ปัญหาการฟอกฆ่าเชื้อ (sutface sterilization) ในงานวิจัยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม้ป่า

นางสาวจันทร์วิภา รัตนอานันต์
นักวิจัย ชำนาญการ
ฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์
สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่ง มก. ม.เกษตรศาสตร์

การฟอกฆ่าเชื้อ (sutface sterilization) เป็นขั้นตอนแรกของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งถือว่าเป็นขั้นตอนสำคัญยิ่งกว่าขั้นตอนใดๆ ถ้างานวิจัยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม่มีตัวอย่างที่ปลอดเชื้อแล้ว งานวิจัยนั้นก็จะไม่สามารถเริ่มต้นงานจนจบได้เลย แต่ทว่าหากสามารถฟอกฆ่าเชื้อได้สำเร็จ และนำเข้ามาอยู่ในขวดอาหารในสภาพปลอดเชื้อได้แล้ว ก็ไม่เป็นการยากเลยที่จะบังคับหรือควบคุมให้เนื้อเยื่อนั้นเจริญเติบโต หรือเพิ่มจำนวนที่ตรงตามพันธุกรรมได้ เนื่องจากสภาพเพาะเลี้ยงมีอาหารสังเคราะห์ที่อุดมไปด้วยธาตุอาหาร และสารควบคุมการเจริญเติบโต อีกทั้งอยู่ในสภาพปลอดเชื้อ ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม แสง 3,000 ลักซ์ (Luxs) และอุณหภูมิ 25 - 28 องศาเซลเซียส สิ่งเหล่านี้จะทำให้พืชเจริญเติบโตได้ดี และรวดเร็ว เมื่อได้เป็นต้นที่มีรากแล้วก็จะนำกลับไปปลูกในธรรมชาติต่อไปไม้ป่าในสภาพธรรมชาติ มีเนื้อไม้ หรือเนื้อเยื่อที่แข็ง มีการเจริญเติบโตอย่างช้าๆ

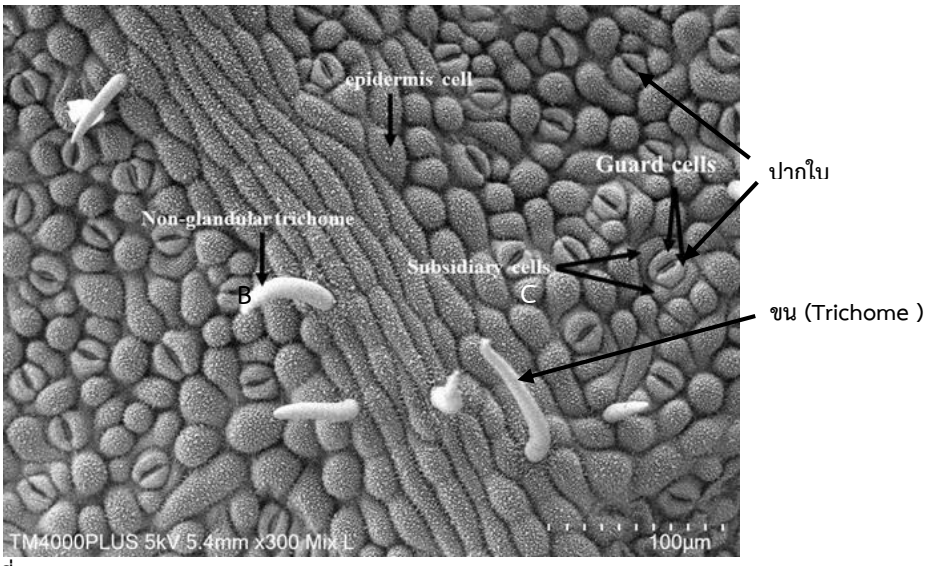
บทความฉบับนี้จะเป็นประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องโดยตรงตลอดระยะเวลาการทำงานวิจัยของผู้เขียน ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นงานอนุรักษ์พันธุ์ไม้ที่ใกล้จะสูญพันธุ์ที่จำเป็นต้องอาศัยการเพิ่มจำนวนด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งจะยกตัวอย่างของต้นทำมัง (*Litsea petiolata* Hook. F.) ที่เป็นไม้ประจำถิ่นของภาคใต้ เนื่องจากเป็นต้นแยกเพศ การติดเมล็ด หรือการขยายพันธุ์เป็นไปได้ยาก อีกทั้งไม้มีความแข็งแรงนิยมนำมาใช้ในการก่อสร้าง จึงแทบจะสูญพันธุ์ไปจากป่าภาคใต้

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงเข้ามามีบทบาท ส่วนใหญ่แล้วการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะนิยมนำตายอด ตาข้าง **(ภาพที่ 1)** หรือส่วนที่เป็นเนื้อเยื่อเจริญมาฟอกฆ่าเชื้อ และปัญหาที่เกิดขึ้น ส่วนใหญ่ คือ การฟอกฆ่าเชื้อ หรือการทำชิ้นพืชให้สะอาดก่อนนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ความชื้น จุลินทรีย์ในอากาศ และในดิน เป็นปัจจัยสำคัญซึ่งเมื่อพืชดูดน้ำดูดอาหารผ่านชั้นดิน จุลิทรีย์ก็จะติดมาในท่อลำเลียงของพืช ซึ่งจะทำให้พืชไม่สะอาดไปด้วย

ภาพที่ 1 ตายอด และตาข้างของทำมัง (*Litsea petiolata* Hook. F) ที่นำมาฟอกฆ่าเชื้อ

ซึ่งจาก**ภาพที่ 1** หากมองด้วยตาเปล่าจะเห็นว่าชิ้นส่วนนั้นสะอาดดีแล้ว แต่ในความเป็นจริง ชั้นเนื้อเยื่อด้านนอกที่จะนำมาฟอกฆ่าเชื้อนั้น ไม่ว่าจะเป็นใบ ก้าน หรือตาข้าง หรือตายอดที่อยู่บริเวณลำต้น หากมองให้ลึกลงไปภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง เช่น กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด Scanning electron microscope; SEM กำลังขยาย 300 เท่า จะเห็นว่าสิ่งที่เรามองไม่เห็นนั้นคือ ปากใบ (stomata) ซึ่งประกอบไปด้วยเซลล์คุม (Guard cell) และเซลล์ด้านข้าง 2 เซลล์ (Subsidiary cells) และขนเล็กๆ สีขาว (trichome) อีกทั้งต่อม (Gland cell) อื่นๆ และรูพรุน หรือซอกหลืบ ซึ่งเหมาะต่อการอาศัยของจุลินทรีย์ หรืออาจกั้นขวางการชะล้างด้วยสารฟอกฆ่าเชื้อให้เป็นไปได้อย่างยาก หากการฟอกเชื้อทำได้ไม่ดี หรือไม่สะอาดพอ ตัวอย่างชิ้นนั้นก็จะเกิดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ (contamination)

การศึกษาครั้งนี้จะเป็นงานวิจัยพื้นฐานที่จะนำไปใช้ในการหาวิธีการที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อไป



ที่มา: J. Rattanaanan *et al.*, The 41st International Conference of the Microscopy Society of Thailand.

ภาพที่ 2 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด Scanning electron microscope; SEM) กำลังขยาย 300 เท่า แสดงปากใบ (stoma) และขนเล็กๆ สีขาว (Trichome) บนพื้นผิวชั้นนอกของใบ (ด้านล่าง) ของทำมัง (*Litsea petiolata* Hook. F.)

เอกสารอ้างอิง

J. Rattanaanan, P. Thanomchat, Y. Paopun and Y. Detpakdee. Leaf Surface Structure and Trichome of *Litsea petiolata* Hook. F. The 41st International Conference of the Microscopy Society of Thailand, 4-8 June 2024, Chiang Mai, Thailand

จันทร์วิภา รัตนอานันต์. 2564. การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชก่อนนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. บทความวิชาการของบุคลากรฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์ เผยเพร่บนเวบไซต์ฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศสตร์. ที่มา https://www3.rdi.ku.ac.th/cl/knowledge/2564/surface_sterilization.pdf, 5 มกราคม 2568