# การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทุเรียนเทศ

นายธนภูมิ เลิศฤทธิพานิช
นางสาวสุภลักษณ์ ขอประเสริฐ

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
พ.ศ. 2559

# Plant tissue cultures of *Annona muricata* L.

MR. THANAPOOM LERTRITIPANICH

MISS SUPALAK KHORPRASERT

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT

OF THE REQUIREMENTS FOR

THE DEGREE OF DOCTOR OF PHARMACY

FACULTY OF PHARMACY

MAHIDOL UNIVERSITY

2016

**โครงการพิเศษ**

**เรื่อง การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทุเรียนเทศ**

.....

(นายธนภูมิ เลิศฤทธิพานิช)

.....

(นางสาวสุกลักษณ์ ขอประเสริฐ)

.....

(อ.ดร. สมนึก บุญสุภา)

อาจารย์ที่ปรึกษา

.....

(ผศ. ดร. วีณา นุกูลการ)

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

.....

(อ.ดร. ชุติมา เพ็ชรประยูร)

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

# บทคัดย่อ
# การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทุเรียนเทศ

ธนภูมิ เลิศฤทธิพานิช, สุภลักษณ์ ขอประเสริฐ

**อาจารย์ที่ปรึกษา**: สมนึก บุญสุภา*, วีณา นุกูลการ*, ชุติมา เพ็ชรประยูร*

* ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

**คำสำคัญ**: *Annona muricata* L., Tissue culture, Hairy root culture, Thin–layer chromatography.

โครงการพิเศษนี้จัดทำขึ้นเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื่อเยื่อทุเรียนเทศ (*Annona muricata* L.) และเปรียบเทียบคุณสมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชกับพืชที่มาจากธรรมชาติ จากการศึกษาพบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบและกิ่ง คือ การฟอกด้วย 0.5 % NaOCl และ 1% NaOCl ตามลำดับ เป็นเวลา 5 นาที สูตรอาหาร ½ MS medium และ 2% sucrose ร่วมกับ BA (cytokinin) : NAA (auxin) ในอัตราส่วน 0.2 : 0.2 mg/l สามารถกระตุ้นการเกิดแคลลัสและยอดใหม่ได้ดีที่สุด การเลี้ยงในสภาวะที่มืดทำให้เกิดแคลลัสได้มากกว่าในที่สว่าง โดยมีเปอร์เซ็นต์แคลลัสที่เกิดขึ้น 87 % ส่วนในการกระตุ้นการเกิดยอดใหม่มีเปอร์เซ็นต์การเกิด 60% เมื่อได้แคลลัสซึ่งเป็นเซลล์พืชจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแล้วจึงนำมาดูรูปแบบของสารที่แยกได้จากแคลลัสเปรียบเทียบกับส่วนต่างๆ ของพืช ด้วยวิธี Thin–layer Chromatography โดยแคลลัส (1) เป็นแคลลัสจากการ subculture แล้วนำไปอบแห้งก่อนจะสกัดด้วย 95 % ethanol และแคลลัส (2) เป็นแคลลัสที่เก็นทันทีหลังจากเกิดแคลลัส โดยไม่ผ่านการ subculture แล้วสกัดด้วย 95 % ethanol ทันที โดยพบว่าแคลลัส (2) มีรูปแบบของแถบสารที่ใกล้เคียงกับสารสกัดจากลำต้น ส่วนแคลลัส (1) มีรูปแบบของแถบสารไม่ใกล้เคียงกับสารสกัดจากส่วนอื่นๆ ของพืช การเทียบสารสกัดน้ำของทุเรียนเทศด้วยการต้มที่ระยะเวลา 10, 20, 30 และ 60 นาที พบว่าแถบสารมีความเข้มมากขึ้นตามระยะเวลาที่ต้มนานขึ้นและมีรูปแบบของแถบสาร แตกต่างจากสารสกัดอื่นๆ ที่สกัดด้วย 95% ethanol

# Abstract

## Plant tissue cultures of *Annona muricata* L.

Thanapoom Lertritipanich, Supalak Khorprasert

**Project advisors**: Somnuk Bunsupa, Veena Nukoolkarn, Chutima Petchprayoon

Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

Keywords: *Annona muricata* L., Tissue culture, Hairy root culture, Thin–layer chromatography.

The aims of this project were to develop the optimal condition for callus formation of *Annona murricata* L. (Dhurianthet) and to compare the TLC chromatogram of callus extract with natural plant extracts. The optimal sterilization conditions for leaf and branch explants were sterilization with 0.5% and 1% NaOCl, respectively, for 5 minutes. The best results for callus formation and shoot induction were obtained using ½ Murashige–Skoog (MS) medium containing 2% sucrose and supplemented with 0.2 mg/l 6–benzyladenine (BA) and 0.2 mg/l α–naphthalene acetic acid (NAA). Induction of callus in the dark condition showed at 87% which was higher than in light condition. The shoot induction was showed at 60% in the same medium formula. The obtained callus were collected and used for further TLC comparison analysis with other plant parts. There were two types of callus; callus (1) was the callus that collected from subculture then dried before soaked with 95% ethanol and callus (2) was the callus that collected directly from callus–induced explant without subculture and soaked with 95% ethanol immediately. We found that some bands from TLC pattern of callus (2) were similar to the TLC pattern from stem extract. On the other hand, the TLC pattern of callus (1) was not similar to other plant parts. An aqueous leaf extract of *Annona muricata* L. with a different boiling time; 10, 20, 30 and 60 minutes, showed the positive relation between intensity of TLC patterns and boiling time. Additionally, these aqueous extracts showed different TLC patterns comparing to other 95% ethanol plant extracts.