14 Jul 1999

LIBRARY AND INFORMATION CENTER
MAHIDOL UNIVERSITY

EMBRYOGENESIS AND ORGANOGENESIS OF BRUCEA JAVANICA (L.) MERR. AND ITS RELATIONSHIP TO SECONDARY METABOLITE PRODUCTION

NGARMNIJ LUANGRATANACHAROEN

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE
(ENVIRONMENTAL BIOLOGY)

With compliments
of
บัณฑิตวิทยาลัย มหิดล

IN

FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY

1991

Copyright by Mahidol University

310442

ชื่อวิทยานิพนธ์ อิทธิพลของเอ็มบริโอเจนเนซิส และออร์แกนโนเจนเนซิส ต่อสารทุติยภูมิในราชดัด [Brucea javanica (L.) Merr.]
ผู้วิจัย งามนิจ เหลืองรัตนเจริญ
ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยาสภาวะแวดล้อม)
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์
ศิริพร นิตยางกูร, Ph.D.
เอมอร โสมนะพันธุ์, Ph.D.
สมศักดิ์ พันธุวัฒนา, Ph.D.
วันที่สำเร็จการศึกษา 15 พฤษภาคม พ.ศ. 2534

บทคัดย่อ

การค้นคว้าและปรับปรุงขบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อราชดัด [Brucea javanica (L.) Merr.] เพื่อกระตุ้นขบวนการเอ็มบริโอเจนเนซิสและขบวนการออร์แกนโนเจนเนซิส โดยคาดว่าการปรับปรุงบางขั้นตอนของทั้งสองขบวนการนี้จะเอื้ออำนวยต่อการผลิตกล้าราชดัดเพื่อประโยชน์เชิงพาณิชย์ พบว่าเนื้อเยื่อจากส่วนไฮโปโคทิลเมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารวิทยาศาสตร์สูตรของมูราชิกิและสคูกที่มีความเข้มข้นเพียงครึ่งหนึ่งของสูตร เนื้อเยื่อสามารถเจริญในลักษณะคล้ายโปรโตคอร์ม เมื่อทำการย้ายโปรโตคอร์มลงในอาหารเหลวสูตรเดิม แต่ละโปรโตคอร์มจะเจริญเป็นต้นอ่อนโดยผ่านขั้นตอนการเจริญเช่นเดียวกับขั้นตอนการเจริญของต้นอ่อนภายในเมล็ด ต้นอ่อนที่ผลิตได้นี้มีระบบยอดและรากครบ สามารถงอกเป็นต้นกล้าได้ทันทีโดยไม่ต้องตัดแยกหรือใช้ฮอร์โมนกระตุ้นให้เกิดราก จึงแตกต่างจากยอดอ่อนที่ได้จากวิธีออร์แกนโนเจนเนซิสซึ่งต้องตัดแยกแต่ละกิ่งและต้องกระตุ้นราก อย่างไรก็ดีอัตราการผลิตต้นอ่อนที่สมบูรณ์ด้วยวิธีเอมบริโอเจนเนซิสค่อนข้างต่ำเนื่องจากปัญหาการเชื่อมติดของส่วนยอด การผลิตกล้าราชดัดด้วยวิธีออร์แกนโนเจนเนซิสมีปัญหาในขั้นตอนการกระตุ้นรากซึ่งปัญหาดังกล่าวนี้พบทั่วไปในการเพาะเลี้ยงไม้ยืนต้นเนื้อแข็ง วิธีการผลิตกล้าราชดัดด้วยวิธีเอ็มบริโอเจนเนซิสจึงเหมาะแก่การผลิตเพื่อประโยชน์เชิงพาณิชย์มากกว่าวิธีออร์แกนโนเจนเนซิส

นอกจากนี้ยังได้ทำการวิเคราะห์สารสำคัญของราชดัดคือ บรูซีนเอ, บรูซีนบีไฮเดรต และบรูซีนซี รวมทั้งสารประเภทอัลคาลอยด์ทั้งจากตัวอย่างธรรมชาติคือผลแก่เต็มที่และจากเนื้อเยื่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในขวดทดลองทั้งในระบบอาหารแข็งและในระบบอาหารเหลว ผลการวิเคราะห์ทางเคมีพบว่า เนื้อเยื่อราชดัดจากการเพาะเลี้ยงทุกระบบไม่มีการสร้างและสะสม

Copyright by Mahidol University

สารต้วยาประเภทบรูซีน อย่างไรก็ดีเนื้อเยื่อจากการเพาะเลี้ยงทุกระบบมีการผลิตอัลคาลอยด์อย่างน้อย 3 ชนิดที่ Rf 0.57, 0.53 และ 0.22 จากการตรวจสอบอัลคาลอยด์ด้วยวิธีรงคเลขผิวบางเช่นเดียวกันพบว่าเมล็ดผลิตอัลคาลอยด์ต่างชนิดจากเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง

Copyright by Mahidol University

Thesis Title Embryogenesis and Organogenesis of Brucea javanica (L.) Merr. and Its Reletionship to Secondary Metabolite Production

Name Ngarmnij Luangratanacharoen

Degree Master of Science (Environmental Biology)

Thesis Supervisory Committee

Siriporn Nitayangkura, Ph.D.

Aim-on Somanabandhu, Ph.D.

Somsak Pantuwatana, Ph.D.

Date of Graduation 15 May B.E. 2534 (1991)

ABSTRACT

This present work was undertaken to determine appropriate methods of somatic embryogenesis as well as organogenesis in Brucea javanica (L.) Merr. which may prove useful for commercial plantation. Hypocotyl explants excised from 10 day old seedlings in 1/2MS medium without hormonal supplement differentiated into protocorm-like bodies which after routine subcultured, developed into somatic embryos. The embryo with its define shoot and root segregated itself from the ground tissue and germinated into a complete vigorous plantlet. However, the production rate of embryogenesis was quite low due to abnormal fusion along its longitudinal axis. Organogenesis could be induced up to the multishoot stage with the exogenous supply of BAP and NAA at 2.0 and 1.0 mg/l respectively. However, rooting of in vitro grown shoots was difficult. In this particular case, somatic embryogenesis was considered a more favorable method for commercial production.

Both natural and tissue culture-derived samples were analyzed for their quassinoid and alkaloid contents. TLC analysis of

Copyright by Mahidol University

chloroform extracts indicated that the three active bruceolides (bruceine-A, bruceine-B hydrate, and bruceine-C) were absent in all tissue culture-derived samples. From TLC analysis, at least three different alkaloids, Rf 0.57, 0.53, and 0.22 were detected in tissue culture-derived sample. These were different from that detected in chloroform extract of the fruit.

Copyright by Mahidol University