การเพิ่มปริมาณต้นและการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบในสภาพหลอดทดลองของหยาดน้ำค้าง (*Drosera spathulata* Labill. และ *Drosera adelae* F. Muell.)

In vitro Plant Regeneration and Callus Induction from Leaf Explants of Sundews (*Drosera spathulata* Labill. and *Drosera adelae* F. Muell.)

รุ่งนภา ครองธรรม และ ศิรศาธิญากร จันทร์ขศิราพร*

Rungnapa Krongtam and Sirasatiyakorn Junkasiraporn*

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

Biology Department, Faculty of Science, Burapha University

บทคัดย่อ

การเพิ่มปริมาณต้นและการชักนำให้เกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบในสภาพหลอดทดลองของหยาดน้ำค้าง 2 ชนิด คือ *D. spathulata* Labill. และ *D. adelae* F. Muell. บนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักที่แตกต่างกันคือ MS 1/2MS 1/3MS และ 1/4MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์ เพื่อชักนำให้เกิดต้นใหม่ พบว่าชิ้นส่วนใบของ *D. spathulata* Labill. ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/4MS สามารถถูกชักนำให้เกิดยอดและออกดอกในหลอดทดลองได้ โดยมีจำนวนยอด และจำนวนช่อดอกมากที่สุด ขณะที่ชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/2MS สามารถถูกชักนำให้เกิดรากได้ดี โดยมีจำนวนรากและความยาวรากมากที่สุด สำหรับชิ้นส่วนใบของ *D. adelae* F. Muell ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/4MS สามารถถูกชักนำให้เกิดยอดและรากได้ดีเช่นกัน โดยมีจำนวนยอดและจำนวนรากมากที่สุด และเมื่อนำชิ้นส่วนใบของหยาดน้ำค้างทั้ง 2 ชนิดไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/4MS ที่เติม BA 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส พบว่าชิ้นส่วนใบของหยาดน้ำค้างทั้ง 2 ชนิด ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/4MS ที่เติม BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการพัฒนาเป็นแคลลัสได้ โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางและน้ำหนักสดของแคลลัสมากที่สุด แต่ชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/4MS ที่ไม่เติม BA จะเห็นได้ว่า ชิ้นส่วนใบถูกชักนำให้มีการสร้างยอดและรากเกิดขึ้น หลังจากนั้นนำยอดที่ได้ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/4MS ที่เติม IBA 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนยอดของ *D. spathulata* Labill. ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/4MS ที่เติม IBA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนรากมากที่สุด ส่วนชิ้นส่วนยอดของ *D. adelae* F. Muell. ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/4MS ที่เติม IBA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนรากมากที่สุด

คำสำคัญ : การชักนำให้เกิดแคลลัส, การออกดอกในหลอดทดลอง, สารควบคุมการเจริญเติบโต, หยาดน้ำค้าง

***Corresponding author. E-mail :** siripan@go.buu.ac.th

Abstract

In vitro plant regeneration and callus induction using leaf explants of two Sundew species, *D. spathulata* Labill. and *D. adelae* F. Muell. were examined on semi-solid MS media with varied strength of concentration, MS, 1/2MS, 1/3MS and 1/4MS, for 8 weeks. The result found that leaf explants of *D. spathulata* Labill. cultured on 1/4MS media could be induced shoot and flowering as well as the highest number of shoot and inflorescences. While the leaf explants cultured on 1/2MS media could be induced the root production with the highest of root number and root length. For the leaf explants of *D. adelae* F. Muell. cultured on 1/4MS media, they could be induce shoots and roots production with the highest number of shoot and root. To induce callus, the leaf explants were cultured on 1/4MS medium with varied 0, 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mg/l BA, for 8 weeks. The leaf explants of both species cultured on 1/4MS media with 0.5 mg/l BA gave the best development of callus with the longest diameter and the highest fresh weight of callus, while the leaf explants cultured on 1/4MS media without BA could be induced shoots and root production. When new shoot were cultured on the 1/4MS media with 0, 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mg/l IBA, for 6 weeks, the shoot of *D. spathulata* Labill. cultured on 1/4MS with 1.5 mg/l IBA had the highest number of root. While the shoot explants of *D. adelae* F. Muell. culturing on 1/4MS media containing 1.0 mg/l IBA had the highest number of root.

Keywrods : callus induction, *in vitro* flowering, plant growth regulators, sundews

บทนำ

หยาดน้ำค้าง (Sundew) เป็นพืชกินแมลงในวงศ์ Droseraceae สกุล *Drosera* พืชในสกุลนี้มีอยู่ประมาณ 170 สปีชีส์ (Thaweesak *et al*., 2011) มีการกระจายทั่วไปหลายภูมิภาคของโลก (Chuntaratin, 2013) ขนาดของต้นมีหลากหลายขนาดตั้งแต่ขนาดเล็กไปจนถึงขนาดใหญ่ (Charoenma, 2008) จากลักษณะความแปลกตา ความสวยงามของน้ำเหนียว ที่หยาดน้ำค้างสร้างขึ้น และสีสันของต้นหยาดน้ำค้างที่มีทั้งสีเขียวและสีแดง จึงทำให้หยาดน้ำค้างเป็นไม้ประดับที่มีความสวยงาม ปัจจุบันคนไทยจึงรู้จักต้นหยาดน้ำค้างมากขึ้นทำให้มีการขยายพันธุ์ในเชิงการค้าอย่างจริงจัง ผู้ขยายพันธุ์บางรายสามารถขยายพันธุ์และส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ ซึ่งต้นหยาดน้ำค้างบางสายพันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศมีความสวยงาม และซื้อขายกันในราคาสูง (Charoenma, 2008; Chuntaratin, 2013) นอกจากความสวยงาม และลักษณะที่แปลกตาของต้นหยาดน้ำค้างแล้ว ต้นหยาดน้ำค้างยังเป็นพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ใช้ในการขับเสมหะ ขับปัสสาวะ คลายการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ (Banasiuk *et al*., 2012) มีฤทธิ์ในการต้านมะเร็ง (Krolicka *et al*., 2008) ต้านเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ ต้านการอักเสบ และใช้รักษาโรคติดเชื้อต่าง ๆ อีกด้วย (Jayaram & Prasad, 2008) ทำให้มีการนำเอาหยาดน้ำค้างที่อยู่ในธรรมชาติมาสกัดสารทุติยภูมิ เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ ในการผลิตยา เครื่องสำอาง และอุตสาหกรรมอาหาร (Banasiuk *et al*., 2012) จากคุณลักษณะที่สวยงามและประโยชน์ทางเภสัชวิทยาของต้นหยาดน้ำค้างที่กล่าวมาข้างต้น ทำให้มีการนำพืชชนิดนี้ออกมาจากธรรมชาติมากขึ้น อีกทั้งยังมีปัญหาในด้านการบุกรุกป่าที่เป็นถิ่นที่อยู่อาศัยของหยาดน้ำค้างมากขึ้น ส่งผลให้หยาดน้ำค้างในธรรมชาติ มีปริมาณลดลงอย่างรวดเร็วและใกล้สูญพันธุ์ไปจากธรรมชาติ ซึ่งการขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ดของพืชกินแมลงนั้นมีข้อจำกัดหลายประการเช่น การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ของพืชกินแมลงต้องเก็บในสภาพที่เหมาะสม แต่เมล็ดจะยังคงมีชีวิตอยู่ได้เป็นเวลานานแม้จะมีอายุมากกว่าสิบปี เช่น เมล็ดของหยาดน้ำค้าง (*Drosera*) ต้องมีการเก็บรักษาเมล็ดในถุงพลาสติกหรือถุงกระดาษและเก็บไว้ใน

ตู้เย็นที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส ไม่ควรเก็บเมล็ดไว้ในที่แห้งและชื้น เนื่องจากระดับความชื้นสัมพัทธ์ที่สูงกว่าศูนย์จะช่วยให้เมล็ดมีชีวิตอยู่ได้นาน หรือเมล็ดของพิงกุย (*Pinguicula*) สามารถเก็บไว้ในน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว นอกจากนี้ระยะเวลาในการงอกของพืชกินแมลงยังต้องใช้ระยะเวลานาน เช่น เมล็ดของหม้อข้าวหม้อแกงลิง (*Nepenthes*) หยาดน้ำค้าง (*Drosera*) และซาราซีเนีย (*Saracenia)* ใช้ระยะเวลาในการงอก 1-3 ปี ซึ่งสามารถกระตุ้นการงอกได้โดยใช้กรดจิบเบอเรลลิกหรือการให้อุณหภูมิต่ำ (stratification) เพื่อทำลายการพักตัวของเมล็ด และกระตุ้นให้เกิดการงอก (Pasek, 1999) ซึ่งจะเห็นได้ว่า การขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ดนั้น ใช้เวลาในการงอกและการเจริญเติบโตเป็นต้นใหม่ค่อนข้างนานนอกจากการขยายพันธุ์โดยการใช้เมล็ดแล้วยังมีการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศด้วยวิธีอื่น ๆ เช่น การปักชำต้นและใบ ซึ่งเป็นวิธีการขยายพันธุ์ที่ทำให้ได้ต้นพืชที่มีลักษณะประจำพันธุ์คงเดิม แต่การขยายพันธุ์ด้วยวิธีการดังกล่าวอาจจะได้ปริมาณน้อยและยังไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาดในระยะเวลาที่สั้น ซึ่งเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชถือเป็นอีกวิธีการหนึ่งที่สามารถใช้ในการขยายพันธุ์พืชชนิดนี้ให้มีศักยภาพสูงได้ เนื่องจากสามารถผลิตต้นพันธุ์ได้เป็นจำนวนมากในระยะเวลาอันรวดเร็ว ได้ต้นปลอดโรค และมีลักษณะคงเดิมทุกประการ อีกทั้งยังสามารถนำวิธีการนี้ไปเพาะขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณประชากรของต้นพืชที่ต้องการได้ (Navaphanich, 2006; Lee, 2008; Chuntaratin, 2013; Charoenwattana, 2014; Taweerodjanakarn *et al*., 2018) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสกุล *Drosera* มีการใช้อาหารสูตร MS ที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักที่แตกต่างกันออกไป เช่น *D. spathulata* Labill. สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/2MS (Ichiishi *et al*., 1999) *D. peltata* Thunb. สามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากที่สุดในอาหารสูตร MS (Kim & Jang, 2004) *D. capensis* L. สามารถเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ทั้งในอาหารเหลวและอาหารกึ่งแข็งสูตร MS (Hook, 2001; Krolicka *et al*., 2008; Ziaratnia *et al*., 2009) นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยอื่น ๆ เช่น การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดของ *D. indica* L. บนอาหารสูตร 1/4MS ที่เติม BA พบว่าชิ้นส่วนยอดสามารถถูกชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้มากขึ้น (Jayaram & Prasad, 2007) การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกาบและใบอ่อนของกาบหอยแครง (*Dionaea muscipula* Soland. Ex Ellis) บนอาหารสูตร 1/2MS ที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถถูกชักนำให้เกิดแคลลัสได้ และแคลลัสที่เกิดขึ้นเมื่อนำไปเพาะเลี้ยงต่อสามารถถูกชักนำให้เป็นยอดและรากได้มากที่สุด (Jala & Phaitune, 2013) และการชักนำรากจากชิ้นส่วนยอดของกาบหอยแครง (*Dionaea muscipula* Ellis) โดยการเติม IBA 0.5 ไมโครโมลาร์ ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร 1/3MS สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนยอดเกิดรากได้มากที่สุด (Jang *et al*. , 2003) จากงานวิจัยที่สืบค้นมาข้างต้น ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะนำวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้เพื่อนำมาขยายพันธุ์ต้นหยาดน้ำค้างให้ได้ปริมาณมาก โดยการศึกษาระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของหยาดน้ำค้าง *D. spathulata* Labill. และ *D. adelae* F.Muell. รวมถึงระดับความเข้มข้นของ BA ที่ส่งผลต่อการเจริญและพัฒนาของชิ้นส่วนใบและระดับความเข้มข้นของ IBA ที่ส่งผลต่อการการเจริญและพัฒนาเป็นต้นใหม่ของชิ้นส่วนยอด ซึ่งข้อมูลในการทดลองครั้งนี้สามารถนำไปใช้ในการเพาะขยายพันธุ์หยาดน้ำค้างและการเพิ่มปริมาณของหยาดน้ำค้างทั้งสองชนิดได้

วิธีดำเนินการวิจัย

ผลของความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบ

นำชิ้นส่วนใบหยาดน้ำค้าง 2 ชนิด คือ *D. spathulata* Labill. และ *D. adelae* F. Muell. ที่ได้จากต้นปลอดเชื้อที่มีการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/2MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีย้ายเปลี่ยนอาหารมาแล้ว 4/ ครั้ง ตัดชิ้นส่วนใบให้มีขนาด 0.5×0.5 ตารางเซนติเมตร นำชิ้นส่วนใบที่ตัดให้ได้ขนาดดังกล่าวมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS 1/2MS 1/3MS และ 1/4MS ที่มีค่า pH 5.8 เพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 2,700 ลักซ์ ให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ทำการทดลอง 4 ชุดการทดลอง ๆ ละ 20 ซ้ำ ๆ ละ 1 ชิ้นส่วน โดยเพาะเลี้ยง

เป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกจำนวนยอด จำนวนราก ความยาวราก เส้นผ่านศูนย์กลางของกระจุกใบที่โคนต้น และจำนวนช่อดอก ในการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของกระจุกใบที่โคนต้น ก่อนทำการวัดเมื่อนำชิ้นส่วนยอดที่เกิดใหม่ออกจากขวดทดลองแล้ว ทำการคลี่ส่วนใบออก และวัดเส้นผ่านศูนย์กลางด้านที่ยาวมากที่สุด

เมื่อเพาะเลี้ยงครบ 8 สัปดาห์ จนได้ต้นใหม่ นำชิ้นส่วนใบและยอดจากต้นปลอดเชื้อในชุดการทดลองที่ได้ผลดีที่สุดมาใช้ในการทดลองขั้นต่อไปคือ การศึกษาผลของความเข้มข้นของ BA ต่อการเจริญและพัฒนาของชิ้นส่วนใบและการศึกษาผลของความเข้มข้นของ IBA ที่เหมาะสมต่อการเจริญและพัฒนาเป็นต้นใหม่ของชิ้นส่วนยอด

ผลของความเข้มข้นของ BA ต่อการเจริญและพัฒนาของชิ้นส่วนใบ

นำชิ้นส่วนใบหยาดน้ำค้าง 2 ชนิด คือ *D. spathulata* Labill. และ *D. adelae* F. Muell ที่ได้การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบบนอาหารสูตร 1/4MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์ นำชิ้นส่วนใบมาตัดให้มีขนาด 0.5×0.5 ตารางเซนติเมตร แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/4MS ที่เติม BA 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 2,700 ลักซ์ ให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ทำการทดลองทั้งหมด 5 ชุดการทดลอง ๆ ละ 20 ซ้ำ ๆ ละ 1 ชิ้นส่วน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกเส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัส น้ำหนักสดแคลลัส เส้นผ่านศูนย์กลางของกระจุกใบที่โคนต้น จำนวนยอด และจำนวนราก

เมื่อเพาะเลี้ยงครบ 8 สัปดาห์ ในชุดการทดลองที่ชิ้นส่วนใบถูกชักนำให้เกิดยอดและราก นำชิ้นส่วนยอดที่เกิดใหม่ที่มีความยาวประมาณ 0.5±0.2 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตรเดิม และในชุดการทดลองที่ชิ้นส่วนใบถูกชักนำให้เกิดแคลลัสนั้น นำแคลลัสมาตัดให้มีขนาด 0.5×0.5 ตารางเซนติเมตร แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิม ทำการเปลี่ยนถ่ายอาหารเมื่อครบ 16 สัปดาห์ และเพาะเลี้ยงต่อไปอีกจนครบ 24 สัปดาห์ บันทึกเส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัส น้ำหนักสดแคลลัส เส้นผ่านศูนย์กลางของกระจุกใบที่โคนต้น จำนวนยอด และจำนวนราก

ผลของความเข้มข้นของ IBA ที่เหมาะสมต่อการเจริญและพัฒนาเป็นต้นใหม่ของชิ้นส่วนยอด

นำชิ้นส่วนยอดของหยาดน้ำค้างทั้ง 2 ชนิด คือ *D. spathulata* Labill. และ *D. adelae* F. Muell. ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบบนอาหารสูตร 1/4MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยตัดชิ้นส่วนยอดที่มีความยาวประมาณ 0.5±0.2 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/4MS ที่เติม IBA 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 2,700 ลักซ์ ให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน รวม 5 ชุดการทดลอง ๆ ละ 20 ซ้ำ ๆ ละ 1 ชิ้นส่วน เป็นเวลา 6 สัปดาห์ บันทึกเส้นผ่านศูนย์กลางของกระจุกใบที่โคนต้น จำนวนยอด และจำนวนราก

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design) โดยแสดงผลการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของชุดการทดลอง และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรม SPSS version 20

ผลการวิจัย

ผลของความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบ

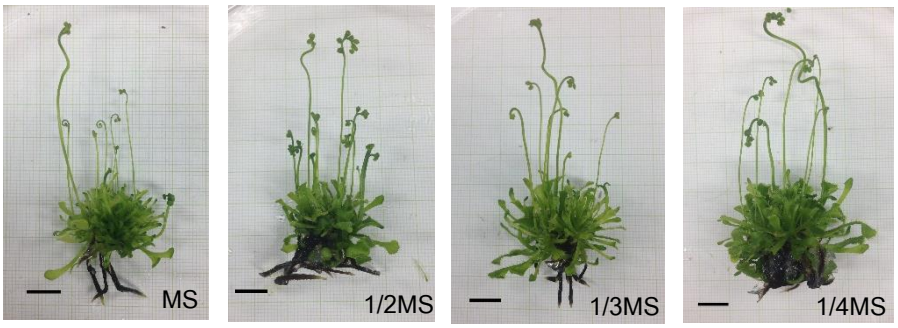
จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของ *D. spathulata* Labill. บนอาหารเพาะเลี้ยงที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักในอาหารสูตร MS ที่แตกต่างกัน คือ MS 1/2MS 1/3MS และ 1/4MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/4MS สามารถถูกชักนำให้เกิดยอดและการออกดอกในสภาพหลอดทดลองได้ ยอดที่เกิดขึ้นเกิด

ตรงบริเวณรอบรอยตัดของชิ้นส่วนใบ โดยมีจำนวนยอดมากที่สุดเท่ากับ 20.84±0.98 ยอดต่อชิ้นส่วน เส้นผ่านศูนย์กลางของกระจุกใบที่โคนต้นเท่ากับ 4.12±0.26 เซนติเมตร และมีจำนวนช่อดอกเท่ากับ 6.00±1.41 ช่อต่อชิ้นส่วน แต่จะเห็นได้ว่า ชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/2MS มีการถูกชักนำให้เกิดรากได้ดี โดยมีจำนวนรากมากที่สุดเท่ากับ 22.67±2.97 รากต่อชิ้นส่วน และมีความยาวรากเท่ากับ 1.75±0.35 เซนติเมตร (ตารางที่ 1 และภาพที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลของระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักในอาหารสูตร MS ต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของ *D. spathulata* Labill. ในสภาพหลอดทดลองเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (mean ± S.D.)

สูตรอาหาร	จำนวนยอด (ยอด/ชิ้นส่วน)	จำนวนราก (ราก/ชิ้นส่วน)	ความยาวราก (ซม.)	เส้นผ่านศูนย์กลางของกระจุกใบที่โคนต้น (ซม.)	จำนวนช่อดอก (ช่อ/ชิ้นส่วน)
MS	7.62±0.52^{d}	5.00±1.00^{c}	1.11±0.33^{a}	3.18±0.35^{b}	2.08±0.82^{b}
1/2MS	11.84±0.41^{c}	22.67±2.97^{a}	1.75±0.35^{a}	3.80±0.64^{a}	3.26±0.82^{ab}
1/3MS	13.08±1.10^{b}	15.00±6.48^{ab}	1.54±0.85^{a}	3.74±0.21^{a}	4.67±3.36^{ab}
1/4MS	20.84±0.98^{a}	8.33±2.00^{b}	1.12±0.70^{a}	4.12±0.26^{a}	6.00±1.41^{a}

* *หมายเหตุ :* อักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกัน ทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05



ภาพที่ 1 การเจริญเติบโตของต้นกล้า *D. spathulata* Labill. ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบบนอาหารสูตร MS ที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักแตกต่างกันเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (scale bar เท่ากับ 1 เซนติเมตร)

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของ *D. adelae* F. Muell. บนอาหารสูตร MS ที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักแตกต่างกัน ได้แก่ MS 1/2MS 1/3MS และ 1/4MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/4MS สามารถถูกชักนำให้เกิดยอดและรากได้ดี โดยมีจำนวนยอดมากที่สุดเท่ากับ 40.28±3.42 ยอดต่อชิ้นส่วน จำนวนรากเท่ากับ 25.22±8.76 รากต่อชิ้นส่วน และมีเส้นผ่านศูนย์กลางของกระจุกใบที่โคนต้นเท่ากับ 6.28±0.68 เซนติเมตร แต่จะเห็นได้ว่า ชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/2MS มีการชักนำให้เกิดรากได้ดี โดยมีความยาวรากมากที่สุดเท่ากับ 2.34±1.06 เซนติเมตร (ตารางที่ 2 และภาพที่ 2)

ตารางที่ 2 ผลของระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักในอาหารสูตร MS ต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของ *D. adelae* F. Muell. ในสภาพหลอดทดลองเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (mean ± S.D.)

สูตรอาหาร	จำนวนยอด (ยอด/ชิ้นส่วน)	จำนวนราก (ยอด/ชิ้นส่วน)	ความยาวราก (ซม.)	เส้นผ่านศูนย์กลางของกระจุกใบที่โคนต้น (ซม.)
MS	28.25±2.28^{c}	18.44±10.12^{a}	0.84±0.30^{b}	5.26±0.44^{b}
1/2MS	35.04±2.74^{b}	15.82±6.26^{a}	2.34±1.06^{a}	5.44±0.36^{b}
1/3MS	35.44±3.78^{b}	23.87±11.19^{a}	1.85±0.69^{a}	5.54±0.49^{b}
1/4MS	40.28±3.42^{a}	25.22±8.76^{a}	1.61±0.35^{ab}	6.28±0.68^{a}

** หมายเหตุ :* อักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกัน ทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ภาพที่ 2 การเจริญเติบโตของต้นกล้า *D. adelae* F. Muell. ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบบนอาหารสูตร MS ที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักแตกต่างกันเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (scale bar เท่ากับ 1 เซนติเมตร)

ผลของความเข้มข้นของ BA ต่อการเจริญและพัฒนาของชิ้นส่วนใบ

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของ *D. spathulata* Labill. บนอาหารสูตร 1/4MS ที่เติม BA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ได้แก่ 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/4MS ที่เติม BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชิ้นส่วนใบมีการพัฒนาเป็นแคลลัสได้ดีที่สุด แคลลัสมีสีเขียว ลักษณะเกาะตัวกันแน่น (compact callus) เกิดตรงบริเวณรอบรอยตัดของแผ่นใบ และมีเส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัสมากที่สุดเท่ากับ 2.32±0.36 เซนติเมตร น้ำหนักสดแคลลัสเท่ากับ 1.06±0.39 กรัม แต่จะพบว่าชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/4MS ที่ไม่เติม BA ชิ้นส่วนใบถูกชักนำให้เกิดยอดและรากได้ โดยมีจำนวนยอดเท่ากับ 12.42±4.51 ยอดต่อชิ้นส่วน จำนวนรากเท่ากับ 14.23±3.96 รากต่อชิ้นส่วน และมีเส้นผ่านศูนย์กลางของกระจุกใบที่โคนต้นเท่ากับ 2.66± 0.25 เซนติเมตร (ตารางที่ 3 และภาพที่ 3)

ตารางที่ 3 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของ *D. spathulata* Labill. ในสภาพหลอดทดลองเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (mean ± S.D.)

BA (มิลลิกรัม/ลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัส (ซม.)	น้ำหนักสดแคลลัส (กรัม)	เส้นผ่านศูนย์กลางของกระจุกใบที่โคนต้น (ซม.)	จำนวนยอด (ยอด/ชิ้นส่วน)	จำนวนราก (ราก/ชิ้นส่วน)
0	-	-	2.66±0.25	12.42±4.51	14.23±3.96
0.5	2.32±0.36[a]	1.06±0.39[a]	-	-	-
1.0	2.04±0.18[ab]	1.05±0.29[a]	-	-	-
1.5	1.92±0.08[b]	0.92±0.32[a]	-	-	-
2.0	1.77±0.29[b]	0.49±0.20[b]	-	-	-

* *หมายเหตุ* : อักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกัน ทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ภาพที่ 3 ลักษณะของต้นกล้าและแคลลัสของ *D. spathulata* Labill. จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบบนอาหารสูตร 1/4MS ที่เติม BA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (scale bar เท่ากับ 1 เซนติเมตร)

เมื่อนำชิ้นส่วนยอดและแคลลัสของ *D. spathulata* Labill. ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบบนอาหารสูตร 1/4MS ที่เติม BA 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยคัดเลือกยอดที่มีความยาวประมาณ 0.5±0.2 เซนติเมตร จากชุดการทดลองที่เกิดยอดได้ดีที่สุด คัดเลือกและตัดแคลลัสให้มีขนาด 0.5×0.5 ตารางเซนติเมตร จากชุดการทดลองที่เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด นำไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร 1/4MS ที่เติม BA ในระดับความเข้มข้นเดิม เป็นเวลา 24 สัปดาห์ พบว่าแคลลัสที่นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/4MS ที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร แคลลัสมีการเจริญเพิ่มมากขึ้น โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัสเท่ากับ 2.70±0.34 เซนติเมตร และมีน้ำหนักสดแคลลัสเท่ากับ 1.82±0.48 กรัม แต่จะเห็นได้ว่าชิ้นส่วนแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/4MS ที่เติม BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร แคลลัสถูกชักนำให้เกิดยอดขนาดเล็กจำนวนมาก โดยมีจำนวนยอดมากที่สุดเท่ากับ 32.24±5.59 ยอดต่อชิ้นส่วน แต่ไม่มีการชักนำให้เกิดราก (ตารางที่ 4 และภาพที่ 4) และชิ้นส่วนยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/4MS ที่ไม่เติม BA (ชุดควบคุม) ชิ้นส่วนยอดมีการแตกยอดใหม่เพิ่มมากขึ้นและยอดที่เกิดขึ้นใหม่มีเส้นผ่านศูนย์กลางของกระจุกใบที่โคนต้นเพิ่มขึ้น โดยมีจำนวนยอดเท่ากับ 23.88±5.67 ยอดต่อชิ้นส่วน จำนวนรากเท่ากับ 5.85±4.15 รากต่อชิ้นส่วน และเส้นผ่านศูนย์กลางของกระจุกใบที่โคนต้นเท่ากับ 3.88±0.18 เซนติเมตร (ตารางที่ 4 และภาพที่ 4)

ตารางที่ 4 ผลของ BA ต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดและแคลลัสของ *D. spathulata* Labill.ในสภาพหลอดทดลอง เป็นเวลา 24 สัปดาห์ (mean ± S.D.)

BA (มิลลิกรัม/ลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัส (ซม.)	น้ำหนักสดแคลลัส (กรัม)	เส้นผ่านศูนย์กลางของกระจุกใบที่โคนต้น (ซม.)	จำนวนยอด (ยอด/ชิ้นส่วน)	จำนวนราก (ราก/ชิ้นส่วน)
0	-	-	3.88±0.18	23.88±5.67[b]	5.85±4.15
0.5	2.66±0.21[b]	1.33±0.34[a]	-	32.24±5.59[a]	-
1.0	2.70±0.34[a]	1.82±0.48[a]	-	13.08±4.30[c]	-
1.5	2.28±0.36[c]	0.84±0.18[ab]	-	20.43±3.29[b]	-
2.0	1.96±0.41[c]	0.72±0.28[b]	-	5.82±2.05[d]	-

* *หมายเหตุ :* อักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

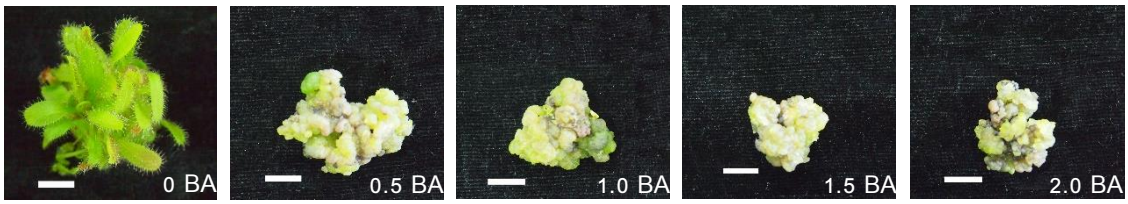
ภาพที่ 4 ลักษณะของต้นกล้าและแคลลัสของ *D. spathulata* Labill. จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบบนอาหารสูตร 1/4MS ที่เติม BA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันเป็นเวลา 24 สัปดาห์ (scale bar เท่ากับ 1 เซนติเมตร)

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของ *D. adelae* F.Muell. บนอาหารสูตร 1/4MS ที่เติม BA 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/4MS ที่เติม BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พัฒนาเป็นแคลลัสได้ดีที่สุด แคลลัสมีสีเขียวอ่อน มีลักษณะเกาะกันแบบหลวม ๆ (friable callus) โดยเกิดบริเวณรอบรอยตัดของแผ่นใบ และมีเส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัสมากที่สุดเท่ากับ 2.72±0.28 เซนติเมตร น้ำหนักสดของแคลลัสเท่ากับ 1.40±0.17 กรัม แต่จะพบว่าชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/4MS ที่ไม่เติม BA (ชุดควบคุม) ชิ้นส่วนใบถูกชักนำให้เกิดเป็นยอดและราก โดยมีจำนวนยอดเท่ากับ 24.64±8.88 ยอดต่อชิ้นส่วน จำนวนรากเท่ากับ 20.03±2.92 รากต่อชิ้นส่วน และเส้นผ่านศูนย์กลางของกระจุกใบที่โคนต้นเท่ากับ 5.92±0.64 เซนติเมตร (ตารางที่ 5 และภาพที่ 5)

ตารางที่ 5 ผลของ BA ต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของ *D. adelae* F. Muell. ในหลอดทดลองเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (mean ± S.D.)

BA (มิลลิกรัม/ลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัส (ซม.)	น้ำหนักสดแคลลัส(กรัม)	เส้นผ่านศูนย์กลางของกระจุกใบที่โคนต้น(ซม.)	จำนวนยอด (ยอด/ชิ้นส่วน)	จำนวนราก (ราก/ชิ้นส่วน)
0	-	-	5.92±0.64	24.64±8.88	20.03±2.92
0.5	2.72±0.28[a]	1.40±0.17[a]	-	-	-
1.0	2.36±0.23[ab]	0.99±0.27[b]	-	-	-
1.5	2.28±0.36[b]	0.96±0.40[b]	-	-	-
2.0	2.04±0.29[b]	0.86±0.23[b]	-	-	-

** หมายเหตุ :* อักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05



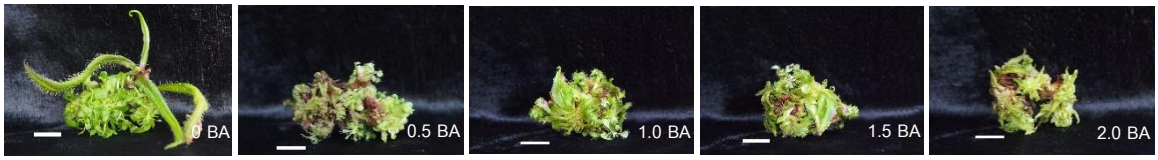
ภาพที่ *5* ลักษณะของต้นกล้าและแคลลัสของ *D. adelae* F. Muell จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบบนอาหารสูตร 1/4MS ที่เติม BA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (scale bar เท่ากับ 1 เซนติเมตร)

เมื่อนำชิ้นส่วนยอดและแคลลัสของ *D. adelae* F.Muell. ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ มาเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตรเดิมเป็นเวลา 24 สัปดาห์ พบว่าแคลลัสที่นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/4MS ที่เติม BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเจริญของแคลลัสเพิ่มมากขึ้น โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัสมากที่สุดเท่ากับ 2.84±0.47 เซนติเมตร และมีน้ำหนักสดแคลลัสเท่ากับ 1.77±0.47 กรัม แคลลัสสามารถถูกชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก โดยมีจำนวนยอดมากที่สุดเท่ากับ 25.23±3.03 ยอดต่อชิ้นส่วน แต่ไม่มีการชักนำให้เกิดราก และเห็นได้ว่าชิ้นส่วนยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/4MS ที่ไม่เติม BA ยอดใหม่ที่ได้มีเส้นผ่านศูนย์กลางของกระจุกใบที่โคนต้นมีมากขึ้น แต่มีจำนวนยอดและรากลดลง โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของกระจุกใบที่โคนต้นเท่ากับ 7.46±0.50 เซนติเมตร จำนวนยอดเท่ากับ 16.06±2.55 ยอดต่อชิ้นส่วน และจำนวนรากเท่ากับ 6.26±1.92 รากต่อชิ้นส่วน (ตารางที่ 6 และภาพที่ 6)

ตารางที่ 6 ผลของ BA ต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดและแคลลัสของ *D. adelae* F. Muell. ในหลอดทดลองเป็นเวลา 24 สัปดาห์ (mean ± S.D.)

BA (มิลลิกรัม/ลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัส (ซม.)	น้ำหนักสดแคลลัส (กรัม)	เส้นผ่านศูนย์กลางของกระจุกใบที่โคนต้น (ซม.)	จำนวนยอด (ยอด/ชิ้นส่วน)	จำนวนราก (ราก/ชิ้นส่วน)
0	-	-	7.46±0.50	16.06±2.55^{bc}	6.26±1.92
0.5	2.84±0.47^{a}	1.77±0.47^{a}	-	25.23±3.03^{a}	-
1.0	2.66±0.42^{a}	1.14±0.53^{a}	-	19.08±2.92^{b}	-
1.5	2.42±0.39^{a}	1.04±0.50^{a}	-	14.07±1.58^{cd}	-
2.0	2.62±0.16^{a}	1.44±0.44^{a}	-	10.82±2.28^{d}	-

** หมายเหตุ :* อักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05



ภาพที่ 6 ลักษณะของต้นกล้าและแคลลัสของ *D. adelae* F. Muell จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบบนอาหารสูตร 1/4MS ที่เติม BA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันเป็นเวลา 24 สัปดาห์ (scale bar เท่ากับ 1 เซนติเมตร)

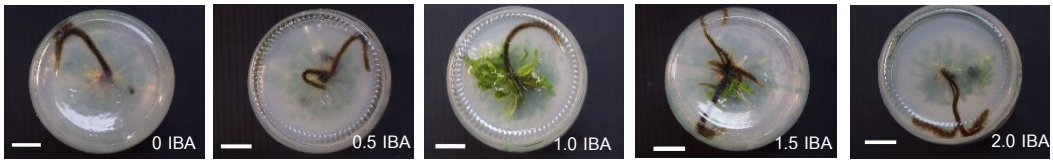
ผลของความเข้มข้นของ IBA ที่เหมาะสมต่อการเจริญและพัฒนาเป็นต้นใหม่ของชิ้นส่วนยอด

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดของ *D. spathulata* Labill. บนอาหารสูตร 1/4MS ที่เติม IBA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ได้แก่ 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/4MS ที่เติม IBA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ถูกชักนำให้เกิดยอดและรากเพิ่มขึ้น โดยมีจำนวนรากเท่ากับ 11.66±4.39 รากต่อชิ้นส่วน จำนวนยอดเท่ากับ 20.22±6.06 ยอดต่อชิ้นส่วน และมีเส้นผ่านศูนย์กลางของกระจุกใบที่โคนต้นเท่ากับ 4.24±0.53 เซนติเมตร (ตารางที่ 7 และภาพที่ 7)

ตารางที่ 7 ผลของ IBA ต่อการเจริญและพัฒนาเป็นต้นใหม่ของ *D. spathulata* Labill. จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดในสภาพหลอดทดลอง เป็นเวลา 6 สัปดาห์ (mean ± S.D.)

ปริมาณ IBA (มิลลิกรัม/ลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางของกระจุกใบที่โคนต้น(ซม.)	จำนวนยอด (ยอด/ชิ้นส่วน)	จำนวนราก (ราก/ชิ้นส่วน)
0	3.92±1.08^{ab}	7.23±4.09^{b}	5.61±3.71^{b}
0.5	3.26±0.15^{b}	8.82±3.03^{b}	7.08±1.41^{b}
1.0	4.24±0.50^{a}	17.86±3.70^{a}	9.06±1.73^{ab}
1.5	4.42±0.53^{a}	20.22±6.06^{a}	11.66±4.39^{a}
2.0	3.94±0.42^{ab}	19.64±4.82^{a}	8.82±2.49^{ab}

** หมายเหตุ :* อักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05



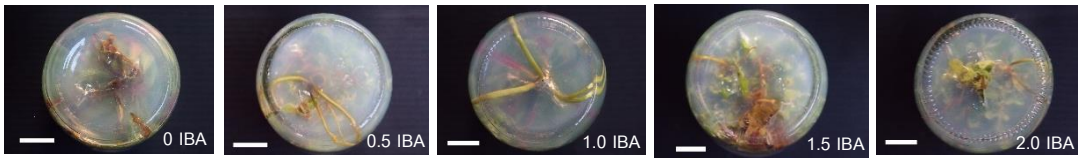
ภาพที่ 7 ลักษณะการเจริญของรากจากต้นกล้าของ *D. spathulata* Labill. จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดบนอาหารสูตร 1/4MS ที่เติม IBA ที่ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันเป็นเวลา 6 สัปดาห์ (scale bar เท่ากับ 1 เซนติเมตร)

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดของ *D. adelae* F. Muell. บนอาหารสูตร 1/4MS ที่เติม IBA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ได้แก่ 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนยอดสามารถถูกชักนำให้เกิดรากได้ดีเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/4MS ที่เติม IBA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีจำนวนรากเท่ากับ 6.49±1.52 รากต่อชิ้นส่วน และมีเส้นผ่านศูนย์กลางของกระจุกใบที่โคนต้นเท่ากับ 10.12±2.58 เซนติเมตร แต่ในทางตรงกันข้ามชิ้นส่วนยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/4MS ที่เติม IBA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชิ้นส่วนยอดถูกชักนำให้เกิดยอดเป็นจำนวนมาก โดยมีจำนวนยอดเท่ากับ 44.01±7.31 ยอดต่อชิ้นส่วน (ตารางที่ 8 และภาพที่ 8)

ตารางที่ 8 ผลของ IBA ต่อการเจริญและพัฒนาเป็นต้นใหม่ของ *D. adelae* F. Muell. จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดในสภาพหลอดทดลองเป็นเวลา 6 สัปดาห์ (mean ± S.D.)

IBA (มิลลิกรัม/ลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางของกระจุกใบที่โคนต้น (ซม.)	จำนวนยอด (ยอด/ชิ้นส่วน)	จำนวนราก (ราก/ชิ้นส่วน)
0	9.24±2.77^{a}	12.21±5.81^{c}	3.24±1.64^{bc}
0.5	9.94±0.79^{a}	9.05±7.42^{c}	4.62±1.67^{b}
1.0	10.12±2.58^{a}	5.87±2.39^{c}	6.49±1.52^{a}
1.5	8.30±1.73^{ab}	22.80±4.71^{b}	2.28±0.84^{c}
2.0	6.56±0.45^{b}	44.01±7.31^{a}	1.46±0.55^{c}

** หมายเหตุ :* อักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05



ภาพที่ 8 ลักษณะการเจริญของรากจากต้นกล้าของ *D. adelae* F. Muell. จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดบนอาหารสูตร 1/4MS ที่เติม IBA ที่ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันเป็นเวลา 6 สัปดาห์ (scale bar เท่ากับ 1 เซนติเมตร)

วิจารณ์ผลการวิจัย

จากผลการทดลองที่กล่าวมาข้างต้น จะเห็นได้ว่าการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของหยาดน้ำค้างทั้ง 2 ชนิด บนอาหารสูตร 1/4MS ชิ้นส่วนใบของหยาดน้ำค้างทั้งสองชนิดถูกชักนำให้เกิดยอดได้ดีและให้ผลคล้ายคลึงกัน แต่การถูกชักนำให้เกิดราก มีความแตกต่างกันคือ ชิ้นส่วนใบของ *D. spathulata* Labill. ถูกชักนำให้เกิดรากได้ดีเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/2MS แต่ชิ้นส่วนใบของ *D. adelae* F. Muell. ถูกชักนำให้เกิดรากได้ดีบนอาหาร 1/4MS ซึ่งจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าอาหารสูตร 1/4MS และ 1/2MS มีผลในการชักนำให้เกิดยอดและรากได้ดีที่สุดในหยาดน้ำค้างทั้ง 2 ชนิดนี้ โดยอาหารทั้งสองสูตรมีการลดความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักลงครึ่งหนึ่งหรือ 1 ใน 4 ส่วน แต่หยาดน้ำค้างก็สามารถเจริญเติบโตได้ ทั้งนี้เนื่องจากในสภาพธรรมชาติพืชกินแมลงเหล่านี้มีการเจริญเติบโตในถิ่นที่อยู่อาศัยที่ดินขาดแคลนธาตุอาหาร มีธาตุไนโตรเจนและฟอสฟอรัสต่ำ (Ziaratmai *et al*., 2009) จึงจำเป็นต้องมีการปรับตัวเพื่อให้อยู่รอดได้ในสภาพดังกล่าว (Adamec, 1997) ซึ่งจากรายงานวิจัยของ Songsri *et al*., (2013) ได้เสนอแนะว่า อาหารเพาะเลี้ยงที่มีปริมาณเกลือต่ำ (low-salt medium) เหมาะต่อการชักนำให้เกิดรากของพืชเกือบทุกชนิด เนื่องจากการลดปริมาณเกลือลงเป็นการลดความเข้มข้นของไนโตรเจนที่มีในสูตรอาหารจึงทำให้พืชออกรากได้ดีขึ้น และจากการทดลองในครั้งนี้พบว่า อาหารสูตร 1/2MS และ 1/4MS เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของพืชกินแมลงทั้ง 2 ชนิดนี้ เนื่องจากสามารถเจริญเติบโตได้และถูกชักนำให้เกิดยอดและรากได้ดี สอดคล้องกับงานวิจัยของ Chang *et al*. (2016) ที่พบว่าชิ้นส่วนยอดของ *D. spathulata* Labill. ถูกชักนำให้เกิดรากได้มากที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/2MS อีกทั้งรากที่เกิดขึ้นมีความยาวรากมากที่สุดด้วย นอกจากนี้ Grevenstuk *et al*. (2010) ยังได้รายงานว่าการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดของ *D. intermedia* Hayne บนอาหารสูตร 1/4MS มีการเกิดยอดใหม่และสามารถเพิ่มจำนวนยอดได้มากเช่นเดียวกับการศึกษาของ Jayaram & Prasad (2007) ที่แสดงให้เห็นว่าระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักในอาหารสูตร MS มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดและรากของ *D. indica* L. จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดบนอาหารสูตร 1/4MS ส่งผลทำให้มีจำนวนยอด จำนวนราก ความยาวยอดและความยาวรากมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS 1/2MS และ 1/3MS ตามลำดับ อีกทั้งจากรายงานวิจัยของ Jadczak *et al*. (2017) ที่ได้เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดของ *D. rotundifolia* บนอาหารสูตร 1/4MS พบว่าชิ้นส่วนยอดที่เพาะเลี้ยง สามารถถูกชักนำให้เกิดยอดและรากได้มากที่สุดและมีความยาวยอด ความยาวราก มากที่สุด

นอกจากนี้เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบบนอาหารสูตร ¼ MS ที่เติม BA จะเห็นได้ว่า BA ส่งผลต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสได้ ซึ่ง BA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มของไซโตไคนิน ที่มีผลต่อการแบ่งเซลล์ ทำให้เซลล์ยืดยาว โดยผนังเซลล์มีการยืดตัวและมีการสลายแป้งให้กลายเป็นน้ำตาล มีผลทำให้ค่าวอเตอร์โพเทนเชียลภายในเซลล์ลดลง ส่งผลให้น้ำจากภายนอกไหลเข้ามาภายในเซลล์มากขึ้น จึงเกิดการแบ่งเซลล์และพัฒนาเป็นแคลลัสได้ง่าย (Kumlay & Erciski, 2015) อีกทั้ง BA ยังมีผลไปควบคุมการสร้างยอด การพัฒนาของยอดและรากอีกด้วย (Tomaz & Marina, 2010) จากผลการทดลองที่ได้ในครั้งนี้ สอดคล้องกับการทดลองของ Jala & Phaitune (2013) ที่เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกาบและใบอ่อนของต้นกาบหอยแครง (*Dionaea muscipula*) บนอาหารสูตร 1/2MS ที่เติม BA 0.1 0.2 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าเนื้อเยื่อกาบหอยแครง สามารถถูกชักนำให้เกิดเป็นแคลลัสได้ โดยมีแคลลัสเกิดขึ้นที่บริเวณขอบและผิวหน้าของเนื้อเยื่อกาบและใบอ่อน ซึ่งอาหารสูตร 1/2MS ที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าเฉลี่ยปริมาณแคลลัสและความเข้มของสีแดงของแคลลัสสูงที่สุด และเมื่อย้ายแคลลัสที่มีสีแดงไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมอีก 3 ครั้ง เปลี่ยนอาหารทุก 3 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร 1/2MS ที่เติม 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร BA มีผลในการชักนำให้แคลลัสพัฒนาเป็นต้นและรากได้สูงสุด นอกจากนั้นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยการเติม BA เพียงอย่างเดียวยังส่งผลต่อการชักนำให้เกิดยอดอีกด้วย จะเห็นได้จากการศึกษาของ Goncalves & Romano (2005) ที่พบว่าชิ้นส่วนยอด

ของสนน้ำค้าง (*Drosophyllum lusitanicum*) ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA เพียงอย่างเดียว ชิ้นส่วนยอดมีการเกิดยอดใหม่ได้ แต่ไม่สามารถพัฒนาเป็นแคลลัสได้ นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยของ Jayaram & Prasad (2007) ที่ศึกษาการเพิ่มจำนวนของ *D. indica* L. โดยเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA พบว่าชิ้นส่วนยอดถูกชักนำให้เกิดยอดเพิ่มขึ้นแต่ไม่สามารถถูกชักนำให้เกิดรากได้ และงานวิจัยของ Wongchaochant & Phumphothong (2015) ที่เพิ่มจำนวนยอดของต้นกาบหอยแครง *(Dionaea muscipula* Soland. ex Ellis) โดยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดบนอาหารสูตร MS และ 1/2MS ที่เติม BA 0 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ชิ้นส่วนยอดสามารถถูกชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้มากที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/2MS ที่เติม BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

สำหรับการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดบนอาหารสูตร 1/4MS ที่เติม IBA พบว่าชิ้นส่วนยอดสามารถถูกชักนำให้เกิดยอดและรากได้ ซึ่ง IBA จัดเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มของออกซินที่มีฤทธิ์ของออกซินต่ำ เคลื่อนย้ายได้ช้าและสลายตัวได้เร็วพอประมาณ มีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการเร่งรากได้ดี (Techapinyawat, 2001) โดยผลการทดลองที่ได้ในครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Khumdinpitag *et al.* (2004) ที่เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดของหม้อข้าวหม้อแกงลิง (*Nepenthes thorelii*) บนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA 0 0.1 0.5 1.0 และ 2.0 พบว่าชิ้นส่วนยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ทุกระดับความเข้มข้น ชิ้นส่วนยอดสามารถถูกชักนำให้เกิดรากได้ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยจำนวนรากมากที่สุดบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนรากมากสุดเท่ากับ 14.3 รากต่อชิ้นส่วน เช่นเดียวกับการทดลองของ Jang *et al.* (2003) พบว่าชิ้นส่วนยอดของกาบหอยแครง (*Dionaea muscipula* Ellis) ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/3MS ที่เติม IBA 0.5 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด

สรุปผลการวิจัย

การเพิ่มปริมาณต้นและการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบในสภาพหลอดทดลองของหยาดน้ำค้างทั้ง 2 ชนิดพบว่า การเพิ่มปริมาณต้นของ *D. spathulata* Labill. สามารถทำได้โดยการเพาะลี้ยงชิ้นส่วนใบบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ¼ MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ชิ้นส่วนใบสามารถถูกชักนำให้เกิดยอดและรากได้ นอกจากนี้ชิ้นส่วนใบยังสามารถถูกชักนำให้เกิดแคลลัสได้โดยการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/4 MS ที่เติม BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ และได้แคลลัสที่มีลักษณะเกาะตัวกันแน่น เมื่อนำแคลลัสไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตรเดิมที่เติม BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร แคลลัสมีการพัฒนาเป็นยอดได้ ซึ่งยอดที่เกิดขึ้นสามารถนำไปเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำให้เกิดรากได้ต่อไปได้บนอาหารกึ่งแข็งสูตร 1/4 MS ที่เติม IBA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ สำหรับการเพิ่มปริมาณต้นของ *D. adelae* F. Muell. สามารถทำได้โดยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบบนอาหารกึ่งแข็งสูตร 1/4 MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ชิ้นส่วนใบสามารถถูกชักนำให้เกิดเป็นยอดและรากได้ นอกจากนี้ชิ้นส่วนใบ ยังสามารถถูกชักนำให้เป็นแคลลัสได้ โดยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบบนอาหารสูตร 1/4 MS ที่เติม BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ซึ่งแคลลัสที่ได้มีลักษณะเกาะตัวกันอย่างหลวม ๆ และเมื่อย้ายแคลลัสไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิม เป็นเวลา 24 สัปดาห์ แคลลัสมีการพัฒนาเป็นยอดได้ และยอดที่เกิดขึ้นสามารถนำไปชักนำให้เกิดรากได้โดยเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดบนอาหารกึ่งแข็งสูตร 1/4 MS ที่เติม IBA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์

จากการทดลองจะเห็นได้ว่าหยาดค้างทั้ง 2 ชนิดนี้ มีการตอบสนองต่อระดับความเข้มข้นของอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ทั้งในด้านที่คล้ายคลึงกันและแตกต่างกัน กล่าวคือ หยาดน้ำค้างทั้ง 2 ชนิดตอบสนองต่อความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบที่คล้ายคลึงกันโดยให้ผลดีในด้านการชักนำให้เกิดยอดเมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบบนอาหารสูตร 1/4 MS แต่จะเห็นได้ว่า หยาดน้ำค้างทั้ง 2 ชนิดมีการตอบสนองต่อการชักนำให้เกิดราก ความเข้มข้นของ BA และ IBA ที่แตกต่างกัน โดยพิจารณาจากจำนวนราก ความยาวราก ลักษณะของแคลลัส และการเจริญพัฒนาเป็นต้นใหม่

ซึ่งจะเห็นได้ว่าการตอบสนองต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของพืชขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักในสูตร MS และระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต

เอกสารอ้างอิง

Adamec, L. (1997). Mineral nutrition of carnivorous plants. *The Botanical Review*, *63*, 273-299.

Banasiuk, R., Kawiak, A., & Krolicka, A. (2012). *In vitro* cultures of carnivorous plants from the *Drosera* and *Dionaea* genus for the production of biologically active secondary metabolites. *BioTechnologia Journal of Biotechnology, Computational Biology and Bionanotechnology, 93*(2), 87-96.

Chang, H. C., Lu, C. Y., Chen, C. C., Kuo, C. L., Tasay, H. S., & Agrawal, D. C. (2019). Plumbagin, a plant-derived naphthoquinone production in tissue cultures of *Drosera spatulata* Labill. *Biotechnology*, *18*(1), 24-31.

Charoenma, K. (2008). Can insectivorous plants handle insect-eating insects? *Entomology and zoology gazette*, *26*(1), 77-79. (in Thai)

Charoenwattana, P. (2014). *In vitro* cultures and colchicine-induced tetraploidy of Sundew (*Drosera spatulata* Labill.). *International Journal of Environmental and Rural Development*, 5(2), 80-85.

Chuntaratin, P. (2013). Collection and production of carnivorous plants in the genus *Drosera* by plant tissue culture technique. Retrieved from http://qa.bkkthon.ac.th/qa/qa56/132144099.pdf (in Thai)

Goncalves, S., & Romano, A. (2005). Micropropagation of *Drosophyllum lusitanicum* (Dewy pine), an endangered West Mediterranean endemic insectivorous plant. *Biodiversity and Conservation*, *14*, 1071-1081.

Grevenstuk, T., Coelho, N., Goncalves, S., & Romano, A. (2010). *In vitro* propagation of *Droesera intermedia* in a single step. *Biologia Plantarum, 54*(2), 391-394.

Hook, I. L. I. (2001). Naphthaquinone contants of *in vitro* cultured plants and cell suspensions of *Dionaea muscipula* and *Drosera* species. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 67*, 281-285.

Ichiishi, S., Nagamitsu, T., Kondo, Y., Iwashina, T., Kondo, K., & Tagashira, N. (1999). Effects of macro-components and sucrose in the medium on *in vitro* red-color pigmentation in *Dionaea muscipula* Ellis and *Drosera spatulata* Labill. *Plant Biotechnology, 16*(3), 235-238.

Jadczak, P., Kulpa, D., Zbrojewska, A. (2017). *In Vitro* micropropagation of *Drosera rotundifolia*. *World Scientific News*, 66, 75-85.

Jala, A., & Phaitune, s. (2013). Micropropagationof *Dionaea muscipula* by tissue culture. *Thai Journal of Science and Technology*, *2*(2), 134-139. (in Thai)

Jang, G.W., K.S. Kim and R.D. Park. (2003). Micropropagation of Venus fly trap by shoot culture. *Journal of Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 72, 95–98.

Jayaram, K., & Prasad, M. N. V. (2007). Rapid *in vitro* multiplication of *Drosera indica L*.: a vulnerable and medicinally important insectivorous plant. *plant Biotechnol Rep, 1*, doi: 79-84. doi10.1007/s11816-007-0014-7

Jayaram, K., & Prasad, M. N. V. (2008). Rapid *in vitro* multiplication of *Drosera burmanii* Vahl.: a vulnerable and medicinally important insectivorous plant. *Indian Journal of Biotechnology, 7*, 260-265.

Khumdinpitag, A., Krasaechai, A., & Phornsawatchai, T. (2004). *In vitro* propagation of pitcher plant (*Nepenthes thorelii*). *Journal of Agriculture, 20*(1), 1-9.

Kim, K.-S., & Jang, G.-W. (2004). Micropropagation of *Droseara peltata*, a tuberous sundew, by shoot tip culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 77*, 211-214.

Krolicka, A., Szpitter, A., Gilgenast, E., Romanik, G., Kaminski, M., & Lojkowska, E. (2008). Stimulation of antibacterial naphthoquinones and flavonoids accumulation in carnivorous plants grown *in vitro* by addition of elicitors. *Enzyme and Microbial Technology, 42*, 216-221.

Kumlay, A. M., & Ercisli S. (2015). Callus induction, shoot proliferation and root regeneration of potato (*Solanum tuberosum* L.) stem node and leaf explants under long-day conditions. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, *29*(6), 1075-1084.

Lee, L. (2008). Carnivorous plants: new ornamentals. *Chronica Horticulturae*, *48*(4), 11-14.

Navaphanich, U. (2006). *Plant tissue culture*. (1) Bangkok: Ramkhamhaeng University Press. (in Thai)

Pasek, K. (1999). Sowing carnivorous plant seeds. Retrieved from http://www.bestcarnivorousplants.com

Songsri, O., Jirakiattikul, Y., Rithichai, P., & Itharat, A. (2013). Effect of auxin on *In vitro* shoot multiplication and root inductionof Hua-Khao-Yen (*Dioscorea birmanica* Prain&Burkill). *Agricultural Sci. J*., *44*(2), 49-52. (in Thai)

Taweerodjanakarn, S., Kongton, K., Thongyai, K., & Samala, S. (2018). *In vitro* micropropagation of *Drosera burmannii* Vahl. *Songklanakarin Journal of Plant Science*, *5*(3), 18-26. (in Thai)

Techapinyawat, S. (2001). *Plant Physiology*. Bangkok: Publisher Kasetsart University. (in Thai)

Thaweesak, J., Seiichi, S., Hiroyuki, T., & Waraporn, P. (2011). Elicitation effect on production of plumbagin in *in vitro* culture of *Drosera indica* L. *Journal of Medicinal Plants Research, 5*(19), 4949-4953.

Tomaz, R., & Marina, D. (2010). Cytokinins and their function in developing seeds. *Acta Chimica* Slovenica, 57, 617-629.

Wongchaochant, S. & Phumphothong, S. (2015). *In vitro* micropropagation of Venus flytrap (*Dionaea muscipula* Soland. ex Ellis). In *The 53rd Kasetsart University Annual Conference* (pp. 590-650). Bangkok: Kasetsart University. (in Thai)

Ziaratmai, S. M., Kunert K. J., & Lall, N. (2009). Elicitation of 7-methyjuglone in *Drosera capensis*. *South African Journal of Botany*, *75*, 97-103.