

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสกุล *Uvaria* บางชนิด

In Vitro Culture of Some Species in Genus *Uvaria*

โดย

นางสาววรรรัตน์ บุญสนองสุภา

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พฤกษศาสตร์)

พ.ศ. 2549

ISBN 974-16-1952-9

วรรณัน บุญสนองสุภา 2549: การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสกุล *Uvaria* บางชนิด ปริญญาวิทยาศาสตร
มหาบัณฑิต (พฤกษศาสตร์) สาขาพฤกษศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ ปรธานกรรมการที่ปรึกษา:
รองศาสตราจารย์มาลี ณ นคร, Ph.D. 109 หน้า
ISBN 974-16-1952-9

การขยายพันธุ์พืชสกุล *Uvaria* บางชนิด ได้แก่ กล้วยไอ้พอน กล้วยหมูสัง และพิพวนน้อยในสภาพปลอด
เชื้อ ได้นำชิ้นส่วนข้อของพืชทั้ง 3 ชนิดที่เก็บในฤดูต่าง ๆ มาฟอกฆ่าเชื้อ พบว่าในฤดูร้อน (เดือนมีนาคม-
พฤษภาคม) มีการปนเปื้อนต่ำสุด และรอดชีวิตสูงสุด เมื่อศึกษาผลของยาปฏิชีวนะ 4 ชนิดในการป้องกันการ
ปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่ภายในท่อลำเลียงของกล้วยไอ้พอน พบว่า rifampicin ลดการปนเปื้อนได้สูงสุด

การเพิ่มปริมาณยอดพบปัญหาการหลุดร่วงของใบ จึงทดสอบผลการเติมและไม่เติม AgNO_3 29.4 ไม
โครโมลาร์ ร่วมกับ BA 0-20 ไมโครโมลาร์ บนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายลงอาหารสูตร
basal-MS 4 สัปดาห์ พบว่า การเติม AgNO_3 สามารถลดการหลุดร่วงของใบได้ 80 และ 81.3 เปอร์เซ็นต์ ในกล้วย
ไอ้พอนและกล้วยหมูสัง ตามลำดับ ในกล้วยไอ้พอน พบว่าการเติมและไม่เติม AgNO_3 ไม่มีผลต่อค่าเฉลี่ยของ
จำนวนและความยาวยอด แต่ความเข้มข้นของ BA มีผล ที่ 10-15 ไมโครโมลาร์ มีค่าเฉลี่ยจำนวนยอดสูงสุด 2.1-
2.3 ยอด และที่ BA 0 ไมโครโมลาร์ ยอดใหม่มีค่าเฉลี่ยความยาวยอดสูงสุด 0.84 เซนติเมตร ในกล้วยหมูสัง
 AgNO_3 ไม่มีผลต่อจำนวนยอด แต่มีผลต่อค่าเฉลี่ยของความยาวยอดใหม่ ยอดที่ได้รับ AgNO_3 มีความยาวมากกว่า
ยอดที่ไม่ได้รับ AgNO_3 และที่ BA 15 ไมโครโมลาร์ มีค่าเฉลี่ยจำนวนยอดสูงสุด 4.2 ยอด และที่ BA 0 ไมโครโม
ลาร์ ความยาวยอดมีค่าเฉลี่ยสูงสุด 0.97 เซนติเมตร เนื่องจากยอดใหม่ของกล้วยไอ้พอนที่เพิ่มปริมาณได้จะ
ค่อนข้างสั้น จึงทดลองผลของ GA_3 ในการกระตุ้นให้ยอดยืดยาว โดยเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารที่เติม BA 10 ไม
โครโมลาร์ AgNO_3 29.4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ GA_3 0-5 ไมโครโมลาร์ นาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายลงอาหารสูตร
basal-MS 4 สัปดาห์ พบว่า GA_3 3 ไมโครโมลาร์ กระตุ้นให้ยอดใหม่ยืดยาวได้สูงสุด และยอดหลักมีจำนวนข้อ
มากที่สุด นอกจากนี้ได้ศึกษาผลของ TDZ ความเข้มข้น 0-20 ไมโครโมลาร์ ในการเพิ่มปริมาณยอดกล้วยไอ้พอน
พบว่าที่ 15 ไมโครโมลาร์ ชักนำให้ชิ้นส่วนข้อเกิดยอดได้สูงสุด 2.6 ยอด และความเข้มข้น 0, 10 ไมโครโมลาร์ ทำ
ให้ยอดมีความยาวสูงสุด 0.84 เซนติเมตร การชักนำให้ยอดของกล้วยไอ้พอนและกล้วยหมูสังเกิดรากในสภาพ
ปลอดเชื้อยังไม่ประสบผลสำเร็จ แต่การชักนำรากกล้วยไอ้พอนในสภาพธรรมชาติโดยจุ่มโคนลงในสารละลาย
IBA หรือ NAA ความเข้มข้น 2,500-10,000 ไมโครโมลาร์ นาน 1-2 นาที แล้วนำไปย้ายปลูก เมื่อครบ 35 วัน
พบว่า IBA 8,000 ไมโครโมลาร์ ชักนำให้เกิดรากได้ 20 เปอร์เซ็นต์

การเพาะเลี้ยงใบอ่อนของกล้วยไอ้พอนและพิพวนน้อยบนอาหารที่เติม NAA 0-2.5 ไมโครโมลาร์
ร่วมกับ BA 0-30 ไมโครโมลาร์ เพื่อชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐาน พบว่า ในกล้วยไอ้พอนเกิดแคลลัส
เพียงอย่างเดียว แต่ในพิพวนน้อยเกิดทั้งแคลลัส โครงสร้างรูปกลม (module) และโสมาคิกเอมบริโอระยะ globular

Worarat Boonsanongsupa 2006: *In Vitro* Culture of Some Species in Genus *Uvaria*. Master of Science (Botany), Major Field: Botany, Department of Botany. Thesis Advisor: Associate Professor Malee Nanakorn, Ph.D. 109 pages.
ISBN 974-16-1952-9

In vitro shoot multiplication of some *Uvaria* spp.; *U. lurida* Hook.f. & Thomson, *U. grandiflora* Roxb. ex Hornem. var. *grandiflora* and *U. rufa* Blume, were conducted. Nodal explants collected in three seasons were compared for surface sterilization. The explants collected in summer (March-May) gave the lowest percentage of contamination and the highest percentage of survival. Antibiotics were used for prevention of contamination from endophytic microorganisms. Among 4 antibiotics, rifampicin was most effective.

Leaf abscission was the main problem for *in vitro* culture of these three species. Therefore, the effects of AgNO₃ at 0 and 29.4 µM were determined in the combination with 0-20 µM BA in MS semi-solid medium on shoot growth for 4 weeks, followed with culturing on the same medium without BA for 4 weeks. The addition of AgNO₃ could effectively reduce leaf abscission at 80% in *U. lurida* and 81.3% in *U. grandiflora*. AgNO₃ had no effect on shoot multiplication (average shoot number and shoot length) of *U. lurida* while BA had some effects on both parameters. BA at 10-15 µM gave the highest average shoot number of 2.1-2.3 shoots and 0 µM gave the highest average shoot length of 0.84 cm. In *U. grandiflora*, AgNO₃ affected on new shoot length but not on shoot number. The addition of AgNO₃ gave a higher average shoot length than without AgNO₃, BA at 15 µM gave the highest average shoot number of 4.2 shoots while BA at 0 µM gave the highest average shoot length of 0.97 cm. In *U. rufa*, 10-15 µM BA gave the highest shoot number of 1.8-2.1 shoots and 0 µM BA gave the highest shoot length of 0.64 cm. In *U. lurida*, the new proliferated shoots were short, therefore, the effect of 0-5 µM GA₃ on shoot elongation was determined in combination with 10 µM BA and 29.4 µM AgNO₃. After 4 weeks, explants were transferred onto the basal MS medium for another 4 weeks. It was found that GA₃ can stimulate shoot elongation with the best result at 3 µM. The effects of TDZ on shoot multiplication were also studied. The nodal explants were cultured on MS medium added with 0-20 µM TDZ for 4 weeks and then transferred onto the basal MS medium for 4 weeks. TDZ at 15 µM gave the highest shoot number of 2.6 shoots while TDZ at 0 and 10 µM gave the highest shoot length of 0.84 cm. Rooting of new shoots was attempted both under *in vitro* and *in vivo* conditions. However, root induction in *U. lurida* and *U. grandiflora* under *in vitro* culture did not succeed. *In vivo*, the cut ends of the shoots were dipped in aqueous solution of IBA or NAA and implanted into growing media. Only shoots of *U. lurida* dipped in IBA at 8,000 µM could induce root of 20 %.

Young leaves of *U. lurida* and *U. rufa* were cultured on MS medium supplemented with 0-2.5 µM NAA in combination with 0-30 µM BA to induce morphological change. In *U. lurida* only the callus was found while in *U. rufa* the callus, nodule and globular somatic embryo were induced.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

____ / ____ / ____

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร. มาลี ณ นคร ประธานกรรมการที่ปรึกษา และ รศ.ดร. ลิลลี่ กาวิฑ์ กรรมการที่ปรึกษาวิชาเอกที่กรุณาถ่ายทอดวิชาความรู้ต่าง ๆ ให้ข้อคิด คำปรึกษา และคำแนะนำในด้านการเรียน การทำงานวิจัย และการทำวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์ ขอกราบขอบพระคุณ ผศ. จิตราพรรณ พิลึก กรรมการที่ปรึกษาวิชาการ และ ผศ. พิรุณ จอมพุก ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ และกรุณาตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร. สุริยา ตันติวิวัฒน์ และอาจารย์ภาควิชาพฤกษศาสตร์ทุกท่าน ที่ให้ความรู้ และให้ความกรุณาตลอดมา

ขอขอบพระคุณ คุณยุพดี เผ่าพันธุ์ นักวิจัยงานกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ฝ่ายเครื่องมือวิทยาศาสตร์กลาง สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการใช้บริการการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของฝ่ายเครื่องมือวิทยาศาสตร์กลาง อีกทั้งยังให้คำแนะนำและช่วยเหลือในการทำสไลด์ถาวรที่ใช้ในการศึกษาค้นคว้า และขอขอบคุณ คุณกมลรินทร์ พรหมรัตน์รักษ์ ที่ให้คำปรึกษา และความช่วยเหลือในการเตรียมตัวอย่างสำหรับการศึกษาดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

ขอขอบคุณ คุณวินิจ พลศักดิ์ ที่คอยรับฟังปัญหา ให้คำปรึกษา ให้ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจที่ดีตลอดมา ขอขอบคุณ คุณชูชัย เนตรฐกุล รวมถึงพี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ทุกคนที่คอยช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อบุญยะ และคุณแม่อุบลรัตน์ บุญสนองสุภา ที่ให้ความรัก ความเข้าใจ ให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจที่ดีที่สุด

วรรธน์ บุญสนองสุภา

พฤษภาคม 2549