บทบรรณาธิการ (Editorial)

การประยุกต์การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Application of plant tissue culture)

เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (plant tissue culture) หมายถึงการเพาะเลี้ยงเซลล์ เนื้อเยื่อ อวัยวะของพืช ภายใต้ภาวะปลอดเชื้อ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีบทบาทสำคัญ (important role) เกี่ยวกับการผลิตพืชไม้ประดับ (ornamental plant) หรือพืชผลเกษตร (agricultural plant) และการปลุกปั้น (manipulation) ผลิตผลดีขึ้น

การศึกษาค้นคว้า (research) เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นวิทยาศาสตร์หลายมิติ (multidimensional science) ที่เสนอภาพเร้าใจ (exciting prospect) เกี่ยวกับการปรับปรุงผลผลิตให้ดีขึ้นในอนาคต ผู้จัดการโรงบ่มเพาะ (nurserymen) ใช้เทคนิคการแพร่พันธุ์แบบจุลภาค (micropropagation) และศึกษาค้นคว้าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมิติอื่นไปพร้อมกัน ยกตัวอย่าง

- คัดเลือกสำเนาพันธุ์พืชอันมีแนวโน้มต้านทานโรคและความเครียด (selecting pathogen- or stress-resistant plant clones)
- สร้างสรรค์การรวมกันของยีนที่ไม่เคยมีมาก่อน (novel gene combination) ผ่านการรวมเซลล์ไม่เกี่ยวกับเพศ (somatic hybridization)

เป็นเทคนิคไขว้ข้ามที่พบไม่บ่อย (unfrequently transpose) ในอุตสาหกรรมโรงบ่มเพาะ [1,2]

การแพร่พันธุ์แบบจุลภาค

การประยุกต์การแพร่พันธุ์แบบจุลภาคเป็นวิธีหนึ่งของการแพร่พันธุ์พืชที่ดีเด่นกว่าในปริมาณมาก (mass) เพราะการแพร่พันธุ์ตามแบบแผน (conventional propagation) รุดหน้าช้า (slow progression) อีกทั้งปัญหาโรคและแมลง (disease and pest problem) เป็นข้อจำกัดต่อการผลิต ดังนั้นการแพร่พันธุ์แบบจุลภาคเป็นทางเลือกผลิตเป็นจำนวนหลายพันหรือหลายล้านต่อปี อันเป็นข้อได้เปรียบเหนือกว่าการแพร่พันธุ์ตามแบบแผน

การเพาะเลี้ยงด้วยชิ้นส่วนตัดแบ่ง (dividing culture) เป็นแหล่งให้ผลผลิตอย่างต่อเนื่องภายใต้ภาวะเรือนกระจก (greenhouse condition) โดยปราศจากการขัดขวางจากฤดูกาล (seasonal interruption) การแพร่พันธุ์แบบจุลภาคทำให้ผู้จัดการโรงบ่มเพาะสามารถคัดเลือกสำเนาพันธุ์พืชไม้ประดับที่ดีเด่นกว่าและเพาะเลี้ยงอย่างรวดเร็วให้ปริมาณเพียงพอสำหรับตลาด นอกจากนี้ยังอาจผลิตพืชจำนวนมากเก็บพืชคงคลัง (stock plant) ภายในเวลาค่อนข้างสั้น

การใช้ชิ้นเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง (tissue explant) ขึ้นกับชนิดพันธุ์พืช อาจใช้เนื้อเยื่อของปลายหน่อ (shoot tip) ใบ (leaf) ตาด้านข้าง (lateral bud) ลำต้น (stem) หรือราก (root) กระบวนการเพาะเลี้ยงไม่ทำลายพืชดั้งเดิม รวมทั้งอาจเพาะเลี้ยงย่อย (subculture) ของตาและหน่อซ้ำจนกว่าผลิตพืชได้เป็นจำนวนมาก อันมีลักษณะเฉพาะทางพันธุกรรม (genetic characteristics) ตามตัวอย่างดั้งเดิม (original sample)

อัตราเพิ่มจำนวนเฉลี่ย (mean proliferative rate) ขึ้นกับแต่ละชนิดพันธุ์ โดยทั่วไปสามารถแยกหน่อได้ทุก 4 สัปดาห์ และถ่ายเท (transfer) ไปยังอาหารเพาะเลี้ยงใหม่ (fresh medium) เพื่อเพิ่มจำนวน ส่วนการเหนี่ยวนำ (induction) หน่อและระบบราก (root system) อาจใช้อาหารเพาะเลี้ยงเฉพาะและเหมาะสม

ต้นขนาดเล็กจากการเพาะเลี้ยง (plantlet) หรือส่วนตัดจุลภาค (microcutting) เมื่อปรากฏรากอาจแสดงให้เห็น (establish) สภาวะการผลิตและการเจริญอย่างได้ผล ไม่ว่าในภาชนะ (container) หรือในสนามเพาะปลูก (field planting)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญและการผลิตพืชปลอดจุลชีพเกิดโรค

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเอกลักษณ์แสดงการได้มา (obtaining) ค้ำจุน (maintaining) และแพร่พันธุ์ปริมาณมาก (mass propagation) ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญ (meristem culture) เพื่อให้ได้พืชปลอดจุลชีพเกิดโรค (pathogen-free plant)

Morel เป็นผู้บุกเบิกการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญ [3] ซึ่งเกี่ยวโยงกับเอาเนื้อเยื่อเจริญออก (removal) และเพาะเลี้ยงในอาหาร ทั้งนี้เนื้อเยื่อเจริญเป็นส่วนยอด (dome) ของเซลล์ที่กำลังแบ่งตัวอย่างรีบเร่ง เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.1 มิลลิเมตร เมื่อสิ่งปนเปื้อน (contaminant) ไม่อาจรุกล้ำเข้าเนื้อเยื่อเจริญ เป็นผลก่อรูปพืชปลอดโรค เมื่อใช้ร่วมกับเทคนิคการแพร่พันธุ์แบบจุลภาคทำให้สามารถผลิตพืชปลอดโรคจำนวนมาก

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญประสบความสำเร็จในการเอาไวรัสออกจากพืช (มันฝรั่ง อ้อย สะตอเบอร์รี่) [4] และปัจจุบันกลายเป็นแบบแผนกำจัด (eradication) โรคไวรัสจำนวนมากจากพืช

การสร้างต้นอ่อนโดยเซลล์ไม่เกี่ยวกับเพศ

การสร้างต้นอ่อนด้วยเซลล์ไม่เกี่ยวกับเพศ (somatic embryogenesis) หมายถึงการพัฒนาโครงสร้างคล้ายต้นอ่อนจากเซลล์ไม่เกี่ยวกับเพศ (somatic) หรือส่วนดั้งเดิมไม่เกี่ยวกับเพศบนอาหารเพาะเลี้ยงที่เหมาะสม ตัวอ่อนไม่เกี่ยวกับเพศอาจเกิดจากเนื้อเยื่อสำหรับเพาะเลี้ยงโดยตรง หรือเพาะเลี้ยงกลุ่มเซลล์ (callus culture)

การสร้างต้นอ่อนไม่เกี่ยวกับเพศมีข้อได้เปรียบเมื่อเปรียบเทียบกับการแพร่พันธุ์แบบจุลภาคหลายประการ

- ตัวอ่อนไม่เกี่ยวกับเพศอาจผลิตจากเซลล์เจริญในสารแขวนลอย (suspension) วิธีนี้เป็นผลให้เทคนิคการเพาะเลี้ยงแต่ละกลุ่ม (batch) เป็นไปได้ ด้วยการเพิ่ม (scale-up) ต้นทุนการจัดการน้อยสุด (minimum handling cost)
- อัตราการเพิ่มจำนวน (multiplication rate) สูงมาก ขณะที่บางชนิดพันธุ์อย่างเช่น แครอท คื่นช่าย มะเขือเทศมีสิ่งห่อหุ้มมิดชิด (encapsulated) และดูเหมือนเป็นเมล็ดสังเคราะห์ (artificial seed)
- พืชทั้งต้นพัฒนาจากต้นอ่อนไม่เกี่ยวกับเพศและเจริญเติบโตเป็นต้นสมบูรณ์ เมื่อเกิดการสร้างอวัยวะ (organogenesis) หน่อและรากก็พัฒนา และบ่อยครั้งการเหนี่ยวนำโครงสร้างเสริมต้องอาศัยสูตรอาหารเพาะเลี้ยงแตกต่างออกไป

อย่างไรก็ตามยังคงมีหลายปัญหาเกี่ยวกับการสร้างต้นอ่อนไม่เกี่ยวกับเพศ แม้ชนิดพันธุ์พืชส่วนใหญ่อาจเพิ่มจำนวนกลุ่มเซลล์ค่อนข้างง่าย ส่วนการงอกใหม่ (regeneration) จากเซลล์ไม่เจริญเป็นอวัยวะ (unorganized cell) เช่น การแขวนลอยเซลล์ (cell suspension) กลับเป็นกระบวนการยุ่งยากกว่า

ยิ่งกว่านั้นหลักฐานจำนวนมากแสดงให้เห็นว่า การงอกใหม่จากกลุ่มเซลล์หรือการแขวนลอยเซลล์อาจนำไปสู่การผันแปรทางพันธุกรรม (genetic variation) ของพืชงอกใหม่ เพราะฉะนั้นจำเป็นต้องศึกษาค้นคว้ามากขึ้นเพื่อเข้าใจพื้นฐานทางอณูวิทยา (molecular basis) ของการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม (genetic change) อันเกิดขึ้นระหว่างการเพาะเลี้ยงเทียม (artificial culture)

การผันแปรของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม่เกี่ยวกับเพศ

ถึงแม้การแพร่พันธุ์แบบจุลภาคตามแบบแผนมีผลสำคัญต่อเกี่ยวกับความเที่ยงตรงของสำเนาพันธุ์ (clonal fidelity) กลับกลายเป็นสิ่งชัดเจนเพิ่มขึ้นว่า ภายใต้ภาวการณ์เพาะเลี้ยงอย่างเหมาะสมอาจพบการผันแปรทางพันธุกรรมของพืชงอกใหม่ หากเกิดระหว่างการเพาะเลี้ยงชิ้นเนื้อเยื่อปราศจากเนื้อเยื่อเจริญก่อนเป็นอวัยวะ (pre-organized meristem) หรือพืชงอกใหม่ค่อนข้างผันแปรหากเพาะเลี้ยงคงกลุ่มเซลล์ไว้ก่อนกลายเป็นพืชงอกใหม่

การรายงานเบื้องต้นส่วนใหญ่ของความผันแปรถือว่าเป็นความไม่เสถียรทางโครโมโซม (chromosome instability) เมื่อเพาะเลี้ยงเซลล์ ในหลายกรณีรายงานระดับความไม่เสถียรเป็นสัดส่วน (proportion) เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาเพาะเลี้ยงเซลล์

ความผันแปรเป็นสิ่งเกิดได้และเกิดขึ้นเองตามปกติวิสัยเมื่อเพาะเลี้ยงระยะยาว นำไปสู่เพาะเลี้ยงเซลล์สำหรับการออกฤทธิ์กลายพันธุ์ (mutagenesis) และเพื่อคัดเลือกความผันแปรทางพันธุกรรม ส่วนการค้นพบลักษณะทางพันธุกรรม (novel genotype) ที่ไม่เคยมีมาก่อนจากการเพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเหตุจากความผันแปรของสำเนาพันธุ์ไม่เกี่ยวกับเพศ (somaclonal variation)

ข้อบ่งชี้ของความผันแปรสำเนาพันธุ์ไม่เกี่ยวกับเพศในพืชผลหลายชนิดกระตุ้นความสนใจเกี่ยวกับวิธีการประยุกต์พืชผลให้ดีขึ้น ทุกวันนี้มีหลายกรณีแสดงถึงความผันแปรสำเนาพันธุ์ไม่เกี่ยวกับเพศก่อให้เกิดลูกหลาน (progeny) เปลี่ยนแปลงไปในหนทางเป็นประโยชน์อย่างเช่น พืชต้านทานต่อโรคจุดตา (eye-spot) หรืออ้อยเพิ่มน้ำตาล หรือมันฝรั่ง ทนทานต่อการเสื่อมเนิ่นนาน (late blight resistant) หรือมะเขือเทศ ต้านทานรา Fusarium [5]

การคัดเลือกในหลอดทดลอง

ทุกวันนี้การศึกษาเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมุ่งเน้นแนวคิด (concept) เลือกพืชผ่านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อพืชต้านทานความเครียด แมลง และโรค

สิ่งได้รับอย่างมีนัยสำคัญ (significant gain) มาจากการปรับให้เหมาะ (adaptability) ชนิดพันธุ์มากหลายด้วยการคัดเลือกและแพร่พันธุ์ที่เด่นกว่า ดังนั้นการศึกษาค้นคว้าพืชพันธุ์ที่เด่นกว่าอาจเร่งได้ด้วยระบบหลอดทดลอง *(in vitro* system) เพื่อแสวงหาประโยชน์ (exploit) จากความผันแปรตามธรรมชาติ จนทราบดีว่าสารเคมีหรือสารกายภาพสามารถเหนี่ยวนำความผันแปรและเป็นเหตุเกิดการกลายพันธุ์ (mutation)

เป้าหมายของการคัดเลือกในหลอดทดลอง (*in vitro* selection) เกี่ยวโยงกับประชากรเซลล์ เพื่อให้ได้การคัดเลือกอย่างเหมาะสม (suitable selection pressure) และสายการผลิตอันผันแปรอย่างหนึ่งอย่างใด (recovering any variant line) นำไปสู่การพัฒนาความต้านทานหรือความทนทาน (tolerance) จุดประสงค์เพื่อจัดระบบพืชทั้งต้นใหม่ (reorganize whole plant) จากการผลิตเซลล์มีความต้านทาน การเข้าถึงแบบนี้สันนิษฐานว่าการก่อเกิดความทนทาน (tolerance operating) ของเซลล์ยังไม่เจริญเป็นอวัยวะอาจทำหน้าที่ (act) บางระดับเกี่ยวกับประสิทธิภาพ (some degree of effectiveness) ของพืชทั้งต้น หากความทนทานมีสิ่งอิงทางพันธุกรรม (genetic basis) ลักษณะสืบสายพันธุ์ (trait) ก็อาจส่งต่อไปยังพืชรุ่นหลัง

ปัจจุบันการศึกษาค้นคว้าขยายก้าวข้าม (extend across) ไปยังสิ่งน่าสนใจประกอบด้วย

- พยายามคัดเลือกสายการผลิตอันทนทานต่อเกลือ (salt tolerance)
- พืชทนทานต่อความเยือกแข็ง (freezing resistant plant)
- พืชผลเกษตรทนทานยาฆ่าวัชพืช (herbicide resistance agronomic crop)
- ต้านทานโมเลกุลทางเคมี (chemical molecule) อย่างเช่นโลหะหนัก (heavy metal) อลูมิเนียม แมงกานีส

การเพาะเลี้ยงโพรโทพลาสต์กับการสร้างพันธุ์ผสมด้วยการรวมเซลล์

โพรโทพลาสต์ (protoplast) เป็นเซลล์เดี่ยว (single cell) ให้เอนไซม์ (enzyme –โปรตีนควบคุมปฏิกิริยาเคมี) ทำให้ผนังเซลล์เรียงตัวเป็นริ้วยาว (stripped) ภายใต้ภาวะเหล่านี้เมื่อการกระทำต่อใบไม้ใบหนึ่งใบใดอาจให้เซลล์เดี่ยวหลายล้านเซลล์ แต่ละเซลล์ล้วนมีศักยภาพกลายเป็นต้นพืช การศึกษาค้นคว้าแบบมีมาจากการสังเกตสิ่งก่อเกิดแรงกระตุ้น (impetus) กล่าวคือเมื่อเซลล์เป็นแถวยาวและสัมผัสกันใกล้ชิด ย่อมมีแนวโน้มรวมเข้า (fuse) กันและกัน (each other)

การสร้างพันธุ์ผสมด้วยการรวมเซลล์ไม่เกี่ยวกับเพศมิได้มุ่งเป้าหมายเกี่ยวกับปัญหาไม่เข้ากันอย่างเหมือนกัน (same incompatibility problem) เฉกเช่นยุทธศาสตร์ของการผสมพันธุ์พืชตามแบบแผน (traditional plant breeding strategies) ความสามารถรวมเซลล์พืชจากหลายสายพันธุ์อาจไม่เข้ากันดังเช่นการข้ามทางเพศ (sexual cross) กระนั้นการผ่านพ้นข้อจำกัดของสิ่งที่คิดฝัน (limit of the imagination) อาจได้จาการขยายเปลี่ยนแปลงพันธุ์พืชผ่านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การสร้างพันธุ์ผสมด้วยการรวมเซลล์ไม่เกี่ยวกับเพศเป็นการประยุกต์ใช้เพื่อทำให้เกิด (bring about) การรวมกันของยีนที่ไม่เคยมีมาก่อนอย่างเช่น สายพันธุ์ดอกพิทูเนีย (petunia) และสายพันธุ์ยาสูบ (Nicotiana) การศึกษาค้นคว้าระยะต่อไปเป็นสิ่งเชื่อมั่นว่าเกิดผลกระทบมหาศาล (tremendous impact) ต่อแนวคิดเกี่ยวกับความหลากหลายของพืช (plant diversity)

ศ.นพ.วีระพล จันทร์ดียิ่ง
บรรณาธิการ

เอกสารแนะนำอ่านเพิ่มเติม

1. Pierik RLM. *In vitro* culture of higher plants. Dordrecht: Martinus Nijhoff Publishers; 1987.
2. Debergh PC, Zimmerman RH. Micropropagation: Technology and application. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 1991.
3. Morel GM. Producing virus-free cymbidiums. Am Orchid Soc Bull. 1960;29:495-7.
4. Quak F. Meristem culture and virus-free plants. In: Reinert J, Bajai YS, editors. Applied and fundamental aspects of plant cell, tissue and organ culture. Berlin: Springer-verlag; 1977. p. 596-614.
5. Evans DA. Somaclonal variation - genetic basis and breeding applications. Trends Genet. 1989;5(2):46-50.