

**MICROPROPAGATION OF *RHYNCHOSTYLIS GIGANTEA*  
(LINDL.) RIDL. (AMETHYST-PURPLE)**

The image features a large, faint watermark of the Mahidol University logo in the background. The logo is circular and contains a central emblem with Thai script around it. The text 'SASIKARN PRASONGSOM' is centered over the logo.

**SASIKARN PRASONGSOM**

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE  
REQUIREMENTS FOR  
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE  
(PLANT SCIENCE)  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY  
2012**

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

Copyright by Mahidol University

MICROPROPAGATION OF *RHYNCHOSTYLIS GIGANTEA* (LINDL.) RIDL.  
(AMETHYST-PURPLE)

SASIKARN PRASONGSOM 5236684 GRPL/M

M. Sc. (PLANT SCIENCE)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: KANCHIT THAMMASIRI, Ph.D., NGARMNIJ  
CHUENBOONNGARM, Ph.D., WILAI NOONPAKDEE, Ph.D.

ABSTRACT

The effects of Vacin and Went medium, 1949 (VW), modified Vacin and Went medium, 1949 (modified VW), Schenk & Hildebrandt medium, 1976 (SH), Murashige and Skoog medium, 1962 (MS) and 1/2 Murashige and Skoog medium, 1962 (1/2MS), sucrose concentrations (0-20 g/L), and plant growth regulators (PGRs) (NAA, BA, and TDZ) were studied on protocorm-like body (PLB) induction, multiple shoot, and root formation from shoot tips of *Rhynchostylis gigantea* (Amethyst-purple). The highest survival rate at 93% and 7.8 PLBs per shoot tip was observed in modified VW liquid medium supplemented with 10 g/L sucrose without PGRs. Regarding the effects of different concentrations of sucrose on *R. gigantea* PLB formation, it was found that 10 g/L sucrose promoted the highest relative PLB formation and survival rate. Shoot and root induction were observed in modified VW and SH agar medium by supplementation with PGRs. A supplement of PGRs on modified VW agar medium promoted the highest PLB formation at 90.3 PLBs per explant by using modified VW supplemented with 2 mg/L BA in combination with 1 mg/L NAA but not for shooting and rooting. However, a supplement of 0.1 mg/L TDZ in SH agar medium promoted the highest shoot formation at 73.3 shoots per explant. SH agar medium supplemented with PGRs can promote root formation. The longest root formation was shown to be 0.42 cm. After 3 months of culture, activated charcoal was used to test the inhibition of phenolic compounds and induce root formation on SH agar medium. The combination of 1 g/L activated charcoal and 1 mg/L NAA showed optimum induction of root at 51% and rooting from shoot at 2.3 roots per shoot. SH agar medium supplemented with activated charcoal and NAA not only induce rooting but also produce leaves at 3.3 leaves per shoot. There were 100% survival rates when they were grown in a greenhouse for 3 months. A similar pattern of ploidy level was observed by flow cytometry from the leaves of both stock plantlets and regenerated plantlets with PGRs added to the medium. There was no difference in the morphology and chromosome sets of regenerated plantlets.

KEYWORDS: *RHYNCHOSTYLIS GIGANTEA* (AMETHYST-PURPLE) /  
MICROPROPAGATION / PLANT GROWTH REGULATORS /  
VACIN AND WENT MEDIUM / SCHENK AND HILDEBRANDT  
MEDIUM

85 pages

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ช้างแดง

MICROPROPAGATION OF *RHYNCHOSTYLIS GIGANTEA* (LINDL.) RIDL. (AMETHYST-PURPLE)

ศศิกานต์ ประสงค์สม 5236684 GRPL/M

วท.ม. (วิทยาการพืช)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: ครรชิต ธรรมศิริ, Ph.D., งามนิจ ชื่นบุญงาม, Ph.D.,  
วิไล หนูนกัถิ, Ph.D.

#### บทคัดย่อ

การศึกษาค้นคว้าของสูตรอาหาร 5 ชนิด ได้แก่ Vacin and Went 1949 (VW) สูตรดัดแปลง Vacin and Went 1949 (modified VW) Schenk and Hildebrandt 1976 (SH) Murashige and Skoog 1962 (MS) และอาหารเหลวสูตร MS ที่ลดธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองลงครึ่งหนึ่ง (1/2 MS) รวมทั้งความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส (0-20 กรัมต่อลิตร) และสารควบคุมการเจริญเติบโต (NAA BA และ TDZ) ต่อการขยายพันธุ์ของกล้วยไม้ช้างแดงจากปลายยอด พบว่าตายอดมีอัตราการรอดชีวิต (ร้อยละ 93) และสามารถผลิต protocorm-like bodies (PLBs) ได้ 7.8 PLBs ต่อตายอด เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวสูตรดัดแปลง VW ที่เติมน้ำตาลซูโครส 10 กรัมต่อลิตร แต่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการชักนำให้เกิด PLBs ของกล้วยไม้ช้างแดง ได้แก่ 10 กรัมต่อลิตร การชักนำให้เกิดยอดและรากโดยเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในอาหารวุ้นสูตรดัดแปลง VW และอาหารวุ้นสูตร SH การศึกษาค้นคว้าของสารควบคุมการเจริญเติบโต (NAA BA และ TDZ) ต่อการชักนำให้เกิดยอดและรากของกล้วยไม้ช้างแดงจาก PLBs พบว่าอาหารวุ้นสูตรดัดแปลง VW ไม่สามารถชักนำให้เกิดยอดและรากหลังจากเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 เดือน แต่สามารถชักนำให้เกิด PLBs ได้โดยเลี้ยงบนอาหารสูตรดัดแปลง VW ที่เติม BA เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิด PLBs ได้ 90.3 PLBs ต่อชิ้นพืช ในขณะที่อาหารวุ้นสูตร SH สามารถชักนำให้เกิดยอดและราก โดยอาหารวุ้นสูตร SH ที่เติม TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถผลิตยอดได้มากที่สุด ( 73.3 ยอดต่อชิ้นพืช) และสามารถผลิตรากได้ยาวสูงสุด (0.42 เซนติเมตร) แต่หลังจากเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร SH เป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่าอาหารวุ้นมีสารสีน้ำตาลปนอยู่ ซึ่งจากการที่มีสารสีน้ำตาลปนเปื้อนนั่น จึงทำการเติมผงถ่านเพื่อดูดซับสารดังกล่าว และยังสามารถชักนำให้เกิดรากได้เพิ่มขึ้น พบว่าอาหารสูตรที่เติมผงถ่านและ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA นั้นสามารถกระตุ้นให้เกิดรากมากที่สุดร้อยละ 51 และให้จำนวนรากมากที่สุดคือ 2.3 รากต่อยอด รวมทั้งยังสามารถสร้างใบได้ 3.3 ใบต่อต้นพืช จากนั้นทำการปรับสภาพและนำต้นกล้วยไม้ปลูก พบว่าอัตราการรอดชีวิตของกล้วยไม้ช้างแดงเป็นร้อยละ 100 เมื่อเลี้ยงในสภาพโรงเรือนเป็นเวลา 3 เดือน และต้นกล้วยไม้ช้างแดงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาและการเปลี่ยนแปลงของชุดโครโมโซม