

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การเจริญเติบโตของแคลลัสและเซลล์แขวนลอยที่ได้จาก ลำต้นของกระเจียวที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ	
ชื่อผู้เขียน	นางสาวสุพัตรา ธรรมธรรม	
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต	สาขาวิชาชีววิทยา	
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์:	รศ.ดร. สมบูรณ์ อนันตลาโภชัย	ประธานกรรมการ
	ผศ.ดร. กอบเกียรติ แสงนิล	กรรมการ
	ผศ.ดร. พิมพ์ใจ อภาวัฐธรม์	กรรมการ

### บทคัดย่อ

ชิ้นส่วนรอยต่อระหว่างรากกับลำต้นขนาด 10 มม ของต้นอ่อนกระเจียว (*Curcuma* sp.) เบอร์ 50 สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ เมื่อเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS (1962) ที่มี 2,4-D ร่วมอยู่ด้วย การทดลองใช้ 2,4-D (0.063-0.5 มก/ล) และ BAP (0-0.25 มก/ล) ในส่วนผลของความเข้มข้นที่แตกต่างกัน พบว่า 2,4-D อย่างเดียวมีความเหมาะสมมากกว่า 2,4-D ร่วมกับ BAP และ 2,4-D 0.125 มก/ล เป็นระดับความเข้มข้นที่ดีที่สุดในการชักนำให้เกิดแคลลัส โดยมีผลทำให้มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงสุด การเลี้ยงชิ้นส่วนบนอาหารที่มี 2,4-D ร่วมกับ BAP หรือ BAP เพียงอย่างเดียวมีผลส่งเสริมการเจริญเติบโตทางยอดมากกว่าการเกิดแคลลัส ชิ้นส่วนจากต้นอ่อนที่มีอายุ 2 เดือน มีความเหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัสมากกว่าอายุ 1 และ 3 เดือน เมื่อนำแคลลัสที่ได้นี้มาเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS (1962) ที่มี NAA (0-1.0 มก/ล) หรือ 2,4-D (0-0.5 มก/ล) ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันเพื่อการเพิ่มปริมาณแคลลัส พบว่าแคลลัสที่เลี้ยงบนอาหารที่มี 2,4-D เติบโตได้ดีกว่าเมื่อเติม NAA โดย 2,4-D 0.125 มก/ล มีความเหมาะสมที่สุด การเลี้ยงแคลลัสบนอาหารวุ้นสูตร MS (1962) ที่มี BAP (0-4.0 มก/ล) ร่วมกับ 2,4-D (0-0.125 มก/ล) หรือ NAA (0-0.250 มก/ล) หรือน้ำมะพร้าว (0-10 เปอร์เซ็นต์) พบว่าแคลลัสมีเพียงการเจริญพัฒนาไปเป็นราก หรือมีการเกิด "green spot" บนก้อนแคลลัส โดยอาหารที่มี BAP 1.0 มก/ล ร่วมกับ 2,4-D 0.063 มก/ล

ชักนำให้เกิดแคลลัสที่มี "green spot" มากที่สุด ซึ่งเมื่อนำแคลลัสที่มีสีเขียวนี้ไปเลี้ยงต่อบนอาหารวุ้นสูตร MS (1962) ที่มี kinetin หรือ BAP พบว่าแคลลัสยังคงมีการเจริญพัฒนาเช่นเดิมแต่ไม่มีการพัฒนาไปเป็นยอด

เซลล์แขวนลอยที่ได้จากแคลลัสสามารถเติบโตได้ในอาหารเหลวสูตร MS (1962) ที่มี 2,4-D (0-0.250 มก/ล) ร่วมกับน้ำมะพร้าว (0-25 เปอร์เซ็นต์) ในสัดส่วนความเข้มข้นต่างๆกัน โดยอาหารที่มี 2,4-D 0.125 มก/ล และ น้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เซลล์มีการเติบโตดีที่สุด ในรูปปริมาตร น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง การเติม casein hydrolysate (50-200 มก/ล) ลงในอาหารเลี้ยงดังกล่าวข้างต้นนี้ช่วยส่งเสริมการเติบโตของเซลล์ได้ดีขึ้น และที่ระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส 2 เปอร์เซ็นต์ มีความเหมาะสมที่สุดต่อการเติบโตของเซลล์ ในขณะที่ myo-inositol thiamine·HCl pyridoxine·HCl L-cystine L-proline และ L-serine ไม่มีผลส่งเสริมการเติบโตของเซลล์หรือการเจริญพัฒนาไปเป็นต้นอ่อน

Thesis Title	Growth and Development of Callus and Cell Suspension from Curcuma Stem <i>In Vitro</i>		
Author	Miss Suputra Sarathum		
M.S.	Biology		
Examining Committee:	Assoc. Prof. Dr. Somboon Anatalapochai	Chairman	
	Assist. Prof. Dr. Kobkiat Saengnil	Member	
	Assist. Prof. Dr. Pimchai Apavatjirut	Member	

### Abstract

Stem explants 10 mm in size measured from the base of *Curcuma* sp. plantlets could be induced to form calli when cultured on MS (1962) agar medium having 2,4-D. When combinations of 2,4-D (0.063-0.5 mg/l) and BAP (0-0.5 mg/l) were tested, it showed that 2,4-D singly added was superior to 2,4-D combined with BAP in promoting callus induction. The most effective 2,4-D level was 0.125 mg/l, providing the highest percentage of callus formation. The inclusion of 2,4-D and BAP or only BAP in the medium improved growth and development of shoot rather than callus growth. Explants from plantlets cultured for 2 months were more suitable for callus induction than those from 1 and 3 months old plantlets. For callus multiplication, the calli were then subcultured onto MS (1962) agar medium supplemented with NAA (0-1.0 mg/l) or 2,4-D (0-0.5 mg/l) each at various concentrations. The medium with 2,4-D gave better growth than that contained NAA, the 2,4-D optimal concentration was also at 0.125 mg/l. Culturing the calli on MS (1962) agar medium containing varying levels of BAP (0-4.0 mg/l) together with 2,4-D (0-0.125 mg/l) or NAA (0-0.250 mg/l) or coconut water (0-10 percent),

promoted only root formation or development of "green spot" on the calli, but no shoot formation. The use of 1.0 mg/l BAP in combination with 0.063 mg/l 2,4-D induced the highest percentage of calli with "green spot". However, shoot development was not obtained by subculturing these green calli onto the media with kinetin or BAP.

The cell suspension culture was successfully established in MS (1962) liquid medium containing various combinations of 2,4-D (0-0.250 mg/l) and coconut water (0-25 percent). The medium with 0.125 mg/l 2,4-D plus 10 percent coconut water provided the best support for cell growth in terms of cell volume, fresh and dry weights. Adding casein hydrolysate (50-400 mg/l) to the above medium improved cell growth. Sucrose at 2 percent gave the best cell growth, whereas myo-inositol, thiamine-HCl, pyridoxine-HCl, L-cystine, L-proline, and L-serine neither improved cell growth nor enhanced plantlet development.