P-ISSN 0858-4435
E-ISSN 2651-1231

วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี Homepage : *http://li01.tci-thaijo.org/index.php/tstj*
ปีที่ 31 ฉบับที่ 4 (กรกฎาคม-สิงหาคม 2566) หน้า [73-81]

ผลของ 2,4-D และ Kinetin ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบในสภาพปลอดเชื้อของหยาดน้ำค้าง (Drosera spatulata Labill.)

Effect of 2,4-D and Kinetin on Callus Induction from *in vitro* Leaf Explant of Sundews (Drosera spatulata Labill.)

กนกวรรณ แสงมุขดี, ภาณุมาศ ฤทธิไชย, เยาวพา จิระเกียรติกุล*
สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ปทุมธานี 12120
Kanokwan Sangmukdee, Panumart Rithichai, Yaowapha Jirakiattikul*
Department of Agricultural Technology, Faculty of Science and Technology, Thammasat University, Pathum Thani 12120
Received 2 February 2023; Received in revised 11 May 2023; Accepted 31 May 2023

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงแคลลัสเป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการผลิตสารทุติยภูมิของหยาดน้ำค้าง *(Drosera spatulata* Labill.) การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบของหยาดน้ำค้าง โดยเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบหยาดน้ำค้างบนอาหารสูตร ½ MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0 0.5 1 และ 2 mg/L ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0 และ 0.2 mg/L เป็นเวลา 6 สัปดาห์ในที่มืด วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) มี 7 ทรีตเมนต์ แต่ละทรีตเมนต์มี 3 ซ้ำ จากการทดลองพบว่า มีการพัฒนาของยอดเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ส่วนอาหารที่เติม 2,4-D เพียงอย่างเดียว หรือร่วมกับ kinetin สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ โดยอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.5–2 mg/L ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0.2 mg/L มีการเกิดแคลลัส เท่ากับ 83.33 ± 7.22 – 87.5 ± 0.00% ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับอาหารสูตรอื่น นอกจากนี้ อาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 mg/L ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0.2 mg/L มีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของแคลลัสสูงสุด เท่ากับ 475.95 ± 40.35 mg และ 58.10 ± 1.30 mg แคลลัสที่พัฒนาบนอาหารทุกสูตรมีลักษณะเกาะกันแน่น มีสีแดงปนเหลืองเล็กน้อย

คำสำคัญ: หยาดน้ำค้าง; แคลลัส; สารควบคุมการเจริญเติบโต; ชิ้นส่วนใบ; การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

***ผู้รับผิดชอบบทความ:** yjirakia@tu.ac.th
doi: 10.14456/tstj.2023.54

885/66.indd 73 28/8/2566 BE 15:03

Abstract

Callus culture is one of techniques that could be utilized to produce secondary metabolites from sundews (*Drosera spatulata* Labill.). This research aims to study the effect of 2,4-D and kinetin on callus induction from *in vitro* leaf explant of sundews. The leaf explants were cultured on ½ MS medium supplemented with 0, 0.5, 1 and 2 mg/L 2,4-D alone, or in combination with 0 and 0.2 mg/L kinetin under dark conditions for 6 weeks. The experimental design followed a completely randomized design (CRD) with seven treatments and three replications. The results showed that shoots were induced on ½ MS medium without plant growth regulators, while callus was induced on ½ MS medium supplemented with 2,4-D alone, or in combination with kinetin. The callus formation percentages ranged from 83.33 ± 7.22 to 87.5 ± 0 % on ½ MS medium supplemented with 0.5–2 mg/L 2,4-D in combination with 0.2 mg/L kinetin, which significantly differed from the other treatments. Furthermore, the highest fresh (475.95 ± 40.35 mg) and dry weight (58.10 ± 1.30 mg) were observed on ½ MS medium supplemented with 0.5 mg/L 2,4-D in combination with 0.2 mg/L kinetin. The compact and yellowish red color callus was induced from this study.

Keywords: Sundews; Callus; Growth regulators; Leaf explants; Plant tissue culture

1. บทนำ

หยาดน้ำค้าง (Sundew) เป็นพืชที่อยู่ในสกุล Drosera พืชสกุลนี้มีประมาณ 170 ชนิด (Chuakul, 2000) เป็นพืชล้มลุก ลำต้นแนบกับพื้นดิน ใบถูกปกคลุมด้วยเส้นขนเล็กๆ ที่ปลายขนมีต่อมสีแดงทำหน้าที่ผลิตเมือกเหนียว เมื่อแสงแดดส่อง เมือกจะเป็นประกายคล้ายหยาดน้ำค้าง โดยหยาดน้ำค้างชอบแสงแดดจัด แต่เมื่ออยู่ในที่ร่ม ขนและต่อมที่ปลายขนจะเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีเขียว (Wannakrairoj, et al., 2021) นิยมปลูกเป็นไม้ประดับ นอกจากนี้หยาดน้ำค้างยังมีสรรพคุณทางยา โดยหยาดน้ำค้างทุกชนิดจะมี plumbagin (5-hydroxy-2-methyl-1,4-naphthoquinones) หรือ ramentaceone (7-methyl-juglone) หรือทั้งสองอย่าง ซึ่งเป็นสารในกลุ่มแนพโทควิโนน (naphthoquinone) (Zenk et al., 1969) มีรายงานการนำสารสกัดของหยาดน้ำค้างไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น ต้านการอักเสบ (Paper et al., 2005) มีสารต้านอนุมูลอิสระ (Fukushima et al., 2009; Balaji and Asirvatham, 2015) มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อทางช่องปาก เช่น โรคฟันผุ โรคปริทันต์อักเสบ (Didry et al., 1998) จากประโยชน์ดังกล่าวของหยาดน้ำค้าง จึงได้มีการนำพืชชนิดนี้มาผลิตเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมยา (Samaj et al., 1999)

จากความต้องการใช้ประโยชน์ที่มีเพิ่มมากขึ้น การขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนต้นพืชโดยเฉพาะการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงเข้ามามีบทบาทสำคัญในพืชชนิดนี้ เนื่องจากสามารถเพิ่มจำนวนต้นได้ในปริมาณมาก รวดเร็ว ต้นที่ผลิตได้ปราศจากโรค และสามารถนำมาใช้ในการผลิตสารทุติยภูมิได้อีกด้วย (Putalun et al., 2010; Miclea and Zahan, 2017) โดย *Drosera spatulata* เป็นหยาดน้ำค้างชนิดหนึ่งที่แตกใบเป็นวงมีใบคล้ายรูปช้อน (Sangdanuch and Dovanvae, 2008) มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเช่นเดียวกับชนิดอื่นๆ มีรายงานศึกษาการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยง

885/66.indd 74 28/8/2566 BE 15:03

เนื้อเยื่อแล้ว โดย Krongtam and Junkasiraporn (2019) พบว่า ชิ้นส่วนใบของหยาดน้ำค้าง *D. spatulata* ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ¼ MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตมีการพัฒนาของยอดและราก แต่ชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ¼ MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 mg/L มีการพัฒนาเป็นแคลลัสโดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางและน้ำหนักสดของแคลลัสมากที่สุด อย่างไรก็ตาม ในการชักนำให้เกิดแคลลัสนั้น มักนิยมใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน ได้แก่ IBA (indole butyric acid) NAA (naphthalene acetic acid) และ 2,4-D (2,4-dichlorophenoxy acetic acid) ร่วมหรือไม่ร่วมกับสารในกลุ่มไซโทไคนิน ได้แก่ BA (benzyladenine) และ Kinetin (6-furfuryladenine) ซึ่งสารทั้งสองกลุ่มนี้มีคุณสมบัติส่งเสริมการแบ่งเซลล์ของพืช (Bhojwani and Razdan, 1996) ดังรายงานของ Banharn and Ngoentem (2021) พบว่า อาหารสูตร ½ MS ที่เติม kinetin ความเข้มข้น 0.2 mg/L ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 mg/L สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนใบของหยาดน้ำค้างนิวซีแลนด์ (*D. adelae*) เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด 100% นอกจากนี้ Novitasari and Isnaini (2021) ได้รายงานว่า อาหารสูตร ½ MS ที่เติม kinetin ความเข้มข้น 0.5 mg/L ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 2 mg/L สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนใบของ *Nepenthes gracilis* เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด 88.89% ส่วน Sidek et al. (2022) พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม kinetin ความเข้มข้น 0.2 mg/L ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 2 mg/L สามารถชักนำให้เมล็ดข้าว (*Oryza sativa L.*) พันธุ์ Mardi Siraj 297 เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด 95% และชิ้นส่วนใบของ *Barringtonia racemose* เกิดแคลลัสได้สูงสุด 93.33% เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1 mg/L (Dalila et al., 2013) อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีรายงานการศึกษาการใช้ 2,4-D ร่วมกับ kinetin ในการชักนำให้เกิดแคลลัสของหยาดน้ำค้าง (*D. spatulata*) ดังนั้นในงานศึกษาครั้งนี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ 2,4-D และ kinetin ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบของหยาดน้ำค้าง (*D. spatulata*) เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการต่อยอดนำแคลลัสไปใช้ในการผลิตสารทุติยภูมิของพืชชนิดนี้ต่อไป

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 พืชทดลองและสภาพเพาะลี้ยง

ทำการเพาะเลี้ยงยอดหยาดน้ำค้าง *(D. spatulata)* ในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีแสง 16 ชั่วโมง มืด 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 ± 2°C อาหารที่ใช้ในการทดลองมี pH เท่ากับ 5.6-5.8 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 N ทำการนึ่งกำจัดเชื้ออาหารเพาะเลี้ยงด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121°C เป็นระยะเวลานาน 15 นาที

2.2 การชักนำให้เกิดแคลลัส

เมื่อยอดมีการเจริญเติบโตและมีจำนวนยอดมากเพียงพอ ตัดชิ้นส่วนใบที่พัฒนาในสภาพปลอดเชื้อให้มีความยาวประมาณ 0.5 cm แล้วนำชิ้นส่วนใบมาวางลงบนอาหารที่จะทำการศึกษา โดยสูตรอาหารที่ใช้ในการทดลองมี 7 สูตร คือ อาหารสูตร ½ MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตหรือสิ่งทดลองควบคุม อาหารสูตร ½ MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 และ 2 mg/L เพียงอย่างเดียว หรือร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0.2 mg/L จากนั้นนำขวดเพาะเลี้ยงไปวางบนในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อภายใต้สภาพมืด ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 °C เป็นเวลา 6 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) มี 7 ทรีตเมนต์ แต่ละทรีตเมนต์มี 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำมี 8 ขวด โดยเพาะเลี้ยงขวดละ 1 ชิ้น (ใบ) เมื่อเพาะเลี้ยงครบ 6 สัปดาห์ ทำการบันทึกการเกิดแคลลัส (%) ลักษณะและสีของแคลลัสที่พัฒนา น้ำหนักสดและแห้งของแคลลัส (mg) โดยน้ำหนักแห้งของแคลลัส บันทึกหลังจากอบที่อุณหภูมิ 50 °C นาน 48 ชั่วโมง นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) ตามแผน

885/66.indd 75 28/8/2566 BE 15:03

การทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรม SPSS

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 การเกิดแคลลัส ลักษณะและสีของแคลลัส

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของหยาดน้ำค้าง (*D. spatulata*) บนอาหารสูตรต่างๆ เป็นระยะเวลานาน 6 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½ MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต หรือสิ่งทดลองควบคุมไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ (figure 1) แต่มีการพัฒนาของยอดเกิดขึ้น ส่วนอาหารที่เติม 2,4-D เพียงอย่างเดียว หรือร่วมกับ kinetin สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ โดยการเกิดแคลลัสมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (figure 2 A) ซึ่งจากการทดลอง พบว่า อาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 และ 1 mg/L ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0.2 mg/L มีการเกิดแคลลัสสูงสุด เท่ากับ 87.50 ± 0.00 % แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการเกิดแคลลัสบนอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2 mg/L ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0.2 mg/L ที่มีค่าเท่ากับ 83.33 ± 7.22 % ส่วนชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม 2,4-D เพียงอย่างเดียวที่ความเข้มข้น 0.5 1 และ 2 mg/L มีการเกิดแคลลัส เท่ากับ 37.50 ± 0.00 % 29.17 ± 7.22 % และ 75.00 ± 0.00 % ตามลำดับ

จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า การชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบของหยาดน้ำค้าง (*D. spatulata*) นั้นจำเป็นต้องเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยการเติม 2,4-D เพียงอย่างเดียว หรือร่วมกับ kinetin สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ อย่างไรก็ตาม การเติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin ให้ผลในการชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีกว่าการเติม 2,4-D เพียงอย่างเดียว ทั้งนี้เนื่องจาก 2,4-D เป็นสารในกลุ่มออกซินที่ส่งผลต่อกระบวนการ DNA methylation ที่มากกว่าปกติ ทำให้ข้อมูลรูปแบบการเจริญเติบโตที่กำหนดไว้กับเนื้อเยื่อถูกกำจัดไป เนื้อเยื่อจึงไม่เจริญเป็นอวัยวะตามปกติ แต่เกิดเป็นแคลลัสแทน (George et al., 2008) คุณสมบัติช่วยในการแบ่งเซลล์ของพืช นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส และ kinetin เป็นสารในกลุ่มไซโทไคนิน มีคุณสมบัติกระตุ้นให้พืชเจริญเติบโต ส่งเสริมการแบ่งเซลล์ (Bhojwani and Razdan, 1996) สารทั้งสองกลุ่มนี้เมื่อใช้ร่วมกันจะกระตุ้นให้เกิดแคลลัสได้ (Pierik, 1997) ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการชักนำให้เกิดแคลลัสของหยาดน้ำค้างชนิดอื่นที่ใช้ 2,4-D หรือสารในกลุ่มออกซินร่วมกับสารในกลุ่มไซโทไคนิน เช่น อาหารสูตร ½ MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1 3 และ 5 mg/L ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0.1 และ 0.2 mg/L สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบของหยาดน้ำค้างนิวซีแลนด์ (Banharn and Ngoentem, 2021) นอกจากนี้ Toomkum and Junkasiraporn (2019) พบว่า อาหารสูตร ½ MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA โดยใช้ความเข้มข้นของสารทั้ง 2 ชนิดเท่ากันที่ 0 0.1 0.5 และ 1.0 mg/L สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบของหยาดน้ำค้าง (*D. indica*) ส่วนการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบหยาดน้ำค้าง (*D. spatulata*) บนอาหารสูตร ½ MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต พบการพัฒนาของยอดนั้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Krongtam and Junkasiraporn (2019) ที่พบว่าชิ้นส่วนใบของหยาดน้ำค้าง *D. spatulata* และ *D. adelae* ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ¼ MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตมีการพัฒนาไปเป็นยอดและราก

แคลลัสที่พัฒนาบนอาหารทุกสูตรมีลักษณะเกาะกันแน่น หรือ compact callus มีสีแดงปนเหลืองเล็กน้อย นอกจากนี้มีลักษณะเยิ้มเป็นเมือก และมีขน (figure 1) การที่สีของแคลลัสมีสีแดงเป็นส่วนใหญ่นั้น เนื่องจากชิ้นส่วนใบของหยาดน้ำค้างปกคลุมไปด้วยเส้นขนเล็กๆ ที่ปลายขนมีต่อมสีแดง จึงทำให้แคลลัสที่เกิดขึ้นมีสีแดง ซึ่งสีของแคลลัสขึ้นอยู่กับอวัยวะที่นำมาใช้ชักนำให้เกิดแคลลัส (Wannakrairoj, et al., 2021) จากลักษณะของแคลลัสที่พัฒนานี้ สอดคล้องกับลักษณะ

885/66.indd 76 28/8/2566 BE 15:03

ของแคลลัสหยาดน้ำค้างนิวซีแลนด์ที่พัฒนาบนอาหารสูตร ½ MS ที่เติม 2, 4- D และ kinetin มีลักษณะเกาะกันอย่างแน่น สีของแคลลัสแตกต่างกันออกไป ตั้งแต่สีม่วงเข้มจนถึงสีชมพู ซึ่งสีที่เกิดขึ้นนี้เกิดจากสารสีแอนโทไซยานิน (anthocyanins) (Banharn and Ngoentem, 2021) ในขณะที่แคลลัสของหยาดน้ำค้าง (*D. indica*) ที่พัฒนาบนอาหารสูตร ½ MS ที่เติม NAA เพียงอย่างเดียว มีลักษณะเกาะกันอย่างหลวมๆ (friable) และมีสีเขียว แต่เมื่อเติม BA ร่วมกับ NAA โดยความเข้มข้นของ BA เพิ่มขึ้น แคลลัสที่พัฒนามีลักษณะเกาะกันแน่น และมีสีแดง (Toomkum and Junkasiraporn, 2019)

3.2 น้ำหนักสดและแห้งของแคลลัส

จากการทดลองพบว่า น้ำหนักสดของแคลลัสมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (figure 2 B) โดยแคลลัสที่พัฒนาบนอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 mg/L ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0.2 mg/L มีน้ำหนักสดมากที่สุด เท่ากับ 475.95 ± 40.35 mg แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับแคลลัสที่พัฒนาบนอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1 และ 2 mg/L ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0.2 mg/L ที่มีน้ำหนักสดของแคลลัส เท่ากับ 404.90 ± 74.02 mg และ 414.39 ± 67.68 mg ตามลำดับ ส่วนแคลลัสที่พัฒนาบนอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 mg/L มีน้ำหนักสดของแคลลัสต่ำสุด เท่ากับ 95.67 ± 4.72 mg น้ำหนักแห้งของแคลลัสที่พัฒนา พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (figure 2 C) โดยแคลลัสที่พัฒนาบนอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 mg/L ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0.2 mg/L มีน้ำหนักแห้งของแคลลัสสูงสุด เท่ากับ 58.10 ± 1.30 mg รองลงมาคือแคลลัสที่พัฒนาบนอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1–2 mg/L ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0.2 mg/L ที่มีน้ำหนักแห้งของแคลลัส เท่ากับ 45.14 ± 7.16 mg และ 44.17 ± 7.00 mg ส่วนแคลลัสที่พัฒนาบนอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 mg/L มีน้ำหนักแห้งของแคลลัสต่ำสุด เท่ากับ 12.83 ± 0.71 mg

จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า น้ำหนักสดและแห้งของแคลลัสที่พัฒนาเป็นไปในทิศทางเดียวกัน โดยแคลลัสที่พัฒนาบนอาหารที่เติม 2,4-D ร่วมกับ kinetin มีน้ำหนักสดและแห้งของแคลลัสมากกว่าแคลลัสที่พัฒนาบนอาหารที่เติม 2,4-D เพียงอย่างเดียว เนื่องจากความเข้มข้นและสัดส่วนของไซโทไคนินกับออกซินมีผลต่อการเจริญของเนื้อเยื่อ (Pierik, 1997) โดย 2,4-D เป็นสารที่มีฤทธิ์ของออกซินและความคงตัวสูง จึงมีประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดแคลลัส และเมื่อใช้ร่วมกับสารในกลุ่มไซโทไคนิน คือ kinetin จึงทำให้แคลลัสพัฒนาได้ดียิ่งขึ้น (Wannakrairoj, et al., 2021) อย่างไรก็ตาม จากการทดลองนี้ พบว่า อาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 mg/L ซึ่งเป็น 2,4-D ที่ความเข้มข้นต่ำที่สุด ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0.2 mg/L สามารถชักนำให้แคลลัสที่พัฒนามีน้ำหนักสดและแห้งสูงสุด ซึ่งสอดคล้องกับแคลลัสที่พัฒนาจากชิ้นส่วนใบของหยาดน้ำค้าง (D. indica) บนอาหารสูตร ½ MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 mg/L ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 mg/L ซึ่งเป็นความเข้มข้นต่ำที่ใช้ในการทดลองมีน้ำหนักสดของแคลลัสสูงสุด เท่ากับ 1.542 ± 0.649 g (Toomkum and Junkasiraporn, 2019) นอกจากนี้ในหยาดน้ำค้างนิวซีแลนด์ พบว่า แคลลัสที่พัฒนาบนอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1 mg/L ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0.2 mg/L ซึ่งเป็นความเข้มข้นต่ำเช่นกัน มีน้ำหนักสดของแคลลัสสูงสุด เท่ากับ 0.36 ± 0.0957 g (Banharn and Ngoentem, 2021)

885/66.indd 77 28/8/2566 BE 15:03

4. สรุปผลการทดลอง

อาหารสูตร ½ MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 mg/L ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0.2 mg/L สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสสูงสุด 87.50 ± 0.00 % แคลลัสมีน้ำหนักสดและแห้งสูงสุด เท่ากับ 475.95 ± 40.35 mg และ 58.10 ± 1.30 mg ตามลำดับ โดยแคลลัสที่พัฒนามีลักษณะเกาะกันแน่น และมีสีแดงปนเหลือง

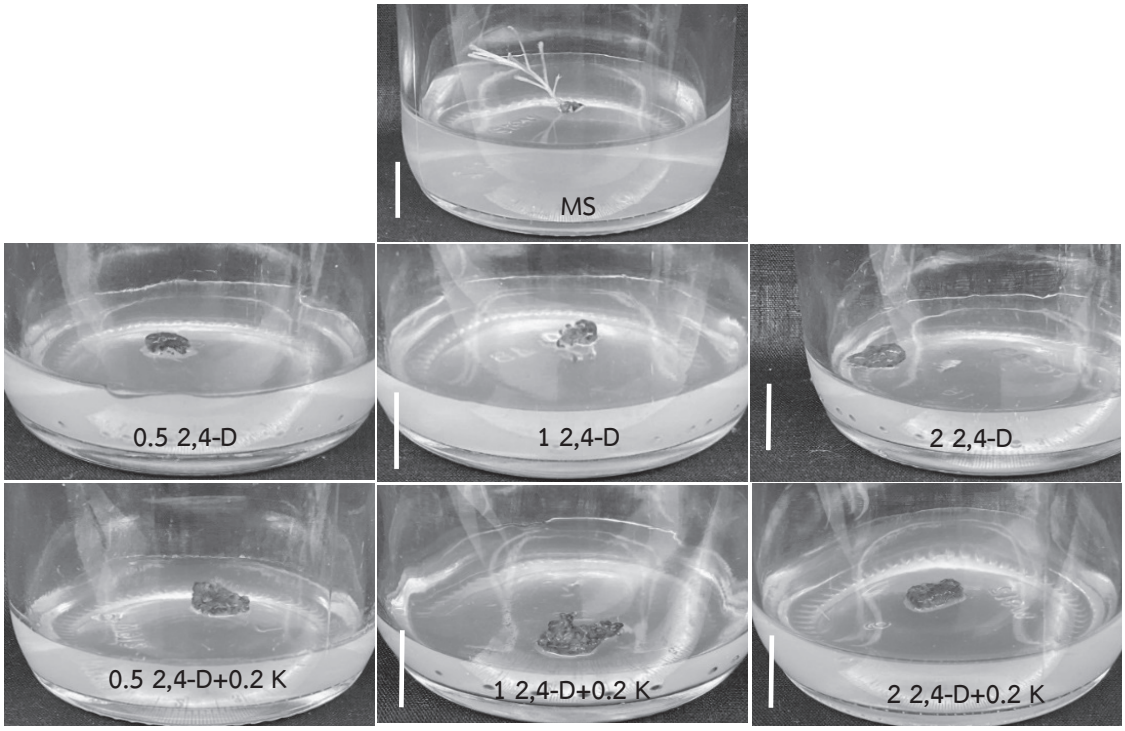

Figure 1 Shoot and callus induction after leaf explants of *Drosera spatulata* were cultured on ½ MS medium supplemented with 0, 0.5, 1 and 2 mg/L 2,4-D in combination with or without 0.2 mg/L kinetin for 6 weeks.

885/66.indd 78 28/8/2566 BE 15:03

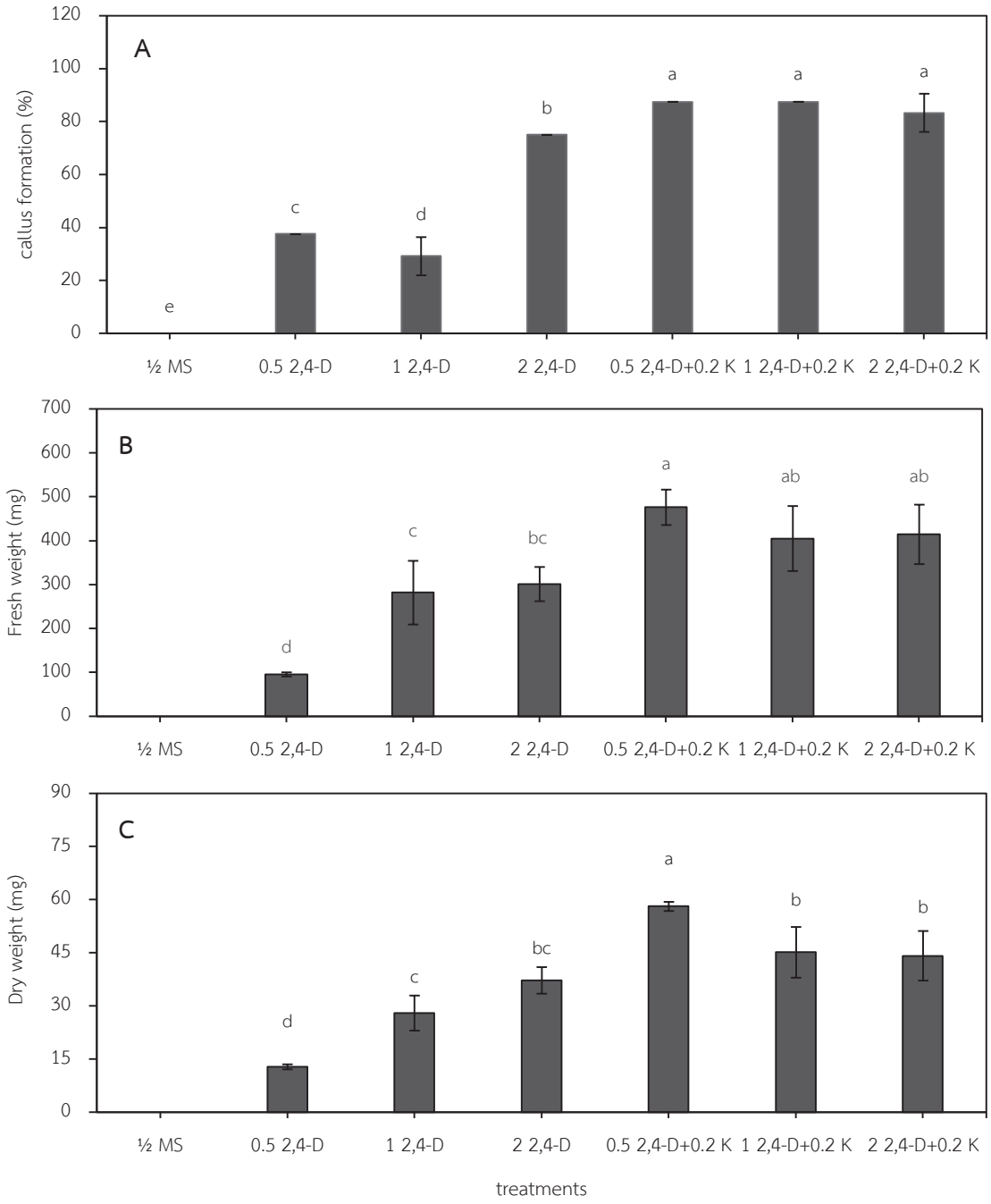

Figure 2 A) callus formation (%), B) callus fresh weight (mg) and C) callus dry weight (mg) after leaf explants were cultured on ½ MS medium supplemented with 0, 0.5, 1 and 2 mg/L 2,4-D in combination with or without 0.2 mg/L kinetin for 6 weeks.

885/66.indd 79 28/8/2566 BE 15:03

5. References

[1] Balaji, V. R. and Asirvatham, R., 2015, *In vitro* anticancer and antioxidant activity studies on *Drosera peltata* J.E.Sm., Spatula DD 5: 183-189.

[2] Banharn, S. and Ngoentem, C., 2021, The Influence of plant growth regulators and chitosan on *Drosera adelae* F. Muell. *in vitro* condition, Burapha Science Journal 26: 753-769. (in Thai)

[3] Bhojwani, S. S. and Razdan, M. K., 1996, Plant Tissue Culture: Theory and Practice, Elsevier Science, Amsterdam, 766 p.

[4] Chuakul, W., 2000, Isaan medicinal plants, In Chuakul, W., Prathanturarug, S. and Saralamp, P. (Eds.), Encyclopedia of medicinal plant, vol. 4, Amarin printing, Mahidol University, Bangkok, Thailand.

[5] Dalila, D. Z., Jaafar, H. and Manaf, A. A., 2013, Effects of 2,4-D and kinetin on callus induction of *Barringtonia racemose* leaf and endosperm explants in different types of basal media, Asian J. Plant Sci. 12: 21-27.

[6] Didry, N., Dubreuil, L., Trotin, F. and Pinkas, M., 1998, Antimicrobial activity of aerial parts of *Drosera peltata Smith* on oral bacteria, J. Ethnopharmacol. 60: 91-96.

[7] Fukushima, K., Nagai, K., Hoshi, Y., Masumoto, S., Mikami, I., Takahashi, Y., Oike, H. and Kobori, M., 2009. *Drosera rotundifolia* and *Drosera tokaiensis* suppress the activation of HMC-1 human mast cells, J. Ethnopharmacol. 125: 90-96.

[8] George, E. F., Hall, M. A. and De Klerk, G. J., 2008, Plant Propagation by Tissue Culture, 3rd Edition, Springer, Dordrecht, 502 p.

[9] Krongtam, R. and Junkasiraporn, S., 2019, In vitro plant regeneration and callus induction from leaf explants of sundews (*Drosera spathulata* Labill. and *Drosera adelae* F. Muell.), Burapha Science Journal 24: 1205-1219. (in Thai)

[10] Kuo, P., Hsu, Y. and Cho, C., 2006, Plumbagin induces G2-M arrest and autophagy by inhibiting the AKT/ mammalian target of rapamycin pathway in breast cancer cells, Mol. Cancer Ther. 5: 3209–3222.

[11] Marchant, N. G., Aston, H. I. and George, A. S., 1982, Droseraceae, pp. 9-66, In George, A.S. (Ed.)., Flora of Australia, Vol. 8, Australian Government Publishing Service, Canberra.

[12] Miclea, I. and Zahan, M., 2017, Propagation of *Drosera rotundifolia* and *Drosera capensis* in an in *vitro* culture system, Bull. UASVM Ani. Sci. Biotechnol. 74: 144–148.

[13] Novitasari, Y. and Isnaini, Y., 2021, Propagation of pitcher plants (*Nepenthes gracilis* KORTH. and *Nepenthes reinwardtiana* MIQ.) through callus induction, J. Agric. 33: 81-92.

885/66.indd 80 28/8/2566 BE 15:03

[14] Sangdanuch, P. and Dovanvae, W. 2008. Carnivours Plant, Amarin Printing and Publishing, Bangkok, 184 p. (in Thai)

[15] Sidek, N., Nulit, R., Kong, Y. C., Yien, C. Y., Sekeli, R. and EL Barghathi, M. F., 2022, Callogenesis and somatic embryogenesis of *Oryza sativa* L. (cv. Mardi Siraj 297) under the influence of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid and kinetin, AIMS Agric. Food 7: 536–552.

[16] Pierik, R. L. M., 1997, *In Vitro* Culture of Higher Plants, 4th edition. Kluwer Academic Publishers, the Netherlands, 348 p.

[17] Putalun, W., Udomsin, O., Yusakul, G., Juengwatanatrakul, T., Sakamoto, S., Tanaka, H., 2010, Enhanced plumbagin production from *in vitro* cultures of *Drosera burmanii* using elicitation, Biotechnol. Lett. 32: 721–724.

[18] Rivadavia, F., Miranda, V. F. O., Hoogenstrijd, G., Pinheiro, F., Heubl, G. and Fleischmann, A., 2012, Is *Drosera meristocaulis* a pygmy sundew? Evidence of a long-distance dispersal between Western Australia and Northern South America, Ann. Bot. 110: 11-21.

[19] Samaj, J., Blehova, A., Repcak, M., Ovecka, M. and Bobak, M., 1999, *Drosera* species (Sundew): *In vitro* culture and the production of plumbagin and other secondary metabolites, Biotechnol. Agric. For. 43: 105-135.

[20] Toomkum, C. and Junkasiraporn, S., 2019, induction of callus and ploidy level inspection from tissue culture of sundew (*Drosera indica L.*) in sterile condition, Burapha Science Journal 24: 929-944. (in Thai)

[21] Wannakrairoj, S., Tubpatud, Y., Nontaswatsri, C., Kunasakdakul, K., Charoensub, R., Vanaprasert, P., Chuntaratin, P. and Ong, R. L., 2021, Principle of Plant Tissue Culture, Kaenchand printing center Co., Ltd., Bangkok, 508 p.

[22] Zenk, M. H., Furbringer, M. and Steglich, W., 1969, Occurrence and distribution of 7-methyljuglone and plumbagin in the Droseraceae, Phytochemistry. 8: 2199-2200.

885/66.indd 81 28/8/2566 BE 15:03