ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การขยายพันธุ์พลูคาวในสภาพปลอดเชื้อ

ผู้เขียน นางสาวณัฏฐณิชา นายโรง

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศศิธร วงศ์เรือง

บทคัดย่อ

พลูคาวเป็นผักพื้นบ้านของไทย ที่มีการใช้ประโยชน์อย่างมากโดยเฉพาะในการรักษาอาการเจ็บป่วยของมนุษย์ มีการใช้รักษาและป้องกันโรคติดเชื้อ มะเร็ง และเนื้องอก พืชท้องถิ่นชนิดนี้จึงถือเป็นพืชที่มีศักยภาพสูงในการพัฒนาเป็นยารักษาโรค การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อขยายพันธุ์พลูคาวในสภาพปลอดเชื้อ ศึกษาสภาวะของการเพาะเลี้ยง และเปรียบเทียบสารสกัดระหว่างพลูคาวสดกับพลูคาวที่ได้จากการเพาะเลี้ยง ผลการหาสภาวะของการฟอกฆ่าเชื้อบริเวณผิวของชิ้นส่วนพลูคาวที่ได้จากใบ ลำต้นและราก ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Murashike and Skoog หรือ MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช พบว่า ชนิดของชิ้นส่วนของพลูคาวที่ใช้ ความเข้มข้นของสารละลายที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ และเวลาที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ และการเจริญของชิ้นส่วนพืช โดยพบว่าความเข้มข้นของเมอร์คิวริกคลอไรด์ที่ 0.1% เป็นเวลา 10 นาที มีประสิทธิภาพดีที่สุดสำหรับการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนลำต้น ผลจากการสังเกตการเจริญของชิ้นส่วนพืชหลังจากที่ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 วัน ยังพบว่า ชิ้นส่วนของลำต้น มีการเจริญสูงสุดโดยเฉลี่ย 82.96 % จากจำนวนชิ้นส่วนทั้งหมด ในขณะที่ชิ้นส่วนราก มีการเจริญสูงสุดโดยเฉลี่ย 73.33 % แต่ไม่พบการเจริญของชิ้นส่วนใบหลังการเพาะเลี้ยงในสภาวะของการทดลองนี้ การชักนำให้เกิดยอดรวมของพลูคาวในสภาพปลอดเชื้อเมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร ½MS และ MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มออกซิน (2,4-D) และไซโตไคนิน (BAP) พบว่า การเกิดยอดรวมสูงสุดที่อาหารสูตร MS เติม BAP 10 μM เพียงอย่างเดียว โดยค่าเฉลี่ยยอดรวมสูงสุด 19.40 ยอดต่อชิ้นส่วนลำต้นพลูคาว การเจริญของแคลลัสเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร ½MS และ MS ที่เติม 2,4-D และ BAP พบว่า การเจริญของแคลลัสดีที่สุดเมื่อเพาะในอาหารสูตร MS เติม BAP

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

10 μM และ 2,4-D 1 μM เมื่อนำยอดขนาด 2 เซนติเมตร ที่ได้จากการชักนำยอดมาชักนำให้เกิดรากด้วยอาหารสูตร MS ปรับลดความเข้มข้นและอาหาร สูตร MS เติม IBA 20 μM พบว่าการเจริญของรากที่ถูกชักนำด้วยอาหารสูตร MS เติม IBA 20 μM มีการเจริญของรากดีที่สุด รองลงมา ได้แก่ ½MS, MS และ ¼MS ตามลำดับ การตรวจสอบหาสารออกฤทธิ์เพื่อเปรียบเทียบพลูคาวสดและพลูคาวเพาะเลี้ยงด้วยการวิเคราะห์ GC-MS พบสารออกฤทธิ์ 3 ชนิด ในสารสกัดพลูคาวสดด้วยการกลั่น และพบสารออกฤทธิ์ 7 ชนิด ในสารสกัดหยาบ สำหรับพลูคาวเพาะเลี้ยง พบสารออกฤทธิ์ 3 ชนิด ในสารสกัดด้วยการกลั่นและในสารสกัดหยาบ พบสารออกฤทธิ์ 9 ชนิด พบสารออกฤทธิ์ที่เหมือนกัน 4 ชนิด คือ Caryophyllene, Pytol, Silicic acid และ 1,2-Benendicarboxylic acid ในสารสกัดจากพลูคาวสดและพลูคาวจากการเพาะเลี้ยง

คำสำคัญ : พลูคาว, สภาพปลอดเชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title *In vitro* Propagation of Plookao (*Houttuynia cordata* Thunb.)

Author Miss Nutthanicha Nairong

Degree Master of Science (Biotechnology)

Thesis Advisor Asst. Prof. Dr. Sasitorn Wongroung

ABSTRACT

Plookao is an ethnobotanic species of Thailand that has been used especially for human therapheutic. Major application includes reduction of inflections disease, cancer, and tumor. It is then belong to a group of high potential plants for drug development. The objective of this study is to propagate this indigenous plant *in vitro*. Culture condition will be monitored as well as comparison of some active ingredient between the fresh Plookao plants and *in vitro* culture plants. The result of surface sterilization using 3 types of explants including leaf, stem and root in Murashike and Skoog (MS) media, without plant growth regulator, showed that types of explants, concentration of disinfectant and time of sterilization affect percentage of contamination and regeneration. It was found that 0.1% mercuric chloride for 10 minutes was the best condition for stem explants sterilization. The result of explants regeneration after 15 days was also observed and it was found that average regeneration of 82.96 % and 73.33 % can be obtained from stem and rhizome, respectively. No regeneration was obtained from the leaf explants under this culture condition. Propagation of Plookao was studies in the ½MS and MS medium contain various plant growth regulators between 2,4-D and BAP. It was found that the highest number of shoot per explants was 19.40 shoot in the MS medium supplemented with

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

10 µM BAP alone. The shoot in MS medium present a normal and healthy form of stem and leaf compared to the one in ½MS. Green-Yellowish friable callus in the MS medium supplemented with 10 µM BAP and 1 µM 2,4-D is the highest growth and size compare with ½MS supplemented with BAP and 2,4-D in the same concentration. *In vitro* raised roots with three to four nodes were excised from the proliferating shoot cluster and placed on ¼MS, ½MS, MS and MS medium supplemented with indole-3-butyric acid (IBA) at 20 μM. IBA alone showed better root induction than ¼MS, ½MS, MS medium. Optimal root induction was observed on 20 µM IBA alone. The GC-MS analysis found 3 major components in fresh Plookao ditillation and 7 major component from fresh Plookao crude extract. *In vitro* Plookao distillation was composed of 3 major components and there were 9 major components found in *in vitro* Plookao crude. There are 4 major components extract found in both fresh and *in vitro* Plookao including Caryophyllene, Pytol, Silicic acid and 1,2-Benendicarboxylic acid.

Keyword : Plookao, *in vitro*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved