

การศึกษาผลของ Elicitors ต่อการสร้างสารทุติยภูมิ
ของเซลล์แขวนลอย และ รากเพาะเลี้ยงกวางเครือขาว

นายฉัตรเกษม พันธจักร

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

พ.ศ. 2555

Effect of elicitors on secondary metabolite production
of *Pueraria candollei* var. *mirifica* and *P. candollei* var.
candollei cell suspension and hairy root cultures

MR. CHATKASEM PANTAJAK

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE BACHELOR DEGREE OF SCIENCE IN PHARMACY
MAHIDOL UNIVERSITY

2012

โครงการพิเศษ

เรื่อง การศึกษาผลของ Elicitors ต่อการสร้างสารทุติยภูมิของเซลล์แขวนลอย
และ รากเพาะเลี้ยงกวางเครือขาว

.....
(นายฉัตรเกษม พันธจักร)

.....
(รศ.ดร.สมภพ ประธานธรรักษ์)

อาจารย์ที่ปรึกษา

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของ Elicitors ต่อการสร้างสารทุติยภูมิของเซลล์แขวนลอย และ รากเพาะเลี้ยงกวางเครือขาว

ฉัตรเกษม พันธจักร

อาจารย์ที่ปรึกษา : สมภพ ประธานธรรารักษ์*

*ภาควิชาเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

คำสำคัญ : HPLC, Isoflavonoids, เทคโนโลยีชีวภาพ, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การศึกษานี้แสดงผลของ bacterial endophyte elicitors สามชนิด ได้แก่ PC-001 (*Rhizobium* sp.) PC-004 (*Rhizobium* sp.) และ PC-005 (*Mesorhizobium* sp.) ซึ่งแยกมาจาก ปมรากกวางเครือขาว ต่อการสร้างสารทุติยภูมิของเซลล์แขวนลอยกวางเครือขาวทั้งสองสายพันธุ์ (*Pueraria candollei* var. *mirifica* และ *P. candollei* var. *candollei*) โดยสารกลุ่ม isoflavonoids ที่ถูกสร้างขึ้นจะถูกวิเคราะห์ด้วย High performance liquid chromatography (HPLC) เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานหกชนิด คือ coumestrol daidzin daidzein genistin genistein และ puerarin เซลล์แขวนลอยของทั้งสองสายพันธุ์มีการสร้างสารกลุ่ม isoflavonoids 4 ชนิด คือ daidzin daidzein genistin และ genistein แต่ไม่พบ coumestrol และ puerarin ซึ่ง elicitors มีผลทำให้การสร้างสารกลุ่ม isoflavonoids เพิ่มขึ้นในเซลล์แขวนลอยของ *P. candollei* var. *mirifica* โดย PC-001 กระตุ้นให้มีการสร้าง isoflavonoids รวม เท่ากับ 3.25 ± 1.73 มิลลิกรัม ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง PC-004 เท่ากับ 2.81 ± 0.72 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และ PC-005 เท่ากับ 4.03 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (1.64 ± 0.16 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง) แต่อย่างไรก็ตามการสร้างสารกลุ่ม isoflavonoids ของเซลล์แขวนลอยของ *P. candollei* var. *candollei* ไม่ได้เพิ่มขึ้นหลังจากการถูกกระตุ้นด้วย elicitors ทั้งสามชนิด สำหรับ ในรากเพาะเลี้ยงกวางเครือขาว ขึ้นส่วนของพืชที่ถูกกระตุ้นให้สร้างรากเพาะเลี้ยงได้ดีที่สุดคือ ขึ้นส่วนยอด ซึ่งความถี่ในการสร้างรากเพาะเลี้ยงของ *P. candollei* var. *candollei* และใน *P. candollei* var. *mirifica* คือ 72.73% และ 100% ตามลำดับ

Abstract

Effect of elicitors on secondary metabolite production of *Pueraria candollei* var. *mirifica* and *P. candollei* var. *candollei* cell suspension and hairy root cultures

Chatkasem Pantajak

Project advisor: Sompop Prathanurug*

*Department of Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

Keyword: HPLC, Isoflavonoids, Plant biotechnology, Plant tissue culture

This investigation demonstrates the effects of three bacterial endophyte elicitors, PC-001 (*Rhizobium* sp.), PC-004 (*Rhizobium* sp.), and PC-005 (*Mesorhizobium* sp.), isolated from root nodules of *Pueraria candollei*, on secondary metabolite production of cell suspension culture of both varieties (*P. candollei* var. *mirifica* and *P. candollei* var. *candollei*). The produced isoflavonoids were analyzed by High performance liquid chromatography (HPLC), compared with six external standards (coumestrol, daidzin, daidzein, genistin, genistein and puerarin). The cell suspension culture of both varieties produced only four isoflavonoids, i.e. daidzin, daidzein, genistin and genistein, but not coumestrol and puerarin. The bacterial elicitors increased isoflavonoids production of *P. candollei* var. *mirifica* cell suspension culture. PC-001 induced total isoflavonoids to 3.25 ± 1.73 mg/g dry weight, PC-004 to 2.81 ± 0.72 mg/g dry weight, and PC-005 to 4.03 ± 0.01 mg/g dry weight, compared with the control group of 1.64 ± 0.16 mg/g dry weight. However, the isoflavonoids production of *P. candollei* var. *candollei* cell suspension culture did not increase after elicitation with three bacterial endophyte elicitors. For hairy root culture, the most suitable part of plant for hairy root induction was shoot explant. The frequencies of hairy root induction of *P. candollei* var. *candollei* and *P. candollei* var. *mirifica* were 72.73% and 100%, respectively.