

เทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงจากธรรมชาติ เพื่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Explants Sterilization Techniques of *Nepenthes* spp. for Tissue Culture

จันทร์เพ็ญ ใจเชื้อ¹, สุรพล จิตธิษณากุล¹, สรายุทธ อ่อนสนธิ¹ และ ยาวพรรณ สนธิกุล^{1*}

Chanpen Jaisue¹, Suraphon Thitithanakul¹, Sarayut Onsanit¹

and Yaowaphan Sontikun^{1*}

บทคัดย่อ: หม้อข้าวหม้อแกงลิง *Nepenthes* spp. เป็นพืชสร้างหม้อสำหรับดักจับแมลงที่พบได้ยากและใกล้สูญพันธุ์ เนื่องจากในสภาพธรรมชาติหม้อข้าวหม้อแกงลิง *Nepenthes* spp. มีเปอร์เซ็นต์การงอกค่อนข้างต่ำ ดังนั้นเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงเป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถขยายพันธุ์และอนุรักษ์พันธุ์พืชได้ ซึ่งเทคนิคปลอดเชื้อมีความสำคัญอย่างยิ่งสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช งานวิจัยนี้จึงเปรียบเทียบเทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเมล็ด ใบ และข้อ พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อผิวเมล็ดด้วยไฮเตอร์ความเข้มข้น 25% มีการปลอดเชื้อ 100% การรอดชีวิต 80% การงอก 78% และการสร้างใบ 3.21 ใบต่อยอด และพบว่าการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบด้วยไฮเตอร์ความเข้มข้น 10% มีการปลอดเชื้อ 55% และการรอดชีวิต 81.25% ส่วนการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อด้วยไฮเตอร์ความเข้มข้น 50% มีการปลอดเชื้อ 60% และมีการรอดชีวิต 100%

คำสำคัญ: หม้อข้าวหม้อแกงลิง, การขยายพันธุ์, การฟอกฆ่าเชื้อ, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ABSTRACT: *Nepenthes* spp., the insectivorous pitcher plant, is rare and endangered species in natural. Seed of *Nepenthes* spp. have very low percentage of germination. Therefore, *in vitro* technique is considered as reliable method for the rapid propagation and plant conservation. Aseptic technique is absolutely necessary for plant tissue culture. This research also compares the sterilization techniques of seed, leaves and axillary bud. The results showed that surface sterilization of seeds with 25% (v/v) of Haiter[®] showed 100% of sterile, 80% of survival, 78% of germination and leave production at 3.21 leaves/explant. Surface sterilization of leaves with 10% (v/v) of Haiter[®] showed 55% of sterile and 81.25% of survival. And surface sterilization of axillary bud with 50% (v/v) of Haiter[®] showed 60% of sterile and 100% of survival.

Keywords: *Nepenthes*, Propagation, Sterilization, Tissue culture

¹ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี 31 ม. 6 ตำบลมะขามเตี้ย อำเภอเมือง จังหวัดสุราษฎร์ธานี 84000

Faculty of Science and Industrial Technology, Prince of Songkla University, Surat Thani Campus, 31 Moo 6, Makhm Tia, Muang, Surat Thani, 84000

* Corresponding author: sontikul_y@hotmail.com

บทนำ

หม้อข้าวหม้อแกงลิง (*Nepenthes* spp.) เป็นพืชที่มีความหลากหลายมากที่สุดในกลุ่มพืชกินแมลง ปัจจุบันหม้อข้าวหม้อแกงลิงในธรรมชาติมีจำนวนลดลงจากการทำการเกษตรเชิงเดี่ยวที่มีการปลูกพืชชนิดเดียวเป็นพื้นที่กว้าง ทำให้มีการเผาและบุกรุกพื้นที่ป่าอย่างกว้างขวาง ดังนั้นจึงต้องขยายพันธุ์หม้อข้าวหม้อแกงลิงด้วยวิธีการต่างๆ เพื่อเพิ่มปริมาณ ซึ่งการขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นวิธีการที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณในระยะเวลาสั้นๆ (Sharma et al. 2015)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชถึงแม้จะสามารถขยายพันธุ์พืชได้อย่างรวดเร็วและมีจำนวนมาก แต่การทำให้ชิ้นส่วนพืชปลอดจุลินทรีย์ก่อนนำมาเพาะเลี้ยงนั้นทำได้ยาก โดยเฉพาะพืชบางชนิด เช่น หม้อข้าวหม้อแกงลิง เนื่องจากชิ้นส่วนตาข้างมีซอกระหว่างก้านใบกับลำต้น ส่วนใบ และเมล็ดมีขนอ่อนๆ ปกคลุมที่แผ่นใบด้านบน และผิวของเมล็ด ดังนั้นเพื่อให้การฟอกฆ่าเชื้อมีประสิทธิภาพมากขึ้น จึงมีการนำสารเคมีมาใช้ในการฟอกฆ่าเชื้ออย่างแพร่หลาย สารเคมีบางชนิด เช่น ซิลเวอร์ไนเตรท และเมอร์คิวริกคลอไรด์เป็นสารที่มีส่วนผสมของโลหะหนัก มีอันตรายต่อผู้ใช้ และกำจัดทิ้งค่อนข้างยาก โดยงานวิจัยส่วนใหญ่นิยมใช้สารฟอกขาวที่มีชื่อการค้าคือ Clorox[®] ซึ่งมีโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 8.25% (Dar et al. 2012; Alam et al. 2016; Jan et al. 2013) แต่ปัจจุบันประเทศไทย Clorox[®] ไม่มีการวางขายตามห้างสรรพสินค้า และสั่งซื้อค่อนข้างยาก

ดังนั้นในการศึกษาดังนี้จึงมีการนำสารฟอกขาวชื่อการค้าไฮเตอร์ (Haite[®]) มาใช้ในการวิจัย เนื่องจากมีโซเดียมไฮโปคลอไรท์เป็นส่วนประกอบ 6% มีราคาถูก และสามารถหาซื้อได้ง่าย โดยไม่เป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อพืช มาใช้ศึกษาประสิทธิภาพของการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนหม้อข้าวหม้อแกงลิงจากธรรมชาติ

วิธีการศึกษา

การเตรียมตัวอย่างพืช

เก็บตัวอย่างผัก ใบ และตาข้าง ของต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงจากธรรมชาติ ในพื้นที่ ต.ขุนทะเล อ.เมือง จังหวัดสุราษฎร์ธานี โดยคัดเลือกผักหม้อข้าวหม้อแกงลิงที่มีเปลือกหุ้มเมล็ดสีน้ำตาลและมีความสมบูรณ์ คัดเลือกใบอ่อนที่คลี่แล้วใบที่ 2-3 นับจากยอด และ

คัดเลือกชิ้นส่วนข้อหม้อข้าวหม้อแกงลิงที่มีตาข้างข้อที่ 1-3 นับจากยอด เป็นชิ้นส่วนที่มีความสมบูรณ์ โดยทุกชิ้นส่วนต้องไม่มีการเข้าทำลายของโรค และแมลง

การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช

นำชิ้นส่วนลำต้นนำประปาไหลผ่านเป็นเวลา 30 นาที แล้วฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนด้วยไฮเตอร์ โดยแบ่งเป็นการฟอกฆ่าเชื้อหนึ่งครั้งและสองครั้ง ดำเนินการฟอกฆ่าเชื้อส่วนเมล็ด และใบ 9 กรรมวิธี (treatment) ดังนี้ T1-T5) ฟอกฆ่าเชื้อด้วยไฮเตอร์ 1 ครั้ง ความเข้มข้น 5%, 10%, 15%, 20% และ 25% ตามลำดับ T6) ฟอกไฮเตอร์ 2 ครั้ง ความเข้มข้น 5%+5%, T7) ไฮเตอร์เข้มข้น 10%+5%, T8) ไฮเตอร์เข้มข้น 15%+10% และ T9) ไฮเตอร์เข้มข้น 20%+15% ตามลำดับ ส่วนการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อ 10 กรรมวิธี ดังนี้ T1-T5) ฟอกฆ่าเชื้อด้วยไฮเตอร์ 1 ครั้ง ความเข้มข้น 15%, 20%, 30%, 40% และ 50% T6) ฟอกไฮเตอร์ 2 ครั้ง ความเข้มข้น 15%+10%, T7) ไฮเตอร์เข้มข้น 20%+15%, T8) ไฮเตอร์เข้มข้น 30%+25%, T9) ไฮเตอร์เข้มข้น 40%+35% และ T10) ไฮเตอร์เข้มข้น 50%+45% ตามลำดับ โดยทุกวิธีทเม้นต์หยด Tween 20 ในสารละลาย 1-2 หยด เช้าเป็นเวลา 5 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นหนึ่งข้อแช่ 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที จากนั้นนำชิ้นส่วนเมล็ด ใบ และ ข้อ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร 1/2 MS (Jala. 2012) โดยเพาะเลี้ยงเมล็ดขวดละ 5 เมล็ด ส่วนการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบ ตัดชิ้นส่วนใบให้มีขนาด 1×1 ซม. เพาะเลี้ยงขวดละ 2 ชิ้นส่วน และการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อ ขวดละ 1 ชิ้นส่วน ทริทเม้นต์ละ 4 ข้ำ ข้ำละ 5 ขวด เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะการให้แสงด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 1,600 ลักซ์ ที่อุณหภูมิ 25±2 °C เป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์

การบันทึกผลการทดลอง

การบันทึกผลการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเมล็ด หม้อข้าวหม้อแกงลิง โดยบันทึก %การปลอดเชื้อ, %การรอดชีวิต, %การงอก และ จำนวนใบเฉลี่ยต่อชิ้นส่วน ส่วนการบันทึกผลการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบ และข้อหม้อข้าวหม้อแกงลิง บันทึกผล %การปลอดเชื้อ และ %การรอดชีวิต โดยบันทึกผลการปลอดเชื้อทุกวัน เป็นเวลา 2 สัปดาห์ และบันทึกผล %การรอดชีวิต %การงอก และ จำนวนใบเฉลี่ยต่อชิ้นส่วน ทุกสัปดาห์ เป็นเวลา 5 สัปดาห์

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomized design : CRD) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของการปลอดเชื้อ การรอดชีวิต การงอก และจำนวนใบต่อชิ้นส่วน โดยนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 20 ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการศึกษา

การฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดหม้อข้าวหม้อแกงลิง

จากการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดหม้อข้าวหม้อแกงลิงด้วยไฮเตอร์ พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อหนึ่งครั้งที่ความเข้มข้น 25% และการฟอกฆ่าเชื้อสองครั้งที่ความ

เข้มข้น 20% และ 15% เมล็ดมีการปลอดเชื้อสูงสุด $100.00 \pm 0.00\%$ ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับที่ที่หมั้นอื่น ส่วนการฟอกฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้น 5% เมล็ดมีการปลอดเชื้อน้อยที่สุด แต่มีการรอดชีวิตสูงสุด $88.89 \pm 26.67\%$ (Table 1)

เมื่อนำเมล็ดที่ฟอกฆ่าเชื้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS เป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่าเมล็ดที่ปลอดเชื้อและรอดชีวิตจากการฟอกฆ่าเชื้อ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ เมล็ดมีลักษณะขยายตัวตรงกลางและเริ่มมีการงอกเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์ และมีการสร้างใบเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 4 และ สัปดาห์ที่ 5 (Figure 1) ซึ่งพบว่า เมล็ดที่ฟอกฆ่าเชื้อหนึ่งครั้งที่ความเข้มข้น 25% มีการงอกสูงสุด $78.00 \pm 7.86\%$ และมีการเกิดใบสูงสุด 3.21 ± 0.44 ใบต่อชิ้นส่วน (Table 2)

Table 1 The percentages of sterile and survival of surface sterilization *Nepenthes* spp. seed after cultures for 2 weeks

Haiter® (%v/v)		%Sterile (Mean±SD)	%Survival (Mean±SD)
1 st Surface sterilization	2 nd Surface sterilization		
5%	-	49.00 ± 50.46^b	88.89 ± 26.67^a
10%	-	86.00 ± 30.51^a	52.50 ± 37.85^{bc}
15%	-	95.00 ± 22.36^a	73.68 ± 30.59^{ab}
20%	-	87.00 ± 29.93^a	76.25 ± 34.42^{ab}
25%	-	100.00 ± 0.00^a	80.00 ± 33.09^{ab}
5%	5%	95.00 ± 22.36^a	74.74 ± 34.54^{ab}
10%	5%	88.00 ± 30.02^a	58.82 ± 37.73^{bc}
15%	10%	95.00 ± 22.36^a	43.16 ± 43.34^c
20%	15%	100.00 ± 0.00^a	32.00 ± 39.68^c



Figure 1 Surface sterilization *Nepenthes* spp. seed with 25% Haiter® after cultures on $\frac{1}{2}$ MS for 1 week (A) 2 weeks (B) 3 weeks (C) 4 weeks (D) and 5 weeks (E).

การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบหม้อข้าวหม้อแกงลิง

จากการนำชิ้นส่วนใบที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS เป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้น 20% ตามด้วย 15% มีการปลอดเชื้อสูงสุด $82.50 \pm 37.26\%$ ส่วนการรอดชีวิตพบว่าการฟอกฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้น 10% มีการรอดชีวิตสูงสุด $81.25 \pm 37.20\%$ สำหรับ

ชิ้นส่วนใบที่ไม่รอดชีวิตจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลทั่วทั้งแผ่นใบ และตายในที่สุด (Table 3)

การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อหม้อข้าวหม้อแกงลิง

จากการนำชิ้นส่วนข้อที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์ ชิ้นส่วนข้อมีลักษณะเป็นสี

Table 2 The percentages of germination and Number of leaves per explant of surface sterilization *Nepenthes* spp. seed after cultures for 5 weeks

Haite® (%v/v)		% Germination (Mean±SD)	No. of Leaves/explant (Mean±SD)
1 st Surface sterilization	2 nd Surface sterilization		
5%	-	75.37±11.87 ^{ab}	2.94±0.48 ^{ab}
10%	-	23.77±8.83 ^{de}	2.30±0.34 ^c
15%	-	54.91±8.07 ^{abc}	2.81±0.72 ^{abc}
20%	-	76.79±8.83 ^a	3.11±0.35 ^{ab}
25%	-	78.00±7.86 ^a	3.21±0.44 ^a
5%	5%	49.47±42.36 ^{bcd}	2.96±0.73 ^{ab}
10%	5%	31.76±36.78 ^{cde}	2.54±0.44 ^{bc}
15%	10%	32.63±39.56 ^{cde}	2.97±0.87 ^{ab}
20%	15%	22.00±31.72 ^e	2.74±0.69 ^{abc}

น้ำตาลบางส่วน และเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อหนึ่งครั้งที่ความเข้มข้น 50% มีชิ้นส่วนปลอดเชื้อสูงสุด 60.00±3.37% และพบว่าการฟอกฆ่าเชื้อหนึ่งครั้งทุกความเข้มข้น และการฟอกฆ่าเชื้อสองครั้งที่ความเข้มข้น 20% ตามด้วย 15% และ 30% ตามด้วย 25% มีการรอดชีวิตสูงสุด 100% (Table 4)

วิจารณ์

สารฟอกฆ่าเชื้อยี่ห้อไฮเตอร์ที่ใช้ศึกษามีส่วนประกอบของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 6% ส่วนสารละลายคลอโรกซ์ที่นิยมใช้ในงานเพาะ

เลี้ยงเนื้อเยื่อมีส่วนประกอบของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 8.25% ซึ่งจากการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงด้วยไฮเตอร์ ความเข้มข้น 30% หรือคิดเป็น 1.8% โซเดียมไฮโปคลอไรท์ พบว่าชิ้นส่วนมีการรอดชีวิต 100% ต่างจากที่ ภูพแก้ว และคณะ (2554) กล่าวว่า การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชด้วยคลอโรกซ์ความเข้มข้นสูงมีการปนเปื้อนลดลง แต่การฟอกฆ่าเชื้อความเข้มข้นสูงที่ 30% หรือคิดเป็น 2.48% โซเดียมไฮโปคลอไรท์ พบว่าชิ้นส่วนที่ถูกทำลายมีลักษณะเป็นสีน้ำตาล ข้ำและตาย และจากรายงานของนฤพร (2541) กล่าวว่า การใช้คลอโรกซ์ความเข้มข้นสูงตั้งแต่ 20% ขึ้นไปจะไม่

Table 3 The percentages of sterilized and survival of surface sterilization *Nepenthes* spp. leaf explant after cultures for 2 weeks

Haite® (%v/v)		%Sterile (Mean±SD)	%Survival (Mean±SD)
1 st Surface sterilization	2 nd Surface sterilization		
5%	-	52.50±41.28 ^b	78.57±39.34 ^a
10%	-	55.00±42.61 ^b	81.25±37.20 ^a
15%	-	55.00±42.61 ^b	43.75±49.55 ^{ab}
20%	-	52.50±47.23 ^b	72.22±26.35 ^a
25%	-	47.50±47.23 ^{bc}	43.75±41.73 ^{ab}
5%	5%	10.00±30.78 ^d	50.00±0.00 ^{ab}
10%	5%	10.00±30.78 ^d	25.00±35.36 ^{ab}
15%	10%	25.00±34.41 ^{cd}	0.00±0.00 ^b
20%	15%	82.50±37.26 ^a	43.75±40.81 ^{ab}

Table 4 The percentages of sterile and survival of surface sterilization *Nepenthes* spp. axillary bud after cultures for 2 weeks

Haiter® (%v/v)		%Sterile (Mean±SD)	%Survival (Mean±SD)
1 st Surface sterilization	2 nd Surface sterilization		
15%	-	15.00±3.37 ^c	100.00±0.00
20%	-	30.00±3.37 ^{abc}	100.00±0.00
30%	-	20.00±3.37 ^{bc}	100.00±0.00
40%	-	40.00±3.37 ^{abc}	100.00±0.00
50%	-	60.00±3.37 ^a	100.00±0.00
15%	10%	40.00±50.26 ^{abc}	75.00±46.29
20%	15%	30.00±3.37 ^{abc}	100.00±0.00
30%	25%	40.00±50.26 ^{abc}	100.00±0.00
40%	35%	40.00±50.26 ^{abc}	75.00±46.29
50%	45%	50.00±3.37 ^{ab}	80.00±42.16

สามารถทำให้เนื้อเยื่อพืชเจริญเติบโตได้ อย่างไรก็ตามจากการศึกษาแสดงให้เห็นว่า สารสามารถใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนหม้อข้าวหม้อแกงลิงให้ปราศจากจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และชิ้นส่วนพืชสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ ทั้งนี้อาจเกิดจากชนิดของพืช ชนิดและอายุของชิ้นส่วนพืชที่นำมาศึกษาต่างกัน

จากการฟอกฆ่าเชื้อต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงจากธรรมชาติ โดยการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนหนึ่งครั้ง และสองครั้ง พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อหนึ่งครั้งมีการรอดชีวิตสูงกว่าการฟอกฆ่าเชื้อสองครั้ง สอดคล้องกับงานวิจัยของกฤติยา และคณะ (2557) ที่ฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนผลของพญากะเจาเต่า (*Thalassia hemprichii*) โดยการฟอกฆ่าเชื้อหนึ่งครั้งและการฟอกฆ่าเชื้อสองครั้งด้วยไฮเตอร์ พบว่าการฟอกฆ่าเชื้อหนึ่งครั้งมีการเจริญพัฒนาเกิดต้นใหม่ 84% ขณะที่การฟอกฆ่าเชื้อสองครั้งมีการเจริญพัฒนาเกิดต้นใหม่ 62%

จากการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเมล็ด ใบ และข้อด้วยไฮเตอร์ แสดงให้เห็นว่าชิ้นส่วนที่แตกต่างกันมีการใช้ไฮเตอร์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนให้ปราศจากเชื้อและมีการรอดชีวิตสูง ซึ่งจากการทดลอง พบว่าการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อใช้ไฮเตอร์ ความเข้มข้นสูงกว่าการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเมล็ด และใบ เนื่องจากชิ้นส่วนข้อมีเนื้อเยื่อที่หนาและมีซอกกระหว่างก้านใบกับลำต้นซึ่งเป็นแหล่งสะสมของจุลินทรีย์ จึงต้องใช้สารฟอกฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้นสูง รองลงมาคือการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนฝัก และใบ

เนื่องจากส่วนของฝัก มีขนอ่อนปกคลุมผิวของฝัก ที่ยากต่อการฟอกฆ่าเชื้อ หากฝักมีรอยแตกในขั้นตอนการฟอกฆ่าเชื้อ อาจทำให้เมล็ดสัมผัสกับสารฟอกฆ่าเชื้อโดยตรง ส่งผลต่อการรอดชีวิต ซึ่งจากรายงานของ มณฑล และคณะ (2556) กล่าวว่าการใช้สารฟอกฆ่าเชื้อความเข้มข้นสูงที่มีการสัมผัสกับเนื้อเยื่อพืช อาจทำให้เนื้อเยื่อพืชไม่สามารถเจริญเติบโตได้ และตายในที่สุด ส่วนชิ้นส่วนใบบางและอ่อน จึงต้องใช้สารฟอกฆ่าเชื้อความเข้มข้นต่ำ บุญเย็น (2547) กล่าวว่าชนิดของเนื้อเยื่อพืชมีความสำคัญในการฟอกฆ่าเชื้อ เช่น การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชที่หนาและแข็งมากอาจใช้สารฟอกฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้นสูงและใช้เวลาในการฟอกนาน ในทางกลับกันถ้าชิ้นส่วนพืชบางและอ่อนมากอาจใช้ความเข้มข้นของสารน้อยลงและลดเวลาในการฟอก การใช้ความเข้มข้นของสารฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับชนิดของต้นพันธุ์และชิ้นส่วนพืช เนื่องจากต้นพันธุ์แต่ละชนิดมีความทนต่อสารฟอกฆ่าเชื้อแตกต่างกัน นอกจากนี้แหล่งที่มาของต้นพันธุ์ยังมีผลต่อการฟอกฆ่าเชื้อ ดังนั้นการฟอกฆ่าเชื้อต้นพันธุ์จากธรรมชาติจึงใช้สารฟอกฆ่าเชื้อความเข้มข้นสูง (ทิพวรรณ และคณะ, 2555)

ดังนั้นการใช้ไฮเตอร์ จึงมีประสิทธิภาพในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงจากธรรมชาติให้ปราศจากจุลินทรีย์ และยังเป็นสารฟอกฆ่าเชื้อที่มีราคาถูก หาซื้อได้ง่าย และไม่เป็น

อันตรายต่อเนื้อเยื่อพืช ทั้งนี้ควรเลือกความเข้มข้นและระยะเวลาในการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมต่อชิ้นส่วนพืช

สรุป

จากการศึกษาเทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงจากธรรมชาติ เพื่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดด้วยไฮเตอร์ ความเข้มข้น 25% หนึ่งครั้ง มีการปลอดเชื้อสูงสุด 100% และมีการรอดชีวิต 80% เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ เมล็ดมีการออกสูงสุด 78% และมีการสร้างใบ 3.21 ใบต่อชิ้นส่วน ส่วนการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบ พบว่า การใช้สารฟอกฆ่าเชื้อความเข้มข้น 10% หนึ่งครั้ง มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อ 55% และมีการรอดชีวิตสูงสุด 81.25% และจากการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อ พบว่า การใช้สารฟอกฆ่าเชื้อความเข้มข้น 50% มีประสิทธิภาพในการฟอกฆ่าเชื้อสูงสุด โดยมีชิ้นส่วนปลอดเชื้อ 60% และรอดชีวิตสูงสุด 100% จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนหม้อข้าวหม้อแกงลิงด้วยไฮเตอร์ ที่เหมาะสมเพียงหนึ่งครั้งมีประสิทธิภาพในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนหม้อข้าวหม้อแกงลิงได้

เอกสารอ้างอิง

กฤติยา ฐระนนท์, จันทนา ไพรบูรณ์, ศุภพร เปรมปริติ และ ชัชวีร์ แก้วสุริยิต. การฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของผลเห็ดน้ำเต้า *Thalassia hemprichii* (Ehrenberg) Ascheron. น. 114-121. ใน: การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 52 4 กุมภาพันธ์ 2557. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ทิพวรรณ มหาวรรณ, ชัชวีร์ แก้วสุริยิต และกาญจน์ ธีร์พงษ์. 2555. ผลของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ที่มีผลต่อการฟอกฆ่าเชื้อดอกลอย *Pogostemon helferi* Hook f. น. 375-383. ใน: การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 50 31 มกราคม 2555. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

นฤพร หรรษคุณาฒย. 2541. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออร์กิในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พืชสวน). มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

บุญยืน กิจวิจารณ์. 2547. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อการพัฒนาพันธุ์พืช. โรงพิมพ์คลังน่านวิทยา. ขอนแก่น.

ภพเก้า พุทธิรักษ์, วารุต อยู่คง และ มณฑล สงวนเสริมศรี. 2554. การขยายพันธุ์วานิลลาโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ. Naresuan Phayao Journal. 4(3): 3-8.

Alam, F.M., Uddin, E.M., Amin, R., Abdur, M.R., Manik, M.A. and Khatun, M.M. 2016. Studies on the effect of various sterilization procedure for *in vitro* seed germination and successful micropropagation of *Cucumis sativus*. International journal of pure and applied bioscience. 4(1): 75-81.

Dar, C.T., Abdullah, J.O., Namasivayam, P. and Roowi, S.H. 2012. Sterilization of *Hibiscus rosa-sinensis* L. vegetative explants sourced from plants grown in open environment and influences of organic ingredients on *in vitro* direct regeneration. American journal of plant sciences. 3(6): 791-798.

Daud, H.N., Jayaraman, S. and Mohamed, R. 2012. An improved surface sterilization technique for introducing leaf, nodal and seed explants of *Aquilaria malaccensis* from field sources into tissue culture. Asia-Pacific journal of molecular biology and biotechnology. 20(2): 55-58.

Jala, A. 2012. Types of media for seeds germination and effect of BA on mass propagation of *Nepenthes mirabilis* Druce. American Transactions on Engineering & Applied Sciences. 1(2): 2229-1652.

Jan, A., Bhat, K.M., Bhat, S.J.A., Mir, M.A., MA Bhat, Imtiyaz, A. and Rather, J.A. 2013. Surface sterilization method for reducing microbial contamination of field grown strawberry explants intended for *in vitro* culture. African journal of biotechnology. 12(39): 5749-5753.

Sharma, K.G., Jagetiya, S. and Dashora, R. 2015. General Techniques of Plant Tissue Culture. Lulu Press Inc. Raleigh, North Carolina, United States.