

การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชก่อนนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

นางสาวจันทร์วิภา รัตนอนันต์

นักวิจัยชำนาญการ

ฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์

สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่ง มก. ม.เกษตรศาสตร์

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแต่ละชนิดมีความยากง่ายแตกต่างกันไป หากจะต้องประเมินว่างานนั้นๆ สำเร็จหรือไม่ ให้ออกจากการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชว่าทำได้หรือไม่ สามารถเพิ่มจำนวนพืชได้ตามต้องการ และสามารถอนุบาลหรือออกปลูกพืชในสภาพธรรมชาติได้หรือไม่ ซึ่งแต่ละขั้นตอนมีความสำคัญไม่ยิ่งหย่อนกัน โดยเฉพาะการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชนั้นถือเป็นหัวใจหลักของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ดังนั้นการเลือกต้นพันธุ์ที่เหมาะสมก่อนนำมาฟอกฆ่าเชื้อก็เป็นสิ่งที่ไม่ควรมองข้าม

การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช (surface sterilization) เป็นวิธีการทำให้ชิ้นส่วนของพืชที่จะนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่ปลอดเชื้อปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ โดยอาจใช้สารเคมี เช่น โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (ไฮเตอร์) แอลกอฮอล์ หรือสารเคมีอื่นๆ นอกจากนั้นอาจใช้ความร้อนซึ่งนิยมใช้กับเมล็ดซึ่งมีส่วนที่แข็งแรงปกป้องเนื้อเยื่อไม่ให้โดนทำลายจากความร้อนได้

ต้นแม่พันธุ์ที่จะนำมาฟอกฆ่าเชื่อนั้นจะต้องมีความแข็งแรง สมบูรณ์ ปลอดโรค มีความสะอาด และนิยมใช้กิ่งอ่อนๆ หรือหน่ออ่อนๆ ที่มีตายอด หรือตาข้างซึ่งเป็นจุดเจริญที่สามารถชักนำให้เป็นต้น และยอดต่อไปได้ เนื่องจากกิ่งอ่อนหรือหน่ออ่อนที่เพิ่งเกิดจะมีการสะสมเชื้อจุลินทรีย์บริเวณชิ้นส่วนพืชน้อยกว่ากิ่งแก่

ถึงแม้ว่ากิ่งอ่อนหรือหน่ออ่อนที่เพิ่งเกิดจะมีการสะสมเชื้อจุลินทรีย์บริเวณชิ้นส่วนพืชน้อยกว่ากิ่งแก่ หรือหน่อแก่ก็ตาม ก่อนนำมาฟอกฆ่าเชื้อควรทำความสะอาดกิ่งหรือหน่อเพื่อกำจัดจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนให้มากที่สุด ก่อนที่จะนำไปเลี้ยงในขวดอาหารสังเคราะห์ที่ปลอดเชื้อต่อไป

การเตรียมความพร้อมให้ต้นพืชก่อนนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Figure 1)

1. หลีกเลี่ยงการตัดชิ้นส่วนพืชในวันที่มีสภาพบรรยากาศชื้นโดยเฉพาะวันที่มีฝนตก
2. คู้ดินปลูกออกจากหน่อหรือตาที่ต้องการนำไปเพาะเลี้ยงฯ
3. ทำความสะอาดพืชด้วยน้ำสะอาด
4. งดการให้น้ำและปุ๋ยตามปกติ อย่างน้อย 3 ถึง 5 วัน
5. ตากแดดเพื่อฆ่าเชื้อส่วนที่จะนำมาฟอกหรือเพาะเลี้ยงฯ อย่างน้อยวันละ 2-3 ชั่วโมง



Figure 1 การเตรียมตัวอย่าง Monstera thai constellation ก่อนนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

- A. ต้น Monstera thai constellation ที่แข็งแรงสมบูรณ์
- B. คู้ดินปลูกออกจากหน่อหรือตาที่ต้องการนำไปเพาะเลี้ยงฯ
- C. ทำความสะอาดบริเวณกาบหุ้มตาด้วยน้ำสะอาดก่อนนำไปตากแดดฆ่าเชื้อ

นอกเหนือจากการนำส่วนตายอด หรือหน่ออ่อนจากต้นแม่พันธุ์โดยตรงมาเพาะเลี้ยงแล้ว เราสามารถนำตายอดหรือกิ่งมาปักชำทรายเพื่อให้เกิดการแตกยอดใหม่ซึ่งสะอาดกว่า หรือใช้การติดตายอด หรือ cutting แต่วิธีนี้ไม่เป็นที่นิยมเพราะต้องใช้เวลานาน และต้องมีความชำนาญ

ส่วนการใช้สารฟอกฆ่าเชื้อนั้นควรหลีกเลี่ยงความเข้มข้นสูง หรือระยะเวลาเวลานาน เนื่องจากอาจไปทำลายเนื้อเยื่อซึ่งเป็นส่วนที่อ่อนได้ หลังจากพืชผ่านขั้นตอนการฟอกฆ่าเชื้อสำเร็จแล้ว (Figure 2) ก็ทำการย้ายเนื้อเยื่อ (sub culture) และเลี้ยงเนื้อเยื่อ (culture) ต่อไปจนได้จำนวนตามต้องการ จากนั้นชักนำให้เกิดราก และเข้าสู่ขั้นตอนการอนุบาลต่อไป



Figure 2 ขั้นตอนการฟอกฆ่าเชื้อ *Monstera thaicon*

- A. การฟอกฆ่าเชื้อหน่ออ่อนที่ยังไม่กาง B. การเลี้ยงหน่ออ่อนในอาหารปลอดเชื้อ
C. หน่ออ่อนที่มีการบวมพองหลังเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์นาน 4 สัปดาห์