



ผลของคุณภาพแสงแอลอีดีต่อการสร้างยอดใหม่ของการเพาะเลี้ยงใบและกระตุ้นการผลิต
สารพลาสมินในหยาดน้ำค้าง (*Drosera* spp.) และกาบหอยแครง (*Dionaea muscipula*
J.Ellis)



ศิริขวัญ วงษ์วานิช

วิทยานิพนธ์เสนอบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา 2562
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยนเรศวร

ผลของคุณภาพแสงแอลอีดีต่อการสร้างยอดใหม่ของการเพาะเลี้ยงใบและกระตุ้นการผลิต
สารพอลัมบาจินในหยาดน้ำค้าง (*Drosera* spp.) และกาบหอยแครง (*Dionaea muscipula*
J.Ellis)



วิทยานิพนธ์เสนอบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา 2562
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยนเรศวร

วิทยานิพนธ์ เรื่อง "ผลของคุณภาพแสงแอลอีดีต่อการสร้างยอดใหม่ของการเพาะเลี้ยงใบและกระตุ้น
การผลิตสารพอลิเบนซินในหยาดน้ำค้าง (*Drosera* spp.) และกาบหอยแครง (*Dionaea muscipula*
J.Ellis)"

ของ ศิริขวัญ วงษ์วานิช

ได้รับการพิจารณาให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

(ดร.ธนากร วงษ์ศา)

..... ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

(ดร.พิทักษ์ อินธิมา)

..... กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายใน

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนุพันธ์ กงบังเกิด)

..... กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายใน

(ดร.กิตติศักดิ์ พุทธชาติ)

อนุมัติ

.....
(ศาสตราจารย์ ดร.ไพศาล มณีสว่าง)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อเรื่อง	ผลของคุณภาพแสงแอลอีดีต่อการสร้างยอดใหม่ของการเพาะเลี้ยงใบและกระตุ้นการผลิตสารพอลิเบนซินในหยาดน้ำค้าง (<i>Drosera</i> spp.) และกาบหอยแครง (<i>Dionaea muscipula</i> J.Ellis)
ผู้วิจัย	ศิริขวัญ วงษ์วานิช
ประธานที่ปรึกษา	ดร. พิทักษ์ อินธิมา
ประเภทสารนิพนธ์	วิทยานิพนธ์ วท.ม. สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, มหาวิทยาลัยนเรศวร, 2562
คำสำคัญ	สารทุติยภูมิ, พืชกินแมลง, HPLC

บทคัดย่อ

พืชในวงศ์ Droseraceae เป็นพืชกินแมลง ที่นำมาใช้ประโยชน์เป็นไม้ประดับและพืชสมุนไพรเพื่อเหนี่ยวนำการสร้างพอลิเบนซิน ซึ่งเป็นสารพิษเคมีที่สำคัญของพืชในวงศ์นี้จึงได้มีการนำมาศึกษาเพื่อหาสูตรอาหารและคุณภาพแสงที่เหมาะสมต่อการผลิตสารทุติยภูมิซึ่งจากการเพาะเลี้ยงใบของหยาดน้ำค้าง และกาบหอยแครงบนอาหารอาหารที่แตกต่างกันเป็นเวลา 60 วันพบว่ากาบหอยแครงนั้นมีอัตราการเกิดยอดใหม่ไม่แตกต่างกันในทุกสูตรอาหาร สำหรับพืชในสกุล *Drosera* นั้น *D. burmanii* ไม่สามารถสร้างยอดใหม่ได้บนอาหารทุกสูตร *D. communis* ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 60 วันมีอัตราการเกิดยอดใหม่ไม่แตกต่างกันในทุกสูตรอาหารและสามารถเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาได้ 100 เปอร์เซ็นต์ *D. peltata* เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร ½MS ที่เติม BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการเกิดยอดใหม่สูงที่สุด *D. adalea* สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่มากที่สุดบนอาหาร ½MS ที่เติม BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

และเมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของหยาดน้ำค้างและกาบหอยแครงภายใต้คุณภาพแสงที่แตกต่างกันพบว่ากาบหอยแครงที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะแสงสีแดง และขาวมีอัตราการเกิดยอดใหม่สูงที่สุด และมีการผลิตสารพอลิเบนซินที่สูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดง สำหรับพืชในสกุล *Drosera* นั้น *D. communis* พบว่าสามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ในทุกแสงแต่อัตราการเกิดยอดที่เร็วที่สุดภายใต้แสงสีเขียวและสีน้ำเงิน และภายใต้แสงสีแดงสามารถกระตุ้นให้มีการผลิตพอลิเบนซินได้มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกาบหอยแครงภายใต้แสงสีขาว, น้ำเงิน และเขียวแต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ *D. peltata* พบว่าที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงและเขียว สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุด และ การผลิตสารพอลิเบนซินได้มากที่สุดภายใต้แสงสีขาว เมื่อเปรียบเทียบ

กับแสงสีน้ำเงินและที่มีดแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ *D. adelea* ที่เพาะเลี้ยงภายใต้ที่มีดและแสงสีขาวสามารถชักนำให้มีอัตราการเกิดยอดใหม่สูงสุด และสามารถกระตุ้นให้มีการผลิตพอลิมาจินได้สูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้ที่มีดเมื่อเปรียบเทียบกับแสงขาวแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

จากการศึกษาจะเห็นได้ว่าสารควบคุมการเจริญเติบโตในอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นมีผลต่อการเกิดยอดใหม่ของพืชกินแมลง และคุณภาพแสงนั้นมีผลต่อการเกิดยอดใหม่, การเจริญเติบโต และการผลิตสารทุติยภูมิ แต่พืชกินแมลงที่ต่างชนิดกันจะตอบสนองต่ออาหารและคุณภาพแสงที่แตกต่างกัน



Title	EFFECT OF LED LIGHT QUALITY ON SHOOT ORGANOGENESIS OF LEAF-DISC CULTURE AND ELICITATION OF PLUMBAGIN PRODUCTION IN <i>DROSERA</i> SPP. AND <i>DIONAEA MUSCIPULA</i> J.ELLIS
Author	SIRIKHWAN WONGWANICH
Advisor	Phithak Inthima, Ph.D.
Academic Paper	Thesis M.S. in Biotechnology, Naresuan University, 2019
Keywords	secondary metabolites carnivorous plant High Performance Liquid Chromatography

ABSTRACT

Plants in the family Droseraceae are insectivorous plants. That is utilized as ornamental plants and medicinal plants. To induce the creation of plumbagin. Which is an important botanical chemical of plants in this family. Therefore has been studied in suitable mediums and light quality, To the production of secondary metabolites from leaf-disc culture of sundews and venus flytrap for 60 days. It was found that regeneration rate was not different in all mediums. For plants in the genus *Drosera*, *Dr. burmanii* cannot change morphology on all medium. *Dr. communis* after cultured for 60 days that regeneration rate was not difference in all mediums and it can regeneration to 100 percent. *Dr. peltata* cultured on ½MS with added 0.1 mg/L of BA can highest regeneration rate, And *Dr. adelea* it had highest to induce regeneration rate on the ½MS diet with added 0.1 mg/L.

When culturing the leaf of sundew and venus flytrap Under different lighting quality. It was found that culturing the leaf of venus flytrap. It was found that under red and white light had the highest regeneration rate. And the highest production of plumbagin when cultured under red light. For sundew, *Dr. communis* found that it can induce 100% regeneration in all light, but the fastest rate of change under green and blue light. It can stimulate the production of plumbagin the most

when compared to the culture under white, blue and green light but did not differences significant. *Dr. peltata* found that cultured under red and green light can induce the best regeneration rate. And the maximum production of plumbagin can be obtained under white light when compared to blue and dark light but not different significant. *Dr. adalea* cultured under dark and white light, can induce the highest regeneration rate. And can stimulate the highest production of plumbagins when cultured under dark conditions when compared to white light but not different significant.

The study, it can be seen that the growth regulators had affect on regeneration in in vitro culture of carnivorous plant and the quality of light had affects on regeneration, growth and production of secondary metabolites. But different carnivorous plants had respond to different medium and light qualities.



ประกาศคุณูปการ

การศึกษานี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจาก ดร.พิทักษ์ อินธิมา อาจารย์ที่ปรึกษาที่ได้ให้คำแนะนำปรึกษาตลอดจนตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ด้วยความเอาใจใส่ และ ผศ.ดร. อนุพันธ์ กงบังเกิด ที่กรุณาให้คำแนะนำต่างๆ รวมถึงคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่ให้คำแนะนำสำหรับการแก้ไขสิ่งบกพร่องต่างๆ จนการศึกษานี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบคุณหน่วยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร สำหรับสถานที่ และ อุปกรณ์รวมถึงการสนับสนุนต่างๆ และ ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณรายได้ สำหรับนิสิตระดับบัณฑิตศึกษามหาวิทยาลัยนเรศวร สำหรับการสนับสนุน จนการศึกษานี้สำเร็จสมบูรณ์

ในท้ายที่สุดนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ครอบครัวอันเป็นที่รัก อาจารย์ที่เคารพทุกท่าน ตลอดจนถึง น้อง และเพื่อนผู้เป็นกัลยาณมิตรทุกท่านในการให้ความสนับสนุนช่วยเหลือในทุกๆด้าน และคอยให้กำลังใจเสมอมาจนทำให้การศึกษานี้สำเร็จลุล่วงไปได้

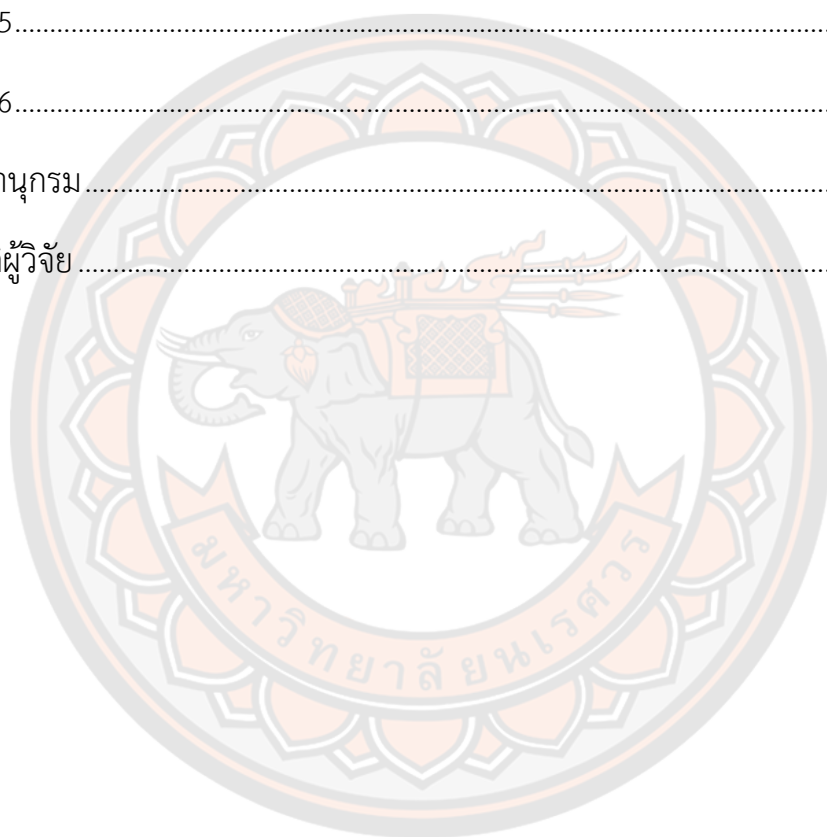
ศิริขวัญ วงษ์วานิช

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
ประกาศคุณูปการ.....	ช
สารบัญ.....	ช
บทที่ 1.....	1
ที่มาและความสำคัญของปัญหา.....	1
จุดมุ่งหมายของการศึกษา.....	2
ขอบเขตของงานวิจัย.....	2
คำสำคัญ.....	3
สมมติฐานของการวิจัย.....	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2.....	4
บทคัดย่อ.....	4
บทนำ.....	5
อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง.....	6
วัสดุพืช.....	6
ผลของอาหารเพาะเลี้ยงต่อการสร้างยอตใหม่ใน <i>Dr. spp.</i> และ <i>Di. muscipula</i>	6
การวิเคราะห์ข้อมูล.....	6
ผลการทดลอง.....	6

วิจารณ์ผลการทดลอง.....	8
สรุปผลการทดลอง.....	9
บทที่ 3.....	14
บทคัดย่อ.....	14
บทนำ.....	15
อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง.....	17
วัสดุพืช.....	17
ผลของคุณภาพแสงและอาหารเพาะเลี้ยงต่อการสร้างสร้างยอดใหม่และการสร้าง สารพอลิมาจินใน <i>Dr. spp.</i> และ <i>Di. muscipula</i>	17
การวิเคราะห์ปริมาณพอลิมาจิน.....	17
การวิเคราะห์ข้อมูล.....	18
ผลการทดลอง.....	18
วิจารณ์ผลการทดลอง.....	19
สรุปผลการทดลอง.....	21
บทที่ 4.....	27
บทคัดย่อ.....	27
บทนำ.....	27
อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง.....	28
วัสดุพืช.....	28
ผลของคุณภาพแสงต่อการเหนี่ยวนำการสร้างสารพอลิมาจินใน.....	29
<i>Drosera commanis</i>	29
การวิเคราะห์ปริมาณพอลิมาจิน.....	29

การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลและแคโรทีนอยด์	30
การวิเคราะห์ข้อมูล	30
ผลการทดลอง.....	30
วิจารณ์ผลการทดลอง.....	31
สรุปผลการทดลอง.....	32
บทที่ 5.....	36
บทที่ 6.....	41
บรรณานุกรม.....	43
ประวัติผู้วิจัย.....	53



บทที่ 1

บทนำ

ที่มาและความสำคัญของปัญหา

แสงนับเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อพืช โดยแสงจากดวงอาทิตย์ประกอบด้วยสเปกตรัมในช่วงความยาวคลื่นระหว่าง 290-3000 นาโนเมตร แสงที่มีความยาวคลื่นแตกต่างกันนั้นทำให้เกิดสีของแสงที่แตกต่างกันไป ซึ่งช่วงแสงที่พืชใช้จะอยู่ในช่วงความยาวคลื่น 400-700 นาโนเมตร (Boyle, 2004) พืชนั้นต้องการแสงสำหรับการเจริญเติบโตและการพัฒนา ซึ่งแสงมีผลโดยตรงต่อกระบวนการสังเคราะห์แสง (Jeeatid et al., 2017) โดยพืชจะมีตัวรับสัญญาณเฉพาะโดยตัวรับสัญญาณจะทำให้หน้าที่จับโฟตอนจากแสงและแปลงพลังงานจากแสงอาทิตย์เป็นพลังงานเคมีโดยกระบวนการสังเคราะห์แสง นอกจากนี้พืชยังมีการพัฒนากลไกที่ซับซ้อนสำหรับการรับและส่งสัญญาณจากแสงที่มีความยาวคลื่นแตกต่างโดยสัญญาณที่รับมาในรูปแบบเฉพาะนั้นจะควบคุมการเจริญเติบโตที่ซับซ้อนและกระบวนการพัฒนาต่าง ๆ ของพืช นอกเหนือจากกระบวนการสังเคราะห์แสงแล้วแสงยังมีอิทธิพลต่อกระบวนการ photomorphogenesis, photoperiodism และ phototropism อย่างมากเช่นกัน (Gupta et al., 2017) มีรายงานว่าคุณภาพแสงที่แตกต่างกันนั้นสามารถกระตุ้นกระบวนการทางสรีรวิทยาของพืชที่แตกต่าง (Muneer et al., 2014) ดังมีผลรายงานการศึกษาพบว่าพืชมีตัวรับสัญญาณหลายชนิดสำหรับรับและส่งสัญญาณจากแสงที่คุณภาพแตกต่างกัน โดยตัวรับสัญญาณนั้นจะไปกระตุ้นการแสดงออกของยีนเป้าหมาย ซึ่งส่งผลให้เกิดการแสดงออกที่แตกต่างกันในพืช เช่น การออกดอก, การงอกของเมล็ด และการผลิตสารทุติยภูมิ (Su et al., 2017) สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้นแสงมีบทบาทสำคัญในการสร้างอวัยวะและการผลิตสารทุติยภูมิมากกว่าการสังเคราะห์แสง (Hong et al., 2015)

โดยแสงเป็นนับเป็นตัวเหนี่ยวนำทางกายภาพชนิดหนึ่งที่สามารถกระตุ้นการผลิตทุติยภูมิ (Shohael et al., 2006) ซึ่งตัวเหนี่ยวนำ (Elicitor) นั้นเป็นปัจจัยสำคัญสำหรับการผลิตสารทุติยภูมิที่ใช้ในเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยจะเป็นตัวส่งสัญญาณในกระบวนการเมแทบอลิซึมและรับสัญญาณโดยเซลล์พืช ส่งผลกระทบให้พืชเกิดการตอบสนองและเกิดกระบวนการป้องกันตัวเองของพืชโดยการผลิตสารทุติยภูมิ

พืชในสกุล *Drosera* หรือชื่อที่เรียกโดยทั่วไปคือ หยาดน้ำค้าง นับเป็นพืชกินแมลงสกุลใหญ่สกุลหนึ่งมีการกระจายพันธุ์ไปทั่วโลก โดยมีประมาณ 194 ชนิด (Jadczak et al., 2017) หยาด

น้ำค้ำนั้นมีการนำมาใช้เป็นพืชสมุนไพร เนื่องจากมีสารประกอบในกลุ่ม naphthoquinone โดย naphthoquinone สำคัญที่พบในพืชกลุ่มนี้คือพลัมบาจิน (Zenk et al., 1969) โดยมีคุณสมบัติในการต้านไวรัส, ต้านเชื้อแบคทีเรีย, ต้านเชื้อรา และต้านมะเร็ง ซึ่งเป็นคุณสมบัติเป็นที่รู้จักกันแพร่หลาย (Durechová et al., 2016) แต่หากจะใช้พืชในกลุ่มนี้ผลิตยาเพื่อใช้ในทางการแพทย์ จำเป็นต้องใช้วัตถุดิบพืชในปริมาณมาก จากเหตุผลที่กล่าวมาข้างต้นนั้นทำให้พืชกลุ่มนี้เป็นที่ต้องการเพิ่มขึ้นจึงส่งผลทำให้มีปริมาณที่ลดลงในธรรมชาติ และนอกจากนี้พืชในกลุ่มนี้ในธรรมชาติมีการเจริญเติบโตที่ช้าและมีเมล็ดที่น้อยดังนั้นการขยายพันธุ์ตามธรรมชาติจึงค่อนข้างต่ำ ยิ่งไปกว่านั้น ปัญหาสำคัญที่ทำให้พืชสกุลนี้มีปริมาณลดลงในธรรมชาติอันเนื่องมาจากที่อยู่อาศัยในธรรมชาตินั้น ถูกทำลายและถูกคุกคามจากกิจกรรมของมนุษย์และการเปลี่ยนแปลงของสภาพสิ่งแวดล้อมในแหล่งที่อยู่อาศัย (Baranyai, & Joosten., 2016) ด้วยเหตุนี้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจึงเป็นหนึ่งในเทคนิคที่น่าสนใจเพื่อใช้แก้ปัญหาดังที่กล่าวมาข้างต้น ซึ่งเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นประสบความสำเร็จในการขยายพันธุ์พืชหลายชนิดทั้งการผลิตพืชเพื่อการค้าและพืชสมุนไพร ซึ่งมีอีกหลายปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยคุณภาพแสงนั้นมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งตามที่กล่าวข้างต้น แต่อย่างไรก็ตามมีรายงานไม่กี่ฉบับที่แสดงถึงผลกระทบของคุณภาพแสงที่มีต่อการกระตุ้นต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาการเจริญเติบโตใน และการผลิตสารทุติยภูมิของพืชวงศ์ Droseraceae ดังนั้นผลการศึกษานี้จะให้ข้อมูลถึงผลของคุณภาพแสงที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาการเจริญเติบโต และการผลิตสารทุติยภูมิของพืชกินแมลง และอาจนำไปใช้สำหรับอุตสาหกรรมยาในอนาคตต่อไป

จุดมุ่งหมายของการศึกษา

1. เพื่อศึกษาผลของคุณภาพแสงต่อการการสร้างอวัยวะจากการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ และผลิตพลัมบาจินในหยาดน้ำค้ำ (*Dr. spp.*) และ กาบหอยแครง (*Di. muscipula*)
2. เพื่อศึกษาหาคุณภาพแสงที่เหมาะสมสำหรับการเหนี่ยวนำการผลิตพลัมบาจินในหยาดน้ำค้ำ (*Dr. spp.*) และ กาบหอยแครง (*Di. muscipula*)

ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาเปรียบเทียบผลของแสงแอลอีดีสีขาว, แดง, น้ำเงิน, เขียวและในที่มืดต่อการสร้างยอดใหม่ของหยาดน้ำค้ำ (*Dr. spp.*) และ กาบหอยแครง (*Di. muscipula*) ซึ่งเป็นการศึกษา

เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มพืช และศึกษาผลของแสงแอลอีดีสีขาว, แดง, น้ำเงินและเขียวต่อการผลิตสารพอลิฟีนอลของ หยาดน้ำค้าง (*Dr. spp.*) และกาบหอยแครง (*Di. muscipula*)

คำสำคัญ

สารฟลูโอยด์, ฟีนอลิกแมลง, HPLC

สมมติฐานของการวิจัย

ความยาวคลื่นที่แตกต่างกัน (คุณภาพ) ของแสงมีประสิทธิภาพต่อการกระตุ้นที่ต่างกันในการผลิตอวัยวะและการผลิตพอลิฟีนอลในหยาดน้ำค้าง (*Dr. spp.* และกาบหอยแครง (*Di. muscipula*))

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ผลการศึกษานี้อาจให้ข้อมูลบางอย่างเกี่ยวกับผลของคุณภาพแสงต่อการ สร้างอวัยวะ, การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา, การเจริญเติบโต และการผลิตสารฟลูโอยด์ใน หยาดน้ำค้าง (*Dr. spp.* และกาบหอยแครง (*Di. muscipula*)) และอาจนำไปใช้สำหรับอุตสาหกรรมยา

บทที่ 2

ผลของสูตรอาหารต่อการสร้างยอดใหม่ของพืชสกุลหยาดน้ำค้าง (*Drosera* spp.)

และกาบหอยแครง (*Dionaea muscipula*)

Effect of media on shoot organogenesis of *Drosera* spp.

and *Dionaea muscipula*

บทคัดย่อ

จากการเพาะเลี้ยงใบของหยาดน้ำค้าง และกาบหอยแครงบนอาหารอาหารที่แตกต่างกันเป็นเวลา 60 วัน พบว่ากาบหอยแครงนั้นมีอัตราการการเกิดยอดใหม่ได้ไม่แตกต่างกันในทุกสูตรอาหาร และพบว่าจำนวนยอด, น้ำหนักสด และ น้ำหนักแห้ง ดีที่สุดบนอาหาร ½MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ สำหรับพืชในสกุล *Drosera* นั้น *Dr. burmanii* ไม่สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารทุกสูตร *Dr. communis* ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 60 วันมีอัตราการการเกิดยอดใหม่ไม่แตกต่างกันในทุกสูตรอาหารและสามารถเกิดเป็นยอดใหม่ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ แต่พบว่าชิ้นส่วนเริ่มต้นที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร ½MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์จะเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยาได้เร็วที่สุดโดยสามารถเกิดยอดใหม่หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 วัน และพบว่ามีจำนวนยอด และน้ำหนักสดมากที่สุดบนอาหารที่เติม BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ในทางกลับกันกลับพบว่ามีปริมาณของน้ำหนักแห้งที่น้อยที่สุด *Dr. peltata* ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร ½MS ที่เติม BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้อัตราการสร้างยอดใหม่ได้ดีที่สุดประมาณ 4 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับชิ้นส่วนเริ่มต้นที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร ½MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ ส่วนจำนวนยอด และ น้ำหนักแห้งน้อยที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร ½MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ และใน *Dr. adelea* สามารถชักนำให้เกิดการการสร้างยอดใหม่ และมีน้ำหนักสดสูงที่สุดบนอาหาร ½MS ที่เติม BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยอัตราการสร้างยอดใหม่นั้นเมื่อเปรียบเทียบกับชิ้นส่วนเริ่มต้นที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร ½MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์มากกว่าประมาณ 4 เท่า แต่อาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักแห้งที่ดีที่สุด จากการศึกษาจะเห็นได้ว่าสารควบคุมการเจริญเติบโตในอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นมีผลต่ออัตราการสร้างยอดใหม่และเจริญเติบโตของพืชกินแมลง แต่พืชกินแมลงที่ต่างชนิดกันจะตอบสนองต่ออาหารแตกต่างกัน

บทนำ

Drosera (Droseraceae) หรือที่เรียกกันว่า sundew จัดเป็นพืชกินแมลงที่มีขนาดใหญ่ที่สุดซึ่งมีประมาณ 194 ชนิด (Jadczak et al., 2017) และ *Dionaea muscipula* มีชื่อเรียกโดยทั่วไปว่า Venus Flytrap พืชกินแมลงนั้นมีวิวัฒนาการเพื่อความอยู่รอดโดยการจับแมลงเพื่อความอยู่รอดและการเจริญเติบโต (Thorén et al., 2003) ทั้งยังมีการนำมาใช้เป็นไม้ประดับ และที่สำคัญพืชชนิดนี้มีการนำมาใช้เป็นพืชสมุนไพรโดยจะมีสารสำคัญประเภท naphthoquinone โดย naphthoquinone สำคัญที่พบในพืชชนิดนี้คือ plumbagin (Zenk et al., 1969) ซึ่งสารประกอบเหล่านี้มีฟังก์ชันในการรักษาที่หลากหลาย เช่น ยาต้านมาลาเรีย, ยาแก้ไอ, ต้านเชื้อแบคทีเรีย, ต้านมะเร็งและ ยับยั้งเชื้อรา (Banasiuk et al., 2012; Paiva et al., 2003) สารประกอบนี้พบได้ทั่วไปในพืชจำพวก Droseraceae และ Plumbaginaceae โดยสามารถพบสาร plumbagin ในยอดของพืชวงศ์ Droseraceae หากแต่ถ้าจะใช้พืชชนิดนี้เป็นพืชสมุนไพรหลักอาจมีปัญหาเรื่องจำนวนวัตถุดิบที่ไม่เพียงพอ เนื่องจากต้องใช้ในปริมาณที่มากและพืชกินแมลงนั้นมีปริมาณที่ลดลงในธรรมชาติ เนื่องจากแหล่งที่อยู่อาศัยในนั้นถูกทำลายจากกิจกรรมของมนุษย์และการเปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อม เช่นสภาวะโลกร้อน ดังนั้นจึงเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อประชากรของพืชในสกุลนี้ นอกจากนี้โดนคุกคามในถิ่นที่อยู่ตามธรรมชาตินั้นยังมีปัญหาเรื่องการขยายพันธุ์ ซึ่งพืชกินแมลงนั้นมีการเจริญเติบโตที่ช้าและปริมาณเมล็ดที่ต่ำ จึงทำให้มีการขยายพันธุ์ตามธรรมชาติอยู่ในระดับต่ำ (Baranyai, & Joosten., 2016) ด้วยเหตุนี้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจึงเป็นหนึ่งในเทคนิคที่น่าสนใจในการแก้ปัญหาเหล่านี้ ทั้งยังประสบความสำเร็จในการขยายพันธุ์พืชหลายชนิด เช่นการผลิตพืชเพื่อการค้าและพืชสมุนไพร นอกจากนี้ยังมีอีกหลายปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

สารควบคุมการเจริญเติบโตนับเป็นปัจจัยสำคัญและจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยเฉพาะสารในกลุ่ม ออกซิน (Auxins) และ ไซโตไคนิน (Cytokinin) โดยออกซิน (Auxins) มีผลช่วยในการยึดยาวของตัวเซลล์ส่งเสริมหรือชักนำการแบ่งเซลล์ รวมถึงส่งเสริมการเกิดรากและแคลลัส ส่วนกลุ่มของไซโตไคนิน (Cytokinin) มีส่วนช่วยเร่งการแบ่งเซลล์ และช่วยในกระบวนการเปลี่ยนแปลงสภาพของเซลล์ ดังมีรายงานว่าความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่แตกต่างกันสามารถกระตุ้นกระบวนการทางสรีรวิทยาของพืช อาทิเช่น *Dr. peltata* สามารถสร้างยอดได้ดีในอาหารที่เติม TDZ (Wongsa et al., 2018)

แต่อย่างไรก็ตามมีรายงานที่แสดงถึงผลกระทบของอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการกระตุ้นต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาการเจริญเติบโตในพืชวงศ์ Droseraceae ไม่

มากนัก ดังนั้นผลการศึกษาคั้งนี้อาจให้ข้อมูลเกี่ยวกับผลกระทบของอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาการเจริญเติบโตของพืชกินแมลง และอาจนำไปใช้สำหรับอุตสาหกรรมยา

อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

วัสดุพืช

ชิ้นส่วนเริ่มต้นใช้ใบของ *Dr. spp.* และ *Di. muscipula* โดยนำมาจากการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อบนอาหาร ½ MS ภายใต้แสงขาว ($10\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}^1$, 12 ชั่วโมง/วัน)

ผลของอาหารเพาะเลี้ยงต่อการสร้างยอดใหม่ใน *Dr. spp.* และ *Di. muscipula*

นำชิ้นส่วนใบของ *Dr. adela* (กว้าง 0.3 ซม. และยาว 0.7-1 ซม.), *Dr. burmannii* (กว้าง 0.5 ซม. และยาว 1 ซม.), *Dr. Communis* (กว้าง 0.4-0.5 ซม. และยาว 1 ซม.), *Dr. peltata* (กว้าง 0.2-0.3 ซม. และยาว 0.7-1 ซม.) และ *Di. muscipula* (กว้าง 0.5 ซม. และยาว 0.7-1 ซม.) โดยตัดจากต้นพืชที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ จากนั้นเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS, ½MSที่เติมน้ำมะพร้าว 10% (v/v) และ ½MSที่เติม BA 0.1 mg/L เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีขาว ที่ความเข้มแสง $10\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}^1$ เป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน การเพาะเลี้ยงทั้งหมดจะถูกเก็บไว้ที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^\circ\text{C}$ และบันทึกข้อมูลอัตราการรอดและการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานทุก 5 วัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 60 วันจะบันทึกข้อมูล จำนวนยอดและรากต่อชิ้นส่วนเริ่มต้น, ขนาดและน้ำหนักของยอด, ความยาวราก ออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ทดลอง 3 ซ้ำ

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการทดลอง

หลังจากทำการทดลองเพาะเลี้ยงใบของหยาดน้ำค้างและกาบหอยแครงเป็นเวลา 60 วันพบว่า

ผลของอาหารเพาะเลี้ยงต่ออัตราการเจริญเติบโตและจำนวนยอดใหม่

Di. muscipula พบว่าสามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ในทุกสูตรอาหารและอัตราการเกิดยอดใหม่ในทุกสูตรอาหารนั้นไม่แตกต่างกัน ส่วนพืชในสกุล *Drosera* นั้น *Dr. burmannii* ไม่

สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ในอาหารทุกสูตร ขึ้นส่วนเริ่มต้นใบหลังจากที่ทำการเพาะเลี้ยงจะกลายเป็นสีน้ำตาล *Dr. communis* เมื่อเพาะเลี้ยงครบ 60 วันในทุกระยะอาหารมีอัตราการเกิดยอดใหม่ได้ไม่แตกต่างกันในทุกระยะอาหารโดยสามารถเกิดยอดใหม่ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อพิจารณาขึ้นส่วนเริ่มต้นที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร ½MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์จะเปลี่ยนแปลงสัญญาณวิทยาได้เร็วที่สุดโดยจะมีการเปลี่ยนแปลงหลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 วัน ส่วนใน *Dr. adelae* และ *Dr. peltata* นั้นสามารถเกิดยอดใหม่ได้ต่ำที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร ½MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับขึ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA 0.1 mg/L ซึ่งมีอัตราต่ำกว่าถึง 4 เท่า ดังภาพ 2.1 และ 2.2 และเมื่อพิจารณาปริมาณของจำนวนยอดใหม่พบว่า *Di. muscipula* พบว่ามีจำนวนยอดที่สูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร ½MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ โดยมากกว่า 2 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับขึ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร เติม BA 0.1 mg/L *Drosera* นั้น *Dr. communis* เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร ½MS ที่เติม BA 0.1 mg/L จะให้จำนวนยอดต่อขึ้นส่วนเริ่มต้นสูงที่สุดแต่ต้นที่ได้นั้นจะมีขนาดเล็กมากเมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรอื่นโดยมีจำนวนยอดมากกว่า 5.5 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับอาหาร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต *Dr. peltata* นั้นมีจำนวนยอดที่น้อยที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร ½MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงขึ้นส่วนใบบนอาหาร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตโดยต่ำกว่า 3.5 เท่า และใน *Dr. adelae* ในอาหารทุกสูตรจะให้จำนวนยอดที่ไม่แตกต่างกัน ดังภาพ 2.3

ผลของอาหารเพาะเลี้ยงต่อปริมาณชีวมวล

Di. muscipula มีน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งที่สูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร ½MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับจำนวนยอดที่มีจำนวนยอดสูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร ½MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์เช่นเดียวกันเมื่อเปรียบเทียบกับขึ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2 เท่า *Drosera* นั้น *Dr. communis* เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร ½MS ที่เติม BA 0.1 mg/L จะให้น้ำหนักสดสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับเพาะเลี้ยงบนอาหาร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตถึง 2 เท่า แต่ในทางตรงกันข้ามเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร ½MS ที่เติม BA 0.1 mg/L ถึง 2 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต *Dr. peltata* นั้นมีน้ำหนักสดที่ต่ำที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เมื่อเปรียบเทียบกับขึ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร ½MS ที่เติม BA 0.1 mg/L ถึง 3 เท่า และมีปริมาณของน้ำหนักแห้งที่สูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร ½MS ที่เติม BA 0.1

mg/L ถึง 3 เท่า ถึง 2.8 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร 1/2MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ และใน *Dr. adelaе* ในอาหารทุกสูตรจะให้ปริมาณของน้ำหนักรากที่ไม่แตกต่างกัน ดังภาพ 2.4 แต่ปริมาณของน้ำหนักรากเหล่านั้น เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร 1/2MS ที่เติมน้ำมะพร้าวจะมีปริมาณน้ำหนักรากที่สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร 1/2MS ที่เติม BA 0.1 mg/L ถึง 2 เท่า ดังภาพ 2.4

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษากรณีที่มีจำนวนยอด, น้ำหนักราก และน้ำหนักรากแห้ง สูงเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมน้ำมะพร้าวอาจเป็นเพราะว่า น้ำมะพร้าวนั้นมีสารประกอบหลายชนิดประกอบด้วยธาตุอาหาร และฮอร์โมน ในมะพร้าวนั้นประกอบด้วย กรดอะมิโน, กรดนิวคลีอิก, วิตามิน, คาร์โบไฮเดรต ซึ่งช่วยพืชควบคุมสารชีตินและแร่ธาตุ รวมถึงฮอร์โมนพืช (Ge et al., 2005; Yong et al., 2009) ช่วยส่งเสริมการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา โดยการควบคุมการเจริญเติบโตด้วยฮอร์โมนไซโตไคนินชนิดพิเศษที่มีอยู่ในน้ำมะพร้าว (Chugh et al., 2009) น้ำมะพร้าวนั้นมีฮอร์โมนธรรมชาติของพืชในกลุ่มของไซโตไคนินตามธรรมชาติ ซึ่งฮอร์โมนในกลุ่มนี้สามารถกระตุ้นการแบ่งเซลล์ และการสร้างยอดซึ่งมีรายงานการศึกษาผลของน้ำมะพร้าวต่อการเพิ่มจำนวนยอดในพืชหลายชนิด เช่น *Corylus avellana* L. (Prando et al., 2014) โดยไซโตไคนินช่วยเพิ่มปริมาณไนโตรเจนของใบซึ่งมีความสำคัญต่อการสร้างโปรตีน, กรดนิวคลีอิก, คอลโรฟิลล์, เอนไซม์, วิตามินและฮอร์โมนพืช นอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างเยื่อหุ้มเซลล์นั้นจะผลิต ATP และ NADP และเอไมด์ (Al-Hasnawi, 2011; Karunarathna & Harris., 2016) อาจเป็นเพราะว่าการใช้น้ำมะพร้าวเพียงอย่างเดียวก็สามารถชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนเริ่มต้น (Grigoriadou et al., 2002) Yong และคณะ (2013) รายงานว่าไซโตไคนินนั้นสามารถกระตุ้นการสร้างยอด

ในกรณีที่มีจำนวนยอด, น้ำหนักราก และน้ำหนักรากแห้ง มากที่สุดบนอาหารที่เติม BA ซึ่งมีรายงานการศึกษาผลของ BA ที่ทำให้มีจำนวนยอดที่มากในพืชหลายชนิดเช่น ในต้นอ่อนลินิน อาจเพราะ BA เป็นฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนินซึ่งมีกลไกสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของซอกใบ (Klicova et al., 2004) และต้นที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA ต้นจะมีลักษณะยืดยาวกว่าปกติซึ่งมีรายงานพบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่มี BA นั้น จะทำให้ต้นยืดยาวในพืชหลายชนิดเช่น *Dianthus caryophyllus* L. (Al-Abbasi, 2009; Carey et al., 2008) และ *Chrysanthemum* (Al-Hasnawi, 2011) ซึ่ง Yong และคณะ (2013) ได้อธิบายไว้ว่านอกจากไซโตไคนินจะกระตุ้นการเจริญเติบโตของยอดยังช่วยเพิ่มความสูงของยอดอีกด้วย

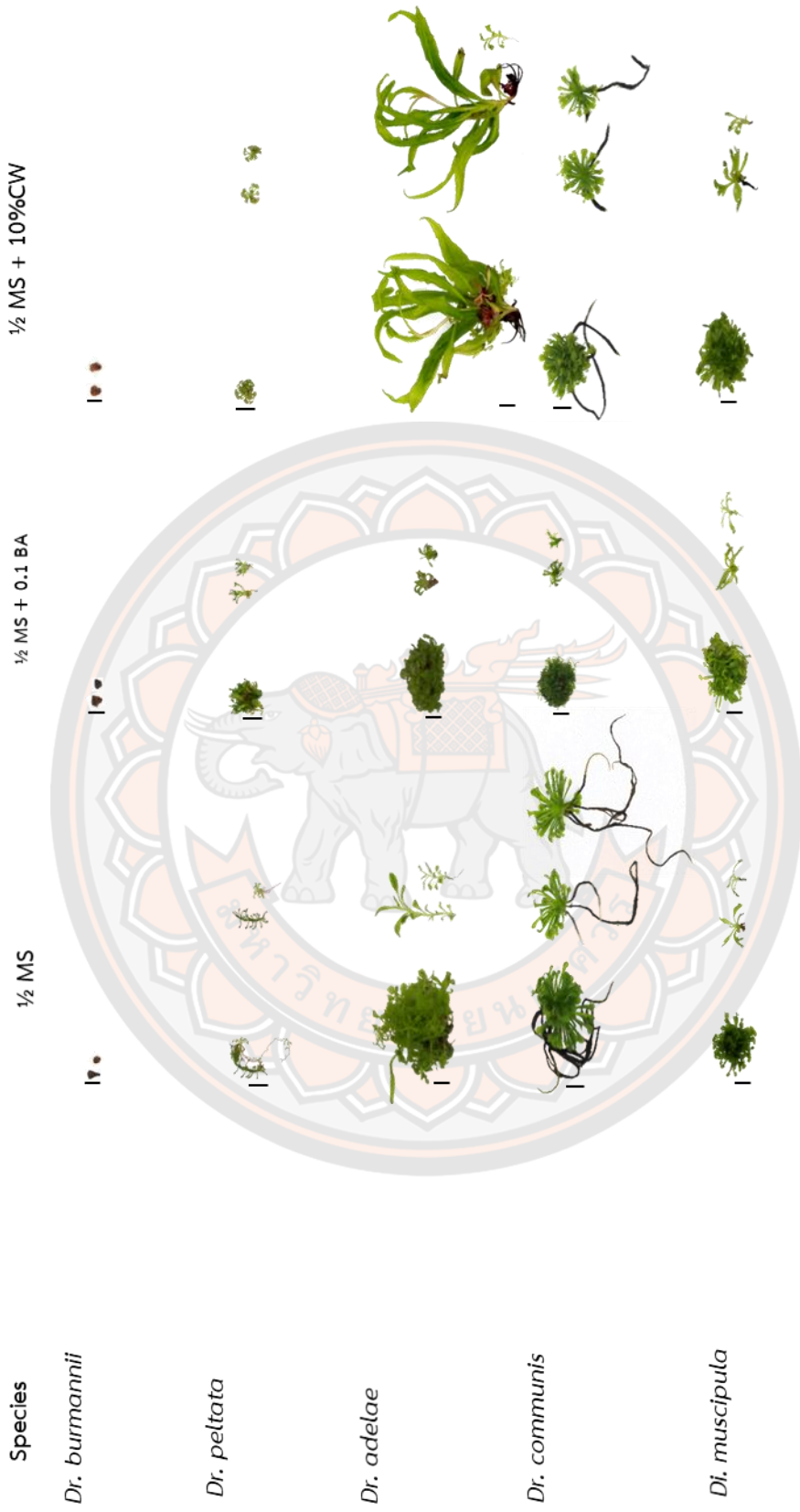
ส่วนในกรณีของ *Drosera* บางชนิดเมื่อเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพบว่าเมื่ออัตราการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาที่ต่ำลงนั้นอาจเป็นเพราะว่าอาจเกิดจาก hormone balance ของพืช โดยการที่ได้รับฮอร์โมนที่มากเกินไปแทนที่จะช่วยเพิ่มปริมาณของยอดแต่อาจจะเป็นการยับยั้งแทนนั่นเอง (Devos et al., 2006)

ใน *Dr. burmannii* การที่ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาในทุกสูตรอาหาร ซึ่งสอดคล้องกับใน *Dr. cuneifolia* อาจเป็นเพราะปริมาณฮอร์โมนที่ต่ำเกินไปไม่สามารถชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาได้ (Kawiak et al., 2003)

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชิ้นส่วนใบของหยาดน้ำค้างและกาบหอยแครงพบว่า กาบหอยแครงสามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ไม่แตกต่างกันในทุกสูตรอาหาร ส่วนจำนวนยอด, น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง มีมากที่สุดบนอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ และในหยาดน้ำค้างนั้นพบว่าชนิดของพืชที่แตกต่างกันตอบสนองต่ออาหารที่แตกต่างกัน

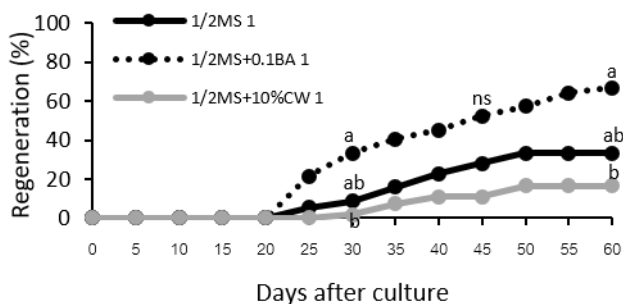
Week 8th after culture



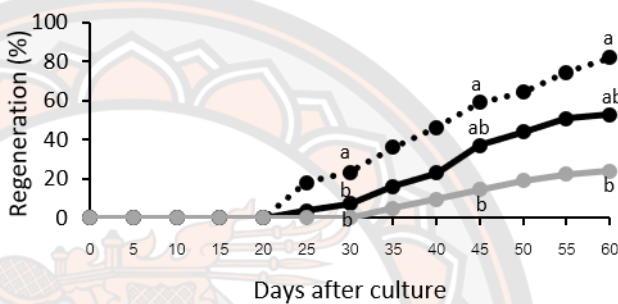
ภาพ 2.1 การสร้างยอดใหม่ของการเพาะเลี้ยงใบ *Drosera* spp. และ *Dionaea muscipula* ในอาหารสูตร 1/2MS, 1/2MS ที่เติม 0.1 mg/L BA

และ 1/2MS ที่เติม 10% (v/v) น้ำมะพร้าวเป็นเวลา 8 สัปดาห์, bar = 1 เซนติเมตร

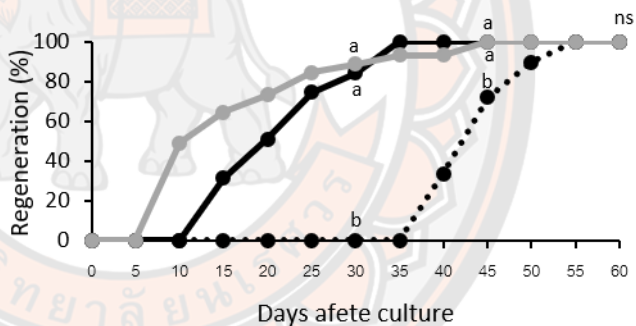
Drosera peltata



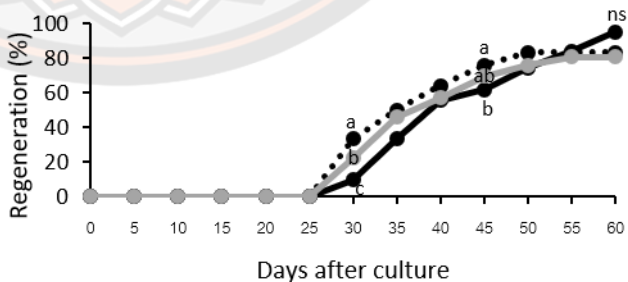
Drosera adelae



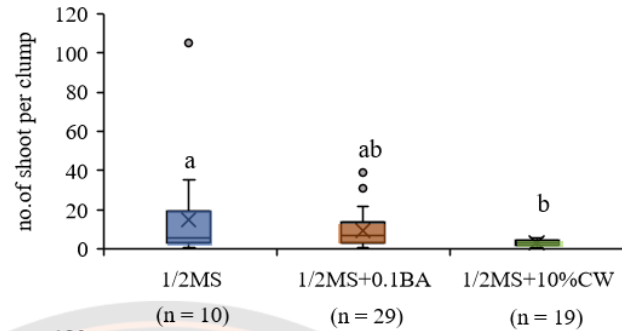
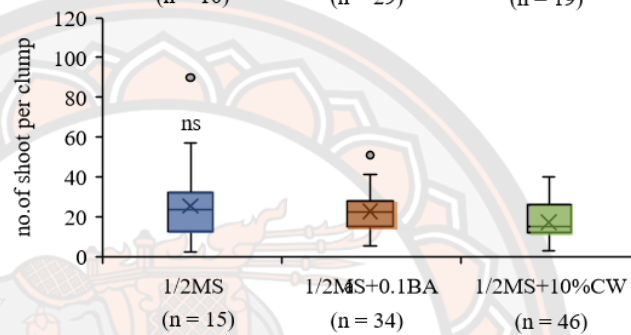
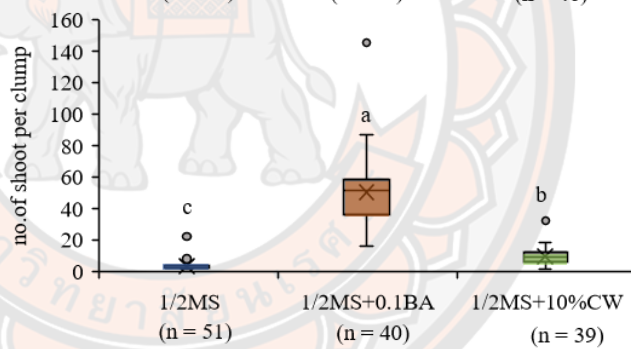
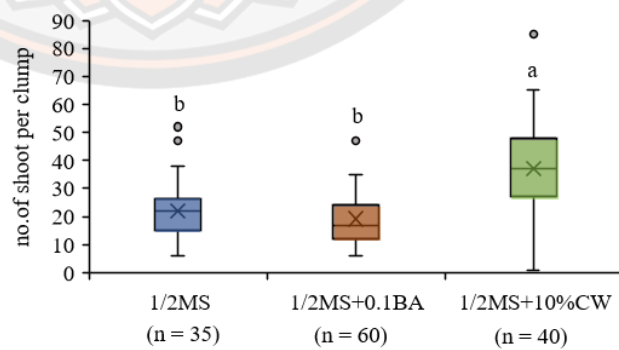
Drosera communis



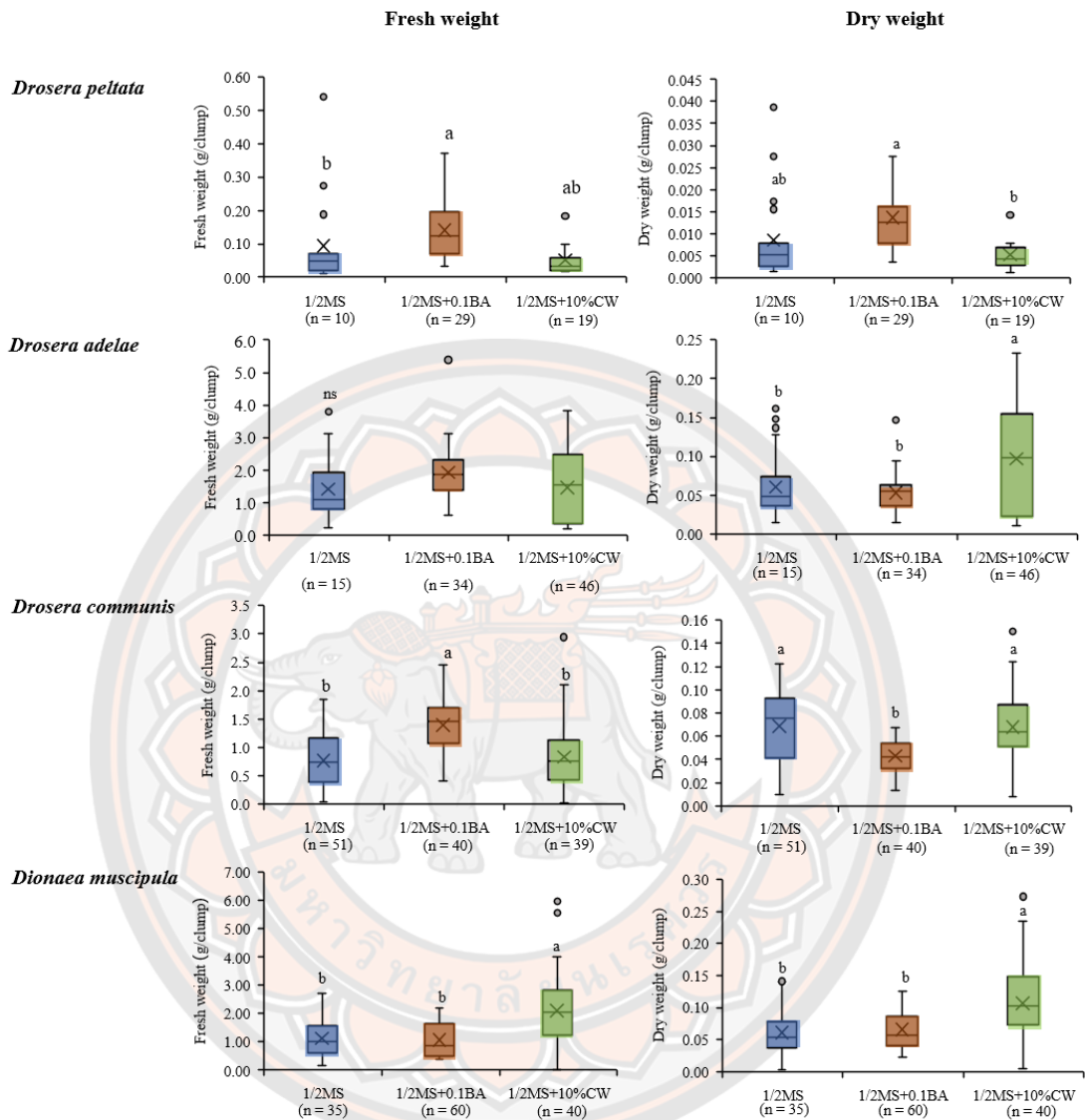
Dionaea muscipula



ภาพ 2.2 อัตราการสร้างยอดใหม่ของการเพาะเลี้ยงใบ *Drosera* spp. และ *Dionaea muscipula* ในอาหารสูตร 1/2MS, 1/2MS ที่เติม 0.1 mg/L BA และ 1/2MS ที่เติม 10% (v/v) น้ำมะพร้าวเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (3 ชั่วโมง, 15 ชั่วโมงเริ่มต้น / ชั่วโมง)

Drosera peltata*Drosera adelae**Drosera communis**Dionaea muscipula*

ภาพ 2.3 จำนวนยอดใหม่ต่อชิ้นส่วนเริ่มต้นที่ได้หลังจากการเพาะเลี้ยงใบ *Drosera* spp. และ *Dionaea muscipula* ในอาหารสูตร 1/2MS, 1/2MS ที่เติม 0.1 mg/L BA และ 1/2MS ที่เติม 10% (v/v) น้ําชะพรวัวเป็นเวลา 8 สัปดาห์



ภาพ 2.4 น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของกอที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบ *Drosera* spp. และ *Dionaea muscipula* ในอาหารสูตร 1/2MS, 1/2MS ที่เติม 0.1 mg/L BA และ 1/2MS ที่เติม 10% (v/v) นํ้ามะพร้าวเป็นเวลา 8 สัปดาห์

บทที่ 3

ผลของคุณภาพแสงต่อการสร้างยอดใหม่และการผลิตสารพลัมบาจิน

ของพืชสกุลหยาดน้ำค้าง (*Drosera* spp.) และกาบหอยแครง (*Dionaea muscipula*)

Effect of light on shoot organogenesis and plumbagin production

of *Drosera* spp. and *Dionaea muscipula*

บทคัดย่อ

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของหยาดน้ำค้างและกาบหอยแครงภายใต้คุณภาพแสงที่แตกต่างกัน พบว่ากาบหอยแครงที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะแสงสีแดง และขาวมีอัตราการเกิดยอดใหม่สูงสุด โดยเปรียบเทียบเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีน้ำเงิน 1.2 เท่า และมีปริมาณสารพลัมบาจินที่สูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดง แต่เมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงพบว่ามีจำนวนยอดต่ำที่สุด เมื่อพิจารณาน้ำหนักแห้งต่ำที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีน้ำเงิน แต่น้ำหนักสดนั้นมีปริมาณไม่แตกต่างกันในทุกแสง สำหรับหยาดน้ำค้างนั้น *Dr. communis* พบว่ามีอัตราการเกิดยอดใหม่วิทยาได้ 100 เปอร์เซ็นต์ในทุกแสงแต่อัตราการเปลี่ยนแปลงที่เร็วที่สุดภายใต้แสงสีเขียวและสีน้ำเงินเมื่อเปรียบเทียบภายใต้ที่มีด และมีจำนวนยอดต่ำที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดง เมื่อพิจารณาน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง ต่ำสุดภายใต้การเพาะเลี้ยงภายใต้ที่มีด และภายใต้แสงสีแดงสามารถกระตุ้นให้มีการผลิตพลัมบาจินได้มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกาบหอยแครงที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีขาว, น้ำเงิน และเขียวแต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ *Dr. peltata* พบว่าที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงและเขียวสามารถชักนำให้มีอัตราการสร้างยอดใหม่ได้ดีที่สุดประมาณ 1.5 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับกาบหอยแครงที่เพาะเลี้ยงภายใต้ที่มีด และพบว่าภายใต้การเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงสามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดต่ำที่สุด เมื่อพิจารณาน้ำหนักสด, น้ำหนักแห้ง มีปริมาณต่ำสุดเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงแดงและที่มีด และการผลิตสารพลัมบาจินได้มากที่สุดภายใต้แสงสีขาว เมื่อเปรียบเทียบกับแสงสีน้ำเงินและที่มีดแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ *Dr. adelea* ที่เพาะเลี้ยงภายใต้ที่มีดและแสงสีขาวมีอัตราการเกิดยอดใหม่สูงที่สุดมากกว่า 1.4 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับชิ้นส่วนเริ่มต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีน้ำเงิน จำนวนยอดต่ำสุดภายใต้แสงสีเขียวและน้ำเงิน และสามารถกระตุ้นให้มีการผลิตพลัมบาจินได้สูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้ที่มีดเมื่อเปรียบเทียบกับแสงขาวแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในส่วนของน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งนั้นไม่แตกต่างกันในทุกแสง จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่าคุณภาพแสงนั้นมีผลต่ออัตราการเกิดยอดใหม่, การเจริญเติบโตและการผลิตสารทุติยภูมิในการเพาะเลี้ยงใบของพืชกินแมลง

บทนำ

แสงนั้นมีความสำคัญและจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืชเป็นอย่างมาก ซึ่งแสงนับเป็นแหล่งพลังงานหลักสำหรับพืชเพื่อใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสงเพื่อกระตุ้นการเติบโตของพืช (Abidi et al., 2013; Chen et al., 2014) กระบวนการสังเคราะห์แสงช่วยให้พืชสามารถผลิตอาหารที่จำเป็นได้ตามกระบวนการทางเคมีของการสังเคราะห์แสงเกิดขึ้นเมื่อใบพืชดูดซับพลังงานที่มีอยู่ภายในแสง พลังงานนี้กลายเป็นเชื้อเพลิงที่ใช้ในการผลิตกลูโคสหรือโมเลกุลของน้ำตาล (Johnson, 2017) คุณภาพแสงนั้นมีอิทธิพลอย่างมากต่อการพัฒนาของพืช (Johkan et al., 2010) โดยพืชจะมีตัวรับสัญญาณหลายชนิดสำหรับรับและส่งสัญญาณจากคุณภาพแสงที่แตกต่างกัน และตัวรับสัญญาณนั้นจะไปกระตุ้นการแสดงออกของยีนเป้าหมาย ซึ่งส่งผลให้เกิดการแสดงออกที่แตกต่างกันในพืช เช่นการออกดอก, การงอกของเมล็ด และการผลิตสารทุติยภูมิ (J. Su et al., 2017) ดังรายงานการศึกษาเกี่ยวกับคุณภาพแสงมีผลต่อการการเจริญเติบโตและการพัฒนาของพืช เช่น การงอกของข้าวมีดัดขึ้น สุขภาพดีที่สุดภายใต้แสงสีแดงและสีน้ำเงิน (Chen et al., 2014) และแสงสีแดงร่วมกับแสงสีน้ำเงินมีผลต่อความปริมาณความเข้มข้นน้ำมันหอมระเหยในพืชสมุนไพร (Dou et al., 2017) แต่อย่างไรก็ตามสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้นแสงมีบทบาทสำคัญในการสร้างอวัยวะและการผลิตสารทุติยภูมิมากกว่าการสังเคราะห์ด้วยแสง (Hong et al., 2015)

แสงเป็นนับเป็นตัวเหนี่ยวนำทางกายภาพชนิดหนึ่ง (Szakiel et al., 2011) ที่สามารถกระตุ้นการผลิตทุติยภูมิของพืชได้ (Shohael et al., 2006) ซึ่งตัวเหนี่ยวนำ (Elicitor) เป็นเครื่องมือสำคัญและใช้กันอย่างกว้างขวางสำหรับการผลิตสารทุติยภูมิด้วยเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ดังมีรายงานการเพิ่มการผลิตสารทุติยภูมิโดยใช้ตัวเหนี่ยวนำในเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Kamonwannasit et al., 2008; Putalun et al., 2007; Zhao et al., 2005) โดยตัวเหนี่ยวนำนั้นจะเป็นตัวส่งสัญญาณในกระบวนการเมแทบอลิซึมและรับสัญญาณโดยเซลล์พืช ส่งผลกระทบให้พืชเกิดการตอบสนองและเกิดกระบวนการป้องกันตัวเองของพืชโดยการผลิตสารทุติยภูมิที่เพิ่มมากขึ้น

พืชสกุล *Drosera* (Droseraceae) หรือที่รู้จักกันทั่วไปในชื่อ หยาดน้ำค้าง เป็นพืชกินแมลงที่มีจำนวนมากที่สุดชนิดหนึ่งประกอบด้วยประมาณ 194 ชนิด (Jadczak et al., 2017) กระจายอยู่ในออสเตรเลีย, แอฟริกา และอเมริกาใต้ นอกจากนี้ยังกระจายพันธุ์ที่ซีกโลกเหนือบางชนิด (Rivadavia et al., 2003) และ *Di. muscipula* หรือชื่อที่เรียกโดยทั่วไปคือ กาบหอยแครง เป็นพืชที่กินแมลงในวงศ์ Droseraceae ซึ่งเป็นพืชเฉพาะถิ่นจากนอร์ทและเซาท์แคโรไลนาในสหรัฐอเมริกา (Hook, 2001) พืชกินแมลงนั้นในสภาพธรรมชาติเติบโตภายใต้สภาวะกลางแจ้ง โดยปัจจัยที่มีผลต่อ

ความเครียดมาจากความเข้มข้นของแสงองค์ประกอบสเปกตรัมของแสงที่เปลี่ยนแปลง (Tkalec et al., 2015) นอกจากนี้พืชกินแมลงนับว่าเป็นไม้ประดับที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ (Barthlott, 2004) และที่สำคัญเป็นที่นิยมใช้ในการแพทย์แผนโบราณเพื่อใช้ในการบำบัดทางเดินหายใจ (Paper, 2005; Fukushima, 2009) พบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิดเช่น flavonoids และ quinones (Hook, 2001; Marczak et al., 2005; Putalun et al., 2010) นอกจากนี้ยังมีสารประกอบในกลุ่ม naphthoquinone โดย naphthoquinone สำคัญที่พบในพืชกลุ่มนี้คือ plumbagin (Zenk et al., 1969) สารประกอบเหล่านี้ถือได้ว่าเป็นสารสำคัญมาก (Milella et al., 2011; Padula et al., 2013) ทั้งยังมีการนำมาใช้ทางด้านเภสัชกรรม (Biteau et al., 2012) โดยสารสำคัญที่พบนั้นมีคุณสมบัติในการต้านไวรัส, ต้านเชื้อแบคทีเรีย, ต้านเชื้อรา และต้านมะเร็ง ซึ่งเป็นคุณสมบัติเป็นที่รู้จักกันแพร่หลาย (Durechová et al., 2016) หากจะใช้พืชกลุ่มนี้เพื่อผลิตยาทางการแพทย์จำเป็นต้องใช้ต้นพันธุ์ในปริมาณมาก เนื่องจากพืชสกุลนี้มีประโยชน์ที่หลากหลายดังที่กล่าวมาข้างต้นจึงทำให้มีการนำต้นมาใช้ประโยชน์จากในธรรมชาติมากขึ้นส่งผลให้มีปริมาณที่ลดลงในธรรมชาติ นอกเหนือจากปัญหาการถูกนำไปใช้ประโยชน์ที่มากแล้วพืชสกุลนี้มีการเจริญเติบโตที่ช้าและมีเมล็ดที่น้อยดังนั้นการขยายพันธุ์ตามธรรมชาติจึงค่อนข้างต่ำ ยิ่งไปกว่านั้นปัญหาสำคัญที่ทำให้พืชสกุลนี้มีปริมาณลดลงในธรรมชาติอันเนื่องมาจากที่อยู่อาศัยในธรรมชาตินั้นถูกทำลายและถูกคุกคามจากกิจกรรมของมนุษย์ อาทิเช่น การลักลอบตัดป่าและการขยายที่อยู่อาศัยของมนุษย์ และการเปลี่ยนแปลงของสภาพสิ่งแวดล้อมในแหล่งที่อยู่อาศัย (Baranyai & Joosten., 2016) ด้วยเหตุผลนี้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจึงเป็นหนึ่งในเทคนิคที่น่าสนใจเพื่อใช้แก้ปัญหาดังที่กล่าวมาข้างต้น ซึ่งเป็นเทคนิคเพื่อใช้ขยายต้นพันธุ์เป็นจำนวนมากและใช้ระยะเวลาอันสั้น ดังมีรายงานการประสบความสำเร็จในการขยายพันธุ์พืชหลายชนิดทั้งการผลิตพืชเพื่อการค้าและพืชสมุนไพรด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งมีหลายปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยเฉพาะปัจจัยคุณภาพแสงดังที่กล่าวมาข้างต้น แต่อย่างไรก็ตามมีรายงานไม่กี่ฉบับที่แสดงถึงผลกระทบของคุณภาพแสงที่มีต่อการกระตุ้นต่อการเจริญเติบโต และการผลิตสารทุติยภูมิของพืชกินแมลง ดังนั้นผลจากการศึกษาครั้งนี้อาจให้ข้อมูลถึงผลของคุณภาพแสงที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา, การเกิดยอดใหม่, การเจริญเติบโต และการผลิตสารทุติยภูมิของพืชกินแมลง และอาจนำไปใช้สำหรับอุตสาหกรรมยาได้ต่อไป

อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

วัสดุพืช

ชิ้นส่วนเริ่มต้นใช้ใบของ *Dr. spp.* และ *Di. muscipula* โดยนำมาจากการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อบนอาหาร ½ MS ภายใต้แสงขาว ($10\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}^1$, 12 ชั่วโมง/วัน)

ผลของคุณภาพแสงและอาหารเพาะเลี้ยงต่อการสร้างยอดใหม่และการสร้างสารพอลิเบนซินใน *Dr. spp.* และ *Di. muscipula*

นำชิ้นส่วนใบของ *Dr. adela* (กว้าง 0.3 ซม. และยาว 0.7-1 ซม.), *Dr. Communis* (กว้าง 0.4-0.5 ซม. และยาว 1 ซม.), *Dr. peltata* (กว้าง 0.2-0.3 ซม. และยาว 0.7-1 ซม.) และ *Di. muscipula* (กว้าง 0.5 ซม. และยาว 0.7-1 ซม.) โดยตัดจากต้นพืชที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ จากนั้นนำ *Di. muscipula* เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS, นำ *Dr. Communis* เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 10% (v/v) และ *Dr. peltate* และ *Dr. adela* เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม BA 0.1 mg/L เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีขาว, แดง, น้ำเงิน และเขียว ที่ความเข้มแสง $10\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}^1$ เป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน และในที่มืด (โดยเพาะเลี้ยงในที่มืด 30 วัน ย้ายมาเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีขาว 30 วัน) การเพาะเลี้ยงทั้งหมดจะถูกเก็บไว้ที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^\circ\text{C}$ และบันทึกข้อมูลอัตราการรอดและการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานทุก 5 วัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 60 วันจะบันทึกข้อมูล จำนวนยอดต่อชิ้นส่วนเริ่มต้น, ขนาดและน้ำหนักของยอด, ปริมาณสารพอลิเบนซิน และปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ ออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ทดลอง 3 ซ้ำ

การวิเคราะห์ปริมาณพอลิเบนซิน

สกัดและวิเคราะห์พอลิเบนซิน ทำตามวิธีของ Wongsu และคณะ (2018) โดยมีการปรับวิธีเล็กน้อยเพื่อให้เข้ากับการทดลอง โดยตัวอย่างพืชจะถูกทำให้แห้งที่ 50 องศาเซลเซียส โดยเตาอบลมร้อนเป็นเวลาสองวัน ตัวอย่างที่แห้งแล้วจะถูกบดด้วยโกร่งจนละเอียดและใช้ตัวอย่างพืชที่บดละเอียดแล้ว (2 กรัม) เติมนิวเมธานอล 2 มิลลิลิตร จากนั้นนำไป vortex เป็นเวลา 1 นาที และนำไป sonicated เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไป vortex เป็นเวลา 1 นาที และนำสารสกัดไปปั่นเหวี่ยง 10,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 2 นาที และดูส่วนใสไปใส่หลอดใหม่ ส่วนที่เหลือจะถูกสกัดซ้ำอีกครั้ง นำส่วนใสจากการสกัดซ้ำสองครั้งจะนำไปประเหยแห้งด้วยเตาอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสจนกระทั่งตัวทำละลายแห้ง และนำสารสกัดที่แห้งแล้วมาละลายด้วยเมทานอล 1 มิลลิลิตร จากนั้นนำไป vortex เป็นเวลา 2 นาที แล้วกรองด้วยตัวกรองเมมเบรน 0.45 ไมโครเมตร สารสกัดพอลิเบนซินที่ผ่านการกรองแล้วจะถูกวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง HPLC (Agilent 1100 series,

Germany) ด้วยคอลัมน์ Symmetry Shield®RP-8 (Waters, ความยาว 150 มม. x 4.6 มิลลิเมตร ID, ขนาดอนุภาค 5 ไมโครเมตร) ฉีดตัวอย่างด้วยปริมาณ 10 ไมโครลิตร โหมบายเฟสที่ใช้คือเมทานอล ต่อกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.1M (45: 55 v / v) โดยใช้อัตราการไหล 0.75 มิลลิตรต่อนาที ตรวจสอบปริมาณพลาสมาจิ้นด้วยแสงยูวีที่ความยาวคลื่น 270 นาโนเมตร ข้อมูลสารพลาสมาจิ้นที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC คำนวณโดยใช้สมการถดถอยเชิงเส้นตรงที่ได้จากเส้นโค้งมาตรฐานของ (Sigma-Aldrich, USA)

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลดังวิธีที่ระบุในบทที่ 2

ผลการทดลอง

หลังจากทำการทดลองเพาะเลี้ยงใบของหยาดน้ำค้างและกาบหอยแครงภายใต้แสงสีขาว, แดง, น้ำเงิน, เขียว และในที่มืด เป็นเวลา 60 วันพบว่า

ผลของคุณภาพแสงต่ออัตราการเจริญเติบโตและจำนวนยอดใหม่

Di. muscipula พบว่าสามารถชักนำให้เกิดการสร้างยอดใหม่สูงที่สุดภายใต้แสงสีแดงและสีขาว 1.2 เท่า เมื่อเปรียบกับการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีน้ำเงิน พืชในสกุล *Drosera* นั้น *Dr. burmannii* ไม่สามารถชักนำให้เกิดการสร้างยอดได้ภายใต้แสงทุกแสงโดยขึ้นส่วนใบเริ่มต้นที่เพาะเลี้ยงจะตายโดยใบจะมีลักษณะเป็นสีน้ำตาล *Dr. communis* เมื่อเพาะเลี้ยงครบ 60 วันในทุกระยะอาหารสามารถเกิดยอดใหม่ได้ไม่แตกต่างกันในทุกระยะอาหารโดยสามารถเกิดยอดใหม่ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ *Dr. adela*e พบว่าสามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงที่สุดภายใต้แสงสีแดงและเขียว โดยมากกว่า 1.4 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับแสงสีน้ำเงิน และใน *Dr. peltata* นั้นสามารถเกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้ที่มีแดดและแสงสีขาว เมื่อเปรียบเทียบกับที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดง 1.5 เท่า ดังภาพ 3.2 และเมื่อพิจารณาจำนวนยอดที่สร้างใหม่พบว่า *Di. muscipula* พบว่ามีจำนวนยอดที่ต่ำที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงแดงและเขียว เมื่อเปรียบเทียบกับในที่มืด 1 เท่า ส่วนในพืชสกุล *Drosera* นั้น *Dr. communis* เมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้ที่มีแดดและแสงแดงจะให้จำนวนยอดต่อชิ้นส่วนเริ่มต้นสูงที่สุดที่ต่ำที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีขาว 2 เท่า *Dr. peltata* นั้นมีจำนวนยอดที่น้อยที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดง เมื่อเปรียบเทียบกับแสงสีขาวถึง 2 เท่า และใน *Dr. adela*e มีจำนวนยอดต่ำที่สุดภายใต้แสงสีน้ำเงินและเขียว เมื่อเปรียบเทียบกับที่เพาะเลี้ยงในที่มืดถึง 3 เท่า ดังภาพ 3.3

ผลของคุณภาพแสงต่อปริมาณชีวมวล

Di. muscipula มีน้ำหนักสดมีปริมาณไม่แตกต่างกันในทุกแสง *Drosera* นั้น *Dr. communis* เมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้ที่มีดจะให้น้ำหนักสดที่ต่ำที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับแสงสีขาว 30 เท่า *Dr. peltata* นั้นมีน้ำหนักสดที่ต่ำที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้ที่มีด 2 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับแสงสีน้ำเงิน และใน *Dr. adaelae* ในอาหารทุกแสงจะให้ปริมาณของน้ำหนักสดที่ไม่แตกต่างกัน ดังภาพ 3.4 และเมื่อพิจารณาปริมาณน้ำหนักแห้ง *Di. muscipula* มีน้ำหนักแห้งที่น้อยที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีน้ำเงิน 1.5 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดง *Drosera* นั้น *Dr. communis* เมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้ที่มีด จะให้น้ำหนักแห้งที่ต่ำที่สุดซึ่งสอดคล้องกับในปริมาณน้ำหนักสดที่มีปริมาณน้อยที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้ที่มีด โดยเมื่อเปรียบเทียบกับที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีขาวน้อยกว่า 4 เท่า *Dr. peltata* นั้นมีน้ำหนักแห้งที่ต่ำที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงและที่มีด 3 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีขาว และใน *Dr. adaelae* เมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้ทุกแสงจะให้ปริมาณน้ำหนักแห้งที่ไม่แตกต่างกัน ดังภาพ 3.4

ผลของคุณภาพแสงต่อปริมาณสารพอลิมาจิน

Di. muscipula พบว่ามีปริมาณสารพอลิมาจินที่ไม่แตกต่างกันในทุกแสง แต่เมื่อพิจารณาแนวโน้มของปริมาณสารพอลิมาจินที่ผลิตได้แสงสีแดงนั้นมีแนวโน้มที่สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับแสงสีอื่น *Drosera* นั้น *Dr. communis* เมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดง, ขาว, น้ำเงินและเขียวจะให้ปริมาณสารพอลิมาจินที่สูงที่สุดแต่เมื่อพิจารณาที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงแดงจะพบว่ามีแนวโน้มปริมาณสารพอลิมาจินที่สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับแสงสีอื่น *Dr. peltata* นั้นมีปริมาณสารพอลิมาจินสูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีขาว, น้ำเงิน และในที่มีด 4 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับแสงสีแดงเมื่อพิจารณาเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีขาวจะพบว่ามีแนวโน้มปริมาณสารพอลิมาจินที่สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับแสงสีอื่นๆ และใน *Dr. adaelae* มีปริมาณสารพอลิมาจินที่สูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้ที่มีดและแสงสีขาวถึง 6 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีเขียวแต่เมื่อพิจารณาที่เพาะเลี้ยงภายใต้ที่มีดจะมีแนวโน้มปริมาณสารพอลิมาจินที่สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับแสงสีขาว ดังภาพ 3.5

วิจารณ์ผลการทดลอง

จำนวนยอด, น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งมีปริมาณสูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงขาวนั้นมีรายงานการศึกษาผลของแสงขาวที่มีผลต่อการเจริญเติบโตในพืชหลายชนิดเช่น ในกัญญาโดยที่แสงสี

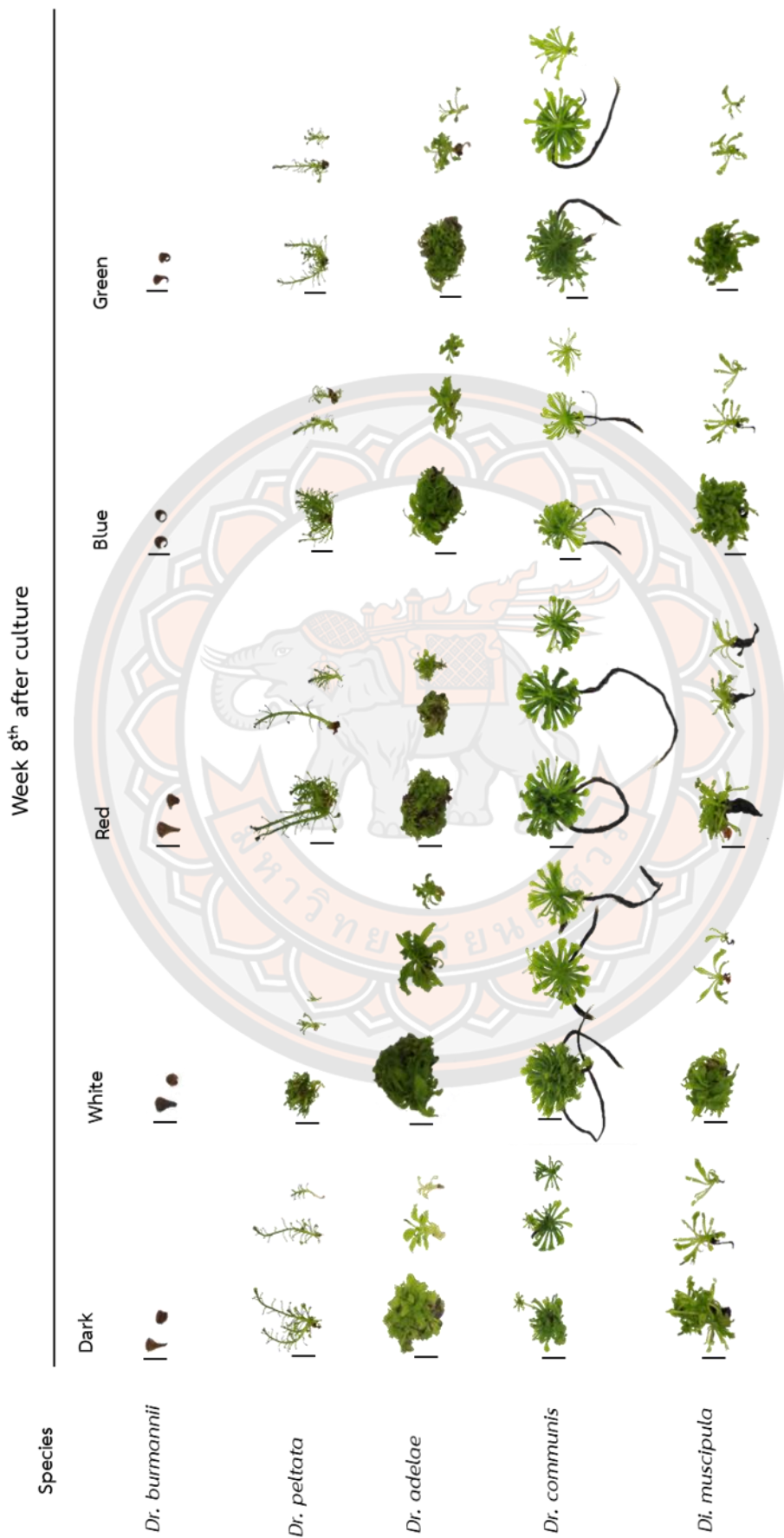
ชาวมียผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของ *Cannabis sativa* L. ได้ดีที่สุด (Lalge et al., 2017) และใน lettuce, tobacco (Brown et al., 1995; Kim et al., 2004b; Yang et al., 2017), *Solanum lycopersicum* L. และ *Platanus orientalis* L. (Arena et al., 2016) และในกรณีเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้ที่มีดสามารถมีจำนวนยอดสูงสุดซึ่งมีรายงานการศึกษาเมื่อเพาะเลี้ยงในที่มืดในพืชหลายชนิด เช่น *Alternanthera brasiliana* Kuntze. โดยได้อธิบายไว้ว่าที่มีดนั้นมีผลต่อความสัมพันธ์ระหว่าง SLM และ LD ในใบของพืช (Macedo et al., 2011) ในกรณีที่มีจำนวนยอด, น้ำหนักสด, และน้ำหนักแห้งสูงเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีเขียวยและสีน้ำเงิน อาจเป็นเพราะว่าแสงสีเขียวนั้นส่งผลต่อมวลชีวภาพของพืช (Klein et al., 1965; Wang & Folta, 2013; Went, 1957) นอกจากนี้ยังมีผลตรงกันข้ามกับแสงสีน้ำเงินในการควบคุมการเปิดปิดของปากใบ และลดการเปิดปิดปากใบในหลายสปีชีส์ (Eisinger et al., 2003; Frechilla et al., 2000) อาทิเช่น *Vicia faba*, *Arabidopsis thaliana*, *Nicotiana tabacum*, *Pisum sativum*, และ *Lactuca sativa* (Frechilla et al., 2000; Kim et al., 2004a; Talbott et al., 2002) Wang และ Folta (2013) ได้กล่าวว่าแสงสีเขียวนั้นมีผลต่อการพัฒนาของพืชโดยเฉพาะในสภาวะที่มีความเข้มข้นของแสงต่ำ ยิ่งไปกว่านั้นนั้นแสงสีเขียวยังสามารถแทรกซึมในใบพืชอย่างมีประสิทธิภาพและสามารถช่วยเพิ่มปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ (Kim et al., 2004b; Nishio, 2000; Sun et al., 1998; Terashima et al., 2009) และแสงสีเขียวยังมีผลควบคุมการพัฒนาของพืชอีกด้วย (Wang & Folta, 2013) ส่วนในแสงสีน้ำเงินนั้นสอดคล้องกับการศึกษาใน tomato (Głowacka, 2004), roses (Girault et al., 2008; Islam et al., 2012; Terfa et al., 2013), petunia (Fukuda et al., 2009), *Triticum aestivum* (Barnes & Bugbee, 1992), *Solanum tuberosum* (Wilson et al., 1993), *Oryza sativa* L. ที่แสงสีน้ำเงินส่งผลต่อการเจริญและการยืดยาว (Chen et al., 2014) และ leafy greens (Matysiak & Kowalski, 2019) อาจเพราะแสงสีน้ำเงินกระตุ้นให้เกิดการพัฒนาคลอโรพลาสต์และคลอโรพลาสต์ของเซลล์พืช (Richter & Wessel, 1985) และการควบคุมขอบโพโตโทรปินควบคุมการเปิดปากใบและการสะสมคลอโรพลาสต์ (Christie, 2007)

การที่พบปริมาณสารพอลิมาจินที่สูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงสามารถกระตุ้นให้มีการผลิตพอลิมาจินได้มากที่สุดแสงสีแดงนั้นจำเป็นอย่างมากมีประสิทธิภาพในการควบคุมการเติบโตและการพัฒนา โดยแสงสีแดงนั้นมีประสิทธิภาพในการเคลื่อนย้ายโฟตอนในกระบวนการสังเคราะห์แสง นอกจากนี้คลอโรฟิลล์นั้นยังสามารถดูดกลืนแสงสีแดงได้ดี แสงสีแดงนั้นเป็นแสงที่ช่วยในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช มีรายงานการศึกษาของแสงสีแดงที่มีผลต่อการเติบโตในพืชหลายชนิด

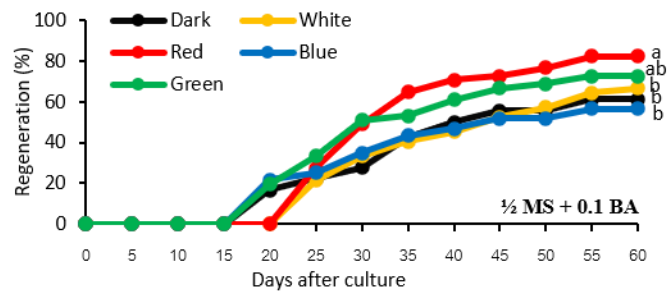
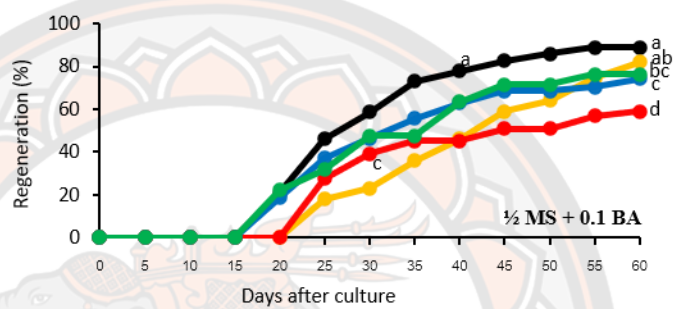
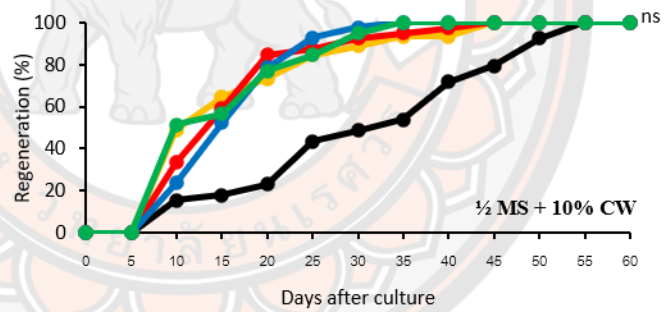
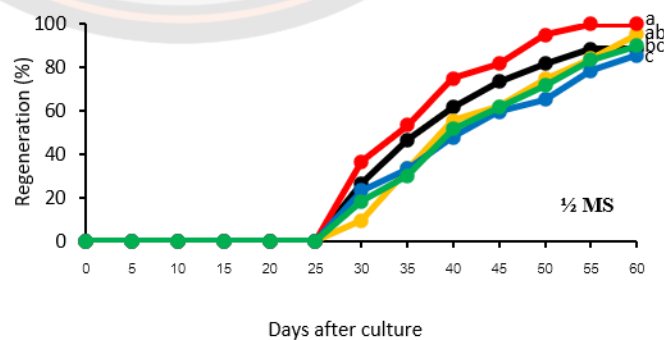
และในกุหลาบ โดยมีรายงานว่าแสงสีแดงนั้นมีผลต่อการทำงานในระบบแสงสองในกระบวนการสังเคราะห์เป็นอย่างมาก (Bayat et al., 2018) และเมื่อเกิดจากการสังเคราะห์ด้วยแสงที่มีประสิทธิภาพภายใต้แสงสีแดงมีผลต่อสารปฐมภูมิในปริมาณมากซึ่งสารปฐมภูมินั้นเป็นสารหลักที่ใช้ในการผลิตสารทุติยภูมิจึงได้นำไปสู่การผลิตการสะสมสารทุติยภูมิในปริมาณที่มาก (Akula & Ravishankar, 2011) ดังเช่นในการศึกษานี้ *Dr. adela* นั้นเมื่อเพาะเลี้ยงในที่มืดพบว่าปริมาณสารพลาบามินที่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับแสงสีอื่นๆ และเมื่อพิจารณาจำนวนยอด, น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งนั้นมีปริมาณที่มากเมื่อเพาะเลี้ยงในที่มืดเช่นกันจะเห็นได้ว่าต้นที่มีการเจริญเติบโตที่ดีนั้นจะมีการสร้างสารพลาบามินที่มากไปด้วย และในทางกลับกันนอกจากนี้การเพาะเลี้ยงภายใต้แสงแดงอาจทำให้เกิดความเครียดโดยความเครียดนั้นเกิดเมื่อพืชได้รับคุณภาพและปริมาณแสงที่ไม่เหมาะสมนั้น อาจทำให้พืชได้รับความเครียดจะมีการตอบสนองโดยมีการสร้างสารทุติยภูมิขึ้นมาในปริมาณที่มาก (Zeilinger et al., 2016) ดังเช่นในศึกษานี้จะเห็นได้ว่า ใน *Dr. communis* นั้นมีปริมาณที่มากเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงแต่เมื่อพิจารณาจำนวนยอด และน้ำหนักสดน้ำหนักแห้งจะเห็นได้ว่ามีปริมาณที่ต่ำนั้นอาจเป็นเพราะว่าเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงนั้นทำให้เกิดความเครียดจึงมีการเจริญเติบโตได้ไม่ดีนักทำให้มีการสร้างสารทุติยภูมิขึ้นในปริมาณที่มาก

สรุปผลการทดลอง

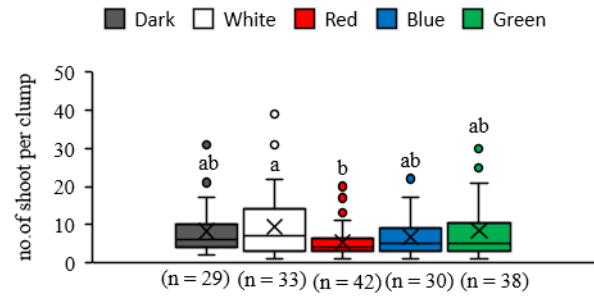
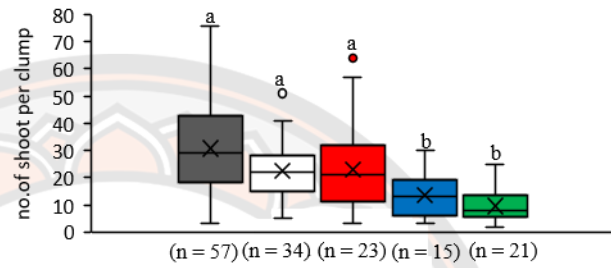
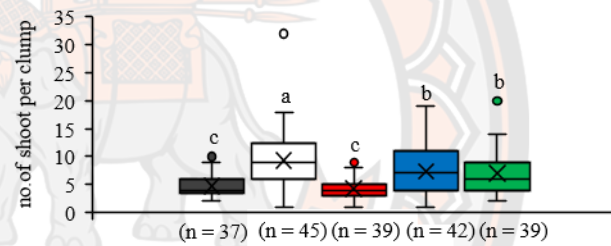
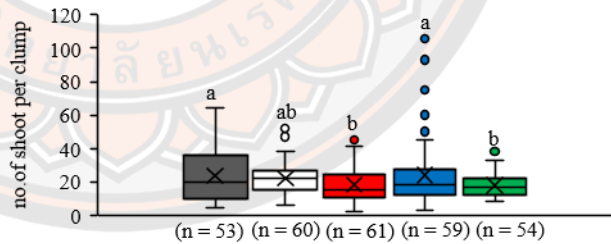
จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของหยาดน้ำค้างและกาบหอยแครงภายใต้สภาวะแสงสีขาว แดง น้ำเงิน เขียว และในที่มืด นั้นพบว่าในกาบหอยแครงแสงสีแดงสามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้สูงที่สุดภายใต้แสงสีแดงและขาว และมีการผลิตสารพลาบามินได้สูงที่สุดภายใต้แสงสีแดง และในหยาดน้ำค้างทั้ง 3 ชนิดนั้น อัตราการเกิดยอดใหม่รวมถึงปริมาณการผลิตสารพลาบามินนั้นตอบสนองต่อแสงที่แตกต่างกัน และคุณภาพแสงนั้นมีผลต่อการกระตุ้นต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาและการผลิตสารพลาบามินในพืชกินแมลง



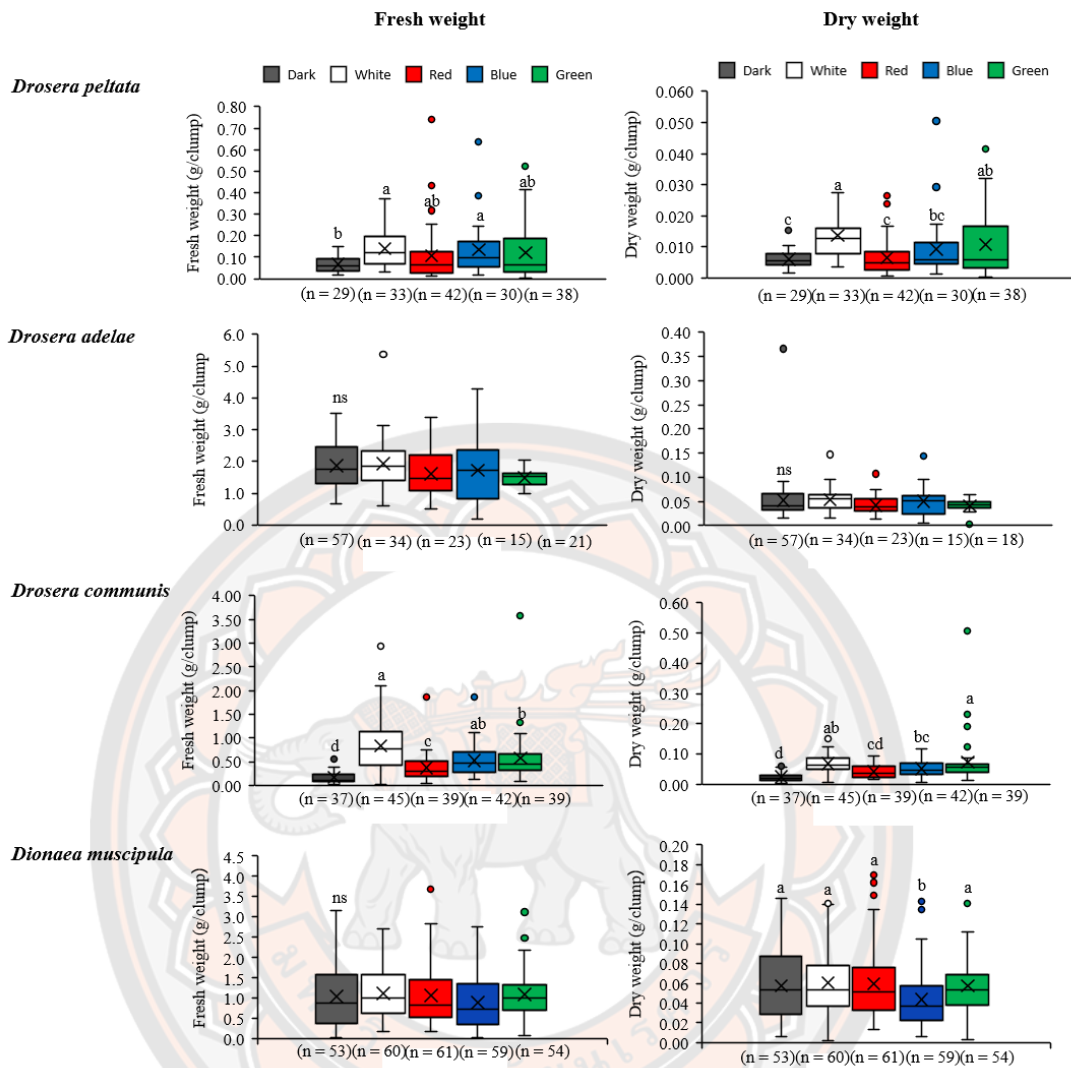
ภาพ 3.1 การสร้างยอดใหม่ของกรพาะเลี้ยงใน *Drosera* spp. และ *Dionaea muscipula* ภายใต้แสงสีขาว, แดง, น้ำเงิน, เขียว และที่มืด (ที่มีด 30 วัน แสงขาว 30 วัน) เป็นเวลา 8 สัปดาห์, bar = 1 เซนติเมตร

Drosera peltata*Drosera adaelae**Drosera communis**Dionaea muscipula*

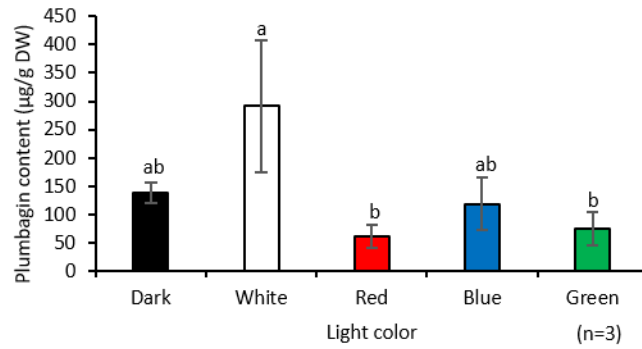
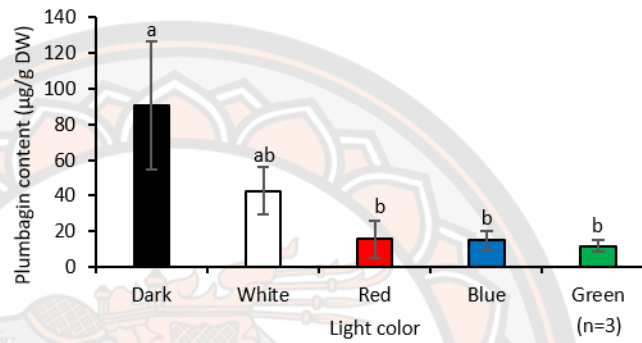
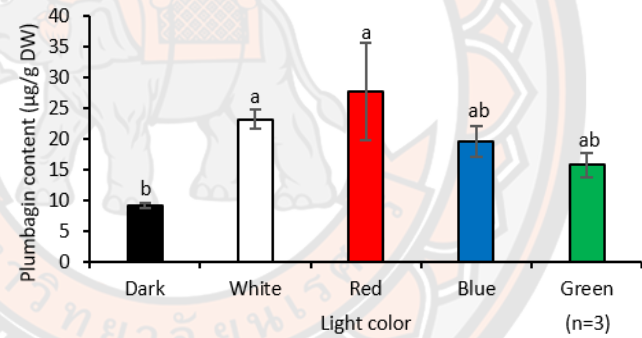
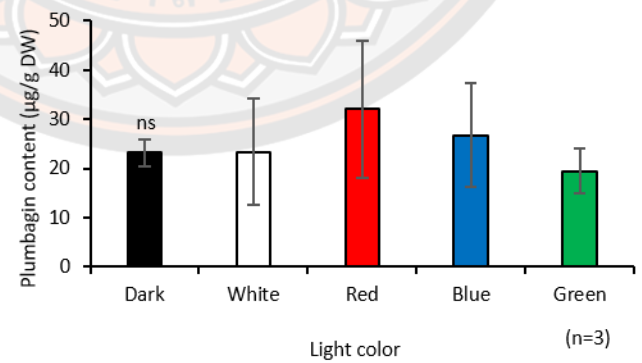
ภาพ 3.2 อัตราการสร้างยอดใหม่ของการเพาะเลี้ยงใบ *Drosera* spp. และ *Dionaea muscipula* ภายใต้แสงสีขาว, แดง, น้ำเงิน, เขียว และที่มืด เป็นเวลา 8 สัปดาห์

Drosera peltata*Drosera adelae**Drosera communis**Dionaea muscipula*

ภาพ 3.3 จำนวนยอดใหม่ต่อชิ้นส่วนเริ่มต้นที่ได้หลังจากการเพาะเลี้ยงใบ *Drosera* spp. และ *Dionaea muscipula* ภายใต้แสงสีขาว, แดง, น้ำเงิน, เขียว และที่มืดเป็นเวลา 8 สัปดาห์



ภาพ 3.4 น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของกอน้ำที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบ *Drosera* spp. และ *Dionaea muscipula* ภายใต้แสงสีขาว, แดง, น้ำเงิน, เขียว และที่มืดเป็นเวลา 8 สัปดาห์

Drosera peltata*Drosera adelae**Drosera communis**Dionaea muscipula*

ภาพ 3.5 ปริมาณสารพลัมบาจिनของกอที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบ *Drosera* spp. และ *Dionaea muscipula* ภายใต้แสงสีขาว, แดง, น้ำเงิน, เขียว และที่มืดเป็นเวลา 8 สัปดาห์

บทที่ 4

ผลของคุณภาพแสงแอลอีดีต่อการเหนี่ยวนำการสร้างสารพลัมบาจิน

ในหยาดน้ำค้าง (*Drosera communis* A.St.-Hil.)

Effect of LED light quality on plumbagin elicitation

of *Drosera communis* A.St.-Hil.

บทคัดย่อ

หยาดน้ำค้าง (*Dr. Communis*) เป็นพืชกินแมลง ที่นำมาใช้ประโยชน์เป็นไม้ประดับและพืชสมุนไพรเพื่อเหนี่ยวนำการสร้างพลัมบาจิน ซึ่งเป็นสารพฤกษเคมีที่สำคัญของหยาดน้ำค้าง จึงทำการเพาะเลี้ยงกอหยาดน้ำค้างที่มีอายุ 4 เดือน หลังจากชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่จากชิ้นส่วนใบ ภายใต้แสงขาว, แดง, น้ำเงิน และเขียว เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงเขียวและน้ำเงินมีน้ำหนักสดสูงสุด (2.99 และ 2.92 กรัมต่อกอ ตามลำดับ) ซึ่งมากกว่าต้นที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงขาว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่อย่างไรก็ตามน้ำหนักแห้งของต้นที่เพาะเลี้ยงในทุกแสงไม่แตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนี้ต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงขาวมีปริมาณคลอโรฟิลล์ a, b, คลอโรฟิลล์รวม และแคโรทีนอยด์ สูงที่สุดแต่ไม่แตกต่างทางสถิติจากต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงแดง อย่างไรก็ตามแสงแดง, เขียว และน้ำเงิน สามารถเหนี่ยวนำให้ต้นหยาดน้ำค้างสร้างสารพลัมบาจินได้สูงกว่าแสงขาว (ประมาณ 1.6-2.0 เท่า) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงแดงมีการผลิตพลัมบาจินต่อกอสูงสุด การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าคุณภาพของแสงมีผลต่อการเหนี่ยวนำการสร้างสารพลัมบาจินในต้นหยาดน้ำค้าง

บทนำ

Dr. Communis (หยาดน้ำค้าง) เป็นพืชกินแมลงที่มีวิวัฒนาการเพื่อความอยู่รอดโดยการจับแมลงเพื่อรับสารอาหาร (Juniper et al., 1989) พืชชนิดนี้ยังถูกใช้เป็นยาสมุนไพรพื้นบ้าน สารประกอบออกฤทธิ์ทางชีวภาพสำคัญที่พบใน *Dr. Communis* คือ พลัมบาจิน (Zenk et al., 1969) สารประกอบเหล่านี้มีประสิทธิภาพในการรักษาที่หลากหลายเช่นการรักษาอาการไอ, ยาต้านมาลาเรีย, ต้านเชื้อแบคทีเรีย, ต้านมะเร็งและต้านเชื้อรา (Curreli et al., 2001; Królicka et al., 2008; Tokunaga et al., 2004) อย่างไรก็ตามหยาดน้ำค้างนั้นมีปริมาณลดลงเนื่องจากการทำลายแหล่งที่อยู่อาศัยและจากกิจกรรมมนุษย์ นอกจากนี้การเจริญเติบโตของสายพันธุ์นี้จะช้ามากในธรรมชาติและมีเมล็ดที่น้อย (Banasiuk et al., 2012) ดังนั้นพืชสกุลนี้ที่เติบโตในธรรมชาติอาจไม่

สามารถใช้เป็นแหล่งสำหรับการใช้เป็นวัตถุดิบในการทำยาได้ ด้วยเหตุนี้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจึงเป็นหนึ่งในเทคนิคที่มีความสำคัญที่ใช้สำหรับการแก้ปัญหา ซึ่งเทคนิคนี้ประสบความสำเร็จในการขยายพันธุ์พืชหลายชนิดรวมถึงพืชเพื่อการค้า (Davey et al., 2010) และพืชสมุนไพร (Sidhu, 2011; Vives et al., 2017) อย่างไรก็ตามมีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อของ *Dr. Communis* ไม่มากนัก นอกจากนี้ความสำเร็จของการเพาะเลี้ยงเชื้อในสภาพปลอดเชื้อเพื่อการผลิตสารทุติยภูมินั้นยังขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย

แสงเป็นหนึ่งในปัจจัยที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของพืช แสงนั้นมีผลโดยตรงต่อกระบวนการสังเคราะห์แสง (Muneer et al., 2014) นอกจากนี้พืชสามารถส่งและรับสัญญาณจากคุณภาพและปริมาณแสงที่แตกต่างกันผ่านตัวรับสัญญาณชนิดต่าง ๆ จากนั้นจึงกระตุ้นการตอบสนองทางสรีรวิทยา (J. Su et al., 2017) นอกจากการสังเคราะห์ด้วยแสงแล้วแสงยังมีผลต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาบางอย่างเช่นการออกดอก, การงอกของเมล็ด และการผลิตสารทุติยภูมิ ดังมีรายงานว่าแสงเป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งที่สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดกระบวนการนี้ (Hasan, Bashir, Ghosh, Lee, & Bae, 2017) สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแสงมีบทบาทสำคัญในการสร้างอวัยวะมากกว่าการสังเคราะห์ด้วยแสง (Batista และคณะ, 2018) นอกจากนี้ยังมีรายงานการผลิตสารทุติยภูมิทุติยภูมิโดยใช้แสงในการเหนี่ยวนำพืชที่เพาะเลี้ยงภายใต้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อในพืชหลายชนิดเช่น *Eleutherococcus senticosus* (Shohael et al., 2006), *Drosera spatulata* (Promchiangsa et al., 2018) และ *Epimedium pseudowushanense* B.L.Guo (Pan และคณะ, 2016) แต่อย่างไรก็ตามรายงานเกี่ยวกับคุณภาพแสงต่อการผลิตสารทุติยภูมิในพืชกินแมลงนั้นมีค่อนข้างน้อย ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสังเกตผลของคุณภาพแสงต่อการผลิตพลาสมาของ *Dr. Communis* และผลจากการศึกษาอาจนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตสารทุติยภูมิในพืชชนิดอื่น

อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

วัสดุพืช

ชิ้นส่วนเริ่มต้นใช้ใบของ *Dr. communis* โดยนำมาจากการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อบนอาหาร ½MS ภายใต้แสงขาว ($10 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}^1$, 12 ชั่วโมง/วัน)

ผลของคุณภาพแสงต่อการเหนี่ยวนำการสร้างสารพลัมบาจินใน

Drosera commanis

นำชิ้นส่วนใบของ *Dr. communis* (กว้าง 0.4-0.5 ซม. และยาว 1 ซม.) เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/2MS ที่ความเข้มแสง $10 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}^1$ เป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน การเพาะเลี้ยงทั้งหมดจะถูกเก็บไว้ที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^\circ\text{C}$ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือนจากนั้น ย้ายไปเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีขาว, ภายใต้แสงสีขาว, แดง, น้ำเงิน และเขียว หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ เก็บข้อมูลปริมาณสารพลัมบาจิน และปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์

การวิเคราะห์ปริมาณพลัมบาจิน

สกัดและวิเคราะห์พลัมบาจิน ทำตามวิธีของ Wongsu และคณะ (2018) โดยมีการปรับวิธีเล็กน้อยเพื่อให้เข้ากับการทดลอง โดยตัวอย่างพืชจะถูกทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส โดยเตาอบลมร้อนเป็นเวลาสองวัน ตัวอย่างที่แห้งแล้วจะถูกบดด้วยโกร่งจนละเอียดและใช้ตัวอย่างพืชที่บดละเอียดแล้ว (0.5 กรัม) เติมน้ำเมทานอล 2 มิลลิลิตร จากนั้นนำไป vortex เป็นเวลา 1 นาที และนำไป sonicated เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไป vortex เป็นเวลา 1 นาที และนำสารสกัดไปปั่นเหวี่ยง 10,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 2 นาที และดูส่วนใสไปใส่หลอดใหม่ ส่วนที่เหลือจะถูกสกัดซ้ำอีกครั้ง นำส่วนใสจากการสกัดซ้ำสองครั้งจะนำไปประเหยแห้งด้วยเตาอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสจนกระทั่งตัวทำละลายแห้ง และนำสารสกัดที่แห้งแล้วมาละลายด้วยเมทานอล 1 มิลลิลิตร จากนั้นนำไป vortex เป็นเวลา 2 นาที แล้วกรองด้วยตัวกรองเมมเบรน 0.45 ไมโครเมตร สารสกัดพลัมบาจินที่ผ่านการกรองแล้วจะถูกวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง HPLC (Agilent 1100 series, Germany) ด้วยคอลัมน์ Symmetry Shield[®]RP-8 (Waters, ความยาว 150 มม. x 4.6 มิลลิเมตร ID, ขนาดอนุภาค 5 ไมโครเมตร) ฉีดตัวอย่างด้วยปริมาณ 10 ไมโครลิตร โมบายเฟสที่ใช้คือเมทานอลต่อกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.1M (45: 55 v / v) โดยใช้อัตราการไหล 0.75 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจสอบปริมาณพลัมบาจินด้วยแสงยูวีที่ความยาวคลื่น 270 นาโนเมตร ข้อมูลสารพลัมบาจินที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC คำนวณโดยใช้สมการถดถอยเชิงเส้นตรงที่ได้จากเส้นโค้งมาตรฐานของ (Sigma-Aldrich, USA)

การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์

สกัดคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ตามวิธีของ Porra และคณะ (1989) ใช้ตัวอย่างใบสด (0.05 กรัม) บดใบสดให้ละเอียดตัวกรองที่เย็นก่อนที่จะเติมตัวทำละลายที่เย็น 1 มล. (1: 1 v / v อะซิโตน 80% ต่อเอธานอล) จากนั้นกวนสารสกัดเบา ๆ เป็นเวลา 1 นาที เก็บไว้ในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาที ดูดส่วนใสเก็บไว้ในหลอดใหม่ และนำวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 441 นาโนเมตร, 663 นาโนเมตรและ 654 นาโนเมตร ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ถูกคำนวณโดยใช้สูตรต่อไปนี้

$$\text{Chlorophyll a} = [(12.25 \times A_{663}) - (2.55 \times A_{645})] \times [1/(100 \times \text{LFW})]$$

$$\text{Chlorophyll b} = [(20.30 \times A_{645}) - (4.91 \times A_{663})] \times [1/(100 \times \text{LFW})]$$

$$\text{Chlorophyll a+b} = [(7.34 \times A_{663}) + (17.76 \times A_{645})] \times [1/(100 \times \text{LFW})]$$

$$\text{Carotenoid} = [(4.46 \times A_{441}) - \text{Chlorophyll a} + \text{Chlorophyll b}] \times [1/(100 \times \text{LFW})]$$

โดย An เป็นค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น n และ LFW คือน้ำหนักสด (g) ของใบตัวอย่าง

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลดังเช่นบทที่ 2 และ 3

ผลการทดลอง

หลังจากทำการทดลองเพาะเลี้ยงกอของ *Dr. communis* ภายใต้แสงสีขาว, แดง, น้ำเงิน และเขียว เป็นเวลา 8 สัปดาห์พบว่า

ผลของการเหนี่ยวนำด้วยคุณภาพแสงต่ออัตราการเจริญเติบโตและปริมาณชีวมวล

พบว่าภายใต้แสงสีน้ำเงินและสีเขียวสามารถกระตุ้นน้ำหนักสดและขนาดกออย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับแสงสีขาวแต่ในขณะที่น้ำหนักแห้งนั้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และขนาดกอมีขนาดใหญ่กว่าอย่างมีนัยสำคัญพบจากการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีน้ำเงินและสีเขียวเมื่อเทียบกับแสงสีขาว ความกว้างและความสูงสูงสุดของกอพบจากการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีน้ำเงินที่ประมาณ 1.3 และ 1.4 เท่าเหนือแสงสีขาวตามลำดับ ดังตารางที่ 4.1

ผลของการเหนี่ยวนำด้วยคุณภาพแสงต่อปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์

สำหรับปริมาณของคลอโรฟิลล์ a, b, คลอโรฟิลล์รวมและปริมาณแคโรทีนอยด์ สามารถกระตุ้นได้สูงสุดจากพืชที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีขาวตามด้วยแสงสีแดงตามลำดับแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังภาพ 4.2

ผลของการเหนี่ยวนำด้วยคุณภาพแสงต่อปริมาณสารพอลิมาจิน

เมื่อมีพิจารณาเกี่ยวกับปริมาณการผลิตสารพอลิมาจินการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดง, เขียว และน้ำเงินสามารถกระตุ้นให้ปริมาณพอลิมาจินสูงกว่าแสงสีขาวอย่างมีนัยสำคัญ และปริมาณพอลิมาจิน สูงที่สุดภายใต้แสงสีแดง ซึ่งมีปริมาณสูงกว่าแสงสีขาวประมาณ 2 เท่า ดังภาพ 4.3

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากขนาดของกอกมีความกว้างและความสูงสูงสุดของกอกพบจากการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีน้ำเงินสูงสุด ซึ่งมีผลของแสงสีน้ำเงินที่มีผลต่อความสูงของต้นในพืชหลายชนิดตัวอย่างเช่นในข้าว (*Oryza sativa* L.) นอกจากนี้ยังมีรายงานผลลัพธ์ของแสงสีน้ำเงินต่อการสร้างยอดของ *Populus euramericana* โคลน 'Dorskamp' (Kwon et al., 2015) และในถั่วเหลือง, หัวไชเท้าและข้าวสาลี (Cope & Bugbee, 2013) ที่แสงสีน้ำเงินส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการยืดยาวของยอดใหม่ (Chen et al., 2014) และ leafy greens (Matysiak & Kowalski, 2019) อาจเนื่องมาจากช่วงความยาวคลื่นสีน้ำเงินนั้นเหมาะสมสำหรับการเกิดยอด, ต้น และการยืดยาวของต้น (Wheeler, Mackowiak, & Sager, 1991) โดยแสงสีน้ำเงินนั้นอาจกระตุ้นให้เกิดการพัฒนาพลาสทิดและคลอโรพลาสทิดในเซลล์พืช (Richter & Wessel, 1985) และการควบคุมของไฟโตโทรปินควบคุมการเปิดปากใบ การสะสมคลอโรพลาสทิด และความสูงของยอด (Christie, 2007)

สำหรับปริมาณคลอโรฟิลล์และปริมาณแคโรทีนอยด์ สูงสุดพบได้จากการเพาะเลี้ยงพืชภายใต้แสงสีขาว บางทีอาจเป็นเพราะว่าแสงสีขาวนั้นประกอบด้วยความยาวคลื่นที่มีผลต่อการสังเคราะห์แสงเช่น แสงสีแดงและสีน้ำเงินที่พืชสามารถดูดซับพลังงานแสงได้ดีที่สุด ดังมีรายงานการศึกษาของแสงสีขาวในพืชชนิดอื่นตัวอย่างเช่น ในแตงกวา (*Cucumis sativus*) (Su et al., 2014; Wang et al., 2009) และ ในกัญชง (*Cannabis sativa* L.) (Lalge et al., 2017) โดยได้อธิบายว่าโดยที่แสงสีขาวมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช

สามารถพบปริมาณพลาสมาเงินสามารถกระตุ้นได้สูงที่สุดจากการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดง, น้ำเงิน และ เขียว อาจเกิดจากการสังเคราะห์ด้วยแสงที่มีประสิทธิภาพภายใต้แสงสีแดง, น้ำเงิน และ เขียว มีผลต่อสารปฐมภูมิซึ่งสารปฐมภูมินั้นเป็นสารตั้งต้นของสารทุติยภูมิ หากมีการสร้างสารปฐมภูมิในปริมาณที่มากจะนำไปสู่การสร้างสารทุติยภูมิที่สูง (Akula & Ravishankar, 2011) จะเห็นได้ว่าภายใต้แสงสีน้ำเงิน, เขียว และแดง มีน้ำหนักสดที่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับแสงสีขาวจะเห็นได้ว่ามีการเจริญเติบโตที่ติดตารางที่ 4.1 และเมื่อพิจารณาปริมาณสารพลาสมาเงินจะเห็นได้ว่ามีปริมาณพลาสมาเงินที่สูง เมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงแดง, น้ำเงิน และเขียว ดังภาพ 4.3 ซึ่งจะเห็นได้ว่าหากมีการเจริญเติบโตที่ดีจะมีการสร้างสารทุติยภูมิที่สูง

สรุปผลการทดลอง

Dr. communis นำมาเพาะเลี้ยงภายใต้แสง LED สีขาว, แดง, เขียว และน้ำเงิน เพื่อเป็นตัวเหนี่ยวนำเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าแสงสีแดงสามารถชักนำให้เกิดการผลิตพลาสมาเงินสูงสุดและมีการเจริญเติบโตที่ปกติ

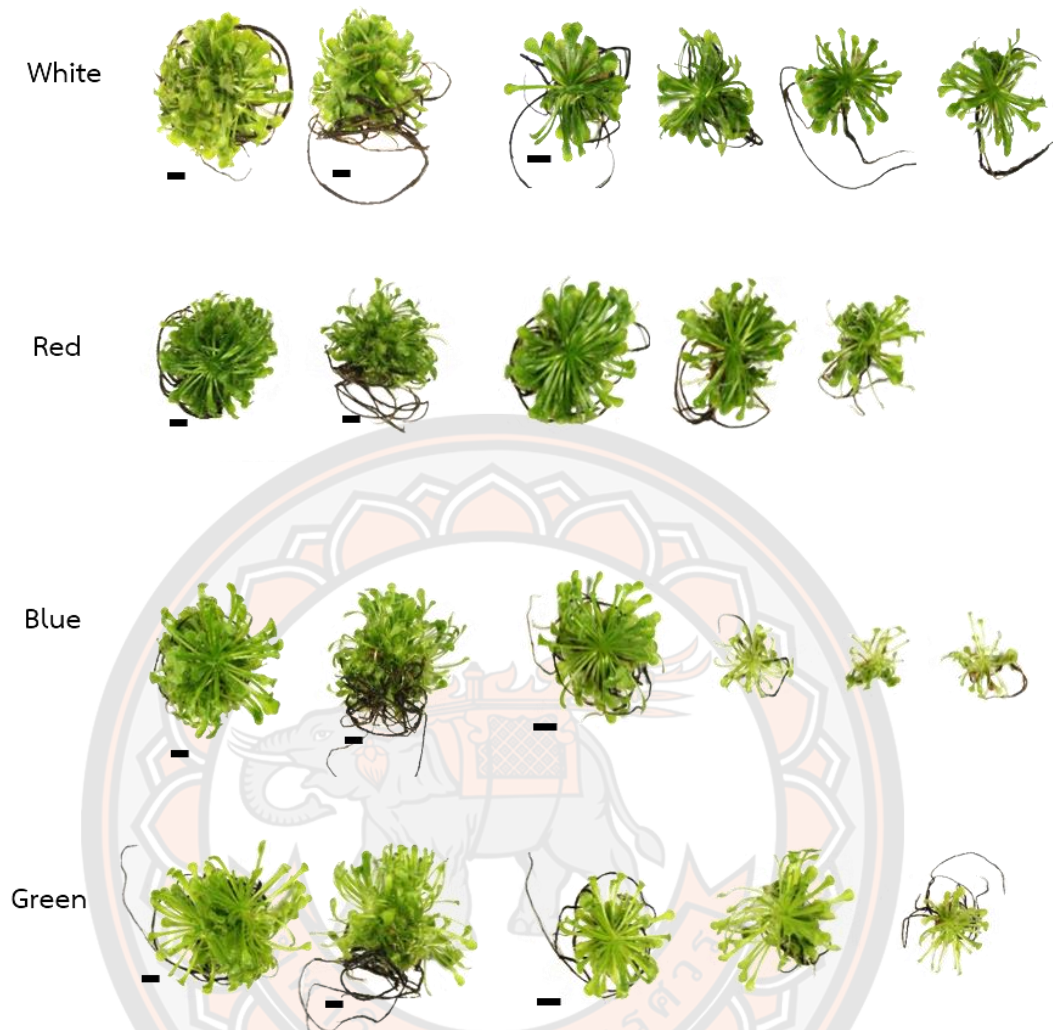


ตาราง 4.1ผลของคุณภาพแสงต่อการเจริญเติบโตของ *Drosera Communis* บันทึกลงหลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

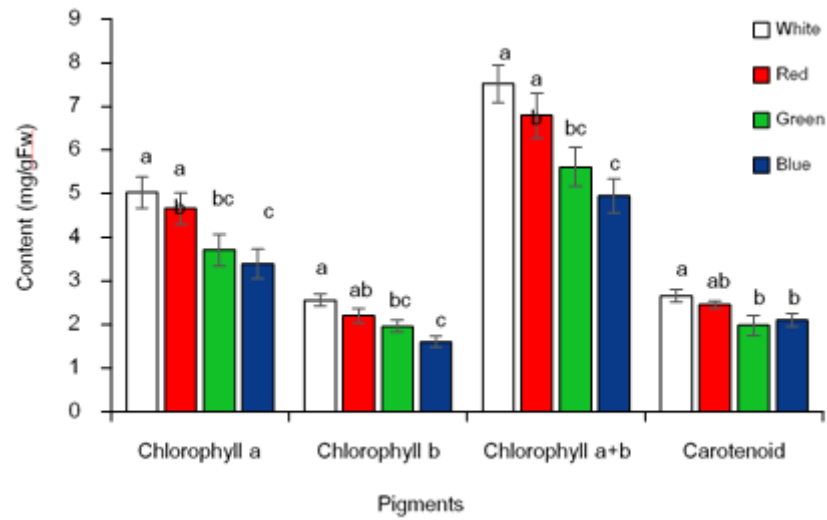
Light color	Weight of shoot clump (g)		Size of shoot clump (cm)	
	Fresh weight	Dry weight	Width	Height
White	2.27 ± 0.20 b	0.20 ± 0.06 ns	6.44 ± 0.21 b	3.14 ± 0.13 b
Red	2.67 ± 0.19 ab	0.15 ± 0.01	7.13 ± 0.24 b	3.15 ± 0.16 b
Green	2.99 ± 0.18 a	0.16 ± 0.01	8.13 ± 0.17 a	4.01 ± 0.16 a
Blue	2.92 ± 0.08 a	0.15 ± 0.01	8.16 ± 0.32 a	4.24 ± 0.14 a

ตัวอักษรเดียวกันภายในคอลัมน์บ่งบอกว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $P \leq 0.05$ ทดสอบค่าสถิติด้วยวิธี Duncan's multiple range test, ค่าเฉลี่ย ± SD ของพืช 11 ตัวอย่าง

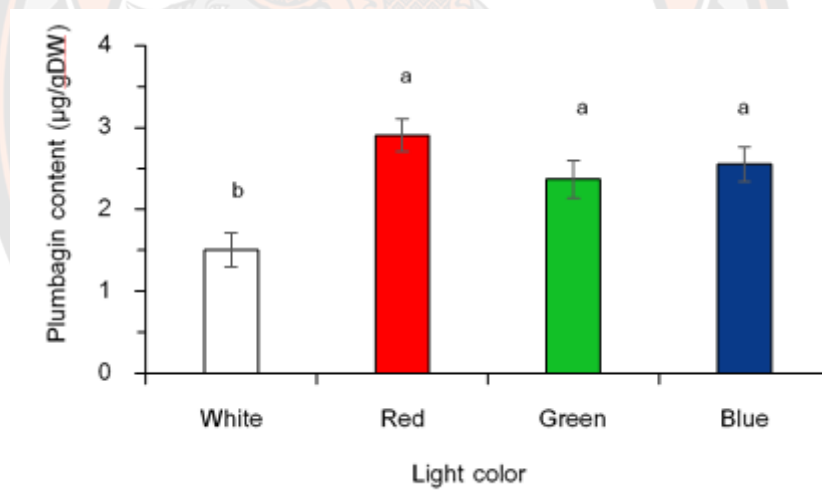




ภาพ 4.1 ผลของคุณภาพแสงต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของการเพาะเลี้ยงแผ่นใบของ *Drosera Communis* หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์; bar = 2 เซนติเมตร



ภาพ 4.2 ผลของคุณภาพแสงต่อปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ใน *Drosera Communis* หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์



ภาพ 4.3 ผลของคุณภาพแสงต่อปริมาณพลัมบาจินของ *Drosera Communis* หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของสูตรอาหารต่ออัตราการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาในหยาดน้ำค้างและกาบหอยแครงนั้น

ผลของสูตรอาหารต่ออัตราการเจริญเติบโตและปริมาณชีวมวล

จากการศึกษากรณีที่มีจำนวนยอด, น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง สูงเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมน้ำมะพร้าวอาจเป็นเพราะว่า น้ำมะพร้าวมีสารประกอบหลายชนิดประกอบด้วยธาตุอาหาร และฮอร์โมน ในมะพร้าวนั้นประกอบด้วย กรดอมิโน, กรดนิวคลีอิก, วิตามิน, คาร์โบไฮเดรต ซึ่งช่วยพืชควบคุมสารซีทีนและแร่ธาตุ รวมถึงฮอร์โมนพืช (Ge et al., 2005; Yong et al., 2009) ช่วยส่งเสริมการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา โดยการควบคุมการเจริญเติบโตด้วยฮอร์โมนไซโตไคนินชนิดพิเศษที่มีอยู่ในน้ำมะพร้าว (Chugh et al., 2009) น้ำมะพร้าวมีฮอร์โมนธรรมชาติของพืชในกลุ่มของไซโตไคนินตามธรรมชาติ ซึ่งฮอร์โมนในกลุ่มนี้สามารถกระตุ้นการแบ่งเซลล์และการสร้างยอด ซึ่งมีรายงานการศึกษาผลของน้ำมะพร้าวต่อการเพิ่มจำนวนยอดในพืชหลายชนิด เช่น *Corylus avellana* L. (Prando et al., 2014) โดย ไซโตไคนินช่วยเพิ่มปริมาณไนโตรเจนของใบซึ่งมีความสำคัญต่อการสร้างโปรตีน, กรดนิวคลีอิก, คอลโรฟิลล์, เอนไซม์, วิตามินและฮอร์โมนพืช นอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างเยื่อหุ้มเซลล์นั้นจะผลิต ATP และ NADP และเอไมด์ (Al-Hasnawi, 2011; Karunarathna & Harris, 2016) อาจเป็นเพราะว่าการใช้น้ำมะพร้าวเพียงอย่างเดียวก็สามารถชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนยอดต่อขึ้นส่วนเริ่มต้น (Grigoriadou et al., 2002) Yong และคณะ (2013) รายงานว่าไซโตไคนินนั้นสามารถกระตุ้นการสร้างยอด

ในกรณีที่มีจำนวนยอด, น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง มากที่สุดบนอาหารที่เติม BA ซึ่งมีรายงานการศึกษาผลของ BA ที่ทำให้มีจำนวนยอดที่มากในพืชหลายชนิดเช่น ในต้นอ่อนลิ้นิน อาจเพราะ BA เป็นฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนินซึ่งมีกลไกสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของซอกใบ (Klicova et al., 2004) โดยกระบวนการพัฒนาของพืชนั้นมีการค้นพบว่าได้รับอิทธิพลสำคัญมาจากฮอร์โมนไซโตไคนิน เช่น การขยายตัวของเซลล์, การชะลอการเสื่อมของใบ, การสะสมของธาตุอาหาร รวมถึงการเกิดรากและเกิดยอด (Mok, 1994) นอกจากนี้ฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนินนั้น ช่วยกระตุ้นการทำงานของเนื้อเยื่อที่จะพัฒนาเป็นยอดแสดงให้เห็นว่า ไซโตไคนินนั้นมีฟังก์ชันที่เกี่ยวข้องกับวัฏจักรของเซลล์ (Werner et al., 2001) และมีรายงานว่าไซโตไคนินนั้นมีความสัมพันธ์กันกับปัจจัยใน

กระบวนการถอดรหัสของยีน (Ori et al., 1999; Rupp et al., 1999; Tamaoki et al., 1997) ดังมีรายงานจากการศึกษาในต้นยาสูบ (Dewitte et al., 1999) และต้นที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA ต้นจะมีลักษณะยืดยาวกว่าปกติซึ่งมีรายงานพบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่มี BA นั้น จะทำให้ต้นยืดยาวในพืชหลายชนิดเช่น *Dianthus caryophyllus* L. (Al-Abbasi, 2009; Carey et al., 2008) และ *Chrysanthemum* (Al-Hasnawi, 2011) ซึ่ง Yong และคณะ (2013) ได้อธิบายไว้ว่านอกจากไซโตไคนินจะกระตุ้นการเจริญเติบโตของยอดยังช่วยเพิ่มความสูงของยอดอีกด้วย

ส่วนในกรณีของ *Drosera* บางชนิดเมื่อเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพบว่าเมื่ออัตราการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาที่ต่ำลงนั้นอาจเป็นเพราะว่าอาจเกิดจาก hormone balance ของพืช โดยการที่ได้รับฮอร์โมนที่มากเกินไปแทนที่จะช่วยเพิ่มปริมาณของยอดแต่อาจจะเป็นการยับยั้งแทนนั่นเอง (Devos et al., 2006)

ใน *Dr. burmannii* การที่ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาในทุกสูตรอาหาร ซึ่งสอดคล้องกับใน *Dr. cuneifolia* อาจเป็นเพราะปริมาณฮอร์โมนที่ต่ำเกินไปไม่สามารถชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาได้ (Kawiak et al., 2003)

ผลของคุณภาพแสงต่ออัตราการเจริญเติบโตและปริมาณชีวมวล

จำนวนยอด, น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งมีปริมาณสูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงขาวนั้นมีรายงานการศึกษาผลของแสงขาวที่มีผลต่อการเจริญเติบโตในพืชหลายชนิดเช่น ในกัญญาโดยที่แสงสีขาวมีผลกระทบต่ออัตราการเจริญเติบโตของ *Cannabis sativa* L. ได้ดีที่สุด (Lalge et al., 2017) และใน lettuce, tobacco (Brown et al., 1995; Kim et al., 2004b; Yang et al., 2017) *Solanum lycopersicum* L. และ *Platanus orientalis* L. (Arena et al., 2016) นั้นอาจเป็นผลมาจากการที่แสงสีขาวนั้นประกอบด้วยแสงหลายๆช่วงความยาวคลื่นประกอบกัน เช่น แสงสีแดง และสีน้ำเงินซึ่งมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของพืชเป็นอย่างมาก (Lalge et al., 2017) และในกรณีเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้ที่มีดสามารถมีจำนวนยอดสูงที่สุดซึ่งมีรายงานการศึกษาเมื่อเพาะเลี้ยงในที่มืดในพืชหลายชนิด เช่น *Alternanthera brasiliana* Kuntze. โดยได้อธิบายไว้ว่าที่มีดนั้นมีผลต่อความสัมพันธ์ระหว่าง SLM และ LD ในใบของพืช (Macedo et al., 2011) โดยในระยะเวลาสั้นๆความมืดนั้นมีบทบาทสำคัญในการเจริญเติบโตของพืชมีอิทธิพลต่อการกระจายคลอโรพลาสต์รูปร่างในรูปแบบการเจริญเติบโตและวงจรชีวิตประจำวันพืช กระบวนการสังเคราะห์แสงนั้นจะเกิดบริเวณ thylakoids ซึ่งใน thylakoids นั้นจะมีมีคลอโรพลาสต์จะทำหน้าที่ในการรับแสงเพื่อใช้เป็นพลังในกระบวนการ

สังเคราะห์แสง กระบวนการสังเคราะห์แสงนั้นจะมีกระบวนการสองส่วน แต่ละส่วนประกอบด้วยปฏิกิริยาทางเคมีหลายอย่างบางส่วนที่เกิดขึ้นในช่วงเวลาที่มีแสงซึ่งเรียกว่าปฏิกิริยาแสงและอีกส่วนเกิดขึ้นเมื่อไม่มีแสงจะเรียกว่าปฏิกิริยามืด เพื่อผลิตสารปฐมภูมิ เช่น คาร์โบไฮเดรต ซึ่งจะนำมาใช้เป็นแหล่งพลังงานและสารอาหารเพื่อการเจริญเติบโต ใบของพืชที่ไม่หยุดขยายตัวเมื่ออยู่ในที่มืดเมื่อย้ายไปเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสงมักจะแบ่งเซลล์อย่างต่อเนื่องและการขยายเซลล์จนกว่ามีลักษณะเหมือนกับต้นที่เพาะเลี้ยงในที่ที่มีแสง ในกรณีที่พืชไม่ต้องการแสงเพื่อที่จะเติบโตอยู่ ภายใต้กระบวนการที่เรียกว่า skotomorphogenesis เช่น ต้นกล้างอกในที่มืด โดยในที่มืดในระหว่างที่เกิดกระบวนการงอกจะมีการยืดยาวออกของต้นพืชที่มีลักษณะยืดยาวและมีสีเขียวซีดเนื่องจากต้นพืชต้องการที่จะค้นหาแสง Ute Krämer นักสรีรวิทยาพืชที่ Ruhr-Universität Bochum ในเยอรมนี ได้กล่าวนั้นเป็นกลยุทธ์เพื่อการประหยัดพลังงานของพืช และเมื่อพวกมันได้รับแสงจะกลับไปสู่การเติบโตแบบใช้แสงที่เรียกว่า photomorphogenesis พืชใช้กลไกการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันในสภาพมืดและสภาพที่มีแสงเรียกว่า skotomorphogenesis และ photomorphogenesis ตามลำดับ ดังมีรายงานการศึกษาชี้ให้เห็นขึ้นส่วนเพกตินในผนังเซลล์ส่งสัญญาณไปยังเซลล์อื่นเพื่อรักษากระบวนการ skotomorphogenesis ในความมืด แสงจะรบกวนสัญญาณเพกตินนี้เพื่อให้ photomorphogenesis สามารถเริ่มต้นได้ นักวิจัยพบว่าต้นกล้าเหล่านี้มีเพกตินซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์มีการตัดแปลงทางเคมีรวมถึงกลุ่มเมทิลคาร์บอกซิเตอร์มากขึ้นและอะเซทิลเลชันน้อยลง ซึ่งสอดคล้องใน *Alternanthera brasiliana* Kuntze. (Macedo et al., 2011) ในกรณีที่มิมีจำนวนยอด น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งสูงเมื่อเพราะเลี้ยงภายใต้แสงสีเขียวและสีน้ำเงิน อาจเป็นเพราะว่าแสงสีเขียวนั้นส่งผลต่อมวลชีวภาพของพืช (Klein et al., 1965; Wang & Folta, 2013; Went, 1957) นอกจากนี้ยังมีผลตรงกันข้ามกับแสงสีน้ำเงินในการควบคุมการเปิดปิดของปากใบ และลดการเปิดปิดปากใบในหลายสปีชีส์ (Eisinger et al., 2003; Frechilla et al., 2000) อาทิเช่น *Vicia faba* , *Arabidopsis thaliana* , *Nicotiana tabacum* , *Pisum sativum* , และ *Lactuca sativa* (Frechilla et al., 2000; Kim et al., 2004b; Talbott et al., 2002) Wang และ Folta (2013) ได้กล่าวว่าแสงสีเขียวนั้นมีผลต่อการพัฒนาของพืชโดยเฉพาะในสภาวะที่มีความเข้มข้นของแสงต่ำ ยิ่งไปกว่านั้นนั้นแสงสีเขียวอาจสามารถแทรกซึมในใบพืชอย่างมีประสิทธิภาพและสามารถช่วยเพิ่มปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ (Kim et al., 2004a; Nishio, 2000; Sun et al., 1998; Terashima et al., 2009) และแสงสีเขียวยังมีผลควบคุมการพัฒนาของพืชอีกด้วย (Wang & Folta, 2013) ส่วนในแสงสีน้ำเงินนั้นสอดคล้องกับการศึกษาใน tomato (Głowacka, 2004), roses (Girault et al., 2008; Islam et

al., 2012; Terfa et al., 2013), petunia (Fukuda et al., 2009), *Triticum aestivum* (Barnes & Bugbee, 1992), *Solanum tuberosum* (Wilson et al., 1993), *Oryza sativa* L. ที่แสงสีน้ำเงินส่งผลต่อการเจริญและการยืดยาว (Chen et al., 2014) และ leafy greens (Matysiak & Kowalski, 2019) อาจเพราะแสงสีน้ำเงินกระตุ้นให้เกิดการพัฒนาพลาสติกและคลอโรพลาสต์ของเซลล์พืช (Richter & Wessel, 1985) และการควบคุมขอบโพโตโทรปินควบคุมการเปิดปากใบและการสะสมคลอโรพลาสต์ (Christie, 2007)

ผลของคุณภาพแสงต่อปริมาณสารพืชมัจฉิน

การที่พบปริมาณสารพืชมัจฉินที่สูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงสามารถกระตุ้นให้มีการผลิตพืชมัจฉินได้มากที่สุดแสงสีแดงนั้นจำเป็นอย่างมากมีประสิทธิภาพในการควบคุมการเติบโตและการพัฒนา โดยแสงสีแดงนั้นมีประสิทธิภาพในการเคลื่อนย้ายโฟตอนในกระบวนการสังเคราะห์แสง นอกจากนี้คลอโรฟิลล์นั้นยังสามารถดูดกลืนแสงสีแดงได้ดี แสงสีแดงนั้นเป็นแสงที่ช่วยในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช มีรายงานการศึกษาของแสงสีแดงที่มีผลต่อการเติบโตในพืชหลายชนิดและในกุหลาบ โดยมีรายงานว่าแสงสีแดงนั้นมีผลต่อการทำงานในระบบแสงสองในกระบวนการสังเคราะห์เป็นอย่างมาก (Bayat et al., 2018) และเมื่อเกิดจากการสังเคราะห์ด้วยแสงที่มีประสิทธิภาพภายใต้แสงสีแดงมีผลต่อสารปฐมภูมิในปริมาณมากซึ่งสารปฐมภูมินั้นเป็นสารหลักที่ใช้ในการผลิตสารทุติยภูมิจึงได้นำไปสู่การผลิตการสะสมสารทุติยภูมิในปริมาณที่มาก (Akula & Ravishankar, 2011) ดังเช่นในการศึกษานี้ *Dr. adetae* นั้นเมื่อเพาะเลี้ยงในที่มืดพบว่าปริมาณสารพืชมัจฉินที่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับแสงสีอื่นๆ และเมื่อพิจารณา ยอดนวนยอด, น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งนั้นมีปริมาณที่มากเมื่อเพาะเลี้ยงในที่มืดเช่นกันจะเห็นได้ว่าต้นที่มีการเจริญเติบโตที่ต้นนั้นจะมีการสร้างสารพืชมัจฉินที่มากไปด้วย และในทางกลับกันนอกจากนี้การเพาะเลี้ยงภายใต้แสงแดงอาจทำให้เกิดความเครียดโดยความเครียดนั้นเกิดเมื่อพืชได้รับคุณภาพและปริมาณแสงที่ไม่เหมาะสมนั้นอาจทำให้พืชได้รับความเครียดจะมีการตอบสนองโดยมีการสร้างสารทุติยภูมิขึ้นมาในปริมาณที่มาก (Zeilinger et al., 2016) ดังเช่นในการศึกษานี้จะเห็นได้ว่า ใน *Dr. communis* นั้นมีปริมาณที่มากเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงแต่เมื่อพิจารณาจำนวนยอด และน้ำหนักสดน้ำหนักแห้งจะเห็นได้ว่ามีปริมาณที่ต่ำนั้นอาจเป็นเพราะว่าเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงนั้นทำให้เกิดความเครียดจึงมีการเจริญเติบโตได้ไม่เต็มที่นั้นทำให้มีการสร้างสารทุติยภูมิขึ้นในปริมาณที่มาก

ผลการเหนี่ยวนำของคุณภาพแสงต่ออัตราการเจริญเติบโตและปริมาณมวลชีวภาพ

จากขนาดของกอมีความกว้างและความสูงสูงสุดของกอพบจากการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีน้ำเงินสูงที่สุด สอดคล้องในข้าว (*Oryza sativa* L.) ที่แสงสีน้ำเงินส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการยืดยาวของยอดใหม่ (Chen et al., 2014) และ สอดคล้องกับ leafy greens (Matysiak & Kowalski, 2019) อาจเนื่องมาจากช่วงความยาวคลื่นสีน้ำเงินนั้นเหมาะสมสำหรับการเกิดยอด, ต้น และการยืดยาวของต้น (Wheeler et al., 1991) โดยแสงสีน้ำเงินนั้นอาจกระตุ้นให้เกิดการพัฒนาพลาสติกและคลอโรพลาสต์ในเซลล์พืช (Richter & Wessel, 1985) และการควบคุมของไฟโตโทรปินควบคุมการเปิดปากใบและการสะสมคลอโรพลาสต์ (Christie, 2007) นอกจากนี้ยังมีรายงานผลลัพธ์ที่คล้ายกันในการสร้างยอดของ *Populus euramericana* โคลน 'Dorskamp' (Kwon et al., 2015) และในถั่วเหลือง, หัวไชเท้าและข้าวสาลี (Cope & Bugbee, 2013)

ผลการเหนี่ยวนำของคุณภาพแสงต่อปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์

สำหรับปริมาณคลอโรฟิลล์และปริมาณแคโรทีนอยด์ สูงสุดพบได้จากการเพาะเลี้ยงพืชภายใต้แสงสีขาว บางทีอาจเป็นเพราะว่าแสงสีขาวนั้นประกอบด้วยความยาวคลื่นที่มีผลต่อการสังเคราะห์แสงเช่น แสงสีแดงและสีน้ำเงินที่พืชสามารถดูดซับพลังงานแสงได้ดีที่สุด ดังมีรายงานที่มีผลที่คล้ายกันก็พบได้ในแตงกวา (*Cucumis sativus*) (N. Su et al., 2014; H. Wang et al., 2009) และ ในกัญชง (*Cannabis sativa* L.) (Lalge et al., 2017) โดยได้อธิบายว่าโดยที่แสงสีขาวมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช

ผลการเหนี่ยวนำของคุณภาพแสงต่อปริมาณสารพอลิมาจิน

สามารถพบปริมาณพอลิมาจินสามารถกระตุ้นได้สูงที่สุดจากการเพาะเลี้ยงภายใต้แสง อาจเกิดจากการสังเคราะห์ด้วยแสงที่มีประสิทธิภาพภายใต้แสงสีแดงมีผลต่อสารหลักและนำไปสู่การเพิ่มการสะสมสารทุติยภูมิที่สูง (Ramakrishna et al., 2011)

บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของสูตรอาหารต่อการสร้างยอดใหม่ในหยาดน้ำค้าง และกาบหอยแครง พบว่า

เมื่อต้องการผลิตยอดในปริมาณที่มาก *Di. Muscipula* นั้นควรที่จะเพาะเลี้ยงในอาหาร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เนื่องจากเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตนั้นมีอัตราการเกิดยอดใหม่ที่มีแนวโน้มสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสูตรอื่น และใน *Drosera* นั้น *Dr. burmanii* ไม่ตอบสนองเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยาได้ในทุกสูตรอาหาร *Dr. communis* ควรที่จะเพาะเลี้ยงบนอาหาร ½MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากมีอัตราการเกิดยอดใหม่ และเจริญเติบโตได้ดีที่สุดบนอาหาร ½MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ ส่วนใน *Dr. peltata* และ *Dr. adelea* ควรที่จะเพาะเลี้ยงบนอาหาร ½MS ที่เติม BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเพาะว่าอาหาร ½MS ที่เติม BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรนั้นสามารถเกิดการสร้างยอดใหม่ได้ดีที่สุด

จากการศึกษาคุณภาพแสงต่อการสร้างยอดใหม่และการผลิตสารพอลิมาจินในหยาดน้ำค้าง และกาบหอยแครง พบว่า

เมื่อต้องการผลิตยอดในปริมาณที่มากใน *Di. Muscipula* นั้นควรที่จะเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีขาว เพราะว่าเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีขาวนั้นจะมีอัตราการเกิดยอดใหม่ และมีจำนวนยอดที่มีแนวโน้มสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับแสงสีอื่นๆ และใน *Drosera* นั้น *Dr. burmanii* ไม่ตอบสนองเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยาในทุกแสง *Dr. communis* ควรที่จะเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีขาว เช่นเดียวกับกาบหอยแครง เนื่องจาก เมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีขาวนั้นจะมีอัตราการเกิดยอดใหม่ และมีจำนวนยอดที่มีแนวโน้มสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับแสงสีอื่นๆ เช่นเดียวกัน *Dr. peltata* ควรที่จะเพาะเลี้ยงภายใต้แสงเขียว ส่วน *Dr. adelea* ควรที่จะเพาะเลี้ยงภายใต้ที่มีมืด เนื่องจากว่าเมื่อเพาะเลี้ยง *Dr. peltata* ภายใต้แสงเขียว และ *Dr. adelea* ภายใต้ที่มีมืดนั้นจะมีอัตราการเกิดยอดใหม่ และจำนวนยอดมีแนวโน้มสูงเมื่อเปรียบเทียบกับแสงสีอื่นๆ

เมื่อต้องการผลิตสารพอลัมบาจินในปริมาณที่มากขึ้น *Di. Muscipula* และ *Dr. communis* ควรเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงเนื่องจากว่าเมื่อพิจารณาปริมาณสารพอลัมบาจินที่ได้นั้นมีแนวโน้มที่มีปริมาณที่สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับแสงสีอื่น ส่วนใน *Dr. peltata* นั้นควรเพาะเลี้ยงภายใต้แสงขาวเนื่องจากภายใต้แสงขาวนั้นมีปริมาณสารพอลัมบาจินที่มีแนวโน้มที่สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับแสงสีอื่นๆ *Dr. adelea* ควรเพาะเลี้ยงภายใต้ที่มีมืด เมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้ที่มีมืดนั้นจะมีแนวโน้มปริมาณสารพอลัมบาจินที่สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับแสงสีอื่นๆ

และเมื่อใช้แสงเป็นตัวเหนี่ยวนำเมื่อผลิตสารพอลัมบาจินใน *Dr. communis* นั้นพบว่าภายใต้แสงแดง, น้ำเงิน และเขียว นั้นสามารถเหนี่ยวนำให้มีปริมาณสารพอลัมบาจินที่สูง แต่เมื่อพิจารณาเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงแดงนั้นจะมีแนวโน้มปริมาณของสารพอลัมบาจินที่สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับแสงสีอื่นๆ

จากการศึกษาจะเห็นได้ว่าแสงมีผลต่ออัตราการเกิดยอดใหม่, การเจริญเติบโต และสร้างสารพอลัมบาจินของพืชกินแมลง และที่มากไปกว่านั้นแม้ว่าพืชในวงศ์เดียวกันแต่มีชนิดที่ต่างกันก็จะมี การตอบสนองต่อสูตรของอาหารและคุณภาพแสงที่แตกต่างกัน

บรรณานุกรม

- Abidi, F., Girault, T., Douillet, O., Guillemain, G., Sintes, G., Laffaire, M., . . . Leduc, N. (2013). Blue light effects on rose photosynthesis and photomorphogenesis. *Plant Biology*, 15(1), 67-74.
- Akula, R., & Ravishankar, G. A. (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant signaling & behavior*, 6(11), 1720-1731.
- Al-Abbasi, A. (2009). *Response of carnation plant Dianthus caryophyllus L. to kinetin, cycocel and phosphorus, potassium and its position in landscape gardening*. Ph. D. Thesis. College of Agriculture, University of Basrah, Basrah, Iraq.
- Al-Hasnawi, A. (2011). Effect of benzyladenine and chelated magnesium spraying on growth and flowering of Chrysanthemum hortorum Hort. Sc. Degree. *Department of Horticulture and Landscape, College of Agriculture, University of Kufa, Iraq*.
- Arena, C., Tsonev, T., Doneva, D., De Micco, V., Michelozzi, M., Brunetti, C., . . . Loreto, F. (2016). The effect of light quality on growth, photosynthesis, leaf anatomy and volatile isoprenoids of a monoterpene-emitting herbaceous species (*Solanum lycopersicum* L.) and an isoprene-emitting tree (*Platanus orientalis* L.). *Environmental and experimental botany*, 130, 122-132.
- Banasiuk, R., Kawiak, A., & Króllicka, 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.
- Baranyai, B., & Joosten, H. (2016). Biology, ecology, use, conservation and cultivation of round-leaved sundew (*Drosera rotundifolia* L.): a review. *Mires and Peat*, 18(18), 1-28.
- Baranyai, B., & Joosten, H. (2016). Biology, ecology, use, conservation and cultivation of round-leaved sundew (*Drosera rotundifolia* L.): a review. *Mires and Peat*, 18(18), 1-28.
- Barnes, C., & Bugbee, B. (1992). Morphological responses of wheat to blue light. *Journal*

of plant physiology, 139(3), 339-342.

- Barthlott, W. (2004). Karnivoren: Biologie und Kultur Fleischfressender Pflanzen. *Ulmer*, 224.
- Bayat, L., Arab, M., Aliniaiefard, S., Seif, M., Lastochkina, O., & Li, T. (2018). Effects of growth under different light spectra on the subsequent high light tolerance in rose plants. *Annals of Botany*, 10(5), 1-17.
- Biteau, F., Nisse, E., Hehn, A., Miguel, S., Hannewald, P., & Bourgaud, F. (2012). A rapid and efficient method for isolating high quality DNA from leaves of carnivorous plants from the *Drosera* genus. *Molecular biotechnology*, 51(3), 247-253.
- Brown, C. S., Schuerger, A. C., & Sager, J. C. (1995). Growth and photomorphogenesis of pepper plants under red light-emitting diodes with supplemental blue or far-red lighting. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 120(5), 808-813.
- Carey, D., Whipker, B., McCall, I., & Buhler, W. (2008). *Cytokinin based PGR affects growth of vegetative petunia*. Paper presented at the Proceedings of the 35th Annual Meeting of the Plant Growth Regulation Society of America, San Francisco, California, USA, 3-7 August, 2008.
- Chen, C.-C., Huang, M.-Y., Lin, K.-H., Wong, S.-L., Huang, W.-D., & Yang, C.-M. (2014). Effects of light quality on the growth, development and metabolism of rice seedlings (*Oryza sativa* L.). *Research Journal of Biotechnology*, 9(4), 15-24.
- Christie, J. M. (2007). Phototropin blue-light receptors. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 58, 21-45.
- Chugh, S., Guha, S., & Rao, I. U. (2009). Micropropagation of orchids: a review on the potential of different explants. *Scientia Horticulturae*, 122(4), 507-520.
- Cope, K. R., & Bugbee, B. (2013). Spectral effects of three types of white light-emitting diodes on plant growth and development: absolute versus relative amounts of blue light. *HortScience*, 48(4), 504-509.
- Curreli, N., Sollai, F., Massa, L., Comandini, O., Rufo, A., Sanjust, E., . . . Rinaldi, A. C. (2001). Effects of plant-derived naphthoquinones on the growth of *Pleurotus sajor-caju* and degradation of the compounds by fungal cultures. *Journal of Basic Microbiology: An International Journal on Biochemistry, Physiology, Genetics, Morphology, and Ecology of Microorganisms*, 41(5), 253-259.

- Dewitte, W., Chiappetta, A., Azmi, A., Witters, E., Strnad, M., Rembur, J., . . . Van Onckelen, H. (1999). Dynamics of cytokinins in apical shoot meristems of a day-neutral tobacco during floral transition and flower formation. *Plant Physiology*, 119(1), 111-122.
- Dou, H., Niu, G., Gu, M., & Masabni, J. G. (2017). Effects of light quality on growth and phytonutrient accumulation of herbs under controlled environments. *Horticulturae*, 3(2), 36.
- Eisinger, W. R., Bogomolni, R. A., & Taiz, L. (2003). Interactions between a blue-green reversible photoreceptor and a separate UV-B receptor in stomatal guard cells. *American Journal of Botany*, 90(11), 1560-1566.
- Frechilla, S., Talbott, L. D., Bogomolni, R. A., & Zeiger, E. (2000). Reversal of blue light-stimulated stomatal opening by green light. *Plant and Cell Physiology*, 41(2), 171-176.
- Fukuda, N., Ishii, Y., Ezura, H., & Olsen, J. (2009). *Effects of light quality under red and blue light emitting diodes on growth and expression of FBP28 in petunia*. Paper presented at the VI International Symposium on Light in Horticulture 907.
- Ge, L., Yong, J. W. H., Goh, N. K., Chia, L. S., Tan, S. N., & Ong, E. S. (2005). Identification of kinetin and kinetin riboside in coconut (*Cocos nucifera* L.) water using a combined approach of liquid chromatography–tandem mass spectrometry, high performance liquid chromatography and capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography B*, 829(1-2), 26-34.
- Girault, T., Bergougnoux, V., Combes, D., VIEMONT, J. D., & Leduc, N. (2008). Light controls shoot meristem organogenic activity and leaf primordia growth during bud burst in *Rosa* sp. *Plant, cell & environment*, 31(11), 1534-1544.
- Głowacka, B. (2004). The effect of blue light on the height and habit of the tomato *Lycopersicon esculentum* Mill.) transplant. *Folia Horticulturae*, 16(2), 3-10.
- Grigoriadou, K., Vasilakakis, M., & Eleftheriou, E. P. (2002). In vitro propagation of the Greek olive cultivar Chondrolia Chalkidikis'. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 71(1), 47-54.
- Hasan, M., Bashir, T., Ghosh, R., Lee, S. K., & Bae, H. (2017). An overview of LEDs' effects on the production of bioactive compounds and crop quality. *Molecules*, 22(9),

1420.

- Hong, J., Shen, G. Q., Feng, Y., Lau, W. S.-t., & Mao, C. (2015). Greenhouse gas emissions during the construction phase of a building: a case study in China. *Journal of cleaner production*, 103, 249-259.
- Hook, I. L. (2001). Naphthoquinone contents of in vitro cultured plants and cell suspensions of *Dionaea muscipula* and *Drosera* species. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 67(3), 281-285.
- Islam, M. A., Kuwar, G., Clarke, J. L., Blystad, D.-R., Gislerød, H. R., Olsen, J. E., & Torre, S. (2012). Artificial light from light emitting diodes (LEDs) with a high portion of blue light results in shorter poinsettias compared to high pressure sodium (HPS) lamps. *Scientia Horticulturae*, 147, 136-143.
- Jadczak, P., Kulpa, D., & Zbrojewska, A. (2017). In Vitro micropropagation of *Drosera rotundifolia*. *World Scientific News*(66), 75-85.
- Jeeatid, N., Techawongstien, S., Suriharn, B., Bosland, P. W., & Techawongstien, S. (2017). Light intensity affects capsaicinoid accumulation in hot pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) cultivars. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 58(2), 103-110.
- Johkan, M., Shoji, K., Goto, F., Hashida, S.-n., & Yoshihara, T. (2010). Blue light-emitting diode light irradiation of seedlings improves seedling quality and growth after transplanting in red leaf lettuce. *HortScience*, 45(12), 1809-1814.
- Johnson, M. P. (2017). Correction: Photosynthesis. *Essays in biochemistry*, 61(4), 429.
- Juniper, B., Robins, R., & Joel, D. (1989). *The carnivorous plants.*(Academic Press Limited: London).
- Kamonwannasit, S., Phrompittayarat, W., Ingkaninan, K., Tanaka, H., & Putalun, W. (2008). Improvement of pseudojujubogenin glycosides production from regenerated *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. and enhanced yield by elicitors. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 63(11-12), 879-883.
- Karunarathna, B., & Harris, K. D. (2016). Effect of Coconut Water on the Cutting establishment of *Ixora* (*Ixora coccinea* L.). *International Journal of Advanced Research and Review*, 1(11), 27-33.
- Kim, H.-H., Goins, G. D., Wheeler, R. M., & Sager, J. C. (2004a). Green-light

- supplementation for enhanced lettuce growth under red-and blue-light-emitting diodes. *HortScience*, 39(7), 1617-1622.
- Kim, H.-H., Goins, G. D., Wheeler, R. M., & Sager, J. C. (2004b). Stomatal conductance of lettuce grown under or exposed to different light qualities. *Annals of Botany*, 94(5), 691-697.
- Klein, R. M., Edsall, P. C., & Gentile, A. C. (1965). Effects of near ultraviolet and green radiations on plant growth. *Plant Physiology*, 40(5), 903.
- Klicova, S., Sebanek, J., & Vlastic, T. (2004). The effect of cytokinins and other plant hormones on the growth of cotyledonary axilars of flax (*Linum usitatissimum*), sunflower (*Helianthus annuus*) and pea (*Pisum sativum*). *PLANT SOIL AND ENVIRONMENT*, 50(4), 182-187.
- Królicka, 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(3), 216-221.
- Kwon, A.-R., Cui, H.-Y., Lee, H., Shin, H., Kang, K.-S., & Park, S.-Y. (2015). Light quality affects shoot regeneration, cell division, and wood formation in elite clones of *Populus euramericana*. *Acta physiologiae plantarum*, 37(3), 65.
- Lalge, A., Cerny, P., Trojan, V., & Vyhnánek, T. (2017). The effects of red, blue and white light on the growth and development of *Cannabis sativa* L. *Mendel Net*, 8(9), 646-651.
- Macedo, A. F., Leal-Costa, M. V., Tavares, E. S., Lage, C. L. S., & Esquibel, M. A. (2011). The effect of light quality on leaf production and development of in vitro-cultured plants of *Alternanthera brasiliana* Kuntze. *Environmental and experimental botany*, 70(1), 43-50.
- Marczak, Ł., Kawiak, A., Łojkowska, E., & Stobiecki, M. (2005). Secondary metabolites in in vitro cultured plants of the genus *Drosera*. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 16(3), 143-149.
- Matysiak, B., & Kowalski, A. (2019). White, blue and red LED lighting on growth, morphology and accumulation of flavonoid compounds in leafy greens.

Zemdirbyste-Agriculture, 106(3).

- Milella, L., Caruso, M., Galgano, F., Favati, F., Padula, M. C., & Martelli, G. (2011). Role of the cultivar in choosing Clementine fruits with a high level of health-promoting compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(10), 5293-5298.
- Mok, M. C. (1994). Cytokinins and plant development. *Cytokinins: chemistry, activity and function*, 155-166.
- Muneer, S., Park, Y. G., Manivannan, A., Soundararajan, P., & Jeong, B. R. (2014). Physiological and proteomic analysis in chloroplasts of *Solanum lycopersicum* L. under silicon efficiency and salinity stress. *International journal of molecular sciences*, 15(12), 21803-21824.
- Nishio, J. (2000). Why are higher plants green? Evolution of the higher plant photosynthetic pigment complement. *Plant, cell & environment*, 23(6), 539-548.
- Ori, N., Juarez, M. T., Jackson, D., Yamaguchi, J., Banowitz, G. M., & Hake, S. (1999). Leaf senescence is delayed in tobacco plants expressing the maize homeobox gene *knotted1* under the control of a senescence-activated promoter. *The Plant Cell*, 11(6), 1073-1080.
- Padula, M. C., Lepore, L., Milella, L., Ovesna, J., Malafronte, N., Martelli, G., & de Tommasi, N. (2013). Cultivar based selection and genetic analysis of strawberry fruits with high levels of health promoting compounds. *Food chemistry*, 140(4), 639-646.
- Paiva, É. A. S., Isaias, R. M. d. S., Vale, F. H. A., & Queiroz, C. G. d. S. (2003). The influence of light intensity on anatomical structure and pigment contents of *Tradescantia pallida* (Rose) Hunt. cv. *purpurea* Boom (Commelinaceae) leaves. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 46(4), 617-624.
- Prando, M. S., Chiavazza, P., Faggio, A., & Contessa, C. (2014). Effect of coconut water and growth regulator supplements on in vitro propagation of *Corylus avellana* L. *Scientia Horticulturae*, 171, 91-94.
- Putalun, W., Luealon, W., De-Eknamkul, W., Tanaka, H., & Shoyama, Y. (2007). Improvement of artemisinin production by chitosan in hairy root cultures of *Artemisia annua* L. *Biotechnology letters*, 29(7), 1143-1146.
- 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. *Biotechnology Letters*, 32(5), 721-724.
- Richter, G., & Wessel, K. (1985). Red light inhibits blue light-induced chloroplast development in cultured plant cells at the mRNA level. *Plant molecular biology*, 5(3), 175-182.
- Rivadavia, F., Kondo, K., Kato, M., & Hasebe, M. (2003). Phylogeny of the sundews, *Drosera* (Droseraceae), based on chloroplast *rbcl* and nuclear 18S ribosomal DNA sequences. *American Journal of Botany*, 90(1), 123-130.
- Rupp, H. M., Frank, M., Werner, T., Strnad, M., & Schmülling, T. (1999). Increased steady state mRNA levels of the *STM* and *KNAT1* homeobox genes in cytokinin overproducing *Arabidopsis thaliana* indicate a role for cytokinins in the shoot apical meristem. *The Plant Journal*, 18(5), 557-563.
- Shohael, A., Ali, M., Yu, K., Hahn, E., Islam, R., & Paek, K. (2006). Effect of light on oxidative stress, secondary metabolites and induction of antioxidant enzymes in *Eleutherococcus senticosus* somatic embryos in bioreactor. *Process Biochemistry*, 41(5), 1179-1185.
- Sidhu, Y. (2011). In vitro micropropagation of medicinal plants by tissue culture. *The Plymouth Student Scientist*, 4(1), 432-449.
- Su, J., Liu, B., Liao, J., Yang, Z., Lin, C., & Oka, Y. (2017). Coordination of cryptochrome and phytochrome signals in the regulation of plant light responses. *Agronomy*, 7(1), 25.
- Su, N., Wu, Q., Shen, Z., Xia, K., & Cui, J. (2014). Effects of light quality on the chloroplastic ultrastructure and photosynthetic characteristics of cucumber seedlings. *Plant growth regulation*, 73(3), 227-235.
- Sun, J., Nishio, J. N., & Vogelmann, T. C. (1998). Green light drives CO₂ fixation deep within leaves. *Plant and Cell Physiology*, 39(10), 1020-1026.
- Szakiel, A., Paćzkowski, C., & Henry, M. (2011). Influence of environmental abiotic factors on the content of saponins in plants. *Phytochemistry Reviews*, 10(4), 471-491.
- Talbott, L. D., Nikolova, G., Ortiz, A., Shmayevich, I., & Zeiger, E. (2002). Green light reversal of blue-light-stimulated stomatal opening is found in a diversity of

- plant species. *American Journal of Botany*, 89(2), 366-368.
- Tamaoki, M., Kusaba, S., Kano-Murakami, Y., & Matsuoka, M. (1997). Ectopic expression of a tobacco homeobox gene, NTH15, dramatically alters leaf morphology and hormone levels in transgenic tobacco. *Plant and Cell Physiology*, 38(8), 917-927.
- Terashima, I., Fujita, T., Inoue, T., Chow, W. S., & Oguchi, R. (2009). Green light drives leaf photosynthesis more efficiently than red light in strong white light: revisiting the enigmatic question of why leaves are green. *Plant and Cell Physiology*, 50(4), 684-697.
- Terfa, M. T., Solhaug, K. A., Gislerød, H. R., Olsen, J. E., & Torre, S. (2013). A high proportion of blue light increases the photosynthesis capacity and leaf formation rate of *Rosax hybrida* but does not affect time to flower opening. *Physiologia Plantarum*, 148(1), 146-159.
- Thorén, L. M., Tuomi, J., Kämäräinen, T., & Laine, K. (2003). Resource availability affects investment in carnivory in *Drosera rotundifolia*. *New Phytologist*, 159(2), 507-511.
- Tkalec, M., Doboš, M., Babić, M., & Jurak, E. (2015). The acclimation of carnivorous round-leaved sundew (*Drosera rotundifolia* L.) to solar radiation. *Acta physiologiae plantarum*, 37(4), 78.
- Tokunaga, T., Takada, N., & Ueda, M. (2004). Mechanism of antifeedant activity of plumbagin, a compound concerning the chemical defense in carnivorous plant. *Tetrahedron Letters*, 45(38), 7115-7119.
- Vives, K., Andújar, I., Lorenzo, J. C., Concepción, O., Hernández, M., & Escalona, M. (2017). Comparison of different in vitro micropropagation methods of *Stevia rebaudiana* B. including temporary immersion bioreactor (BIT®). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 131(1), 195-199.
- Wang, H., Gu, M., Cui, J., Shi, K., Zhou, Y., & Yu, J. (2009). Effects of light quality on CO₂ assimilation, chlorophyll-fluorescence quenching, expression of Calvin cycle genes and carbohydrate accumulation in *Cucumis sativus*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 96(1), 30-37.
- Wang, Y., & Folta, K. M. (2013). Contributions of green light to plant growth and development. *American Journal of Botany*, 100(1), 70-78.
- Went, F. W. (1957). The experimental control of plant growth. *The experimental control*

of plant growth., 17.

- Werner, T., Motyka, V., Strnad, M., & Schmülling, T. (2001). Regulation of plant growth by cytokinin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(18), 10487-10492.
- Wheeler, R., Mackowiak, C., & Sager, J. (1991). Soybean stem growth under high-pressure sodium with supplemental blue lighting. *Agronomy journal*, 83(5), 903-906.
- Wilson, D. A., Weigel, R. C., Wheeler, R. M., & Sager, J. C. (1993). Light spectral quality effects on the growth of potato (*Solanum tuberosum* L.) nodal cuttings in vitro. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 29(1), 5-8.
- Wongsa, T., Inthima, P., Nakkuntod, M., Premjet, D., & Kongbangkerd, A. (2018). Effects of Cytokinin and Auxin on In Vitro Organ Development and Plumbagin Content of *Drosera peltata* Thunb. *AGRIVITA, Journal of Agricultural Science*, 40(3), 415-424.
- Yang, L., Wang, L., Ma, J., Ma, E., Li, J., & Gong, M. (2017). Effects of light quality on growth and development, photosynthetic characteristics and content of carbohydrates in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) plants. *Photosynthetica*, 55(3), 467-477.
- Yong, J. W., Ge, L., Ng, Y. F., & Tan, S. N. (2009). The chemical composition and biological properties of coconut (*Cocos nucifera* L.) water. *Molecules*, 14(12), 5144-5164.
- Zenk, M., Fürbringer, M., & Steglich, W. (1969). Occurrence and distribution of 7-methyljuglone and plumbagin in the Droseraceae. *Phytochemistry*, 8(11), 2199-2200.
- Zhao, H., Seibert, S. E., & Hills, G. E. (2005). The mediating role of self-efficacy in the development of entrepreneurial intentions. *Journal of applied psychology*, 90(6), 1265.