

Thesis Title Tissue culture of *Basella rubra* L. for
anthocyanin production

Author Miss Tanikan Pumchaosuan

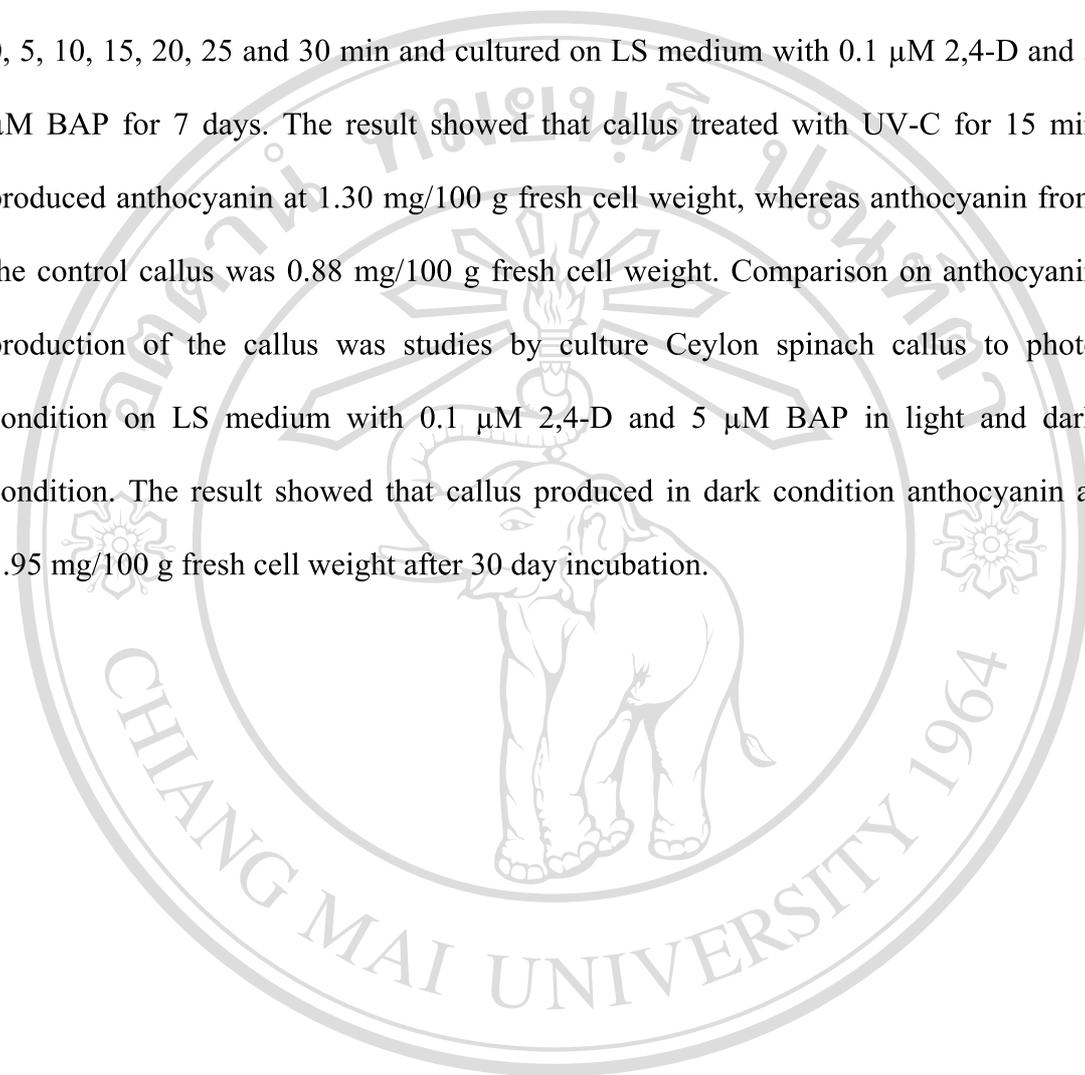
Degree Master of Science (Biotechnology)

Thesis Advisor Asst. Prof. Dr. Sasitorn Wongroung

ABSTRACT

In vitro from stem and leaf of Ceylon spinach (*Basella rubra* L.) was studied for optimal sterilization and growth concentration of growth regulator. The result found that sterilization by 7 % (v/v) Clorox for 10 min and placed on Murashige and Skoog (MS) medium containing 0.1 μM 2,4-D and 5 μM BAP gave a result of 100 % callus production from the stem type explant. The callus was used to study effect of salt and a combination of BAP and Kinetin for shoot production. The result showed that shoot formation of Ceylon spinach on $\frac{1}{2}$ MS media with 5 μM 2,4-D and 5 μM BAP was better than shoot formation of callus on full strength MS media containing the same concentration of plant growth regulator. Effect of sucrose concentration on cell culture of Ceylon spinach was investigated and it was found that the highest

growth rate at $0.11 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ can be obtained in 3 % sucrose. Anthocyanin production of the callus was induced by expose Ceylon spinach callus to UV-C illumination for 0, 5, 10, 15, 20, 25 and 30 min and cultured on LS medium with $0.1 \mu\text{M}$ 2,4-D and $5 \mu\text{M}$ BAP for 7 days. The result showed that callus treated with UV-C for 15 min produced anthocyanin at $1.30 \text{ mg}/100 \text{ g}$ fresh cell weight, whereas anthocyanin from the control callus was $0.88 \text{ mg}/100 \text{ g}$ fresh cell weight. Comparison on anthocyanin production of the callus was studies by culture Ceylon spinach callus to photo condition on LS medium with $0.1 \mu\text{M}$ 2,4-D and $5 \mu\text{M}$ BAP in light and dark condition. The result showed that callus produced in dark condition anthocyanin at $3.95 \text{ mg}/100 \text{ g}$ fresh cell weight after 30 day incubation.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของผักปลังเพื่อผลิตแอนโทไซยานิน

ผู้เขียน

นางสาว ธนิกานต์ พุ่มชาวสวน

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศศิธร วงศ์เรือง

บทคัดย่อ

ศึกษาการขยายพันธุ์ผักปลัง (*Basella rubra* L.) จากลำต้นและใบ โดยหาสภาวะที่เหมาะสมในการฆ่าเชื้อและระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญ ผลการทดลองพบว่า การฟอกฆ่าเชื้อด้วย คลอโรกซ์เข้มข้น 7 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาณ/ปริมาณ) เป็นเวลา 10 นาที แล้ววางบนอาหาร MS ที่มี 2,4-D 0.1 ไมโครโมล ร่วมกับ BAP 5 ไมโครโมล เกิดแคลลัสจากลำต้นสูงสุดถึง 100 เปอร์เซ็นต์ นำแคลลัสที่ได้มาศึกษาผลของเกลือและสัดส่วนของสารควบคุมการเจริญ 2 ชนิด ได้แก่ BAP และ Kinetin เพื่อชักนำให้เกิดยอด พบว่าแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร 1/2 MS ที่มี 2,4-D 5 ไมโครโมล ร่วมกับ BAP 5 ไมโครโมล มีแคลลัส มีการพัฒนาเป็นยอดได้ดีกว่าแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญชนิดเดียวกัน การศึกษาผลของความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสต่อการเพาะเลี้ยงแคลลัสในอาหารเหลวพบว่า อัตราการเจริญสูงสุด คือ 0.11 กรัมต่อลิตรต่อวัน ในอาหารที่มีซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ การตรวจสอบการผลิตแอนโทไซยานินในแคลลัสที่ได้จากลำต้นผักปลังหลังได้รับรังสีแกมมาเป็นเวลา 0, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 นาที แล้วเพาะเลี้ยงในอาหาร LS ที่มี 2,4-D 0.1 ไมโครโมล ร่วมกับ BAP 5 ไมโครโมล เป็นเวลา 7 วัน พบว่าแคลลัสที่ได้รับรังสีแกมมา เป็นเวลา 15 นาที สามารถผลิตแอนโทไซยานิน ได้สูงสุด 1.30 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด ในขณะที่ แคลลัสที่เลี้ยงในสภาวะควบคุมผลิตแอนโทไซยานิน 0.88 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด การเปรียบเทียบการผลิตแอนโทไซยานินในแคลลัสเพาะเลี้ยงในอาหาร LS ที่มี 2,4-D 0.1 ไมโครโมล ร่วมกับ BAP 5 ไมโครโมล ในสภาวะที่มีมืดและสว่าง เพาะเลี้ยงในที่มืด ผลิตแอนโทไซยานินได้ 3.95 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน