

ชื่อโครงการวิจัย (ภาษาไทย) การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญเป็นแคลลัสและต้นใหม่  
ของโกฟ้าพญาลอ

(ภาษาอังกฤษ) Study on factor for callus induction and plant  
regeneration of *Aristolochia ringens* Vahl

แหล่งเงิน ทุนอุดหนุนการวิจัย ประเภท เงินอุดหนุนทั่วไป (เงินรายได้)  
ประจำปีงบประมาณ 2558 จำนวนเงิน 50,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2557 ถึง 30 กันยายน 2558

ชื่อ-สกุล หัวหน้าโครงการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม สัดส่วนที่ทำงานวิจัย 100 %  
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้า  
คุณทหารลาดกระบัง

### บทคัดย่อ

ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากชิ้นส่วนใบของโกฟ้าพญาลอ (*Aristolochia ringens* Vahl) บนสูตรอาหารแข็ง MS (Murashige and Skoog 1962) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟตาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร ในสภาพที่ไม่มีแสง เป็นระยะเวลาเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าที่สารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ทุกความเข้มข้น สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสของโกฟ้าพญาลอได้ การชักนำแคลลัสของโกฟ้าพญาลอให้เป็นต้นใหม่บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ทุกความเข้มข้นสามารถเจริญเป็นต้นใหม่ได้ ในระยะเวลา 90 วัน

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากส่วนข้อของโกฟ้าพญาลอ ในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5, 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟตาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลาเวลา 60 วัน พบว่าในอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุด ในการชักนำให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด จากนั้นนำต้นมาชักนำให้เกิดราก ในอาหารแข็ง สูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA (Indole-3-butyric acid) ความเข้มข้น 0.5, 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟตาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร ในสภาพที่มีแสง เป็นระยะเวลาเวลา 60 วัน พบว่าในอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุด ในการชักนำให้เกิดจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด และย้ายต้นที่สมบูรณ์นำออกปลูกในสภาพธรรมชาติได้สำเร็จ

คำสำคัญ: *Aristolochia* การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แคลลัส การเจริญเป็นต้นใหม่

### ABSTRACT

Tissue culture of *Aristolochia ringens* Vahl. leaves cultured on MS medium (Murashige and Skoog 1962) supplemented with different concentration of 0.5, 1, 3 and 5 mg/l 2, 4-D and 30 g/l sucrose and 2.6 g/l phytigel, in the dark conditions for

6 weeks was investigated. Results show the calli were growth in all media. Calli were regenerated in all media of BA concentration for 90 days.

Node culture of *Aristolochia ringens* Vahl was performed on solid MS medium treated with different concentrations of 0.5, 1, 3 and 5 mg/L BA (6-benzylaminopurine) 30 g/L sucrose and 2.6 g/L phytigel for 60 days. Results showed that the MS with 1 mg/L BA was the best to induce average multiple shoots. Root generation, was monitored on MS medium supplemented with 0.5, 1, 3 and 5 mg/L BA (Indole-3-butyric acid) in the light condition for 60 days. Results showed that 3 mg/L BA induced the greatest number of roots. The plantlet were transferred in the pot.

**Keywords:** *Aristolochia*, tissue culture. callus, regeneration

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่สนับสนุนทุนวิจัยในส่วนของเงินงบประมาณเงินรายได้ ประจำปี 2558 ประเภท ส่งเสริมนักวิจัย และภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ และอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือต่างๆ ในการวิจัย

และขอขอบคุณ คุณทัศนารถ กระจ่างวุฒิ ที่ได้อนุเคราะห์สายพันธุ์ไก่อฟ้าพญาลอ (*Aristolochia* sp.) จากแปลงทดลองส่วนพระองค์ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาสยามบรมราชกุมารี ณ พระตำหนักสวนปทุม จังหวัดปทุมธานี

ขอบคุณเพื่อนๆ พี่ น้องๆ รวมทั้งลูกศิษย์ทุกคนที่มีร่วมในการวิจัย ครอบครัวที่กำลังใจ และ  
ทุกท่านที่มีส่วนเกี่ยวข้องทำให้งานวิจัยนี้เสร็จสมบูรณ์ จึงขอขอบคุณมา ณ ที่นี้

ผศ.ดร. อนุรักษ์ โปธิเยี่ยม



|         |   |    |
|---------|---|----|
| 2.2.7   | เทคนิคการพอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อเยื่อพืช                               | 17 |
| 2.2.8   | สารเคมีที่ใช้ในการพอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์จากส่วนของเนื้อเยื่อพืชมีดังต่อไปนี้ | 18 |
| 2.3     | งานวิจัยที่เกี่ยวข้องของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช                          | 19 |
| บทที่ 3 | อุปกรณ์และวิธีการทดลอง  | 23 |
| 3.1     | อุปกรณ์และสารเคมี   | 23 |
| 3.2     | วิธีการดำเนินการทดลอง   | 24 |
| 3.2.1   | ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบ               | 24 |
| 3.2.2   | ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสให้เกิดยอด                         | 24 |
| 3.2.3   | ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำข้อให้เกิดยอด                            | 25 |
| บทที่ 4 | ผลและอภิปรายผลการทดลอง  | 26 |
| 4.1     | ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบ               | 26 |
| 4.2     | ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสให้เกิดยอด                         | 27 |
| 4.3     | ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำข้อให้เกิดยอด                            | 28 |
| 4.4     | ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเร่งการชักนำต้นให้เจริญเป็นราก                | 30 |
| 4.5     | การย้ายออกปลูกการนำออกปลูกสู่ธรรมชาติ                                       | 31 |
| บทที่ 5 | สรุปผลการทดลอง  | 33 |
| บทที่ 6 | สรุปผลผลิตงานวิจัย  | 34 |
|         | เอกสารอ้างอิงของโครงการวิจัย  | 35 |
|         | ภาคผนวก ก   | 39 |
|         | ข้อมูลประวัติผู้วิจัย   | 40 |

|                 | สารบัญญัตินี้   | หน้า |
|-----------------|---|------|
| <b>ตารางที่</b> |   |      |
| 4.1.            | การเจริญของยอดจากส่วนข้อต้นโกโก้พญาลในสูตรอาหาร MS ที่ประกอบด้วย BA ความเข้มข้น 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 30 และ 60 วัน   | 28   |
| 4.2             | การเจริญของรากจากส่วนต้นต้นโกโก้พญาล ในสูตรอาหาร MS ที่ประกอบด้วย IBA ความเข้มข้น 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 30 และ 60 วัน | 31   |
| ตารางที่ ก-1    | สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของ Murashige and Skoog (1962)   | 39   |

## สารบัญภาพ

| ภาพที่  | หน้า |
|---|------|
| 2.1 ลักษณะส่วนต่างๆของต้นไถ่ฟ้าพญาลอ  | 4    |
| 2.2 ลักษณะส่วนต่างๆของต้นไถ่ฟ้าพญาลอ <i>Aristolochia ringens</i> Vahl                           | 5    |
| 2.3 ลักษณะส่วนต่างๆของต้นไถ่ฟ้าพญาลอ <i>ristolochia fimbriata</i>                               | 6    |
| 2.4 ลักษณะส่วนต่างๆของต้นไถ่ฟ้าพญาลอ <i>Aristolochia indica</i>                                 | 7    |
| 2.5 ลักษณะส่วนต่างๆของต้นไถ่ฟ้าพญาลอ <i>Aristolochia</i> sp                                     | 8    |
| 4.1 ขั้นตอนการพอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบของต้นไถ่ฟ้าพญาลอ  | 26   |
| 4.2 การเจริญของใบในสูตรอาหาร MS ที่ประกอบด้วย 2,4- D ความเข้มข้น 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร | 26   |
| 4.3 การเจริญของข้อในสูตรอาหาร MS ที่ประกอบด้วย BA ความเข้มข้นต่างๆ                              | 27   |
| 4.4 การพอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนของต้นไถ่ฟ้าพญาลอ   | 28   |
| 4.5 การเจริญของยอดจากส่วนข้อต้นไถ่ฟ้าพญาลอ ในสูตรอาหาร MS ที่ประกอบด้วย BA                      |      |

|   |    |
|---|----|
| ความเข้มข้น 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 30 และ 60 วัน   | 29 |
| 4.6 การเจริญของข้อต้นไก่อไฟฟาญาลอในสูตรอาหาร MS ที่ประกอบด้วย BA ความเข้มข้น 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 30   | 29 |
| 4.7 การเจริญของยอดจากส่วนข้อต้นไก่อไฟฟาญาลอ ในสูตรอาหาร MS ที่ประกอบด้วย BA ความเข้มข้น 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 30 และ 60 วัน 30 วัน (ก, ข) และ 60 วัน (ค, ง) | 30 |
| 4.8 การเจริญของยอดจากส่วนข้อต้นไก่อไฟฟาญาลอ ในสูตรอาหาร MS ที่ประกอบด้วย IBA ความเข้มข้น 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 30 และ 60 วัน                                | 31 |
| 4.9 สามารถชักนำให้เกิดราก (ก-จ) และสามารถชักนำให้เป็นต้นที่มีรากที่สมบูรณ์ (ฉ-ช)  | 32 |