

เทคนิคการปักชำฝักและการเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดแก้วเพื่อใช้กับการขยายพันธุ์
พังกาหัวกลมดอกแดง *Brugulera gymnorhiza* Lamk.

นางสาวกุลนาถ อมสุวรรณ



สถาบันวิทยบริการ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีทางชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2539

ISBN 974-634-984-8

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I17457828

**HYPOCOTYL CUTTING AND *IN VITRO* TISSUE CULTURE TECHNIQUES FOR
PROPAGATION OF BLACK MANGROVE**

Bruguiera gynorrhiza Lamk.



MISS KULLANART OBSUWAN

**สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย**

**A Thesis in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science**

Department of Biotechnology

Graduate School

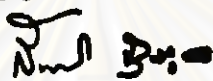
Chulalongkorn University

1996

ISBN 974-634-984-8

หัวข้อวิทยานิพนธ์ เทคนิคการปักชำฝักและการเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดแก้วเพื่อใช้กับ
การขยายพันธุ์พังกาหัวสุมนดอกแดง *Bruguiera gymnorrhiza* Lamk.
โดย นางสาวกุลนาถ อบสุวรรณ
สาขาวิชา เทคโนโลยีทางชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พิพัฒน์ พัฒนผลไพบุลย์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พัชรา ลิมปะนะเวช

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยฉบับนี้เป็นส่วน
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต



..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร. สันติ อุดสุวรรณ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์



..... ประธานกรรมการ
(อาจารย์ ดร. สุมธ ตันตระเรียร)



..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พิพัฒน์ พัฒนผลไพบุลย์)



..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พัชรา ลิมปะนะเวช)



..... กรรมการ
(ดร. จิตต์ คงแสงไชย)

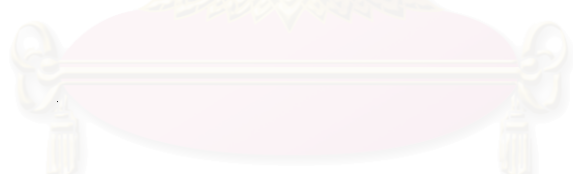
พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

กฤษณา ออบสุวรรณ : เทคนิคการปักชำฝักและการเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดแก้วเพื่อใช้กับการขยายพันธุ์
ฟังก์กาหัวสุ่มดอกแดง *Bruguiera gymnorrhiza* Lamk. (HYPOCOTYL CUTTING AND IN VITRO
TISSUE CULTURE TECHNIQUES FOR PROPAGATION OF *Bruguiera gymnorrhiza* Lamk.

อ. ที่ปรึกษา : ผศ.ดร. พิพัฒน์ พัฒนผลไพบุลย์ , อ. ที่ปรึกษาร่วม : ผศ. พัชรา ลิมปะนะเวช ,
93 หน้า. ISBN 974-634-984-8

การศึกษาการพัฒนาเทคนิคการปักชำฝักฟังก์กาหัวสุ่มดอกแดง โดยการนำฝักมาตัดแบ่งเป็น 2 ท่อน คือ ท่อน
ยอดและท่อนโคน แล้วใช้สารควบคุมการเจริญออกซิน IBA และ NAA ระดับความเข้มข้น 0, 10, 100, 1000, 5000
และ 10000 มก.ต่อลิตร เพื่อกระตุ้นการเกิดราก พบว่า IBA และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน จะมีอิทธิพลทั้งต่อ
จำนวนรากและ ความยาวรากของท่อนชำต่างกัน นอกจากนี้ยังพบว่าฝักท่อนยอดสามารถสร้างรากได้จำนวนมาก
กว่าฝักท่อนโคน และพบว่าในฝักท่อนยอด IBA และ NAA ระดับความเข้มข้น 1000 มก.ต่อลิตร กระตุ้นให้เกิดรากได้ดี
ที่สุด และ IBA กระตุ้นให้เกิดจำนวนรากเฉลี่ยมากกว่า NAA ส่วนในฝักท่อนโคน พบว่า NAA ที่ระดับความเข้มข้น
1000 ถึง 10000 มก.ต่อลิตร และ IBA ที่ระดับความเข้มข้น 10000 มก.ต่อลิตร ให้ผลดีที่สุด

การเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ของฟังก์กาหัวสุ่มดอกแดงในหลอดแก้ว พบว่า ปัญหาที่สำคัญคือ การปนเปื้อน
เนื่องจากเนื้อเยื่อที่นำมาเลี้ยงเก็บจากสภาพธรรมชาติ นอกจากนี้หลังจากนำมาเลี้ยงในหลอดแก้วแล้ว พบว่าเนื้อเยื่อพืช
ปล่อยสารสีน้ำตาลออกมาในปริมาณมากซึ่งสารนี้มีผลยับยั้งการแบ่งเซลล์และการเจริญเติบโต การทดลองนี้จึงได้
พยายามหาวิธีฟอกฆ่าเชื้อลดออกซิเจนและการใช้สารเคมีที่เหมาะสมในการลดปริมาณสารสีน้ำตาล นอกจากนี้พบว่า
การชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนของฝักที่เลี้ยงในหลอดแก้วเป็นวิธีหนึ่งที่ช่วยลดปัญหาการปนเปื้อน และทำให้ได้ยอดที่
จะนำไปเลี้ยงต่อในสภาพปลอดเชื้อ ผลจากการทดลองนี้ทำให้ทราบอาหารที่เหมาะสมสำหรับการชักนำชิ้นส่วนของฝักที่
เลี้ยงในหลอดแก้วให้เกิดยอดได้ แต่อาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่เหมาะสมสำหรับการชักนำยอดให้เกิดราก ต้องมีการศึกษา
ต่อไป



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา
สาขาวิชา เทคโนโลยีทางชีวภาพ
ปีการศึกษา 2539

ลายมือชื่อนิติต
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

C626713 : MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEY WORD: *Bruguiera gymnorrhiza*/PROPAGATION/TISSUE CULTURE/MANGROVE

KULLANART OBSUWAN : HYPOCOTYL CUTTING AND *IN VITRO*

CULTURE TECHNIQUES FOR PROPAGATION OF BLACK MANGROVE

Bruguiera gymnorrhiza Lamk. THESIS ADVISOR : ASSIST.PROF.

PIPAT PATANAPONPAIBOON, Ph.D., THESIS COADVISOR :

ASSIST.PROF. PATCHARA LIMPANAVECH. 93 pp. ISBN 974-634-984-8

A study on improvement of hypocotyl cutting techniques of *Bruguiera gymnorrhiza* Lamk. by dividing hypocotyl into 2 pieces, apical half and basal half and using auxins, IBA and NAA. The result indicated that both IBA and NAA had different effected on root number and root length formed on the cuttings. The apical cutting produce more roots than the basal ones. In the apical cuttings both IBA and NAA 1000 mg/l were considered to be the best concentration for rooting. While the basal cuttings NAA concentration 1000-10000 mg/l or IBA 10000 mg/l were the best.

In vitro culture of various parts of *B. gymnorrhiza*, contamination was a serious problem. Explants used derived from natural habitat carried serveral contaminants. In addition, the plant tissues cultured *in vitro* produced a lot of browning substance which had inhibitory effect on cell division and growth. This experiment thus was carried out to examine the disinfestation techniques and the application of chemicals and methods to decrease excretion of browning substance. The success of *in vitro* induction of shoot formation from hypocotyl explant provided a method to solve contamination problem and these shoots produced were aseptic and were able to subculture further. The suitable medium for shoot induction from hypocotyl section culture was concluded, however the medium for root induction needed further study.



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา.....

สาขาวิชา..... เทคโนโลยีทางชีวภาพ

ปีการศึกษา..... 2539

ลายมือชื่อนิสิต.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้เนื่องจากความกรุณาของผู้เกี่ยวข้องทุกฝ่าย ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พิศัฒน์ พัฒนผลไพบุลย์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ พัชรา ลิมปะนะเวช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำแนะนำสั่งสอนตลอดจนให้ความคิดเห็นต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อวิทยานิพนธ์ และขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ ดร. สุเมธ ตันตระเชียร ดร. จิตต์ คงแสงไชย และรองผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ประสาทพร สมิติมาน ที่กรุณาเสียสละเวลาเพื่อเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ พร้อมทั้งให้คำแนะนำและช่วยแก้ไขให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรชิตวิตรกุล อาจารย์ ดร. เจริญ นิตธีรรมยง และคุณรวีวรรณ สุวนิชย์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา และแนะนำเรื่องการวิเคราะห์ทางสถิติ

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย และสาขาเทคโนโลยีทางชีวภาพ ที่ให้โอกาสผู้เขียนได้ศึกษาต่อในระดับปริญญาโท และให้เงินอุดหนุนการวิจัยบางส่วน

ขอขอบพระคุณหน่วยปฏิบัติการพฤษภานิวศวิทยา และภาควิชาพฤษภานิวศวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่อนุเคราะห์เรื่องการใช้เครื่องคอมพิวเตอร์ และสถานที่ทำการวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ สมปอง เตชะโต อาจารย์บัณฑิต ฆจรณดุจกิติ และคุณอิงอร สาทวงศ์ ที่ช่วยให้คำแนะนำเกี่ยวกับเทคนิคต่างๆ ที่จะนำมาประยุกต์ใช้กับการเลี้ยงเนื้อเยื่อพักกาหัวสุ่มดอกแดง

ขอขอบพระคุณอาจารย์ทรงศักดิ์ ส้าราญสุข อาจารย์เรืองวิทย์ บรรจงรัตน์ คุณปิยะ เกษตร สุขสถาน และคุณอุณากร ศิลป์ ที่ได้อนุเคราะห์ในเรื่องการถ่ายภาพ และสไลด์

ขอขอบคุณคุณมงคล วิชัย ที่ได้อนุเคราะห์ในการช่วยพิมพ์วิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ท้ายสุดขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อ และคุณแม่ ที่กรุณาให้เงินอุดหนุนในการวิจัยครั้งนี้ พร้อมทั้งสนับสนุนและให้กำลังใจมาโดยตลอด

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ญ
บทที่	
1. บทนำ	1
2. การตรวจเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
สภาพปัจจุบันของป่าชายเลนในประเทศไทย	4
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของไม้พังกาหัวสุมดอกแดง	5
การเก็บรักษาฝักพังกาหัวสุมดอกแดงเพื่อทำพันธุ์	7
การขยายพันธุ์โดยการปักชำ	8
การเกิดรากของท่อนชำ	8
สารควบคุมการเจริญกับการเกิดราก	8
การเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในหลอดแก้ว	10
สารพืชนิวลิทที่เกิดจากเนื้อเยื่อพืชขณะเลี้ยงในหลอดแก้ว	11
การเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชป่าชายเลน	12
3. วิธีดำเนินการศึกษา	
การปักชำฝักพังกาหัวสุมดอกแดงในกระบะทราย	15
การทดลองฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมต่อเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ของพังกาหัวสุม ดอกแดง	18
การทดลองใช้สารลดปริมาณสารสีน้ำตาลจากชิ้นพืชในหลอดแก้ว	19
การทดลองเลี้ยงเนื้อเยื่อฝักแก่ของพังกาหัวสุมดอกแดงเพื่อชักนำให้เกิดยอดใน หลอดแก้ว	20
การทดลองเพื่อชักนำให้ยอดเกิดรากในหลอดแก้ว	22

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
4. ผลการศึกษา	
การทดลองปักชำฝักพังกาหัวสุมดอกแดงในกระบะทราย	23
การศึกษาเทคนิคการเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดแก้ว	
การทดลองหาวิธีฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมต่อเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ของพังกาหัวสุม ดอกแดง	31
ชนิดและการใช้สารลดปริมาณสารสีน้ำตาลที่พืชสร้างขึ้นในหลอดแก้ว	34
การชักนำให้เกิดยอดในหลอดแก้ว	35
การทดลองเพื่อชักนำให้ยอดเกิดรากในหลอดแก้ว	35
5. อภิปรายผลการศึกษา	
การปักชำฝักพังกาหัวสุมดอกแดงในกระบะทราย	39
การทดลองหาวิธีฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมต่อเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ของพังกาหัวสุม ดอกแดง	41
ชนิดและการใช้สารลดปริมาณสารสีน้ำตาลที่พืชสร้างขึ้นในหลอดแก้ว	42
การทดลองเลี้ยงเนื้อเยื่อฝักแก่ของพังกาหัวสุมดอกแดงเพื่อชักนำให้เกิดยอด ในหลอดแก้ว	43
การทดลองเพื่อชักนำให้ยอดเกิดรากในหลอดแก้ว	44
6. สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ	46
รายการอ้างอิง	48
ภาคผนวก-ก	55
ภาคผนวก-ข	58
ประวัติผู้เขียน	93

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. การใช้พื้นที่ป่าชายเลนเพื่อกิจการต่าง ๆ (พ.ศ. 2539)	4
2. การทดลองเพื่อศึกษาผลของการใช้สารควบคุมการเจริญ IBA และ NAA ที่มีต่อการเกิดรากของฝักพังกาหัวสุมดอกแดงท่อนยอดและท่อนโคน	16
3. การทดลองฟอกฟลาเชื้อเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ของพังกาหัวสุมดอกแดง ด้วยวิธีต่าง ๆ กัน	19
4. ชนิดและการใช้สารลดปริมาณสารสีน้ำตาลที่พืชสร้างขึ้นในหลอดแก้ว	20
5. สูตรอาหารสังเคราะห์แบบต่าง ๆ ที่ใช้ในการชักนำให้เกิดยอดจาก เนื้อเยื่อส่วนฝัก	21
6. การทดลองสูตรอาหารต่าง ๆ เพื่อชักนำให้ยอดเกิดรากในหลอดแก้ว รวม 72 การทดลอง	22
7. ผลของ IBA ที่มีต่อการเกิดรากของฝักพังกาหัวสุมดอกแดงท่อนยอด	25
8. ผลของ IBA ที่มีต่อการเกิดรากของฝักพังกาหัวสุมดอกแดงท่อนโคน	26
9. ผลของ NAA ที่มีต่อการเกิดรากของฝักพังกาหัวสุมดอกแดงท่อนยอด	27
10. ผลของ NAA ที่มีต่อการเกิดรากของฝักพังกาหัวสุมดอกแดงท่อนโคน	28
11. วิธีฟอกฟลาเชื้อที่เหมาะสมต่อเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ของพังกาหัวสุมดอกแดง	33
12. ผลการลดปริมาณสารสีน้ำตาลที่ออกมาจากเนื้อเยื่อพืช	34
13. ผลการทดลองชักนำเนื้อเยื่อฝักแก่พังกาหัวสุมดอกแดงให้เกิดยอดจำนวนมาก ในหลอดแก้ว	36

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1. พังกาหัวสูมดอกแดงในสภาพธรรมชาติ	0
2. แสดงส่วนต่าง ๆ ของพังกาหัวสูมดอกแดง	7
3. การวางแผนการทดลองการปักชำฝักพังกาหัวสูมดอกแดงแบบ Randomized Complete Block Design	17
4. ชิ้นเนื้อเยื่อฝักแก่พังกาหัวสูมดอกแดงขนาดต่าง ๆ ที่ใช้เลี้ยง ในหลอดแก้ว	21
5. ผลของ IBA ที่มีต่อจำนวนรากของฝักพังกาหัวสูมดอกแดงที่อ่อนยอด	25
6. ผลของ IBA ที่มีต่อความยาวรากของฝักพังกาหัวสูมดอกแดงที่อ่อนยอด	25
7. ผลของ IBA ที่มีต่อจำนวนรากของฝักพังกาหัวสูมดอกแดงที่อ่อนโคน	26
8. ผลของ IBA ที่มีต่อความยาวรากของฝักพังกาหัวสูมดอกแดงที่อ่อนโคน	26
9. ผลของ NAA ที่มีต่อจำนวนรากของฝักพังกาหัวสูมดอกแดงที่อ่อนยอด	27
10. ผลของ NAA ที่มีต่อความยาวรากของฝักพังกาหัวสูมดอกแดงที่อ่อนยอด	27
11. ผลของ NAA ที่มีต่อจำนวนรากของฝักพังกาหัวสูมดอกแดงที่อ่อนโคน	28
12. ผลของ NAA ที่มีต่อความยาวรากของฝักพังกาหัวสูมดอกแดงที่อ่อนโคน	28
13. แสดงผลของ IBA ที่มีผลต่อการงอกรากของฝักพังกาหัวสูมดอกแดง ที่อ่อนยอดและที่อ่อนโคนเมื่อเวลาผ่านไป 12 สัปดาห์	29
14. แสดงผลของ NAA ที่มีผลต่อการงอกรากของฝักพังกาหัวสูมดอกแดง ที่อ่อนยอดและที่อ่อนโคนเมื่อเวลาผ่านไป 12 สัปดาห์	30
15. แสดงผลการชักนำให้ชิ้นเนื้อเยื่อพืชเกิดยอดในหลอดแก้วบนอาหาร ทราย + น้ำกลั่น	38

สถาบันวิทยบริการ
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย