางที่ 3.5)

**ตารางที่ 3.5** ตัวอย่างสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่นิยมใช้กันทั่วไปและชนิดพืชที่เหมาะสม

| สูตรอาหาร | ชนิดพืช |
|---|---|
| VW (Vacin and Went, 1949) | ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ |
| MS (Murashige and Skoog, 1962) | เป็นสูตรมาตรฐาน สูตรพื้นฐานสำหรับเพาะเลี้ยงพืชทั่วไป |
| Hidebrandt (1962) | ใช้เพาะเลี้ยงแคลลัสยาสูบ |
| White (1963) | ใช้เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนราก |
| Miller (1963) | ใช้เพาะเลี้ยงอับละอองเกสรของข้าว |
| Y3 (Eeuwens, 1967) | ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชตระกูลปาล์ม |
| B5 (Gamborg, 1970) | ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม้ยืนต้น |
| WPM (Lloyd and McCown, 1980) | ใช้เพาะเลี้ยงพืชที่เป็นไม้เนื้อแข็ง (woody species) |

ที่มา : ดัดแปลงจาก คู่มือส่งเสริมการเรียนรู้ด้านพืช “การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม้ดอกไม้ประดับ (ธราธร ธีรฆฐิติ และคณะ, 2563)

ในการทำงาน นักวิทยาศาสตร์สามารถพัฒนาสูตรอาหารที่เหมาะสมกับพืชที่สนใจนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เช่น สูตรจิตราพรรณ II ซึ่งพัฒนาสูตรโดยอาจารย์จิตราพรรณ พิลึก ใช้สำหรับเพาะเมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารี (สุปัน ไม้ดัดจันทร์ และคณะ, 2555)

กาพย์แก้ว แก้วนาบอน และคณะ (2562) ทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต้นลินเดอร์เนีย พบว่ามีปัจจัยที่เกี่ยวข้องมากมายที่มีผลต่อการตอบสนองของเนื้อเยื่อ โดยเฉพาะการเริ่มต้นวางเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณยอด เช่น ความรุนแรงของการฟอกฆ่าเชื้อที่ทำให้เนื้อเยื่อพืชถูกทำลาย การปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรีย อายุของชิ้นส่วนพืชที่นำมาวางเลี้ยง ตำแหน่งของชิ้นส่วนและความสมบูรณ์ของต้นพืชเริ่มต้นที่นำชิ้นส่วนมาวางเลี้ยง รวมทั้งสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโต

Amente and Chimdessa (2021) รายงานว่าการวางเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยเพื่อชักนำการเพิ่มปริมาณยอดอาจจะมีปัญหาการสร้างสารสีน้ำตาล (phenolic compound) ส่งผลให้เนื้อเยื่อพืชไม่สามารถแตกหน่อ ซึ่งอาจจะแก้ปัญหาโดยการใช้ polyvinylpyrrolidone (PVP) ascorbic acid potasium citrate และ citrate จุ่มแช่เพื่อล้างเนื้อเยื่อก่อนการวางเลี้ยง การเติมสารเคมีดังกล่าวลงในอาหารและการตัดเนื้อเยื่อกล้วยในสารละลายก่อนนำไปวางเลี้ยงเป็นการแก้ปัญหาการสร้างสารสีน้ำตาลในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยเป็นการช่วยให้ชิ้นส่วนกล้วยเจริญเติบโตได้ดีในหลอดทดลอง

**3.4.5 การชักนำราก (rooting) ให้ได้ต้นสมบูรณ์**

สุมิตรา สุปินราช และอิศร์ สุปินราช (2014) รายงานการศึกษาการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้พบว่าเมื่อพืชต้นใหม่สามารถพัฒนาเป็นต้นพร้อมสำหรับการออกปลูกควรตัดแต่งแล้วย้ายไปวางเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน เช่น IAA (indole acetic acid) IBA หรือ NAA ความเข้มข้น 1-3 มิลลิกรัมต่อลิตรเพื่อชักนำการสร้างราก ยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถพัฒนารากและเจริญเติบโตเป็นต้นสมบูรณ์พร้อมออกปลูก

Aygun and Dumanoglu (2015) รายงานการชักนำรากของต้นแพร์สายพันธุ์ป่า (*Pyrus elaeagrifolia* Pallas) ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อสร้างต้นตอต้านทานโรค พบว่าสามารถชักนำการสร้างรากด้วยการจุ่มยอดในสารละลาย IBA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ มีเปอร์เซ็นต์ของการสร้างราก 55 ± 9.6 เปอร์เซ็นต์ และจำนวนรากคือ 1.8 ± 0.3 รากต่อชิ้นส่วน

**3.4.6 การออกปลูก (hardening) ในสภาพแปลงปลูก**

Ahmed et al. (2014) รายงานการออกปลูกกล้วยแกรนเนนจากการเพาะเนื้อเยื่อด้วยการปรับสภาพต้นกล้าในหลอดทดลองด้วยใช้วิธีการต่าง ๆ เพื่อให้รอดชีวิตสูงสุด (100 เปอร์เซ็นต์) จากการทดลองพบว่าวัสดุปลูกที่เป็นส่วนผสมของดิน+ทราย+ฟลาวเวอร์บีม (2:1:1 v/v/v) ช่วยเพิ่มความสูงและอัตราการรอดชีวิตของต้นกล้าได้ดีที่สุด (100 เปอร์เซ็นต์) และระหว่างการออกปลูกต้องต้องรักษาความชื้นด้วยการคลุมต้นด้วยถุงพลาสติก

Carmelita and Prabhuling (2015) รายงานการออกปลูกต้นหว้า (*Syzygium cuminii* L.) ซึ่งเป็นไม้ยืนต้นที่ขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่าอุปสรรคสำคัญในการประยุกต์ใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในการขยายพันธุ์ไม้ยืนต้น คือการออกปลูก ดังนั้นจึงได้ศึกษาขั้นตอนและวิธีการสำหรับการปรับสภาพต้นกล้าหว้าพันธุ์ AJG-85 ที่ขยายพันธุ์ในหลอดทดลองให้ประสบความสำเร็จ โดยทดลองออกปลูกด้วยวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ เช่น เปลือกมะพร้าว ปุ๋ยหมัก ไส้เดือน เพอร์ไลต์ เวอร์มิคูไลต์ ดินไรต์ และทราย เพียงอย่างเดียวหรือผสมกัน ผลการศึกษาพบว่าวัสดุที่ผสมระหว่างเพอร์ไลท์+เวอร์มิคูไลต์+พีทมะพร้าว (1:1:1 v/v) และขุยมะพร้าวเพียงอย่างเดียวมีประสิทธิภาพดีในระยะ 1 เดือนที่ปลูกในตู้ควบคุมความชื้น แต่เมื่อย้ายไปปลูกในสภาพโรงเรือนพรางแสง พบว่า วัสดุผสมระหว่างเพอร์ไลท์+ดินแดง (1:1 v/v) และเวอร์มิคูไลต์+ดินแดง (1:1 v/v) มี

ประสิทธิภาพดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับขุยมะพร้าว+ดินแดง (1:1 v/v) และเพอร์ไลท์+เวอร์มิคูไลต์+ขุยมะพร้าว (1:1:1 v/v) โดยมีอัตรารอดชีวิตสูงสุด คือ 63.44 เปอร์เซ็นต์

Singh et al. (2017) รายงานการออกปลูกเยอบีร่าด้วยการคัดเลือกต้นกล้าที่มีอายุ ความสูง จำนวนใบ และขนาดเท่ากัน นำต้นกล้าออกจากขวดเพาะเลี้ยง และล้างรากด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อเพื่อขจัดวุ้นส่วนเกินออกก่อนจะนำต้นกล้าไปปลูกในวัสดุปลูกต่าง ๆ เช่น ทราย ขุยมะพร้าว ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน และเวอร์มิคูไลต์ ในกระถางมีขนาด 80x60 มิลลิเมตร ระยะแรกวางต้นกล้าไว้ในห้องเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25±1 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง 16 ชั่วโมง เป็นเวลา 3 สัปดาห์ โดยคลุมกระถางด้วยถุงพลาสติกที่มีรูเล็ก ๆ เพื่อให้ต้นกล้าค่อย ๆ ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ได้ รดน้ำทุกวัน หลังจากผ่านไป 3 สัปดาห์ จึงย้ายต้นกล้าไปยังเรือนกระจกเพื่อทดลองวัสดุปลูก 10 แบบ จากส่วนผสมของวัสดุปลูกสี่ชนิดคือ ทราย ปุ๋ยหมักไส้เดือน พีทมะพร้าวและเวอร์มิคูไลต์ พบว่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุด (90 เปอร์เซ็นต์) เมื่อใช้ทราย+ปุ๋ยหมักไส้เดือน+พีทมะพร้าว+เวอร์มิคูไลต์ (1:1:1:1 v/v) รองลงมาคือ พีทมะพร้าว+ปุ๋ยหมักไส้เดือน+เวอร์มิคูไลต์ (1:1:1 v/v) และการออกปลูกในทรายมีการรอดชีวิตของพืชต่ำ (30.3 เปอร์เซ้นต์) หลังย้ายปลูก 30 วัน พบว่าในวัสดุปลูกที่มีทรายมีจำนวนใบใหม่ต่อต้นน้อยที่สุด (1.5 ใบ) ในขณะที่พบจำนวนใบใหม่สูงสุด (5.5 ใบ) ในวัสดุปลูกที่มีทรายปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน+พีทมะพร้าว+ เวอร์มิคูไลต์ (1:1:1 v/v) รองลงมาคือ 5.2 ใบ ในวัสดุปลูกที่มีทราย+ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน+พีทมะพร้าว+เวอร์มิคูไลต์ (1:1:1:1 v/v) ความสูงของต้นไม้สูงสุด (78.0 มิลลิเมตร) ในในวัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของพีทมะพร้าว+เวอร์มิคูไลต์ (1:1:1 v/v) รองลงมาคือ (77.2 มิลลิเมตร) ที่เป็นส่วนผสมของทราย+ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน+พีทมะพร้าว+เวอร์มิคูไลต์(1:1:1:1 v/v) และต่ำสุด (62.0 มิลลิเมตร) ในวัสดุปลูกที่เป็นทราย จำนวนวันสำหรับการสร้างใบใหม่น้อยที่สุด คือ 5 วันและการสร้างใบใหม่ 94 เปอร์เซ็นต์ ในพีทมะพร้าว+ปุ๋ย หมักมูลไส้เดือน+เวอร์มิคูไลต์ (1:1:1 v/v) ในขณะที่วัสดุปลูกทรายใช้เวลาสูงสุด (15) วัน และเยอบีร่า 58 เปอร์เซ็นต์ มีการสร้างใบใหม่ ในทราย+เวอร์มิคูไลต์ (1:1 v/v) การอยู่รอดโดยรวมของพืชในแปลงเพาะปลูกคือ 96 เปอร์เซ็นต์ ที่ปลูกใน ทราย+ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน+พีทมะพร้าว+เวอร์มิคูไลต์ (1:1:1:1 v/v) รองลงมาคือ 93 เปอร์เซ้นต์ ในทราย+ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน+เวอร์มิคูไลต์ (1:1:1 v/v) น้อยที่สุดคือ 71 เปอร์เซ็นต์ ในทราย ปริมาณคลอโรฟิลล์รวมสูงสุด 12.79 มิลลกรัม/กรัม ในพีทมะพร้าว+ปุ๋ยหมักไส้เดือน+เวอร์มิคูไลต์ (1:1:1 v/v) รองลงมาคือ 12.78 มิลลกรัม/กรัม ในทราย+ปุ๋ยหมักไส้เดือน+พีทมะพร้าว+เวอร์มิคูไลต์ (1:1:1:1 v/v) ในขณะที่ปริมาณต่ำสุดคือ 12.09 มิลลกรัม/กรัม ในทราย

เมื่อนักวิทยาศาสตร์มีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับขั้นตอนการทำงานแล้ว ในการทำงานเพื่อให้ผู้เข้ารับบริการได้ฝึกทักษะด้วยการลงมือปฏิบัติจริง และมีความพึงพอใจในการเข้ามาเรียนรู้ นักวิทยาศาสตร์ควรมีการพัฒนาการให้บริการและพัฒนางานด้านการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้ออย่างต่อเนื่อง สหธร เพชรวิโรจน์ชัย (2565) กล่าวว่าระบบลีน (LEAN) เป็นระบบที่ช่วยในการปรับ

การบริหารจัดการองค์กรให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น ผ่านการลดกระบวนการทำงานที่ไม่สร้างมูลค่า พร้อมความสามารถในการปรับตัวเพื่อสนับสนุนให้เกิดการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง ลีนให้ความสำคัญกับ 3 กิจกรรม คือ การกำหนดคุณค่าจากมุมมองของลูกค้าเป็นหลัก การกำจัดสิ่งที่ไม่จำเป็นออกจากกระบวนการธุรกิจ และการพัฒนากระบวนการทำงาน เป้าหมาย และบุคคลากรอย่างต่อเนื่อง หลักการพื้นฐานของลีน มีอยู่ 5 ข้อ คือ

1. กำหนดคุณค่า (Identify Value)
2. วางแผนดำเนินงาน (Map The Value Stream)
3. สร้างขั้นตอนการทำงาน (Create Flow)
4. ใช้ระบบดึง (Establish Pull)
5. มุ่งสู่ความสมบูรณ์แบบ (Seek Perfection)

ในการปฏิบัติงานเพื่อเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อตาม เมื่อมีการย้ายเลี้ยงต่อเนื่องจะมีปริมาณของชิ้นส่วนพืชเพิ่มขึ้นเป็นทวีคูน เมื่อนักวิทยาศาสตร์มีการดำเนินการอย่างต่อเนื่อง ความพร้อมของห้องปฏิบัติการ ไม่ว่าจะเป็นสารเคมี วัสดุอุปกรณ์ ระบบการควบคุมอุณหภูมิ แสงสว่าง รวมทั้งระบบห้องปลอดเชื้อย่อมมีความพร้อมจากการทำงานอย่างสม่ำเสมอ ทั้งนี้นักวิทยาศาสตร์ควรมีการเก็บข้อมูล เช่น อัตราการขยายพันธุ์ของพืชแต่ละชนิด ความเร็วในการทำงานของนักวิทยาศาสตร์/แรงงานในการย้ายเลี้ยง ซึ่งจะเป็นข้อมูลเพื่อช่วยในการลดขั้นตอนการทำงาน เช่น การคัดเลือกเฉพาะชิ้นส่วนที่ดีเพื่อวางเลี้ยงต่อเนื่อง หรือการตัดสินใจคัดเนื้อเยื่อในระยะไหนทิ้งปริมาณมากน้อยอย่างไร เพื่อให้การทำงานมีประสิทธิภาพสูงสุด ล้วนเป็นข้อมูลที่เกิดจากประสบการณ์ของนักวิทยาศาสตร์ การใช้ระบบลีนมาช่วยจะทำให้การดำเนินการห้องปฏิบัติการเพื่อรองรับการเรียนการสอนมีความสมบูรณ์มากขึ้น ทั้งนี้เพื่อความสำเร็จสูงสูดในการให้บริการและการใช้ประโยชน์ห้องปฏิบัติการเฉพาะทางที่มีต้นทุนการดำเนินงานสูง โดยเทคนิคและวิธีการในการปฏิบัติงานแบบมุ่งผลสัมฤทธิ์จะกล่าวในบทต่อไป

# บทที่ 4

# เป้าหมายและเทคนิคในการปฏิบัติงานแบบมุ่งผลสัมฤทธิ์

ในการให้บริการการเรียนการสอนรายวิชาปฏิบัติการแต่ละรายวิชา นักวิทยาศาสตร์มีหน้าที่เตรียมความพร้อม ทั้งวัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี รวมทั้งพื้นที่ในการให้นักศึกษาทำปฏิบัติการ ในบทนี้จะกล่าวถึงเป้าหมายในการทำงาน เทคนิคในการวางแผน/แผนกลยุทธ์ เทคนิคและขั้นตอนในการปฏิบัติงาน การติดตามและประเมินผล การทำให้ผู้รับบริการพึงพอใจ การเพิ่มประสิทธิภาพในการทำงานรวมทั้งจรรยาบรรณ/คุณธรรม/จริยธรรมในการปฏิบัติงาน เพื่อการทำงานแบบมุ่งผลสัมฤทธิ์

## 4.1 เป้าหมายในการปฏิบัติงาน (ตัวชี้วัดในการปฏิบัติงาน)

การมีตัวอย่างที่พร้อมในการให้บริการการเรียนการสอนเป็นเป้าหมายหลักของการปฏิบัติงานในการให้บริการห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช โดยนักวิทยาศาสตร์ต้องเตรียมตัวอย่างให้เพียงพอสำหรับการทำปฏิบัติการ ดังนั้นก่อนการให้บริการการเรียนการสอน 1 เดือน ต้องมีไม้ขวดที่เนื้อเยื่อพัฒนาในระยะต่าง ๆ จำนวนขั้นต่ำต่อรายวิชาปฏิบัติการ ดังนี้

1. ระยะแคลลัส 100 ขวด เป็นตัวอย่างเพื่อทดสอบสารควบคุมการเจริญเติบโตในการชักนำแคลลัสและยอด
2. ระยะชักนำยอด 100 ขวด เป็นตัวอย่างเพื่อทดสอบสารควบคุมการเจริญเติบโตในการชักนำการเพิ่มปริมาณยอด
3. ระยะที่เป็นต้นพร้อมชักนำราก 100 ขวด เป็นตัวอย่างเพื่อทดสอบสารควบคุมการเจริญเติบโตในการชักนำราก

**ไม้ขวดที่เตรียมไว้ทั้งหมดต้องไม่ปนเปื้อนเชื้อราและแบคทีเรีย**

การให้บริการการเรียนการสอนรายวิชาปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช และรายวิชาอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องเพื่อเรียนรู้เรื่องการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เช่น วิชาการปรับปรุงพันธุ์พืช วิชานวัตกรรมการขยายพันธุ์พืชและเนื้อเยื่อ และวิชาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสมุนไพร เป็นต้น นักศึกษาต้องการเรียนรู้ในเรื่อง ห้องปฏิบัติการ วัสดุอุปกรณ์ เทคนิคปลอดเชื้อ การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การฟอกฆ่าเชื้อ การชักนำยอด การชักนำรากและการออกปลูก ยกตัวอย่างการให้บริการการเรียนการสอนรายวิชาเทคโนโลยีชีวภาพพืช (ผดุงศักดิ์ สุขสะอาด, 2562) มีรายละเอียดของปฏิบัติการและการให้บริการห้องปฏิบัติการและตัวอย่างเพื่อรองรับการเรียนการสอน คือ

**บทปฏิบัติการที่ 1 ห้องปฏิบัติการและการใช้เครื่องมือ**

ในบทปฏิบัติการนี้นักศึกษาเรียนรู้เกี่ยวกับห้องปฏิบัติการและการใช้เครื่องมือ การแบ่งพื้นที่ทำงานและสัดส่วนของห้องปฏิบัติการ เช่น ห้องเก็บสารเคมี ห้องเตรียมอาหาร ห้องย้ายเนื้อเยื่อ ห้องวางเลี้ยงเนื้อเยื่อ ห้องนักวิจัย และโซนล้างอุปกรณ์ เป็นต้น

**การเตรียม** นักวิทยาศาสตร์ดูแลความสะอาดเรียบร้อยทั่วไปของห้องปฏิบัติการ แนะนำระเบียบการใช้ห้องปฏิบัติการ ระบบความปลอดภัย เช่น ตำแหน่งถังดับเพลิง เส้นทางหนีไฟ จุดรวมพล นักวิทยาศาสตร์ตรวจเช็คการใช้งานหรือปรับความเที่ยงตรงของอุปกรณ์ก่อนการให้บริการเรียนการสอน มีคำแนะนำหรือคู่มือการใช้งานเครื่องมือประจำเครื่อง และเน้นย้ำให้มีการลงบันทึกการใช้งานทุกครั้งเพื่อประโยชน์ในการดูแลรักษาเครื่องมือให้ใช้งานอย่างยาวนานคุ้มค่า

**การใช้เครื่องมือ** อาจารย์ผู้สอนแนะนำเครื่องมือและการใช้เครื่องมือที่สำคัญ เช่น ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ ตู้อบฆ่าเชื้อ pH meter ตะเกียง กล้องจุลทรรศน์ มีดผ่าตัด ปากคีบ ซึ่งเป็นเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ติดตั้งหรือจัดวางเพื่อการใช้งานห้องปฏิบัติการตามปกติ

**บทปฏิบัติการที่ 2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชและการเตรียม**

ในบทปฏิบัติการนี้ นักศึกษาได้เรียนรู้เรื่องการเตรียมสารละลายเพื่อใช้ในการเตรียมอาหาร การเตรียมอาหารสูตร MS เพื่อนำไปใช้งานในบทที่ 3

**การเตรียม** นักวิทยาศาสตร์เตรียมอุปกรณ์ในการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ อาจจะแบ่งนักศึกษาเป็นกลุ่ม แต่ต้องได้อาหารเพียงพอสำหรับการใช้งานในบทที่ 3 คือ 20 ขวดต่อคน หรือประมาณ 250 มิลลิลิตรต่อคน ถ้าจัดนักศึกษา 4 ต่อกลุ่ม ก็เตรียมกลุ่มละ 1 ลิตร การเตรียมอุปกรณ์ วัสดุ เครื่องแก้ว จัดเตรียมตามปริมาตรที่นักศึกษาเตรียมในแต่ละกลุ่ม เช่น การเตรียม 1 ลิตร ต้องเตรียมไปเปตขนาด 10 และ 20 มิลลิลิตร เตรียมบิกเกอร์ขนาด 1 ลิตร เตรียมขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 80 ต่อกลุ่ม ส่วนอุปกรณ์และเครื่องมืออื่นๆ เช่น pH meter หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ นักศึกษาใช้งานร่วมกัน ในบทนี้ให้นักศึกษาเตรียมน้ำกลั่นสำหรับนึ่งฆ่าเชื้อเพื่อใช้งานในบทที่ 3 กลุ่มละ 15 ขวด

**บทปฏิบัติการที่ 3 การฟอกฆ่าเชื้อ**

ในบทปฏิบัติการนี้ นักศึกษาได้เรียนรู้เรื่องเทคนิคและวิธีการฟอกฆ่าเชื้อ เมล็ดเปียก เมล็ดแห้ง พืชหัวหรือลำต้นใต้ดิน และปลายยอดหรือแผ่นใบ นักศึกษาสามารถออกแบบวิธีการฟอกฆ่าเชื้อตามความรู้ที่เรียนมา ทำฟอกฆ่าเชื้อและวางเลี้ยงบนอาหารที่เตรียมจากบทที่ 2 นักศึกษาต้องมาเก็บผลปฏิบัติการต่อเนื่องเพื่อสังเกตการเปลี่ยนแปลงของเนื่อเยื่อทุกวัน เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 14 วัน

**การเตรียม** นักวิทยาศาสตร์เตรียมชิ้นส่วนพืช น้ำยาฟอกฆ่าเชื้อ อุปกรณ์การเตรียมสารฟอกฆ่าเชื้อ อุปกรณ์สำหรับการทำงานในตู้ย้ายเลี้ยง พื้นที่วางเลี้ยง ไฟแสงสว่างบนชั้นวางเลี้ยง อุณหภูมิห้องวางเลี้ยง และนัดแนะเวลาที่นักศึกษาจะเข้ามาเก็บผลปฏิบัติการ

**บทปฏิบัติการที่ 4 การชักนำให้เกิดแคลลัส**

ในบทปฏิบัติการนี้ นักศึกษาเรียนรู้เกี่ยวกับการชักนำแคลลัส การย้ายเลี้ยงแคลลัสและเก็บผลการทดลองต่อเนื่องเป็นเวลา 1 เดือน

**การเตรียม** นักวิทยาศาสตร์เตรียมพืชปลอดเชื้อเพื่อให้นักศึกษาทดลองย้ายเลี้ยงเพื่อชักนำการสร้างแคลลัสหรือเตรียมเนื้อเยื่อแคลลัสให้นักศึกษาทำการทดลองซึ่งในรายละเอียดของบทปฏิบัติการไม่ระบุชนิดพืช เตรียมพื้นที่ห้องมืดสำหรับวางเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยอาจจะใช้ผ้าดำกั้นแสงบนพื้นที่ชั้นวางเลี้ยง ในการเรียนการสอนบทปฏิบัติการนี้นักศึกษาต้องมีเวลามาเตรียมอาหารล่วงหน้า ซึ่งจะต้องนัดเวลามาเตรียมด้วยกันกับนักวิทยาศาสตร์ เนื่องจากนักศึกษาอาจจะยังไม่มีความชำนาญ ในการเตรียมล่วงหน้า นักศึกษาสามารถใช้สารละลาย สารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีประจำห้องปฏิบัติการ เป็นการใช้งานร่วมกันกับห้องปฏิบัติการ หลังใช้งานเสร็จให้นักศึกษาล้างทำความสะอาดและจัดเก็บให้เรียบร้อย

**บทปฏิบัติการที่ 5 การชักนำให้เกิดยอด**

ในบทปฏิบัติการนี้ นักศึกษาเรียนรู้เกี่ยวกับสูตรอาหาร ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการพัฒนายอดหรือกลุ่มตายอดของเนื้อเยื่อพืชในหลอดทดลอง ติดตามผลการทดลองทุก 2 วัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์

**การเตรียม** นักวิทยาศาสตร์เตรียมเนื้อเยื่อตายอดหรือกลุ่มตายอดในสภาพปลอดเชื้อเพื่อให้นักศึกษาทำการทดลอง เตรียมตู้ย้ายเลี้ยงและอุปกรณ์ให้พร้อมใช้งาน ในบทปฏิบัติการนี้นักศึกษาต้องมาเตรียมอาหารก่อนมีปฏิบัติการเช่นเดียวกับบทปฏิบัติการที่ 4 และบทปฏิบัติการที่ 6 สูตรอาหารที่ใช้ในบทนี้เป็นสูตรที่เหมาะกับพืชที่นักวิทยศาสตร์เตรียมไว้ในห้องปฏิบัติการ แต่มีการปรับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตให้สูงและต่ำกว่าปกติเพื่อให้นักศึกษาเห็นผลการทดลองชัดเจน

**บทปฏิบัติการที่ 6 การชักนำราก**

ในบทปฏิบัติการนี้นักศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการชักนำรากและการพัฒนาของรากในหลอดทดลอง รวมทั้งเทคนิคการเตรียมสารให้ปลอดเชื้อด้วยวิธีการกรอง

**การเตรียม** นักวิทยาศาสตร์เตรียมยอดที่มีขนาดไม่น้อยกว่า 1 เซนติเมตร จำนวน 30 ยอดต่อคน สาร IBA ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร (นักศึกษาทำให้ปลอดเชื้อด้วยการกรอง) อาหารชักนำราก 3 สูตร สูตรละ 10 ขวดต่อคน โดยนักศึกษามาเตรียมก่อนทำปฏิบัติการ

เตรียมตู้ย้ายเลี้ยงและอุปกรณ์ให้พร้อมใช้งาน นักศึกษาเก็บผลการทดลองทุก 2 วัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์

**บทปฏิบัติการที่ 7 การเพาะเลี้ยงโปรโตพลาสต์**

ในปฏิบัติการบทนี้ ต้องใช้เวลาในการทำปฏิบัติการ 4-6 ชั่วโมง จึงใช้การเรียนการสอนแบบสาธิต

**การเตรียม** นักวิทยาศาสตร์เตรียมโปรโตพลาสต์ตามรายละเอียดในบทปฏิบัติการ โดยเริ่มเตรียมก่อนการเรียนการสอนไม่น้อยกว่า 4 ชั่วโมง เช่น กรณีปฏิบัติการเริ่มในเวลา 13.00 น. ควรเริ่มเตรียมตั้งแต่เวลา 8.00 น. และบ่มเอนไซม์เพื่อสกัดโปรโตพลาสต์เวลา 09.00 น. เช็คผลทุกชั่วโมง เก็บภาพถ่าย หรือดูดเซลล์มาล้างเพื่อให้นักศึกษาเรียนหรือดูภาพโปรโตพลาสต์ใต้กล้อง

**บทปฏิบัติการที่ 8 การเตรียมต้นเพื่อย้ายปลูก**

ในบทปฏิบติการนี้ นักศึกษาได้เรียนรู้เกี่ยวกับขั้นตอนและความสำคัญของการเตรียมต้นเพื่อย้ายปลูก รวมทั้งปัจจัยที่มีผลต่อการรอดชีวิต

**การเตรียม** นักวิทยาศาสตร์เตรียมต้นไม้ขวดที่มีรากสมบูรณ์พร้อมออกปลูก วัสดุปลูก เช่น พีทมอส กระถาง พื้นที่วางเลี้ยงหรือโรงเรือน ถุงพลาสติกใหญ่เพื่อคลุมรักษาความชื้น นักศึกษาทำการทดลองและเก็บผลทุก 7 วันเป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยต้องมาดูแลทุกวัน

**บทปฏิบัติการที่ 9–12**

เนื่องจากในการทำปฏิบัติการแต่ละบท นักศึกษาต้องบันทึกผลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ดังนั้นนักศึกษาต้องใช้เวลาเก็บผลการทดลองต่อเนื่อง ทำรายงาน และสอบภาคปฏิบัติ

**การเตรียม** นักวิทยาศาสตร์ดูแลนักศึกษาที่มาเก็บผลการทดลองนอกเวลา ดูแลนักศึกษาล้างขวดเนื้อเยื่อและจัดเก็บวัสดุอุปกรณ์ทุกอย่างให้เข้าที่ ในกรณีที่ต้องใช้ตัวอย่างเพื่อสอบปฏิบัติ นักวิทยาศาสตร์ต้องเตรียมตัวอย่างเพื่อให้นักศึกษาใช้เป็นวัสดุพืชในการสอบเทคนิคปฏิบัติ

จากตัวอย่างบทปฏิบัติการดังกล่าว หากห้องปฏิบัติการไม่เตรียมตัวอย่างให้พร้อมตามที่กล่าวมา คือ แคลลัส ยอด และต้นสมบูรณ์ การทำปฏิบัติการในระยะเวลา 3 เดือน นักศึกษาทำได้เพียงการเตรียมพืชปลอดเชื้อ (clean culture) ส่วนขั้นตอนอื่น ๆ ไม่สามารถทำได้เนื่องจากไม่มีตัวอย่างปลอดเชื้อสำหรับทำการทดลอง การเรียนการสอนที่เกี่ยวข้องกับเทคโนโลยีชีวภาพพืชทุกรายวิชา เช่น การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสมุนไพร นวัตกรรมการปรับปรุงพันธุ์พืช นวัตกรรมการขยายพันธุ์และเนื้อเยื่อพืช เป็นต้น มีความรู้พื้นฐานที่นักศึกษาต้องเรียนรู้ไม่ต่างไปจากนี้ เนื่องจากเป็นขั้นตอนที่นักศึกษาต้องรู้และลงมือทำด้วยตนเอง แต่จะเสริมรายละเอียดอื่น ๆ ตามวัตถุประสงค์ของการเรียนรู้ของรายวิชา เช่น วิชาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสมุนไพรมีบทปฏิบัติการเกี่ยวกับการสกัดสารจากเนื้อเยื่อแคลลัส วิชา

นวัตกรรมการปรับปรุงพันธุ์พืชมีบทปฏิบัติการเกี่ยวกับการชักนำการกลายพันธุ์ในหลอดทดลอง วิชานวัตกรรมการขยายพันธุ์และเนื้อเยื่อพืชมีบทปฏิบัติการการขยายพันธุ์แบบมาตรฐานและการทดสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ ซึ่งรายละเอียดเหล่านี้ นักวิทยาศาสตร์สามารถตรวจสอบได้จากคู่มือปฏิบัติการของแต่ละรายวิชา

จากการให้บริการรายวิชาปฏิบัติการที่ผ่านมา พบว่าการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อประจำห้องปฏิบัติการให้พร้อมและเพียงพอเพื่อรองรับการเรียนการสอน เป็นกิจกรรมที่สำคัญในการให้บริการห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืชเพื่อให้นักศึกษาได้เรียนรู้กระบวนการผลิตพืชปลอดเชื้อได้อย่างครบถ้วน เป็นเป้าหมายที่สำคัญในการให้บริการการเรียนการสอนเพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์ของศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ตามข้อตกลงร่วมระหว่างผู้บริหารและนักวิทยาศาสตร์ คือ

1. สามารถให้บริการได้ครบทุกรายวิชาที่เปิดให้บริการ

2. สามารถให้บริการได้ครบตามรายละเอียดของบทปฏิบัติการในแต่ละรายวิชา

3. ผลการประเมินจากอาจารย์และนักศึกษาไม่น้อยกว่า 85 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีการประเมินผ่านระบบออนไลน์ (ระบบประเมินวิชาปฏิบัติการ, ม.ป.ป.) โดยประเมินในด้านต่าง ๆ ดังนี้

**1) เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ** ประเมินในด้านความรู้ความสามารถในการปฏิบัติงาน การให้ข้อมูลเกี่ยวกับห้องปฏิบัติการ การวางแผนและการประสานงาน อัธยาศัยและการบริการ ความสะดวกในการติดต่อเจ้าหน้าที่

**2) ห้องปฏิบัติการ** ประเมินในด้านความพร้อมของครุภัณฑ์ ความพร้อมของวัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี ความสะอาดและความเป็นระเบียบเรียบร้อย

**3) การจัดการความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ** ประเมินในด้านการให้ข้อมูลเกี่ยวกับความปลอดภัย ความพร้อมของอุปกรณ์ความปลอดภัย การจัดการสารเคมี ของเสีย และขยะ

**4) คุณภาพโดยรวม** ประเมินในด้านความพึงพอใจโดยรวมในการใช้บริการ

ผลการประเมินที่ได้จากระบบออนไลน์ (ภาคผนวกที่ 2) เจ้าหน้าที่วิเคราะห์ระบบจะส่งมาให้นักวิทยาศาสตร์ เพื่อรับทราบ ปรับปรุง แก้ไข หากมีประเด็นอื่นใดที่นักวิทยาศาสตร์ไม่สามารถดำเนินการแก้ไขได้ด้วยตนเอง สามารถปรึกษาฝ่ายบริหาร โดยหัวหน้าฝ่ายรับเรื่องแล้วเข้าที่ประชุมบริหารเพื่อหาแนวทางในการทางแก้ปัญหาเพื่อพัฒนาการให้บริการให้สมบูรณ์ต่อไป

### 4.2 เทคนิคในการวางแผน/แผนกลยุทธ์ในการปฏิบัติงาน

การเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อเพื่อรองรับการเรียนการสอนประจำห้องปฏิบัติการ มีเทคนิคในการวางแผนการทำงานตามขั้นตอนต่าง ๆ ดังนี้

**ตารางที่ 4.1** แผนปฏิบัติงานตามขั้นตอนการทำงานการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อ ประจำห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช

| กิจกรรม | รายละเอียดกิจกรรม | เป้าหมาย / ตัวชี้วัด |
|---|---|---|
| **ขั้นตอนที่ 1** การคัดเลือกพืชและเตรียมต้นให้ปลอดเชื้อก่อนนำมาฟอกฆ่าเชื้อ (อย่างน้อย 6 เดือนก่อนให้บริการปฏิบัติการ) | | |
| 1. การเลือกชนิดพืช | พืชที่ตอบสนองต่อสารควบคุมเจริญเติบโตดี | เจริญเติบโตรวดเร็ว |
| 2. การเตรียมก่อนฟอกฆ่าเชื้อ | ให้น้ำที่โคนต้น งดน้ำ | ลดการปนเปื้อน |
| **ขั้นตอนที่ 2** การฟอกฆ่าเชื้อ (อย่างน้อย 6 เดือนก่อนให้บริการปฏิบัติการ) | | |
| 1. ชิ้นส่วนที่เหมาะสม | ทดสอบชิ้นส่วนที่ขยายพันธุ์ได้ดี | ขยายพันธุ์ได้ |
| 2. ความเข้มข้นของสารฟอกฆ่าเชื้อ | ทดสอบความเข้มข้นของสาร | เนื้อเยื่อรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ |
| 3.วิธีการฟอกฆ่าเชื้อ | ทดสอบวิธีการฟอกฆ่าเชื้อ | เนื้อเยื่อไม่ปนเปื้อน 100 เปอร์เซ็นต์ |
| **ขั้นตอนที่ 3** การวางเลี้ยงในสูตรอาหารที่เหมาะสม (ทดสอบสูตรอาหารชักนำแคลลัส/ยอด) | | |
| 1. สูตรอาหาร | ทดสอบสูตรอาหาร | เนื้อเยื่อพัฒนาเป็นแคลลัส/ยอด |
| 2.ระยะเวลาการวางเลี้ยง | บันทึกอัตราการขยายพันธุ์/การพัฒนา | จำนวนชิ้นส่วนเพียงพอ |
| **ขั้นตอนที่ 4** การเพิ่มปริมาณยอด/แคลลัส (ย้ายเลี้ยงเพิ่มปริมาณในสูตรอาหารที่เหมาะสม) | | |
| 1. สูตรอาหาร | บันทึกอัตราการขยายพันธุ์ | จำนวนชิ้นส่วนเพียงพอ |
| 2. ระยะการวางเลี้ยง | อัตราการขยายพันธุ์/การพัฒนาของเนื้อเยื่อ | จำนวนและระยะของเนื้อเยื่อพืชเพียงพอ |
| 3. เทคนิคการย้ายเลี้ยง | แรงงานและความสิ้นเปลือง | แรงงานคุ้มค่า/เนื้อเยื่อเพียงพอ |
| **ขั้นตอนที่ 5** การชักนำราก (จำนวนต้นที่สมบูรณ์เพียงพอสำหรับนักศึกษา) | | |
| 1. การพัฒนาเป็นต้นสมบูรณ์ | ทดสอบสูตรอาหาร/ลดสูตรอาหาร | พืชพัฒนาเป็นต้นสมบูรณ์ |
| 2. การชักนำราก | ทดสอบสูตรอาหาร (MS+IBA) | มีรากสมบูรณ์ ≥80 เปอร์เซ็นต์ |
| **ขั้นตอนที่ 6** การออกปลูก | | |
| 1. การเตรียมต้นก่อนปลูก | ปรับสภาพไม้ขวด | ต้นรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ |
| 2. การออกขวด | ออกขวด ล้างรากให้สะอาด | ต้นรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ |
| 3. วัสดุปลูก | ศึกษาวัสดุปลูก | ต้นรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ |
| 4. การดูแลหลังออกปลูก | ศึกษาการให้น้ำ การรักษาความชื้น แสง | ต้นเจริญเติบโต/แจก/จำหน่าย |

จากแผนการแผนปฏิบัติงานตามขั้นตอนการทำงานการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อเพื่อรองรับการเรียนการสอนประจำห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืชดังกล่าวข้างต้น มีรายละเอียดการทำงานให้ประสบผลสำเร็จ ดังนี้

**1) การคัดเลือกพืชและเตรียมต้นให้ปลอดเชื้อก่อนนำมาฟอกฆ่าเชื้อ**

ตามปกติพืชที่เจริญเติบโตในแปลงปลูก เป็นพืชที่มีการปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรียตามสภาพธรรมชาติ ในการคัดเลือกพืชหรือชิ้นส่วนพืชเพื่อนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จึงต้องมีข้อควรระวัง ดังนี้

**1.1) ชิ้นส่วนยอดหรือใบ** ในการเตรียมชิ้นส่วนพืชหากมีความจำเป็นต้องนำชิ้นส่วนยอดหรือใบมาใช้ ให้เลือกเก็บใบในช่วงฝนทิ้งช่วงไม่น้อยกว่า 1 สัปดาห์ หรือถ้าต้นมีขนาดไม่โตมาก นำต้นปลูกลงกระถางแล้วเลี้ยงใต้โรงเรือนหลังคากันฝนเพื่อป้องกันปัญหาจากการที่ต้นพืชโดนฝน ทำให้มีการปนเปื้อนเชื้อราและแบคทีเรียทำให้การฟอกฆ่าเชื้อให้เป็นชิ้นส่วนพืชที่ปลอดเชื้อเพื่อนำไปวางเลี้ยงสำเร็จได้ยาก โดยเฉพาะพืชที่มีขนบริเวณใบหรือยอดต้องมีการเตรียมต้นด้วยการรดน้ำไม่ให้โดนแผ่นใบเป็นเวลาไม่น้อยกว่า 15 วัน หรืออาจจะต้องมีการสเปรย์สารป้องกันเชื้อรา เช่น คอปเปอร์ซัลเฟต เพื่อให้มีเชื้อราปนเปื้อนน้อยที่สุด ในการเลือกยอดหรือแผ่นใบมาฟอกฆ่าเชื้อต้องเลือกชิ้นส่วนที่ไม่มีแผลที่เกิดจากการทำลายของโรคหรือแมลงศัตรู

**1.2) ชิ้นส่วนรากหรือหัว** ในการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อ หากต้องฟอกฆ่าเชื้อส่วนรากหรือหัวของพืช ให้ถอนและล้างรากหรือหัวที่จำนำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยน้ำประปาให้สะอาดแล้วล้างอีกรอบด้วยน้ำยาล้างจาน อาจจะตัดแต่งบางส่วนทิ้งไปเพื่อให้ทำความสะอาดได้ง่ายแล้วล้างออกด้วยน้ำประปา 2-3 ครั้งให้สะอาด หลังทำความสะอาดเสร็จก็ผึ่งลมไว้ให้ความชื้นระเหยออก กรณีที่พืชหัวบางชนิดมีซอกใบซ้อนกันเป็นชั้น ๆ อาจจะลอกกาบใบออกครึ่งหนึ่งก่อนหลังจากทำความสะอาดและผึ่งลมไว้จนแห้ง ค่อย ๆ ลอกกาบออกอีก 1-2 ชั้น เหลือกาบใบไว้บางส่วนเพื่อไว้สำหรับปิดเนื้อเยื่อส่วนยอดป้องกันการถูกทำลายจากการฟอกฆ่าเชื้อ ซึ่งกาบใบที่เหลือไว้จะลอกออกหลังจากเสร็จกระบวนการฟอกฆ่าเชื้อ ทั้งนี้ระยะเวลาในการผึ่งลมขึ้นอยู่กับชนิดของพืช อาจจะใช้เวลา 2 สัปดาห์ หรือ 1 เดือน อย่างไรก็ตาม หากพืชมีอาการเหี่ยวมากระหว่างการผึ่งลมให้จุ่มรากในน้ำสะอาดเพื่อไม่ให้ต้นพืชเหี่ยวจนตาย

**2) การฟอกฆ่าเชื้อ**

การฟอกฆ่าเชื้อเป็นขั้นตอนสำคัญในการเตรียมตัวอย่างชิ้นส่วนพืช โดยมีสิ่งที่ต้องคำนึงในการวางแผนการฟอกฆ่าเชื้อ คือ ชนิดและชิ้นส่วนพืชที่เหมาะสมกับความเข้มข้นของสารที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ ในการทำงานของนักวิทยาศาสตร์ประจำห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช

มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ ใช้การฟอกฆ่าเชื้อด้วยไฮเตอร์ความเข้มข้น 20-30 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 30-40 นาที ส่วนพืชที่มีโอกาสติดเชื้อหรือมีการปนเปื้อนสูง เช่น หัวของบอนสี หน่อกล้วย และหน่อสับปะรด เป็นต้น ใช้วิธีการฟอกซ้ำสองรอบโดยรอบแรกฟอกด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ ความเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 40 นาที รอบที่ 2 ฟอกด้วยคลอร็อกซ์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เวลา 10 นาที หลังจากฟอกฆ่าเชื้อด้วยเทคนิคปลอดเชื้อเสร็จ ให้ตัดแต่งส่วนของเนื้อเยื่อที่เสียหายทิ้ง ตัดแต่งชิ้นส่วนพืชให้มีขนาดตามความต้องการแล้ววางเลี้ยงในสูตรอาหารที่เหมาะสม

**3) การวางเลี้ยงในสูตรอาหารที่เหมาะสม**

การวางเลี้ยงในสูตรอาหารที่เหมาะสม สูตรอาหารที่เหมาะสมเป็นข้อมูลที่ได้จากกทดลอง นักวิทยาศาสตร์สามารถทดสอบการตอบสนองของชิ้นส่วนพืชต่อสูตรอาหารสูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งรายละเอียดของสูตรอาหารมีความหลากหลาย (เอกสารแนบ 5) นอกจากชนิดของสูตรอาหารแล้ว ชนิดของสารควบคุมการเจริญและความเข้มข้น ตลอดจนความสัมพันธ์ของชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ทำงานร่วมกัน (combination) มีผลต่อการพัฒนาของเนื้อเยื่อพืชแต่ละชนิด

**4) การเพิ่มปริมาณยอด/แคลลัส**

ในการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อเพื่อรองรับการเรียนการสอนประจำห้องปฏิบัติการ นักวิทยาศาสตร์ต้องประสานกับอาจารย์ผู้สอนเกี่ยวกับรายละเอียดการทำปฏิบัติการตามแผนที่จะให้นักศึกษาทดลอง ซึ่งขั้นตอนการเตรียมแคลลัสในพืชบางชนิด สามารถเก็บรักษาตัวอย่างไว้ได้ด้วยการใช้อาหารเพาะเลี้ยงที่เหมาะสม แต่พืชบางชนิดที่มีการพัฒนาของแคลลัสอย่างต่อเนื่องจนเป็นตายอด (shoot primordia) การย้ายเลี้ยงแต่ละครั้งตายอดจะเจริญเติบโตเป็นพืชต้นใหม่ นักวิทยาศาสตร์ควรมีการวางแผนระยะเวลาในการใช้งานเนื้อเยื่อแต่ละระยะและปรับตัวอย่างให้เหมาะสมกับบทเรียนหรือมีการ ประสานงานกับอาจารย์ผู้สอนเรื่องรายละเอียดในการใช้ตัวอย่างเพื่อการเรียนการสอนอย่างละเอียด

**5) การชักนำราก**

เมื่อต้นพืชที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีการเจริญเติบโตเป็นต้นสมบูรณ์ คือ มีลำต้นและใบพร้อมสำหรับการชักนำการสร้างราก พืชส่วนใหญ่สามารถชักนำการสร้างรากได้โดยใช้วิธีการวางเลี้ยงยอดที่สมบูรณ์ในอาหารสูตร MS เติม IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร การวางเลี้ยงยอดในอาหารสูตรดังกล่าวสามารถชักนำรากได้ภายในระยะเวลา 1 เดือน

**6) การออกปลูก**

การออกปลูกเป็นขั้นตอนที่สำคัญอีกขั้นตอนหนึ่ง ในการดำเนินการตามขั้นตอนข้างต้น ถ้าหากไม่สามารถออกปลูกได้ในสภาพแปลงปลูกก็ถือว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชไม่ประสบความสำเร็จในการขยายพันธุ์พืชด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เมื่อได้จำนวนต้นตามที่ต้องการ ก็สามารถนำต้นที่ได้

ไปปลูกในสภาพธรรมชาติเหมือนกับพืชทั่วไป กระบวนการออกปลูกเริ่มต้นด้วยการให้ต้นไม้ปรับสภาพในโรงเรือนอนุบาล บางชนิดอาจจะต้องนำขวดมาวางเลี้ยงในโรงเรือนพรางแสง เพื่อให้ต้นอ่อนจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถปรับตัวกับสภาพแปลงปลูกอุณหภูมิและแสงภายนอก หลังจากนั้นจึงเปิดขวดเพื่อดึงต้นออกมาแล้วล้างวุ้นที่ติดกับรากออกให้สะอาด นำไปปลูกในวัสดุปลูกที่เหมาะสมตามชนิดพืช เช่น กาบมะพร้าวสับ ขุยมะพร้าว สแฟรกนั่มมอสและเวอร์มิคูไลท์ เป็นต้น การเลือกชนิดของวัสดุปลูกขึ้นอยู่กับความเหมาะสมในด้านคุณภาพและต้นทุน ซึ่งอาจจะให้นักศึกษาได้ทำการทดลองเพื่อเก็บข้อมูลอัตราการรอดชีวิตหลังออกปลูกในวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ โดยศึกษาชนิดวัสดุปลูก การจัดการเรื่องแสงและความชื้นต่ออัตราการรอดชีวิตของไม้ขวด แต่ในการทำงานเบื้องต้นทางห้องปฏิบัติการควรทำการทดลอง เพื่อทดสอบวัสดุปลูกที่เหมาะสมก่อนจะออกปลูกเป็นปริมาณมาก เพื่อป้องกันการสูญเสียในกรณีเกิดปัญหา เช่น วัสดุชื้นเกินไป ระบายน้ำไม่ดี หรือแสงน้อยเกินไป เป็นต้น หลังจากปลูกแล้วต้องให้น้ำและรักษาความชื้นต้นอ่อนจนกว่าพืชสามารถตั้งตัว สามารถใช้วิธีการคลุมถุงเพื่อเก็บกักความชื้นแล้วค่อยเปิดถุงออกตอนกลางคืนจนต้นอ่อนตั้งตัวได้ สามารถเจริญเติบโตเพื่อให้ผลผลิตต่อไป

การปฏิบัติงานในขั้นตอนปลอดเชื้อ ต้องทำงานในพื้นที่เฉพาะคือต้องมีตู้ปลอดเชื้อ และชิ้นส่วนพืชหรือเนื้อเยื่อที่ได้ ต้องวางเลี้ยงในห้องวางเลี้ยง (ภาพที่ 4.1 ) ควบคุมอุณหภูมิที่ 25±1 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 2,000-3,000 ลักซ์

**ภาพที่ 4.1** ลักษณะของห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์
A ตู้ปลอดเชื้อ B ห้องวางเลี้ยงควบคุมอุณหภูมิ

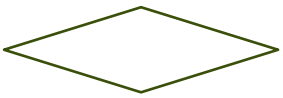
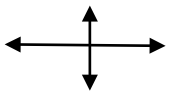
### 4.3 เทคนิคในการปฏิบัติงานแต่ละขั้นตอนการปฏิบัติงาน

ก่อนการเปิดให้บริการการเรียนการสอนรายวิชาปฏิบัติการ นักวิทยาศาสตร์ต้องประเมินความพร้อมในการให้บริการห้องปฏิบัติการในเรื่องตัวอย่างสำหรับการเรียนการสอนล่วงหน้าไม่น้อยกว่า 6 เดือน ควรอ่านรายละเอียดบทปฏิบัติการแต่ละรายวิชาและตรวจเช็คสารเคมี เครื่องมือ อุปกรณ์ และครุภัณฑ์ให้พร้อม เมื่อเสร็จสิ้นการให้บริการ นักศึกษาที่มาใช้ห้องปฏิบัติการต้องมีการประเมินความพึงพอใจหลังให้บริการรายวิชาปฏิบัติการ (ผ่านระบบออนไลน์) หากมีข้อเสนอแนะหรือปัญหาอุปสรรค

จากการประเมินของนักศึกษา นักวิทยาศาสตร์ต้องเสนอแนวทางในการแก้ไขผ่านหัวหน้าฝ่าย เพื่อนำเข้าที่ประชุมคณะกรรมการบริหารศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีได้รับทราบและแก้ไขเพื่อปรับปรุงและพัฒนาการเรียนการสอนต่อไป

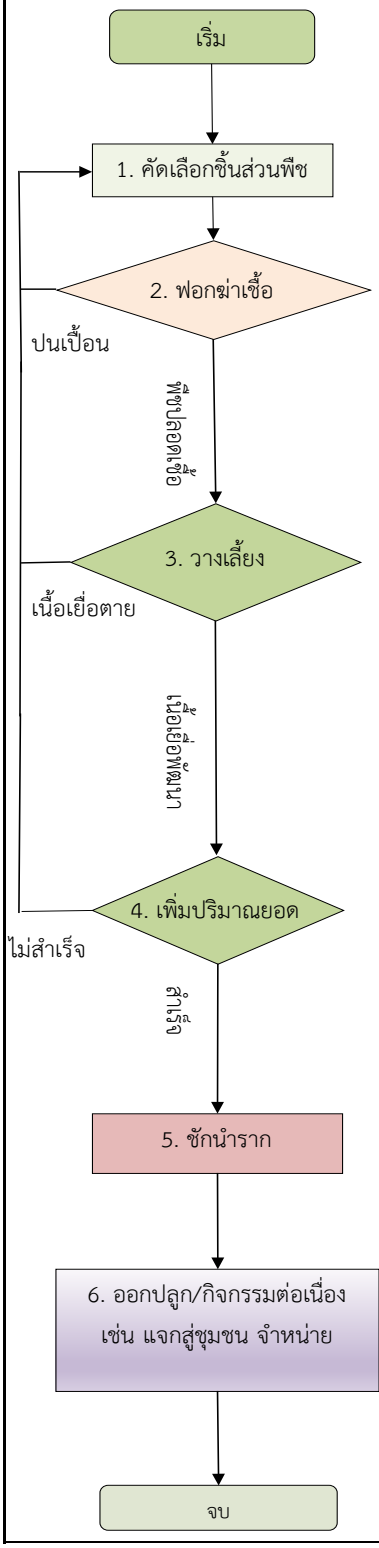
ในส่วนรายละเอียดการปฏิบัติงานเพื่อเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อประจำห้องปฏิบัติการ มีขั้นตอนและระยะเวลาตามผังงานโดยมี สัญลักษณ์ ชื่อเรียก และความหมายของผังงาน (ตารางที่ 4.2) และขั้นตอนการปฏิบัติงาน (ตารางที่ 4.3) ที่นักวิทยาศาสตร์ต้องศึกษาเพื่อเป็นแนวทางในการปฏิบัติงาน ดังนี้

**ตารางที่ 4.2** สัญลักษณ์การเขียนผังงานโดยสถาบันแห่งชาติอเมริกัน

| ลำดับที่ | สัญลักษณ์ | ชื่อ | ความหมาย |
|---|---|---|---|
| 1 | | Terminal | แสดงจุดเริ่มต้นหรือสิ้นสุดของงาน |
| 2 | | Processing | การประมวลผล หรือการทำงาน |
| 3 |  | Decision | การเปรียบเทียบเงื่อนไขเพื่อตัดสินใจ |
| 4 |  | Arrow | การแสดงทิศทางและลำดับของการทำงาน |

ที่มา : ดัดแปลงจาก สัญลักษณ์ที่ใช้ในการเขียนผังงาน (เทคนิคการเขียนขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Flowchart) ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์, พฤศจิกายน 2567)

**ตารางที่ 4.3** ขั้นตอนและระยะเวลาในการปฏิบัติงานการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อ

| ผังกระบวนการ | รายละเอียดงาน | เอกสารที่เกี่ยวข้อง | ระยะเวลา |
|---|---|---|---|
|  | | | |
| | **1. คัดเลือกพืช** การเตรียมต้นให้ปลอดเชื้อ การดูแลก่อนนำมาฟอกฆ่าเชื้อ | | 7-15 วัน |
| | **2. ฟอกฆ่าเชื้อ** ใช้เทคนิคปลอดเชื้อในห้องปฏิบัติการ ศึกษาความเข้มข้นและเวลาในการฟอก | คู่มือปฏิบัติการวิชา เทคโนโลยีชีวภาพพืช, นวัตกรรมการขยายพันธุ์พืชและเนื้อเยื่อ, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสมุนไพร | 1 วัน |
| | **3. วางเลี้ยงในสูตรอาหารที่เหมาะสม** ทดสอบการตอบสนองของชิ้นส่วนพืช กับอาหารสูตรต่าง ๆ และการพัฒนาของเนื้อเยื่อพืช | | 30-60 วัน |
| | **4. เพิ่มปริมาณยอด** ทดสอบการตอบสนองของยอดและแคลลัสในสูตรอาหาร | | 180 วัน |
| | **5. ชักนำราก** วางเลี้ยงในสูตร MS IBA หรือจุ่มแช่ IBA เพื่อชักนำราก | | 30 วัน |
| | **6. ออกปลูก** การเตรียมต้นให้ปรับสภาพ วัสดุปลูก การดูแลรักษาหลังออกปลูก การแจกหรือการจำหน่าย | โครงการวิสาหกิจศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี | 60 วัน |
| | | | |

**4.3.1 รายละเอียดของการปฏิบัติงานแต่ละขั้นตอน**

จากขั้นตอนการปฏิบัติตามคู่มือปฏิบัติงานการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อเพื่อรองรับการเรียนการสอนประจำห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช (ตารางที่ 4.2) สามารถอธิบายรายละเอียดการปฏิบัติงานตามขั้นตอนต่าง ๆ ในการเตรียมชิ้นส่วนพืชปลอดเชื้อเพื่อให้ประสบความสำเร็จ โดยมีรายละเอียดลำดับขั้นตอนและวิธีการปฏิบัติตามที่แสดงในแผนผัง ดังนี้

**1) การคัดเลือกพืชและเตรียมต้นให้ปลอดเชื้อก่อนนำมาฟอกฆ่าเชื้อ**

ในการคัดเลือกชนิดพืช นอกจากจะเป็นพืชที่ตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญได้ดีแล้ว ควรจะเป็นพืชที่มีมูลค่าทางเศรษกิจหรือตามสมัยนิยมแล้ว เพื่อให้นักศึกษาสามารถเห็นผลการทดลองได้ชัดเจน ซึ่งควรมีเทคนิคในการคัดเลือกพืช ดังนี้

1.1) กลุ่มพืชอวบน้ำ หรือไม้ดอก เป็นพืชในกลุ่มที่สามารถตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตได้ดีอาจจะเป็น เช่น เยอบีร่า กล็อกซิเนีย กล้วย ทั้งนี้เพื่อให้นักศึกษาสามารถทำการทดลองได้ในเวลา 1 เดือน เห็นการตอบสนองของเนื้อเยื่อได้อย่างชัดเจน

1.2) กลุ่มพืชใบเลี้ยงเดี่ยว เนื่องจากพืชในกลุ่มนี้มีความสามารถในการตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตแตกต่างจากกลุ่มที่ 1 นักศึกษาสามารถทำการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบชนิดพืชในกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 ในการตอบสนองต่อสารความคุมการเจริญเติบโตชนิดเดียวกัน

1.3) กลุ่มไม้เนื้อแข็ง เนื่องจากพืชในกลุ่มไม้เนื้อแข็งส่วนใหญ่เจริญเติบโตได้ดีในอาหารสูตร WPM (woody plant medium) ซึ่งแตกต่างจากพืชในกลุ่มที่ 1 และ กลุ่มที่ 2 ที่ส่วนใหญ่สามารถเจริญเติบโตได้ดีในการวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ทำให้นักศึกษาสามารถทดสอบความแตกต่างระหว่างสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและผลการตอบสนองของเนื้อเยื่อ จากการวางเลี้ยงพืชในกลุ่มไม้เนื้อแข็ง ทั้งนี้ เพื่อเป็นการเพิ่มประสบการณ์ในการทำงานทดลองและการพัฒนากระบวนการคิดและมุมมองในการทำปฏิบัติการเรื่องการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชให้กับนักศึกษา ส่วนการเตรียมต้นให้ปลอดเชื้อ อาจจะใช้วิธีการต่าง ๆ เช่น งดการให้น้ำ อย่าให้ต้นโดนฝน ถอนต้นมาทำความสะอาดก่อนการฟอกฆ่าเชื้อ 1 สัปดาห์ เป็นต้น

**2) การฟอกฆ่าเชื้อ**

เป็นขั้นตอนการนำตัวอย่างพืชมาฟอกฆ่าเชื้อโดยมีขั้นตอนการฟอกฆ่าเชื้อ ดังนี้

2.1) ล้างด้วยน้ำประปาโดยใช้น้ำยาล้างจานด้วยการล้างแบบน้ำไหลผ่านเพื่อให้เนื้อเยื่อเกิดรอยช้ำน้อยที่สุด เป็นการชำระความสกปรกและการปนเปื้อน

2.2) จุ่มแช่ในสารละลายแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1-2 นาที เพื่อฆ่าเชื้อพื้นผิวภายนอก ระยะเวลาในการจุ่มแช่ขึ้นอยู่กับชนิดของเนื้อเยื่อ เช่น เมล็ดแห้งอาจจุ่มแช่ได้ 2 นาที ในขณะที่ใบอ่อนอาจจะจุ่มแช่ได้ไม่เกิน 1 นาที การจุ่มแช่แอลกอฮอล์นานเกินไปจะทำให้เนื้อเยื่อถูกทำลาย จะเห็นรอยชัดเมื่อผ่านการกระบวนการการฟอกฆ่าเชื้อ

2.3) ฟอกเนื้อเยื่อด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ ความเข้มข้น 15–30 เปอร์เซ็นต์ ใช้เวลาในการฟอกฆ่าเชื้อ 20–40 นาที แตกต่างกันตามชนิดของเนื้อเยื่อ

2.4) ตัดแต่งเนื้อเยื่อเพื่อนำไปวางเลี้ยง หลังจากฟอกด้วยคลอร็อกซ์ครบตามระยะเวลาที่กำหนด ต้องล้างเนื้อเยื่อด้วยวิธีการปราศจากเชื้อ แล้วตัดแต่งชิ้นส่วนก่อนนำไปวางเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เหมาะสมเพื่อชักนำการพัฒนาของเนื้อเยื่อตามความต้องการ

ในพื้นฐานการฟอกฆ่าเชื้อของนักวิทยาศาสตร์ ใช้วิธีการฟอกฆ่าเชื้อด้วยไฮเตอร์ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 30-40 นาที ส่วนพืชที่มีโอกาสติดเชื้อหรือปนเปื้อนสูง เช่น หัวของบอนสี หน่อกล้วยและหน่อสับปะรด เป็นต้น ใช้วิธีการฟอกซ้ำสองรอบ โดยรอบแรกใช้เวลา 40 นาที และรอบที่ 2 ใช้เวลา 10 นาที หลังจากฟอกฆ่าเชื้อตามเทคนิคปลอดเชื้อเสร็จให้ตัดแต่งส่วนของเนื้อเยื่อที่เสียหายทิ้ง ตัดแต่งชิ้นส่วนพืชที่จะวางเลี้ยงให้มีขนาดตามต้องการ แล้ววางเลี้ยงในสูตรอาหารที่เหมาะสม ในพืชบางชนิดที่ฟอกฆ่าเชื้อยาก อาจจะใช้วิธีการฟอกเมล็ดแล้ววางเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อก่อนจะตัดข้อหรือชิ้นส่วนอื่น ๆ มาทดสอบสูตรอาหาร

**3) การวางเลี้ยงในสูตรอาหารที่เหมาะสม**

การวางเลี้ยงในสูตรอาหารที่เหมาะสมเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สูตรอาหารที่เหมาะสมเป็นข้อมูลที่ได้จากการทดลอง นักวิทยาศาสตร์สามารถทดสอบการตอบสนองของชิ้นส่วนพืชต่อสูตรอาหารสูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งรายละเอียดสารเคมีที่ใช้ในแต่ละสูตรอาหารมีความหลากหลาย (ภาคผนวกที่ 5) นอกจากชนิดของสูตรอาหารแล้ว ชนิดของสารควบคุมการเจริญและความเข้มข้น ตลอดจนความสัมพันธ์ของชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ทำงานร่วมกัน (combination) เป็นปัจจัยที่มีผลต่อการพัฒนาเนื้อเยื่อแต่ละชนิด สารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืชที่สำคัญและมีการใช้ประจำห้องปฏิบัตการ มี 3 กลุ่ม คือ

1) สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน เช่น benzyladenine Benzylaminopurine และ thiduazuron เป็นต้น
2) สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน เช่น indolbyrtyric acid และ indoleacetic acid เป็นต้น

3) สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มอื่น ๆ เช่น gibberellic acid

การวางเลี้ยงในระยะเริ่มต้นสามารถทดลองวางเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อบนอาหารสูตร MS เติม BA (N6-benzyl aminopurine) ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร ผงวุ้น 7 กรัมต่อลิตรเพื่อคัดเลือกเนื้อเยื่อที่ปลอดเชื้อไปวางเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำยอดรวมหรือแคลลัส ในกรณีที่มีสูตรอาหารที่เหมาะสมแล้ว หลังจากฟอกฆ่าเชื้อเสร็จสามารถวางเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อชักนำยอดหรือแคลลัสในสูตรอาหารที่เหมาะสมตามชนิดของพืชนั้น ๆ

ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อความสำเร็จในการวางเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอีกปัจจัย คือ สูตรอาหาร นักวิทยาศาสตร์ต้องมีความรู้ในการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (plant media) และการเตรียมสารควบคุมการเจริญเติบโต (plant growth regulator) สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีหลากหลายชนิด สูตรที่เป็นพื้นฐานในการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อคือสูตร MS ซึ่งประกอบด้วยสารเคมีจำนวน 19 ตัว ปริมาณสารเคมีอาจจะแตกต่างกันในแต่ละสูตรอาหาร (ภาคผนวกที่ 5) ในการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสูตร MS ต้องแบ่งสารเคมีออกเป็นกลุ่ม เตรียมเป็นสารละลายความเข้มข้นสูงเพื่อความสะดวกในการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สารเคมีบางตัวต้องใช้ความเข้มข้นสูงทั้งในรูปแบบธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรองและวิตามิน (ภาคผนวกที่ 6) การเตรียมสารละลายเข้มข้นในห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืชมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ แบ่งสารเคมีสูตร MS ออกเป็น 6 กลุ่ม ตามความสามารถในการเข้ากันได้ของสารเคมี (ตารางที่ 4.4)

**ตารางที่ 4.4** การแบ่งสารเคมีในการเตรียมสารละลายเข้มข้นของอาหารสูตร MS ของห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

| สารละลาย | ชื่อสารเคมี | ปริมาณสาร/ลิตร (mg/L) | เข้มข้น (เท่า) |
|---|---|---|---|
| MS A1 | Ammonium nitrate ($NH_4NO_3$) | 82,500 | 50 |
| | Potassium nitrate ($KNO_3$) | 95,000 | |
| MS A2 | Monopotassium phosphate ($KH_2PO_4$ | 8,500 | 50 |
| | Manganese(II) sulfate ($MnSO_4$. $4H_2O$ | 345 | |
| | Potassium iodide (KI) | 41.5 | |
| | Boric acid ($H_3BO_3$) | 310 | |
| | Zinc sulfate ($ZnSO_4.7H_2O$) | 307 | |
| | Sodium molybdate ($Na_2MoO_4$ . $2H_2O$) | 12.5 | |
| | Copper sulfate ($CuSO_4.5H_2O$) | 1.25 | |
| | Cobalt chloride ($CoCl_2$. 6H2O) | 1.25 | |
| MS B | Calcium chloride ($CaCl2.2H_2O$) | 44,000 | 100 |
| MS C | Magnesium sulfate ($MgSO_4$. $7H_2O$) | 37,000 | 100 |
| MS D | Ethylenediaminetetraacetic acid ferric sodium (FeNaEDTA) | 7,460 | 100 |
| | Ferrous sulfate ($FeSO_4$. $7H_2O$) | 5,560 | |
| MS organic | Glycine | 400 | 200 |
| | Nicotinic Acid | 100 | |
| | Pyridoxine - HCl | 100 | |
| | Thiamine - HCl | 20 | |
| | Myo-Inositol | 20,000 | |

ในการเตรียมสารละลายเข้มข้นต้องชั่งสารตามปริมาณที่ต้องการและละลายทีละตัวจนครบตามจำนวนสารในสารละลายเข้มข้นนั้น ๆ เช่น ในการเตรียมสารละลายเข้มข้น MS A1 ต้องชั่งสาร ammonium nitrate ปริมาณ 85 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตรประมาณ 700 มิลลิลิตร คนจนกระทั่งสาร ammonium nitrate ละลายหมดจึงชั่ง potassium nitrate ปริมาณ 95 กรัม เติมลง

ไป แล้วคนจนกระทั่งสาร potassium nitrate ละลายหมดแล้วจึงปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1 ลิตรเป็นต้น การเตรียมสารละลายตัวอื่น ๆ ในห้องปฏิบัติการก็ทำเช่นเดียวกัน สารเคมีทุกตัวที่เตรียมไว้ในรูปแบบสารละลายเข้มข้นต้องเก็บในตู้เย็นเพื่อยืดอายุการใช้งาน

นอกจากสารละลายเข้มข้นแล้ว การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชต้องใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อชักนำการเจริญเติบโตหรือพัฒนาการของเนื้อเยื่อพืช การเตรียมสารควบคุมการเจริญเติบโตในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชประจำห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ ทุกชนิดเตรียมที่ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ใช้วิธีการผสมสารละลายเข้มข้น แล้วเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ชนิดและปริมาณตามสูตรที่เหมาะสมกับพืชแต่ละชนิด อาจจะมีการดัดแปลง เช่น เพิ่มหรือลดความเข้มข้นหรือเติมสารเคมีบางตัวลงไปเพื่อดัดแปลงสูตรอาหาร (ภาคผนวกที่ 7) หรือดัดแปลงด้วยการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ชนิดและความเข้มข้นต่าง ๆ ซึ่งชนิดของสาร การเตรียมสาร ตัวทำละลาย ตัวปรับปริมาตร การเก็บสารเคมี การเก็บสารละลาย การฆ่าเชื้อและความเข้มข้นที่ใช้แตกต่างกันมีความแตกต่างกัน (ภาคผนวกที่ 8) อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่เตรียมได้ต้องเติมผงวุ้นในกรณีต้องการเตรียมเป็นอาหารแข็ง ก่อนการเติมผงวุ้นต้องมีการปรับค่าความเป็นกรด–ด่าง ให้เหมาะสมกับสูตรอาหารแต่ละชนิด ส่วนใหญ่ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่เหมาะสมในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คือ 5.6-5.8 แต่ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชบางสูตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ 5.3-5.4 อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่เตรียมเรียบร้อยแล้ว ตักแบ่งหรือเทใส่ภาชนะ เช่น ขวดหลอดทดลอง เป็นต้น ปิดฝาแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 15 นาที นำมาวางไว้ให้เย็นจนวุ้นแข็งตัว จึงสามารถนำมาใช้ในการวางเลี้ยงต้นไม้ในสภาพปลอดเชื้อ การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตรต่าง ๆ เช่น สูตรชักนำยอด สูตรชักนำราก เป็นต้น มีรายละเอียดขั้นตอนการเตรียมในทำนองเดียวกัน (ภาคผนวกที่ 9) ส่วนใหญ่ต่างกันที่ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต

**4) การเพิ่มปริมาณยอด/แคลลัส**

ในการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อประจำห้องปฏิบัติการเพื่อเป็นการเตรียมตัวอย่างให้เพียงพอสำหรับการทดลอง นักวิทยาศาสตร์ต้องประสานกับอาจารย์ผู้สอนเกี่ยวกับรายละเอียดการทำปฏิบัติการที่อาจารย์วางแผนให้นักศึกษาทดลอง ซึ่งขั้นตอนการเตรียมแคลลัสในพืชบางชนิดสามารถเก็บรักษาตัวอย่างไว้ได้ด้วยการใช้อาหารเพาะเลี้ยงที่เหมาะสม แต่พืชบางชนิดเมื่อย้ายเลี้ยงต่อแคลลัสสามารถพัฒนาเป็นตายอด (shoot primordia) การย้ายเลี้ยงแต่ละครั้งตายอดจะเจริญเติบโตเป็นพืชต้นใหม่ ยอดมีขนาดโตขึ้นหรือมีการแตกตายอดเพิ่มขึ้น นักวิทยาศาสตร์ควรมีการวางแผนระยะเวลาในการใช้งานเนื้อเยื่อแต่ละระยะและปรับตัวอย่างให้เหมาะสมกับบทเรียน หรือมีการประสานงานกับอาจารย์ผู้สอนอย่างละเอียด นักวิทยาศาสตร์ต้องมีการวางแผนการทำงานในรอบปีและควรศึกษา

อัตราการเจริญเติบโตและขยายตัวของเนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มปริมาณของเนื้อเยื่อหรือกลุ่มตายอดเพื่อวางแผนการเพิ่มจำนวนในเชิงปริมาณ เช่น การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหน้าวัวมีอัตราขยาย 5 เท่า หากนักวิทยาศาสตร์เลือกใช้พืชกลุ่มนี้เป็นตัวอย่างต้องมีการเตรียมและต้องย้ายเลี้ยงเตรียมไว้ 6 เดือน เพื่อให้มีตัวอย่างพืชครบทุกระยะสำหรับใช้ในการเรียนการสอน ในการเตรียมตัวอย่างจากเนื้อเยื่อเริ่มต้น 4 ขวด หากไม่มีการคัดเลือกทิ้ง เดือนที่ 6 จะมีหน้าวัวจากขวดเริ่มต้น 4 ขวด จำนวน $4 \times 5^5 = 12,500$ ต้น ซึ่งคำนวณได้จากสูตร

(จำนวนขวดเริ่มต้น x อัตราการขยาย $^{\text{จำนวนครั้งที่ย้ายเลี้ยง-1 หรือ (n-1)}}$ ) = จำนวนต้นหลังย้ายเลี้ยง n ครั้ง

ซึ่งการย้ายเลี้ยงโดยไม่คัดเลือกทิ้งหรือการดำเนินการต่อเนื่องเพื่อนำมาใช้ประโยชน์จะเป็นการใช้วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี และแรงงานไม่คุ้มค่า ในขณะเดียวกันถ้าย้ายเลี้ยงไม่ทันตามกำหนดเวลาอาหารในขวดแห้งจนหมดส่งผลให้เนื้อเยื่อพืชตาย เป็นการสูญเสียเช่นกัน นอกจากนี้ในการย้ายเลี้ยงแต่ละครั้งอาจจะมีการสูญเสียหรือความผิดพลาดจากค่าคาดหมาย 5-10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งอาจจะเกิดจากการปนเปื้อนหรือเนื้อเยื่อตาย (Singh, et al., 2011).

**5) การชักนำราก**

เมื่อต้นพืชที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีการเจริญเติบโตเป็นต้นสมบูรณ์ คือ มีลำต้นและใบพร้อม สำหรับการชักนำการสร้างราก ความสูงของลำต้นประมาณ 1-2 เซนติเมตรหรือตามชนิดพืช พืชส่วนใหญ่สามารถชักนำการสร้างรากโดยใช้วิธีการวางเลี้ยงต้นที่สมบูรณ์ในอาหารสูตร MS เติม IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร การวางเลี้ยงในอาหารสูตรดังกล่าวสามารถชักนำรากได้ภายในระยะเวลา 1 เดือน

**6) การออกปลูก**

การออกปลูกไม้ขวดโดยทั่วไปมีหลักการดังนี้

1) การเตรียมต้นก่อนออกปลูก

การขยายพันธุ์พืชวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นการเลี้ยงต้นไม้ในสภาพควบคุมอุณหภูมิที่ 25±2 องศาเซลเซียส ความชื้นในขวด 100 เปอร์เซ็นต์ ในการออกปลูกจะต้องมีการปรับสภาพ โดยใช้วิธีนำขวดลงจากชั้นวางเลี้ยงมาวางเลี้ยงเพื่อปรับสภาพในอุณหภูมิภายนอก 1 สัปดาห์ก่อนจะเปิดขวดเพื่อล้างราก ในกรณีกล้วยไม้อาจจะใช้วิธีการทุบขวด

2) การออกปลูก

เมื่อต้นไม้มีการปรับอุณภูมิแล้ว เปิดขวดแล้วใช้ปากคีบ คีบต้นไม้ออกมาจากขวด ต้องระวังอย่าให้เกิดรอยช้ำ ล้างเศษวุ้นอาหารออกจากรากโดยการลูบเบา ๆ เมื่อล้างรากเรียบร้อยจึงนำไปปลูกในวัสดุปลูกที่มีความชื้นเหมาะสมตามชนิดพืช เช่นพีทมอส กาบมะพร้าวสับ หรือวัสดุผสมอื่น ๆ

3) การดูแลหลังออกปลูก

ไม้ที่ออกจากขวดเป็นไม้ที่ค่อนข้างอ่อนแอ หลังปลูกเสร็จควรให้น้ำให้พอดีและอาจจะใช้วิธีการควบคุมความชื้น เช่น การเก็บในกล่องพลาสติกใส การคลุมด้วยถุงพลาสติกใส เป็นต้น

การออกปลูกเป็นขั้นตอนที่สำคัญอีกขั้นตอนหนึ่ง จากการดำเนินการขั้นตอนข้างต้นมาทั้งหมด หากไม่สามารถออกปลูกได้ในสภาพแปลงถือว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม่ประสบความสำเร็จในการขยายพันธุ์พืชด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมื่อได้จำนวนต้นตามที่ต้องการ สามารถนำต้นที่ได้ไปปลูกในสภาพธรรมชาติเหมือนกับพืชทั่ว ๆ ไป กระบวนการออกปลูกเริ่มต้นด้วยการเตรียมต้นไม้ปรับสภาพในโรงเรือนอนุบาล บางชนิดอาจจะต้องนำขวดมาวางเลี้ยงในโรงเรือนพรางแสง เพื่อให้ต้นอ่อนจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถปรับตัวกับสภาพแปลง อุณหภูมิและแสงภายนอก หลังจากนั้นจึงเปิดขวดเพื่อดึงต้นออกมาแล้วล้างวุ้นที่ติดกับรากออกให้สะอาด ระหว่างนั้นอาจต้องแช่ต้นไว้ในน้ำ เช่น กลุ่มเยอบีร่า หรือไม้ดอก เป็นต้น ส่วนกล้วยไม้สามารถผึ่งลมเพื่อให้รากแห้งเป็นการกระตุ้นการรอดชีวิต นำต้นที่ได้ไปปลูกในวัสดุปลูกที่เหมาะสมตามชนิดพืช เช่น กาบมะพร้าวสับ ขุยมะพร้าว สแฟรกนั่มมอส เวอร์มิคูไลท์ เป็นต้น การเลือกชนิดของวัสดุปลูกขึ้นอยู่กับความเหมาะสมทั้งเรื่องคุณภาพและต้นทุนซึ่งอาจจะให้นักศึกษาได้ทำการทดลอง เบื้องต้นห้องปฏิบัติการควรทำการทดลองเพื่อทดสอบวัสดุปลูกที่เหมาะสมก่อนจะออกปลูกเป็นปริมาณมากเพื่อป้องกันการสูญเสียในกรณีเกิดปัญหา เช่น วัสดุชื้นเกินไป ระบายน้ำไม่ดี หรือแสงน้อยเกินไป เป็นต้น หลังจากปลูกแล้วต้องให้น้ำและรักษาความชื้นต้นอ่อนที่ออกจากขวดจนกว่าพืชสามารถตั้งตัวได้ สามารถใช้วิธีการคลุมถุงเพื่อเก็บกักความชื้นแล้วค่อย ๆ เปิดออกตอนกลางคืน หรือการเก็บในกล่องปิดฝาเพื่อควบคุมความชื้น ในกรณีต้นยืดยาวเนื่องจากแสงน้อย สามารถเพิ่มแสงโดยใช้หลอดไฟสีม่วงแดงเพื่อเพิ่มแสงสว่างจนต้นอ่อนตั้งตัวสามารถเจริญเติบโตเพื่อให้ผลผลิตต่อไป

**4.3.2 เทคนิคในการปฏิบัติงาน**

การเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อประจำห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช นักวิทยาศาสตร์สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานและศักยภาพในการผลิตต้นไม้เพื่อรองรับการเรียนการสอนด้วยการขอสนับสนุนทุนวิจัย โดยสามารถทำโครงการเพื่อขออนุมัติงบประมาณจากคณะกรรมการบริหารศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หรือเขียนโครงการเพื่อขออนุมัติงบประมาณจากหน่วยงานภายนอก เช่น งบประมาณจากโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา ฯ (อพ.สธ.) เพื่อสนับสนุนการผลิตพืชปลอดเชื้อให้มีความหลากหลาย หรือดำเนินการผลิตจากทรัพยากรที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการ

ปัจจุบันห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืชได้เสนอกิจกรรมเพิ่มศักยภาพห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืชเข้าเป็นกิจกรรมหนึ่งในโครงการวิสาหกิจของศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และ

เทคโนโลยี ซึ่งนักวิทยาศาสตร์สามารถดำเนินการผลิตต้นไม้เพื่อจำหน่ายหรือให้บริการเกษตรกร ภายใต้เงื่อนไขของการจัดการงบประมาณของโครงการ ซึ่งสามารถนำรายได้ 30 เปอร์เซ็นต์ จากการจำหน่ายต้นไม้ที่ขยายพันธุ์ในห้องปฏิบัติการมาจัดสรรเป็นงบประมาณค่าวัสดุ อุปกรณ์และสารเคมี นักวิทยาศาสตร์สามารถสอบถามรายละเอียดของกิจกรรมจากหัวหน้าโครงการวิสาหกิจศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

**4.4 เทคนิคการติดตามและประเมินผลการปฏิบัติงาน**

ในการให้บริการห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช ก่อนการเปิดให้บริการการเรียนการสอน นักวิทยาศาสตร์ต้องประเมินความพร้อมในการให้บริการห้องปฏิบัติการ ในเรื่องห้องปฏิบัติการ คู่มือปฏิบัติการ ครุภัณฑ์ วัสดุ/อุปกรณ์ สารเคมีและบุคลากร (ภาคผนวกที่ 1) และรายงานการเตรียมความพร้อมส่งหัวหน้าฝ่าย ซึ่งตัวชี้วัดของศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ตามข้อตกลงร่วมกับนักวิทยาศาสตร์คือต้องให้บริการได้ทุกรายวิชาปฏิบัติการตามหลักสูตร การเตรียมตัวอย่างพืชเป็นการเตรียมวัสดุที่นักวิทยาศาสตร์ต้องเตรียมล่วงหน้า มีเทคนิคการติดตามและประเมินผลการปฏิบัติงาน ดังนี้ (ตารางที่ 4.5)

**ตารางที่ 4.5** เทคนิคการติดตามและประเมินผลการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อเพื่อรองรับการเรียนการสอน

| กิจกรรม | เป้าหมาย / ตัวชี้วัด | การติดตามและประเมินผล |
|---|---|---|
| **ขั้นตอนที่ 1** การคัดเลือกพืชและเตรียมต้นให้ปลอดเชื้อก่อนนำมาฟอกฆ่าเชื้อ (อย่างน้อย 6 เดือนก่อนให้บริการปฏิบัติการ) | | |
| 1. การเลือกชนิดพืช | เจริญเติบโตรวดเร็ว | ระยะพัฒนาการทันตามการใช้งาน |
| 2. การเตรียมก่อนฟอกฆ่าเชื้อ | ลดการปนเปื้อน | ลดการปนเปื้อนได้ 100 เปอร์เซ็นต์ |
| **ขั้นตอนที่ 2** การฟอกฆ่าเชื้อ (อย่างน้อย 6 เดือนก่อนให้บริการปฏิบัติการ) | | |
| 1. ชิ้นส่วนที่เหมาะสม | ขยายพันธุ์ได้ | สามารถพัฒนาต่อเป็นแคลลัส/ยอด |
| 2. ความเข้มข้นของสารฟอกฆ่าเชื้อ | เนื้อเยื่อรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ | หลังฟอก 7 วัน เนื้อเยื่อรอดชีวิต |
| 3.วิธีการฟอกฆ่าเชื้อ | เนื้อเยื่อไม่ปนเปื้อน 100 เปอร์เซ็นต์ | เนื้อเยื่อพืชปลอดเชื้อ 100 เปอร์เซ็นต์ |
| **ขั้นตอนที่ 3** การวางเลี้ยงในสูตรอาหารที่เหมาะสม (ทดสอบสูตรอาหารชักนำแคลลัส/ยอด) | | |
| 1. สูตรอาหาร | เนื้อเยื่อพัฒนาเป็นแคลลัส/ยอด | มีสูตรอาหารที่เหมาะสมเพื่อชักนำแคลัส/ยอด ของพืชที่เลือก |
| 2.ระยะเวลาการวางเลี้ยง | จำนวนชิ้นส่วนเพียงพอ | อัตราการขยาย/ระยะเวลา |
| **ขั้นตอนที่ 4** การเพิ่มปริมาณยอด/แคลลัส (ย้ายเลี้ยงเพิ่มปริมาณในสูตรอาหารที่เหมาะสม) | | |
| 1. สูตรอาหาร | จำนวนชิ้นส่วนเพียงพอ | อัตราการขยาย/ระยะเวลา |
| 2. ระยะการวางเลี้ยง | จำนวนและระยะของเนื้อเยื่อพืชเพียงพอ | 1. แคลลัส 100 ขวด<br>2. ยอด 100 ขวด<br>3. ต้น 100 ขวด<br>/รายวิชา |
| 3. เทคนิคการย้ายเลี้ยง | แรงงานคุ้มค่า/เนื้อเยื่อเพียงพอ | 1. คัดเลือกระยะแคลลัส/ยอดทิ้ง<br>2. พัฒนาต่อให้เป็นต้นพร้อมจำหน่าย |
| **ขั้นตอนที่ 5** การชักนำราก (จำนวนต้นที่สมบูรณ์เพียงพอสำหรับนักศึกษา) | | |
| 1. การพัฒนาเป็นต้นสมบูรณ์ | พืชพัฒนาเป็นต้นสมบูรณ์ | มีสูตรอาหารที่เหมาะสม |
| 2. การชักนำราก | มีรากสมบูรณ์ ≥80 เปอร์เซ็นต์ | จำนวนต้นมีราก ≥80 เปอร์เซ็นต์ |
| **ขั้นตอนที่ 6** การออกปลูก | | |
| 1. การเตรียมต้นก่อนปลูก | ต้นรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ | เตรียมต้นเหมาะสม |
| 2. การออกขวด | ต้นรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ | มีเทคนิคออกขวดหมาะสม |
| 3. วัสดุปลูก | ต้นรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ | วัสดุปลูกเหมาะสม |
| 4. การดูแลหลังออกปลูก | ต้นเจริญเติบโต/แจก/จำหน่าย | ดูแลให้พร้อมปลูกในสภาพแปลง (อัตรารอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์) |

หลังจากเสร็จสิ้นการให้บริการการเรียนการสอนรายวิชาปฏิบัติการ มีการประเมินความพึงพอใจจากนักศึกษาและอาจารย์ (ผ่านระบบออนไลน์) โดยคะแนนการประเมินต้อง ≥ 85 เปอร์เซ็นต์ หากมี

ข้อเสนอแนะ หรือปัญหาอุปสรรคจากการประเมิน นักวิทยาศาสตร์ต้องเสนอแนวทางในการแก้ไขผ่านหัวหน้าฝ่าย เพื่อนำประเด็นปัญหาและข้อเสนอแนะเข้าที่ประชุมคณะกรรมการบริหารศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีได้รับทราบและแก้ไขเพื่อปรับปรุงและพัฒนาการเรียนการสอนต่อไป

**4.5 เทคนิคการทำให้ผู้รับบริการพึงพอใจ**

ในการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อประจำห้องปฏิบัติการ ควรมีตัวอย่างพืชไม่น้อยกว่า 3 ชนิดพืช 3 ระยะพัฒนาการ การเตรียมตัวอย่าง 3 ชนิดพืช เป็นการเพิ่มโอกาสในการเรียนรู้ของนักศึกษาเพราะพืชแต่ละชนิดมีการตอบสนองต่อสารความคุมการเจริญเติบโตและสูตรอาหารแตกต่างกัน ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการทำการทดลองเนื่องจากนักศึกษาสามารถเรียนรู้ได้มากขึ้นเนื่องจากตัวอย่างมีความหลากหลายขึ้น ส่วนการเตรียมเนื้อเยื่อที่มี 3 ระยะพัฒนาการ มีความจำเป็นในการทำการทดลองการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ซึ่งนักศึกษาต้องมีการทดลองเรื่องสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตการพัฒนาของเนื้อเยื่อพืชจากระยะเริ่มต้นจนถึงขั้นตอนการออกปลูก ใช้เวลาประมาณ 1 ปี หากนักวิทยาศาสตร์ไม่มีการเตรียมเนื้อเยื่อระยะต่าง ๆ ไว้ นักศึกษาก็ไม่สามารถเรียนรู้เทคนิคปฏิบัติจนครบขั้นตอน ทั้งนี้ในกรณีที่นักศึกษาต้องการใช้ตัวอย่างเพื่อทดลองควบคู่ไปกับการศึกษาเทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อจะไม่เสียเวลาในการรอตัวอย่างในระยะต่าง ๆ จากเนื้อเยื่อพืชที่นักศึกษานำมาฟอก ทำให้นักศึกษาสามารถทำการทดลองได้เสร็จสิ้นทุกกระบวนการตั้งแต่เทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อ การชักนำการสร้างแคลลัส การชักนำการสร้างยอดหรือกลุ่มตายอด การชักนำรากและการออกปลูก ได้ทันในระยะเวลา 1 ภาคการศึกษา หรือไม่เกิน 3 เดือน

นอกจากนี้ในการให้บริการห้องปฏิบัติการเพื่อช่วยให้นักศึกษาสามารถทำงานได้อย่างเต็มที่นักวิทยาศาสตร์หรือเจ้าหน้าที่ควรเตรียมวัสดุและอุปกรณ์ปลอดเชื้อสำหรับการทำงานในตู้ปลอดเชื้อไว้ประจำห้องปฏิบัติการเสมอ เนื่องจากกระบวนการในการนึ่งหรืออบฆ่าเชื้อต้องใช้เวลาประมาณ 3 ชั่วโมง ทำให้นักศึกษาต้องใช้เวลาในการรอและเนื่องจากข้อจำกัดของชั่วโมงเรียนและภาระการเรียนการสอนของนักศึกษาที่ลงทะเบียนเรียนหลายวิชา ทำให้ไม่มีเวลาที่จะเดินทางมาเตรียมวัสดุอุปกรณ์ทางห้องปฏิบัติการสามารถแก้ปัญหาด้วยการให้นักศึกษาใช้อุปกรณ์ที่ห้องปฏิบัติการเตรียมไว้ และช่วงที่กำลังทำงานนักศึกษาสามารถเตรียมอุปกรณ์ปลอดเชื้อคืนห้องปฏิบัติการเพื่อหมุนเวียนในการใช้งาน เป็นการช่วยลดเวลาแต่นักศึกษาได้เรียนรู้กระบวนการทำงานอย่างครบถ้วน การให้บริการห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืชเพื่อให้ผู้รับบริการพึงพอใจตามแบบฟอร์มการประเมิน (ภาคผนวกที่ 2) มีเทคนิคที่ควรปฏิบัติ ดังนี้

**4.5.1 เทคนิคการให้บริการที่ดี**

นอกจากการเตรียมตัวอย่างที่พร้อมแล้ว การให้บริการห้องปฏิบัติการต้องมีมาตรฐานการให้บริการ ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืชเป็นห้องปฏิบัติการปลอดเชื้อจึงมีการจำกัดผู้เข้าใช้

งาน การมีระบบควบคุมด้วยการแจ้งชื่อผู้ที่สามารถเข้าใช้งานที่สามารถตรวจสอบได้เป็นสิ่งสำคัญเพื่อสร้างความมั่นใจให้กับผู้เข้าใช้บริการ นอกจากนี้ วัสดุอุปกรณ์และครุภัณฑ์ทุกอย่างต้องมีความสะอาดปราศจากเชื้อ อย่างไรก็ตาม การใช้งานห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืชเป็นการใช้งานร่วมกัน ในเบื้องต้นห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืชใช้มาตรฐาน 5 ส. ในการจัดการห้องปฏิบัติการ คือ สะสาง สะดวก สะอาด สร้างมาตรฐานและสร้างวินัย ภายใต้แนวคิด หยิบก็ง่าย หายก็รู้ ดูก็งามตา เพื่อให้ทุกคนที่เข้ามาใช้ห้องปฏิบัติการสามารถปฏิบัติงานอย่างสะดวก ซึ่งมาตรฐาน 5 ส. สามารถศึกษาได้จาก มาตรฐานกลาง 5 ส. ห้องปฏิบัติการศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (2018) อย่างไรก็ตาม ในเบื้องต้นห้องปฏิบัติการได้ดำเนินการ เรื่อง สะสาง สะดวก สะอาด สร้างมาตรฐานและสร้างวินัยไว้แล้ว แต่ต้องดูแลและดำเนินการอย่างต่อเนื่อง ในการให้บริการห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช นอกจากความพร้อมของตัวอย่างแล้ว นักวิทยาศาสตร์ควรตรวจสอบความพร้อมของสิ่งต่าง ๆ ดังนี้

1) **บุคลากร** มีความพร้อมด้านความรู้ความสามารถและภาระงาน เนื่องจากห้องปฏิบัติการมีการให้บริการอย่างต่อเนื่อง นักวิทยาศาสตร์หรือผู้ช่วย เช่น พนักงานห้องทดลองต้องมีเวลาเพียงพอในการให้บริการ
2) **วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี** นักวิทยาศาสตร์ควรตรวจเช็คสารเคมีและวัสดุอุปกรณ์ เช่น สารฟอกฆ่าเชื้อ สารเคมีสำหรับสูตรอาหาร ใบมีดผ่าตัด กระดาษทิชชูและน้ำยาล้างจานให้เพียงพออยู่เสมอ โดยการเก็บข้อมูลการใช้งานและสำรองล่วงหน้าไม่น้อยกว่า 3 เดือน โดยเฉพาะในกรณีสารเคมี เมื่อใช้เตรียมสารละลายหมดต้องดำเนินการจัดซื้อทันที
3) **ครุภัณฑ์** ต้องตรวจเช็คความสะอาด ความปลอดเชื้อ และดูแลกำกับการใช้งานทุกครั้งที่มีผู้มาใช้งาน มีระบบบันทึกการใช้งาน
4) **ระบบของห้องปฏิบัติการ** ต้องมีการตรวจเช็คระบบ เช่น ไฟฟ้าชั้นวางเลี้ยงและระบบควบคุมอุณหภูมิ นักวิทยาศาสตร์ต้องตรวจสอบทุกวันทำการ หรืออย่างน้อยสัปดาห์ละ 1 ครั้ง โดยอ่านค่าอุณหภูมิจาก max-min thermometer ให้อยู่ในช่วง 25±2 องศาเซลเซียส เช็ค timer ให้เวลาตรงตามนาฬิกา และเนื่องจากเป็นห้องปลอดเชื้อ ดังนั้นนักวิทยาศาสตร์ต้องตรวจการปนเปื้อนอย่างสม่ำเสมอ โดยเฉพาะ 3-7 วันแรกที่มีการย้ายเลี้ยงต้องตรวจเช็คและนำขวดที่ปนเปื้อนออก

นอกจากความสะอาดเรียบร้อยตามมาตรฐาน 5 ส. และความพร้อมในด้านต่าง ๆ ตามที่กล่าวมาแล้ว Service Mind ถือเป็นหัวใจสำคัญของงานบริการห้องปฏิบัติการซึ่งนักวิทยาศาสตร์สามารถนำมาปรับใช้กับการให้บริการห้องปฏิบัติการที่ดีเช่นกัน นักวิทยาศาสตร์ควรให้บริการด้วยจิตใจที่ปรารถนาดีและแสดงออกให้ผู้เข้ารับบริการเห็นถึงความเอาใจใส่ คำว่า Service Mind สามารถแยก

ออกเป็น 11 คำ ตามตัวอักษร (Awanafan, 2024) และนำมาปรับใช้ในการให้บริการห้องปฏิบัติการเพื่อรองรับการเรียนการสอนได้ ดังนี้

**Service** (บริการ)

**S (smile)** ยิ้มแย้มเข้าไว้เพื่อให้ผู้มารับบริการเกิดความรู้สึกดี ๆ ยิ้มเพื่อให้เกิดรอยยิ้มในน้ำเสียงแม้ไม่ได้เห็นหน้ากันก็รับรู้ได้ว่าคนพูดกำลังยิ้ม

**E (enthusiasm)** ความกระตือรือร้นในการทำงาน ในการให้บริการนั้นจำเป็นต้องมีความกระตือรือร้นและเอาใจใส่

**R (rapidness)** รวดเร็วและมีคุณภาพ ในยุคที่ทุกอย่างต้องรีบเร่งแข่งขันผู้ที่ให้บริการได้รวดเร็วกว่าย่อมได้เปรียบ

**V (value)** การคำนึงถึงมูลค่าเพิ่ม ทำอย่างไรให้บริการเกิดคุณค่าสูงสุดและจะทำอย่างไรจึงจะปรับเปลี่ยนให้งานในส่วนของเราให้มีคุณค่าเพิ่มขึ้น

**I (impression)** ทำช่วงเวลาแรกพบให้น่าประทับใจมากที่สุด ดูแลในเรื่องความเป็นระเบียบของห้องปฏิบัติการและบุคลิกภาพของเจ้าหน้าที่ เพื่อให้ผู้รับบริการเกิดความประทับใจ

**C (courtesy)** ความสุภาพอ่อนโยนทำให้ผู้ที่พบเห็นหรือมีปฏิสัมพันธ์ด้วยรู้สึกประทับใจในความอ่อนน้อมถ่อมตน

**E (endurance)** ความอดทน จำเป็นมากสำหรับงานบริการเพราะผู้รับบริการมีความหลากหลาย หลายความต้องการ หลายมาตรฐาน นักวิทยาศาสตร์ต้องใจเย็นและพร้อมให้ข้อมูลเพื่อให้ทุกคนสามารถปฏิบัติงานด้วยกันในห้องปฏิบัติการได้

**Mind (จิตใจ)**

**M (make believe)** การมีความเชื่อในสิ่งที่ถูกต้อง ดีงาม ทำให้ทุกคนมีความสุขเชื่อในงานที่ทำและรักในงานบริการ เพื่อให้เกิดการบริการที่ดีที่สุด ผู้เข้ามาใช้บริการได้รับสิ่งที่ดีที่สุดจากห้องปฏิบัติการ

**I (insist)** ยืนหยัดในสิ่งที่ทำ ไม่ว่าจะเจออุปสรรคปัญหาสักกี่ครั้งก็ไม่ท้อถอย มีความตั้งใจเพื่อให้ห้องปฏิบัติการเป็นแหล่งเรียนรู้ที่เป็นประโยชน์สูงสุดต่อผู้เข้ารับบริการ

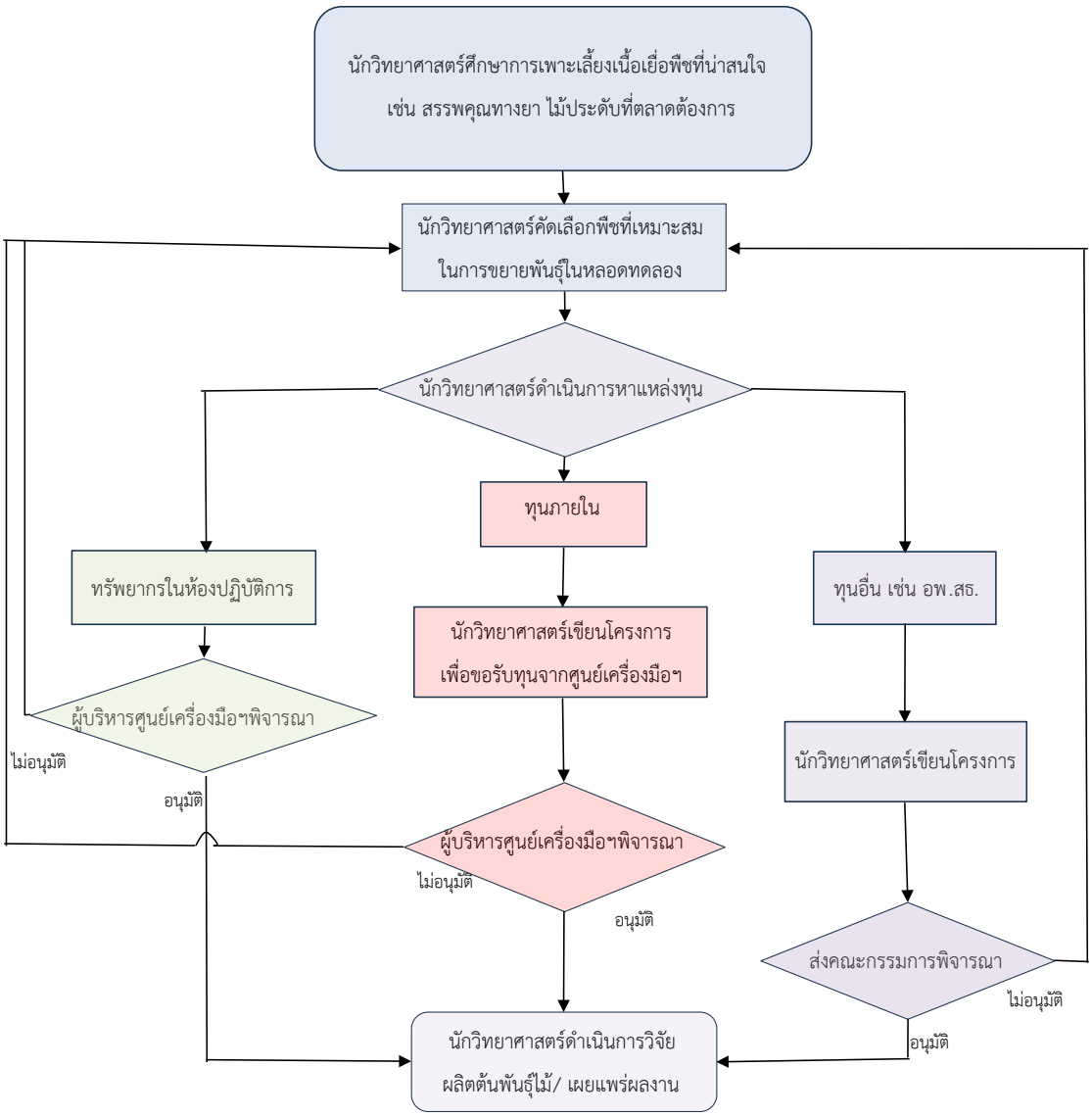
**N (necessitate)** เพราะลูกค้าคือคนสำคัญและต้องการได้รับการดูแลจากเราเป็นอย่างดี เราต้องทำให้ลูกค้าทุกคนเป็นคนพิเศษ ไม่แบ่งแยกหรือเลือกที่รักมักที่ชัง

**D (devote)** อุทิศตนให้กับงานที่ทำ ทุ่มเททำงานด้วยหัวใจบริการอย่างเต็มที่ เหนือสิ่งอื่นใดคือต้องมั่นใจในคุณค่าของสิ่งที่กำลังทำ รู้ในคุณค่าของตัวเอง มีความสุขทุกครั้งที่ได้เตรียมตัวอย่างพืชเพื่อรองรับผู้มาใช้บริการ

คุณสมบัติของ Service Mind ที่กล่าวมานี้ คือ หัวใจของงานบริการที่คนทำงานบริการพึงมีและสามารถนำมาปรับใช้กับงานให้บริการห้องปฏิบัติการ นอกจากนี้ยังมีแนวคิดใหม่ที่น่าสนใจและสามารถนำมาปรับใช้กับงานบริการห้องปฏิบัติการเทคโนโลยชีวภาพพืช เรียกว่า การผลิตทางสังคม (social manufacturing; SM) การบริการได้รับการเสนอให้เป็นกระบวนการผลิตเชิงนวัตกรรมที่สามารถตระหนักถึงความต้องการของลูกค้ามากกว่าวัตถุที่จับต้องได้ คือการบริการ "จากใจสู่ผลิตภัณฑ์ (from mind to products) " เพื่อตอบสนองความต้องการที่จับต้องได้และจับต้องไม่ได้ของผู้บริโภค (Xiong, et al., 2017) ซึ่งเป็นแนวคิดที่จำเป็นในการให้บริการห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช คือ การใส่ใจและติดตามแนวโน้มพืชที่ตลาดต้องการเพื่อนำมาเป็นตัวอย่างรองรับการเรียนการสอน เพื่อให้มีการผลิตพืชที่เป็นความต้องการของตลาดต้นไม้ในปัจจุบัน ผู้เข้ารับบริการที่เข้ามาเรียนรู้ได้รับประโยชน์อย่างเต็มที่ เป็นความรู้และทักษะติดตัวเพื่อประโยชน์ในการทำงานและการใช้ชีวิตในอนาคต

**4.5.2 เทคนิคการเพิ่มประสิทธิภาพในการทำงาน**

การเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อเพื่อรองรับการให้บริการการเรียนการสอนประจำห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช เป็นกระบวนการในการดำเนินการระบบของปฏิบัติการให้สมบูรณ์ครบถ้วน เพื่อนักศึกษาได้เข้ามาเรียนรู้กระบวนการทำงานตั้งแต่การคัดเลือกตัวอย่างพืช การเตรียมต้นก่อนฟอกฆ่าเชื้อ การฟอกฆ่าเชื้อ การวางเลี้ยงในสูตรอาหารที่เหมาะสม การเพิ่มปริมาณต้น การชักนำรากและการออกปลูก หากห้องฏิบัติการมีความพร้อมก็สามารถออกปลูกเพื่อบริการต้นพันธุ์ให้กับเกษตรกร นักศึกษาจะได้เรียนรู้การทำงานด้วยลงมือทำจริงทุกระบวนตั้งแต่การผลิตจนกระทั่งสู่ตลาด อย่างไรก็ตาม การดำเนินการผลิตพืชในห้องปฏิบัติการอย่างต่อเนื่องจะต้องใช้แรงงานและงบประมาณสนับสนุนเนื่องจากงบประมาณที่ใช้ในการเรียนการสอนไม่สามารถนำมาใช้ดำเนินกาห้องปฏิบัติการอย่างต่อเนื่องได้ ในการดำเนินการที่ผ่านมา นักวิทยาศาสตร์ที่รับผิดชอบห้องปฏิบัติการได้เขียนโครงการเพื่อขอการสนับสนุนทุนวิจัยจากโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ (อพ.สธ.) ซึ่งได้รับทุนวิจัยและบริการวิชาการเพื่อสนับสนุนการดำเนินงานตั้งแต่ปีงบประมาณ พ.ศ. 2561-2567 ทำให้ห้องปฏิบัติการมีวัสดุ อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับการดำเนินงานอย่างต่อเนื่อง เป็นประโยชน์ต่ออย่างยิ่งต่อการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อเพื่อรองรับการเรียนการสอนรวมทั้งมีแปลงปลูกในโรงเรือนขนาดเล็กให้นักศึกษาได้เข้ามาเรียนรู้ ซึ่งการปฏิบัติงานในภาพรวมตั้งแต่การขอสนับสนุนทุนวิจัยจนผลิตต้นพันธุ์สู่เกษตรกร นักวิทยาศาสตร์สามารถดำเนินการได้ตามช่องทางที่เหมาะสม เพื่อการสนับสนุนการดำเนินกิจกรรมในห้องปฏิบัติการ (ภาพที่ 4.2)




**ภาพที่ 4.2** วิธีการจัดการเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อ ประจำห้องปฏิบัติการ เทคโนโลยีชีวภาพพืช

ที่มา : ดัดแปลงจาก เทคนิคการเขียนคู่มือปฏิบัติงานจากงานประจำ (จรงค์ศักดิ์ พุมนวน, 30 พฤษภาคม 2565).

การเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อประจำห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช เพื่อรองรับการเรียนการสอนนั้น อาจารย์ผู้สอนไม่ได้เน้นชนิดพืชที่ใช้สำหรับการเรียนการสอนแต่เน้นการฝึกทักษะในการทำงาน การทำงานเพิ่มประสิทธิภาพในการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อเพื่อรองรับการเรียนการสอนประจำห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช นักวิทยาศาสตร์จึงสามารถคัดเลือกชนิดพืชที่เหมาะสมโดยใช้หลักคิดตามที่กล่าวมาในเรื่องการคัดเลือกชนิดพืช และสามารถเลือกชนิดพืชที่มีศักยภาพในทางการค้า เช่น ไม้ดอกไม้ประดับตามความต้องการของตลาด พืชสมุนไพร ให้บริการขยายพันธุ์พืชตามความต้องการของผู้รับบริการหรือขยายพันธุ์พืชที่เป็นความต้องการของโครงการอนุรักษ์พืชต่าง ๆ เป็นต้น เมื่อคัดเลือกชนิดพืชและทำการศึกษาการขยายพันธุ์เบื้องต้นด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้สำเร็จ เมื่อได้สูตรอาหารที่เหมาะสมแล้วนักวิทยาศาสตร์สามารถดำเนินการเขียนโครงการเพื่อขอการสนับสนุนงบประมาณตามวัตถุประสงค์ของแหล่งทุนวิจัย ในกรณีที่ได้รับทุนสนับสนุนจากแหล่งทุน นักวิทยาศาสตร์สามารถบริหารจัดการด้วยการจ้างแรงงานมาช่วยทำงานเพื่อให้ผลิตต้นไม้ได้อย่างรวดเร็ว อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันทางห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืชได้ดำเนินการพัฒนากิจกรรม “การเพิ่มศักยภาพห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช” เข้าไปเป็นกิจกรรมหนึ่งในโครงการวิสาหกิจศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ในการดำเนินกิจกรรมของโครงการนี้เมื่อห้องปฏิบัติการมีรายได้จากการให้บริการห้องปฏิบัติการ เช่น การจำหน่ายต้นไม้ การอบรมการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นต้น นักวิทยาศาสตร์สามารถเบิกจ่ายค่าวัสดุและค่าแรงงานจากรายได้ดังกล่าว เพื่อนำมาใช้ในการบริหารจัดการห้องปฏิบัติการให้เกิดประสิทธิภาพและประสิทธิผลสูงสุด

จากการทำงานที่ผ่านมาเพื่อเป็นข้อมูลสำหรับการเตรียมตัวอย่างพืชอย่างมีประสิทธิภาพ ผู้เขียนขอยกวิธีการตัวอย่างพืชที่ใช้เป็นตัวอย่างเพื่อรองรับการเรียนการสอน ที่ทางห้องปฏิบัติการได้ดำเนินการทดลองไว้แล้วเพื่อเป็นประโยชน์ในการเตรียมตัวอย่างพืชรองรับการเรียนการสอนประจำห้องปฏิบัติการ (ภาคผนวกที่ 10)

**4.6 จรรยาบรรณ/คุณธรรม/จริยธรรมในการปฏิบัติงาน**

การเตรียมตัวอย่างพืชและการใช้ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช นักวิทยาศาสตร์ต้องปฏิบัติตามมาตรฐานในโครงการยกระดับมาตรฐานความปลอดภัยห้องปฏิบัติการวิจัยในประเทศไทย (Enhancement of Safety Practice of Research Laboratory in Thailand : ESPReL) ซึ่งเป็นโครงการที่เกิดจากการดำเนินงานตามพันธกิจของสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ทำให้เกิดมาตรฐานการดำเนินงานวิจัยในประเทศโดยการจัดทำและพัฒนามาตรฐานการวิจัยเฉพาะด้านในหลาย ๆ ด้าน ตัวอย่างเช่น มาตรฐานการวิจัยในมนุษย์ มาตรฐานการวิจัยโดยใช้สัตว์ทดลอง และจริยธรรมในการดำเนินงานวิจัย สำหรับมาตรฐานห้องปฏิบัติการวิจัยนั้น วช. ได้ให้ความสำคัญและมีนโยบายในการให้การสนับสนุนเพื่อส่งเสริมให้เกิดการผลิตผลงานที่มีคุณภาพ ขณะเดียวกับการทำให้

เกิดความปลอดภัยกับนักวิจัยและสามารถรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อม การดำเนินงานให้มีมาตรฐานความปลอดภัยห้องปฏิบัติการวิจัย จึงเป็นสิ่งจำเป็นและอาจใช้เป็นประโยชน์กับการบริหารการจัดสรรทุนวิจัยในอนาคตได้ด้วย โดย ESPReL มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาและเสนอแนวปฏิบัติในการยกระดับมาตรฐานคุณภาพความปลอดภัยห้องปฏิบัติการวิจัยในประเทศไทย เพื่อใช้เป็นแนวทางในการกำหนดนโยบายของสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (สุชาดา ชินะจิตร, 2555)

ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ ได้มีการลงทะเบียนห้องปฏิบัติการในระบบ ESPReL นักวิทยาศาสตร์สามารถเข้าไปศึกษารายละเอียดและกรอกข้อมูลในระบบให้เป็นปัจจุบันได้ที่ http://esprel.labsafety.nrct.go.th/home.asp โดยใช้ Username : PlantBiotCSEwu และ Password : Plantbiot109 และควรเข้าร่วมอบรมในหัวข้อเกี่ยวกับความปลอดภัยในระบบออนไลน์เพื่อเป็นความรู้และมาตรฐานในการปฏิบัติงาน ซึ่งระบบ ESPReL เป็นระบบที่รองรับมาตรฐานการของห้องปฏิบัติการในด้านต่าง ๆ ดังนี้

1. การบริหารระบบการจัดการความปลอดภัย
2. ระบบการจัดการสารเคมี
3. ระบบการจัดการของเสีย
4. ลักษณะทางกายภาพของห้องปฏิบัติการ อุปกรณ์และเครื่องมือ
5. ระบบป้องกันและแก้ไขภัยอันตราย
6. การให้ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ
7. การจัดการข้อมูลและเอกสาร

ความรู้ในด้านต่าง ๆ เหล่านี้จะทำให้นักวิทยาศาสตร์ทำงานอย่างมีมาตรฐานในการให้บริการห้องปฏิบัติการ เป็นความรับผิดชอบต่อหน้าที่และส่วนรวม นอกจากมาตรฐาน ESPReL ซึ่งเป็นข้อกำหนดมาตรฐานการทำงานแล้ว การทำงานเรายังต้องเจอกับเพื่อนร่วมงาน นักศึกษา อาจารย์และเกษตรกรหรือลูกค้าที่เข้ามาติดต่อ ดังนั้น นักวิทยาศาสตร์ควรมีวิธีปฏิบัติหรือแนวความคิดเพื่อความรักความสามัคคี อาจจะปรับใช้ตามหลักของสาราณียธรรม ซึ่งแปลว่า ธรรมอันเป็นไปเพื่อความระลึกถึงกันและกัน หมายถึง ธรรมอันเป็นไปเพื่อเสริมสร้างความรู้สึกที่ดีให้เกิดขึ้นต่อกันจนก่อเกิดเป็นความสามัคคีมีน้ำหนึ่งใจเดียวกัน ดังนั้น สาราณียธรรม ก็คือ วิธีสร้างความสามัคคี ซึ่งมี 6 ประการ (28 กรกฎาคม 2560) โดยมีรายละเอียดที่สามารถนำมาปรับใช้ ดังนี้

1. เมตตากายกรรม หมายถึงสนับสนุนช่วยเหลือกันทางด้านกำลังกาย ด้วยการช่วยเหลือหมู่คณะด้วยความเต็มใจ แสดงอาการกิริยาสุภาพต่อกัน มีหน้าตายิ้มแย้มแจ่มใสต่อกัน เคารพนับถือกัน รู้จักอ่อนน้อมถ่อมตน ไม่ยกตนข่มท่าน มีสัมมาคารวะ ไม่ไปเบียดเบียนหรือใช้กำลังข่มเหงผู้อื่นและไม่ใช้กำลังในการแก้ไขปัญหาทั้งต่อหน้าและลับหลัง

2. เมตตาวจีกรรม หมายถึง การพูดแต่สิ่งที่ดีงาม พูดกันด้วยความรักความปรารถนาดี รู้จักการพูดให้กำลังใจซึ่งกันและกันในยามที่เพื่อนร่วมงานประสบกับความทุกข์ ความผิดหวัง หรือปัญหาควรแนะนำแต่สิ่งที่ดี สิ่งที่เป็นประโยชน์ สั่งสอน แนะนำตักเตือนด้วยความหวังดี พูดอย่างใดก็ทำอย่างนั้น ไม่โกหกมดเท็จ กล่าววาจาสุภาพ ใช้วาจาที่แสดงความเคารพนับถือต่อกัน เจรจากันด้วยเหตุผลด้วยสติปัญญา ไม่ใช้โทสะเป็นตัวนำ พูดอย่างมีจิตสำนึกในผลประโยชน์สุขร่วมกัน พูดจาสร้างสรรค์ หากไม่มีความสามารถที่จะพูดแนะนำอะไรใครได้ก็ไม่ควรพูดซ้ำเติม หรือนำไปนินทาว่าร้าย หรือกล่าวร้ายเสียดสีประชดประชันกัน ไม่ว่าจะเป็นต่อหน้าหรือลับหลัง

3. เมตตามโนกรรม หมายถึง การคิดดี มองกันในแง่ดี มีความหวังดี ปรารถนาดี มีความรักความเมตตาต่อกัน คิดทำแต่สิ่งที่เป็นประโยชน์แก่กัน คิดพิจารณาวินิจฉัย คิดวางแผนต่าง ๆ โดยมุ่งทำให้เกิดประโยชน์สุขร่วมกัน ไม่คิดทำร้ายซึ่งกันและกัน ไม่คิดอิจฉาริษยา ไม่คิดอคติ ไม่คิดพยาบาทไม่คิดผูกโกรธแค้นเคืองกัน รู้จักให้โอกาสและให้อภัยต่อกันอยู่เสมอทั้งต่อหน้าและลับหลัง

4. สาธารณโภคี หมายถึง ได้สิ่งใดมาก็รู้จักแบ่งปัน แม้เป็นของเล็กน้อยก็ยินดีแจกจ่ายให้กับทุกคน รู้จักแบ่งปันผลประโยชน์ต่อกันด้วยความชอบธรรม ช่วยเหลือกันตามอัตภาพ เอื้อเฟื้อเผื่อแผ่ต่อกันอยู่เสมอตามโอกาส เช่น บริจาคอาหาร เครื่องอุปโภคบริโภคเครื่องไม้เครื่องมือ ตลอดจนวิทยาการความรู้ต่าง ๆ ให้แก่เพื่อนมนุษย์ รู้จักใช้ทรัพยากรธรรมชาติร่วมกันโดยไม่ทำลายระบบนิเวศน์สิ่งแวดล้อมที่จะก่อให้เกิดผลกระทบต่อมวลมนุษย์ มุ่งช่วยเหลือและบำเพ็ญประโยชน์ต่อสาธารณะ ไม่ตระหนี่ ไม่ขี้เหนียว ไม่โลภ ไม่เห็นแก่ประโยชน์ส่วนตนอย่างเดียว ไม่เอารัดเอาเปรียบใคร แม้จะมีช่องทางให้ทำได้ก็ตาม

5. สีลสามัญญตา หมายถึง มีความประพฤติสุจริตดีงาม รักษาระเบียบวินัยของส่วนรวม ปฏิบัติตามกฎระเบียบข้อบังคับของสังคมที่ตนเองอยู่ร่วม รู้จักเคารพในสิทธิเสรีภาพของผู้อื่น ไม่ก้าวก่ายหน้าที่กัน ไม่บ้าอำนาจ หรือถือตนว่าตัวเองยิ่งใหญ่กว่าผู้อื่น ไม่ถืออภิสิทธิ์ใด ๆ ไม่ทำตนให้เป็นที่น่ารังเกียจหรือเสื่อมเสียแก่หมู่คณะ ไม่ฝ่าฝืนมติหรือหลักการของหมู่คณะอันจะก่อให้เกิดความหวาดระแวงไม่ไว้เนื้อเชื่อใจกัน ไม่เบียดเบียนผู้อื่น ไม่ก่อความเดือดร้อนแก่สังคมทั้งต่อหน้าและลับหลัง

6. ทิฏฐิสามัญญตา หมายถึง มีความเห็นชอบร่วมกันในข้อที่เป็นหลักการสำคัญที่จะนำไปสู่ความหลุดพ้นสิ้นทุกข์ หรือขจัดปัญหา ยึดถืออุดมคติ หลักแห่งความดีงาม หรือจุดหมายสูงสุดอันเดียวกัน ไม่ยึดถือความคิดของตัวเองเป็นใหญ่ฝ่ายเดียว ต้องรู้จักฟังความคิดเห็นของผู้อื่นและของสังคมโดยรวม ปรับมุมมอง ทัศนคติของตัวให้เข้ากับคนหมู่มาก รู้จักแสวงหาจุดร่วมและสงวนไว้ซึ่งจุดต่าง ไม่สร้างข้อขัดแย้งโดยไม่มีเหตุผล ต้องมีความเข้าใจในเรื่องสิทธิ หน้าที่ และเสรีภาพของแต่ละบุคคล ทั้งต่อหน้าและลับหลัง

โดยภาพรวมของจรรยบรรณ คุณธรรม จริยธรรมในการทำงาน คือ การปฏิบัติอย่างถูกต้องดีงามในบทบาทหน้าที่ทั้งส่วนตน ส่วนรวมและสิ่งแวดล้อม เพื่อความสุข ความสำเร็จในการทำงานและในการใช้ชีวิต

นอกจากการการปฏิบัติตามจรรยาบรรณและจริยธรรมดังกล่าวข้างต้นแล้ว นักวิทยาศาสตร์ควรตระหนักและต้องปฏิบัติตามข้อบังคับมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ว่าด้วยประมวลจริยธรรมและธรรมาภิบาลนายกสภามหาวิทยาลัย กรรมการสภามหาวิทยาลัย ผู้บริหาร บุคลากร ผู้เรียน ของมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ พ.ศ. 2567 (ภาคผนวกที่ 11)

# บทที่ 5

# ปัญหา อุปสรรค แนวทางแก้ไข การพัฒนาและข้อเสนอแนะ

ปัญหาบางอย่างไม่ได้เป็นอุปสรรคในการทำงาน หากนักวิทยาศาสตร์มีความรู้ความเข้าใจในบริบทที่กล่าวมาทุกขั้นตอน รวมทั้งภารกิจและบริบทอื่นของมหาวิทยาลัย อย่างไรก็ตาม เนื่องจากภารกิจของนักวิทยาศาสตร์ไม่ได้มีเฉพาะการดูแลห้องปฏิบัติการห้องเดียวหรือรายวิชาเดียว ในแต่ละภาคการศึกษานักวิทยาศาสตร์ต้องรับผิดชอบในการให้บริการรายวิชาปฏิบัติการเฉลี่ยไม่น้อยกว่า 3 รายวิชา นอกจากนี้ยังมีงานเอกสาร งานสรุปการให้บริการ งานจัดซื้อ ตรวจ งานประชุม ฯลฯ จากประสบการณ์ที่ผ่านมา ผู้เขียนขอสรุปอุปสรรคในการทำงานเรื่องการเตรียมตัวอย่างปลอดเชื้อประจำห้องปฏิบัติการเทคโนโยลีชีวภาพพืชรวมทั้งแนวทางในการแก้ไขและพัฒนาตามรายละเอียด ดังนี้

## 5.1 ปัญหาอุปสรรคในการปฏิบัติงาน แนวทางแก้ไขและพัฒนา

### 5.1.1 ปัญหาด้านบุคลากร

นักวิทยาศาสตร์ไม่มีประสบการณ์การทำงานหรือไม่มีเวลาเพียงพอ

**แนวทางแก้ไขและพัฒนา**

นักวิทยาศาสตร์ควรศึกษาวิธีการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อจากสื่อออนไลน์หรือคู่มือฉบับนี้และนำมาทดลอง ในระยะเริ่มต้นควรเผื่อเวลาในการทำงานและเตรียมตัวอย่างให้มากกว่าที่ต้องการใช้งาน 1.5 เท่า ทั้งนี้เผื่อมีการปนเปื้อนของเนื้อเยื่อ หรือความเสียหายจากปัญหาที่ไม่อาจคาดเดา เช่น ขวดปนเปื้อน กระแสไฟฟ้าขัดข้อง ต้นไม้ชะงักการเจริญเติบโต ในการทำงานควรเผื่อเวลาเพื่อลดความเสี่ยงจากความผิดพลาดในการเตรียมตัวอย่าง ให้เตรียมตัวอย่างให้เสร็จเรียบร้อยครบตามจำนวนที่ต้องการล่วงหน้าอย่างน้อย 1 เดือนก่อนกำหนดการใช้งาน หากมีปัญหาต้องรีบประสานงานกับอาจารย์ผู้สอนเพื่อปรับรายละเอียดของบทปฏิบัติการหรือสลับตารางปฏิบัติการเพื่อรอให้ตัวอย่างโตทัน มีระยะพัฒนาการของเนื้อเยื่อเหมาะสมกับรายละเอียดของบทปฏิบัติการจากภารงานในหน้าที่ความรับผิดชอบดังกล่าว อาจส่งผลให้การวางแผนการใช้เวลาในการเตรียมตัวอย่างก่อนการมีปฏิบัติการมีความคลาดเคลื่อนได้ เนื่องจากการทำงานเพื่อย้ายเลี้ยงเนื้อเยื่อแต่ละครั้งต้องใช้เวลาต่อเนื่องไม่น้อยกว่า 3 ชั่วโมง ดังนั้น นักวิทยาศาสตร์ต้องสามารถจัดการเวลาได้อย่างดี รวมทั้งการเตรียมตัวอย่างต้องเตรียมล่วงหน้าอย่างน้อย 6 เดือน จึงควรมีตารางเวลาปฏิบัติงานที่ชัดเจน รวมทั้งข้อมูลนักศึกษาที่จะมาใช้ห้องปฏิบัติการหรือลงทะเบียนรายวิชาที่ต้องมีการเรียนการสอนทางด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชหรือเทคโนโลยีชีวภาพพืช ต้องเช็คจำนวนนักศึกษาสาขาที่จะมาลงทะเบียนล่วงหน้า ในกรณีที่ย้ายเลี้ยงไม่ทันสามารถปิดขวดเนื้อเยื่อด้วยพาราฟิล์มแล้วแช่ตู้เย็นไว้เพื่อใช้งานต่อ

ในการใช้งานเนื้อเยื่อที่แช่เย็นต่อต้องกระตุ้นด้วยการวางเลี้ยงซึ่งต้องใช้เวลาในการพัฒนาของเนื้อเยื่อนานกว่าการย้ายเลี้ยงต่อเนื่อง หรืออาจจะใช้วิธีการ overlay แทนการย้ายเลี้ยง ซึ่งช่วยลดเวลาในการย้ายเลี้ยงต้นไม้ ตัวอย่างเช่น การทดลองในหน้าวัว (ราตรี นิตยเดชพัฒน์ และ สมปอง เตชะโต, 2548) ซึ่งเทคนิคดังกล่าวสามารถปรับใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชทุกชนิด

**5.1.2 ปัญหาด้านสถานที่และการจัดการ**

**1) การดูแลรักษาความสะอาด**

ความสะอาดเป็นหัวใจของการทำงานเพื่อเตรียมพืชปลอดเชื้อ ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืชเป็นห้องปฏิบัติการปลอดเชื้อที่ต้องเน้นความสะอาด หากมีการปนเปื้อนจะเป็นปัญหาต่อเนื่องในการจัดการพื้นที่ห้องปฏิบัติการ หากเกิดการปนเปื้อนรุนแรงจะส่งผลให้ไม่สามารถทำปฏิบัติการได้ ซึ่งต้องมีมาตรการในการจัดการห้องปฏิบัติการ ดังนี้

**แนวทางแก้ไขและพัฒนา**

1. ควรถูพื้นด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อทุกวัน
2. ห้ามนำอาหารเข้ามาภายในห้องปฏิบัติการ
3. เช็ดพื้นโต๊ะที่ใช้เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อให้สะอาดด้วยน้ำยาทำความสะอาดพื้นและแอลกอฮอล์ทุกครั้งหลังการปฏิบัติงาน
4. ก่อนเริ่มงานต้องเปิดตู้ย้ายเลี้ยงให้ระบบกรองอากาศทำงานอย่างน้อย 30 นาที เพื่อให้อากาศในระบบมีการไหลเวียนจนปลอดเชื้อ
5. หลังเสร็จการทำงานควรเปิดแสงยูวีเพื่อฆ่าเชื้อโดยตั้งเวลาให้หลอดยูวีทำงานเป็นเวลา 1 ชั่วโมง
6. การทำงานในตู้ปลอดเชื้อต้องหมั่นเช็ดพื้นตู้และบริเวณในตู้ด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ รวมทั้งอุปกรณ์ทุกอย่างต้องทำความสะอาดด้วยวิธีการที่เหมาะสม เช่น การนึ่งฆาเชื้อ การอบฆ่าเชื้อก่อนนำเข้าตู้ย้ายเลี้ยงด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ
7. ห้ามไม่ให้ผู้ที่ไม่เกี่ยวข้องเข้ามาภายในพื้นที่ห้องปฏิบัติการ
8. ในกรณีที่มีการปนเปื้อนมากและต่อเนื่องมากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ของไม้ขวดบนชั้นวางเลี้ยง นักวิทยาศาสตร์อาจต้องใช้การรมห้องเพื่อฆ่าเชื้อ

**2) การจัดการเนื้อเยื่อเมื่อเกิดการปนเปื้อน**

การปนเปื้อนจากเชื้อราและแบคทีเรียเป็นปัญหาที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช นักวิทยาศาสตร์ต้องมีการเช็คต้นไม้ในขวดอย่างละเอียด เพื่อให้สามารถแก้ปัญหาได้ทันเวลา ป้องกันปัญหาที่จะลุกลามต่อเนื่อง และต้องเช็คที่ชั้นวางเลี้ยงอย่างสม่ำเสมอเพื่อนำขวดที่ปนเปื้อนออกจากพื้นที่ห้องปฏิบัติการ กรณีการปนเปื้อนเกิดจากมดเชื้อราจะมีลักษณะเป็นสีขาวฟูและปนเปื้อนในขวดที่วางเลี้ยงในบริเวณเดียวกัน หากการปนเปื้อนเกิดจากเทคนิคปฏิบัติจะสังเกตเห็นเชื้อราหรือแบคทีเรีย

เจริญเติบโตขึ้นบริเวณเนื้อเยื่อภายใน 3-5 วันหลังจากการย้ายเลี้ยง ลักษณะการปนเปื้อนที่มีสาเหตุจากการล้างขวดไม่สะอาด เชื้อราจะเจริญเติบโตด้านข้างผนังขวดแล้วลามเข้ามาในขวดเนื้อเยื่อ ส่วนการปนเปื้อนจากแบคทีเรียส่วนใหญ่ติดมาจากต้นในขวดแม่ หรือจากอุปกรณ์ที่ใช้จับเนื้อเยื่อระหว่างการย้ายเลี้ยง เนื่องจากแบคทีเรียปนเปื้อนได้จากการสัมผัส ดังนั้น ในการปฏิบัติงานผู้ปฏิบัติต้องสังเกตเนื้อเยื่อไม้ขวดอย่างละเอียด เพื่อให้แก้ปัญหาการปนเปื้อนที่เกิดในห้องปฏิบัติการได้ทัน และต้องเลือกเฉพาะขวดที่สะอาดปราศจากเชื้อมาย้ายเลี้ยง กรณีที่ขวดเนื้อเยื่อมีการปนเปื้อนต้องนำออกจากชั้นแล้วล้างให้สะอาด โดยมีรายละเอียดในการล้างทำความสะอาดขวด ดังนี้

1) ขวดที่ปนเปื้อนเชื้อราและแบคทีเรีย

**แนวทางแก้ไขและพัฒนา**

เมื่อเจอการปนเปื้อนต้องนำออกจากชั้นวางเลี้ยง รวบรวบเพื่อนึ่งฆ่าเชื้อ การรวบรวมนึ่งฆ่าเชื้อเป็นรอบจะช่วยประหยัดพลังงานจากการใช้หม้อนึ่ง เมื่อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เสร็จจึงเปิดเปิดขวดเพื่อล้างทำความสะอาดด้วยน้ำยาล้างจานแล้วล้างออกด้วยน้ำสะอาด 2 ครั้ง หลังนึ่งฆ่าเชื้อควรล้างหม้อนึ่งเพื่อเปลี่ยนถ่ายน้ำในระบบของหมดนึ่งทั้งหมด

2) การปนเปื้อนจากขวดลุกลามมาก

สังเกตได้จากการเกิดการปนเปื้อนลักษณะนี้จะเกิดพร้อมกันหลายขวดหรือการปนเปื้อนเกิดเร็วกว่าปกติ เช่น ปกติการวางเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอาจจะเกิดการปนเปื้อนหลังวางเลี้ยง 3 เดือน ถ้าหากวางเลี้ยงไป 1-2 เดือน แล้วเกิดการปนเปื้อน หรือการเจริญเติบโตของเชื้อราบนอาหารที่เริ่มจากพื้นที่ข้าง ๆ ขวดมากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนขวดที่วางเลี้ยงทั้งหมด ถือว่าเป็นการปนเปื้อนที่ลุกลามมาก

**แนวทางแก้ไขและพัฒนา**

ให้ล้างขวดด้วยการนำไปนึ่งฆ่าเชื้อก่อนล้าง เมื่อขวดแห้งให้นำขวดไปอบด้วยตู้อบที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ก่อนจะนำขวดมาใช้งานต่อ

**5.1.3. ปัญหาการดำเนินการต่อเนื่องหลังเสร็จสิ้นปฏิบัติการ**

การดำเนินการเตรียมเนื้อเยื่อพืชประจำห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืชมีค่าใช้จ่าย คือค่ากระแสไฟฟ้าที่ใช้กับหลอดให้แสงสว่างบนชั้นวางและเรื่องปรับอากาศที่ต้องใช้เพื่อควบคุมอุณหภูมิ ไม่ว่าจะวางเลี้ยง 10 หรือ 1,000 ขวด ก็ต้องเปิดระบบเพื่อปรับแสงและอุณหภูมิ หากมีการปิดระบบ ก็จะเกิดปัญหาการปนเปื้อนเชื้อรา รวมทั้งการเริ่มต้นผลิตพืชปลอดเชื้อทำได้ช้ามาก อาจจะเกิดปัญหากับการเรียนการสอน

**แนวทางแก้ไขและพัฒนา**

เพื่อให้ตัวอย่างที่เตรียมไว้เป็นประโยชน์และมีความคุ้มค่าในการดำเนินระบบของห้องปฏิบัติการทั้งด้านการใช้แรงงาน การใช้กระแสไฟฟ้าที่ใช้กับเครื่องปรับอากาศและหลอดไฟบนชั้นวางเลี้ยง นักวิทยาศาสตร์สามารถวางแผนการทำงานและออกปลูกต้นไม้ที่ได้จากการเรียนการสอนให้พัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์เพื่อนำไปบริการแก่ผู้สนใจ หรือให้นักศึกษาที่สนใจได้เข้ามาเรียนรู้อย่างครบวงจรด้วยการได้ลงมือทำจริง ซึ่งเป็นเหตุผลหนึ่งที่ทำให้การเลือกตัวอย่างจะต้องพิจารณาความต้องการของตลาดร่วมด้วยเพราะนอกจากจะมีตัวอย่างพร้อมสำหรับการเรียนการสอนแล้ว นักศึกษาจะได้ทดลองและฝึกทักษะจากการลงมือทำจริงกับพืชที่กำลังเป็นที่ต้องการของตลาด เป็นการกระตุ้นความอยากเรียนรู้ของผู้เรียน เมื่อเห็นประโยชน์จากการเรียนรู้นักศึกษาจะสนุกและสามารถนำความรู้พื้นฐานทั้งทางด้านเคมีและชีววิทยามาอธิบายส่งผลให้เกิดการค้นคว้าเพื่อหาคำตอบ พร้อมทั้งให้ความสนใจในการพัฒนาสูตรอาหารและปรับปรุงเทคนิคในการฟอกฆ่าเชื้อและการย้ายเลี้ยงเพื่อให้งานของแต่ละคนประสบความสำเร็จ อย่างไรก็ตาม ปัญหาในการให้บริการห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืชจะลดลงหรือไม่มีเลย หากนักวิทยาศาสตร์สามารถดำเนินการเตรียมตัวอย่างให้เพียงพอ ตรวจสอบระบบควบคุมอุณหภูมิของห้องวางเลี้ยง ระบบควบคุมแสง และการจัดเก็บวัสดุอุปกรณ์ตามหลัก 5 ส. ของห้องปฏิบัติการอย่างต่อเนื่อง เมื่อมีการเรียนการสอนนักศึกษาหรืออาจารย์ผู้สอนสามารถหยิบต้นไม้จากขวดปลอดเชื้อมาทดลอง ภายใต้ระบบของห้องปฏิบัติการที่ดำเนินการอยู่ควบคู่ไปกับการเตรียมพืชปลอดเชื้อด้วยตนเอง ทำให้การเรียนการสอนสามารถดำเนินการได้ครบทุกขั้นตอนใน 1 ภาคการศึกษา

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ เป็นหน่วยงานที่มีบุคลากรและห้องปฏิบัติการที่สามารถพัฒนาศักยภาพเพื่อให้เกิดประโยชน์ต่อการเรียนรู้ของนักศึกษาและผู้สนใจ โดยเฉพาะปัจจุบันที่เป็นโลกแห่งการเรียนรู้ตลอดชีวิตมีช่องทางมากมายที่จะผลิตสื่อการเรียนรู้สู่สังคม การดำเนินการห้องปฏิบัติการอย่างต่อเนื่องนอกจากจะเพิ่มประสบการณ์ให้กับนักวิทยาศาสตร์แล้ว ยังอาจจะก่อประโยชน์ต่อชุมชน สังคมและประเทศชาติ อย่างไรก็ตาม การพัฒนาทุกอย่างต้องขึ้นอยู่กับนโยบายที่ต่อเนื่อง และความสามารถในการปรับแนวความคิดของนักวิทยาศาสตร์และผู้ดูแลห้องปฏิบัติการให้ทำงานอย่างมีความสุข มีความต้องการที่จะพัฒนาตนเองเพื่อโอกาสในการใช้ความรู้ความสามารถ เครื่องมือและอุปกรณ์ที่มีเพื่อสร้างประโยชน์ในการรองรับการเรียนรู้ให้นักศึกษาซึ่งเป็นทรัพยากรบุคคลที่มีคุณค่ายิ่งต่ออนาคตของประเทศ รวมทั้งการให้บริการชุมชนและสังคม โดยภาพรวมของการพัฒนาดังที่กล่าวมา อาจจะมีนโยบายดังนี้

**5.2.1 การสนับสนุนให้พนักงานมีการพัฒนาทักษะที่จำเป็นสำหรับสายงานของตน**อย่างน้อย 1 ครั้งต่อปี ทั้งนี้เพื่อเป็นการเปิดโอกาสในการเรียนรู้เทคโนโลยีและแลกเปลี่ยนแนวคิดกับสมาชิกหรือเพื่อนในวงการเดียวกัน

**5.2.2 การส่งเสริมและสนับสนุนการทำงานของนักวิทยาศาสตร์อย่างต่อเนื่อง** การปฏิบัติงานตามคู่มือฉบับนี้เป็นการปฏิบัติงานส่วนหนึ่งของกระบวนการการทำงานในห้องปฏิบัติการที่มีลักษณะเฉพาะด้วยการเตรียมตัวอย่างให้พร้อมเพื่อการรองรับเรียนการสอนทั้งหมด เป็นการดำเนินการอย่างต่อเนื่องเต็มรูปแบบเพื่อให้นักศึกษาได้เรียนรู้กระบวนการทำงานทั้งหมดเพื่อประโยชน์ในการทำงานจริงหลังจากสำเร็จการศึกษา ซึ่งมีห้องปฏิบัติการหรือเครื่องมืออีกหลายตัวที่สามารถดำเนินการในลักษณะนี้ได้ หากผู้บริหารหรือนักวิทยาศาสตร์เห็นประโยชน์จากการใช้ทรัพยากรเพื่อความคุ้มค่า นอกจากจะเพิ่มประสบการณ์และความชำนาญให้กับนักวิทยาศาสตร์เองแล้ว ยังเป็นการเพิ่มโอกาสในการสร้างประโยชน์แก่ชุมชนและสังคม เช่น การวิเคราะห์ดิน พืช ปุ๋ย ให้กับเกษตรกร การจัดอบรมการพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางอาหาร เป็นต้น ซึ่งปัจจุบันศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีได้ดำเนินการกิจกรรมในลักษณะนี้ในรูปแบบวิสาหกิจ อย่างไรก็ตามในบางกรณีค่าตอบแทนอาจจะไม่ได้เป็นผลกำไร การขาดทุน คือ กำไร (our loss is our gain) โดยคนทำงานควรตระหนักว่าการเสียคือการได้ การทำให้คนอยู่ดีมีความสุขเป็นผลกำไรที่นับเป็นมูลค่าไม่ได้ เป็นการให้ที่สร้างคุณค่าและความสุขใจให้ตนเอง

**5.2.3 การใช้รูปแบบการสอนแบบลงทะเบียนร่วมเรียน** เช่น เปิดโอกาสให้ผู้สนใจร่วมลงทะเบียนเรียนรายวิชาที่สามารถนำไปประกอบอาชีพหรือพัฒนาตัวเอง เช่น รายวิชาเบเกอรี่ รายวิชาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช รายวิชาทางด้านพืชสมุนไพร เป็นต้น เพื่อตอบสนองต่อโลกแห่งการเรียนรู้ตลอดชีวิต (lifelong learning) ในกรณีผู้เรียนรู้ต้องการเข้ามาฝึกทักษะปฏิบัติ ทั้งนี้ เป็นการเปิดโอกาสในการแลกเปลี่ยนประสบการณ์ของนักวิทยาศาสตร์และผู้ประกอบการหรือแม้แต่กับอาจารย์ผู้สอน สามารถนำแนวคิดมาต่อยอดในการให้ความรู้กับนักศึกษา เนื่องจากหลายรายวิชาเป็นวิทยาศาสตร์ประยุกต์ การเรียนรู้อยู่ตลอดเวลาเพื่อให้ทันกับความเคลื่อนไหวของเทคโนโลยีเพื่อนำมาปรับใช้ให้เป็นปัจจุบันจึงเป็นสิ่งสำคัญ

# บรรณานุกรม


กัลยาณมิตร (28 กรกฎาคม 2560). *สาราณียธรรม 6 (วิธีสร้างความสามัคคี 6 ประการ)*. https://kalyanamitra.org/th/article_detail.php?i=15409

กาญจุรีย์ ว่องไวรัตนกุล. (16 กันยายน 2565). *คู่มือปฏิบัติงานการเตรียมบทปฏิบัติการรายวิชาปฏิบัติการหลักชีวเคมี ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์.* https://hro.wu.ac.th/wp-content/uploads/2022/09/10 กาญจุรีย์1_2_1.pdf

กาพย์แก้ว แก้วนาบอน, ธัญญะ เตชะศีลพิทักษ์ และทัศไนย จารุวัฒนพันธ์. (2562). การชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนต่าง ๆ ของต้นลินเดอร์เนียในสภาพปลอดเชื้อ. *Thai Journal of Science and Technology. 8*(2), 138-142.

กิตติศักดิ์ โชติกเดชาณรงค์. (2556). ผลของน้ำยาฟอกผ้าขาวต่อการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อม่วงเทพรัตน์. *Rajabhat Journal of Science, Humanities & Social Science, 14*(2), 34-43.

เกตุนภา ไทยหนุ่ม, เทิดศักดิ์ โทณลักษณ์ และธัญญา ทะพิงค์แก. (2012). ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์-สารที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้ออาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. *Rajabhat Chiang Mai Research Journal, 13*(1), 149-155.

*ข้อบังคับมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ ว่าด้วยคณะกรรมการประจำสถาบันและศูนย์* พ.ศ. 2562. (19 สิงหาคม 2562). ส่วนทรัพยากรมนุษย์และองค์กร
. https://hro.wu.ac.th/wpcontent/uploads/2022/01/2.ข้อบังคับฯ-ว่าด้วยคณะกรรมการ ประจำสถาบันและศูนย์-พ.ศ.2562.pdf

*ข้อบังคับมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ ว่าด้วยประมวลจริยธรรมและธรรมาภิบาลนายกสภามหาวิทยาลัย กรรมการสภามหาวิทยาลัย ผู้บริหาร บุคลากร ผู้เรียนของมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ พ.ศ. 2567* https://council.wu.ac.th/wp-content/uploads/2024/11/ข้อบังคับ-ว่าด้วยประมวลจริยธรรมฯ-พ.ศ.-2567.pdf

จรงค์ศักดิ์ พุมนวน. (30 พฤษภาคม 2565). *เทคนิคการเขียนคู่มือปฏิบัติงานจากงานประจำ* https://www.personnel.nu.ac.th/home/images/data/file/hrm/2565/01/file/01.pdf

ชัยวัฒน์ พวงคลัง. (16 มกราคม 2567). *โครงสร้างการบริหารศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์.* https://cse.wu.ac.th/?page_id=91

*เทคนิคการเขียนขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Flowchart) ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์* (พฤศจิกายน, 2567) https://sci.chandra.ac.th/newsci/images/document/officer/km-flowchart.pdf

ธนากร วงษ์ศา, พิทักษ์ อินธิมา และอนุพันธ์ กงบังเกิด. (2021). ผลของไซโตไคนินและการเตรียมชิ้นส่วนต่อการทวีจำนวนต้นกล้วยไข่สายพันธุ์กำแพงเพชรในสภาพปลอดเชื้อ. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มรย.*, *6*(2), 171-180.

ธราธร ทีรฆฐิติ, อรนุช ลีลาพร, ยินดี ชาญวิวัฒนา และลิขิต มณีสินธุ์. (22 ตุลาคม 2563). *คู่มือส่งเสริมการเรียนรู้ด้านพืช "การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม้ดอกไม้ประดับ"*. https://waa.inter.nstda.or.th/stks/pub/2020/20200604-plant-tissue-culture.pdf

*ประกาศมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ เรื่อง การแบ่งส่วนงานของสำนักงานอธิการบดี สำนักวิชา สถาบัน ศูนย์ หรือหน่วยงานที่เรียกชื่ออย่างอื่น พ.ศ. 2565*. (25 กรกฎาคม 2565). ราชกิจจานุเบกษา. เล่มที่ 139 ตอนพิเศษ 173 ง. หน้า 48. https://dla.wu.ac.th/elaw/3467

ผดุงศักดิ์ สุขสอาด. (2562). BTH-371 ปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช. คู่มือปฏิบัติการ.

*มาตรฐานกลาง 5 ส. ห้องปฏิบัติการศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี* (กรกฎาคม 2018) https://cse.wu.ac.th/wp-content/uploads/2018/07/New_edit_2.pdf

*ระบบประเมินวิชาปฏิบัติการ.* (ม.ป.ป.). ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. https://cseweb.wu.ac.th/lces/index.php

*ระเบียบการใช้บริการห้องปฏิบัติการ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.* (13 กรกฎาคม 2563). ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. https://cse.wu.ac.th/?page_id=9512

รัตนา ขามฤทธิ์ และจิตรกร ปรีแม่น. (2562). การฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวและการชักนำให้เกิดต้นจากไรโซมของไพลในหลอดทดลอง. *แก่นเกษตร 47*(1), 1393-1398.

ราตรี นิตยเดชพัฒน์ และสมปอง เตชะโต. (2548). การเพิ่มประสิทธิภาพการขยายพันธุ์หน้าวัวด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. *ว. สงขลานครินทร์ วทท., 27*(5) : 1003-1008.

วลัยลักษณ์ เมธาภัทร และเอกณรงค์ อินทรชัย. (2017). การศึกษาความคงตัวของสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีน. *วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 59*(1), 24-33.

สหธร เพชรวิโรจน์ชัย. (4 พฤษภาคม 2565). *5 หลักการระบบลีน (LEAN) วิธีการใช้งานเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพองค์กร*. https://th.hrnote.asia/orgdevelopment/lean-management-210621/

สุชาตา ชินะจิตร. (พฤษภาคม 2555). *ความปลอดภัยของห้องปฏิบัติการ : พัฒนาได้อย่างไร ใช้จริยธรรมสร้างความตระหนักรู้สู่วัฒนธรรม*. http://esprel.labsafety.nrct.go.th/files/ESPReLBook3.pdf

สุชนมา สุขรักษาวงศ์. (2022). การฟอกฆ่าเชื้อและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชต้นทุนต่ำเพื่อการขยายพันธุ์มันเหน็บ (*Dioscorea bulbifera*). Science, Technology, and Social Sciences Procedia, *2022*(4), rspg014-rspg014.

สุปัน ไม้ดัดจันทร์, วิภาดา ทองทักษิณ, สุภาภรณ์ สาชาติ และอำนวย อรรถรังรอง. (2012). เทคโนโลยีการขยายพันธุ์รองเท้านารีฝาหอย Paphiopedilum bellatulum (Rchb.f.). *Agricultural Research Journal, 30*, 248-257.

สุมิตรา สุปินราช และอิศร์ สุปินราช. (2014). ผลของ IBA และ NAA ต่อการชักนำให้เกิดรากของต้นอ่อนกล้วยไม้ช้างการ์ตูน [*Rhynchostylis gigantea* (Lindl.) Ridl. 'Cartoon'] ในสภาพปลอดเชื้อ. *วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ว. 22*(4), 507-514.

สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน). (2022). *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชประโยชน์และสิ่งที่ควรรู้.* https://www.arda.or.th/detail/6317

Ahmed, S., Sharma, A., Bhushan, B., Wali, V. K., Bakshi, P., & Singh, A. K. (2014). Studies on hardening and acclimatization of micropropagated plantlets of banana cv. Grand Naine. *The Bioscan, 9*(3), 965-967.

Al-Ghasheem, N., Stănică, F., Peticilă, A. G., & Venat, O. (2018). *In vitro* effect of various sterilization techniques on peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) explants. *Scientific Papers-Series B, Horticulture*, No.62, 227-234.

Amente, G., & Chimdessa, E. (2021). Control of browning in plant tissue culture : A review. *J. Sci. Agric. 5*, 67-71.

Awanafan. (2024) *Service Mind คืออะไร? สำคัญกับงานบริการอย่างไร?* [The Wisdom Academy®]. https://thewisdom.co/content/what-is-service-mind/

Aygun, A., & Dumanoglu, H. (2015). *In vitro* shoot proliferation and *in vitro* and *ex vitro* root formation of *Pyrus elaeagrifolia* Pallas. *Frontiers in plant science*. *6*, 1-8.

Bhojwani, S. S., & Razdan, M. K. (1986). *Plant tissue culture : theory and practice*. Elsevier.

Blinstrubienė, A., Burbulis, N., Jonytienė, V., & Masienė, R. (2020). Evaluation of factors affecting direct organogenesis in a somatic tissue culture of *Sinningia speciosa* (Lodd.) Hiern. *Agronomy, 10*(11), 1783.

Carmelita, L. P., & Prabhuling, G. (2015). Studies on hardening of tissue culture propagated plants of *Jamun* cv. AJG-85. *International Journal of Tropical Agriculture, 33*(2 (Part I), 343-349.

Cao, Z., Sui, S., Cai, X., Yang, Q., & Deng, Z. (2016). Somaclonal variation in 'Red Flash'caladium: morphological, cytological and molecular characterization. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, *126*, 269-279.

Dar, S. A., Nawchoo, I. A., Tyub, S., & Kamili, A. N. (2021). Effect of plant growth regulators on *in vitro* induction and maintenance of callus from leaf and root explants of *Atropa acuminata* Royle ex Lindl. *Biotechnology reports*, 32, e00688.

Farooq, S. A., Khan, R. S., & Farook, T. T. (2012). Tissue culture studies in date palm. Dates production, processing, food, and medicinal values, 13-23.

Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. (2024, Febuary 2). *Growth Regulators– Plant Tissue Culture Protocol.* https://www.sigmaaldrich.com/TH/en/technical-documents/technical-article/cell-culture-and-cell-culture-analysis/plant-tissue-culture/growth-regulators

Nurokhman, A., Faizah, H., Sugiharto, S., Utami, E. S. W., & Manuhara, Y. S. W. (2019). Effect of plant growth regulator and explant types on *in vitro* callus induction of *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. *Research Journal of Biotechnology, 14*(9), 102-107.

Orchidtropical.com (2010) *การผสมพันธุ์กล้วยไม้.* https://www.orchidtropical.com/articleid13.php

Orchidtropical.com (2010) *จะสังเกตฝักกล้วยไม้อย่างไรว่านำไปเพาะได้แล้ว* https://www.orchidtropical.com/articleid17.php

Saad, A. I. M., & Elshahed, A. M. (2018). Plant tissue culture media, recent advances in plant in vitro culture. *IntechOpen. https://www. intechopen.com/books /recent-advances in plant in-vitro culture/plant-tissue-culture-medi. Assessed on*, *16*.

Solangi, N., Jatoi, M. A., Markhand, G. S., Abul-Soad, A. A., Solangi, M. A., Jatt, T. & Mirani, A. A. (2022). Optimizing tissue culture protocol for *in vitro* shoot and root development and acclimatization of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) plantlets. *Erwerbs-obstbau*, *64*(1), 97-106.

Sharma, S. K., & Sharma, M. (2013). Improved protocol for *in vitro* propagation of gloxinia (*Sinningia* sp.). *Journal of Cell and Tissue Research, 13*(1), 3545.

Shekarriz, P., Kafi, M., Deilamy, S. D., & Mirmasoumi, M. (2014). Coconut water and peptone improve seed germination and protocorm like body formation of hybrid Phalaenopsis. *Agric Sci Dev, 3*(10), 317-22.

Singh, H. P., Uma, S., Selvarajan, R., & Karihaloo, J. L. (2011). Micropropagation for production of quality banana planting material in Asia-Pacific. Asia-Pacific Consortium on Agricultural Biotechnology (APCoAB), New Delhi, India, 92.

Singh, V. K., Prasad, V. M., Kumari, S., Rajoria, P., & Misra, P. (2017). Identification of the suitable hardening protocol and hardening medium in micropropagation of gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus). *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci, 6*(7), 2476-2484.

Sudheer, W. N., Praveen, N., Al-Khayri, J. M., & Jain, S. M. (2022). Role of plant tissue culture medium components. In Advances in Plant Tissue Culture (pp. 51-83). Academic Press.

Suman, S. (2017). Plant tissue culture: A promising tool of quality material production with special reference to micropropagation of banana. *Biochemical & Cellular Archives*, *17*(1) 1-26.

Sushant Gawali. (2022, November 13). *Plant tissue culture method and types of culture methods.* https://www.slideshare.net/SshtGwl1/plant-tissue-culture-25416612

Wamaedeesa, R., Ali, B., Chedao, N., & Kanjanawattanawong, S. (2021). Chemical sterilization in MS culture medium for *in vitro* culture of *Philodendron* sp. “Ruaysap”. *Princess of Naradhiwas University Journal, 13*(1), 377-387.

Xiong, G., Wang, F. Y., Nyberg, T. R., Shang, X., Zhou, M., Shen, Z., & Guo, C. (2017). From mind to products: Towards social manufacturing and service. IEEE/CAA *Journal of Automatica Sinica, 5*(1), 47-57.

# ภาคผนวก

**ภาคผนวกที่ 1** แบบฟอร์มรายงานการเตรียมความพร้อมการเปิดให้บริการรายวิชาปฏิบัติการ

**รายงานการเตรียมความพร้อม**

**ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**

รหัสวิชา: .....ชื่อวิชา.....สำนักวิชา.....

ภาคการศึกษาที่ ..... ปีการศึกษา .....ห้องปฏิบัติการ.....

จำนวน Section.....วัน.....เวลา.....

ผู้ประสานรายวิชา : อาจารย์.....วิศวกร/นักวิทยาศาสตร์.....

| ลำดับ | รายการ | ผลการตรวจสอบ | | สาเหตุ (ระบุรายละเอียด) | กำหนดแล้วเสร็จ | หมายเหตุ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | พร้อม | ไม่พร้อม | | | |
| 1 | ห้องปฏิบัติการ | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| 2 | คู่มือปฏิบัติการ | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| 3 | ครุภัณฑ์ | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| 4 | วัสดุ / อุปกรณ์ | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| 5 | สารเคมี | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| 6 | บุคลากร | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |

ผู้ตรวจสอบ ..... ( .....)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

**สำหรับหัวหน้าฝ่ายห้องปฏิบัติการ**

ผลการเตรียมความพร้อม

☐ เปิดให้บริการได้

☐ ไม่สามารถเปิดให้บริการได้ เนื่องจาก.....

ลงชื่อ.....ว/ด/ป.....

CSE-LAB-FM-02 Rev. 00

**ภาคผนวกที่ 2** แบบฟอร์มสรุปผลการประเมินความพึงพอใจในการใช้ห้องปฏิบัติการ

**สรุปผลการประเมินความพึงพอใจในการใช้ห้องปฏิบัติการ (สำหรับอาจารย์)**
**ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**

**รายวิชา .....**
**ห้อง.....**

| ข้อ | รายละเอียด | ระดับความพึงพอใจ | | | | | คะแนนเฉลี่ย | Percent | หมายเหตุ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 | | | |
| 1 | **เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ** | | | | | | | | |
| | *ความรู้ความสามารถในการปฏิบัติงาน | | | | | | | | |
| | *การให้ข้อมูลเกี่ยวกับห้องปฏิบัติการ | | | | | | | | |
| | *การวางแผนและการประสานงาน | | | | | | | | |
| | *อัธยาศัยและการบริการ | | | | | | | | |
| | *ความสะดวกในการติดต่อเจ้าหน้าที่ | | | | | | | | |
| 2 | **ห้องปฏิบัติการ** | | | | | | | | |
| | *ความพร้อมของครุภัณฑ์ | | | | | | | | |
| | *ความพร้อมของวัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี | | | | | | | | |
| | *ความสะอาดและความเป็นระเบียบเรียบร้อย | | | | | | | | |
| 3 | **การจัดการความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ** | | | | | | | | |
| | *การให้ข้อมูลเกี่ยวกับความปลอดภัย | | | | | | | | |
| | *ความพร้อมของอุปกรณ์ความปลอดภัย | | | | | | | | |
| | *การจัดการสารเคมี ของเสีย และขยะ | | | | | | | | |
| 4 | **คุณภาพโดยรวม** | | | | | | | | |
| | *ท่านมีความพึงพอใจในการใช้บริการระดับใด | | | | | | | | |
| **ค่าเฉลี่ย** | | | | | | | | | |

**หมายเหตุ : จำนวนอาจารย์ที่ตอบแบบประเมิน คน**

**สรุปผลการประเมินความพึงพอใจในการใช้ห้องปฏิบัติการ (สำหรับนักศึกษา)**
**ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**
**รายวิชา .....**
**ห้อง .....**

| ข้อ | รายละเอียด | ระดับความพึงพอใจ | | | | | คะแนนเฉลี่ย | Percent | หมายเหตุ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 | | | |
| 1 | **เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ** | | | | | | | | |
| | *ความรู้ความสามารถในการปฏิบัติงาน | | | | | | | | |
| | *การให้ข้อมูลเกี่ยวกับห้องปฏิบัติการ | | | | | | | | |
| | *อัธยาศัยและการบริการ | | | | | | | | |
| | *ความสะดวกในการติดต่อเจ้าหน้าที่ | | | | | | | | |
| 2 | **ห้องปฏิบัติการ** | | | | | | | | |
| | *ความพร้อมของครุภัณฑ์ | | | | | | | | |
| | *ความพร้อมของวัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี | | | | | | | | |
| | *ความสะอาดและความเป็นระเบียบเรียบร้อย | | | | | | | | |
| 3 | **การจัดการความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ** | | | | | | | | |
| | *การให้ข้อมูลเกี่ยวกับความปลอดภัย | | | | | | | | |
| | *ความพร้อมของอุปกรณ์ความปลอดภัย | | | | | | | | |
| | *การจัดการสารเคมี ของเสีย และขยะ | | | | | | | | |
| 4 | **คุณภาพโดยรวม** | | | | | | | | |
| | *ท่านมีความพึงพอใจในการใช้บริการระดับใด | | | | | | | | |
| **ค่าเฉลี่ย** | | | | | | | | | |

**หมายเหตุ : จำนวนนักศึกษาที่ตอบแบบประเมิน คน**
จำนวนนักศึกษาที่ลงทะเบียนทั้งหมด .. คน คิดเป็น ..... %

ข้อเสนอแนะ

| ลำดับที่ | เกี่ยวกับระบบสาธารณูปโภค เช่น ระบบไฟฟ้า น้ำประปา น้ำดื่ม ฯลฯ | ข้อเสนอแนะ |
|---|---|---|

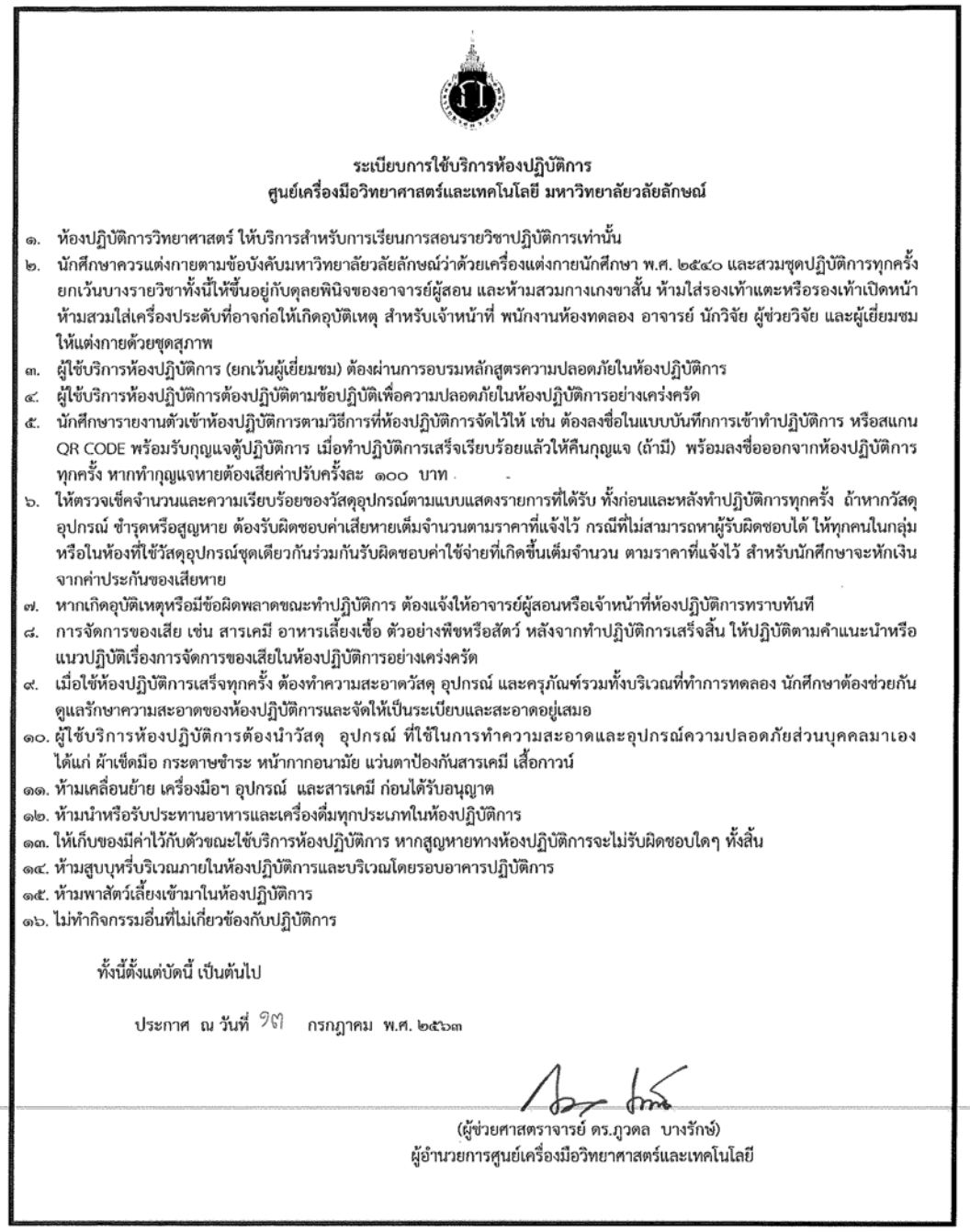
**ภาคผนวกที่ 3** รายการสรุปต้นทุนการให้บริการแต่ละรายวิชา

สรุปต้นทุนรายวิชาปฏิบัติการ เทอม .....

ฝ่ายห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

| ลำดับ | รายวิชาปฏิบัติการ | | | ผู้ประสาน | อาจารย์ผู้ประสาน | จำนวน | ห้องปฏิ | ชื่อห้องปฏิบัติการ/อาคาร | นักวิทย์ที่คุม | พนักงานวิทย์ | ต้นทุนวัสดุสิ้นเปลือง | | ต้นทุนวัสดุไม่สิ้นเปลือง | | | ต้นทุนครุภัณฑ์ | | | รวม | วัสดุอุปกรณ์ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | หลักสูตร | รหัสวิชา | ชื่อวิชา | รายวิชา | รายวิชา | นักศึกษา | n x จำนวนห้อง) | | ปฏิบัติการ | ปฏิบัติการ | ราคา/ภาค | ราคา/ภาค | ราคารวม | ราคา/ภาค | ราคา/ภาค/คน | ราคารวม | ราคา/ภาค | ราคา/ภาค/คน | ทั้งสิ้น/คน | ชำรุดรวม |
| 1 | AGI63 | 121 | Physiology of Crop* | ราตรี | | | | เครื่องมือรวม B3/ชีวภาพพืช | ราตรี | | | | | | | | | | | |
| 2 | AGI63 | 122 | Soil and Soil Fertilizer | ราตรี | | | | เครื่องมือรวม B3/ชีวภาพพืช | ราตรี | | | | | | | | | | | |
| 3 | AGI63 | 225 | Agricultural Entomolog | ราตรี | | | | เครื่องมือรวม B3/ชีวภาพพืช | ราตรี | | | | | | | | | | | |

**ภาคผนวกที่ 4** ระเบียบการใช้บริการห้องปฏิบัติการ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์



**ระเบียบการใช้บริการห้องปฏิบัติการ**
**ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์**

๑. ห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ ให้บริการสำหรับการเรียนการสอนรายวิชาปฏิบัติการเท่านั้น
๒. นักศึกษาควรแต่งกายตามข้อบังคับมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ว่าด้วยเครื่องแต่งกายนักศึกษา พ.ศ. ๒๕๔๐ และสวมชุดปฏิบัติการทุกครั้ง ยกเว้นบางรายวิชาทั้งนี้ให้ขึ้นอยู่กับดุลยพินิจของอาจารย์ผู้สอน และห้ามสวมกางเกงขาสั้น ห้ามใส่รองเท้าแตะหรือรองเท้าเปิดหน้า ห้ามสวมใส่เครื่องประดับที่อาจก่อให้เกิดอุบัติเหตุ สำหรับเจ้าหน้าที่ พนักงานห้องทดลอง อาจารย์ นักวิจัย ผู้ช่วยวิจัย และผู้เยี่ยมชม ให้แต่งกายด้วยชุดสุภาพ
๓. ผู้ใช้บริการห้องปฏิบัติการ (ยกเว้นผู้เยี่ยมชม) ต้องผ่านการอบรมหลักสูตรความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ
๔. ผู้ใช้บริการห้องปฏิบัติการต้องปฏิบัติตามข้อปฏิบัติเพื่อความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการอย่างเคร่งครัด
๕. นักศึกษารายงานตัวเข้าห้องปฏิบัติการตามวิธีการที่ห้องปฏิบัติการจัดไว้ให้ เช่น ต้องลงชื่อในแบบบันทึกการเข้าทำปฏิบัติการ หรือสแกน QR CODE พร้อมรับกุญแจตู้ปฏิบัติการ เมื่อทำปฏิบัติการเสร็จเรียบร้อยแล้วให้คืนกุญแจ (ถ้ามี) พร้อมลงชื่อออกจากห้องปฏิบัติการทุกครั้ง หากทำกุญแจหายต้องเสียค่าปรับครั้งละ ๑๐๐ บาท
๖. ให้ตรวจเช็คจำนวนและความเรียบร้อยของวัสดุอุปกรณ์ตามแบบแสดงรายการที่ได้รับ ทั้งก่อนและหลังทำปฏิบัติการทุกครั้ง ถ้าหากวัสดุอุปกรณ์ ชำรุดหรือสูญหาย ต้องรับผิดชอบค่าเสียหายเต็มจำนวนตามราคาที่แจ้งไว้ กรณีที่ไม่สามารถหาผู้รับผิดชอบได้ ให้ทุกคนในกลุ่มหรือในห้องที่ใช้วัสดุอุปกรณ์ชุดเดียวกันร่วมกันรับผิดชอบค่าใช้จ่ายที่เกิดขึ้นเต็มจำนวน ตามราคาที่แจ้งไว้ สำหรับนักศึกษาจะหักเงินจากค่าประกันของเสียหาย
๗. หากเกิดอุบัติเหตุหรือมีข้อผิดพลาดขณะทำปฏิบัติการ ต้องแจ้งให้อาจารย์ผู้สอนหรือเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทราบทันที
๘. การจัดการของเสีย เช่น สารเคมี อาหารเลี้ยงเชื้อ ตัวอย่างพืชหรือสัตว์ หลังจากทำปฏิบัติการเสร็จสิ้น ให้ปฏิบัติตามคำแนะนำหรือแนวปฏิบัติเรื่องการจัดการของเสียในห้องปฏิบัติการอย่างเคร่งครัด
๙. เมื่อใช้ห้องปฏิบัติการเสร็จทุกครั้ง ต้องทำความสะอาดวัสดุ อุปกรณ์ และครุภัณฑ์รวมทั้งบริเวณที่ทำการทดลอง นักศึกษาต้องช่วยกันดูแลรักษาความสะอาดของห้องปฏิบัติการและจัดให้เป็นระเบียบและสะอาดอยู่เสมอ
๑๐. ผู้ใช้บริการห้องปฏิบัติการต้องนำวัสดุ อุปกรณ์ ที่ใช้ในการทำความสะอาดและอุปกรณ์ความปลอดภัยส่วนบุคคลมาเอง ได้แก่ ผ้าเช็ดมือ กระดาษชำระ หน้ากากอนามัย แว่นตาป้องกันสารเคมี เสื้อกาวน์
๑๑. ห้ามเคลื่อนย้าย เครื่องมือฯ อุปกรณ์ และสารเคมี ก่อนได้รับอนุญาต
๑๒. ห้ามนำหรือรับประทานอาหารและเครื่องดื่มทุกประเภทในห้องปฏิบัติการ
๑๓. ให้เก็บของมีค่าไว้กับตัวขณะใช้บริการห้องปฏิบัติการ หากสูญหายทางห้องปฏิบัติการจะไม่รับผิดชอบใดๆ ทั้งสิ้น
๑๔. ห้ามสูบบุหรี่บริเวณภายในห้องปฏิบัติการและบริเวณโดยรอบอาคารปฏิบัติการ
๑๕. ห้ามพาสัตว์เลี้ยงเข้ามาในห้องปฏิบัติการ
๑๖. ไม่ทำกิจกรรมอื่นที่ไม่เกี่ยวข้องกับปฏิบัติการ

ทั้งนี้ตั้งแต่บัดนี้ เป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ ๑๓ กรกฎาคม พ.ศ. ๒๕๖๓

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภูวดล บางรักษ์)
ผู้อำนวยการศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

ที่มา : ประกาศศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (ระเบียบการใช้บริการห้องปฏิบัติการ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 13 กรกฎาคม 2563).

**ภาคผนวกที่ 5** สารเคมีที่เป็นส่วนประกอบของสูตรอาหารพื้นฐานในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

| Constituents | Media (amount in mg $l^{-1}$) | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | White's[c] | Heller's[d] | MS[e] | ER[f] | $B_5$[g] | Nitsch's[h] | NT[i] |
| *Inorganic* | | | | | | | |
| $NH_4NO_3$ | – | – | 1650 | 1200 | – | 720 | 825 |
| $KNO_3$ | 80 | – | 1900 | 1900 | 2527.5 | 950 | 950 |
| $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ | – | 75 | 440 | 440 | 150 | – | 220 |
| $CaCl_2$ | – | – | – | – | – | 166 | – |
| $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ | 750 | 250 | 370 | 370 | 246.5 | 185 | 1233 |
| $KH_2PO_4$ | – | – | 170 | 340 | – | 68 | 680 |
| $(NH_4)_2SO_4$ | – | – | – | – | 134 | – | – |
| $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ | 300 | – | – | – | – | – | – |
| $NaNO_3$ | – | 600 | – | – | – | – | – |
| $Na_2SO_4$ | 200 | – | – | – | – | – | – |
| $NaH_2PO_2 \cdot H_2O$ | 19 | 125 | – | – | 150 | – | – |
| KCl | 65 | 750 | – | – | – | – | – |
| KI | 0.75 | 0.01 | 0.83 | – | 0.75 | – | 0.83 |
| $H_3BO_3$ | 1.5 | 1 | 6.2 | 0.63 | 3 | 10 | 6.2 |
| $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ | 5 | 0.1 | 22.3 | 2.23 | – | 25 | 22.3 |
| $MnSO_4 \cdot H_2O$ | – | – | – | – | 10 | – | – |
| $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ | 3 | 1 | 8.6 | – | 2 | 10 | – |
| $ZnSO_4 \cdot 4H_2O$ | – | – | – | – | – | – | 8.6 |
| $ZnNa_2 \cdot EDTA$ | – | – | – | 15 | – | – | – |
| $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ | – | – | 0.25 | 0.025 | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| $MoO_3$ | 0.001 | – | – | – | – | – | – |
| $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ | 0.01 | 0.03 | 0.025 | 0.0025 | 0.025 | 0.025 | 0.025 |
| $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ | – | – | 0.025 | 0.0025 | 0.025 | – | – |
| $CoSO_4 \cdot 7H_2O$ | – | – | – | – | – | – | 0.03 |
| $AlCl_3$ | – | 0.03 | – | – | – | – | – |
| $NiCl_2 \cdot 6H_2O$ | – | 0.03 | – | – | – | – | – |
| $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ | – | 1 | – | – | – | – | – |
| $Fe_2(SO_4)_3$ | 2.5 | – | – | – | – | – | – |
| $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ | – | – | 27.8 | 27.8 | – | 27.8 | 27.8 |
| $Na_2EDTA \cdot 2H_2O$ | – | – | 37.3 | 37.3 | – | 37.3 | 37.3 |
| Sequestrene 330Fe | – | – | – | – | 28 | – | – |
| *Organic* | | | | | | | |
| Inositol | – | – | 100 | – | 100 | 100 | 100 |
| Nicotinic acid | 0.05 | – | 0.5 | 0.5 | 1 | 5 | – |
| Pyridoxine·HCl | 0.01 | – | 0.5 | 0.5 | 1 | 0.5 | – |
| Thiamine·HCl | 0.01 | – | 0.1 | 0.5 | 10 | 0.5 | 1 |
| Glycine | 3 | – | 2 | 2 | – | 2 | – |
| Folic acid | – | – | – | – | – | 0.5 | – |
| Biotin | – | – | – | – | – | 0.05 | – |

ที่มา : Plant tissue culture : theory and practice. (Bhojwani & Razdan, 1986).

**ภาคผนวกที่ 6** ปริมาณสารเคมีที่ใช้ในส่วนประกอบของอาหารสูตร MS

| ชื่อสารเคมี | สูตรสารเคมี | ปริมาณ | หมายเหตุ |
|---|---|---|---|
| **Major salts (macronutrients) per litre** | | | |
| Ammonium nitrate | ($NH_4NO_3$) | 1650 mg/l | ดูดความร้อน |
| Calcium chloride | ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$) | 440 mg/l | |
| Magnesium sulfate | ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) | 180.7 mg/l | |
| Monopotassium phosphate | ($KH_2PO_4$) | 170 mg/l | |
| Potassium nitrate | ($KNO_3$) | 1900 mg/l. | |
| **Minor salts (micronutrients) per litre** | | | |
| Boric acid | ($H_3BO_3$) | 6. 2 mg/l | |
| Cobalt chloride | ($CoCl_2 \cdot 6H_2O$) | 0.025 mg/l | |
| Ferrous sulfate | ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) | 27.8 mg/l | |
| Manganese(II) sulfate | ($MnSO_4 \cdot 4H_2O$) | 22.3 mg/l | |
| Potassium iodide | (KI) | 0.83 mg/l | |
| Sodium molybdate | ($Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$) | 0.25 mg/l | |
| Zinc sulfate | ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) | 8.6 mg/l | |
| Ethylenediaminetetraacetic acid ferric sodium | (FeNaEDTA) | 36.70 mg/L | อุ่นเพื่อเพิ่มการละลาย |
| Copper sulfate | (CuSO4 • 5H2O) | 0.025 mg/l | |
| **Vitamins and organic compounds per litre** | | | |
| Myo-Inositol | | 100 mg/l | |
| Nicotinic Acid | | 0.5 mg/l | |
| Pyridoxine • HCl | | 0.5 mg/l | |
| Thiamine • HCl | | 0.1 mg/l | |
| Glycine | | 2 mg/l | |

ที่มา : ดัดแปลงจาก สารเคมีที่ใช้ในส่วนประกอบของอาหารสูตร (ผดุงศักดิ์ สุขสะอาด, 2562)

**ภาคผนวกที่ 7** ตัวอย่างสูตรอาหารที่มีการดัดแปลงสูตร

| Components | Culture media ($mgl^{-1}$) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | modified FAST | modified KC | modified MS | modified ½ MS | modified VW |
| $Ca(NO_3)_2 \times 4H_2O$ | 80 | 695 | - | - | 613 |
| $NH_4NO_3$ | 160 | 500 | 33000 | 16500 | 22.5 |
| $KNO_3$ | - | - | 3800 | 1900 | 202 |
| Calcium gluconate | 390 | - | - | - | - |
| $KH_2PO_4$ | 80 | 250 | 3400 | 1700 | 272 |
| KCl | 160 | 250 | - | - | - |
| $CaCl_2 \times 2H_2O$ | - | - | 8800 | 4400 | 71.6 |
| $MgSO_4 \times 7H_2O$ | 80 | 250 | - | - | 122 |
| $(NH_4)_2SO_4$ | - | 500 | - | - | 500 |
| $Na_2Fe$-EDTA | 16 | 35 | 37 | 37 | 21.3 |
| $Na_2MoO_4 \times 2H_2O$ | - | - | 50 | 50 | - |
| $CoCl_2 \times 6H_2O$ | - | - | 5 | 5 | - |
| $ZnSO_4 \times 7H_2O$ | 1 | - | 1720 | 1720 | - |
| $MnSO_4 \times 7H_2O$ | - | - | 4460 | 2230 | - |
| $MnSO_4 \times 4H_2O$ | 0.1 | - | - | - | - |
| $MnSO_4 \times H_2O$ | - | 5.68 | - | - | 5.68 |
| $CuSo_4 \times 5H_2O$ | 0.03 | - | 5 | 5 | - |
| $H_3BO_3$ | 1 | - | 1240 | 1240 | - |
| $NiCl_2$ | 0.3 | - | - | - | - |
| KI | 0.01 | - | 166 | 166 | 226 |
| Ascorbic acid | 50 | - | - | - | - |
| Nicotinic acid | 10 | - | 100 | 100 | - |
| Thiamine | 5 | - | 100 | 100 | - |
| Pyridoxine | 0.5 | - | 100 | 100 | - |
| Glycine | 2 | - | 400 | 400 | - |
| Inositol | - | - | 20000 | 10000 | - |
| Sucrose | 12 | 20000 | 30000 | 30000 | 20000 |
| Fructose | 53000 | 2000 | 2000 | - | - |
| Gelrite™ | 3000 | 2000 | 2000 | 2500 | 2000 |

ที่มา : Composition of culture media used as treatment for PBL formation in Phalaenopsis orchid Manchester cultivar. (Shekarriz et al. , 2014).

**ภาคผนวกที่ 8** การเตรียมสารควบคุมการเจริญเติบโตและความเข้มข้นที่ใช้ทั่วไป

| ชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโต | Molar Equivalence | | การเตรียมสารละลาย | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | น้ำหนักโมเลกุล | µM ใน 1mg/L | ตัวทำละลาย | ตัวปรับปริมาต | เก็บสารเคมี | เก็บสารละลาย | การฆ่าเชื้อ* | ความเข้มข้นที่ใช้ (mg/L) |
| p-Chlorophenoxyacetic acid (4-CPA) | 186.6 | 5.36 | EtOH | — | RT | 2-8°C | CA | 0.1-10.0 |
| 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid | 221 | 4.53 | — | — | RT | 2-8°C | CA | 0.01-6.0 |
| 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid Sodium salt | 243 | 4.12 | Water | — | RT | 2-8°C | CA | 0.01-6.0 |
| Indole-3-acetic acid Free acid (IAA) | 175.2 | 5.71 | EtOH/1N NaOH | Water | -0°C | -0°C | CA/F | 0.01-3.0 |
| Indole-3-acetic acid Sodium salt | 197.2 | 5.07 | Water | Water | 2-8°C | -0°C | CA/F | 0.01-3.0 |
| Indole-3-acetic acid methyl ester | 189.2 | 5.29 | — | — | 2-8°C | 2-8°C | — | — |
| Indole-3-acetyl-L-aspartic acid | 290.3 | 3.45 | 0.5N NaOH | Water | -0°C | -0°C | F | 0.01-5.0 |
| Indole-3-butyric acid (IBA) | 203.2 | 4.9 | EtOH/1N NaOH | Water | 2-8°C | -0°C | CA/F | 0.1-10.0 |
| Indole-3-butyric acid Potassium salt (K-IBA) | 241.3 | 4.14 | Water | — | 2-8°C | -0°C | CA/F | 0.1-10.0 |
| alpha-Naphthaleneacetic acid Free acid (NAA) | 186.2 | 5.37 | 1N NaOH | Water | RT | 2-8°C | CA | 0.1-10.0 |
| beta-Naphthoxyacetic acid Free acid (NOA) | 202.2 | 4.95 | 1N NaOH | Water | RT | 2-8°C | CA | 0.1-10.0 |
| Phenylacetic acid (PAA) | 136.2 | 7.34 | EtOH | — | RT | 2-8°C | CA/F | 0.1-50.0 |
| Pidoram | 241.5 | 4.14 | DMSO | — | RT | 2-8°C | CA | 0.01-10.0 |
| 2,4,5-Trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T) | 255.5 | 3.91 | EtOH | — | RT | 2-8°C | CA | 0.01-5.0 |
| 2,3,5-Triiodobenzoic acid Free acid (TIBA) | 499.8 | 2 | 1N NaOH | Water | -0°C | -0°C | F | 0.05-5.0 |
| Adenine Free base | 135.1 | 7.4 | 1.0 HCl | Water | RT | 2-8°C | CA | 50-250 |
| Adenine hemisulfate Hemisulfate salt | 184.2 | 5.43 | Water | — | RT | 2-8°C | CA | 50-250 |
| 6-Benzylaminopurine (BA) | 225.3 | 4.44 | 1N NaOH | Water | RT | 2-8°C | CA/F | 0.1-5.0 |
| 6-Benzylaminopurine Hydrochloride | 261.7 | 3.82 | Water | — | RT | 2-8°C | CA/F | 0.1-5.0 |
| 6-Benzylaminopurine (BA) | 225.3 | 4.44 | 1N NaOH | Water | RT | 2-8°C | CA/F | 0.1-5.0 |
| N-Benzyl-9-(2-tetrahydropyranyl)adenine (BPA) | 309.4 | 3.23 | EtOH | — | -0°C | -0°C | CA/F | 0.1-5.0 |
| N-(2-Chloro-4-pyridyl)-N'-phenylurea (4-CPPU) | 247.7 | 4.04 | DMSO | — | 2-8°C | 2-8°C | F | 0.001-1.0 |
| 6-(gamma,gamma-Dimethylallylamino)purine (2H | 203.2 | 4.92 | 1N NaOH | Water | -0°C | -0°C | CA/F | 1.0-30.0 |
| 6-(gamma,gamma-Dimethylallylamino)purine (2H | 203.2 | 4.92 | 1N NaOH | Water | -0°C | -0°C | CA/F | 1.0-30.0 |
| 1,3-Diphenylurea (DPU) | 212.3 | 4.71 | DMSO | — | RT | 2-8°C | F | 0.1-1.0 |
| Kinetin | 215.2 | 4.65 | 1N NaOH | Water | -0°C | -0°C | CA/F | 0.1-5.0 |
| Kinetin | 215.2 | 4.65 | 1N NaOH | Water | -0°C | -0°C | CA/F | 0.1-5.0 |
| Kinetin | 215.2 | 4.65 | 1N NaOH | Water | -0°C | -0°C | CA/F | 0.1-5.0 |
| Kinetin Hydrochloride | 251.7 | 3.97 | Water | — | -0°C | -0°C | CA/F | 0.1-5.0 |
| 1-Phenyl-3-(1,2,3-thiadiazol-5-yl)urea | 220.2 | 4.54 | DMSO | — | RT | 2-8°C | CA/F | 0.001-0.05 |
| trans-Zeatin Free base | 219.2 | 4.56 | 1N NaOH | Water | -0°C | -0°C | CA/F | 0.01-5.0 |
| Zeatin | 219.2 | 4.56 | 1N NaOH | Water | -0°C | -0°C | CA/F | 0.01-5.0 |
| trans-Zeatin Hydrochloride | 255.7 | 3.91 | Water | — | -0°C | -0°C | CA/F | 0.01-5.0 |
| trans-Zeatin riboside | 351.4 | 2.85 | 1N NaOH | Water | -0°C | -0°C | F | 0.01-5.0 |
| (±)-cis,trans-Abscisic acid (ABA) | 264.3 | 3.78 | 1N NaOH | Water | -0°C | -0°C | CA/F | 0.1-10.0 |
| Ancymidol | 256.3 | 3.9 | DMSO | — | 2-8°C | -0°C | CA/F | 1.0-10.0 |
| Chlorocholine chloride (CCC) | 158.1 | 6.33 | Water | — | RT | 2-8°C | F | up to 500 |
| 3,6-Dichloro-o-anisic acid (Dicamba) | 221 | 4.52 | EtOH/Water | — | 2-8°C | 2-8°C | F | 0.01-10.0 |
| Gibberellic acid (GA3) | 346.4 | 2.89 | EtOH | — | RT | 2-8°C | CA/F | 0.01-5.0 |
| Gibberellic acid Potassium salt (K-GA3) | 384.5 | 2.6 | Water | — | 2-8°C | -0°C | CA/F | 0.01-5.0 |
| Gibberellin A4 Free acid (GA4) | 332.4 | 3.01 | EtOH | — | -0°C | -0°C | F | 0.01-5.0 |
| (±)-Jasmonic acid | 210.3 | 4.76 | EtOH | — | 2-8°C | -0°C | F | 0.01-100.0 |
| Phloroglucinol | 126.1 | 7.93 | Water | — | RT | 2-8°C | CA/F | up to 162 |
| N-(Phosphonomethyl)glycine (Glyphosate) | 169.1 | 5.91 | 1N NaOH | Water | RT | 2-8°C | F | — |
| Succinic acid 2,2-dimethylhydrazide | 160.2 | 6.24 | Water | — | 2-8°C | 2-8°C | CA/F | 0.1-10.0 |
| *CA = coautodavable with other media components. F = filter sterlize. CA/F = coautodavable with other media components, however, some loss of activity may occur. This can be compensated for by increasing component concentration. Component may be filter sterlize | | | | | | | | |

ที่มา : *Growth Regulators– Plant Tissue Culture Protocol.*

(Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates, 2019).

**ภาคผนวกที่ 9** รายละเอียดขั้นตอนการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

**ขั้นตอนเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**

1. เตรียมสารละลายเข้มข้น (stock) ด้วยความเข้มข้นต่าง ๆ ตามสูตรของสารละลายเข้มข้น (stock) ที่ต้องการ เก็บในขวดแก้ว แช่ตู้เย็น เพื่อยืดอายุการใช้งานของสารเคมี

2. ผสมสารละลายเข้มข้น (stock) ตามสูตรอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ต้องการ ด้วยไปเปตสารลงในบิกเกอร์ที่ทีน้ำประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรที่ต้องการ เติมน้ำตาล เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต คนให้ละลายและปรับปริมาตรด้วยขวดปรับปริมาตรหรือกระบอกตวง

3. หลังจากปรับปริมาตรอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแล้ว ต้องวัดความเป็นกรด-ด่าง ให้เหมาะสมตามสูตรอาหาร โดยสามารถใช้กรด (1 normal HCl) และด่าง (1 normal NaOH) เพื่อปรับให้ได้ความเป็นกรด-ด่าง ที่ต้องการ โดยต้องค่อย ๆ หยดกรด หรือด่างทีละหยด

4. เติมผงวุ้น และผงถ่าน (ปริมาณตามที่มีในสูตร) ลงไปแล้วผสมให้เข้ากัน

5. หลอมด้วยไมโครเวฟ หรือต้มด้วยเตา จนผงวุ้นหลอมหมด

6. เทใส่ขวดแก้วเพาะเลี้ยงเยื่อทันทีขณะที่ยังร้อน ควรเทอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อลงขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้สูงประมาณ 1-2 เซนติเมตร ของขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้มีปริมาณเหมาะสม การเทอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมากเกินไปเป็นการเพิ่มต้นทุน ส่วนการเทน้อยเกินไปทำให้ไม่สามารถปักชิ้นส่วนพืชลงบนอาหารเพาะเนื้อเยื่อได้

7. ปิดฝาขวด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอ (autocrave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

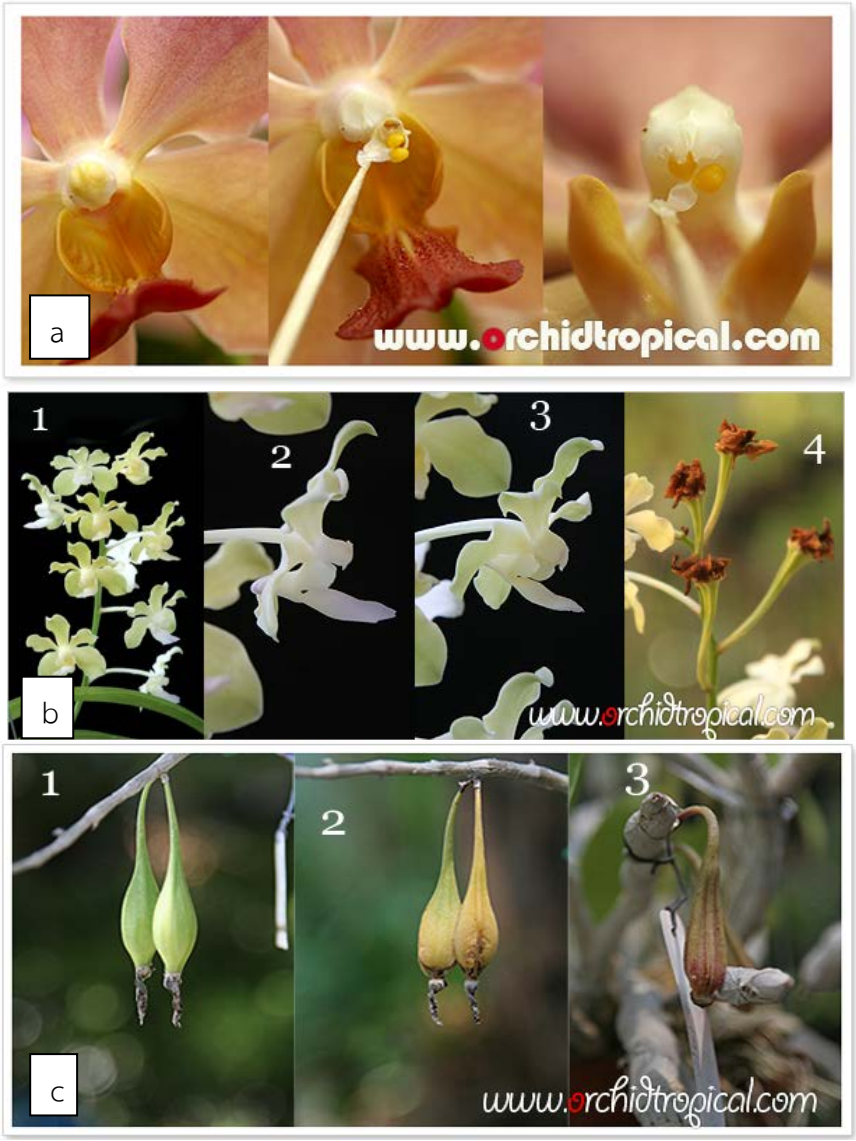
8. นำอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อออกจากหม้อนึ่งความดันไอ วางพักในห้องย้ายเลี้ยงจนกระทั่งอาหารเย็นตัวลงจึงนำมาใช้งาน

9. ทำงานตู้ปลอดเชื้อด้วยเทคนิคปราศจากเชื้อ (aceptic technique)

**ภาคผนวกที่ 10** ตัวอย่างการเตรียมพืชปลอดเชื้อในห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช

การทำงานในห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช นักวิทยาศาสตร์จะต้องมีความรู้เฉพาะทางหรือมีพื้นฐานความรู้และประสบการณ์ทางการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช รวมทั้งความรู้เรื่องปุ๋ยและโรคพืชเบื้องต้น อย่างไรก็ตาม หากนักวิทยาศาสตร์ไม่มีประสบการณ์ดังกล่าวข้างต้นก็สามารถเข้ารับการอบรมหรือทดลองทำจริงโดยใช้เทคนิคปฏิบัติที่เขียนไว้ในคู่มือเล่มนี้ การให้บริการการเรียนการสอนของรายวิชาปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจะต้องมีการปรับรายละเอียดการทำปฏิบัติการตามตัวอย่างวัสดุพืชหรือพืชปลอดเชื้อที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการโดยที่วัตถุประสงค์ในการเรียนรู้ยังคงเดิม เช่น วัตถุประสงค์เพื่อเรียนรู้การสร้างรากของพืชในหลอดทดลองอาจจะใช้การทดลองชักนำรากในกล้วยไม้ หน้าวัวหรือสับปะรด อาจจะใช้พืชชนิดเดียวหรือหลายชนิดเพื่อเปรียบเทียบกัน ดังนั้นการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อเพื่อรองรับการให้บริการห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืชต้องมีการเตรียมต้นไม้ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อให้มีต้นไม้ปลอดเชื้อประจำห้องปฏิบัติการสำหรับรองรับการเรียนการสอน ในการเขียนคู่มือครั้งนี้ผู้เขียนมีความตั้งอย่างยิ่งที่จะรวบรวมเทคนิคสำคัญในการเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อประจำห้องปฏิบัติการเพื่อเป็นประโยชน์ในการปฏิบัติงานโดยใช้ร่วมคู่มือปฏิบัติการและการประสานกับอาจารย์ผู้สอน ซึ่งมีรายละเอียดตามชนิดพืชที่ผู้เขียนได้ทดลองแล้วดังนี้

**1. กล้วยไม้ (Orchid)** กล้วยไม้เป็นพืชชนิดหนึ่งที่ใช้เป็นตัวอย่างเพื่อรองรับการเรียนการสอนของห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช มีความเหมาะสมในการใช้เป็นตัวอย่างสำหรับการให้บริการการเรียนการสอนรายวิชาปฏิบัติการหรือบทปฏิบัติการที่มีเนื้อหาเกี่ยวกับการปรับปรุงพันธุ์พืช โดยผู้ปฏิบัติงานต้องเรียนรู้เทคนิคการผสมกล้วยไม้ สายพันธุ์ที่สามารถผสมข้ามกันได้และอายุฝักที่สามารถนำมาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ อย่างไรก็ตาม ในเบื้องต้นอาจจะใช้การผสมตัวเองหรือผสมข้ามในกลุ่มเดียวกันแต่สีดอกต่างกัน ทั้งนี้ เพื่อลดปัญหาการผสมไม่ติด การใช้กล้วยไม้เพื่อเป็นตัวอย่างรองรับการเรียนการสอนนักศึกษาจะได้เรียนรู้การผสมกล้วยไม้ การติดฝักและการเพาะเมล็ดในหลอดทดลอง (ภาพที่ 1)




**ภาพที่ 1** การผสมกล้วยไม้เพื่อเป็นตัวอย่างการปรับปรุงพันธุ์พืชด้วยเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (a) การใช้ไม้จิ้มฟันเก็บเกสรตัวผู้และการแตะลงบนแอ่งเกสรตัวเมีย (b) การพัฒนาของดอกที่ได้รับการผสม 1) ช่อดอก 2) ดอกพร้อมผสม 3) ดอกหลังผสม 1 วัน 4) ดอกหลังผสม 1 สัปดาห์ (c) ลักษณะของฝักหลังจากได้รับการผสม 1) หลังผสม 1 เดือน 2) และ 3) ฝักพร้อมสำหรับนำมาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการแตกต่างกันตามสายพันธุ์

ที่มา : ดัดแปลงจาก การผสมพันธุ์กล้วยไม้. (Orchidtropical.com, 2010)

**วัสดุพืช** การเตรียมกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อสามารถใช้วัสดุพืช (plant material) คือ ฝักหรือหน่อ (pseudobulb) (ภาพที่ 2) ในกรณีใช้ฝักจะต้องมีอายุฝักเหมาะสม (ตารางที่ 1) ซึ่งในอายุฝักดังกล่าว เมล็ดมีการพัฒนาสมบูรณ์สามารถงอกได้ไม่น้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์

**ภาพที่ 2** วัสดุพืชที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเยื้อเยื่อกล้วยไม้ในห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช (a) ฝักกล้วยไม้ และ (b) หน่อ

**การฟอกฆ่าเชื้อ** เป็นกระบวนการที่สำคัญในการเตรียมชิ้นส่วนพืชเพื่อนำไปวางเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ การฟอกฆ่าเชื้อกล้วยไม้มีรายละเอียด ดังนี้

**1. การฟอกฆ่าเชื้อฝักกล้วยไม้** สามารถทำได้โดยให้ฝักกล้วยไม้ผ่านเปลวไฟจากตะเกียงแอลกอฮอล์ โดยใช้เทคนิคปลอดเชื้อด้วยการทำงานในตู้ปลอดเชื้อ เริ่มต้นด้วยการตัดแต่งฝักกล้วยไม้ให้ส่วนที่เนื้อเยื่อตาย เช่น เศษดอกแห้ง ตัดทิ้งไป นำฝักกล้วยไม้ล้างด้วยน้ำยาล้างจานแล้วล้างออกด้วยการเปิดน้ำให้ไหลผ่านจนหมดฟอง หลังจากนั้นจึงนำฝักที่ล้างเรียบร้อยแล้วเข้าตู้ย้ายเลี้ยง ฆ่าเชื้อฝักกล้วยไม้ด้วยวิธีการจุ่มฝักในแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำมาผ่านเปลวไฟและคอยสังเกตให้เปลวไฟลุกท่วมพื้นที่ผิวทั้งหมดของฝักกล้วยไม้ **ในกรณีกล้วยไม้ฝักใหญ่เปลือกหนา อาจจะผ่านเปลวไฟ 2 รอบ แต่ไม่สามารถใช้กับกล้วยไม้ที่ฝักเล็กเลือกบาง** หลังจากนั้นจึงผ่าฝักด้วยมีดผ่าตัดแล้วนำเมล็ดไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรเลี้ยงกล้วยไม้เพื่อให้เมล็ดงอกเติบโตเป็นต้นสมบูรณ์ (ภาพที่ 3) ในการวางเลี้ยงเมล็ดอาจจะใช้การเขี่ย หรือใช้ปากคีบหรือช้อนตัก ตักเมล็ดแล้วโปรยลงในขวดอาหาร ซึ่งวิธีการนี้อาจจะทำให้เมล็ดงอกเป็นกระจุก แต่มีข้อดี คือ ไม่ต้องเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปริมาณมาก อย่างไรก็ตาม เมื่อเมล็ดงอกต้องใช้เวลาในการย้ายเลี้ยง ดังนั้นในกรณีที่มีเวลาพอสำหรับการเตรียมอาหารในระยะเริ่มต้นอาจจะใช้วิธีการให้เมล็ดกระจายในน้ำแล้วสเปรย์หรือหยดลงบนผิวอาหาร วิธีนี้ทำให้เมล็ดสามารถกระจายตัวบนผิวอาหารและมีระยะห่าง ทำให้ไม่ต้อง

เสียเวลาในการย้ายเลี้ยงหลายครั้ง การเลือกใช้วิธีไหนขึ้นอยู่กับเวลา จำนวนเมล็ดในฝัก จำนวนต้นที่ต้องการและการใช้ประโยชน์ต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยง

**2) การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนหน่อ** หน่อกล้วยไม้สามารถใช้วิธีการฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอรอกซ์ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ โดยควรเลือกหน่อที่มีใบ 3-5 ใบ ตัดแยกหน่อออกมาจากต้นแม่แล้วลอกกาบใบออก 1-2 ใบ หลังจากนั้นจึงล้างหน่อด้วยน้ำประปาและน้ำยาล้างจาน เมื่อล้างเสร็จจึงฆ่าเชื้อภายนอกด้วยการจุ่มแช่ในแอลกอฮอล์ 75 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที เมื่อครบกำหนดเวลาจึงฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอร็อกซ์ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาที ในกรณีที่เป็นการเตรียมตัวอย่างในช่วงฤดูฝนหรือหน่อที่ตัดมาจากแหล่งที่มีเชื้อราระบาด ส่งผลให้โอกาสในการปนเปื้อนอาจจะสูง นักวิทยาศาสตร์ต้องใช้การฟอกฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง โดยครั้งที่ 2 ควรลดความเข้มข้นของสารคลอร็อกซ์เป็น 10 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตาม การฟอกฆ่าเชื้อซ้ำจะทำให้เนื้อเยื่อถูกทำลายเพิ่มขึ้นและการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ช้าลงกว่าเดิม

**ภาพที่ 3** การพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้จากการขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
(a) เมล็ดจากฝัก (b) ต้นอ่อนหลังวางเลี้ยง 1 เดือน (c) ต้นพร้อมออกปลูกหลังย้ายเลี้ยง 3 เดือน (d) ต้นกล้วยไม้หลังออกปลูก 1 เดือน

**สูตรอาหาร** การเพาะเลี้ยงกล้วยไม้โดยทั่วไปสามารถวางเลี้ยงบนอาหารสูตร VW (Vacin and Went) ดัดแปลงโดยการเพิ่มหรือลดน้ำมะพร้าวอ่อนและกล้วยซึ่งสามารถเพาะเลี้ยงกล้วยไม้สกุลหวาย สกุลช้าง สกุลฟาแลนนอฟซีสได้

**เทคนิคปฏิบัติ** ในการเพาะฝักถ้าใช้นำกลั่นช่วยทำให้เมล็ดมีการกระจายตัวดี ย้ายเลี้ยงได้ง่าย กรณีฝักแตกให้ฟอกฆ่าเชื้อโดยใช้ $H_2O_2$ ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ แช่เมล็ดจากฝักที่แตกแล้วสเปรย์ลงบนอาหาร การออกปลูกสามารถใช้ลูกหนีบกาบมะพร้าว ก่อนการออกปลูกต้องผึ่งลมให้รากแห้งจะทำให้ต้นกล้วยไม้เติบโตดี สำหรับการเพาะกล้วยไม้จากเมล็ดนั้นโดยทั่วไปสวนกล้วยไม้จะทำการจดบันทึกทันทีที่ได้ผสมฝักกล้วยไม้และเริ่มนับวันเวลาหลังจากติดฝักเพื่อเตรียมฝักที่มีอายุเหมาะสมมาเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ โดยทั่วไปอายุฝักเฉลี่ยของกล้วยไม้ที่เหมาะสมในการนำมาเพาะในห้องปฏิบัติการมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ (ตารางที่ 1) ทั้งนี้การผสมพันธุ์เพื่อเก็บฝักกล้วยไม้ในฤดูร้อนฝักกล้วยไม้ที่ได้อาจจะแก่เร็วกว่าปกติ

**ตารางที่ 1** อายุฝักกล้วยไม้ที่สามารถนำมาขยายพันธุ์ในห้องปฏิบัติการ

| ชนิดกล้วยไม้ | อายุฝักอ่อน (วัน) | อายุฝักแก่ (วัน) |
|---|---|---|
| *Aerides เอื้องกุหลาบ* | 180-200 | 240-300 |
| *Ascocenda* แอสโคเซ็นด้า (ลูกผสมระหว่าง *Ascocentrum* X *Vanda*) หรือ (เข็ม x แวนด้า) | 150-180 | 180-210 |
| *Ascocentrum* สกุลเข็ม เช่น เข็มแดง เข็มแสด | 180-210 | 240-270 |
| *Bulbophyllum*สกุลสิงโต จำพวกพัด เช่น พัดแดง (*Cirrhopetalum lepidum*) พัดร่ม (*Cauratum*) | 60-90 | 90-110 |
| **สิงโตนักกล้าม (Bulb. lasiochilum) สิงโตเหยี่ยวเล็ก (Bulb. Putidum) สิงโตเหยี่ยวใหญ่ (Bulb. fasinator) | 80-90 | 90-110 |
| **จำพวกสิงโตสยาม | 150-180 | 180-240 |
| *Brassavola nodosa* | 70-75 | 75-150 |
| *Brassocattleya* | 130-180 | 180-200 |
| *Cattleya* สกุลแคททรียา และ ลูกผสม | 130-180 | 180-200 |
| *Cymbidium* สกุลซิมบิเดียม | 280-360 | 360-380 |
| *Dendrobium* สกุลหวาย ไม้ป่า ไม้พันธุ์แท้ เช่น เอื้องคำ เอื้องแปลงฟัน เอื้องผาเวียง เอื้องคำนาน | 210-240<br>45-55 | 360-390<br>60-70 |
| *Dendrobium lituiflorum* เอื้องสายม่วง | 150-180 | 180-200 |
| *Dendrobium phalaenopsis* และลูกผสม | 90-100 | 110-120 |
| *Dendrobium* Jaquelyn Thomas | 90-100 | 110-120 |
| *Dendrobium stratiotes* และลูกผสม | 90-100 | 110-120 |
| *Dendrobium nobile* และลูกผสม | 150-180 | 200-240 |
| *Doritis pulcherrima* สกุล ม้าวิ่ง ม้าบิน แดงอุบล | 90-120 | 150-180 |
| *Doritaenopsis* ลูกผสม (สกุลม้าวิ่ง x ฟาแลน) | 90-120 | 150-180 |
| *Epidendrum* อิพิเดนดรัม | 100-120 | 120-150 |
| *Epidendrum* อิพิเดนดรัมดอกสีส้ม | 40-50 | 60-90 |

**ตารางที่ 1** อายุฝักกล้วยไม้ที่สามารถนำมาขยายพันธุ์ในห้องปฏิบัติการ (ต่อ)

| ชนิดกล้วยไม้ | อายุฝักอ่อน (วัน) | อายุฝักแก่ (วัน) |
|---|---|---|
| *Oncidium* ออนซิเดี้ยมแคระ | 45-60 | 60-70 |
| *Phalaenopsis* species ฟาแลนนอปซิสพันธุ์ป่า | 110-120 | 120-180 |
| *Phalaenopsis* hybrids ฟาแลนนอปซิสลูกผสม | 90-120 | 120-180 |
| *Paphiopedilum* รองเท้านารีใบลาย | 90-120 | 120-210 |
| *Paphiopedilum* รองเท้านารีใบเขียว | 120-180 | 180-240 |
| *Renanthera* สกุลหวายแดง | 150-180 | 270-300 |
| *Rhynchostylis* สกุลช้าง เช่น ช้างกระ เขาแกะ ไอยเรศ | 180-250 | 330-360 |
| *Vanda* species แวนด้าพันธุ์ป่า เช่นสามปอย<br>ฟ้ามุ่ย | 180-195<br>210-240 | 330-360<br>330-360 |

**หมายเหตุอายุฝักสิงโต**

ที่มา : จะสังเกตฝักกล้วยไม้อย่างไรว่านำไปเพาะได้แล้ว (Orchidtropical.com, 2010)

**2. ต้นหน้าวัว (*Anthurium* sp.)** หน้าวัวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งในตลาดไม้ตัดดอก ต้นหน้าวัวมีอายุการตัดดอกประมาณ 7 ปี หลังจากนั้นเกษตรกรควรปลูกใหม่เพื่อให้ผลผลิตคุ้มค่ากับการจัดการในด้านแรงงานและต้นทุนของโรงเรือน ในสภาพธรรมชาติหน้าวัวไม่มีการแตกหน่อหรือแตกหน่อได้น้อย หน่อหน้าวัวที่แตกออกมาเมื่อนำไปปลูกใหม่จะให้ผลผลิตดอกลดลงแตกต่างจากการปลูกต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทั้งนี้เนื่องจากต้นหน้าวัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถเติบโตเป็นต้นที่มีความเป็นหนุ่มสาว (rejuvenation) เจริญเติบโตให้ผลผลิตเช่นเดียวกับต้นที่ได้จากการเพาะเมล็ด

**วัสดุพืช** การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหน้าวัวสามารถทำได้ด้วยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบอ่อน โดยเลือกใบอ่อนอายุประมาณ 7-10 วัน มาฟอกฆ่าเชื้อ

**การฟอกฆ่าเชื้อ** สามารถฟอกฆ่าเชื้อใบอ่อนหน้าวัวด้วยคลอร็อกซ์ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30-40 นาที

**สูตรอาหาร**

1) **สูตรอาหารชักนำแคลลัส** การชักนำการสร้างแคลลัสสามารถใช้แผ่นใบอ่อน

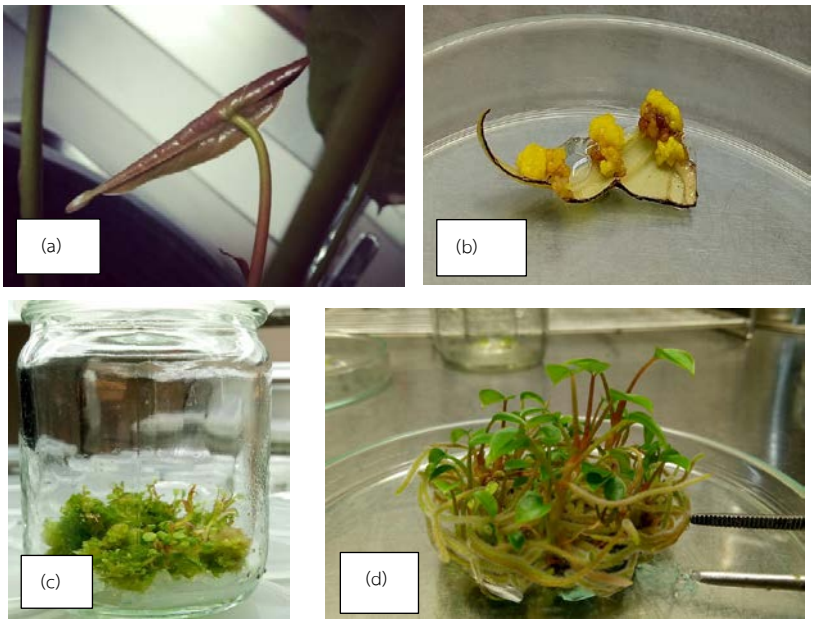
ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อตัดให้มีขนาด 0.5x0.5 เซนติเมตร วางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย adeninesulphate ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารละลาย 2, 4–D (2, 4 dichlorophenoxyacetic acid) ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ TDZ (thidiazuron) ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร

2) **สูตรอาหารเพิ่มปริมาณยอด** การชักนำการเพิ่มปริมาณยอด สามารถใช้การวางเลี้ยงแคลลัสอาหารแข็งสูตร MS สูตรชักนำแคลลัส เลี้ยงต่อโดยต้องย้ายเลี้ยง (subculture) ด้วยการแบ่งแคลลัสหรือกลุ่มตายอดเป็นยอดเดี่ยว ในกรณีวางเลี้ยงไปแล้วยอดไม่ยืด อาจจะลด TDZ ลงเพื่อให้ยอดยืดยาว ตัดแบ่งและย้ายเลี้ยงในอาหารใหม่สูตรเดิมทุกเดือน

3) **สูตรอาหารชักนำราก** เมื่อต้นหน้าวัวในขวดเจริญเติบโต มีใบ 4-6 ใบ ลำต้นสูงประมาณ 1.5 นิ้ว สามารถชักนำรากโดยวางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS เติม IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติมผงถ่านความเข้มข้น 0.1 กรัม/ลิตร

**การออกปลูก** เมื่อหน้าวัวมีการพัฒนาเป็นต้นสมบูรณ์มีรากพัฒนาเต็มที่ สามารถออกปลูกในสภาพแปลงปลูก (hardening) การออกปลูกทำได้โดยการนำขวดเนื้อเยื่อออกมาจากห้องควบคุมอุณหภูมิ ดึงต้นออกแล้วล้างเศษวุ้นออกจากราก หลังจากล้างรากต้นหน้าวัวจากขวดเสร็จระหว่างรอปลูกควรเตรียมต้นอ่อนด้วยการแช่น้ำ การปลูกต้นอ่อนหน้าวัวที่ออกจากขวดสามารถปลูกโดยใช้กาบมะพร้าวสับ นักวิทยาศาสตร์ควรเตรียมกาบมะพร้าวสับด้วยการแช่น้ำ 1 คืนแล้วเทน้ำทิ้ง ล้างอีก 1 ครั้งเพื่อลดสารฟีโนลิคที่จะทำให้ต้นหน้าวัวชะงักการเจริญเติบโต การปลูกหน้าวัวในระยะเริ่มต้นอาจจะปลูกลงกระถางหมู่ คือ การปลูกหลายต้นในกระถางเดียวกันหรือปลูกลงกระถางเดี่ยว ให้น้ำวันละ 2 ครั้ง ทั้งเช้าและเย็น หลังจากออกปลูกเป็นเวลา 2 สัปดาห์ สามารถให้ปุ๋ยทางใบสูตรเสมอ เช่น ปุ๋ยเกร็ดสูตร 14-14-14 อัตราการใช้ครึ่งหนึ่งของอัตราแนะนำตามสูตร ฉีดพ่นอาทิตย์ละ 1 ครั้ง และให้ปุ๋ยละลายช้าสูตร 14-14-14 ทุก 3 เดือน

**เทคนิคปฏิบัติ** การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหน้าวัวใช้เทคนิคปลอดเชื้อ (aceptic technique) โดยการฟอกใบอ่อนแล้วตัดแต่งเนื้อเยื่อที่ผ่านกระบวนการฟอกฆ่าเชื้อแล้วให้มีขนาดประมาณ 0.5 ตารางเซนติเมตร วางเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำแคลลัสโดยวางเลี้ยงในที่มืด อุณหภูมิ 25±1 องศาเซลเซียส หลังวางเลี้ยงในที่มืด 3-4 เดือน เนื้อเยื่อจะมีการสร้างแคลลัส เมื่อเนื้อเยื่อมีการสร้างแคลลัสจึงนำขวดเนื้อเยื่อมาวางในชั้นวางเลี้ยงที่มีการให้แสงสว่างและย้ายเลี้ยงด้วยการตัดแบ่งเนื้อเยื่อหลังจากนั้นควรย้ายเลี้ยงทุกเดือน ด้วยการตัดแบ่งชิ้นส่วนเนื้อเยื่อและวางเลี้ยงบนอาหารใหม่สูตรเดิมจนเนื้อเยื่อแคลลัสพัฒนาเป็นกลุ่มตายอดและยอดรวมตามลำดับ (ภาพที่ 4) เมื่อต้นพัฒนาสมบูรณ์จึงชักนำการสร้างรากพร้อมออกปลูก (ภาพที่ 5)




**ภาพที่ 4** การพัฒนาของเนื้อเยื่อจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนหน้าวัว (a) ลักษณะใบที่เหมาะสม (b) แคลลัสหลังวางเลี้ยง 3-4 เดือน (c) กลุ่มตายอด (d) ต้นพร้อมชักนำราก

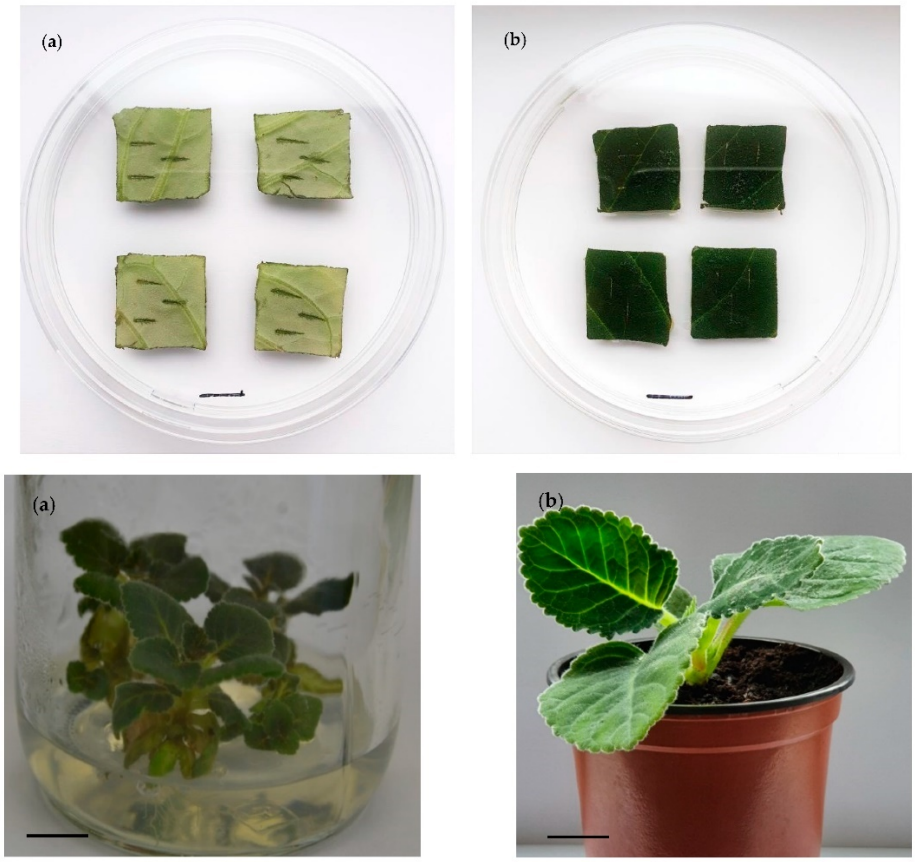
**ภาพที่ 5** การชักนำรากและการออกปลูกต้นหน้าวัวจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
(a) ต้นที่มีรากพร้อมปลูก (b)การออกปลูกแบบกระถางหมู่
(c) การย้ายลงกระถางเมื่อต้นโตพร้อมสร้างดอก (d) ต้นออกดอกพร้อมจำหน่าย

**3. กล็อกซิเนีย** อัฟริกันไวโอเลตหรือกล็อกซิเนีย พืชสองชนิดนี้มีการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อได้รวดเร็ว สามารถใช้เป็นตัวอย่างในการเรียนการสอนปฏิบัติการได้อย่างดีในกรณีที่เป็นการเตรียมตัวอย่างสำหรับการเรียนการสอนปฏิบัติการในระยะเริ่มต้น

**วัสดุ** การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล๊อกซิเนียสามารถใช้การวางเลี้ยงแผ่นใบ

**การฟอกฆ่าเชื้อ** การฟอกฆ่าเชื้อแผ่นใบของกล็อกซิเนียสามารถใช้คลอร็อกความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ฟอกเป็นเวลา 30 นาที เนื่องจากกล็อกซิเนียเป็นพืชที่ค่อนข้างช้ำง่ายและแผ่นใบมีขน การฟอกฆ่าเชื้อจึงต้องมีการเตรียมต้นก่อนฟอก ปกติการปลูกกล็อกซิเนียใช้วิธีปลูกในกระถางเมื่อต้องการนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนักวิทยาศาสตร์ต้องวางเลี้ยงกล็อกซิเนียในโรงเรือนหลังคากันฝนอย่างน้อย 14 วัน ใช้การรดน้ำที่โคนต้น ทั้งนี้ เพื่อลดปัญหาการปนเปื้อนจากเชื้อราและแบคทีเรียหาก จำเป็นต้องมีการเตรียมตัวอย่างในช่วงฤดูฝนซึ่งมีความชื้นในอากาศสูงควรฉีดพ่นกล็อกซิเนียด้วยสารในกลุ่มคอปเปอร์

**สูตรอาหาร** การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล๊อกซิเนีย สามารถวางเลี้ยงชิ้นส่วนที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อและตัดแต่งแล้ว บนอาหารสูตร MS เติม NAA (naphthaleneacetic acid) ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารสูตรดังกล่าวสามารถชักนำยอดจากแผ่นใบ และย้ายเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณ เมื่อต้นเติบโตจึงชักนำรากและออกปลูกในสภาพแปลง (ภาพที่ 6)




**ภาพที่ 6** การพัฒนาของเนื้อเยื่อจากการเพาะเลี้ยงใบกล็อกซิเนีย
(a) การตัดและวางเลี้ยงแบบหงายแผ่นใบ (b) การตัดและวางเลี้ยงแบบคว่ำแผ่นใบ
(c) การเจริญของต้นในสภาพปลอดเชื้อ (d) ต้นที่ออกปลูกในสภาพแปลง

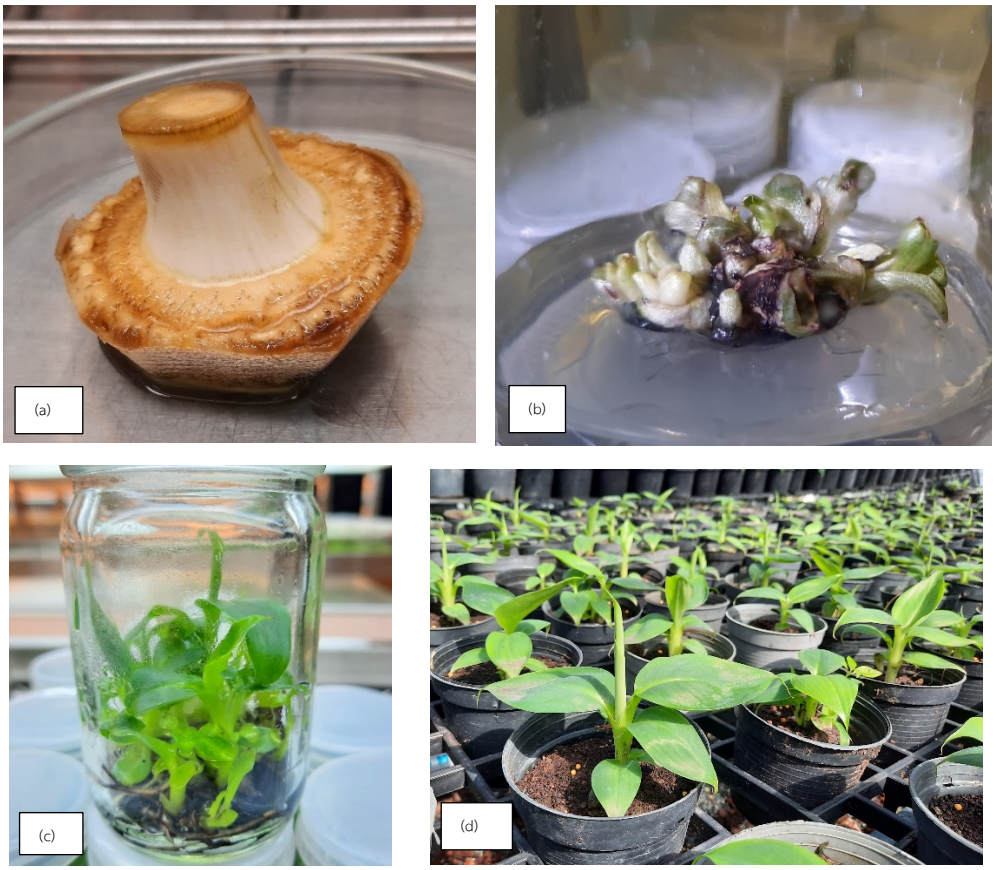
ที่มา : ดัดแปลงจาก Evaluation of factors affecting direct organogenesis in a somatic tissue culture of *Sinningia speciosa* (Lodd.) Hiern. (Blinstrubienė et al. , 2020).

**4. กล้วย** กล้วยเป็นพืชชนิดหนึ่งที่สามารถใช้เป็นตัวอย่างที่ดีในการเรียนการสอน เนื่องจากสามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาพปลอดเชื้อ ชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อกล้วยมีสารประกอบน้ำตาล เมื่อผ่านการตัดแต่งทำให้นักศึกษาสามารถทดสอบชนิดของวุ้น ความเข้มข้นและการใช้สารแอนตี้ออกซิแดนซ์บางตัวเพื่อลดปัญหาจากการสร้างสารสีน้ำตาลจากเนื้อเยื่อพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงได้

**วัสดุ** การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยสามารถใช้ชิ้นส่วนตาจากหน่อ (ลำต้นใต้ดิน) เป็นวัสดุเริ่มต้นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

**การฟอกฆ่าเชื้อ** เนื่องจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยเป็นการเพาะเลี้ยงตาจากส่วนของลำต้นที่อยู่ใต้ดินการฟอกฆ่าเชื้อจึงทำได้ยาก ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนักวิทยาศาสตร์ต้องนำหน่อกล้วยที่ขุดจากแปลงมาตัดแต่งรากออก แล้วใช้น้ำประปาล้างดินหรือเศษใบที่ติดอยู่กับหน่อกล้วยออกให้สะอาด หลังจากนั้นให้วางพักหน่อกล้วยไว้ในภาชนะที่แห้งไม่น้อยกว่า 14 วัน ระหว่าง 14 วันที่วางพักไว้ อาจจะลอกกาบออกบางส่วน เพื่อลดการคายน้ำและลดพื้นที่ของชิ้นส่วนพืชที่อาจจะสกปรกและมีการปนเปื้อนของเชื้อ ระหว่าง 14 วันที่วางพักไว้ต้องหมั่นสังเกตว่าส่วนของกาบมีการเน่าเสียเพิ่มขึ้นหรือไม่ หากมีการเน่าเสียควรจะตัดแต่งส่วนที่เน่าเสียทิ้งไปเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรียลุกลาม เมื่อครบระยะเวลาสามารถฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ เวลา 30-40 นาที อาจจะต้องฟอกฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง การฟอกครั้งแรกใช้เวลา 40 นาทีแล้วลอกกาบออกจึงฟอกครั้งที่ 2 โดยลดความเข้มข้นของคลอร็อกซ์จาก 20 เปอร์เซ็นต์ เป็น 10 เปอร์เซ็นต์

**สูตรอาหาร** สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย สามารถใช้สูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อวางเลี้ยงชิ้นส่วนตาหรือหน่อ การพัฒนาของกลุ่มตายอดหรือหน่อกล้วยในสภาพปลอดเชื้อมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของกล้วย หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน ต้องมีการตัดแบ่งเพื่อย้ายเลี้ยงในอาหารใหม่สูตรเดิม เมื่อกล้วยมีการเจริญเติบโตเต็มที่หรือได้จำนวนตามที่ต้องการจึงตัดแบ่งเป็นต้นเดี่ยว ๆ แล้ววางเลี้ยงในอาหารสูตรดัดแปลง MS เติม IBA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำการพัฒนาของรากให้เป็นต้นสมบูรณ์พร้อมสำหรับการออกปลูก การปลูกกล้วยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถปลูกได้ในดินผสม ใช้ถาดหลุมหรือกระถาง 4 นิ้ว (ภาพที่ 7) หลังออกปลูกควรให้น้ำวันละ 2 ครั้ง เช้า-เย็น เมื่อออกปลูกครบ 15 วันสามารถให้ปุ๋ยด้วยการฉีดพ่นทางใบด้วยปุ๋ยเกร็ดสูตร 14-14-14 หรือสูตรเสมออื่น ๆ ที่มี ควรใช้ปุ๋ยในอัตราครึ่งสูตรแนะนำ เมื่อต้นสูงประมาณ 1 ฟุต สามารถนำไปปลูกลงแปลง



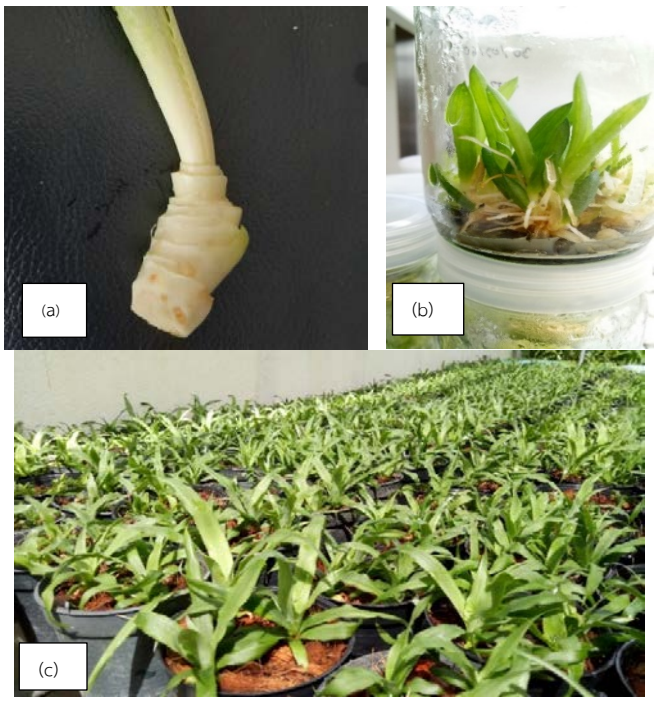

**ภาพที่ 7** การพัฒนาของเนื้อเยื่อจากการเพาะเลี้ยงหน่อกล้วย
(a) ชิ้นส่วนยอดที่ตัดแต่งก่อนฟอกฆ่าเชื้อ (b) การพัฒนาของยอดรวม
(c) ต้นที่เติบโตในขวด (d) ต้นที่ออกปลูกในแปลง

**5. สับปะรด** สับปะรดเป็นตัวอย่างพืชชนิดหนึ่งที่เหมาะสมในการเรียนการสอนปฏิบัติการ เนื่องจากเป็นพืชที่อยู่ในกลุ่มพืชทนแล้งนักศึกษาสามารถทดลองเพื่อศึกษาความแตกต่างของความเข้มข้นของวุ้นในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อประกอบกับพืชในกลุ่มนี้มีกลุ่มสับปะรดสีที่มีความหลากหลาย สามารถเป็นตัวอย่างให้นักศึกษาได้ทำการทดลองเรื่องสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการตอบสนองของเนื้อเยื่อพืชที่มีความใกล้เคียงกันทางพันธุกรรมแม้เป็นกลุ่มสับปะรดเหมือนกันแต่อาจจะตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตบางกลุ่มแตกต่างกัน

**วัสดุ** การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสับปะรดสามารถใช้ตาจากหน่อข้าง (ตะเกียง) เป็นวัสดุพืชเริ่มต้นในการเพาะเลี้ยง

**การฟอกฆ่าเชื้อ** การฟอกฆ่าเชื้อหน่อสับปะรดเพื่อเตรียมชิ้นส่วนพืชปลอดเชื้อสามารถใช้วิธีการการฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอร็อกซ์ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ เวลา 30-40 นาที อาจจะต้องฟอก 2 ครั้ง การฟอกครั้งแรกใช้เวลา 40 นาที แล้วลอกกาบออกจึงฟอกครั้งที่ 2 โดยลดความเข้มข้นของคลอร็อกซ์จาก 20 เปอร์เซ็นต์ เป็น 10 เปอร์เซ็นต์ ในการเตรียมหน่อข้างก่อนฟอกฆ่าเชื้ออาจจะต้องทำความสะอาดด้วยน้ำยาล้างจานแล้วล้างโดยการผ่านน้ำประปาให้สะอาด เมื่อล้างเสร็จนำมาวางไว้ในที่ร่มเป็นเวลา 2-4 สัปดาห์ ด้วยการกลับหัวลง ทั้งนี้เพื่อลดปัญหาการปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรียที่ติดอยู่ที่ซอกใบ ซึ่งเป็นปัญหาที่ทำให้การฟอกฆ่าเชื้อเพื่อเตรียมชิ้นส่วนพืชปลอดเชื้อทำได้ยาก

**สูตรอาหาร** การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสับปะรดสามารถทำได้โดยการวางเลี้ยงหน่อบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ย้ายเลี้ยงในอาหารใหม่สูตรเดิมทุกเดือน ในกรณีที่ได้จำนวนต้นตามต้องการแต่ต้นยังไม่สมบูรณ์อาจจะย้ายเลี้ยงในอาหารสูตรลดสารควบคุมการเจริญเติบโต (MS Free) เมื่อต้นเจริญเติบโตสมบูรณ์จึงสามารถย้ายเลี้ยงในสูตรอาหารชักนำรากสับปะรดสามารถสร้างรากได้ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อการวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิด IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากวางเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำรากเป็นเวลา 1 เดือน รากจะพัฒนาสามารถนำไปออกปลูกในสภาพแปลง (ภาพที่ 8)




**ภาพที่ 8** การพัฒนาของเนื้อเยื่อจากการเพาะเลี้ยงหน่อข้างสับปะรด (a) การเตรียมหน่อข้าง (b) ยอดที่เจริญเติบโตในขวด (c) สับปะรดที่เติบโตเต็มที่ออกปลูกในสภาพแปลง

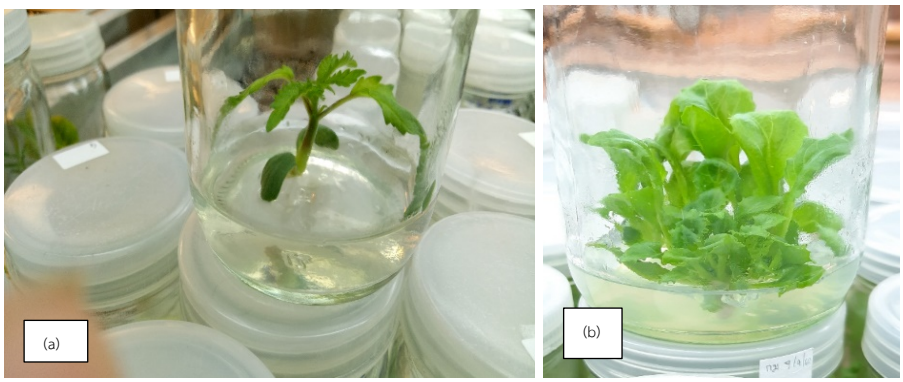
**6. เยอบีร่า** การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเยอบีร่ามีประเด็นที่สำคัญที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการเรียนรู้ของนักศึกษาคือเทคนิคในการออกปลูกเนื่องจากเยอบีร่าเป็นพืชที่บอบบาง สามารถเหี่ยวเฉาได้ง่าย นักศึกษาจะได้ทดลองเรื่องวัสดุปลูกที่เหมาะสม การให้น้ำและความชื้นในการออกปลูก สามารถทดลองออกปลูกด้วยการคลุมกะบะเพื่อเก็บรักษาความชื้น นอกจากนี้เยอบีร่ายังมีความหลากหลายของสีดอกซึ่งต้นที่มีสีดอกแตกต่างกันจะมีการตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตแตกต่างกัน รวมทั้งรูปแบบของทรงต้นแตกต่างกันทำให้ความรอดชีวิตในการออกปลูกแตกต่างกัน นักศึกษาได้ทำการทดลองและเก็บข้อมูลได้ละเอียดขึ้น

**วัสดุ** การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถเตรียมตัวอย่างพืชปลอดเชื้อด้วยการเพาะเมล็ดในขวด

**การฟอกฆ่าเชื้อ** ในการเตรียมพืชปลอดเชื้อสามารถฟอกฆ่าเชื้อส่วนของเมล็ด โดยใช้คลอร็อกซ์ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ เวลา 30-40 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง

**เทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อ** ก่อนฟอกฆ่าเชื้อควรล้างเมล็ดด้วยน้ำประปาให้สะอาดแล้วคัดเลือกเมล็ดที่ลีบหรือมีโรคแมลงทำลายทิ้งไป หลังจากนั้นจึงห่อเมล็ดด้วยผ้าขาวบาง แล้วจุ่มแช่ในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที ก่อนจะนำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอรอกซ์ความเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาที

**สูตรอาหาร** เยอบีร่าสามารถเพาะเมล็ดได้ด้วยการวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต หลังจากนั้นจึงเพิ่มปริมาณยอดด้วยการวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม IAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย kinetin ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ย้ายเลี้ยงด้วยการตัดแบ่งและวางเลี้ยงบนอาหารใหม่สูตรเดิมทุกเดือน เมื่อต้นเติบโตดีสามารถชักนำรากด้วยการวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 9) เยอบีร่ามีอัตราการขยายพันธุ์เฉลี่ย 3 เท่าจากการวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน




**ภาพที่ 9** การพัฒนาของเนื้อเยื่อจากการวางเลี้ยงเมล็ดเยอบีร่า
(a) ต้นที่งอกจากการเพาะเมล็ด (b) การเพิ่มปริมาณยอดในสภาพปลอดเชื้อ

**ภาคผนวกที่ 11** ข้อบังคับมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ว่าด้วยประมวลจริยธรรมและธรรมาภิบาลนายกสภามหาวิทยาลัย กรรมการสภามหาวิทยาลัย ผู้บริหาร บุคลากร ผู้เรียน ของมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ พ.ศ.2567

**ข้อบังคับมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์**
**ว่าด้วยประมวลจริยธรรมและธรรมาภิบาลนายกสภามหาวิทยาลัย กรรมการสภามหาวิทยาลัย**
**ผู้บริหาร บุคลากร ผู้เรียนของมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์**
**พ.ศ. ๒๕๖๗**

.....

ตามที่พระราชบัญญัติการอุดมศึกษา พ.ศ. ๒๕๖๒ มาตรา ๒๐ กำหนดให้สภาสถาบันอุดมศึกษาต้องจัดให้มีประมวลจริยธรรมของนายกสภาสถาบันอุดมศึกษา กรรมการสภาสถาบันอุดมศึกษา ผู้บริหาร และบุคลากรของสถาบันอุดมศึกษา และผู้เรียน ที่มีกลไกในการส่งเสริม ตรวจสอบ และบังคับใช้ที่มีประสิทธิภาพ นั้น

โดยที่สภามหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์เป็นองค์กรสูงสุดที่กำหนดและกำกับนโยบาย ดูแลการบริหารจัดการให้เกิดการปฏิบัติตามนโยบายและพันธกิจมหาวิทยาลัยอย่างมีประสิทธิภาพและเกิดประสิทธิผล เป็นสภาผู้กำกับ (Governing Board) โดยใช้หลักการบริหารจัดการที่ดี "ธรรมัตตาภิบาล" ซึ่งประกอบด้วย (๑) หลักธรรมาภิบาล ๖ หลักการ คือ หลักนิติธรรม หลักคุณธรรม หลักความโปร่งใสตรวจสอบได้ หลักความคุ้มค่า หลักความรับผิดชอบ และหลักการมีส่วนร่วม และ (๒) หลักอัตตาภิบาล ๓ หลักการ คือ หลักความเป็นอิสระ หลักเสรีภาพทางวิชาการ และหลักความรับผิดชอบต่อสังคม ดังนั้น เพื่ออนุวัตรให้เป็นไปตามมาตรา ๒๐ แห่งพระราชบัญญัติการอุดมศึกษา พ.ศ. ๒๕๖๒ และพระราชบัญญัติมาตรฐานทางจริยธรรม พ.ศ. ๒๕๖๒ อาศัยอำนาจตามความในมาตรา ๑๖ (๒) แห่งพระราชบัญญัติมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ พ.ศ. ๒๕๓๕ และมติสภามหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ ในการประชุมครั้งที่ ๒/๒๕๖๗ เมื่อวันที่ ๑๐ สิงหาคม ๒๕๖๗ โดยคำแนะนำของคณะกรรมการจริยธรรมและพิทักษ์ธรรมาภิบาลมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ จึงออกข้อบังคับไว้ดังต่อไปนี้

**ข้อ ๑** ข้อบังคับนี้เรียกว่า "ข้อบังคับมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ ว่าด้วยประมวลจริยธรรมและธรรมาภิบาลนายกสภามหาวิทยาลัย กรรมการสภามหาวิทยาลัย ผู้บริหาร บุคลากร ผู้เรียนของมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ พ.ศ. ๒๕๖๗"

**ข้อ ๒** ข้อบังคับนี้ให้ใช้บังคับนับจากวันประกาศเป็นต้นไป

ให้ยกเลิกข้อบังคับมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ ว่าด้วยประมวลจริยธรรมและธรรมาภิบาลนายกสภามหาวิทยาลัย กรรมการสภามหาวิทยาลัย ผู้บริหาร บุคลากร ผู้เรียนของมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ พ.ศ. ๒๕๖๕

บรรดาระเบียบ ข้อบังคับ หรือประกาศอื่นใดในส่วนที่กำหนดไว้แล้วในข้อบังคับนี้ หรือที่ขัดหรือแย้งกับข้อบังคับนี้ ให้ใช้ข้อบังคับนี้แทน

**ข้อ ๓** ในข้อบังคับนี้

| | | |
|---|---|---|
| "มหาวิทยาลัย" | หมายถึง | มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ |
| "สภามหาวิทยาลัย" | หมายถึง | สภามหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ |
| "นายกสภามหาวิทยาลัย" | หมายถึง | นายกสภามหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ |
| "กรรมการสภามหาวิทยาลัย" | หมายถึง | กรรมการสภามหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ |
| "อธิการบดี" | หมายถึง | อธิการบดีมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ |
| "ผู้บริหาร" | หมายถึง | อธิการบดี รองอธิการบดี ผู้ช่วยอธิการบดี และผู้บริหารของหน่วยงานภายในมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ทุกระดับ |
| "บุคลากร" | หมายถึง | ผู้บริหาร คณาจารย์ พนักงาน และลูกจ้างของมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ และให้หมายความรวมถึงพนักงานตามสัญญาจ้าง อาจารย์พิเศษ และศาสตราจารย์อาคันตุกะ (Visiting Professor) ด้วย |
| "ผู้เรียน" | หมายถึง | ผู้ลงทะเบียนศึกษากับมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ และให้หมายความรวมถึงนักศึกษาจากสถาบันอื่นที่ลงทะเบียนศึกษากับมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ด้วย |
| "คณะกรรมการ" | หมายถึง | คณะกรรมการจริยธรรมและพิทักษ์ธรรมาภิบาลมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ |
| "ประมวลจริยธรรม" | หมายถึง | ประมวลจริยธรรมและธรรมาภิบาลของนายกสภามหาวิทยาลัย กรรมการสภามหาวิทยาลัย ผู้บริหาร บุคลากร และผู้เรียนของมหาวิทยาลัยตามที่บัญญัติไว้ในข้อบังคับนี้ |
| "ผลประโยชน์ทับซ้อน" | หมายถึง | การกระทำของผู้ปฏิบัติงานตามอำนาจและหน้าที่ ของตน ที่นำเอาผลประโยชน์ส่วนตน หรือส่วนญาติมิตร เข้ามาเกี่ยวข้อง จนส่งผลเสียแก่มหาวิทยาลัย หรือราชการ หรือกระทบต่อจริยธรรมและธรรมาภิบาลตามข้อบังคับนี้ |

**ข้อ ๔** ให้สภามหาวิทยาลัยมีอำนาจวินิจฉัยชี้ขาดปัญหาที่เกิดขึ้นตามข้อบังคับนี้และให้ถือเป็นที่สุด

ให้นายกสภามหาวิทยาลัยรักษาการให้เป็นไปตามข้อบังคับนี้ และให้มีอำนาจวางระเบียบออกข้อบังคับ และคำสั่งใด ๆ ตามมติของสภามหาวิทยาลัย เพื่อให้การปฏิบัติเป็นไปตามข้อบังคับนี้

**ลักษณะที่ ๑**
**บททั่วไป**

**ข้อ ๕** นายกสภามหาวิทยาลัย กรรมการสภามหาวิทยาลัย ผู้บริหารบุคลากร และผู้เรียนของมหาวิทยาลัยจะต้องยึดมั่นในประมวลจริยธรรมตามข้อบังคับนี้

**ข้อ ๖** การบริหารงานและการจัดการศึกษาของมหาวิทยาลัยต้องเป็นไปตามมาตรา ๙ แห่งพระราชบัญญัติการอุดมศึกษา พ.ศ. ๒๕๖๒ ตามหลักการดังต่อไปนี้

(๑) หลักความรับผิดชอบต่อสังคม

(๒) หลักเสรีภาพทางวิชาการ

(๓) หลักความเป็นอิสระ

(๔) หลักความเสมอภาค

(๕) หลักธรรมาภิบาล

**ลักษณะที่ ๒**
**ประมวลจริยธรรมและหลักธรรมาภิบาล**
**ส่วนที่ ๑**
**ประมวลจริยธรรม**

**ข้อ ๗** นายกสภามหาวิทยาลัย กรรมการสภามหาวิทยาลัย ผู้บริหาร และบุคลากรของมหาวิทยาลัยมีหน้าที่ต้องปฏิบัติตามกฎหมาย ระเบียบ ข้อบังคับต่าง ๆ ของมหาวิทยาลัย ปฏิบัติหน้าที่ด้วยความเที่ยงธรรม เสมอภาค ไม่เลือกปฏิบัติ อำนวยความสะดวกในการให้บริการแก่ประชาชน และต้องประพฤติปฏิบัติตามมาตรฐานทางจริยธรรมของเจ้าหน้าที่ของรัฐ ซึ่งประกอบด้วย

(๑) ยึดมั่นในสถาบันหลักของประเทศ อันได้แก่ ชาติ ศาสนา พระมหากษัตริย์และการปกครองระบอบประชาธิปไตยอันมีพระมหากษัตริย์ทรงเป็นประมุข

(๒) ซื่อสัตย์สุจริต มีจิตสำนึกที่ดี และรับผิดชอบต่อหน้าที่

(๓) กล้าตัดสินใจและกระทำในสิ่งที่ถูกต้องชอบธรรม

(๔) คิดถึงประโยชน์ส่วนรวมมากกว่าประโยชน์ส่วนตัว และมีจิตสาธารณะ

(๕) มุ่งผลสัมฤทธิ์ของงาน

(๖) ปฏิบัติหน้าที่อย่างเป็นธรรมและไม่เลือกปฏิบัติ

(๗) ดำรงตนเป็นแบบอย่างที่ดีและรักษาภาพลักษณ์ของมหาวิทยาลัย

(๘) ไม่ใช้อำนาจข่มขู่ คุกคาม หรือล่วงละเมิดทางเพศต่อผู้อื่น

(๙) ไม่กระทำการอันมีลักษณะขัดแย้งทางผลประโยชน์ของมหาวิทยาลัยอันเกี่ยวเนื่องมาจากการปฏิบัติหน้าที่

**ส่วนที่ ๒**
**หลักธรรมาภิบาล**

**ข้อ ๘** หลักธรรมาภิบาลของนายกสภามหาวิทยาลัย กรรมการสภามหาวิทยาลัยผู้บริหาร และบุคลากรของมหาวิทยาลัยที่ต้องยึดถือในการปฏิบัติหน้าที่ ต้องเป็นไปตามหลักคุณธรรม หลักนิติธรรม หลักความโปร่งใสตรวจสอบได้ หลักความมีส่วนร่วม หลักความรับผิดชอบ และหลักความคุ้มค่า

**ส่วนที่ ๓**
**จริยธรรมและจรรยาบรรณของนายกสภามหาวิทยาลัย และกรรมการสภามหาวิทยาลัย**

**ข้อ ๙** นายกสภามหาวิทยาลัย และกรรมการสภามหาวิทยาลัยต้องยึดมั่นตามประมวลจริยธรรม ตามข้อ ๗ และหลักธรรมาภิบาลตามข้อ ๘

**ส่วนที่ ๔**
**จริยธรรมและจรรยาบรรณของบุคลากร**

**ข้อ ๑๐** บุคลากรนอกจากต้องยึดมั่นตามประมวลจริยธรรมตามข้อ ๗ และหลักธรรมาภิบาล ตามข้อ ๘ แล้ว ยังพึงมีจริยธรรมและจรรยาบรรณ ดังนี้

(๑) ยืนหยัดกระทำในสิ่งที่ถูกต้องและเป็นธรรม

(๒) มีจิตสำนึกที่ดี รับผิดชอบต่อหน้าที่ เสียสละ ปฏิบัติหน้าที่ด้วยความรวดเร็ว โปร่งใส ตรวจสอบได้ และคุ้มค่า

(๓) แยกเรื่องส่วนตัวออกจากตำแหน่งหน้าที่ และยึดถือประโยชน์ส่วนรวมมากกว่าประโยชน์ส่วนตัวและประโยชน์ส่วนบุคคล

(๔) ไม่ใช้ตำแหน่งหน้าที่แสวงหาประโยชน์โดยมิชอบ และไม่กระทำการอันเป็นการขัดกันระหว่างประโยชน์ส่วนตนและประโยชน์ส่วนรวม รวมทั้งกระทำในลักษณะผลประโยชน์ทับซ้อน

(๕) เคารพและปฏิบัติตามกฎหมาย ระเบียบ ข้อบังคับ และมติสภามหาวิทยาลัยอย่างครบถ้วนตรงไปตรงมา

(๖) ปฏิบัติหน้าที่ด้วยความซื่อสัตย์สุจริต ไม่เลือกปฏิบัติ ให้บริการแก่ประชาชนโดยมีอัธยาศัยที่ดี และมีความเป็นธรรม

(๗) มุ่งผลสัมฤทธิ์ของงาน รักษาคุณภาพและมาตรฐานแห่งวิชาชีพโดยเคร่งครัด

(๘) เป็นแบบอย่างที่ดีในการดำรงตน รักษาชื่อเสียงและภาพลักษณ์ของมหาวิทยาลัย โดยรวม

(๙) ต้องไม่ปฏิบัติงานข้ามขั้นตามลำดับชั้นการบังคับบัญชาโดยไม่ได้รับอนุญาต ไม่ปิดบังซ่อนเร้นข้อราชการอันอาจก่อให้เกิดความเสียหายต่อมหาวิทยาลัย รวมทั้งไม่ละเมิดหรือละเว้นการปฏิบัติหน้าที่อันชอบ

(๑๐) ไม่ยินยอมให้ผู้อื่นใช้หน้าที่หรืออำนาจของตนแสวงหาผลประโยชน์อันมิชอบ

(๑๑) ละเว้นการให้สัมภาษณ์ การอภิปราย การปาฐกถา การบรรยาย หรือการวิพากษ์วิจารณ์ในลักษณะเลือกข้างอันอาจก่อให้เกิดความเสียหายต่อมหาวิทยาลัยหรือราชการ เว้นแต่เป็นการแสดงความคิดเห็นตามหลักวิชาการอันสุจริต

(๑๒) ไม่คัดลอก หรือขโมยผลงานของผู้อื่นมาเป็นของตนโดยเจตนา

(๑๓) ต้องส่งเสริม รักษาชื่อเสียงและภาพลักษณ์ของมหาวิทยาลัย

**ข้อ ๑๑** นอกจากข้อบังคับนี้แล้ว บุคลากรพึงประพฤติให้เป็นไปตามประกาศมหาวิทยาลัย วลัยลักษณ์ เรื่อง มาตรฐานจริยธรรมเกี่ยวกับผลประโยชน์ทับซ้อน พ.ศ. ๒๕๖๐ และข้อบังคับ ระเบียบ และประกาศอื่นใดที่เกี่ยวข้องของมหาวิทยาลัย

**ข้อ ๑๒** บุคลากรต้องยึดมั่นในการปกครองระบอบประชาธิปไตยอันมีพระมหากษัตริย์ทรงเป็นประมุข และจงรักภักดีต่อพระมหากษัตริย์ พระราชินี และพระบรมวงศานุวงศ์

## ส่วนที่ ๕
## จริยธรรมและจรรยาบรรณของผู้บริหาร

**ข้อ ๑๓** ผู้บริหารนอกจากต้องยึดมั่นตามประมวลจริยธรรมตามข้อ ๗ หลักธรรมาภิบาลตามข้อ ๘ และจริยธรรมและจรรยาบรรณของบุคลากรในส่วนที่ ๔ แล้ว ยังพึงมีจริยธรรมและจรรยาบรรณ ดังนี้

(๑) เป็นแบบอย่างหรือผู้นำในการปฏิบัติตนให้อยู่ในกรอบค่านิยม คุณธรรม และจริยธรรมของมหาวิทยาลัย

(๒) รักษาเสรีภาพทางวิชาการอย่างมีความรับผิดชอบ และเคารพสิทธิในการกระทำหรือการแสดงความคิดเห็นของผู้ใต้บังคับบัญชาที่แสดงออกโดยชอบ

(๓) บริหารจัดการตามพระราชกฤษฎีกา ว่าด้วยหลักเกณฑ์และวิธีการบริหารกิจการบ้านเมืองที่ดี พ.ศ. ๒๕๔๖ หรือฉบับปรับปรุงแก้ไขเพิ่มเติม

(๔) ปกป้องและรักษาทรัพย์สิน และผลประโยชน์ของมหาวิทยาลัย

(๕) บริหารจัดการข้อมูล ความลับของมหาวิทยาลัยด้วยความรอบคอบ

(๖) ต้องไม่กระทำในเรื่องที่ขัดกับผลประโยชน์ทับซ้อนของมหาวิทยาลัย

(๗) รับผิดชอบต่อชุมชน สังคม และสิ่งแวดล้อม

(๘) ปกครองผู้อยู่ใต้บังคับบัญชาด้วยความเที่ยงธรรมโดยไม่เห็นแก่ความสัมพันธ์หรือบุญคุณส่วนตัว

(๙) ส่งเสริมให้ทุกภาคส่วนที่ต้องปฏิบัติตามข้อบังคับฯ ตามประมวลจริยธรรมนี้ปฏิบัติโดยเคร่งครัด

(๑๐) ส่งเสริมสนับสนุนและยกย่องผู้อยู่ใต้บังคับบัญชาที่มีความซื่อสัตย์ มีผลงานดีเด่น มีความรู้ความสามารถ และขยันขันแข็งโดยไม่เลือกปฏิบัติ และยึดมั่นในระบบคุณธรรม

## ส่วนที่ ๖
## จริยธรรมและจรรยาบรรณของผู้เรียน

**ข้อ ๑๔** ผู้เรียนพึงปฏิบัติตนให้เป็นไปตามหลักค่านิยม ๔ ประการคือ กตัญญู รู้วินัย ใจอาสา และพัฒนาภาวะผู้นำ นอกจากนั้นต้องประพฤติและปฏิบัติตนให้เป็นไปตามข้อบังคับ ระเบียบ และประกาศที่เกี่ยวข้องของมหาวิทยาลัย

**ส่วนที่ ๗**
**จริยธรรมและจรรยาบรรณการตรวจสอบภายใน และการบริหารความเสี่ยง**

**ข้อ ๑๕** จริยธรรมและจรรยาบรรณการตรวจสอบภายใน และการบริหารความเสี่ยง ให้ยึดถือตามระเบียบมหาวิทยาลัยที่ว่าด้วยการนั้นซึ่งพึงกำหนดขึ้นโดยคำนึงถึงแนวปฏิบัติที่ดีทางวิชาชีพนั้น ๆ ด้วย

**ลักษณะที่ ๓**
**การส่งเสริม ตรวจสอบ และการบังคับใช้ประมวลจริยธรรม**
**ส่วนที่ ๑**
**การส่งเสริมและตรวจสอบ**

**ข้อ ๑๖** นายกสภามหาวิทยาลัย กรรมการสภามหาวิทยาลัย ผู้บริหาร บุคลากร และผู้เรียน มีหน้าที่ส่งเสริมประมวลจริยธรรมและธรรมาภิบาล โดยการเผยแพร่ให้ความรู้ความเข้าใจผ่านกลไกและกระบวนการต่าง ๆ ตามหน้าที่ความรับผิดชอบของตน

**ข้อ ๑๗** ในกรณีที่พบว่าบุคลากร หรือผู้เรียนมีวัตรปฏิบัติเชิงจริยธรรมและธรรมาภิบาลอันโดดเด่น สมควรได้รับการยกย่อง สภามหาวิทยาลัยหรืออธิการบดีพึงให้การยกย่องตามสมควร โดยให้เป็นไปตามหลักเกณฑ์ที่กำหนดไว้และประกาศให้บุคลากรและผู้เรียนทราบ

**ส่วนที่ ๒**
**การกำกับดูแลและบังคับใช้**

**ข้อ ๑๘** ให้สภามหาวิทยาลัยแต่งตั้งคณะกรรมการขึ้นคณะหนึ่งเรียกว่า "คณะกรรมการจริยธรรมและพิทักษ์ธรรมาภิบาลมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์" จำนวน ๙ คน ประกอบด้วยบุคคลดังต่อไปนี้

| | |
|---|---|
| (๑) กรรมการสภามหาวิทยาลัยผู้ทรงคุณวุฒิ | เป็นประธานกรรมการ |
| (๒) กรรมการสภามหาวิทยาลัยผู้ทรงคุณวุฒิ จำนวน ๑ คน | เป็นรองประธานกรรมการ |
| (๓) ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอกด้านกฎหมาย จำนวน ๑ คน | เป็นกรรมการ |
| (๔) ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอกด้านการบริหารงาน หรือด้านผลประโยชน์ทับซ้อน หรือด้านความโปร่งใส จำนวน ๑ คน | เป็นกรรมการ |
| (๕) ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอกด้านการเงินและการบัญชี จำนวน ๑ คน | เป็นกรรมการ |
| (๖) ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอกด้านบุคคล จำนวน ๑ คน | เป็นกรรมการ |
| (๗) กรรมการสภามหาวิทยาลัยซึ่งเลือกจากกรรมการสภาวิชาการ จำนวน ๑ คน | เป็นกรรมการ |
| (๘) กรรมการสภามหาวิทยาลัย ซึ่งเลือกตั้งจากคณาจารย์ประจำ จำนวน ๑ คน | เป็นกรรมการ |

(๙) ผู้แทนพนักงานสายปฏิบัติการวิชาชีพและบริหารทั่วไป โดยคำแนะนำของอธิการบดี จำนวน ๑ คน เป็นกรรมการ

(๑๐) เลขานุการสภามหาวิทยาลัย เป็นเลขานุการ

(๑๑) หัวหน้าสำนักงานสภามหาวิทยาลัย เป็นผู้ช่วยเลขานุการ

**ข้อ ๑๙** ประธานกรรมการและกรรมการ มีวาระการดำรงตำแหน่งคราวละ ๓ ปี แต่อาจได้รับการแต่งตั้งใหม่อีกได้

นอกจากการพ้นจากตำแหน่งตามวาระตามวรรคหนึ่งแล้ว ประธานกรรมการ และกรรมการพ้นจากตำแหน่งเมื่อ

(๑) ตาย

(๒) ลาออก

(๓) ขาดคุณสมบัติของการเป็นกรรมการในประเภทนั้น

(๔) สภามหาวิทยาลัยมีมติถอดถอนเนื่องจากความประพฤติเสื่อมเสียอย่างร้ายแรงอันส่งผลกระทบชื่อเสียงของมหาวิทยาลัย

(๕) ถูกจำคุกโดยคำพิพากษาถึงที่สุดให้จำคุก เว้นแต่ในความผิดอันได้กระทำโดยประมาทหรือความผิดลหุโทษ

(๖) เป็นบุคคลล้มละลาย

(๗) เป็นคนไร้ความสามารถ หรือเสมือนไร้ความสามารถ

กรณีที่ประธานกรรมการ รองประธานกรรมการ หรือกรรมการว่างลงก่อนครบกำหนดวาระ ให้สภามหาวิทยาลัยแต่งตั้งประธานกรรมการ รองประธานกรรมการ หรือกรรมการ ขึ้นใหม่แทนโดยเร็ว และให้ผู้ที่ได้รับแต่งตั้งอยู่ในตำแหน่งเพียงเท่าวาระที่เหลือของผู้ซึ่งตนแทน เว้นแต่วาระที่เหลืออยู่ของผู้ซึ่งตนแทนเหลือน้อยกว่า ๑๘๐ วัน จะไม่แต่งตั้งประธานกรรมการ รองประธานกรรมการ หรือกรรมการขึ้นใหม่แทนก็ได้

กรณีที่ประธานกรรมการว่างลงก่อนครบกำหนดวาระแต่ยังไม่ได้แต่งตั้งประธานกรรมการขึ้นใหม่แทนและจำนวนคณะกรรมการที่เหลืออยู่มีจำนวนเกินกึ่งหนึ่ง ให้รองประธานกรรมการทำหน้าที่ประธานกรรมการไปก่อน หากรองประธานกรรมการว่างลงก่อนครบกำหนดวาระด้วยและยังไม่ได้แต่งตั้งรองประธานกรรมการขึ้นใหม่แทน ให้คณะกรรมการเลือกกรรมการด้วยกันหนึ่งคนทำหน้าที่ประธานกรรมการไปก่อนจนกว่าสภามหาวิทยาลัยจะมีการแต่งตั้งประธานกรรมการขึ้นใหม่แทน

กรณีที่กรรมการว่างลงก่อนครบกำหนดตามวาระ แต่สภามหาวิทยาลัยยังไม่ได้แต่งตั้งกรรมการขึ้นใหม่แทนและจำนวนคณะกรรมการที่เหลืออยู่มีจำนวนเกินกึ่งหนึ่ง ให้คณะกรรมการดำเนินการประชุมได้ต่อไปตามอำนาจหน้าที่

กรณีที่คณะกรรมการได้ครบวาระการดำรงตำแหน่งแล้ว แต่สภามหาวิทยาลัยยังไม่ได้แต่งตั้งคณะกรรมการขึ้นใหม่ ให้คณะกรรมการซึ่งครบวาระการดำรงตำแหน่งแล้ว ปฏิบัติหน้าที่ต่อไปจนกว่าสภามหาวิทยาลัยจะได้แต่งตั้งคณะกรรมการขึ้นใหม่

**ข้อ ๒๐** ให้คณะกรรมการมีอำนาจหน้าที่และความรับผิดชอบดังนี้

(๑) ศึกษาวิเคราะห์และเสนอแนะต่อสภามหาวิทยาลัยเพื่อให้การดำเนินการตามข้อบังคับนี้เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ

(๒) ติดตาม กำกับดูแล ประเมินผลการดำเนินการตามข้อบังคับนี้ และรายงานให้สภามหาวิทยาลัยทราบ

(๓) ไต่สวนและพิจารณาวินิจฉัยการกระทำของนายกสภามหาวิทยาลัย กรรมการสภามหาวิทยาลัย และบุคลากรที่กระทำการฝ่าฝืนหรืออาจขัดต่อข้อบังคับนี้ และรายงานสภามหาวิทยาลัยเพื่อพิจารณา

(๔) พิจารณากลั่นกรองเรื่องร้องเรียนต่าง ๆ เกี่ยวกับการละเมิดไม่ปฏิบัติตามข้อบังคับนี้ พร้อมให้ข้อเสนอแนะต่อสภามหาวิทยาลัยพิจารณา

(๕) แต่งตั้งคณะอนุกรรมการ คณะทำงาน หรือบุคคล เพื่อช่วยกระทำการอย่างหนึ่งอย่างใดอันอยู่ในอำนาจหน้าที่ของคณะกรรมการได้ตามความเหมาะสม

(๖) ปฏิบัติหน้าที่อื่นใดตามที่สภามหาวิทยาลัยมอบหมาย

**ข้อ ๒๑** การประชุมและการดำเนินการ ให้เป็นไปตามข้อบังคับมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ ว่าด้วยการประชุมสภามหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ พ.ศ. ๒๕๖๓ หรือที่ออกเพิ่มเติมในภายหลัง หรือการดำเนินการของสภามหาวิทยาลัยโดยอนุโลม

## ส่วนที่ ๓
## ระบบการบังคับใช้

**ข้อ ๒๒** ให้เลขานุการสภามหาวิทยาลัยเป็นผู้พิจารณารับเรื่องร้องเรียนเกี่ยวกับการละเมิดไม่ปฏิบัติตามข้อบังคับนี้ และเสนอความเห็นต่อประธานกรรมการเพื่อพิจารณานำเรื่องเข้าสู่การพิจารณาของคณะกรรมการ

**ข้อ ๒๓** ในกรณีที่นายกสภามหาวิทยาลัย กรรมการสภามหาวิทยาลัย บุคลากร กระทำการฝ่าฝืนข้อบังคับนี้ ให้คณะกรรมการดำเนินการไต่สวนและวินิจฉัยให้เป็นไปตามข้อบังคับนี้ โดยให้นำข้อบังคับ ระเบียบ ประกาศ และคำสั่งของมหาวิทยาลัยที่ว่าด้วยการนั้นมาใช้ประกอบการพิจารณาด้วย

ให้คณะกรรมการรายงานผลการไต่สวนและวินิจฉัยให้สภามหาวิทยาลัยพิจารณา โดยคำวินิจฉัยชี้ขาดของสภามหาวิทยาลัยให้ถือเป็นที่สุด

**ข้อ ๒๔** ในกรณีที่ผู้เรียนกระทำการฝ่าฝืนข้อ ๑๔ ให้อธิการบดีหรือผู้ที่อธิการบดีมอบหมายส่งเรื่องให้คณะกรรมการที่กำหนดไว้ในข้อบังคับ ระเบียบ หรือประกาศที่เกี่ยวข้อง ดำเนินการไต่สวนและวินิจฉัย โดยให้นำข้อบังคับ ระเบียบ ประกาศ และคำสั่งของมหาวิทยาลัยที่ว่าด้วยการนั้นมาใช้ประกอบการพิจารณาด้วย

**ข้อ ๒๕** เมื่อสภามหาวิทยาลัยชี้ขาดผลการไต่สวนและวินิจฉัยแล้ว ปรากฏว่าการกระทำนั้นเข้าข่ายเป็นการกระทำความผิดทางวินัย หรือความผิดทางอาญาร่วมด้วย ให้สภามหาวิทยาลัยส่งเรื่องให้ผู้มีอำนาจหน้าที่ในเรื่องนั้นดำเนินการต่อไป

กรณีที่การฝ่าฝืนข้อบังคับนี้ไม่เข้าข่ายการกระทำความผิดทางวินัย หรือความผิดทางอาญา ให้สภามหาวิทยาลัยส่งเรื่องให้ผู้มีอำนาจหน้าที่พิจารณาว่ากล่าวตักเตือน

**บทเฉพาะกาล**

**ข้อ ๒๖** ให้คณะกรรมการซึ่งสภามหาวิทยาลัยได้แต่งตั้งตามข้อบังคับมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ ว่าด้วยประมวลจริยธรรมและธรรมาภิบาลนายกสภามหาวิทยาลัยกรรมการสภามหาวิทยาลัย ผู้บริหาร บุคลากร ผู้เรียนของมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ พ.ศ. ๒๕๖๕ ปฏิบัติหน้าที่ต่อไปจนครบวาระ ๓ ปี นับตั้งแต่วันที่สภามหาวิทยาลัยได้มีคำสั่งแต่งตั้ง

**ข้อ ๒๗** ให้มหาวิทยาลัยจัดให้มีการประชาพิจารณ์ข้อบังคับนี้ภายในระยะเวลาที่เหมาะสม

ประกาศ ณ วันที่ ๑๐ กันยายน พ.ศ. ๒๕๖๗

(นายธีระชัย เชมนะสิริ)
นายกสภามหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์
๑๐ ก.ย. ๖๗ เวลา ๘:๕๖:๐๙ Personal PKI-LN
Signature Code : OfjIh-K5cDT-+Zr12-NQKEJ

ที่มา : ข้อบังคับมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ ว่าด้วยประมวลจริยธรรมและธรรมาภิบาลนายกสภามหาวิทยาลัย กรรมการสภา มหาวิทยาลัย ผู้บริหาร บุคลากร ผู้เรียนของมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ พ.ศ. 2567

# ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล นางราตรี นิตยเดชพัฒน์
โทร. 075-673298, E-mail : sratree@wu.a.cth
สถานที่ทำงาน ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์
เลขที่ 222 ตำบลไทยบุรี อำเภอท่าศาลา จังหวัดนครศรีธรรมราช

**ประวัติการศึกษา**

| วุฒิการศึกษา | สาขา | ชื่อสถาบัน | ปีที่สำเร็จการศึกษา |
|---|---|---|---|
| วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต | พืชศาสตร์ (เทคโนโลยีชีวภาพพืช) | มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ | 2540 |
| วิทยาศาสตรบัณฑิต | เกษตรศาสตร์ (พืชศาสตร์) | มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ | 2538 |

**ตำแหน่งและสถานที่ทำงาน**

พ.ศ. 2540-2542 นักวิชาการ (เทคโนโลยีชีวภาพ) บริษัทกรุงเทพอุตสาหกรรมเมล็ดพันธุ์ จำกัด
พ.ศ. 2542-ปัจจุบัน นักวิทยาศาสตร์ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

**ความถนัด**

เทคโนโลยีชีวภาพพืช การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

**โครงการวิจัยและบริการวิชาการ**

1. โครงการ หน้าวัว : การเก็บรวบรวมสายพันธุ์ การขยายพันธุ์ด้วยเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การทดลองปลูกเพื่อสร้างรายได้และถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ชุมชน (หัวหน้าโครงการ)
2. โครงการ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยที่มีศักยภาพของการค้าและอัตลักษณ์ประจำถิ่นเพื่อส่งต่อกล้าปลูกสำนึกอนุรักษ์พันธุกรรมพืช (หัวหน้าโครงการ)
3. โครงการ การรวบรวมพันธุ์และการขยายพันธุ์โกโก้เพื่อเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการจัดการในแปลงปลูก (หัวหน้าโครงการ)
4. โครงการ การขยายพันธุ์ย่านลิเภาและการจัดการแปลงเพื่อเพิ่มคุณภาพเส้นใย (หัวหน้าโครงการย่อย)