

การเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วของต้นเปเปอร์โรเมียใบต่าง โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Rapid Micropropagation of *Peperomia obtusifolia*

อัญชลี จาละ* และยงศักดิ์ ขจรผดุงกิตติ

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

Anchalee Jala* and Youngsak Kachonpadungkitti

Department of Biotechnology, Faculty of Science and Technology, Thammasat University,

Rangsit Centre, Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

บทคัดย่อ

ชิ้นส่วนข้อของเปเปอร์โรเมียใบต่างถูกเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (MS) ที่เติม NAA (0.1, 0.5 และ 1.0 mg/l) ร่วมกับ BA (0.1, 0.5 และ 1.0 mg/l) ผลปรากฏว่าอาหารสังเคราะห์ สูตร MS เติม NAA 0.5 mg/l และ BA 0.1 mg/l จะเกิดยอดอ่อนยอดแรกเร็วที่สุดภายใน 12.2 วัน ส่วนอาหารสังเคราะห์ สูตร MS ที่เติม NAA 0.1 mg/l และ BA 0.5 mg/l จะทำให้ชิ้นส่วนเปเปอร์โรเมียเกิดยอดมากที่สุดเท่ากับ 2.4 ยอด และอาหารสังเคราะห์ MS ที่เติม NAA 1.0 mg/l ร่วมกับ BA 0.1 mg/l ทำให้ยอดอ่อนต้นเปเปอร์โรเมียใบต่าง มีความสูงมากที่สุดคือ 3.83 เซนติเมตร จำนวนรากมากที่สุดเฉลี่ย 10 รากต่อต้น รวมทั้งจำนวนใบอ่อนที่งอกออกมา มากที่สุดเท่ากับ 19.8 ใบ และมีพื้นที่ใบมากที่สุดด้วยเท่ากับ 1.23×1.62 ตารางเซนติเมตร เมื่อย้ายออกปลูกลงใน กระถางพบว่าต้นเปเปอร์โรเมียใบต่างที่ได้จากอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม NAA 1.0 mg/l ร่วมกับ BA 0.1 mg/l ได้ต้นที่แข็งแรงมีความสูงมากที่สุด (9.98 เซนติเมตร) และมีจำนวนยอดมากที่สุดเท่ากับ 2.6 กอ รวมทั้งมี จำนวนใบสูงสุดเท่ากับ 33.4 ใบ และพื้นที่ของแต่ละใบเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 2.04×2.96 ตารางเซนติเมตร

คำสำคัญ: เปเปอร์โรเมียใบต่าง; การขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ; BA; NAA

Abstract

Node explants of *Peperomia obtusifolia* cultured on Murashige and Skoog (MS) supplemented with combination of different concentration (0.1, 0.5 and 1.0 mg/l) NAA and (0.1, 0.5 and 1.0 mg/l) BA. The result showed that MS medium supplemented with 0.5 mg/l NAA and 1.0 mg/l BA was suitable for new shoots come out after culturing for 12.2 days. MS medium supplemented with 0.1 mg/l NAA and 0.5 mg/l BA gave the maximum new shoots (2.4 shoots),

and MS medium supplemented with 1.0 mg/l NAA and 0.1 mg/l BA gave the maximum average height of shoots (3.83 cm.), number of roots (10.0 roots), leaf number per plantlet (19.8 leaves), and leaf area ($1.23 \times 2.96 \text{ cm}^2$). After transferred plantlets to the soil, young plantlets from MS medium supplemented with 1.0 mg/l NAA and 0.1 mg/l BA gave the vigor plantlets which gave the maximum cluster of new shoots (2.6 shoots), the highest height of shoots (9.98 cm.), leaf number (33.4 leaves) and leaf area ($2.04 \times 2.96 \text{ cm}^2$).

Keywords: *Peperomia obtusifoliawere*; micropropagation; BA; NAA

1. บทนำ

เปเปอร์โรเมียใบต่างเป็นไม้ประดับชนิดหนึ่งซึ่งเป็นที่ชื่นชอบของผู้ที่นิยมไม้ต่างมีลักษณะกิ่งเลื้อย ใบมีลักษณะอ่อนช้อยสีเขียวและมีสีขาวอยู่รอบๆขอบนอก มีการปลูกเลี้ยงใส่กระถาง และตั้งแขวนไว้ประดับตามที่ต่าง ๆ สวยงามมาก โดยทั่วไปมีการขยายพันธุ์โดยการปักชำ แต่ต้องใช้กิ่งชำจำนวนมาก แต่การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถขยายพันธุ์เปเปอร์โรเมียให้ได้จำนวนมากตามที่ต้องการ ใช้กิ่งพันธุ์ที่น้อยกว่า และระยะเวลาสั้นกว่า ในการวิจัยครั้งนี้เป็นการขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนของต้นเปเปอร์โรเมียให้ได้จำนวนมากได้และใช้เวลาสั้นลงกว่าการปักชำแบบธรรมดา

2. อุปกรณ์และวิธีการ

ชิ้นส่วนข้อเปเปอร์โรเมียใบต่าง ฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์โดยแช่ในสารละลายคลอโรกซ์เข้มข้น 10 % นาน 15 นาที ตามด้วยคลอโรกซ์ความเข้มข้น 5 % นาน 10 นาที และล้างด้วยน้ำเปล่าที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง แล้วนำลงเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (MS) [1] ที่เติม NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ (0.1, 0.5 และ 1.0 mg/l) ร่วมกับ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ (0.1, 0.5 และ 1.0 mg/l) ทั้ง 10 สูตรการทดลอง บันทึกผลการเกิดยอดใหม่ในแต่ละสูตรการทดลอง มีการเปลี่ยนเนื้อเยื่อลงอาหาร

สังเคราะห์สูตรเดิมอีก 4 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 3 สัปดาห์ เมื่อต้นโตเต็มที่ มีรากงอกออกมา ย้ายออกปลูกลงดิน หลังจากต้นเปเปอร์โรเมียอายุ 8 สัปดาห์ ทำการตรวจนับปริมาณการรอดชีวิต จำนวนใบบนต้น แต่ละต้น ความสูงของต้น และขนาดของใบ

3. ผลและวิจารณ์

ชิ้นส่วนข้อของเปเปอร์โรเมียใบต่างที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog [1] ที่เติม NAA ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ผลปรากฏว่าการแตกยอดแรกจากชิ้นส่วนข้อของเปเปอร์โรเมียใบต่างปรากฏผลดังตารางที่ 1

หลังจากย้ายยอดใหม่ลงเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ MS ที่เติม BA และ NAA ทั้ง 10 สูตรการทดลอง และย้ายชิ้นส่วนพืชลงอาหารสังเคราะห์สูตร MS เดิมทุก ๆ 3 สัปดาห์ จำนวน 4 ครั้ง เมื่อต้นอ่อนมีอายุ 12 สัปดาห์ สามารถตรวจนับค่าเฉลี่ยของจำนวนยอดใหม่ที่แตกกอ ความสูงของต้น จำนวนราก และจำนวนใบที่เกิดขึ้นในแต่ละสูตรอาหารที่ใช้ทดลองได้ผลดังตารางที่ 1

จากตารางที่ 1 พบว่าค่าเฉลี่ยระยะเวลาการเกิดยอดแรกในแต่ละสูตรอาหาร มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) พบว่าอาหารสังเคราะห์ MS ที่เติม NAA 0.5 mg/l ร่วมกับ BA 1.0 mg/l และ NAA 1.0 mg/l ร่วมกับ BA 1.0 mg/l ใช้เวลาเฉลี่ย 12.2 วัน ใน

การเกิดยอดใหม่ ส่วนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตจะมีการแตกยอดช้าที่สุด (19.7 วัน)

หลังจากย้ายยอดใหม่ขนาดเท่า ๆ กัน ลงเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ทั้ง 10 สูตร นี้ และย้ายเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก ๆ 3 สัปดาห์ จำนวน 4 ครั้ง เมื่อ

ตรวจนับจำนวนยอดใหม่ที่แตกออกเพิ่มขึ้น ความสูงของต้น จำนวนราก รวมทั้งจำนวนใบต่อต้น ในแต่ละสูตรมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) ผลการทดลองที่ให้ค่าเฉลี่ยสูงสุดในแต่ละปัจจัย พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมคือ NAA 1.0 mg/l ร่วมกับ BA 0.1 mg/l

ตารางที่ 1 ขึ้นส่วนของเปปเปอร์โรเมียใบด่างที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ที่มีผลต่อระยะเวลาการเกิดยอดแรกแตกออกมาจากจำนวนต้นที่แตกออกมาจากข้อ ความสูงของต้นและจำนวนรากหลังจากเพาะเลี้ยงนาน 12 สัปดาห์

MS		ระยะเวลาเกิดยอดแรกแตกออกมาจากขึ้นส่วนของข้อ(วัน)**	จำนวนต้นใหม่ (ต้น)**	ความสูงของต้น (ซม.)**	จำนวนราก (ราก)**	จำนวนใบ (ใบ)**
NAA (mg/l)	BA (mg/l)					
0.0	0.0	19.7 ^d	1.0 ^f	3.05 ^{cd}	5.7 ^{cd}	3.3 ^e
0.1	0.1	13.6 ^{bc}	1.8 ^{cde}	2.88 ^{de}	2.1 ^{fg}	16.3 ^b
0.1	0.5	13.4 ^{abc}	2.4 ^a	3.27 ^{bc}	2.8 ^{ef}	12.8 ^{cd}
0.1	1.0	12.5 ^{ab}	2.1 ^{abcd}	1.98 ^g	0.8 ^g	11.5 ^b
0.5	0.1	13.7 ^{bc}	2.2 ^{abc}	3.57 ^{ab}	4.5 ^{de}	12.5 ^{cd}
0.5	0.5	13.1 ^{abc}	1.7 ^{de}	2.62 ^{ef}	5.7 ^{cd}	13.4 ^{cd}
0.5	1.0	12.2 ^a	1.6 ^e	2.72 ^{de}	6.9 ^{bc}	11.2 ^d
1.0	0.1	13.9 ^c	2.3 ^{ab}	3.83 ^a	10.0 ^a	19.8 ^a
1.0	0.5	12.9 ^{abc}	1.9 ^{bcde}	2.32 ^{fg}	6.8 ^{bc}	13.0 ^{cd}
1.0	1.0	12.2 ^a	1.9 ^{bcde}	3.45 ^b	7.8 ^b	14.3 ^{bc}

**มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.01$)

^{abc} เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกันตัวอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี DMRT ($p < 0.05$)

เมื่อต้นอ่อนเปปเปอร์โรเมียใบด่างเจริญเติบโตเต็มที่ก็ย้ายออกปลูกลงดิน เมื่อตรวจนับอัตราการรอดชีวิตพบว่าสูงถึง 90 เปอร์เซ็นต์ และเลี้ยงต้นอ่อนต่อมาจนอายุได้ 8 สัปดาห์ ตรวจนับจำนวนใบ ความสูงของต้น และจำนวนต้นอ่อนที่แตกออกมาใหม่ ได้ผลดังตารางที่ 2 เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของต้นอ่อนต้น

เปปเปอร์โรเมียในแต่ละสูตรหลังจากออกปลูกได้ 8 สัปดาห์ ปรากฏว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) และอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม NAA 1.0 mg/l ร่วมกับ BA 0.1 mg/l มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รวมทั้งความสูงของต้น (9.98 ซม.) และมีจำนวนใบต่อต้น (33.4 ใบ) และขนาดของใบมีค่าเฉลี่ยสูงสุด

ซึ่งแต่ละใบมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.04×2.96 ตารางเซนติเมตร ของใบด้านที่กว้างที่สุดและด้านยาวที่สุด (2.04×2.96 ซม.²) และส่วนจำนวนต้นอ่อนที่แตก

ออกมาใหม่ของทุกสูตรมีค่าเฉลี่ยใกล้เคียงกันทั้งสูตรที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตและ ที่ไม่ได้เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยจำนวนกอ ความสูงของลำต้น และจำนวนใบของต้นเปปเปอร์โรเมียหลังจากย้ายออกปลูกลงดิน อายุ 8 สัปดาห์

MS		จำนวนต้นที่แตกใหม่เฉลี่ย (ต้น)**	ความสูงของต้น (ซม.)**	จำนวนใบต่อต้นเฉลี่ย (ใบ)**	ขนาดใบเฉลี่ย (กว้าง x ยาว) (ซม. ²)**
NAA (mg/l)	BA (mg/l)				
0.0	0.0	1.0 ^b	3.46 ^d	5.0 ^f	1.48 ^c x 2.18 ^{bc}
0.1	0.1	2.4 ^a	3.98 ^{cd}	28.8 ^{abc}	1.76 ^b x 2.28 ^{bc}
0.1	0.5	2.6 ^a	3.38 ^{bc}	21.8 ^d	1.56 ^c x 2.04 ^c
0.1	1.0	2.2 ^a	2.28 ^e	25.4 ^{cd}	0.84 ^f x 1.36 ^f
0.5	0.1	2.6 ^a	4.26 ^c	23.6 ^{cd}	1.10 ^{de} x 1.54 ^{ef}
0.5	0.5	2.4 ^a	4.34 ^{bc}	25.6 ^{cd}	0.94 ^{ef} x 1.48 ^{ef}
0.5	1.0	2.4 ^a	4.06 ^c	16.8 ^e	1.04 ^{def} x 1.44 ^{ef}
1.0	0.1	2.6 ^a	9.98 ^a	33.4 ^a	2.04 ^a x 2.96 ^a
1.0	0.5	2.4 ^a	4.36 ^{bc}	32.4 ^{ab}	0.98 ^{ef} x 1.58 ^e
1.0	1.0	2.6 ^a	4.90 ^b	28.0 ^{bc}	1.20 ^d x 1.84 ^d

**มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$)

^{abc} เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกันตัวอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี DMRT ($p < 0.05$)

การวิจัยครั้งนี้ใช้ส่วนของเปปเปอร์โรเมีย แต่ Kukulczanka และคณะ [2] ได้ใช้ชิ้นส่วนของใบอ่อนและยอดอ่อนเพาะเลี้ยงลงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS และเติม NAA 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin 1.0 mg/l พบว่าใบอ่อนสามารถแตกออกมาได้จากบริเวณฐานของยอด ส่วน Richard และคณะ [3] ใช้ชิ้นส่วนของข้อเลี้ยงลงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 3 μ M และ NAA 1 μ M ทำให้ข้อเจริญเติบโตเป็นต้นอ่อนได้เช่นเดียวกับ White และคณะ [4] ได้ใช้ชิ้นส่วนของข้อเลี้ยงลงบนอาหารสูตร MS ในการขยายพันธุ์ และ Sven และ Diane [5] ได้ทดลองกับ *Peperomia serpens* และ *Peperomia obtusifolia* โดยย้าย

เปปเปอร์โรเมียทั้ง 2 พันธุ์ ลงเลี้ยงบนดินผสมและรดด้วยสาร $\text{Cu}(\text{OH})_2$ ปรากฏว่าสามารถรอดชีวิตได้ 85 เปอร์เซ็นต์

4. สรุป

ชิ้นส่วนบริเวณข้อเปปเปอร์โรเมียที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA เข้มข้น 0.5 mg/l ร่วมกับ BA เข้มข้น 1.0 mg/l ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนยอดที่แตกออกมาสูงสุดและใช้เวลาเพียง 12.2 วัน ในการแตกยอดอ่อน

เมื่อย้ายยอดอ่อนลงอาหารเดิมอีก 4 ครั้ง ทุก ๆ 3 สัปดาห์ ปรากฏว่าสามารถเจริญเติบโตได้ดีบน

อาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม NAA 1.0 mg/l ร่วมกับ BA 0.1 mg/l มีการแตกยอดอ่อนเพิ่มขึ้นมีค่าเฉลี่ยสูงสุด 2.3 ยอด ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นเท่ากับ 3.83 เซนติเมตร และมีจำนวนราก 10 ราก และจำนวนใบสูงสุด 19.8 ใบ ส่วนที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตอื่น ๆ นั้นมีการเจริญเติบโต แต่มีค่าเฉลี่ยน้อยกว่า

เมื่อย้ายต้นอ่อนเบบเปอร์โรเมียใบต่างออกปลูกลงดิน ผลปรากฏว่าอัตราการรอดชีวิตสูงถึง 90 เปอร์เซ็นต์ และความสามารถในการเจริญเติบโตหลังย้ายออกปลูกได้ 8 สัปดาห์ ต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงลงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม NAA 1.0 mg/l ร่วมกับ BA 0.1 mg/l พบว่ามีค่าเฉลี่ยความสูงมากที่สุด (9.98 ซม.) มีใบแตกออกมาสูงสุดเท่ากับ 33.4 ใบ และขนาดของใบสูงสุดทั้งด้านกว้าง 2.04 เซนติเมตร และด้านยาว 2.96 เซนติเมตร

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและการพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติของสำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา

6. เอกสารอ้างอิง

- [1] Murashige, T. and Skoog, F., 1962, A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture, *Physiol. Plant* 15: 473-497.
- [2] Kukulczanka, K., Klimaszewska, K., and Pluta, H., 1977, Regeneration of entire plants of *Peperomia scandens* Ruiz from different parts of leaves *in vitro*, *Acta Hort. (ISHS)* 78: 365-372.
- [3] Richard, E.L. and Conover, R.A., 1977, Tissue culture propagation of some foliage plants, *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 90: 301-303.
- [4] White, I., Oshima, L. and Leswara, N.D., 2007, Antimicrobial activity and micro-propagation of *Peperomia tetraphylla*, *J. Med. Biol. Sci.* 1: 1-6.
- [5] Sven, E.S. and Diane, L.J., 1994, Root and shoot responses of ten foliage species grown in cupric hydroxide treated containers, *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 107: 192-193.