

ชื่อโครงการ :	การชักนำแคลลัสจากเมล็ดของต้นพริกไทยพุ่ม ( <i>Piper nigrum</i> L.) Induction of callus from pepper seeds ( <i>Piper nigrum</i> L.)	PB1_15_10
สาขาวิชา :	ชีววิทยาและความหลากหลายทางชีวภาพ	
ผู้จัดทำโครงการ :	กมลภพ คล้ายดอกจันทร์ พิศิน ล้วนมณี	
ชื่อโรงเรียน :	โรงเรียน มอ.วิทยานุสรณ์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่	
อาจารย์ที่ปรึกษา:	คุณครู ภัสมน เมืองทอง โรงเรียน มอ.วิทยานุสรณ์	

### บทคัดย่อ

โครงการนี้เกี่ยวข้องกับการขยายพันธุ์ต้นพริกไทยพุ่มซึ่งเป็นพืชซึ่งมีสรรพคุณในการลดระดับน้ำตาลในเลือดแก่ผู้ป่วยโรคเบาหวานและยังเป็นพืชสวนพฤกษศาสตร์โรงเรียนในโครงการอนุรักษ์พันธุพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารีจัดทำขึ้นโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเข้มข้นของสารละลายคลอโรอ็อกซ์และระยะเวลาในการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมกับเมล็ดของต้นพริกไทยพุ่มและเพื่อศึกษาอัตราส่วนของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนเมล็ดของต้นพริกไทยพุ่ม โดยคณะผู้จัดทำได้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ช่วง คือในช่วงที่หนึ่งได้ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายคลอโรอ็อกซ์ (10% และ 15%) และระยะเวลาในการฟอกฆ่าเชื้อ (10 และ 15 นาที) โดยมีการทดลอง 4 ชุดการทดลอง โดยทำการทดลองชุดละ 4 ซ้ำจากผลการทดลอง พบว่าความเข้มข้นและระยะเวลาในการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมต่อชิ้นส่วนเมล็ด คือ 10 % 10 นาที โดยมีเปอร์เซ็นต์การ contaminate 3.17% และ และในช่วงที่สอง คือขั้นตอนในการย้ายเลี้ยงชิ้นส่วนไปเลี้ยงในอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต 6-benzylaminopurine (BAP) (0, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร) และ 2,4-Dichlorophenoacetic acid (2,4-D) (0, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร) โดยการทำการทดลองทั้งหมด 9 ชุดการทดลอง โดยใช้เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นและระยะเวลาในการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมจากช่วงที่หนึ่ง ทำการทดลองชุดละ 4 ซ้ำ จากการทดลองโดยรวมแล้วยังไม่สามารถระบุอัตราส่วนความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสจากเมล็ดของพริกไทยพุ่มได้ในขณะนี้เนื่องด้วยเวลาและเทคนิคของคณะผู้จัดทำ ซึ่งผลที่ได้จากการทดลองเบื้องต้นสามารถนำไปใช้ในการขยายพันธุ์ต้นพริกไทยพุ่มได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น

**คำสำคัญ :** พริกไทยพุ่ม, แคลลัส, เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, คลอโรอ็อกซ์, สารควบคุมการเจริญเติบโต

### บทนำ :

พริกไทยพุ่ม (*Piper nigrum* L.) เป็นต้นพริกไทยที่เกิดจากการเสียบยอดต้นพริกไทยกับตอของต้นที่ตระกูลเดียวกัน เช่น ต้นโมลิบดิเนียม หรือต้นสะค้าน (ดวงจันทร์ เกรียงสุวรรณ, 2539) มีสรรพคุณมากมาย เช่น ช่วยกระเพาะอาหารหลั่งน้ำย่อยมากขึ้น ย่อยไขมัน และมีสรรพคุณทางยาช่วยขับลม แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ อาหารไม่ย่อย ขับเหงื่อ ขับปัสสาวะ (สมพร ภูதியานันต์, 2551) และที่สำคัญยังสามารถช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดแก่ผู้ป่วยโรคเบาหวาน (Chioma OO, 2014)

โดยปกติแล้วพริกไทยจะอาศัยการขยายพันธุ์โดยการปักชำโดยอาศัยลำต้นส่วน ซึ่งสามารถปลูกได้ในเขตร้อน โดยใช้ระยะเวลาการงอกของรากประมาณ 1 เดือน ใช้จำนวนข้อในการเพาะพันธุ์ที่มีความยาวประมาณ 5-7 ข้อแต่วิธีนี้จะได้พันธุ์พืชเพียง 50% เท่านั้นและการตอนกิ่งซึ่งสามารถตอนได้เฉพาะหน้าฝนเท่านั้น (ทวีศักดิ์ ชัยเรืองยศ, 2559) อีกทั้งต้นพริกไทยพุ่มยังเป็นพืชสวนพฤกษศาสตร์โรงเรียนในโครงการอนุรักษ์พันธุ์พืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ทางคณะผู้จัดทำจึงสนใจนำต้นพริกไทยพุ่มมาทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยใช้อาหารสูตร MS (Murashige and Shooog, 1962) ร่วมกับการใส่สารควบคุมการเจริญเติบโตไซโตไคนินและออกซิน โดยจะศึกษาความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตในอัตราส่วนต่างๆ เพื่อหาอัตราส่วนที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัส และจากที่ค้นคว้าเพิ่มเติมของ สิรินิกิตต์ (2559) พบว่าส่วนของเมล็ดที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ร่วมกับ BAP (6-Benzylaminopurine) 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2,4 D (2, 4-Dichlorophenoxy acetic acid) 4 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ แต่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสต่ำกว่า 20% จึงนำมาสู่การศึกษาในครั้งนี้ โดยพวกเราสนใจที่จะพัฒนาศึกษาต่อเพื่อที่จะทำให้ตัวอย่างที่นำมาทำการชักนำแคลลัสมีประสิทธิภาพมากขึ้นและมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมากกว่า 80% โดยพวกเราจะทำการชักนำแคลลัสจากบริเวณส่วนเมล็ดของต้นพริกไทยพุ่มและนำข้อมูลที่ได้ไปต่อยอดใช้ประโยชน์ต่อการผลิตต้นพริกไทยพุ่มจำนวนมากเพื่อนำไปใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตยารักษาและต้านทานโรคต่างๆ ต่อไป

#### วิธีการทดลอง :

##### 1. การเตรียมชิ้นส่วนพืชและการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอโรกซ์

1.1 เลือกเมล็ดของต้นพริกไทยพุ่มขนาดไม่เกิน 0.5 เซนติเมตร

1.2 นำไปล้างด้วยน้ำยาล้างจานแล้วซับให้แห้ง

1.3 นำเข้าตู้ปลอดเชื้อ

1.4 นำฟอกฆ่าเชื้อโดยแช่ในสารละลายคลอโรกซ์ความเข้มข้นต่างๆที่ผสมด้วย tween-20 2 หยด

และฟอกฆ่าเชื้อในเวลาต่างๆ โดยแบ่งทำเป็น 4 ชุดการทดลองแต่ละชุดทำ 4 ซ้ำดังตาราง

**ตารางที่ 1** ความเข้มข้นของสารละลายคลอโรกซ์กับเวลาการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเมล็ดของพริกไทยพุ่ม

ชุดการทดลองที่	ความเข้มข้น สารละลายคลอโรกซ์ (V \ V)	เวลาในการฟอก (นาที)	Tween-20 (หยด)
1	10%	10	2
2		15	
3	15%	10	
4		15	

1.5 ใช้ปากคีบคีบชิ้นส่วนพืช นำไปแช่ในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ทั้งหมด 3 น้ำและซับให้แห้ง

1.6 ผ่าเพื่อนำเมล็ดออกมาอย่างระวัง

1.7 วางชิ้นส่วนลงบนอาหารสูตร MS ธรรมดาขวดละ 2 ชิ้น

1.8 เขียนรายละเอียดความเข้มข้นและเวลาต่างๆ ติดไว้บนฝาขวดแต่ละขวดให้ชัดเจน

1.9 นำไปวางบนชั้นวางขวดเพาะเลี้ยง เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 23-27 องศาเซลเซียส และมีแสงสว่าง 16 ชั่วโมง / วัน

## 2. การย้ายไปเลี้ยงบนอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตสูตรต่างๆ

2.1 เลือกชิ้นส่วนที่เลี้ยงแล้ว 2 สัปดาห์ที่ไม่มีการเกิดเชื้อราหรือแบคทีเรียภายในขวดหรือบนชิ้นส่วนพืชโดยเลือกขนาดที่ใกล้เคียงกัน

2.2 นำชิ้นส่วนพืชที่เลือกย้ายไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับ BAP (0, 2 และ 4 mg. / l) และ 2, 4-D (0, 2 และ 4 mg. / l) รวมเป็น 9 ชุดการทดลอง ทำการทดลองชุดละ 4 ซ้ำ และแต่ละขวดเลี้ยง 2 ชิ้นส่วน

2.3 นำไปวางบนชั้นวางขวดเพาะเลี้ยง เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 23-27 องศาเซลเซียส และมีแสงสว่าง 16 ชั่วโมง / วัน

2.4 บันทึกการเปลี่ยนแปลงทุก 2 วัน

### ผลการทดลอง อภิปรายผล และสรุปผลการทดลอง :

#### 1.ศึกษาความเข้มข้นของคลอโรกซ์ที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสจากเมล็ดของต้นพริกไทยพุ่ม

จากการศึกษาเปอร์เซ็นต์การเกิด contaminate ในช่วงระยะเวลา 2 สัปดาห์ พบว่าความเข้มข้นของสารละลายคลอโรกซ์ที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสคือ 10% 10 นาที ดังตาราง

#### ตารางที่ 2 แสดงความเข้มข้นของคลอโรกซ์ที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัส

ความเข้มข้นคลอโรกซ์ / เวลา	%contaminate เฉลี่ย
10% / 10 นาที	3.17%
10% / 15 นาที	33.33%
15% / 10 นาที	29.36%
15% / 15 นาที	41.27%

### กิตติกรรมประกาศ :

โครงการนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการสนับสนุนการจัดตั้งห้องเรียนวิทยาศาสตร์ในโรงเรียน โดยการกำกับดูแลของมหาวิทยาลัย (โครงการ รวม.) สนับสนุนโดยกระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี และขอขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัยที่ได้ให้คำแนะนำและคอยดูแลระหว่างการทำงาน

## เอกสารอ้างอิง :

1. ดวงจันทร์ เกรียงสุวรรณ,บทความวิทยุรายการสาระความรู้ทางการเกษตรประจำวันจันทร์ที่ 3 พฤษภาคม 2547 เรื่อง พืชผักผลไม้ไทยมีคุณค่าเป็นทั้งอาหารและยาตอน "พริกไทย". 2547[เข้าถึงเมื่อ 2018 Mar 3].เข้าถึงได้จาก : [http://natres.psu.ac.th/radio/radio\\_article/radio46-47/46-470031.htm](http://natres.psu.ac.th/radio/radio_article/radio46-47/46-470031.htm)
2. สิริจันทร์กิตดี หุ่นทอง, Callus induction of black pepper, สงขลา, 2559
3. สมพร ภูติยานันต์. ข้อมูลพฤกษศาสตร์ พริกไทย. สมุนไพรแต่งสี กลิ่น รส. วิทยาศาสตร์เภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. สมุนไพรใกล้ตัว 2551; เล่มที่ 13
4. Chioma OO, Victor NO, and Emeka GA. Hypoglycemic Potentials of Ethanol Leaves Extract of Black Pepper (Piper Nigrum) on Alloxan-Induced Diabetic Rats, Annals of Biological Research, 2014; 5(6),p26.