บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย

การเลี้ยงเนื้อเยื่อระย่อมจากส่วนใบ ข้อ และปลายยอดมีปัญหาในการฆ่าเชื้อที่ผิด เนื่องจากมีเชื้อแบคทีเรียปนมา มีเพียงส่วนของปล้อง (internode) เท่านั้นที่ทำได้ง่ายกว่าและให้ผลดีเกือบร้อยเปอร์เซนต์ สูตรอาหารที่ชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีคือสูตร MSK นอกจากนี้ยังใช้เป็นอาหารสำหรับเพิ่มปริมาณแคลลัสได้ดีอีกด้วย (ตารางที่ 1) แคลลัสสามารถเจริญในสภาพได้รับแสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน จากหลอด Gro-lux ความเข้มแสง 1,500 lux ได้ดีกว่าสภาพมืดตลอด 24 ชั่วโมง โดยพิจารณาจากเปอร์เซนต์การเกิดแคลลัส(ตารางที่ 4) ดัชนีการเจริญเติบโตในสัปดาห์ที่ 5 จากนั้นจึงเริ่มลดลง แต่ในที่มืดการเจริญสูงสุดอยู่ที่สัปดาห์ที่ 6 (กราฟที่ 1,2 และตารางที่ 8-12) ดัชนีการเจริญเติบโตของกลุ่ม BW และ RW มีค่าสูงกว่ากลุ่มอื่น ส่วนกลุ่ม G มีค่าต่ำที่สุดโดยต่ำกว่ากลุ่ม BW และ RW ถึง 10 เท่า (กราฟ 1,2 และตารางที่ 13)

เมื่อศึกษาการแปรของแคลลัสทางสัณฐานวิทยาพบว่าแคลลัสมีลักษณะพื้นผิวแตกต่างกันสองแบบ แบบแรกมีลักษณะเนื้ออัดแน่นผิวขรุขระแบบ granular เรียกว่า compact callus ซึ่งแยกออกจากกันได้ยาก แบบที่สองแคลลัสมีเนื้อฟูอยู่กันหลวมๆ อาจจะอวบน้ำหรือไม่อวบน้ำก็ได้เรียกว่า loose callus ซึ่งสามารถแยกออกจากกันได้ง่าย เมื่อนำเซลล์ทั้งสองแบบไปเลี้ยงในรูปเซลล์แขวนลอย พบว่า compact callus มีเซลล์ลักษณะค่อนข้างกลม (isodiametric) มีแวคคูโอลน้อยแต่มีนิวเคลียสใหญ่ภายในมีคลอโรพลาสท์และผลึก ส่วนพวก loose callus มีเซลล์รูปร่างยาว (elongate) มีแวคคูโอลใหญ่ซึ่ง ได้แก่กลุ่มเซลล์สีขาวแกมน้ำตาล(BW) และสีขาวแกมเทา(GrW) เฉพาะกลุ่ม BW พบว่ามีเม็ดแป้งอยู่ในเซลล์เป็นจำนวนมาก แคลลัสที่เกิดในที่สว่างมีการแปรในด้านสีซึ่งสามารถแยกออกได้เป็นกลุ่มใหญ่ 5 กลุ่มคือ กลุ่มสีขาวแกมน้ำตาล(BW) กลุ่มสีเขียว(G) กลุ่มสีเขียวอ่อน(PG) กลุ่มสีเขียวแกมแดง(RG)

และกลุ่มสีขาวแกมแดง(RW)สำหรับกลุ่ม BW, RW และ RG นั้นเมื่อพยายามแยกเนื้อเยื่อสีน้ำตาลและสีแดงออกมาเลี้ยงเป็นอิสระพบว่าไม่สามารถเจริญโดยลำพังได้จำเป็นต้องอาศัยเนื้อเยื่อสีขาวหรือเขียวเจริญควบคู่กันไป สำหรับแคลลัสในที่มืดมีเพียงกลุ่มเดียวคือ สีขาวแกมเทา(GrW) (ภาพถ่ายที่ 7-27 ตามลำดับ)

ผลการศึกษาการแปรของแอลคาลอยด์จากแคลลัสที่แยกได้ทั้งหมด 37 สายพันธุ์ พบว่ามีเพียง 14 สายพันธุ์เท่านั้นที่มีแอลคาลอยด์โดยอาศัยเทคนิคการบดเซลล์ตามวิธีของ Ogino และคณะ(1978)สายพันธุ์ที่มีแอลคาลอยด์สูงสุด คือ RV1-RG RV2-RG และ RV6-RG ส่วนสายพันธุ์ที่มีแอลคาลอยด์รองลงมา คือ RV1-RW RV4-RG RV5-RG และRV7-RG สำหรับสายพันธุ์ที่พบปานกลางได้แก่ RV1-GrW RV2-GrW RV2-RW และ RV5-RW สายพันธุ์ที่พบแอลคาลอยด์บ้างคือRV3-GrW RV5-GrW และ RV6-GrW นอกนั้นไม่พบแอลคาลอยด์ ส่วนการศึกษาชนิดและปริมาณแอลคาลอยด์โดยวิธี Thin layer chromatography ต้องใช้ ปริมาณแคลลัสแห้งค่อนข้างมากจึงได้เลือกสกัดจากแคลลัสกลุ่ม RW และ GrW เกือบทั้งหมดซึ่งมีอัตราการเจริญดีกับสายพันธุ์ RV5-RG ซึ่งเป็นสายพันธุ์เดียวใน กลุ่ม RG ส่วนกลุ่ม BW ที่มีอัตราการเจริญสูงแต่ไม่พบแอลคาลอยด์จึงมิได้เลือกมาใช้ในการนี้ได้เปรียบเทียบกับชนิดแอลคาลอยด์ที่พบในรากซึ่งเจริญตามธรรมชาติ

ผลการวิเคราะห์ชนิดแอลคาลอยด์ในแคลลัสพบว่ารากทั้งสามสายพันธุ์ คือ RV1, RV2 และ RV5 มีแอลคาลอยด์หลายชนิดที่ทราบชนิดมี 3 อย่าง คือ ajmaline, rescinnamine และ yohimbine ส่วนแคลลัสสายพันธุ์ RV1-RW มีแอลคาลอยด์เพิ่มเติมจากรากอีก 1 ชนิด คือ corynanthine จึงรวมเป็น 4 ชนิด แคลลัสสายพันธุ์อื่นๆ ได้แก่ RV2-RW, RV5-RW, RV5-RG, RV1-GrW RV2-GrW และ RV5-GrW มีแอลคาลอยด์หลายชนิดเช่นกันที่ทราบชนิดมีเพียง 2 อย่าง คือ ajmaline และ yohimbine(ตารางที่ 23-28)ในด้านการวิเคราะห์ปริมาณสรุปว่าแอลคาลอยด์ในรากมีมากกว่าแคลลัสหลายเท่า (ตารางที่ 15, 29 และแผนภูมิที่ 6-9) รากพันธุ์ที่มีแอลคาลอยด์สูงสุดคือ RV1 ซึ่งสร้าง ajmaline ได้ถึง 0.19437% rescinnamine 0.1213% และ yohimbine 0.6867% แคลลัสสายพันธุ์ RV5-RG สร้าง ajmaline ได้สูงสุด คือ 0.5680% ส่วนสายพันธุ์ RV5-RW สามารถสร้าง yohimbine ได้มากที่สุด คือ 0.854% ส่วน corynanthine และ rescinnamine ที่พบใน RV1-RW ยังเป็นปริมาณที่ต่ำ

ประโยชน์ที่ได้จากการวิจัยครั้งนี้

1 ทราบลักษณะของเซลล์ที่ใช้เป็นเครื่องชี้บอก ในการคัดเลือกกลุ่มเซลล์ที่มีศักยภาพในการผลิตแอลคาลอยด์สูง

2 ทราบสูตรอาหารที่เหมาะแก่การชักนำและการเจริญของแคลลัสระย่อม

3 ทราบชนิดของแอลคาลอยด์หลักที่พบในรากระย่อมซึ่งเก็บจากแหล่งธรรมชาติต่างๆ และที่พบในแคลลัสจากการเลี้ยงเนื้อเยื่อ

4 พบแอลคาลอยด์หลัก (major alkaloid) อีก 2 ชนิด ซึ่งยังไม่มีผู้ใดเคยรายงานมาก่อนโดยการเลี้ยงเนื้อเยื่อระย่อม

5 ผลงานวิจัยช่วยยืนยันให้แน่ใจว่าในอนาคตมีโอกาสที่จะสร้างสายพันธุ์ระย่อมใหม่ที่มีแอลคาลอยด์สูง หรือสามารถสร้าง cell line ที่มีศักยภาพสูงในการผลิตแอลคาลอยด์จากหลอดแก้วซึ่งจะช่วยลดค่าใช้จ่ายและพื้นที่ในการปลูกพืชประเภทนี้ลงอย่างมาก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย