ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การขยายพันธุ์ต้นหนอนตายหยาก (Stemona sp.) ในสภาพปลอดเชื้อ

ผู้เขียน

นายกิตติศักดิ์ โชติกเคชาณรงค์

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ อ. คร. ศรีสุลักษณ์ ธีรานุพัฒนา

## บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเชื่อปลายออด ข้อ และตาที่อยู่เหนือกระจุกราก ของต้นหนอนตายหยาก (Stemona sp.) บนอาหารวุ้นสูตร MS (1962) ที่เดิม BA กวามเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มก/ก พบว่า ปลายอด และตาที่อยู่เหนือกระจุกราก ที่เกี้ยงบนอาหาร MS เติม BA 2 มก/ก เป็นเวลา 3 เดือน สามารถชักนำให้เกิด multiple shoot (70%) ราก (20%) และแคลลัส (71.25%) ได้มากที่สุด โดยแคล ลัสของชิ้นส่วนปลายยอดเกิดจากการแบ่งตัวของเซลล์พาเรนไดมาในชั้น cortex จากการย้ายแคลลัส ที่ได้จากการเลี้ยงตาที่อยู่เหนือกระจุกรากบนอาหารวุ้น MS ที่เติม BA กวามเข้มข้น 2 มก/ก เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ไปเลี้ยงบนอาหารวุ้น MS ที่เติม BA หรือ 2,4-D หรือ NAA ความเข้มข้นอย่างละ 0, 0.25, 0.50 และ 1.00 มก/ก เป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่าอาหารที่มี BA ความเข้มข้น 0.50 มก/ก เพิ่มขนาดของ แคลลัส ได้มากที่สุด และเมื่อนำแคลลัส ไปเลี้ยงบนอาหารวุ้นหรืออาหารเหลว MS ที่เติม NAA ความ เข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มก/ล เป็นเวลา 1 เดือน ให้จำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 12.15 และ 14.00 ราก/ชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ และเมื่อย้ายปลูกต้น หนอนตายหยากที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในวัสดุปลูกคือ ขี้เถ้นเถลบ: ขุยมะพร้าว: ทรายหยาบ อัตราส่วน 1:1:1 พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเท่ากับ 100%

การสกัคสารทุติยภูมิจากขึ้นเนื้อเยื่อต่างๆ 8 ส่วน คือ ยอค และรากจากธรรมชาติ และจาก การเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นและอาหารเหลว MS และแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นและ อาหารเหลว MS ด้วย dichloromethane และแยกสารโคยวิธี TLC ซึ่งใช้ toluene : ethyl acetate อัตราส่วน 80 : 20 v/v เป็น mobile phase พบว่า ชิ้นเนื้อเยื่อทั้ง 8 ส่วนมีค่า R, ที่เหมือนกัน 6 แถบ และสารสกัดที่ได้จากขอดในธรรมชาติให้จำนวนแถบสูงสุดคือ 11 แถบ



## ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Copyright<sup>©</sup> by Chiang Mai University All rights reserved

Thesis Title

Micropropagation of Stemona sp.

Author

Mr. Kittisak Chotikadachanarong

Degree

Master of Science (Biology)

Thesis Advisor

Lect. Dr. Srisulak Dheeranupattana

## ABSTRACT

Terminal buds, axillary buds, and buds adjacent to tuberous roots of *Stemona* sp. were cultured on Murashige and Skoog (MS) media (1962) supplemented with 0, 1, 2, and 3 mg/l N<sup>6</sup>-Benzyladenine (BA). The MS medium supplemented with 2 mg/l BA for 3 month could induce the terminal buds and the buds adjacent to tuberous roots to produce the highest percentage of callus (71.25%), multiple shoots (70%), and roots (20%). The investigation revealed that the callus of terminal buds was the result of the division of parenchyma cell in cortex layer. The callus from the buds adjacent to tuberous roots cultured on the medium with 2 mg/l BA for 4 weeks was subcultured on MS media supplemented with 0, 0.25, 0.50 and 1.0 mg/l BA or 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) or  $\infty$ -Naphthalene Acetic Acid (NAA) for 5 weeks. It was showed that the medium with 0.50 mg/l BA could promote the highest callus growth. The callus was then cultured in liquid or on semi-solid MS media supplemented with 0, 1, 2, and 3 mg/l

NAA. It was found that the callus on the semi-solid MS media with 2 or 3 mg/l NAA for 1 month induced the highest root production at 12.15 and 14 root / explant, respectively. The survival percentage of *in vitro* plantlets was 100% after transferring into media with 1:1:1 of charred rich hull: coir dust: sand.

Secondary compounds were extracted from 8 different tissues (naturally-grown buds and roots, buds and roots propagated on the solid and liquid MS media, and callus cultured on the solid and liquid MS media) of *Stemona* sp. using dichloromethane. The extracts were separated by TLC using toluene: ethyl acetate (80:20 v/v) as the mobile phase. It was found that the 8 tissues gave 6 similar bands with the same R<sub>f</sub> value. The extract from the naturally-grown buds gave the highest number of bands at 11.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Copyright<sup>©</sup> by Chiang Mai University All rights reserved