การขยายพันธุ์ตูบหมูบหูควายโดยวิธีในหลอดทดลอง

นางสาว พรพิมล ฮวดสุวรรณ์
นางสาว อิศวรา เกียรติสี่สกุล

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
พ.ศ. 2546

IN VITRO PROPAGATION OF

Gagnepainia thoreliana (Baill.) K. Schum.

MISS PORNPIMOL HUADSUWAN

MISS ISSAWARA KIATSEESAKUL

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT OF

THE REQUIREMENT FOR

THE BACHELOR DEGREE OF SCIENCE IN PHARMACY

FACULTY OF PHARMACY

MAHIDOL UNIVERSITY

โครงการพิเศษ

เรื่อง การขยายพันธุตูบหมูบหูควายโดยวิธีในหลอดทดลอง

.....

นางสาว พรพิมล ฮวดสุวรรณ์

.....

นางสาว อิศวรา เกียรติสี่สกุล

....•.....•.....

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สมภพ ประธานธุรารักษ์

(อาจารย์ที่ปรึกษา)

.....••

รองศาสตราจารย์ วงศ์สถิตย์ ฉั่วกุล

(อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม)

บทคัดย่อ
การขยายพันธุ์ตูบหมูบหูควายโดยวิธีในหลอดทดลอง

พรพิมล ฮวดสุวรรณ์, อิศวรา เกียรติสี่สกุล
อาจารย์ที่ปรึกษา: สมภพ ประธานธุรารักษ์, วงศ์สถิตย์ ฉั่วกุล
ภาควิชาเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
คำสำคัญ: การขยายพันธุ์ในหลอดทดลอง, ตูบหมูบหูควาย, พืชสมุนไพร

ตูบหมูบหูควายเป็นสมุนไพรที่หายากชนิดหนึ่ง ตำรายาพื้นบ้านใช้พืชทั้งต้นเป็นยาห้ามเลือดสำหรับแผลสด โครงการนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อกำหนดวิธีการขยายพันธุ์ตูบหมูบหูควายโดยวิธีในหลอดทดลอง เพื่อใช้ขยายพันธุ์ให้ได้กล้าพันธุ์จำนวนมากสำหรับการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช และใช้ในการศึกษาทางพฤกษเคมีและเภสัชวิทยาต่อไป

การทดลองเริ่มต้นด้วยการฟอกฆ่าเชื้อส่วนตายอดของตูบหมูบหูควายด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้น 1.50 % เป็นเวลา 20 นาที และความเข้มข้น 0.75% เป็นเวลา 10 นาที ที่เวลา 2 สัปดาห์พบว่าอัตราการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย 37.14-55.26% จากนั้นนำตายอดในสภาพปลอดเชื้อไปเพาะเลี้ยงบนอาหารพื้นฐาน Murashige and Skoog medium (MS) ที่มี 6-benzylaminopurine (BA; 1-8 มิลลิกรัม/ลิตร) และ Thidiazuron (TDZ; 1-8 มิลลิกรัม/ลิตร) หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์พบว่าสูตรอาหาร MS ที่มี BA (2 มิลลิกรัม/ลิตร) สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดยอดใหม่ได้มากที่สุดคือ 3.14 ± 0.20 ยอดต่อชิ้นพืชที่มีการตอบสนอง ต่อมาทำการย้ายชิ้นพืชลงสูตรอาหาร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าชิ้นพืชที่ย้ายมาจากสูตรอาหาร MS ที่มี BA (2 มิลลิกรัม/ลิตร) และ TDZ (4 มิลลิกรัม/ลิตร) สร้างยอดใหม่ได้มากที่สุดคือ 6.43 ± 0.72 และ 6.83 ± 0.82 ยอดต่อชิ้นพืชที่มีการตอบสนอง ตามลำดับ สำหรับชิ้นพืชจากสูตรอาหาร MS ที่มี TDZ สังเกตเห็นกลุ่มของตายอดจำนวนมากจึงย้ายเลี้ยงต่อในสูตรอาหาร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต หลังการเพาะเลี้ยง 14 สัปดาห์ในสูตรอาหาร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่าชิ้นพืชที่ย้ายมาจากสูตรอาหาร MS ที่ มี TDZ (4 มิลลิกรัม/ลิตร) สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดยอดได้ 49.67 ± 5.81 ยอดต่อชิ้นพืชที่มีการตอบสนองยอดใหม่ที่กระตุ้นได้สามารถสร้างรากได้เองในสูตรอาหาร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต

Abstract

In vitro propagation of *Gagnepainia thoreliana* (Baill.) K. Schum.

Pornpimol Huadsuwan, Issawara Kiatseesakul

Project advisor: Sompop Prathanturarug, Wongsatit Chuakul

Department of Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

Keyword: *in vitro* propagation, *Gagnepainia thoreliana*, medicinal plant

Gagnepainia thoreliana (Baill.) K. Schum. is a rare Thai medicinal plant, used as haemostatic for wounds. The objective of this study was to develop *in vitro* propagation protocol for *Gagnepainia thoreliana* (Baill.) K. Schum. The regenerants can be used for plant conservation and further phytochemical and pharmacological studies.

Terminal buds of the plant were surface sterilized with Sodium hypochlorite at the concentration of 1.50% for 30 min, then 0.75% for 10 min. After 2 weeks of culture, bacterial contamination rates were 37.14-55.26%. The sterile terminal bud explants were inoculated on Murashige and Skoog medium (MS) containing 6-benzylaminopurine (BA; 1–8 mg/L) or thidiazuron (TDZ; 1–8 mg/L). Four weeks after inoculation, the highest shoot multiplication rate of 3.14±0.20 shoots/response explant was achieved in MS medium with 2 mg/L BA. The cultures were subsequently transferred to MS medium without plant growth regulator and cultured for 6 weeks. The cultures transferred from MS medium with 2 mg/L BA and 4 mg/L TDZ revealed the maximum shoot induction rates of 6.43±0.72 and 6.83±0.82 shoots/response explant, respectively. Some clusters of buds were observed in the cultures from TDZ treatments, therefore, they were cultured in MS medium without plant growth regulator for further observation. After 14 weeks of culture in MS medium without plant growth regulator, the shoot induction rate of the cultures transferred from MS medium with 4 mg/L TDZ increased dramatically to 49.67±5.81 shoots/response explant. Rooting was spontaneous achieved in MS medium without growth regulator.