

การขยายพันธุ์โดยวิธีในหลอดทดลองของพืชสมุนไพร  
วงศ์ขิงที่หายาก

นางสาว ณัฐฉิณี ผ่องศิริ  
นางสาว สุภารัตน์ สุวัชรังกูร

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต  
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล  
พ.ศ. 2544

## โครงการพิเศษ

เรื่อง การขยายพันธุ์โดยวิธีในหลอดทดลองของพืชสมุนไพรวงศ์ขิงที่หายาก

.....

นางสาวณัฐจิณี ผ่องศิริ

.....

นางสาวสุภาวรัตน์ สุวัชรังกูร

.....

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สมภพ ประธานธุราธิ์  
(อาจารย์ที่ปรึกษา)

*IN VITRO* PROPAGATION OF RARE  
ZINGIBERACEOUS PLANTS

MISS NUTTINEE PONGSIRI  
MISS SUPARAT SUWACHARANGOON

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULLFILMENT  
OF THE REQUIREMENT FOR  
THE BACHELOR DEGREE OF SCIENCE IN PHARMACY  
FACULTY OF PHARMACY  
MAHIDOL UNIVERSITY

2001

## บทคัดย่อ

### การขยายพันธุ์ในหลอดทดลองของพืชสมุนไพรวงศ์ขิงที่หายาก

ณัฐริณี ผ่องศิริ, สุภารัตน์ สุวัชรังกูร

อาจารย์ที่ปรึกษา: สมภพ ประธานธรรักษ์

ภาควิชาเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

คำสำคัญ: การขยายพันธุ์ในหลอดทดลอง, ปุดงาช้าง, กระจายดำ

การขยายพันธุ์ในหลอดทดลอง (*In vitro* propagation) เป็นการขยายพันธุ์ที่จะได้กล้าพันธุ์ที่มีความสม่ำเสมอ เทคนิคนี้สามารถผลิตกล้าพันธุ์จำนวนมาก นอกจากนี้ยังสามารถนำมาประยุกต์ในการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชได้อีก พืชวงศ์ขิงในประเทศไทยมีประมาณ 200 ชนิดมีหลายชนิดที่ใช้เป็นเครื่องเทศและสมุนไพร บางชนิดหายากและยังไม่ได้พิสูจน์ชื่อวิทยาศาสตร์ วัตถุประสงค์ของโครงการนี้เพื่อพัฒนาวิธีการขยายพันธุ์ในหลอดทดลองของพืช 2 ชนิดคือ ปุดงาช้าง (*Zingiber cf. petiolatum*) พืชหายากจากจังหวัดปัตตานี และกระจายดำ (*Kaempferia parviflora*) สมุนไพรที่ใช้เป็นยาบำรุง

ในการทดลองที่ 1 ใช้ตายอดของปุดงาช้างในสภาพปลอดเชื้อเป็นเนื้อเยื่อสำหรับเริ่มเพาะเลี้ยงโดยเพาะเลี้ยงบนอาหารพื้นฐานสูตร Murashige and Skoog medium (MS) ที่มี 6-benzylaminopurine (BA; 0.5–8 mg/L) อย่างเดียวหรือร่วมกับ 1-naphthaleneacetic acid (NAA; 0.5 mg/L) หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์พบว่าสูตรอาหาร MS ที่มี BA (0.5 mg/L) และ NAA (0.5 mg/L) สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดยอดใหม่ได้มากที่สุดคือ  $4.30 \pm 0.50$  ยอดต่อชิ้นพืชที่มีการตอบสนอง ต่อมาทำการย้ายชิ้นพืชลงอาหารพื้นฐานสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 4 สัปดาห์พบว่าชิ้นพืชที่ย้ายมาจากสูตรอาหาร MS ที่มี BA (4 mg/L) สร้างยอดใหม่ได้มากที่สุดคือ  $6.75 \pm 1.51$  ยอดต่อชิ้นพืชที่มีการตอบสนอง ยอดใหม่ที่กระตุ้นได้สามารถสร้างรากได้เองในอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและสามารถย้ายออกปลูกในเรือนกระจกได้

ในการทดลองที่ 2 ทำการฟอกฆ่าเชื้อส่วนตายอดของกระจายดำด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 1.5% เป็นเวลา 20 นาที และ 0.75% เป็นเวลา 10 นาที หลังการเพาะเลี้ยงในอาหารพื้นฐานสูตร MS เป็นเวลา 3 สัปดาห์ไม่พบการปนเปื้อนของแบคทีเรียและรา การตอบสนองต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดยอดใหม่ของตายอดที่มีขนาดใหญ่สูงกว่าตายอดที่มีขนาดเล็ก อย่างไรก็ตามสามารถเลี้ยงตายอดกระจายดำได้ในสภาพปลอดเชื้อเพื่อใช้เป็นกล้าพันธุ์สำหรับการทดลองต่อไป

## Abstract

### *In vitro* propagation of rare Zingiberaceous plants

Nuttinee Pongsiri, Suparat Suwacharangoon

**Project advisor:** Sompop Prathanturarug

Department of Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

**Keyword:** *in vitro* propagation, *Zingiber cf. petiolatum*, *Kaempferia parviflora*

*In vitro* propagation is a true-to-type multiplication technique which provides uniform plants with genetic identity. This technique can be used for a large-scale production of plant material and also for plant conservation. In Thailand, Zingiberaceae comprises about 200 species; some are used as spice and medicine. Many species are rare and unidentified. The objective of this study was to develop *in vitro* propagation protocols for *Zingiber cf. petiolatum* Theilade, a rare species from Pattani province, and *Kaempferia parviflora* Wall. ex Bak., a popular medicinal plant for tonic. In the first experiment, *in vitro* terminal bud explants of *Zingiber cf. petiolatum* were inoculated on Murashige and Skoog medium (MS) containing 6-benzylaminopurine (BA; 0.5–8 mg/L) alone or in combination with 1-naphthaleneacetic acid (NAA; 0.5 mg/L). Eight weeks after inoculation, the highest shoot multiplication rate of  $4.30 \pm 0.50$  shoots/response explant was achieved in MS medium with 0.5 mg/L BA and 0.5 mg/L NAA. Afterwards, the cultures were transferred to MS medium without plant growth regulator for four weeks. The cultures transferred from MS medium with 4 mg/L revealed the highest shoot induction rate of  $6.75 \pm 1.51$  shoots/response explant. Rooting was spontaneous achieved in MS medium without growth regulator. Rooted plants were successfully transplanted to soil.

In the second experiment, terminal buds of *Kaempferia parviflora* were surface sterilized with sodium hypochlorite at concentrations of 1.5% for 20 minutes and 0.75% for 10 minutes. Three weeks after inoculation on MS medium, no bacterial and fungal contamination was detected. The regeneration potential was higher in larger terminal buds than smaller ones. However, aseptic cultures of *Kaempferia parviflora* were obtained for further experiments.