

บทที่ 4
อภิปรายผลการวิจัย

การอภิปรายผลการวิจัยจะกล่าวรวมในตอนที่ 1 และตอนที่ 2 โดยจะกล่าว
เป็นหัวข้อตามผลการทดลอง

1. การเจริญของแคลลัส

1.1 ระยะเวลาในการชักนำให้เกิดแคลลัส

เมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาในการชักนำให้เกิดแคลลัส 100 % ของ S. laciniatum ใน medium ต่าง ๆ จะสามารถสรุปรวมได้ดังนี้

ตาราง ก

medium ชั้นส่วนพืช	ระยะเวลาในการชักนำให้เกิดแคลลัส (สัปดาห์)					
	S.H. 1	M.S. 1	M.S. 1+ch. 300	M.S. 1+ch. 500	M.S. 1+ch. 700	M.S. 1+ch. 900
ใบ	2	2	3	3	3	2
ลำต้น	3	3	3	3	3	3
ราก	3	6	5	5	5	4

ลิขสิทธิ์ในหนังสือเรียน
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากตาราง ก เมื่อใช้ M.S.1 เป็นตัวเปรียบเทียบกับใน medium ชนิดต่าง ๆ จะพบว่าในใบ ปริมาณสาร cholesterol จะมีผลต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสช้าลง ยกเว้นใน medium ที่เติม cholesterol 900 มก./ล ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากว่าถ้าเติมปริมาณสาร cholesterol ลงในระดับที่พอเหมาะแก่ความต้องการของเนื้อเยื่อพืช จะทำให้มีการนำสารนั้นไปใช้ในกระบวนการ metabolism มีผลทำให้เซลล์มีการแบ่งตัวได้รวดเร็วจึงทำให้เกิดแคลลัสได้เร็วขึ้น แต่ถ้าใส่ในระดับที่ไม่พอเหมาะแก่ความต้องการหรือใส่ในปริมาณน้อยอาจไปทำให้สัดส่วนของฮอร์โมนและสัดส่วนธาตุอาหารต่าง ๆ ที่มีอยู่ใน medium เดิมเปลี่ยนแปลงไปจนไม่เหมาะสมกับการเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นทำให้เกิดแคลลัสได้ช้าลง แต่สำหรับในลำต้น สาร cholesterol ในปริมาณต่าง ๆ จะไม่มีผลต่อระยะเวลาในการชักนำให้เกิดแคลลัส อาจเป็นเพราะว่าเนื้อเยื่อส่วนลำต้นจะไม่มีการตอบสนองต่อสาร cholesterol เช่นเดียวกับในใบ ส่วนในราก สาร cholesterol ในปริมาณต่าง ๆ จะมีผลต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส 100 % ให้เร็วขึ้น รวมทั้งมีแนวโน้มว่า ถ้ายิ่งเพิ่มปริมาณสาร cholesterol ลงใน medium มากขึ้น จะชักนำให้รากเกิดแคลลัส 100 % ได้เร็วยิ่งขึ้น ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากสาเหตุที่กล่าวแล้วในข้างต้น และเมื่อเปรียบเทียบระหว่าง medium M.S.1 และ S.H.1 พบว่า medium S.H.1 จะชักนำรากให้เกิดแคลลัสได้เร็วกว่า ทั้งนี้อาจเป็นเพราะผลของความเข้มข้นของธาตุอาหารใน medium ทั้ง 2 ชนิดไม่เท่ากันคือ อัตราส่วนของ N:P:K:Ca:Mg ใน medium S.H.1 และ M.S.1 เท่ากับ 38.5 : 2.6 : 24.7 : 0.7 : 1.6 และ 60 : 1.3 : 20.1 : 3 : 1.5 ตามลำดับ และปริมาณธาตุอาหารที่เข้มข้นกว่า มีผลทำให้แคลลัสเกิดช้ากว่าในอาหารที่เจือจางกว่า หรืออาจเป็นไปได้ว่าระดับของ exogenous hormone คือ IAA ใน medium S.H.1 ที่เติมลงไปจะไม่ทำให้ระดับของ endogenous hormone ที่มีอยู่ในชิ้นส่วนของรากพอเหมาะกับการเกิดแคลลัสในช่วงแรกหลังจากเลี้ยงไปแล้ว 3 สัปดาห์ แต่ระดับของ exogenous hormone ที่มีระดับต่างกันอาหาร M.S.1 ต้องใช้เวลานานกว่าจะไปทำงานร่วมกับ endogenous hormone สำหรับการเกิดแคลลัส ส่วนการเปรียบเทียบระยะเวลาในการชักนำให้เกิดแคลลัส 100 % ของ *S. torvum* ใน medium ต่าง ๆ จะสามารถสรุปรวมได้ดังตาราง ข

ตาราง ๗

medium ชั้นส่วนพืช	ระยะเวลาในการชักนำให้เกิดคลลัส (สัปดาห์)					
	S.H.1	M.S.1	M.S.1+ch.300	M.S.1+ch.500	M.S.1+ch.700	M.S.1+ch.900
ใบ	3	3	3	3	2	2
ลำต้น	3	4	3	3	3	2
ราก	5	7	6	6	6	6

จากตาราง ๗ เมื่อใช้ M.S.1 เป็นตัวเปรียบเทียบเกี่ยวกับใน medium ชนิดต่าง ๆ จะพบว่าในใบปริมาณสาร cholesterol จะมีผลชักนำให้เกิดคลลัสเร็วขึ้น เห็นได้ใน medium ที่เติม cholesterol 700 และ 900 มก./ล ทั้งนี้สาเหตุได้กล่าวไว้แล้วในข้างต้น แต่สำหรับใบ ลำต้น และรากสาร cholesterol ในปริมาณต่าง ๆ จะมีผลต่อการชักนำให้เกิดคลลัส 100 % ได้เร็วขึ้น รวมทั้งมีแนวโน้มว่า ถ้ายิ่งเพิ่มปริมาณ cholesterol ลงใน medium มากจะชักนำให้เกิดคลลัส 100 % ได้เร็วขึ้น สาเหตุอาจเนื่องมาจากว่า medium M.S.1 ไม่เหมาะสมกับการเลี้ยงคลลัสของ *S. torvum* (อำพล, 2525) แต่เมื่อเติมปริมาณสาร cholesterol ในระดับต่าง ๆ มีผลชักนำให้เกิดคลลัสเร็วขึ้นเพราะ สารนี้ไม่มีผลต่อการแบ่งเซลล์ช่วยทำให้มีการแบ่งเซลล์มากขึ้น ทำให้เกิดคลลัสได้เร็วขึ้นซึ่งเป็นเหตุผลที่สอดคล้องกับที่กล่าวมาแล้ว จะเห็นได้ว่าเมื่อเปรียบเทียบระหว่าง M.S.1 กับ medium ที่เติม cholesterol พบว่า cholesterol มีแนวโน้มทำให้ระยะเวลาในการชักนำให้เกิดคลลัสเร็วขึ้นและพบว่า M.S.1 + ch.900 ให้ผลดีที่สุด และเมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาในการชักนำให้เกิดคลลัสในส่วนต่าง ๆ ของพืชจาก medium M.S.1+ ch.900 จะพบว่าใน *S. laciniatum* ใบจะเกิดเร็วที่สุด รองลงมาคือ ลำต้น และราก ตามลำดับ ส่วนใน *S. torvum* ใบและลำต้นเกิด

พร้อมกัน ส่วนรากจะเกิดช้ากว่าซึ่งคล้ายคลึงกับผลการทดลองของ Reinst และ Bajaj (1977) ที่กล่าวว่าชิ้นส่วนต่าง ๆ ของพืชจะมีความสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้เร็วหรือช้าแตกต่างกันไป และพบโดยทั่ว ๆ ไปว่า ใบสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้เร็วที่สุด

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างพืชทั้ง 2 ชนิด ใน medium M.S.1 + ch.900 พบว่าลำต้นของ *S. torvum* สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้เร็วกว่า ส่วนรากของ *S. laciniatum* สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้เร็วกว่า ระหว่าง S.H.1 กับ M.S.1 พบว่า S.H. 1 มีแนวโน้มในการชักนำให้เกิดแคลลัสเร็วกว่า M.S.1 ดังนั้นจึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจศึกษาต่อไปว่าถ้าจะได้ทำการทดลอง โดยเติม cholesterol ความเข้มข้นต่าง ๆ ลงใน S.H.1 จะให้ผลดีกว่า M.S.1 + cholesterol หรือไม่

1.2 ลักษณะของแคลลัส

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า ชิ้นส่วนของพืชที่ได้จากใบ ลำต้น และราก ใน medium ต่าง ๆ คือ S.H.1 M.S.1 M.S.1 + ch.300 M.S.1 + ch.500 M.S.1 + ch.700 และ M.S.1 + ch.900 ทั้งในพืช *S. laciniatum* และ *S. torvum* จะเกิดเป็นแคลลัสที่มีลักษณะไม่แตกต่างกัน โดยหลังจากเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของพืชนาน 1 สัปดาห์ พอเริ่มสัปดาห์ที่ 2 จะเกิดแคลลัสขึ้น โดยแคลลัสจะเกิดขึ้นตรงบริเวณรอยตัดของเนื้อเยื่อ และเจริญเพิ่มขนาดขึ้นเรื่อย ๆ โดยบริเวณรอยตัดของเนื้อเยื่อจะเกิด cell division และ cell expansion ทำให้เนื้อเยื่อมีการ เจริญเป็นแคลลัส แต่สำหรับในการทดลองพบว่าแคลลัสของ *S. laciniatum* และ *S. torvum* จะเจริญเต็มที่ เมื่ออายุ 8 สัปดาห์ โดยสังเกตได้ว่าแคลลัสเริ่มเกิดการ Browning ซึ่งสอดคล้องกับ Thomous และ Davey (1975) กล่าวว่าแคลลัสจะมีการเจริญในช่วงระยะเวลาหนึ่งคือ ประมาณ 2 สัปดาห์ ถึง 3 เดือน หลังจากนั้นแคลลัสจะหยุดการเจริญเติบโต แคลลัสที่ได้จากใบและลำต้นใน medium ต่าง ๆ นั้นในพืช *S. laciniatum* จะเหมือนกันหมดคือ มีสีเขียว-เหลือง ส่วนแคลลัสที่ได้จากใบ และลำต้นใน medium ต่าง ๆ ในพืช *S. torvum* จะมีสีเหลืองเหมือนกันหมด แต่ในรากทั้งในพืช *S. laciniatum* และ *S. torvum* จะมีสีเหลืองเหมือนกัน การที่แคลลัสที่เจริญมาจากเนื้อเยื่อมีสีเขียว

เนื่องมาจาก แคลลัสมีการสร้าง chlorophyll ซึ่งเป็นผลโดยตรงมาจาก cytokinin (Axelos and Peaud-Lenoel, 1980 อ้างโดยจุฬาลักษณ์, 2528) แต่เนื่องจากว่า medium ที่ใช้ในการศึกษาค้างนี้ทุก medium จะมี cytokinin ประกอบอยู่ก่อนที่จะได้ แคลลัสที่มีสีเขียวหมด แต่ในแคลลัสที่ได้จากพืช *S. torvum* จะไม่มีสีเขียวแม้แต่สีเหลือง นั้นอาจจะเนื่องมาจากเนื้อเยื่อของ *S. torvum* ที่นำมาเพาะเลี้ยงไม่มีการสร้าง cytokinin หรือมีการสร้างแต่ในปริมาณที่น้อยมาก ซึ่ง Axelos และ Peaud-Lenoel (1980) อ้างโดยจุฬาลักษณ์ (1980) รายงานว่า การที่แคลลัสมีสีเขียวขึ้นเพราะแคลลัสมีการสร้าง chlorophyll ซึ่งเป็นผลโดยตรงมาจาก cytokinin ซึ่งมีอยู่เดิมในเนื้อเยื่อ หรือที่เติมลงในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงซึ่งตรงกับรายงานของ (Staba, 1980) ลักษณะของแคลลัสที่ได้จากการวิจัยนี้จะมี 2 ลักษณะคือ แบบ friable ลักษณะแคลลัสจะพองฟูและอวบน้ำเป็นเกล็ด ๆ และแบบ compact ลักษณะค่อนข้างที่จะเกาะกันแน่นแข็ง แคลลัสที่ได้จากใบและรากของพืชทั้งสองใน medium S.H.1 แคลลัส compact มากกว่า friable แต่ใน medium M.S.1 แคลลัสจะเป็นแบบ friable มากกว่า compact ซึ่งเป็นผลมาจากใน medium S.H.1 จะมีปริมาณออกซินมากกว่าใน medium M.S.1 นั่นคือมี IAA เพิ่มเข้ามา 2 มก./ล ซึ่งออกซินถ้ามีมากจะมีผลทำให้แคลลัสมีลักษณะเป็นแบบ compact (อรดี, 2522) ส่วนในลำต้นทั้งใน medium M.S.1 และ S.H.1 แคลลัสจะเป็นแบบ friable มากกว่า compact ส่วนเมื่อ เติมน้ำสาร cholesterol ลงไปใน medium ต่าง ๆ นั้น ๆ พบว่าถ้าใส่ cholesterol ลงไปใน medium แคลลัสจะมีลักษณะเป็นแบบ compact สาเหตุที่เกิดขึ้นนี้อาจจะเนื่องมาจากอาหารที่ใช้เลี้ยงและสภาพของเนื้อเยื่อนั้น หรือชนิดของพืช Reinst และ Bajaj, 1977 ได้มีรายงานของ Thomous และ Davey (1975) พบว่าเมื่อเลี้ยง stem ของ *Cassava* แคลลัสที่ได้จะมีลักษณะเป็น friable แต่ถ้าเลี้ยงจาก basal disc ของ *Allium cepa* แคลลัสที่ได้จะมีลักษณะเป็น compact สำหรับ cholesterol นั้น อาจจะมีผลต่อกระบวนการ metabolism ในเซลล์ของพืชทั้งสอง ทำให้มีการสร้างเซลล์อย่างรวดเร็วและมากมายจึงทำให้แคลลัสค่อนข้างจะ compact มาก Mangold (1977) ได้รายงานว่าการประกอบของ medium ที่มี lipid ประกอบอยู่จะมีผลต่อ biosynthesis และ metabolites ของแคลลัสซึ่ง cholesterol ก็จัดเป็นไขมันพวกหนึ่ง นอกจากนี้ยังพบว่า พืชชนิดเดียวกัน อาจจะมีแคลลัสเป็นทั้ง friable และ compact ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอาหารที่ใช้เลี้ยง (คำบุญ, 2524)

1.3 การเปลี่ยนแปลงจากแคลลัสกลายเป็น root hair และ root

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า แคลลัสที่ได้จากใบและลำต้นของพืช S. laciniatum ใน medium ต่าง ๆ คือ S.H.1 M.S.1 M.S.1 + ch.300 M.S.1 + ch.500 M.S.1 + ch.700 และ M.S.1 + ch.900 สามารถที่จะเปลี่ยนแปลง (differentiate) กลายเป็น root hair และ root ได้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Kokate และ Radwan (1978) พบว่าแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยง seedling ของ S. khasianum ใน medium M.S. (1962) จะมีการเปลี่ยนแปลงกลายเป็นราก ส่วนในรากของ S. laciniatum และแคลลัสที่ได้จากใบ ลำต้น และรากของพืช S. torvum ใน medium ต่าง ๆ นั้น ไม่มีการเปลี่ยนแปลงกลายเป็น root hair และ root สาเหตุที่แคลลัสที่ได้จากพืช S. laciniatum มีการเปลี่ยนแปลงนี้เกิดขึ้นเนื่องจากอาหารสังเคราะห์ที่ใช้เลี้ยงแคลลัสของ S. laciniatum คือ M.S.1 และ S.H.1 เหมาะสมกับการเจริญของแคลลัส (Kokate และ Radwan, 1978 และ Nikosyan และ Fedorava, 1981) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับ สัดส่วนของ hormone คือ ความสมดุลของ ปริมาณ auxin และ cytokinin (ในการทดลองนี้จะใช้ 2,4-D เป็น auxin และ kinetin เป็น cytokinin) ที่ใส่ลงไปใน อาหารสังเคราะห์มีบทบาทอย่างมากต่อ ขบวนการ morphogenesis ในการเกิดเป็นหน่อ หรือราก หรืออวัยวะอื่น ๆ ถ้าสัดส่วน ของ auxin กับ cytokinin เหมาะสมที่จะเปลี่ยน แปลงเป็นราก แคลลัสก็จะมีการ เปลี่ยนแปลงกลายเป็นราก แต่ถ้าสัดส่วนไม่เหมาะสมที่จะเปลี่ยนแปลงเป็นรากแคลลัสก็จะ ไม่เปลี่ยนแปลงเป็นราก (Evans และคณะ, 1983) โดยทั่วไปแล้วถ้าสัดส่วนของ cytokinin มีมากกว่า auxin ก็จะเปลี่ยนแปลงกลายเป็นหน่อ แต่ถ้าสัดส่วนของ auxin มีมากกว่า cytokinin ก็จะเปลี่ยนแปลงกลายเป็นราก ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารและ ชนิดของพืช (Reinest และ Bajaj, 1977) นอกจากขึ้นกับสัดส่วน auxin กับ cytokinin แล้วยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่น ๆ เช่น แหล่งเนื้อเยื่อนำมาใช้ สรีรวิทยาของ อายุพืชที่นำมาใช้ เช่น แคลลัสที่ได้จากใบของ Echeveria ขณะที่ใบยังอ่อนอยู่จะชักนำให้ เกิดราก แต่ถ้าใบแก่จะชักนำให้เกิดหน่อ และ buds (Raju และ Mann, 1970 อ้าง โดย Reinest และ Bajaj, 1977) นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับปริมาณออกซิเจนในเนื้อเยื่อ

และความเข้มข้นของแสง (Yeoman และ Aitchison, 1973) สำหรับในการทดลองนี้สาเหตุที่ทำให้เปลี่ยนแปลงกลายเป็นรากคงจะเนื่องมาจากปริมาณความสมดุลของ auxin กับ cytokinin โดยในสูตรอาหาร M.S.1 จะมี 2,4-D ต่อ kinetin 1:25 และในสูตรอาหาร S.H.1 1:5 จะเห็นว่า auxin (2,4-D) มีมากกว่า cytokinin (kinetin) ขั้นตอนในการเปลี่ยนแปลงกลายเป็น root นี้ จะเริ่มเปลี่ยนแปลงเป็น root hair ก่อน ในกรณีที่ root hair เจริญลงไปในอาหารก็จะเปลี่ยนแปลงกลายเป็น root แต่ถ้าในกรณีที่ root hair ไม่เจริญลงไปในอาหารก็จะกลายเป็น root hair ตลอดไป สาเหตุที่เกิดขึ้นเนื่องมาจากปริมาณออกซิเจน (oxygen gradient) ในอาหารเพาะเลี้ยงโดยถ้า root hair อยู่ในสภาพออกซิเจนน้อย (เจริญลงไปในอาหาร) ก็จะเปลี่ยนเป็น root แต่ถ้าอยู่ในสภาพที่มีออกซิเจนมากก็จะเป็น root hair ตลอดไป (Reinest และ Bajaj, 1977) สำหรับในพืช *S. torvum* แคลลัสจะไม่มีการเปลี่ยนแปลงกลายเป็น root hair และ root อาจจะเนื่องจากอาหารที่ใช้เลี้ยงไม่เหมาะสมกับการที่แคลลัสจะเปลี่ยนแปลงกลายเป็น root hair และ root ดังได้กล่าวแล้วข้างต้น นอกจากนี้พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของ cholesterol มากเท่าไรจะทำให้เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงกลายเป็น root hair และ root น้อยลงเท่านั้น โดยใน medium M.S.1 แคลลัสที่ได้จากใบและลำต้นจะมีการเปลี่ยนแปลงเป็น root hair และ root มากที่สุด รองลงมาคือ M.S.1 + ch.300 500 700 และน้อยที่สุดคือ M.S.1 + ch.900 ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากว่า cholesterol อาจจะมีผลกระทบต่อการเคลื่อนที่ของ auxin กับ cytokinin หรืออาจจะส่งผลทำให้แคลลัสมีลักษณะ compact มากขึ้น (ดังกล่าวแล้วข้างต้น) จึงทำให้เซลล์เกาะกันแน่น โอกาสที่จะเปลี่ยนแปลงกลายเป็น root hair และ root น้อย จึงนับว่าอาจจะมียุทธศาสตร์สำหรับการทดลองนี้เพาะการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อการผลิตสารนั้นโดยทั่วไปมักจะหลีกเลี่ยงขบวนการเกิด organogenesis เพราะขบวนการดังกล่าวนี้จะมีผลรบกวน metabolism ของการผลิตสารได้เช่น การผลิตสาร alkaloids choline ในพืช *Medicago sativa* จะลดน้อยลงเมื่อแคลลัสมีการเปลี่ยนแปลงกลายเป็นราก (Sethi และ Larew, 1974)

1.4 ปริมาณน้ำพักสดของแคลลัส

จากผลการทดลองเมื่อนำค่าเฉลี่ยของน้ำพักสดของแคลลัสจากพืชทั้ง 2 ในทุก **medium** คือ S.H.1 M.S.1 M.S.1 + ch.30 500 700 และ 900 ในทุกส่วนของพืชที่ระยะเวลาต่าง ๆ คือ 4 6 และ 8 สัปดาห์ ไปวิเคราะห์ค่าแนวเวียนพบว่า ปัจจัยต่าง ๆ จะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ 99 % ไม่ว่าจะเป็นพันธุ์ของพืช อายุของแคลลัส ส่วนของพืช และ **medium** ต่าง ๆ นอกจากนี้ปฏิกริยาสัมพันธ์ (interaction) 2 และ 3 interaction ยังมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ 99 % และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำพักสดระหว่างแคลลัสใน **medium** ต่าง ๆ ของ S. lacinatum เมื่อแคลลัสมีอายุเท่ากันจะสามารถสรุปรวมได้ดังตาราง ค

ตาราง ค

เวลา-medium ชิ้นส่วนพืช	4 สัปดาห์				6 สัปดาห์				8 สัปดาห์			
	S.H.1	M.S.1	+300	+500	+700	+900	S.H.1	M.S.1	+300	+500	+700	+900
ใบ	a	a	a	a	a	a	b	b	b	ab	a	(2.36) a
ลำต้น	a	a	a	a	a	a	c	c	bc	b	a	(2.62) a
ราก	a	a	a	a	a	a	a	a	c	c	a	(1.11) a

หมายเหตุ :-

a = น้ำหนักมากที่สุด

b,c = น้ำหนักลดลงมา ตามลำดับ

+300 = M.S.1 + ch.300

+500 = M.S.1 + ch.500

+700 = M.S.1 + ch.700

+900 = M.S.1 + ch.900

จากตาราง ค เมื่อเปรียบเทียบเฉพาะแนวนอนในแต่ละอายุของพืช พบว่าเมื่อแคลลัสอายุ 4 สัปดาห์ แคลลัสที่ได้จากใบ ลำต้น และรากในทุก medium จะให้น้ำหนักสดไม่แตกต่างกันทางสถิติ ทั้งนี้อาจจะเป็นเนื่องจากแคลลัสหนึ่งจะมีการเจริญเติบโต โดยเนื่องจากว่าชิ้นส่วนของพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงจะมีอายุใกล้เคียงกัน เซลล์จึงตอบสนอง ต่ออาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเท่า ๆ กัน ทำให้มีการแบ่งเซลล์ และเจริญอยู่ในระดับใกล้เคียงกันเมื่อแคลลัสอายุ 6 สัปดาห์ cholesterol เริ่มมีผลทำให้น้ำหนักสดของแคลลัส จากใบและลำต้นมีมากขึ้น ส่วนแคลลัสที่ได้จากรากนั้นพบว่าน้ำหนักสดของแคลลัสไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากว่าชิ้นส่วนของรากมีขนาดเล็กมากทำให้มีอัตราการเจริญน้อย ถึงแม้เลี้ยงใน medium ต่างกันและเมื่อแคลลัสอายุ 8 สัปดาห์ ผลของ cholesterol จะแสดงให้เห็นชัดเจนยิ่งขึ้นทั้งในใบและลำต้น พบว่ายิ่งปริมาณของ cholesterol เพิ่มขึ้นจะทำให้ให้น้ำหนักสดของแคลลัสเพิ่มมากขึ้น ส่วนในรากมีแนวโน้มว่า cholesterol ทำให้น้ำหนักสดของแคลลัสเพิ่มมากขึ้นเช่นเดียวกัน จึงกล่าวได้ว่า cholesterol จะมี ผลต่อการเจริญ (น้ำหนักสด) ของแคลลัส ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในกระบวนการสร้างและ แบ่งเซลล์เพื่อให้เกิดแคลลัสนั้นเกิดมาจากกระบวนการ metabolism ภายในเซลล์ โดยปกติ แล้วเซลล์ของพืชก็มีการสร้าง cholesterol อยู่แล้วโดยเปลี่ยนจาก acetate มาเป็น cholesterol ดังภาพที่ 3 หลังจากนั้นจะมีการใช้ cholesterol ในการเจริญของ แคลลัส ถ้าใส่ cholesterol มากขึ้น จึงมีผลต่อการเจริญของแคลลัส (Armstrong, 1979) แต่สำหรับในรากพบว่าใน medium M.S.1 + ch.300 จะมีน้ำหนักสดของแคลลัส มากที่สุดนั้น อาจเนื่องมาจากว่าชิ้นส่วนของรากมีขนาดเล็กมากเมื่อเปรียบเทียบกับใบและ ลำต้น ถ้าใส่ cholesterol ในปริมาณที่มากทำให้มีปริมาณ cholesterol มากเกิน ความต้องการอาจจะไปยับยั้งการแบ่งเซลล์ได้ แต่ถ้าใส่ในปริมาณน้อยเพียงพอกับความ ต้องการของเนื้อเยื่อจะทำให้เนื้อเยื่อสามารถนำไปใช้ในกระบวนการแบ่งเซลล์ได้ ทำให้มี น้ำหนักแคลลัสมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง medium M.S.1 และ S.H.1 พบว่า น้ำหนักสดของแคลลัสที่ได้จาก medium ทั้งสองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งสอดคล้อง กับรายงานของ Nikosyan และ Fedorava (1981) พบว่าชิ้นส่วนของพืช *S. laci-niatum* สามารถเจริญเป็นแคลลัสได้ดีสุดเมื่อเลี้ยงใน medium M.S.1 ส่วน Uddin และ

และคณะ (1979) พบว่าชิ้นส่วนของพืช S. kahasianum สามารถเจริญเป็นแคลลัสได้ดีสุดเมื่อเลี้ยงใน medium S.H.1 และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างส่วนของพืชเมื่อแคลลัสอายุ 8 สัปดาห์ ใน medium M.S.1 + ch.900 แคลลัสที่ได้จากส่วนต่าง ๆ จะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตาราง 21) แคลลัสที่ได้จากลำต้นจะให้น้ำหนักสดของแคลลัสมากที่สุด รองลงมา คือ จากใบและราก ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Baylis (1966) พบว่าแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงลำต้นของ S. avicular และ S. laciniatum จะมีการเจริญได้ดีกว่าแคลลัสที่ได้จากใบและข้อ สำหรับใน S. torvum เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดระหว่างแคลลัสใน medium ต่าง ๆ เมื่อแคลลัสมีอายุเท่ากันในแต่ละส่วนของพืชจะสรุปได้ดังตาราง ง

ตาราง ง

เวลา-medium กับส่วนพืช	4 สัปดาห์					6 สัปดาห์					8 สัปดาห์							
	S.H.1	M.S.1	+300	+500	+700	+900	S.H.1	M.S.1	+300	+500	+700	+900	S.H.1	M.S.1	+300	+500	+700	+900
ใบ	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	(0.87) a
ลำต้น	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	bc	c	b	ab	(1.03) a
ราก	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	(0.12) a

หมายเหตุ :- a = น้ำหนักมากที่สุด b,c = น้ำหนักรองลงมา ตามลำดับ
+300 = M.S.1 + ch.300 +500 = M.S.1 + ch.500 +700 = M.S.1 + ch.700 +900 = M.S.1 + ch.900

จากตาราง ง เปรียบเทียบเฉพาะแนวนอนในแต่ละอายุของพืชพบว่าเมื่อ แคลลัสอายุ 4 และ 6 สัปดาห์ แคลลัสที่ได้จากใบ ลำต้น และราก ในทุก medium จะให้น้ำหนักสดไม่แตกต่างกันทางสถิติ ทั้งนี้เนื่องจากสาเหตุที่กล่าวมาแล้วข้างต้นอาจเป็นไปได้ว่า เนื่องจาก medium M.S. (1962) ไม่เหมาะสมกับการเจริญเป็นแคลลัสของชิ้นส่วนของ *S. torvum* ดังมีรายงานที่ใกล้เคียงของ อัมพล (2525) พบว่าบนอาหารสูตร M.S. (1962) เรณูของมะเขือแฉะ มะเขือยาวจะสามารถเจริญเป็นแอฟลอยด์แคลลัสได้ ในขณะที่เรณูของมะเขือพวง (*S. torvum*) ไม่มีการเจริญเป็นแอฟลอยด์แคลลัส เมื่อ medium ไม่เหมาะสมเท่าที่ควร การใส่ cholesterol ในปริมาณต่าง ๆ ก็น่าจะไม่มีผลมากนักต่อการเจริญของแคลลัส แต่เมื่อแคลลัสอายุ 8 สัปดาห์ cholesterol จะแสดงผลให้เห็นในแคลลัสที่ได้จากลำต้นโดยมีการเจริญดีที่สุด ใน medium ที่มี cholesterol 900 มก./ล และเมื่อเปรียบเทียบระหว่าง medium M.S.1 และ S.H.1 พบว่าน้ำหนักสดของแคลลัสที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเช่นเดียวกับ *S. laciniatum* เมื่อเปรียบเทียบระหว่างส่วนของพืชเมื่อแคลลัสอายุ 8 สัปดาห์ ใน medium M.S.1 + ch.900 พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 21) คือ แคลลัสที่ได้จากลำต้นจะเจริญได้ดีที่สุด รองลงมาคือ จากใบและราก ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างพืชทั้ง 2 ชนิด เมื่อแคลลัสอายุ 8 สัปดาห์ ใน medium M.S.1 + ch.900 พบว่าแคลลัสจาก *S. laciniatum* จะให้น้ำหนักสดมากกว่าแคลลัสจาก *S. torvum* อย่างมีนัยสำคัญทั้งในใบ ลำต้น และราก (ตารางที่ 22) ทั้งนี้คงเนื่องมาจากสูตรอาหารที่ใช้จะเหมาะกับการเจริญของเนื้อเยื่อ *S. laciniatum* มากกว่า

1.5 ปริมาณน้ำหนักแห้งของแคลลัส

จากผลการทดลองเมื่อนำค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งของแคลลัสในทุก medium คือ S.H.1 M.S.1 M.S.1 + ch.300 500 700 และ 900 ในทุกส่วนของพืชที่ระยะเวลาต่าง ๆ 4 6 และ 8 สัปดาห์ ไปวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยพบว่าปัจจัยต่าง ๆ จะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ 95 และ 99 % ไม่ว่าจะเป็นพันธุ์พืช อายุของแคลลัส ส่วนของพืช และ medium ต่าง ๆ นอกจากนั้นปฏิกริยาสัมพันธ์ (interaction) 2 และ 3 interaction ยังมีความแตกต่างกับทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ 90 % อีกด้วย เช่นเดียวกับในน้ำหนักสด และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งระหว่างแคลลัสใน medium ต่าง ๆ ของ *S. laciniatum* เมื่อแคลลัสมีอายุเท่ากันจะสามารถสรุปรวมได้ดังตาราง จ

ตาราง ๑

เวลา-medium วันส่วนพืช	4 สัปดาห์				6 สัปดาห์				8 สัปดาห์			
	S.H.1	M.S.1	+300	+500	+700	+900	S.H.1	M.S.1	+300	+500	+700	+900
ใบ	b	b	b	b	a	b	c	c	c	c	b	(0.163) a
ลำต้น	a	a	a	a	a	a	c	c	bc	b	a	(0.158) a
ราก	a	a	a	a	a	a	b	ab	a	c	d	(0.092) b

หมายเหตุ :- a = น้ำหนักมากที่สุด

b_dd = น้ำหนักรองลงมา ตามลำดับ

+300 = M.S.1 + ch.300

+500 = M.S.1 + ch.500

+700 = M.S.1 + ch.700

+900 = M.S.1 + ch.900

จากตาราง จ เปรียบเทียบเฉพาะแนวนอนในแต่ละอายุของฟิช พบว่าเมื่อ แคลล์สอายุ 4 สัปดาห์ แคลล์สที่ได้จากลำต้นและราก ในทุก medium จะให้น้ำหนักแห้งไม่แตกต่างกันทางสถิติ สาเหตุที่เป็นเช่นนี้ได้กล่าวแล้วในหัวข้อน้ำหนักสด ส่วนแคลล์สที่ได้จากใบ cholesterol มีผลทำให้มีน้ำหนักแห้งมากขึ้น จะเห็นได้ว่าค่าของน้ำหนักสดของแคลล์สกับน้ำหนักแห้งของแคลล์สจะไม่สัมพันธ์กันทั้งหมด ซึ่งตามทฤษฎีควรจะแปรผันตามกัน ทั้งนี้อาจเกิดเนื่องมาจากภาวะที่ซึ่งน้ำหนักสดของแคลล์สนั้น แคลล์สที่ได้มี 2 แบบคือ แบบ friable ซึ่งอวบน้ำมีน้ำอยู่ในแคลล์สมาก แต่แบบ compact จะไม่อวบน้ำ ทำให้แคลล์สที่เป็นแบบ friable มีน้ำหนักมากกว่า แต่เมื่อนำมาอบแห้งแล้วน้ำถูกทำให้ระเหยออกหมดเนื้อของแคลล์สจริง ๆ จึงมีน้อยกว่าแบบ compact ด้วยเหตุนี้จึงทำให้ค่าน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งไม่สัมพันธ์กันในทุกกรณี เมื่อแคลล์สอายุ 6 และ 8 สัปดาห์ cholesterol มีผลทำให้น้ำหนักแห้งของแคลล์สเพิ่มขึ้น ยิ่งปริมาณของ cholesterol มากขึ้นจะทำให้มีน้ำหนักแห้งของแคลล์สเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับในน้ำหนักสด สาเหตุคาดว่า เช่นเดียวกับที่กล่าวแล้วในหัวข้อน้ำหนักสด แต่สำหรับในรากพบว่าใน medium M.S.1 + ch.300 จะมีน้ำหนักแห้งของแคลล์สมากที่สุด เช่นเดียวกับน้ำหนักสด เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง medium M.S.1 และ S.H.1 พบว่าน้ำหนักแห้งของแคลล์สที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิตินั้น แสดงว่า medium ทั้ง 2 มีผลทำให้แคลล์สเจริญได้ดีเท่ากัน และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างส่วนของฟิชเมื่อแคลล์สอายุ 8 สัปดาห์ พบว่าแคลล์สที่ได้จากใบ และ ลำต้นจะให้น้ำหนักแห้งของแคลล์สมากที่สุด รองลงมาคือ ราก (ตารางที่ 27) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากว่า cholesterol ที่ใส่ลงไปในอาหารจะมีผลต่อเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยง โดยทำให้เนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงมีกระบวนการ metabolism ของเซลล์ได้สาร intermediate เช่น acetyl Co.A ออกมา เนื้อเยื่อแต่ละส่วนของฟิชจะมีเซลล์แตกต่างด้วยจำนวนแตกต่างกันทำให้ได้สาร intermediate ในปริมาณแตกต่างกันซึ่งสาร intermediate นี้จะนำไปใช้ในการเจริญ จึงทำให้แต่ละส่วนของฟิชมีการเจริญของแคลล์สมาก-น้อยต่างกัน ขึ้นอยู่กับว่าเนื้อเยื่อส่วนใดจะสร้างสาร intermediate มากน้อยเท่าไร ใน *S. torvum* เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งระหว่างแคลล์สใน medium ต่าง ๆ เมื่อแคลล์สมีอายุเท่ากัน สรุปรวมได้ดังตาราง จ

ตาราง ๘

เวลา-medium ชั้นส่วนพืช	4 สัปดาห์					6 สัปดาห์					8 สัปดาห์							
	S.H.1	M.S.1	+300	+500	+700	+900	S.H.1	M.S.1	+300	+500	+700	+900	S.H.1	M.S.1	+300	+500	+700	+900
ใบ	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	(0.057) a
ลำต้น	b	b	b	b	a	b	a	a	a	a	a	a	c	c	c	d	b	(0.067) a
ราก	a	a	a	a	a	a	a	b	b	b	b	b	a	b	b	b	b	(0.006) b

หมายเหตุ :- a = น้ำหนักมากที่สุด b,d,f = น้ำหนักของลงมา ตามลำดับ
 +300 = M.S.1 + ch.300 +500 = M.S.1 + ch.500 +700 = M.S.1 + ch.700 +900 = M.S.1 + ch.900

จากตาราง จ. เปรียบเทียบเฉพาะแนวนอนในแต่ละอายุของพืชพบว่าเมื่อ แคลลัสอายุ 4 6 และ 8 สัปดาห์ แคลลัสที่ได้จากใบและรากในทุก medium จะให้น้ำหนักแห้งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนเมื่อแคลลัสอายุ 4 และ 8 สัปดาห์ แคลลัสที่ได้จาก ลำต้นนั้น cholesterol จะไม่มีผลทำให้มีน้ำหนักแห้งของแคลลัสมากขึ้น แต่เมื่อแคลลัส อายุ 6 สัปดาห์ ในแต่ละ medium ไม่แตกต่างกับสถิตินั้น สาเหตุอาจเกิดเนื่องมาจากข้อ ผิดพลาดในการทดลองเช่น ในขณะที่ชั่งน้ำหนักแคลลัส หรือขนาดของชิ้นส่วนพืชที่นำไปเพาะ เลี้ยงบน แคลลัสต่าง ๆ ไม่สม่ำเสมอ เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง medium M.S.1 และ S.H.1 พบว่าน้ำหนักแห้งของแคลลัสที่ได้ส่วนใหญ่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ยก เว้นแคลลัสที่ได้จากรากเมื่ออายุ 6 และ 8 สัปดาห์ โดยพบว่าใน medium S.H.1 จะ มีน้ำหนักแห้งของแคลลัสมากกว่าใน M.S.1 ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากว่าเนื้อเยื่อส่วนของ รากมีการตอบสนองต่อ medium S.H.1 ได้ดีกว่า medium M.S.1 และเมื่อเปรียบเทียบ ระหว่างส่วนของ พืชเมื่อแคลลัสอายุ 8 สัปดาห์ ใน medium M.S.1 + ch.900 พบว่า แคลลัสที่ได้จาก ลำต้นจะเจริญได้ดีที่สุด รองลงมาคือ จากใบและราก ตามลำดับ (ตารางที่ 29)

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างพืชทั้ง 2 ชนิดเมื่อแคลลัสอายุ 8 สัปดาห์ ใน medium M.S.1 + ch.900 พบว่าแคลลัสจาก *S. laciniatum* จะให้น้ำหนักแห้งของ แคลลัสทั้งจากใบ ลำต้น และรากมากกว่าแคลลัสจาก *S. torvum* คาดว่าสาเหตุคงเป็น เช่นที่กล่าวแล้วในหัวข้อน้ำหนักสด

2. ปริมาณสาร solasodine

จากผลการทดลองเมื่อนำปริมาณสาร solasodine เป็นเปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักของแคลลัสในทุก medium คือ S.H.1 M.S.1 M.S.1 + ch.300 500 700 และ 900 ไปวิเคราะห์ค่าแนวเวียนซ์ พบว่าปัจจัยต่าง ๆ จะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ 99 % ไม่ว่าจะเป็นพันธุ์พืช อายุของแคลลัส ส่วนของพืช และ medium ต่าง ๆ นอกจากนั้น ปฏิกริยาสัมพันธ์ (interaction) 2 3 และ 4 interaction ยังมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ 99 % อีกด้วย เมื่อพิจารณาปริมาณสาร solasodine เป็นเปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้งของแคลลัสที่ได้จากส่วนต่าง ๆ ของพืช *S. laciniatum* พบว่าทุกส่วนของพืช เมื่อนำมาเลี้ยงให้เกิดแคลลัสแล้วสามารถผลิตสาร solasodine ได้

ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Khanna และคณะ (1976) พบว่าเมื่อนำพืช S. khasianum S. laciniatum และ S. nigrum มาเพาะเลี้ยงให้เกิดแคลส แคลสของพืชทั้งสามสามารถผลิตสาร solasodine ได้ และรายงานของ Chandler และ Dodds (1983) พบว่าแคลสที่ได้จากต้นกล้าในส่วนยอดของใบของพืช S. laciniatum สามารถผลิตสาร solasodine ได้และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณสาร solasodine ระหว่างแคลสใน medium ต่าง ๆ ของ S. laciniatum สรุปรวมได้ดังตาราง ข

ตาราง ๗

ส่วนของพืช-medium อายุ(สัปดาห์)	ใบ					ลำต้น					ราก				
	S.H.1	M.S.1	+300	+500	+900	S.H.1	M.S.1	+300	+500	+900	S.H.1	M.S.1	+300	+500	+900
4	g	g	g	ef	d	h	h	fg	ef	cd	f	g	f	g	f
6	ef	e	cd	cd	b	e	e	cd	c	a	e	de	c	bc	(0.120) a
8	f	ef	d	d	c	g	fg	de	d	b	d	d	cd	cd	(0.127) b

หมายเหตุ :- a = มีค่าสูงสุด b-g = ลดน้อยลง ตามลำดับ

+300 = M.S.1 + ch.300 +500 = M.S.1 + ch.500 +700 = M.S.1 + ch.700 +900 = M.S.1 + ch.900

จากตาราง ข เปรียบเทียบตลอดทั้งแนวนอนและแนวตั้งภายในแต่ละส่วนของพืช พบว่าแคลลัสที่ได้จากใบและลำต้นใน medium ที่เติมสาร cholesterol นั้นยิ่งเติมสาร cholesterol ลงใน medium มากเท่าใด แคลลัสจะผลิตสาร solasodine มากยิ่งขึ้นเท่านั้น ไม่ว่าแคลลัสจะมีอายุ 4 6 หรือ 8 สัปดาห์ สำหรับ medium M.S.1 + ch.900 ให้ผลดีที่สุดคือ ชักนำให้แคลลัสที่ได้จากใบและลำต้นผลิตสาร solasodine ปริมาณมากที่สุดเมื่ออายุ 6 สัปดาห์ โดยผลิตได้ 0.155 และ 0.173 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้งของแคลลัส ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสาร solasodine ที่ได้จากแคลลัสใน medium S.H.1 และ M.S.1 พบว่าแคลลัสที่ได้จาก medium ทั้ง 2 จะผลิตสาร solasodine ไม่แตกต่างกัน ไม่ว่าจะเป็นแคลลัสที่ได้จากใบหรือลำต้น ดังนั้นแสดงให้เห็นว่านอกจาก cholesterol มีผลต่อการเจริญของแคลลัสแล้ว cholesterol ยังมีส่วนต่อการสร้างสาร solasodine ในแคลลัสอีกด้วยโดยยังมีความเข้มข้นของ cholesterol มากเท่าใดจะทำให้แคลลัสมีการผลิตสาร solasodine มากขึ้นเท่านั้น ทั้งนี้คาดว่าเนื่องจาก cholesterol ซึ่งโดยธรรมชาติพืชสร้างขึ้นเองจำนวนหนึ่ง (Hosada และ Yatazawa, 1979) นั้นเป็นสารตั้งต้น (precursor) ในการผลิตสาร solasodine ดังนั้นเมื่อใส่ cholesterol เพิ่มลงไปใน medium ทำให้เซลล์พืชมีสารตั้งต้นเพิ่มมากขึ้น เมื่อนำไปใช้ในกระบวนการ metabolism ผลสุดท้ายจึงสามารถเปลี่ยนเป็น solasodine ได้ปริมาณมากขึ้น Ahmed และคณะ (1977) พบว่าพวกสาร cholesterol, campesterol, stigmasterol, β -sitosterol และ sterol อื่น ๆ (α -spinasterol) จะพบในพืช *S. laciniatum* cholesterol ที่พืชสร้างขึ้นจะถูกเปลี่ยนแปลงโดยกระบวนการ metabolism ผลผลิตสุดท้ายกลายเป็นสาร solasodine ดังแสดงในภาพที่ 5 รายงานดังกล่าวถูกสนับสนุนโดย Tschesche และ Spindler (1978) ซึ่งพบว่า $16^3\text{-H}_2\text{-(223:25R)-22, 26-epimino-cholest-5-en-3}\beta\text{-ol(25-isodihydro-veazine)}$ และ $72^3\text{-H-1225 ; 25R)-22, 26-epimino-cholest-5-en-3}\beta\text{-16-diol}$ เป็นประโยชน์แก่ *S. laciniatum* ในการเปลี่ยนให้เป็น soladulcidine และ solasodine สำหรับในรากพบว่าใน medium ที่เติม cholesterol จะแสดงผลเช่นเดียวกับใบและลำต้น โดยยิ่งเติมปริมาณสาร cholesterol มากเท่าไรจะทำให้แคลลัสมีการผลิต solasodine มากเท่านั้น แคลลัสที่ใส่ปริมาณสาร solasodine มากที่สุดคือ

แคลลัสที่เจริญบน *medium* M.S.1 + ch.900 และ M.S.1 + ch.700 เมื่ออายุ 6 สัปดาห์ โดยให้ปริมาณสาร 0.127 และ 0.120 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้งของแคลลัสตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสาร solasodine ที่ได้จากแคลลัสใน *medium* S.H.1 และ M.S.1 พบว่ามีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย และเมื่อเปรียบเทียบส่วนต่าง ๆ ของพืชพบว่าแคลลัสที่ได้จากใบและลำต้น *S. laciniatum* เมื่ออายุ 6 สัปดาห์ ใน *medium* M.S.1 + ch.900 จะให้ปริมาณสาร solasodine มากที่สุด (ตาราง 35) เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานของ Khanna และ Manot (1976) ซึ่งได้ทำการทดลองเพาะเลี้ยงแคลลัสของ *S. xanthocarpum* ใน M.S.1962 *medium* ที่เติม cholesterol 100 300 500 700 และ 900 มก./ล โดยเลี้ยงนาน 2 4 6 สัปดาห์ และพบว่า *medium* ที่เติม cholesterol 700 มก./ล เลี้ยงนาน 6 สัปดาห์ จะผลิตสาร solasodine ได้มากที่สุดคือ ประมาณ 0.068 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งจะเห็นได้ว่าปริมาณสาร solasodine ที่ได้จากการวิจัยนี้มีปริมาณมากกว่า งานของ Khanna และ Manot ซึ่งพบใน *S. xanthocarpum* อาจเป็นเพราะ *S. xanthocarpum* ในธรรมชาติจะผลิตสาร solasodine ได้น้อยกว่า *S. laciniatum* (Hawkes และคณะ, 1979) อย่างไรก็ตามผลของ cholesterol ต่อปริมาณสาร solasodine และอายุของแคลลัสเมื่อผลิตปริมาณสาร solasodine สูงสุดใน *S. xanthocarpum* จากผลงานของ Khanna และ Manot (1976) ได้ช่วยสนับสนุนผลการวิจัยนี้

สำหรับแคลลัสที่ไม่ได้เติมสาร cholesterol คือใน *medium* M.S.1 แคลลัสที่ได้จากลำต้น เมื่ออายุ 6 สัปดาห์ จะผลิตสาร solasodine ได้ 0.075% ต่อน้ำหนักแห้งของแคลลัสซึ่งคล้ายคลึงกับผลงานของ Nikosyan และ Fedorava (1981) ที่พบว่าแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงลำต้นของต้นกล้าของในพืช *S. laciniatum* ที่เลี้ยงในอาหาร M.S.1962 ที่มีส่วนประกอบ 2,4-D เท่ากับ 1-2 มก./ล จะเจริญได้ดี และมีการผลิตสาร solasodine 0.062 % ต่อน้ำหนักแห้งของแคลลัส

สำหรับใน *S. torvum* เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณสาร solasodine ระหว่างแคลลัสใน *medium* ต่าง ๆ เมื่อแคลลัสมีอายุเท่ากัน สามารถสรุปได้ดังตาราง ข

ตาราง ข

ส่วนของพืช-เมล็ด (อายุ(สัปดาห์))	๖๖					ลำต้น					ราก				
	S.H.1	M.S.1	+300	+500	+900	S.H.1	M.S.1	+300	+500	+900	S.H.1	M.S.1	+300	+500	+900
	f	e	d	cd	b	f	f	de	d	c	d	d	d	d	d
4					(0.071)					(0.083)					
6	e	de	cd	cd	a	ef	ef	c	c	b	d	d	c	d	d
8	e	de	cd	c	a	d	d	c	c	a	c	c	b	b	a

หมายเหตุ.-

a = มีค่าสูงสุด

b-f = ลดลงตามลำดับ

+300 = M.S.1 + ch.300

+500 = M.S.1 + ch.500

+700 = M.S.1 + ch.700

+900 = M.S.1 + ch.900

จากตาราง ข เปรียบเทียบตลอดทั้งแนวนอนและแนวตั้งพบว่า แคลลัสที่ได้จากใบใน *medium* ที่เติม cholesterol นั้นยิ่งเติมปริมาณ cholesterol มากขึ้นจะทำให้แคลลัสมีการผลิตสาร solasodine มากยิ่งขึ้น ใน *medium* M.S.1 + ch.700 และ M.S.1 + ch.900 จะทำให้แคลลัสจากใบผลิตสารได้มากที่สุดเมื่ออายุ 6 และ 8 สัปดาห์ รองลงมาเมื่ออายุ 4 สัปดาห์ และเมื่อเปรียบเทียบระหว่าง *medium* M.S.1 กับ S.H.1 ไม่พบความแตกต่างที่ชัดเจน สำหรับแคลลัสที่ได้จากลำต้นพบว่าแคลลัสใน *medium* ที่เติม cholesterol มากจะผลิตปริมาณสาร solasodine มากกว่าแคลลัสที่เจริญบน *medium* ที่มี cholesterol น้อยกว่า ทั้งในอายุ 4 และ 8 สัปดาห์ โดยพบว่าแคลลัสใน *medium* M.S.1 + ch.700 และ M.S.1 + ch.900 เมื่ออายุ 8 สัปดาห์ จะผลิตสาร solasodine สูงที่สุดเท่ากับ 0.107 และ 0.108 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้ง และเมื่อเปรียบเทียบระหว่าง *medium* M.S.1 และ S.H.1 พบว่าแคลลัสที่ได้จาก *medium* ทั้ง 2 จะผลิตสาร solasodine ไม่แตกต่างกัน ส่วนแคลลัสที่ได้จากรากพบว่า cholesterol มีผลต่อการผลิตสาร solasodine เช่นเดียวกับกับใบและลำต้น เมื่อแคลลัสอายุ 8 สัปดาห์ โดยพบว่าใน *medium* M.S.1 + ch.700 และ M.S.1 + ch.900 จะทำให้แคลลัสผลิตสารมากที่สุดเมื่ออายุ 8 สัปดาห์ คือเท่ากับ 0.081 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้ง แคลลัสที่ได้จากลำต้นและใบของ *S. torvum* เมื่ออายุ 8 สัปดาห์ ใน *medium* M.S.1 + ch.900 และ M.S.1 + ch.700 จะให้ปริมาณสาร solasodine มากที่สุด จะเห็นได้ว่าสาร solasodine ในเนื้อเยื่อของพืชทั้ง 2 ชนิดจะผลิตได้มากขึ้นในสัปดาห์หลัง ๆ ทั้งนี้เพราะสาร solasodine จัดเป็นสาร secondary product ซึ่งจัดเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการ metabolism ของพืช เพื่อให้มีหน้าที่เป็น reserve materials (บุญโชติ, 2526) ในช่วงสัปดาห์แรก ๆ เนื้อเยื่อของพืชมีการแบ่งเซลล์สร้างเซลล์อย่างมาก สาร intermediate ต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นถูกนำไปใช้มากในกระบวนการสร้างเซลล์ แต่ในช่วงสัปดาห์ต่อมาสาร intermediate น่าจะถูกนำไปใช้ในกระบวนการสร้างเซลล์น้อยลง ทำให้สาร intermediate เหล่านี้มีมากเกินความจำเป็นจึงถูกเปลี่ยนรูปและเก็บไว้ในรูปของ reserve materials (การุณ, 2518)

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างพืชทั้ง 2 ชนิด พบว่าแคลลัสที่ได้จากใบ ลำต้น และรากของ *S. laciniatum* เมื่ออายุ 6 สัปดาห์ ใน *medium* M.S.1 + ch.900 จะ

ผลิตสาร solasodine มากกว่าแคล์สที่ได้จากใบ ลำต้น และรากของ *S. torvum* เมื่ออายุ 8 สัปดาห์ ใน medium M.S.1 + ch.900 (ตารางที่ 38)

จากการวิจัยครั้งนี้จะเห็นได้ว่า แคล์สที่ได้จาก *S. laciniatum* สามารถผลิตสาร solasodine ได้มากที่สุดเท่ากับ 0.173 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้ง แต่ในธรรมชาติแล้วใบ และผลของ *S. laciniatum* สามารถผลิตสาร solasodine โดยเฉลี่ยประมาณ 1-2 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้ง (Jatisatienr, 1984) ซึ่งจะเห็นได้ว่า สาร solasodine ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีปริมาณน้อยกว่าในธรรมชาติ ประมาณ 10 เท่า ซึ่งคล้ายคลึงกับผลงานของ Sethi และ Larew (1974) ที่ศึกษาใน *Medicago sativa* ได้รายงานไว้ในสภาพธรรมชาติ *M. sativa* สามารถผลิตสาร alkaloid choline ได้มาก แต่เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงให้เกิดแคล์สแล้วนำมาสกัดจะผลิตสารได้ลดลง 10 เท่า สาเหตุที่แคล์สของ *S. laciniatum* ผลิตสารลดลงอาจจะเนื่องมาจากการวิจัยครั้งนี้ได้นำเอาชิ้นส่วนของพืชขณะที่เป็นต้นกล้าซึ่งมีอายุ 6 สัปดาห์ เนื้อเยื่อพืชเนื้อนี้อาจยังไม่มีการผลิตสาร หรือถ้ามีอาจจะผลิตได้น้อยอยู่ เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงให้เกิดแคล์สจึงมีปริมาณสารน้อยกว่าในสภาพธรรมชาติที่พืชมีการเจริญเต็มที่แล้วมีกระบวนการ metabolism และสังเคราะห์แสงต่าง ๆ ซึ่งทำให้มันผลิตสารได้มาก ซึ่งผลดังกล่าวตรงข้ามกับใน *S. torvum* ที่พบว่าแคล์สที่ไดจากการวิจัยครั้งนี้สามารถผลิตสาร solasodine ได้สูงถึง 0.108 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้ง แต่ในธรรมชาติสามารถผลิตสาร solasodine ได้เพียง 0.01 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้ง (Dopke และคณะ, 1975) นั้นแสดงว่า cholesterol สามารถชักนำให้ *S. torvum* ผลิต solasodine มากขึ้นถึง 10 เท่า การเพิ่มปริมาณสาร secondary product โดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้มีนักวิจัยรายงานไว้หลายท่านเช่น Zenk และคณะ (1975) พบว่าในสภาพธรรมชาติ *Morinda citrifolia* จะผลิตสาร alkaloids anthraquinones ได้ แต่ถ้านำมา เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะสามารถผลิตสารได้มากกว่าในธรรมชาติ 20 เท่า ดังนั้นจะเห็นได้ว่า *S. torvum* ซึ่งเป็นพืชที่ขึ้นได้ดีในประเทศไทยน่าจะมีการพัฒนาโดยนำมาเพาะเลี้ยง เนื้อเยื่อเพื่อให้มีการผลิตสาร solasodine ได้มากขึ้นโดยเฉพาะจากผลการวิจัยมีแนวโน้มว่าถ้าเติมปริมาณสาร cholesterol ให้มากกว่า 900 มก./ล ลงใน medium แคล์สอาจผลิตปริมาณสาร solasodine ได้มากยิ่งขึ้นไปอีก ซึ่งอาจจะเป็นอุตสาหกรรม

ส่งออกอย่างหนึ่งของประเทศไทยได้ ทั้งนี้เนื่องจากว่าสาร solasodine บริสุทธิ์ มีราคาแพงมาก ถ้าประเทศไทยสามารถผลิตสารนี้ได้จากพืชในประเทศไทยเอง ก็น่าที่จะเป็นอุตสาหกรรมส่งออกได้ชนิดหนึ่งเช่นกัน

3. แผนงานที่น่าจะทำต่อ

1. เนื่องจากว่าในการศึกษาค้างนี้ได้ทำการเพาะเมล็ดของ Solanum ทั้งสองจนได้ต้นกล้าอายุประมาณ 6 สัปดาห์ ต้นกล้าของพืชทั้งสองอาจจะมีการสร้างสารอยู่ในปริมาณน้อยหรืออาจจะยังไม่มีการสร้างสารเลย ทำให้ผลที่ได้ในการศึกษาค้างนี้ แคลลัสมีการสร้าง solasodine ในปริมาณที่ยังไม่มากเท่าที่ควร ถ้าทำการศึกษาโดยเอาชิ้นส่วนของพืชคือ ใบ ลำต้น และรากจากส่วนทั้งสามที่ยังอ่อนอยู่ในต้นที่เจริญเต็มที่แล้วที่ปลูกอยู่ในแปลงเพาะมาทำการศึกษาดูตามวิธีการนี้อาจจะได้ปริมาณสาร solasodine ในปริมาณที่มากขึ้นเพราะต้นที่เจริญเต็มที่แล้วปกติจะมีการผลิตสารในปริมาณที่มากอยู่แล้ว

2. จากการศึกษาจะเห็นได้ว่าความเข้มข้นของ cholesterol 900 มก./ล ทำให้แคลลัสผลิตสาร solasodine มากที่สุด น่าที่จะลองเปลี่ยนระดับความเข้มข้นของ cholesterol ให้สูงไปกว่านี้ เช่นตั้งแต่ความเข้มข้นของ cholesterol 700 มก./ล ขึ้นไป

3. จากการศึกษาครั้งนี้จะเห็นได้ว่าพืช S. laciniatum ส่วนต่าง ๆ ของพืชที่ได้แคลลัสสามารถที่จะเปลี่ยนแปลงกลายเป็นรากได้ในทุก medium น่าที่จะเปลี่ยนสัดส่วนของ hormone เพื่อกระตุ้นให้กลายเป็นต้น แล้วย้ายออกไปปลูกในแปลงเพาะเมื่อเจริญเต็มที่แล้วนำมาสกัดเปรียบเทียบกับในแต่ละ medium

4. จากการศึกษาครั้งนี้ได้นำเอาพืชในเมืองไทย คือ S. torvum มาศึกษาด้วย ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษานี้สามารถเพิ่มสาร solasodine ในพืชนี้ได้ น่าจะลองเปลี่ยนสูตรอาหารที่เหมาะสมกับการเจริญของแคลลัสนี้เพื่อให้แคลลัสเจริญได้ดีกว่านี้จะได้ผลิตสาร solasodine ได้มากขึ้น และน่าที่จะเอาพืชในสกุล Solanum ที่มีอยู่ในเมืองไทย มาทำการศึกษาดูว่าพืชสกุล Solanum species ไหนสามารถทำให้ผลิตสาร solasodine ได้มากที่สุด

5. แคลลัส ที่เจริญในอาหารที่มี cholesterol เมื่อกระตุ้นให้แคลลัสนั้นเกิดเป็นต้น นำมาวิเคราะห์ปริมาณสารจะพบปริมาณสารมากกว่าต้นที่กำเนิด โดยไม่ได้รับ cholesterol มาก่อนหรือไม่

6. น่าจะมีการทดลองในสกุล Solanum ชนิดอื่น ๆ ที่ขึ้นในประเทศไทย เพราะเนื่องจากว่า จากการวิจัยสามารถชักนำให้ S. torvum ผลิตสาร solasodine ให้มากขึ้น ดังนั้น Solanum ชนิดอื่น ๆ น่าที่จะชักนำให้มีการผลิตสารให้มากขึ้นได้ เพราะบางทีอาจจะผลิตได้มากกว่า S. torvum