การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพลูฉีกและพลูช้าง

Tissue Culture of *Raphidophora glauca* and *R. peepla*

วรัญญู แก้วดวงตา* และ อดิศร กระแสชัย[1]

Waranyoo Kaewduangta and Adisorn Krasaechai

บทคัดย่อ: งานวิจัยนี้ศึกษาการขยายพันธุ์ ของ *Raphidophora glauca* และ *R. peepla* ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยใช้อาหาร MS ร่วมกับ BAP ความเข้มข้น 5 ระดับ (0, 2, 4, 8 และ 10 มก./ ลิตร) และ NAA ความเข้มข้น 2 ระดับ (0 และ 2 มก./ ลิตร) ใช้ส่วนของยอดและข้อ ในการศึกษา พบว่าอาหารสูตร MS ร่วมกับ BAP 8 มก./ ลิตร หรือ MS ร่วมกับ BAP 10 มก./ ลิตร ให้การเจริญเติบโตของพืชทั้งสองชนิดทางด้านความสูง จำนวนใบ จำนวนราก และความยาวราก ดีกว่าอาหารสูตรอื่นๆ อย่างไรก็ตามพืชในทุกสูตรอาหารมีอัตราการรอดชีวิตหลังการย้ายปลูก เมื่ออายุ 8 สัปดาห์ มากกว่าร้อยละ 80 (**คำสำคัญ:** พลูฉีก, พลูช้าง, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ)

ABSTRACT: This research studied the propagation of *Raphidophora glauca* and *R. peepla* by tissue culture. Standard media (MS) and BAP at five concentrations of 0, 2, 4, 8, 10 mg/l and NAA at two concentrations of 0, 2 mg/l were used. Apical shoot meristem and internodes sections were used as explants. The result showed that both *Raphidophora glauca* and *R. peepla* in MS + 8 mg/l BAP or MS + 10 mg/l BAP had higher plant height, leaf number, root number and root length than those in other medium. However, the plants in every media had survival rate over 80 percent after eight weeks of transplanting. (**Keyword:** *Raphidophora glauca*, *Raphidophora peepla*, NAA, BAP, tissue culture)

บทนำ

ปัจจุบันความต้องการไม้ตัดใบของตลาดทั้งเอเชียและแถบยุโรปมีเพิ่มมากขึ้นทุกปี (Plasmeijer and Chumi, 2006) ใบสามารถนำไปเป็นส่วน ประกอบในการจัดร่วมกับไม้ดอกต่างๆ ทำให้ไม้ดอกที่จัดแจกันหรือประดับตกแต่งนั้น มีความสวยงามให้ความรู้สึกที่ดีและมีความสมบูรณ์แบบสวยงามมากยิ่งขึ้น ซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่าของผลิตผล หรือใช้เพื่อการตกแต่งสถานที่ (Arthy and Kaylene, 2003) และจาก ข้อมูลนำเข้า-ส่งออกไม้ตัดใบ สำหรับตลาดต่างประเทศ ปี 2550 มีการส่งออกใบไม้ กิ่งไม้ สด (ตั้งแต่เดือนมกราคม-พฤศจิกายน 2550) ปริมาณ 823.1 ตัน มูลค่า 30.88 ล้านบาท และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจากปีที่ผ่านมา สำหรับการผลิตเพื่อการส่งออก ผู้ผลิตควรเน้นการผลิตให้มีคุณภาพมาตรฐาน และวางแผนการผลิตให้ตรงความต้องการของตลาด เพื่อจะสามารถรักษาตลาดให้ได้อย่างต่อเนื่อง และควรมีการพัฒนาพันธุ์ใหม่ๆ เพื่อสร้างความต้องการของผู้บริโภค (กลุ่มส่งเสริมการผลิตไม้ดอกไม้ประดับ, 2551)

[1] ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200
Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand, 50200

* Corresponding author: a_waran@hotmail.com

การนำไม้เลื้อยจากดอยขุนวาง มูลนิธิ-โครงการหลวง จ.เชียงใหม่ มาศึกษาและเพื่อพัฒนาเป็นพันธุ์การค้า จำนวน 23 ชนิด พบว่ามี 2 ชนิด คือ *Raphidophora glauca* และ *R. peepla* วงศ์ Araceae มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นไม้ตัดใบและไม้กระถาง เนื่องจากมีความสวยงามแต่การขยายพันธุ์โดยใช้วิธีการปักชำจะเพิ่มจำนวนต้นได้ช้า ต้นไม่สม่ำเสมอ นอกจากนี้การตัดชำขยายทำให้ได้ ต้นที่มีขนาดเล็กลงและอ่อนแอ ดังนั้นจึงมีแนวคิดที่จะนำมาขยาย พันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ด้วยเป็นเทคนิคที่สามารถผลิตต้นพืชได้เป็นจำนวนมากในระยะเวลาที่รวดเร็ว และพืชที่ได้มีต้นที่สม่ำเสมอ โดยต้องเลี้ยงในสูตรอาหารที่เหมาะสม (Baskaran and Jayabalan, 2005) Jambor and Marta (1990) ได้ทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Philodendron tuxtlanum* พบว่า อาหารสูตร $^1/_2$ MS ที่เติมฮอร์โมน BA 5 มก./ ลิตร สามารถชักนำให้เกิดต้นจำนวนมาก ส่วนการชักนำให้เกิดราก ใช้อาหารสูตร MS ร่วมกับฮอร์โมน NAA 0.5 มก./ ลิตร และผลการวิจัยของ Zhang et al. (1997) ที่ทำการขยาย พันธุ์ *P. erubescens* พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA 4 มก./ลิตร จำนวนต้นมากที่สุด นอกจากนี้ Kumar et al. (1998) พบว่าสูตรอาหารที่สามารถเพิ่มจำนวนต้น *P. pertusum* ได้ดีที่สุดคือ อาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มก./ลิตร ร่วมกับ Kinetin 3 มก./ลิตร และการขยายพันธุ์ *P. oxycardium* สามารถเพิ่มจำนวนต้นได้ดีในอาหารสูตร MS ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 2 มก./ลิตร และ IAA 1 มก./ลิตร และในการกระตุ้นให้เกิดราก พบว่า อาหารสูตร MS ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA 3 มก./ลิตร มีการเกิดรากได้ดีที่สุด (Koriesh and Al - Manie, 2000)

วิธีการศึกษา

ได้รวบรวม *Raphidophora glauca* และ *R. peepla* จากป่าในเขตที่ตั้งของศูนย์พัฒนาโครงการหลวงขุนวาง ตำบลแม่วิน อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งมีความสูงจาก ระดับน้ำทะเล 1,200-1,400 เมตร นำยอดที่มีข้อติด 3 ข้อ จากต้นที่อนุบาลไว้ในโรงเรือน (**Figure 1**) มาตัดใบและกาบใบออก นำมาล้างทำความสะอาด

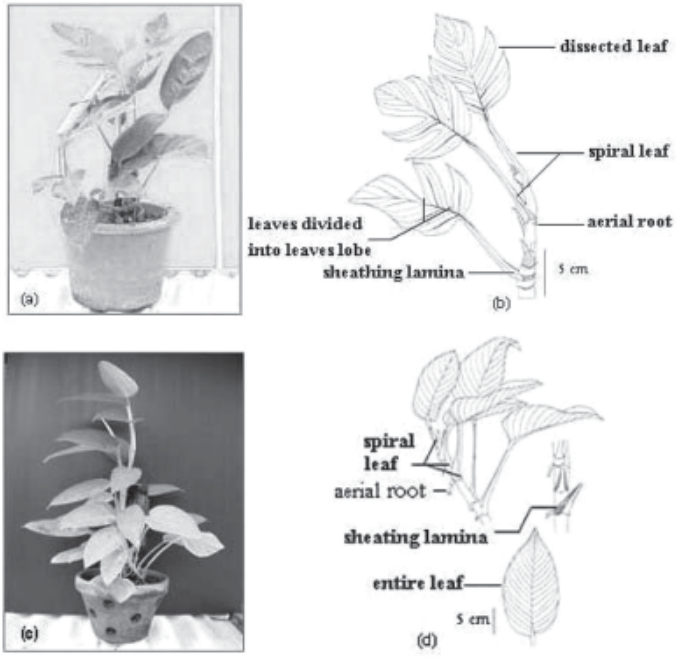

Figure 1 (a - b) *Raphidophora glauca* (c - d) *R. peepla*

ด้วยสบู่ ใช้แปรงขัดที่ซอกใบให้สะอาด ซับให้แห้ง และเช็ดอีกครั้งด้วยแอลกอฮอล์ 70 % ก่อนนำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอรอกซ์ 15% ที่ผสมด้วย Tween-20 จำนวน 2-3 หยด นาน 15 นาที ล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง จากนั้นตัดชิ้นส่วนของยอดและข้อมาเลี้ยงบนอาหาร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติมน้ำตาล 3% และผงวุ้น 8% ส่วนที่เป็นอาหารเหลวไม่เติมผงวุ้น โดยตัดส่วนยอด นำไปเลี้ยงบนอาหารเหลว และส่วนข้อ โดยแยกเป็น ข้อที่ 1, 2 และ 3 เลี้ยงบนอาหารที่เติมผงวุ้นเพื่อ ให้ได้ยอดหรือต้นก่อน หลังจากนั้นนำต้นที่ได้จากยอดไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ธรรมดา เป็นเวลา 3 เดือน เพื่อเพิ่มปริมาณต้น และเพื่อให้ได้จำนวนต้นที่สม่ำเสมอ เมื่อได้ต้นครบตามจำนวนที่ต้องการแล้วนำมา ทดสอบสูตรอาหารเพื่อศึกษาศักยภาพในการขยายพันธุ์ โดยใช้สูตรอาหาร MS ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต Benzyladenine (BAP) ซึ่งมีความเข้มข้น ที่แตกต่างกัน 5 ระดับ (0, 2, 4, 8 และ 10 มก./ ลิตร) และ Naphthalene acetic acid (NAA) ความเข้มข้น 2 ระดับ (0 และ 2 มก./ ลิตร) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design) จัดได้ 10 กรรมวิธี (MS + 0 mg/l BAP + 0 mg/l NAA, MS + 2 mg/l BAP + 0 mg/l NAA, MS + 4 mg/l BAP + 0 mg/l NAA, MS + 8 mg/l BAP + 0 mg/l NAA, MS + 10 mg/l BAP + 0 mg/l NAA, MS + 0 mg/l BAP + 2 mg/l NAA, MS + 2 mg/l BAP + 2 mg/l NAA, MS + 4 mg/l BAP + 2 mg/l NAA, MS + 8 mg/l BAP + 2 mg/l NAA, MS + 10 mg/l BAP + 2 mg/l NAA) แต่ละสูตรอาหารมี 10 ซ้ำ แต่ละหลอดมี 1 ชิ้นส่วนเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงอุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส ให้แสง 14 ชั่วโมง/วันเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกจำนวนยอดที่พัฒนา ความสูงต้น จำนวนใบ จำนวนวันที่เริ่มออกราก จำนวนราก ความยาวราก และวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มด้วยวิธี Duncan's Multiple Rang Test (DMRT) ที่ระดับความ เชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS

ผลการศึกษา

พบว่าไม้เลื้อยทั้ง 2 ชนิด มีการเจริญและพัฒนาของส่วนต้นและออกรากได้เร็วที่สุด ในอาหารสูตรที่ 4 และ สูตรที่ 5 (MS+8 mg/l BAP+0 mg/l NAA และ MS+10 mg/l BAP+0 mg/l NAA) เมื่อเลี้ยงไปได้ 4 สัปดาห์ โดย *R. glauca* มีความสูงต้น 3.53 และ 3.78 เซนติเมตร จำนวนใบ 5.7 และ 6.8 ใบ จำนวนวันที่เกิดราก 15.7 และ 12.2 วัน จำนวนราก 13.9 และ 9.5 ราก ความยาวราก 7.2 และ 9.16 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนสูตรอาหารที่มีแนวโน้มให้ผลการตอบสนองน้อยที่สุด คือ สูตรอาหารที่ 10 (**Table 1 and Figure 2**) ส่วนใน *R. Peepla* เมื่อเพาะเลี้ยงโดยใช้อาหารสูตรที่ 4 และสูตรที่ 5 มีความสูงต้น 2.98 และ 2.3 เซนติเมตร จำนวนใบ 6.1 และ 4.9 ใบ จำนวนวันที่เกิดราก 17.7 และ 14.6 วัน จำนวนราก 12.9 และ 8.3 ราก ความยาวราก 4.25 และ 9.14 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนสูตรอาหารที่มีแนวโน้มผลการตอบสนองน้อย คือ สูตรอาหารที่ 1, 9 และ 10 (**Table 2 and Figure 3**)

เมื่อทำการทดลองครบ 8 สัปดาห์ นำต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูก เพื่อศึกษาพัฒนาการการรอดชีวิต ในสภาพโรงเรือน ที่มีอุณหภูมิ 30$\pm$2 °ซ ได้รับความเข้มแสงประมาณ 50,000 ลักซ์ และความชื้นสัมพัทธ์ ประมาณ 80%พบว่า พืชทั้งสองมีอัตราการรอดตายมากกว่าร้อยละ 80 (**Table 3**) มีลักษณะลำต้นที่แข็งแรง และมีใบมากกว่า 2 ใบ ดังเช่น (**Figure 4**)

Table 1 Effects of NAA and BAP on plant height, leaf number, root number and root length of *Raphidophora glauca* at 4 weeks.

Treatment	Plant height (cm)	Leaf number	Day of rooting (days)	Root number	Root length (cm)
MS + 0 mg/l BAP + 0 mg/l NAA	3.18b	3.9c	15.1b	4.7d	9.46a
MS + 2 mg/l BAP + 0 mg/l NAA	3.03b	4.1c	14.0b	8.2c	6.52b
MS + 4 mg/l BAP + 0 mg/l NAA	2.67b	5.1b	13.4bc	11.7b	5.53bc
MS + 8 mg/l BAP + 0 mg/l NAA	3.53a	5.7b	15.7b	13.9a	7.25b
MS +10 mg/l BAP + 0 mg/l NAA	3.78a	6.8a	12.0c	9.5b	9.16a
MS + 0 mg/l BAP + 2 mg/l NAA	3.13b	4.1c	12.4c	2.8de	1.92d
MS + 2 mg/l BAP + 2 mg/l NAA	3.13b	3.4c	12.0c	3.2d	1.68d
MS + 4 mg/l BAP + 2 mg/l NAA	3.08b	3.0c	12.2c	3.0d	3.11bcd
MS + 8 mg/l BAP + 2 mg/l NAA	2.56c	3.6c	20.7a	1.7e	4.43bc
MS + 10 mg/l BAP + 2 mg/l NAA	2.45c	2.9c	21.7a	4.5d	4.45bc
F-Test	*	*	*	*	*
C.V. (%)	10.3	8.8	12.5	18.4	11.2

Means values in the same column with different letters were significantly different by DMRT ($P < 0.05$).

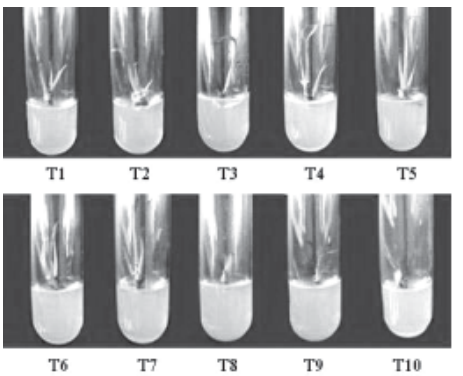

Figure 2 Growth of *Raphidophora glauca* on 10 medium formua (T1 - T10) after 4 weeks.

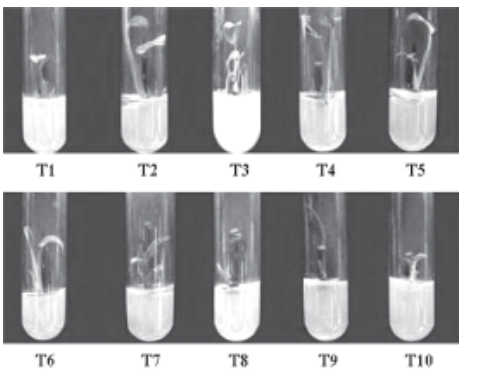

Figure 3 Growth of *Raphidophora peepla* on 10 medium formua (T1 - T10) after 4 weeks.

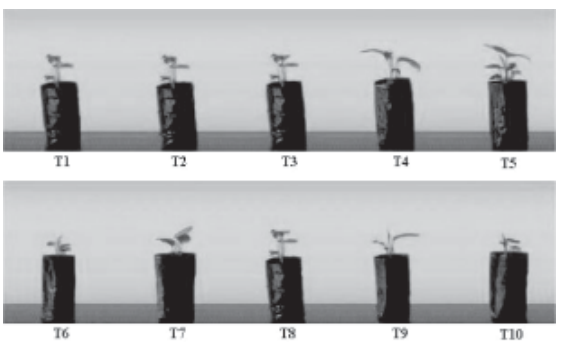

Figure 4 Growth and development of plantlets of *Raphidophora glauca* on 10 medium formua after transplantation for 8 weeks.

Table 2 Effects of NAA and BAP on plant height, leaf number, root number and root length of *Raphidophora peepla* at 4 weeks.

Treatment	Plant height (cm)	Leaf number	Day of rooting (days)	Root number	Root length (cm)
MS + 0 mg/l BAP + 0 mg/l NAA	2.38	2.7b	18.1b	3.7c	8.46a
MS + 2 mg/l BAP + 0 mg/l NAA	2.43	3.3ab	15.0c	7.2b	7.52a
MS + 4 mg/l BAP + 0 mg/l NAA	2.17	4.3a	15.1c	10.7a	4.53b
MS + 8 mg/l BAP + 0 mg/l NAA	2.98	6.1a	17.7b	12.9a	4.05b
MS +10 mg/l BAP + 0 mg/l NAA	2.3	4.9a	14.6c	8.3b	9.14a
MS + 0 mg/l BAP + 2 mg/l NAA	2.33	3.1ab	14.4c	1.8d	1.99c
MS + 2 mg/l BAP + 2 mg/l NAA	2.43	2.6b	13.8c	2.2d	3.45bc
MS + 4 mg/l BAP + 2 mg/l NAA	2.48	2.8b	14.2	2.0d	1.68c
MS + 8 mg/l BAP + 2 mg/l NAA	2.26	2.2b	24.7a	1.7d	2.9c
MS + 10 mg/l BAP + 2 mg/l NAA	2.15	2.1b	21.7a	4.5c	6.62ab
F-Test	ns	*	*	*	*
C.V. (%)	12.6	8.9	13.2	18.1	16.4

Means values in the same column with different letters were significantly different by DMRT ($P < 0.05$).

Table 3 Vital plant member of *Raphidophora glauca* and *R. peepla* after transplant for 8 weeks.

Treatment	*R. glauca*				*R. peepla*			
	Number of plant survived for 8 weeks after transplanting (%)							
	2	4	6	8	2	4	6	8
MS + 0 mg/l BAP + 0 mg/l NAA	90	90	90	90	90	90	80	80
MS + 2 mg/l BAP + 0 mg/l NAA	90	90	90	90	90	90	90	80
MS + 4 mg/l BAP + 0 mg/l NAA	90	90	90	90	90	90	90	80
MS + 8 mg/l BAP + 0 mg/l NAA	90	90	90	90	90	90	90	90
MS +10 mg/l BAP + 0 mg/l NAA	100	90	90	90	90	90	90	90
MS + 0 mg/l BAP + 2 mg/l NAA	90	90	90	90	90	90	90	80
MS + 2 mg/l BAP + 2 mg/l NAA	90	90	80	80	90	90	90	80
MS + 4 mg/l BAP + 2 mg/l NAA	90	90	90	90	90	90	90	90
MS + 8 mg/l BAP + 2 mg/l NAA	90	80	80	80	90	80	80	80
MS + 10 mg/l BAP + 2 mg/l NAA	90	90	80	80	90	90	80	80
F-Test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C.V. (%)	9.3	10.5	12.8	9.6	14.2	11.4	12.8	16.3

สรุปและวิจารณ์

การขยายพันธุ์ *R. glauca* และ *R. peepla* ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่า ชิ้นส่วนที่เลี้ยงด้วยอาหาร MS+8 mg/l BAP+0 mg/l NAA และ MS+10 mg/l BAP+0 mg/l NAA มีการเจริญเติบโตทางด้านความสูงต้น จำนวนใบ จำนวนรากและความยาวรากดีที่สุด ส่วนการย้ายปลูกเพื่อศึกษาการรอดชีวิตพบว่า ทุกสูตรอาหารมีอัตราการรอดตายเมื่ออายุ 8 สัปดาห์ มากกว่าร้อยละ 80 จากการวิจัยแสดงให้เห็นว่าในการขยายพันธุ์พืชทั้ง 2 ชนิด การใช้เพียงสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ซึ่งอยู่ในกลุ่มไซโตไคนิน พืชคงความสามารถในการเจริญเติบโตได้ดีตลอดจน สามารถมีชีวิตรอดได้ ดังนั้น ในการนำไปใช้จริง แต่ถ้าต้องการประหยัดต้นทุนค่าสารเคมีที่ใช้ ควรเลือกใช้อาหาร MS+8 mg/l BAP

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณมูลนิธิโครงการหลวงและมหาวิทยาลัยมหาสารคามที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัย และอาจารย์จามจุรี โสตถิกุล ที่ให้คำแนะนำในระหว่างทำงานงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มส่งเสริมการผลิตไม้ดอกไม้ประดับ. 2551. สถานการณ์ไม้ดอก-ไม้ประดับ ปี 2550-2551. รายงานข้อมูลนำเข้า-ส่งออกจากกรมศุลกากร, ข้อมูลส่งออกรายพืช จากงานมาตรฐานและบริการตรวจพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, กรุงเทพ.

Arthy, J. and B. Kaylene. 2003. A report for the Rural Industries Research and Development Corporation: New Foliage and Cut Flower Species from North Queensland, Commercial Potential. Queensland Department of Primary Industries.

Baskaran, P. and N. Jayabalan. 2005. Role of Basal Media, Carbon Sources and Growth Regulators in Micropropagation of Eclipta alba - a Valuable Medicinal Herb. KMITL Sci. J. 5: 2. : 469-482.

Jambor B.E. and R.A. Marta. 1990. *In vitro* Propagation of *Philodendron tuxtlanum* Bunting with Benzylaminopurine. Acta Agronomica Hung. 39 : 341-348.

Koriesh, E.M. and F.A. Al - Manie. 2000. Growth and root formation of *Philodendron oxycardium* grown in vitro as affected by benzyladenine and indole acetic acid. Egypt. J. Hort. 27: 1-11.

Kumar, D., J.P. Tiwari, and R. Singh. 1998. In vitro clonal propagation of *Philodendron pertusum*. Indian J. Hort. 55: 340-343.

Plasmeijer, J. and Y. Chumi. 2006. Market News Service: Cut Flowers and Ornamental Plants report. International Trade Centre. Switzerland.

Zhang, P., X. Xu. X. Huang, and D. Ling. 1997. Plant regeneration from in vitro culture of *Philodendron erubescens*. J. Trop. Subtrop. Bot. 5: 78-80.