

การใช้สารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินทดแทนอาหารสูตร MS ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกาบหอยแครง (*Dionaea muscipula*)

The use of hydroponic nutrient solutions replacing MS media in Venus Flytrap (*Dionaea muscipula*) tissue culture

เพ็ญแข รุ่งเรือง^{1*}, จันทนี ภูเจริญ¹, สุนทรียา กาละวงศ์¹,
กิริยา สังข์ทองวิเศษ² และ เพชรรัตน์ จันทรทิณ³

Penkhae Rungrueng^{1*}, Jantane Poojaroen¹, Soontreeya Kalawong¹,
Kiriya Sungthongwises² and Phetcharat Jantaratin³

บทคัดย่อ: กาบหอยแครง (*Dionaea muscipula*) เป็นพืชที่นิยมปลูกเลี้ยงและใช้เป็นไม้ประดับเนื่องจากความสวยงามของกาบ และมีสาร plumbagin ซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย การขยายพันธุ์ในสภาพธรรมชาติทำได้ยาก การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นวิธีที่สามารถช่วยขยายพันธุ์เพิ่มปริมาณต้นได้ แต่ต้นทุนสารเคมีในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชค่อนข้างสูง จึงไม่เหมาะกับเกษตรกรที่มีต้นทุนน้อย ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระดับความเข้มข้นของสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน (HNS) ที่มีต่อการเจริญเติบโตของกาบหอยแครงในสภาพปลอดเชื้อ โดยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกาบหอยแครง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ Korean Melody Shark (KMS), Cupped Trap (CT), Dark Red (DR) และ Angelwings (AW) บนอาหารสูตร 1/2MS 1/4MS และสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน (stock A และ B) เข้มข้น 100 เท่า ที่ความเข้มข้น 4 และ 6 มล./ล. ร่วมกับ Vitamix V 1,000 ความเข้มข้น 5 และ 10 มล./ล. เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25±2 °C ในสภาพให้แสง 16 ชม./วัน เป็นเวลา 45 วัน พบว่า สูตรอาหารและสายพันธุ์มีอิทธิพลต่อจำนวนยอด และความสูงต้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) โดยอาหารสูตรที่เตรียมจาก HNS ความเข้มข้น 6 มล./ล. ร่วมกับ Vitamix V 1,000 ความเข้มข้น 5 มล./ล. ให้จำนวนยอดเฉลี่ยในสายพันธุ์ AW มากที่สุด เท่ากับ 10.00±2.00 ยอด และในอาหารสูตรเดียวกันให้ความสูงต้นมากที่สุดในสายพันธุ์ DR เท่ากับ 3.40±0.52 ซม. สำหรับจำนวนราก พบว่าสูตรอาหารและสายพันธุ์มีอิทธิพลต่อจำนวนรากอย่างมีนัยสำคัญ

Received February 6, 2019

Accepted April 26, 2019

¹ สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา กรุงเทพฯ 10600

Kasertsart Program, Faculty of Science and Technology, Bansomdejchaopraya Rajabhat University, Bangkok 10600

² สาขาวิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น 40002

Agronomy section, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002

³ สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยีและนวัตกรรม มหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรี กรุงเทพฯ 10170

Kasertsart Technology Program, Faculty of Innovation and Technology Bangkokthonburi University, Bangkok 10170

* Corresponding author: Penkhae@hotmail.co.th

ทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ไม่มีอิทธิพลต่อความยาวราก ($P > 0.05$) โดยสายพันธุ์ AW ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร $\frac{1}{4}$ MS ให้จำนวนรากที่สูงสุดเท่ากับ 39.00 ± 9.64 ราก นอกจากนี้สูตรอาหารและสายพันธุ์ไม่มีอิทธิพลต่อสีต้น ($P > 0.05$) [ค่าสีแดง (a^*) และค่าสีเหลือง (b^*)] ของกาบหอยแครง ดังนั้นสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินความเข้มข้น 6 มล./ล. ร่วมกับ Vitamix V 1,000 ความเข้มข้น 5 มล./ล. จึงสามารถนำมาใช้ทดแทนอาหารสูตร MS ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกาบหอยแครงได้

คำสำคัญ: กาบหอยแครง, สารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน

ABSTRACT: Venus Flytrap (*Dionaea muscipula*) is cultivated as an ornamental plant due to its leaf beauty and effective of plumbagin to inhibit bacterial growth. Since natural propagation difficulty, plant tissue culture increasing propagation rate can solve the problem. However the cost of chemicals for plant tissue culture is quite high and not available to the farmers. The objective of this study was to investigate the various concentrations of hydroponic nutrient solution (HNS) on the growth of Venus Flytrap in tissue culture. Four cultivars namely Korean Melody Shark (KMS), Cuppep Trap (CT), Dark Red (DR), Angelwings (AW) were grown on $\frac{1}{2}$ MS, $\frac{1}{4}$ MS and HNS (stock A and B at 100x) at 4 and 6 ml/L with Vitamix V 1,000 at 5 and 10 ml/L. The cultures were incubated at temperature 25 ± 2 oC with light 16 hrs./day for 45 days. The results showed that media and cultivars had significant differences ($P < 0.01$) on the number of shoots and plant height. HNS at 6 ml/L with Vitamix V 1,000 at 5 ml/L gave the highest number of shoots (10.00 ± 2.00 shoots) in AW cultivar and also gave the highest plant height (3.40 ± 0.52 cm.) in DR cultivar. As for the root number, the medium and cultivar showed the significant difference ($P < 0.05$) on root number but not on root length ($P > 0.05$). The $\frac{1}{4}$ MS media and AW gave the highest root number (39.00 ± 9.64 roots). In addition, media and cultivars did not show the effect on plant color ($P > 0.05$) [a^* and b^*]. Therefore, hydroponics nutrient solution at 6 ml/L with Vitamix V 1,000 at 5 ml/L can be used as a replacement for MS media in *D. muscipula* tissue culture.

Keywords: *Dionaea muscipula*, hydroponics nutrient solution

คำนำ

กาบหอยแครง (*D. muscipula*) เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Droseraceae มีชื่อสามัญว่า Venus flytrap เป็นพืชกินแมลงที่ได้รับความนิยม เนื่องจากเทคนิคการดักจับแมลงของพืชชนิดนี้มีลักษณะเฉพาะ พบได้บริเวณที่มีความชื้นสูงหรือในพื้นที่ชื้นแฉะ (ปฐมะ และคณะ, 2558) ปัจจุบันมีการปลูกเลี้ยงและใช้เป็นไม้ประดับมากขึ้นเนื่องจากความสวยงามของกาบ และมีสาร plumbagin ซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (Itoigawa et al., 1991 และ Fournet et al., 1992) เช่น Didry et al., (1998) พบว่าสาร plumbagin ที่สกัดได้จาก *Drosera peltata* Smith สามารถยับยั้งแบคทีเรียในช่องปาก Philip et al., (1999) แยกสาร plumbagin (5-Hydroxy-2-methy-1,4-naphthoquinone) จากเปลือกของต้น *Idospyros olen* พบว่าสารดังกล่าวสามารถยับยั้ง

การเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas solanacearum* แต่การขยายพันธุ์ต้นกาบหอยแครงในสภาพธรรมชาติทำได้ยาก (อัญชลี และ สโรธร, 2556) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจึงเป็นวิธีหนึ่งที่สามารถช่วยขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มปริมาณต้นจำนวนมากในระยะเวลาอันสั้นได้ โดยสามารถนำชิ้นส่วนต่างๆ ของพืช ได้แก่ ใบ ดอก ราก ตายอด ตาข้าง ลำต้น มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ที่ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อที่สามารถควบคุมอุณหภูมิและสภาพแวดล้อมได้ ซึ่งวิธีการดังกล่าวมีประโยชน์อย่างมากโดยเฉพาะการขยายพันธุ์และการปรับปรุงพันธุ์พืช การเก็บรักษาพันธุ์พืช รวมถึงการนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านผลิตสารสมุนไพร (เพชรรัตน์, 2556) แต่ด้วยต้นทุนสารเคมีในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชค่อนข้างสูง จึงไม่เหมาะกับเกษตรกรที่มีต้นทุนน้อย

สารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน

ไม่ใช้ดิน (HNS) ประกอบด้วยธาตุอาหารจำเป็น สำหรับการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ ธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง และจุลธาตุ เช่นเดียวกับอาหารสังเคราะห์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถหาซื้อได้ง่าย และราคาไม่แพง (กิตติศักดิ์, 2559) ปัจจุบันมีการนำสารดังกล่าวมาใช้ทดแทนอาหารสูตร MS ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชหลายชนิด เช่น การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อว่านสี่ทิศ การขยายพันธุ์เห็บหวาน และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นม่วงเทพรัตน์ (กิตติศักดิ์, 2559; วรรณนา และคณะ, 2558; Chotikadachanarong, 2015) เป็นต้น ในพืชบางชนิดการใช้สารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินมีแนวโน้มสามารถนำมาใช้ทดแทนอาหารสูตร MS ได้ แต่พืชบางชนิดต้องใช้สารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินร่วมกับการเติมวิตามิน เช่น วรรณนา และคณะ (2558) ศึกษาผลของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่เตรียมจากสารละลายธาตุอาหาร ชื่อทางการค้า Hydro work (HW) สารละลายธาตุอาหาร stock A และ B ความเข้มข้นอย่างละ 5 มล./ล. ร่วมกับสารละลายเครื่องมือยี่ห้อกระต๊องแดง หรือ M 150 หรือ Vitamix v 500 ความเข้มข้น 0, 5, 10 และ 15 มล./ล. ในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของเห็บหวาน พบว่าการใช้อาหารรุ่นที่เตรียมจากสารละลายธาตุอาหารร่วมกับ Vitamix v 500 ความเข้มข้น 5 มล./ล. ให้ต้นอ่อนที่มีการเจริญเติบโตสูงที่สุด ทั้งจำนวนยอด จำนวนใบ จำนวนราก และความสูงของยอด ในขณะที่ กิตติศักดิ์ (2559) นำสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อว่านสี่ทิศ พบว่า อาหารรุ่นที่เตรียมจากสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน stock A และ B ความเข้มข้นเท่ากัน อย่างละ 3, 4 และ 5 มล./ล. มีศักยภาพในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อว่านสี่ทิศทดแทนอาหารสูตร MS เนื่องจากอาหารสูตรดังกล่าวสามารถชักนำให้เกิดการเจริญเติบโตทั้งจำนวนยอด ความสูงของยอด และจำนวนราก ไม่แตกต่างจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระดับความเข้มข้นของสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินที่มีต่อการเจริญเติบโตของกาบหอยแครงในสภาพปลอดเชื้อ

อุปกรณ์และวิธีการ

นำต้นกาบหอยแครง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ Korean Melody Shark (KMS), Cupped Trap (CT), Dark Red (DR) และ Angelwings (AW) ในสภาพปลอดเชื้อ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS $\frac{1}{4}$ MS และสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน (บริษัทเวสโก้ เคมี ประเทศไทย จำกัด) stock A และ B ที่มีความเข้มข้น 100 เท่า {stock A ประกอบด้วย แคลเซียมไนเตรต (15-0-0) 115 ก./ล., ลิเบรล เหล็ก-ดีพี (Fe-DTPA 7%) 3 ก./ล. และลิเบรล เหล็ก-โล (Fe-EDTA 13.2%) 3 ก./ล.} และ {stock B ประกอบด้วย โพแทสเซียมไนเตรต (13-0-46) 7 ก./ล., แมกนีเซียมซัลเฟต 5 ก./ล., โมโนโพแทสเซียมฟอสเฟต (0-52-34) 1.5 ก./ล., โมโนแอมโมเนียมฟอสเฟต (12-60-0) 1 ก./ล., นิค-สเปรย์ 5 ก./ล., ลิเบรล แมงกานีส (Mn-EDTA 13%) 1 ก./ล., โซเดียมโมลิบเดต (Mo 39.5%) 0.1 ก./ล. และนิกเกิลซัลเฟต (Ni 22.3%) 0.05 ก./ล.} ที่ความเข้มข้น 4 และ 6 มล./ล. ร่วมกับ Vitamix V 1,000 ความเข้มข้น 5 และ 10 มล./ล. เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 45 วัน ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 °C ความเข้มแสง 30 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ด้วยแสงจากหลอด LED (Top Light T8) เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน บันทึกผล จำนวนยอด ความสูงต้น (ซม.) จำนวนใบ ความยาวใบ (ซม.) ความยาวราก (ซม.) จำนวนราก ความยาวราก (ซม.) และวัดสีใบ (ด้วยเครื่อง Chroma Meter CR-400/DP-400) วางแผนการทดลองแบบ 4×6 Factorial in completely randomized design (CRD) ปัจจัยที่ 1 คือ สายพันธุ์กาบหอยแครง ได้แก่ KMS, CT, DR และ AW และปัจจัยที่ 2 คือ สูตรอาหาร 6 สูตร ได้แก่ (1) $\frac{1}{2}$ MS (control), (2) $\frac{1}{4}$ MS, (3) HNS 4 มล./ล. +Vitamix 5 มล./ล., (4) HNS 4 มล./ล.+Vitamix 10 มล./ล., (5) HNS 6 มล./ล.+Vitamix 5 มล./ล.และ (6) HNS 6 มล./ล.+Vitamix 10 มล./ล.ทำการทดลองที่ทรีทเมนต์ละ 5 ซ้ำๆ ละ 3 ขวดๆ ละ 1 ต้น วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากบวบหอยแครง จำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ KMS, CT, DR และ AW บนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS, $\frac{1}{4}$ MS และสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน (stock A และ B เข้มข้น 100 เท่า) ที่ความเข้มข้น 4 และ 6 มล./ล. ร่วมกับ Vitamix V 1,000 ความเข้มข้น 5 และ 10 มล./ล. เป็นเวลา 45 วัน พบว่าสูตรอาหารและสายพันธุ์มีอิทธิพลต่อจำนวนยอด และความสูงต้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) โดยอาหารสูตรที่เตรียมจากสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินที่มีความเข้มข้น 6 มล./ล. ร่วมกับ Vitamix V 1,000 ความเข้มข้น 5 มล./ล. ให้จำนวนยอดเฉลี่ยในสายพันธุ์ AW มากที่สุด เท่ากับ 10.00 ± 2.00 ยอด และในอาหารสูตรเดียวกันให้ ความสูงต้นมากสุดในสายพันธุ์ DR เท่ากับ 3.40 ± 0.52 ซม. (Table 1) ในส่วนของจำนวนราก และความยาวราก พบว่าสูตรอาหารและสายพันธุ์มีอิทธิพลต่อจำนวนรากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่ไม่มีอิทธิพลต่อความยาวราก ($P>0.05$) โดยสายพันธุ์ AW ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร $\frac{1}{4}$ MS ให้จำนวนรากที่สูงสุดเท่ากับ 39.00 ± 9.64 ราก (Table 1) นอกจากนี้ยังพบว่า สูตรอาหารและสายพันธุ์มีอิทธิพลต่อจำนวนใบ ความยาวใบ ความยาว กาบ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยสายพันธุ์ KMS ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เตรียมจาก สารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินที่ ความเข้มข้น 4 มล./ล. ร่วมกับ Vitamix V 1,000 ความเข้มข้น 5 มล./ล. ให้จำนวนใบมากที่สุด เท่ากับ 89.00 ± 34.65 ใบ สายพันธุ์ KMS เพาะเลี้ยง บนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ให้ความยาวใบมากที่สุด เท่ากับ 2.73 ± 1.06 ซม. และสายพันธุ์ CT ที่เพาะ เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เตรียมจากสารละลายธาตุ อาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินที่มีความเข้มข้น 6 มล./ล. ร่วมกับ Vitamix V 1,000 ความเข้มข้น 10 มล./ล. ให้ความยาวกาบมากที่สุดเท่ากับ 1.56 ± 0.05 ซม. (Table 2) สำหรับค่าสีใบของ กาบหอยแครง พบว่า สูตรอาหารและสายพันธุ์มีอิทธิพลต่อค่าความสว่างสี (L^*) แต่ไม่มีผลต่อค่าสี แดง (a^*) และค่าสีเหลือง (b^*) โดยสายพันธุ์ AW ที่ เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เตรียมจากสารละลาย ธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินที่มีความเข้ม

ข้น 6 มล./ล. ร่วมกับ Vitamix V 1,000 ความเข้มข้น 5 มล./ล. ให้ค่าความสว่างของสีต้นมากที่สุดเท่ากับ 37.33 ± 3.57 ค่าสีแดง และสีเหลืองเท่ากับ -13.62 ± 1.1 และ 34.02 ± 1.88 ตามลำดับ (Table 3)

เมื่อเปรียบเทียบสูตรอาหารที่ใช้ในการ เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากบวบหอยแครงทั้ง 4 สายพันธุ์ พบ ว่า สูตรอาหารมีผลต่อจำนวนยอด ความยาวราก ความยาวใบ ความยาวกาบ ค่าความสว่างสี และ ค่าสีเหลือง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) แต่ไม่มีผลต่อความสูงต้น จำนวนใบ จำนวนราก และค่าสีแดง ($P>0.05$) โดยอาหารสูตรที่เตรียมจาก สารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินที่ ความเข้มข้น 6 มล./ล. ร่วมกับ Vitamix V 1,000 ความเข้มข้น 5 มล./ล. ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนยอดมาก ที่สุดเท่ากับ 8.33 ± 2.30 ยอด (Table 1) อาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ให้ความยาวใบ และความยาวรากมากที่สุด เท่ากับ 1.70 ± 0.79 และ 1.03 ± 0.40 ซม. ตามลำดับ และอาหารสูตรที่เตรียมจากสารละลายธาตุอาหาร สำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินที่มีความเข้มข้น 6 มล./ล. ร่วมกับ Vitamix V 1,000 ความเข้มข้น 10 มล./ล. ให้ความยาวกาบมากที่สุดเท่ากับ 0.81 ± 0.49 ซม. (Table 2) และอาหารสูตรที่เตรียมจากสารละลาย สำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินที่มีความเข้มข้น 4 และ 6 มล./ล. ร่วมกับ Vitamix V 1,000 ความเข้มข้น 5 และ 10 มล./ล. ให้ค่าความสว่างสี และค่าสีเหลือง มากที่สุด (Table 3)

ลักษณะต้นกาบหอยแครงแต่ละสายพันธุ์ มีความแตกต่างกันส่งผลให้จำนวนยอด ความสูง ต้น จำนวนใบ ความยาวใบ ความยาวกาบ จำนวน ราก ค่าความสว่างสี ค่าสีแดง และค่าสีเหลือง แตก ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) (Figure 1) โดยสายพันธุ์ AW ให้จำนวนยอด จำนวนใบ และจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 6.66 ± 2.86 ยอด 71.50 ± 18.76 ใบ และ 28.83 ± 10.20 ราก ตามลำดับ สายพันธุ์ DR และ KMS ให้ความสูงต้นมากที่สุด เท่ากับ 2.53 ± 0.56 ซม. และ 2.40 ± 0.66 ซม. ตามลำดับ (Table 1 และ Table 2) สายพันธุ์ DR ให้ความยาวใบและสายพันธุ์ CT ให้ความยาวกาบมากที่สุด ในขณะที่สายพันธุ์ AW ให้ค่าความสว่างสี ค่าสีแดง และค่าสี เหลืองมากที่สุดเท่ากับ 35.66 ± 3.66 , 14.34 ± 1.39 และ 31.29 ± 3.53 ตามลำดับ (Table 3)

Table 1 Effects of media and cultivars on shoot number, plant height, root number and root length of *D. muscipula* grown in tissue culture

Media	Cultivar	Shoot number	Plant height (cm±SD.)	Root number	Root length (cm±SD.)
½MS	CT	8.33±2.08	2.36±0.32	17.33±6.65	1.20±0.26
	KMS	3.00±1.00	3.33±1.02	16.66±5.77	1.16±0.72
	DR	3.33±1.52	2.76±0.60	9.00±1.00	0.66±0.11
	AW	10.00±1.73	2.23±0.37	38.00±7.21	1.10±0.10
Mean ^{1/}		6.16±3.53 ^b	2.67±0.70	54.25±23.91	1.03±0.40 ^a
¼MS	CT	4.00±2.64	2.46±0.05	16.33±6.11	0.86±0.23
	KMS	3.33±1.52	2.70±0.26	18.00±2.64	1.10±0.26
	DR	5.00±1.00	1.96±0.37	12.66±2.08	0.73±0.25
	AW	4.33±1.15	1.90±0.1	39.00±9.64	1.06±0.11
Mean ^{1/}		4.16±1.58 ^c	2.25±0.40	53.25±22.31	0.94±0.24 ^{ab}
HNS 4 ml/L +Vitamix 5 ml/L	CT	4.33±1.52	2.70±0.60	21.66±7.63	0.70±0.20
	KMS	4.00±2.00	2.10±0.36	24.33±4.04	0.50±0.17
	DR	1.66±0.57	2.46±0.25	9.33±3.05	0.60±0.26
	AW	3.66±1.15	2.13±0.40	23.33±3.21	0.56±0.05
Mean ^{1/}		3.41±1.62 ^c	2.35±0.44	61.25±29.31	0.59±0.17 ^c
HNS 4 ml/L +Vitamix 10 ml/L	CT	2.66±0.57	2.43±0.20	23.66±6.02	0.63±0.15
	KMS	6.33±1.52	2.23±0.45	18.33±10.40	1.03±0.05
	DR	2.00±1.00	2.30±0.17	10.66±3.78	0.66±0.05
	AW	5.66±1.52	2.03±0.25	22.33±13.20	0.83±0.41
Mean ^{1/}		4.16±2.20 ^c	2.25±0.29	56.08±17.70	0.79±0.25 ^{bc}
HNS 6 ml/L +Vitamix 5 ml/L	CT	8.33±1.52	1.93±0.40	15.66±3.78	0.70±0.26
	KMS	9.33±0.57	1.83±0.20	17.66±2.51	0.56±0.20
	DR	5.66±2.51	3.40±0.52	11.66±1.52	0.63±0.05
	AW	10.00±2.00	1.83±0.28	21.00±6.55	0.73±0.25
Mean ^{1/}		8.33±2.30 ^a	2.25±0.76	56.50±19.34	0.65±0.19 ^c
HNS 6 ml/L +Vitamix 10 ml/L	CT	7.33±2.30	2.00±0.1	17.33±2.08	0.83±0.20
	KMS	7.33±1.52	2.23±0.25	26.00±6.24	0.70±0.10
	DR	4.33±1.52	2.33±0.05	13.33±4.93	0.76±0.15
	AW	6.33±1.15	2.50±0.2	29.33±5.50	0.76±0.20
Mean ^{1/}		6.33±1.92 ^b	2.26±0.23	47.91±12.10	0.76±0.15 ^{bc}
Mean of cultivar ^{2/}	CT	5.83±2.81 ^a	2.31±0.39 ^{a,b}	18.66±5.66 ^b	0.82±0.26
	KMS	5.55±2.74 ^a	2.40±0.66 ^a	20.16±6.39 ^b	0.84±0.39
	DR	3.66±1.97 ^b	2.53±0.56 ^a	11.11±3.04 ^c	0.67±0.15
	AW	6.66±2.86 ^a	2.10±0.33 ^b	28.83±10.20 ^a	0.84±0.27
F-test (cv)		**	*	**	ns
F-test (Media)		**	ns	ns	**
F-test (cv*Media)		**	**	*	ns
C.V. (%)		51.01	22.22	46.57	35.44

^{1/} Means with the same letter in media are not significant by the DMRT at 5% probability (P<0.05)^{2/} Means with the same letter in cultivar are not significant by the DMRT at 5% probability (P<0.05)

ns = no significant difference (P>0.05), * and ** = significant difference (P<0.05) and (P<0.01)

HNS= Hydroponic nutrient solution, cv = Cultivar

Table 2 Effects of media and cultivars on leaf number, petiole length and leaf length of *D. muscipula* in grown tissue culture

Media	Cultivar	Leaf number	Petiole length	leaf length
½MS	CT	53.33±18.92	1.40±0.36	0.33±0.05
	KMS	39.33±12.89	2.73±1.06	0.46±0.15
	DR	39.66±4.72	1.45±0.18	0.45±0.08
	AW	84.66±23.58	1.21±0.07	0.28±0.07
Mean ^{1/}		54.25±23.91	1.70±0.79 ^a	0.38±0.11 ^{bc}
¼MS	CT	31.66±7.63	1.62±0.21	0.31±0.07
	KMS	60.00±10.00	1.21±0.43	0.28±0.10
	DR	39.00±13.22	1.40±0.36	0.40±0.10
	AW	82.33±8.02	1.00±0.10	0.33±0.05
Mean ^{1/}		53.25±22.31	1.19±0.30 ^b	0.33±0.08 ^c
HNS 4 ml/L +Vitamix 5 ml/L	CT	51.66±22.85	1.15±0.56	0.38±0.10
	KMS	89.00±34.65	1.31±0.37	0.41±0.07
	DR	35.33±13.05	1.15±0.58	0.38±0.10
	AW	69.00±21.07	0.80±0.10	0.33±0.05
Mean ^{1/}		61.25±29.31	1.10±0.43 ^b	0.37±0.08 ^{bc}
HNS 4 ml/L +Vitamix 10 ml/L	CT	57.00±9.84	1.20±0.30	0.26±0.05
	KMS	63.66±22.74	1.06±0.35	0.46±0.05
	DR	37.33±11.15	1.00±0.26	0.43±0.05
	AW	66.33±14.57	0.86±0.50	0.46±0.11
Mean ^{1/}		56.08±17.70	1.03±0.33 ^b	0.40±0.10 ^{bc}
HNS 6 ml/L +Vitamix 5 ml/L	CT	55.33±11.37	1.10±0.40	0.36±0.15
	KMS	57.33±8.73	0.88±0.54	0.38±0.10
	DR	33.66±7.09	1.93±0.45	0.66±0.05
	AW	79.66±14.57	0.83±0.23	0.40±0.10
Mean ^{1/}		56.50±19.34	1.18±0.58 ^b	0.45±0.15 ^b
HNS 6 ml/L +Vitamix 10 ml/L	CT	51.00±3.60	0.43±0.00	1.56±0.05
	KMS	61.66±7.63	0.70±0.17	0.60±0.26
	DR	32.00±6.00	1.53±0.47	0.66±0.30
	AW	47.00±4.35	1.03±0.15	0.43±0.05
Mean ^{1/}		47.91±12.10	0.92±0.48 ^b	0.81±0.49 ^a
Mean of cultivar ^{2/}	CT	50.00±14.63 ^b	1.07±0.42 ^{bc}	0.53±0.48 ^a
	KMS	61.83±21.76 ^a	1.31±0.83 ^{ab}	0.43±0.15 ^{bc}
	DR	36.16±8.72 ^c	1.41±0.45 ^a	0.50±0.17 ^{ab}
	AW	71.50±18.76 ^a	0.95±0.25 ^c	0.37±0.09 ^c
F-test (cv)		**	**	**
F-test (Media)		ns	**	**
F-test (cv*Media)		*	**	**
C.V. (%)		38.41	46.21	58.69

^{1/} Means with the same letter in media are not significant by the DMRT at 5% probability (P<0.05)^{2/} Means with the same letter in variety are not significant by the DMRT at 5% probability (P<0.05)

ns = no significant difference (P>0.05), * and ** = significant difference (P<0.05) and (P<0.01)

HNS= Hydroponic nutrient solution, cv = Cultivar

Table 3 Effects of media and cultivars on color values (L* a* b*) of *D. muscipula* in grown tissue culture

Media	Cultivar	L*	a*	b*
½MS	CT	31.80±3.83	-13.48±1.57	25.69±2.15
	KMS	29.83±1.75	-10.94±4.89	24.74±2.54
	DR	32.03±1.16	-10.41±1.37	23.04±2.17
	AW	32.57±5.18	-13.75±2.62	26.86±3.02
Mean ^{1/}		31.56±3.08 ^{bc}	-12.15±2.96	25.08±2.58 ^b
¼MS	CT	27.17±3.40	-9.37±0.94	19.48±2.84
	KMS	32.18±3.22	-9.99±4.93	26.14±4.92
	DR	29.49±2.29	-12.59±3.09	25.01±3.90
	AW	35.74±4.13	-15.12±1.30	30.05±3.80
Mean ^{1/}		31.14±4.37 ^c	-11.77±3.51	25.17±5.18 ^b
HNS 4 ml/L +Vitamix 5 ml/L	CT	30.40±2.17	-9.38±2.85	24.43±1.44
	KMS	35.91±3.47	-11.34±4.25	30.34±2.53
	DR	34.65±2.05	-9.99±1.20	27.84±1.52
	AW	35.10±4.55	-14.86±0.45	33.35±2.18
Mean ^{1/}		34.01±3.54 ^{ab}	-11.39±3.16	28.99±3.81 ^a
HNS 4 ml/L +Vitamix 10 ml/L	CT	33.04±1.68	-10.13±1.32	27.14±1.25
	KMS	35.04±1.65	-11.50±0.56	28.61±1.26
	DR	34.23±5.10	-12.59±1.85	28.32±2.68
	AW	36.39±1.43	-14.02±1.26	31.26±3.84
Mean ^{1/}		34.67±2.78 ^a	-12.06±1.87	28.83±2.65 ^a
HNS 6 ml/L +Vitamix 5 ml/L	CT	36.78±2.63	-10.45±4.73	28.64±5.79
	KMS	36.78±2.63	-11.50±4.91	32.59±5.93
	DR	32.16±3.98	-13.41±1.19	27.24±1.42
	AW	37.33±3.57	-13.62±1.10	34.02±1.88
Mean ^{1/}		34.70±3.60 ^a	-12.24±3.29	30.62±4.68 ^a
HNS 6 ml/L +Vitamix 10 ml/L	CT	35.49±2.93	-11.00±2.86	26.91±3.04
	KMS	35.49±2.93	-9.56±1.41	31.17±1.56
	DR	32.28±2.53	-13.86±0.36	24.89±3.82
	AW	36.86±3.52	-14.66±1.38	32.19±2.97
Mean ^{1/}		34.68±2.96 ^a	-12.27±2.63	28.79±4.02 ^a
Mean of cultivar ^{2/}	CT	32.45±4.06 ^b	-10.63±2.68	25.38±4.01 ^c
	KMS	33.26±2.88 ^b	-10.80±3.39	28.93±4.13 ^c
	DR	32.47±3.15 ^b	-12.14±2.07	26.05±3.03 ^b
	AW	35.66±3.66 ^a	-14.34±1.39	31.29±3.53 ^a
F-test (cv)		**	**	**
F-test (Media)		**	ns	**
F-test (cv*Media)		*	ns	ns
C.V. (%)		10.87	23.87	15.51

^{1/} Means with the same letter in media are not significant by the DMRT at 5% probability (P<0.05)^{2/} Means with the same letter in variety are not significant by the DMRT at 5% probability (P<0.05)

ns = no significant difference (P>0.05), * and ** = significant difference (P<0.05) and (P<0.01)

HNS= Hydroponic nutrient solution, cv = Cultivar

จากผลการทดลองดังกล่าว การใช้สารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน (stock A และ B เข้มข้น 100 เท่า) ร่วมกับ Vitamix V 1,000 พบว่า สารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินที่มีความเข้มข้น 6 มล./ล. ร่วมกับ Vitamix V 1,000 ความเข้มข้น 5 มล./ล. ให้จำนวนยอดเฉลี่ยมากกว่าการใช้อาหารสูตร 1/2MS (control) และให้ความสูงต้น ความยาวกาบ และจำนวนราก

ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการใช้อาหารสูตร 1/2MS ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ วรธนา และคณะ (2558) ที่พบว่า อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่เตรียมจากสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ชื่อการค้า Hydro work (HW) stock A และ B ความเข้มข้นอย่างละ 5 มล./ล. ร่วมกับ Vitamix V 500 ความเข้มข้น 5 มล./ล. ให้ต้นอ่อนหญ้าหวานที่มีการเจริญเติบโตสูงที่สุด ทั้ง

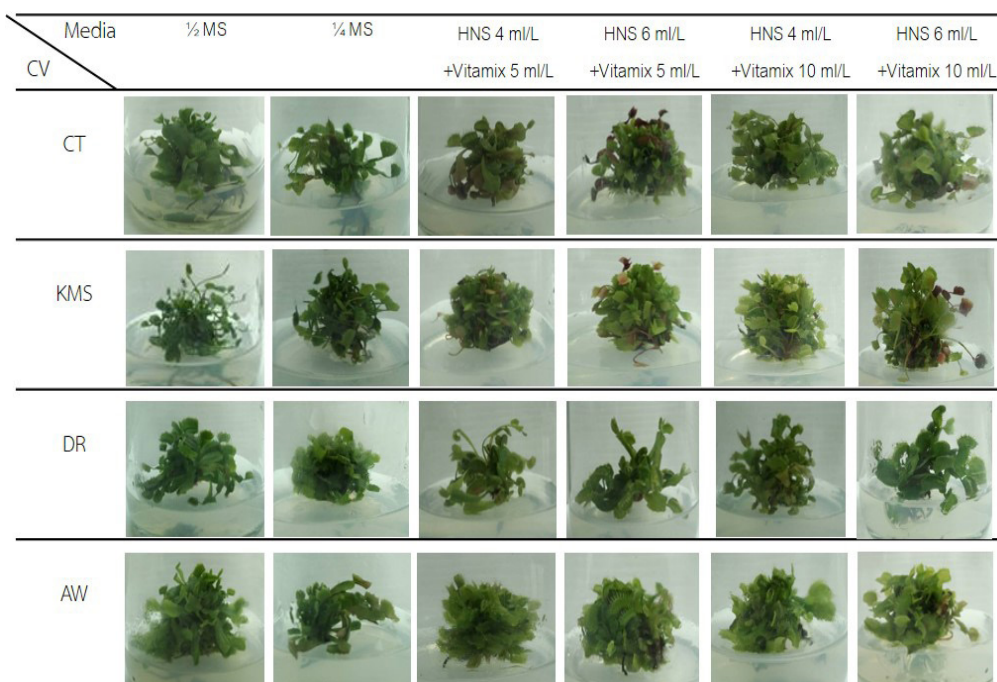


Figure 1 Plant characteristic of *D. muscivora* in grown tissue culture.

จำนวนยอด จำนวนใบ จำนวนราก และความสูงของยอด และพวงศัพท และคณะ (2551); กิตติศักดิ์ (2559) พบว่า สารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินสามารถเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระชายดำ ว่านสี่ทิศ หญ้าหวาน และต้นม่วงเทพรัตน์ได้ เนื่องจากสารละลายธาตุอาหารดังกล่าว มีธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของพืชทั้งธาตุอาหารหลัก ได้แก่ N, P, K ธาตุอาหารรอง ได้แก่ Ca, Mg, S และจุลธาตุ ได้แก่ Zn, Fe, B, Mn, Cu, Mo, และ Cl (Chotikadachanarong, 2015) และใน Vitamix V 1,000 (เครื่องดื่มชูกำลัง) ยังมีส่วน

ประกอบของวิตามิน เอ, ซี, อี, บี 1, บี 2, บี 6, บี 12, ไนอะซิน, ไบโอติน, กรดโฟลิก อาร์จินีน และน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ ซึ่งให้ทดแทน thiamine และ pyridoxine ส่งผลให้กาบหอยแครงมีการเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างจากการใช้อาหารสูตร MS เนื่องจากวิตามินมีหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ในกระบวนการต่าง ๆ (ศิริพงศ์, 2546)

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณธาตุอาหารและปริมาณน้ำตาลที่มีใน 1/2MS และในสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินความเข้มข้น 6 มล./ล. พบว่า สูตรอาหารดังกล่าวมีปริมาณธาตุ

อาหารใกล้เคียงกัน มีบางธาตุที่สารละลายสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินมีปริมาณมากกว่า เช่น เหล็ก แมกนีเซียม แคลเซียม และแมงกานีส เป็นต้น (Table 4) สำหรับปริมาณน้ำตาลในอาหารทั้งสองสูตร พบว่า อาหารสูตรที่เตรียมจากสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินมีปริมาณน้ำตาลมากกว่าอาหารสูตร 1/2MS เนื่องจากใน Vitamix V1,000 มีน้ำตาล 8% ทำให้อาหารสูตรที่เตรียมจากสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินมีแหล่งพลังงานที่มากกว่าอาหารสูตร 1/2MS เล็กน้อย นอกจากนี้สูตรอาหารที่เตรียมจากสารละลายปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ยังมีต้นทุนการเตรียมอาหารที่

ต่ำกว่าอาหารสูตร MS โดยอาหารที่เตรียมจากสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน stock A, stock B และ Vitamix V 1,000 ราคาเฉลี่ย 21.52 บาท ในขณะที่อาหารสูตร MS มีราคาต้นทุนอยู่ที่เฉลี่ย 31.11 บาท (เพ็ญแข และคณะ, 2560)

ดังนั้นเพื่อเป็นการลดต้นทุนด้านสารเคมีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นกาบหอยแครง การใช้สารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ทดแทนอาหารสูตร MS ได้

Table 4 Nutrient composition of 1/2MS and Hydroponics 6 ml/L

Nutrients	1/2 MS (mg/L)	Nutrients	HNS (mg/6 ml/L + Vitamix V 1,000 5 ml/L)
NH ₄ NO ₃	825	Fe-DTPA (7%)	18
KNO ₃	950	KNO ₃ (13-0-46)	360
KH ₂ PO ₄	85	KH ₂ PO ₄ (0-52-34)	180
MgSO ₄ ·7H ₂ O	185	MgSO ₄	300
CaCl ₂ ·2H ₂ O	220	Fe-EDTA (13.2%)	18
KI	0.415	Mn-EDTA (13%)	6
H ₃ BO ₃	3.1	NiSO ₄ (Ni=22.3%)	0.3
MnSO ₄ ·7H ₂ O	3.45	Ca(NO ₃) ₂ (15-0-0)	690
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	3.07	Na ₂ MoO ₄ (Mo=39.5%)	0.6
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.0125	Nicspray (MgO=7.29%,	30
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.125	Fe=1.9%, Mn=1.94%,	
CoCl ₂ ·2H ₂ O	0.0125	Cu=2.08%, Zn=1.9%,	
FeSO ₄ ·7H ₂ O	13.925	B=2.17%, Mo=0.024%)	
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	18.625	Vitamix V1,000	Ca=0.005, Mg=0.0027,
Myo-inositol	50	[Ca=0.109%, Mg=0.054,	L-Arginine=0.0025,
Nicotinic acid	0.25	L-Arginine=0.05%,	Ginseng
Pyridoxine HCL	0.25	Ginseng extract=0.0003%,	extract=0.000015,
Thiamine HCL	0.25	Dextrose=2.72%, Sugar=8%,	Dextrose=0.136,
Glycine	1.00	white grape=12%, vitamin	Sugar=0.4, white
		(A, C, E, B1, B2, Niacin,	grape=0.6, vitamin (A,
		Pantothenic acid, B6, Biotin,	C, E, B1, B2, Niacin,
		Folic acid, B12)=0.288%]	Pantothenic acid,
			B6, Biotin, Folic acid,
			B12)=0.014

สรุปผลการทดลอง

การใช้สารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินสามารถนำมาใช้ทดแทนอาหารสูตร MS สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกาบหอยแครงได้ โดยใช้สารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน (stock A และ B เข้มข้น 100 เท่า) ที่ความเข้มข้น 6 มล./ล. ร่วมกับ Vitamix V 1,000 ความเข้มข้น 5 มล./ล.

ข้อเสนอแนะ

การใช้สารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินสามารถนำมาใช้ทดแทนอาหารสูตร MS ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นกาบหอยแครงได้ ผู้สนใจสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชชนิดอื่น เพื่อลดต้นทุนสารเคมี และช่วยให้ประหยัดเวลาในการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เอกสารอ้างอิง

- กิตติศักดิ์ โชติกเดชาณรงค์. 2559. การใช้สารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินทดแทนธาตุอาหารในสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อว่านสีทิศ. ว. วิทยาศาสตร์ มข. 44: 103-110.
- ปฐมะ ตั้งประดิษฐ์, เณรมาลย์ วงศ์ขาวจันทร์, ธัญญะ เตชะศิลป์พิทักษ์ และ พิรุณ จอมพุก. 2558. การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในต้นกาบหอยแครงในสภาพปลอดเชื้อโดยใช้โคลชิซิน. ว. วิทยาศาสตร์เกษตร. 46: 801-804.
- พงศ์ยุทธ นวลบุญเรือง อภิชาติ ชิดบุรี และ ยุทธนา เชาสุเมรุ. 2551. ศักยภาพของสารทดแทนธาตุอาหารและวิตามินในสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. วารสารวิทยาศาสตร์การเกษตร. 39: 528-531.
- เพชรรัตน์ จันทรัตน์. 2556. การรวบรวมและผลิตพืชกินแมลงสกุลหยาดน้ำค้างด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. รายงานผลการวิจัยมหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรี. 36 น.
- เพ็ญแข รุ่งเรือง, กาญจนา เหลืองสุวาลัย, สายฝน ไวยกุล และ เจนจิรา ต่อเชื้อ. 2560. การใช้สารละลายปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินเพื่อ

- การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อว่านกระเจาจันทร์. ใน การประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 14 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน วันที่ 7-8 ธันวาคม 2560. 2518-2524.
- ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์. 2546. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏอุดรธานี, อุดรธานี.
- วรรณา จะนุ, กิตติศักดิ์ โชติกเดชาณรงค์, ดาราลักษณ์ เยาวภาคย์โสภณ และ ศรีสกุลลักษณ์ ธีรานพพัฒนา . 2558. อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชต้นทุเรียนเพื่อการขยายพันธุ์หนุ่ยหวาน. ใน การประชุมวิชาการและนำเสนอผลงานวิจัย ระดับชาติ และนานาชาติ ครั้งที่ 6. ว. บัณฑิตศึกษา. 1(6): 401-411.
- อัญชลี จาละ และสโรธร โพธิ์สุ. 2556. การเพิ่มจำนวนกาบหอยแครงโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. Thai Journal of Science and Technology. 2(2): 134-139.
- Chotikadachanong, K. 2015. Simple Media from Hydroponics Nutrient Solution for Tissue Cultures of *Exacum affine* Balf.f.ex Regel and *Stevia rebaudiana* Bertoni. Naresuan University. Journal : Science and Technology. 23(1). 74-81.
- Didry, N., Dubreuil, L., Trotin, F. and Pinkas, M. 1998. "Antimicrobial activity of aerial parts of *Drosera peltata* Smith on oral bacteria." Journal of Ethnopharmacology. 60(1): 91-96.
- Fournet, A., Angelo Barrios, A., Munoz, V., Roblot, F., Hocquemiller, R., and Cave, A. 1992. Biological and chemical studies of *Pera benensis*, a Bolivian plant used in folk medicine as a treatment of cutaneous leishmaniasis. J. Ethnopharmacol. 37: 159-164.
- Itoigawa, M., Takeya, K. and Furukawa, H. 1991. Cardiotonic action of plumbagin on guinea-pig papillary muscle. Planta Med. 57: 317-319.
- Philip, H.E., William, S.B., Mare, L. and Thierry, S. 1999. Short Note: Plumbagin from *Diospyros olean*. Molecules. 4: 93.