

I บทนำ

เจตมูลเพลิงขาว (*Plumbago zeylanica* Linn. Plumbaginaceae) เป็นไม้พุ่ม กลีบดอกจะมีสีขาว ตรงกลีบเลี้ยงจะมีต่อมเมื่อสัมผัสจะรู้สึกเหนียว มีรายงานสารที่พบในส่วนต่าง ๆ เช่น Quercitrin พบในใบ Chitranone , Plumbagin , zeylanone พบในราก และ Plumbazeylanone , Vepaol ซึ่งพบได้ทุกส่วนของต้น

ได้มีการนำรากของต้นเจตมูลเพลิงขาวมาใช้ประโยชน์ในเชิงโบราณหลายอย่าง เช่น ใช้เป็นยาขับประจำเดือน ทาแก้กลากเกลื้อนและปวดข้อ นอกจากนี้ได้มีการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและการทดลองทางคลินิก พบว่ามีฤทธิ์ได้หลายอย่าง เช่น antiyeast antibacterial เป็นต้น ดังนั้นทางกลุ่มจึงได้ศึกษาการนำส่วนของใบของต้นเจตมูลเพลิงขาวมาทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและชักนำให้เกิดราก เพื่อที่จะใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการที่จะศึกษาการเพิ่มปริมาณหรือชักนำให้เกิดสารที่สนใจ ซึ่งนำมาใช้ประโยชน์ในการศึกษาต่อไปในอนาคต

II ข้อมูลเบื้องต้นของต้นเจตมูลเพลิงขาว

1. ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์ของต้นเจตมูลเพลิงขาว (*Plumbago zeylanica* Linn.)

ชื่อพ้อง : Agni , Bama , Cheraka , Cuita , Duoi cong , Jarak , Sufaid

ชื่อพ้องทางลาติน : *Plumbago auriculata* , *Plumbago viscosa* , *Thela alba*

วงศ์ : Plumbaginaceae

2. สารเคมีที่พบในต้นเจตมูลเพลิงขาว

ตารางที่ 1

ส่วนของพืช	สารที่พบ	
	สาร	กลุ่มของสาร
ราก	Chitranone	Quinoid
	Plumbagicacid	Benzenoid
	Plumbagin	Quinoid
	Plumbagin ,3-3'-BI	Quinoid
	Plumbagin ,3-3'-BI:1-2(3)	Quinoid
	Tetrahydro	Quinoid
	Plumbagin ,3-3'-BI:methylene	Quinoid
	Plumbagin ,3-chloro :	Quinoid
	Plumbazeylanone	Quinoid
	Shinanolone , Iso :	Quinoid
	Shinanolone , Iso : (-) :	Polycyclic

ส่วนของพืช	สารที่พบ	
	สาร	กลุ่มของสาร
Stem	Sitosterol , Beta :	Steroid
	Vanillic acid	Benzenoid
	Zeylanone	Quinoid
	Zeylanone , Iso :	Quinoid
Leaf	Plumbagin	Quinoid
Aerial part	Leucodelphinidin-3-Rhamnoside	Flavonoid
	Quercitrin	Flavonoid
Entire plant	Chitanone	Quinoid
	Plumbagodihydronaphthaquinone PZ - 5	Quinoid
	Plumbagin	Quinoid
Callus tissue	Plumbazeylanone	Quinoid
	Vepaol	Sesquiterpene
	Plumbagin	Quinoid
	Carotene , Beta;	Carotenoid
	Plumbagin , 3- chloro	Quinoid

3. ประโยชน์และการนำไปใช้ของต้นเจตมูลเพลิงขาว

การใช้ประโยชน์จากส่วนต่าง ๆ ของต้นเจตมูลเพลิงขาวในเชิงแผนโบราณได้มีการใช้กันมากในหลายประเทศ เช่น

1. ใช้เป็น Abortifacient
2. ใช้ร่วมกับตีปลีในการเลื่อนประจำเดือน
3. บดผสมใบเจตมูลเพลิงขาวร่วมกับใบโลติน , ชีกาแดง , ตีปลี , ชิง และพริกทางเพื่อ

ใช้รักษาอาการปวดท้อง

4. ใช้เป็นยาดับการอักเสบ (antiinflammatory agent)
5. ใช้รักษาโรคผิวหนัง
6. ใช้รักษามะเร็ง
7. ใช้เป็น oxytocic

8. ไซร่ากเป็นยาขับพยาธิ ขับประจำเดือน ทาแก้กลากเกลื้อน และแก้ปวดข้อ ให้นำมาตำพอกแก้ฟกช้ำหรือฝีบวมและใช้แกโรคมมาลาเรีย หญิงมีครรภ์ห้ามรับประทานเพราะมีสาร Plumbagin ซึ่งจะทำให้แท้งได้

จากการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาได้มีการนำเอาสารสกัดหยาบจากต้นเจตมูลเพลิงขาว มาศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่ามีฤทธิ์ต่าง ๆ กัน เช่น

1. Hypothermic activity

2. Antibacterial activity ต่อเชื้อดังต่อไปนี้ *Proteus vulgaris* , *Pseudomonas aeruginosa* , *Salmonella gallinarum* , *Klebsella pneumoniae* , *Staphylococcus albus* , *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus*

3. Antiyeast ต่อเชื้อ *Candida albican*

4. Antihepatotoxic activity

5. Hyperglycemic activity

6. เพิ่มปริมาณ plasma bilirubin

III อุปกรณ์และสารเคมี

1. ตัวอย่างพืช

เก็บตัวอย่างใบเจตมูลเพลิงขาวจากเรือนเพาะชำคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

2. สารเคมี

อาหารเพาะเลี้ยง MS medium ดังแสดงตารางที่ 2 ; 1-naphthylacetic acid(NAA) ได้จาก Nur Fur Laborzwecke Geprüft ; Kinetin ได้จาก Sigma Chemical co. ; TLC plate ชนิด Kieselgur GF₂₅₄ Merck ; Phytaga[®] จาก Life technologies ; Saccharose จาก Merck

2.1 อุปกรณ์และสารเคมี

2.1.1 อุปกรณ์

- เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

1) เครื่องชั่งสารเคมีชนิดละเอียด 4 และ 2 ตำแหน่ง

2) เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter)

3) ชุดเครื่องแก้ว

4) หม้อฆ่าเชื้อโดยใช้ความดันไอน้ำ (autoclave)

5) Magnetic stirrer and heater

6) ขวดใส่อาหารเพาะเลี้ยง

- เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง
 - 1) ชุดเครื่องมือผ่าตัด
 - 2) Laminar air flow
 - 3) เครื่องเขย่า (shaker)
- เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจสอบสารเคมี
 - 1) TLC plate
 - 2) TLC tank
 - 3) evaporator
 - 4) กรวยแยก (separatory funnel)
 - 5) UV detector

2.1.2 สารเคมี

- 1) MS stock 1-6
- 2) sucrose
- 3) agar
- 4) methanol
- 5) ethanolic KOH
- 6) 15% Clorox
- 7) 70% ethanol
- 8) Chloroform
- 9) Glacial acetic acid
- 10) toluene
- 11) tween 80
- 12) Purified water

2.2 สภาวะทดลองของ TLC

- Technique : one way development
- Absorbent : aluminium sheet silica gel 60
- Plate size : 10x12 cm
- Layer thickness : 0.2 mm.
- Solvent system : Toluene-glacial acetic acid(99:1)
- Sample size : 1 cm.
- Distance : 8 cm.
- Temperature : 25-30 C
- Detection : Ultraviolet light at 254 nm, 366 nm.

IV เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Plant Tissue Culture Technique)

1. การเตรียม medium โดยเตรียมจาก Stock Solution ชนิด MS medium

1.1 การเตรียม Stock Solution ของ MS medium

ตารางที่ 2

MS	Remarks
Stock 1 (Macronutrients)	Store in refrigerator
g/1000 ml	
NH ₄ NO ₃ 33.0	
KNO ₃ 38.0	
MgSO ₄ · 7H ₂ O 7.4	
KH ₂ PO ₄ 3.4	
Stock 2 (Micronutrients)	Stock in refrigerator
mg/100 ml	
H ₃ BO ₃ 620	
MnSO ₄ · H ₂ O 1690	
ZnSO ₄ · 7H ₂ O 860	
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O 25	
CuSO ₄ · 5H ₂ O 2.5	
CoCl ₂ · 6H ₂ O 2.5	
Stock 3 (Ca Stock)	Stock in refrigerator
g/100 ml	
CaCl ₂ · 2H ₂ O 15	
Stock 4 (KI Stock)	Stock in amber bottle in referator
g/100 ml	
KI 75	
Stock 5 (Vitamin)	Stock in freezer (10 ml fraction)
mg/100 ml	
Nicotinic acid 100	
Thiamine HCl 1000	
Pyridoxine HCl 100	
Myo-Inositol 10,000	

MS	Remarks
Stock 6 (Fe-EDTA Stock)	Store in refrigerator
g/500ml	
Na ₂ EDTA 3.73	
FeSO ₄ · 7H ₂ O 2.78	
NAA Stock Solution (100 mg/l)	Dissolve NAA in 5 ml ethanol ; heat slightly and gradually dilute to 100 ml with water.
mg/100ml	
2,4-D 10	
Kinetin Stock Solution (100 mg/l)	Dissolve kinetin in a small volume of 0.5 N HCl by heating slightly and gradually dilute to 100 ml with distilled water. Store in refrigerator.
mg/100 ml	
Kinetin 10	

1.2 การเตรียม MS medium

Distilled water	1000 ml
Stock 1	50 ml
Stock 2	1.0 ml
Stock 3	2.9 ml
Stock 4	1.0 ml
Stock 5	1.0 ml
Stock 6	5.0 ml
Sucrose	8.0 g
Agar (solid medium)	
Auxin (100 mg/l) as needed	
Cytokinin (100 mg/l) as needed	
Final pH adjust to pH 5.8	

1.3 ขั้นตอนการเตรียมอาหาร

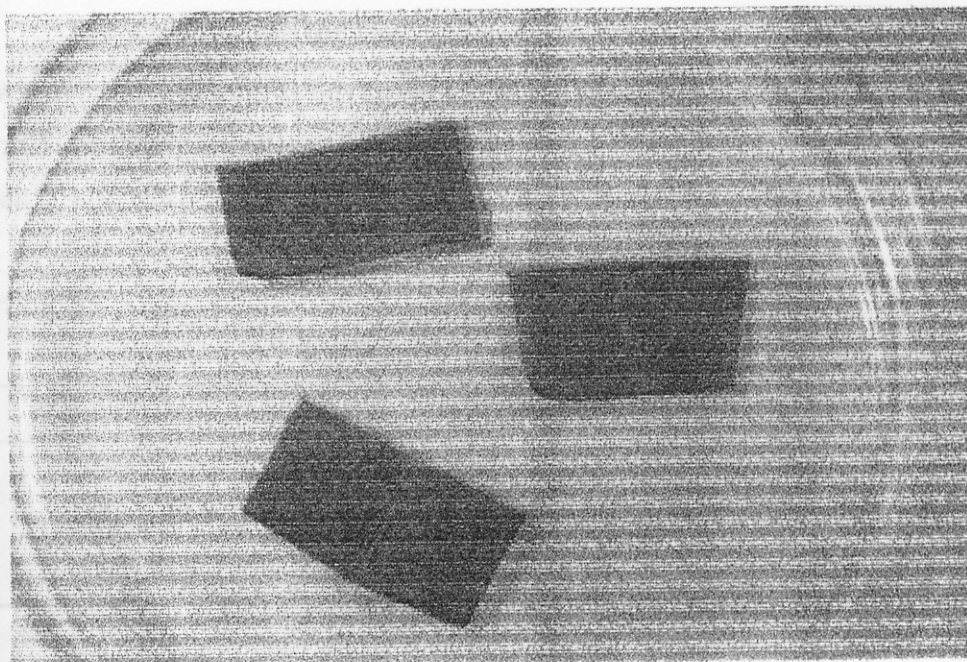
ปีเปตอาหารเพาะเลี้ยงที่กำหนดในข้อ 1.2 (หน้า 7) ลงในบีกเกอร์ที่ใส่น้ำกลั่นจำนวนหนึ่งในสามของปริมาตรน้ำทั้งหมด เติมฮอร์โมน NAA และ Kinetin ความเข้มข้น 0.5 ppm และ

0.5 ppm ตามลำดับ ผสมให้เข้ากันโดยการนำสารละลายในอีกบีกเกอร์วางบนเครื่องคนแม่เหล็ก (magnetic stirrer) ปรับ pH ด้วย 1 N HCl และ 1 N NaOH จนได้ pH 5.8 จากนั้นจึงเติมน้ำตาลทรายให้ได้ความเข้มข้น 3% w/v และเติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรตามต้องการ เมื่อต้องการทำอาหารแข็ง (solid medium) ให้เติมวุ้น (agar) ความเข้มข้น 0.8% w/v ลงในอาหารเพาะเลี้ยงให้ความร้อนจนวุ้นละลายได้สารละลายในจึงเทใส่ขวดเพาะเลี้ยงปริมาณ 10 ml/ขวด แล้วจึงนำไปอบฆ่าเชื้อ ใช้เป็นอาหารเลี้ยงเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อไป

2. การเตรียม *Plumbago zeylanica* leaf explant ตามลำดับดังนี้

1. เก็บใบเจตมูลเพลิงขาว แล้วนำใบมาล้างด้วยน้ำปะปาเพื่อชะสิ่งสกปรกออก ต่อจากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นให้สะอาดอีกครั้ง
2. นำใบเจตมูลเพลิงขาวแช่ในแอลกอฮอล์ 70 % นาน 2 นาที
3. ล้างด้วยน้ำกลั่นอีก 4 ครั้ง เพื่อชะแอลกอฮอล์ออก
4. แช่ใบเจตมูลเพลิงขาวลงในคลอโรกซ์ความเข้มข้น 15 % นาน 15 นาที โดยเขย่าตลอดเวลา
5. ล้างใบด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ 3 ครั้ง เพื่อล้างคลอโรกซ์ออก ตั้งแต่ขั้นตอนนี้ให้ทำในตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow cabinet)
6. ตัดใบเจตมูลเพลิงขาวให้เป็นสี่เหลี่ยมโดยตัดให้ติดเส้นกลางใบ (รูปที่ 1) จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยง (ดังรูปที่ 2)

รูปที่ 1



3. Phytochemical technique

การเตรียม Crude extracts ของ *Plumbago zeylanica* จากใบ ลำต้น ราก ของต้นจริง และ เนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงของราก และ แคลลัส (รูปที่ 3)

- 1) นำส่วนที่จะสกัดมาบดให้ละเอียด
- 2) แช่ใน methanol 2 วัน
- 3) นำมากรองเพื่อแยกตะกอนออก
- 4) นำส่วนที่กรองได้มาระเหยเอา methanol ออก โดยใช้เครื่อง Evaporator
- 5) นำส่วนที่เหลือมาสกัดโดยใช้ chloroform ใน separatory funnel
- 6) นำส่วนที่สกัดได้มาระเหยเอา chloroform ออก
- 7) นำส่วนที่เหลือไปวิเคราะห์

4. Identification of Naphthoquinones

การพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารกลุ่ม naphthoquinones จะใช้วิธีรังคเลขผิวนาง (Thin Layer Chromatography: TLC) โดยระบบตัวทำละลายคือ Toluene-glacial acetic acid (99:1) จากนั้น ยืนยันผลโดย

- 1) ส่องด้วย UV_{254} จะให้แถบสีน้ำตาลแดง
- 2) ส่องด้วย UV_{366} จะให้แถบสีส้มแดง
- 3) sprays ด้วย 10% Ethanolic KOH จะให้แถบสีม่วงแดง

V. วิธีการทดลอง

1. ศึกษาผลของฮอร์โมนต่อการเจริญเติบโตของเซลล์เพาะเลี้ยง

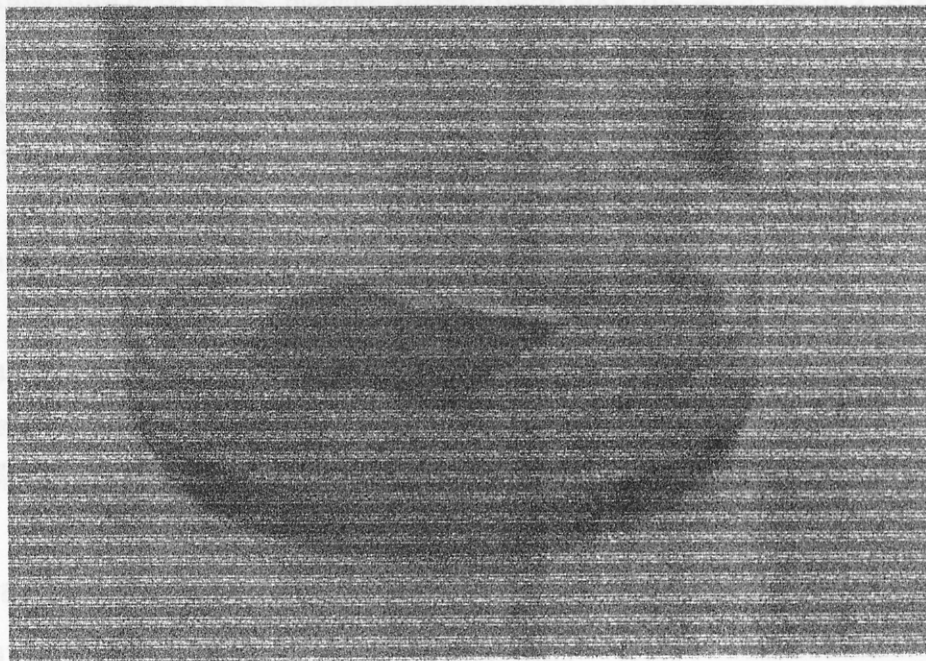
ได้ทำการศึกษาฮอร์โมนต่อการเจริญเติบโตของเซลล์เพาะเลี้ยง โดยใช้ MS medium เป็นอาหารเพาะเลี้ยงและเปลี่ยนแปลงฮอร์โมน โดยฮอร์โมนพืชที่ใช้ ได้แก่ NAA และ Kinetin โดยทำการเปลี่ยนแปลงฮอร์โมนเป็นสามสูตรตามตารางที่ 3 โดยแต่ละสูตรอาหารทำการทดลอง 10 ตัวอย่าง ต่อมาบันทึกผลการเจริญเติบโตของเซลล์เพาะเลี้ยงโดยการสังเกตเป็นระยะ ๆ

ตารางที่ 3

ฮอร์โมน	ความเข้มข้นของฮอร์โมน (mg/l)		
NAA	0.5	1.0	0.2
Kinetin	0.2	0.2	0.5

2. การทำเซลล์เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การทำให้เซลล์เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชของต้นตะขากฝรั่ง (Calophyllum inophyllum) ที่เลี้ยงใน



รูปที่ 2



และรูปที่ 4) เมื่อเปรียบเทียบกับในสูตรที่มี NAA 0.002 mg/l และ IAA 1.0:0.2 mg/l ซึ่งจะมี
ปริมาณและชนิดของพืชออกมาจากใบและลำต้นมากกว่า (ดังรูปที่ 5) ที่เป็นเช่นนี้เพราะว่า auxin

2. การทำเซลล์เพาะเลี้ยงแขวนตะกอน

การทำเซลล์เพาะเลี้ยงแขวนตะกอนของต้นเจตมูลเพลิงขาว จะใช้ callus ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS medium ที่ประกอบด้วย NAA 0.5 mg/l และ 2,4-D 0.5 mg/l โดยเซลล์แขวนตะกอนจะถูกเลี้ยงบน rotary shaken erlenmeyer flask (ขนาด 250 ml มี medium 50 ml) ที่ความเร็ว 110 r.p.m. ที่ 25 C และทำการ subculture ทุก 4 สัปดาห์ ใน MS medium ในสูตรเดียวกัน

3. การทำการเพาะเลี้ยงราก

การเพาะเลี้ยงรากจากต้นเจตมูลเพลิงขาวจะใช้แคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยง โดยแคลลัสจะนำมาแขวนตะกอนใน liquid medium ที่ประกอบด้วย NAA 0.5 mg/l, kinetin 0.5 mg/l และ ซูโครส 3% เมื่อการเจริญของรากหยุดการเจริญเติบโตให้ทำการ subculture ใน MS medium ในสูตรเดียวกัน

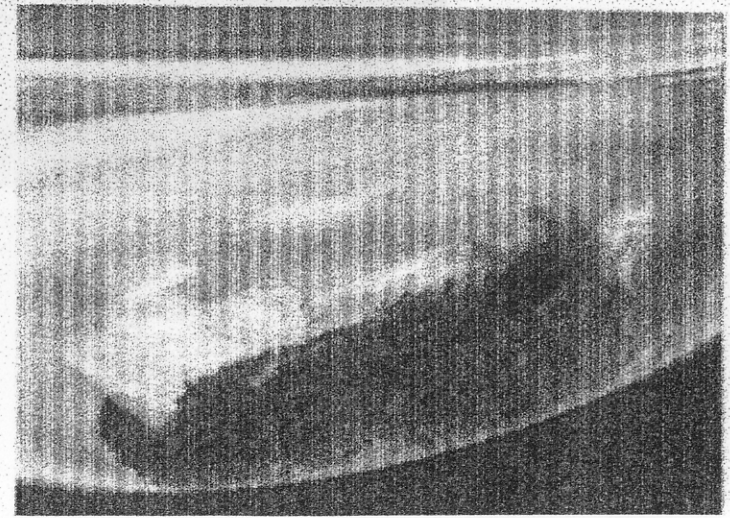
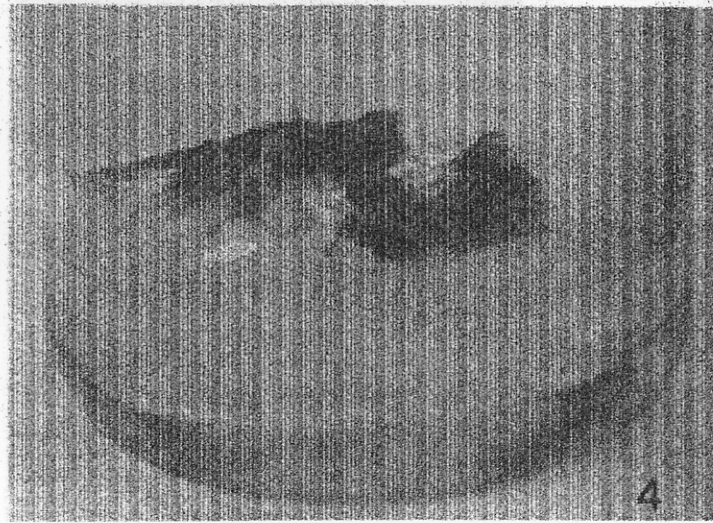
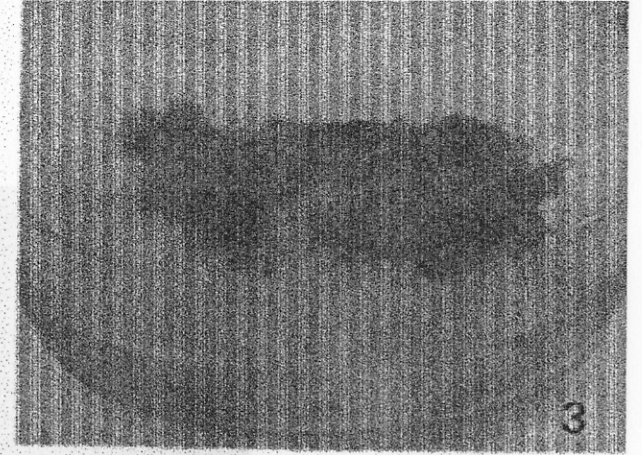
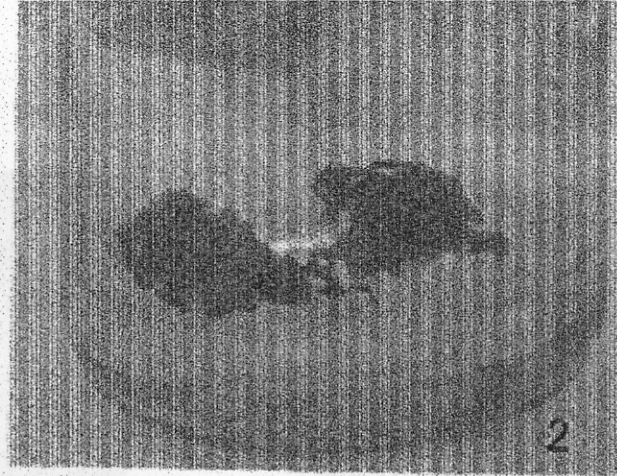
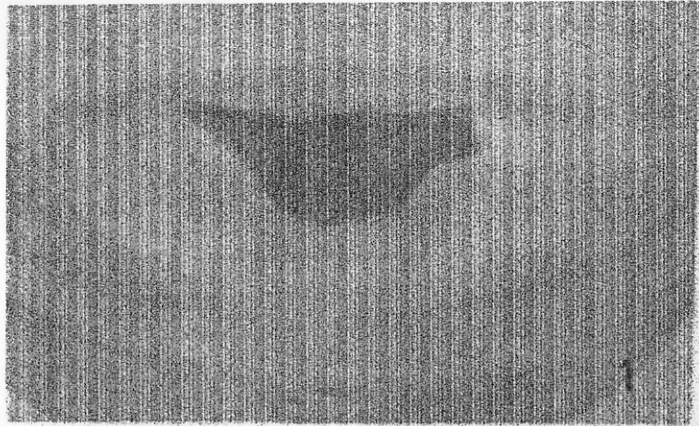
VI. ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

1. การเหนี่ยวนำให้เกิดแคลลัสและรากเพาะเลี้ยง

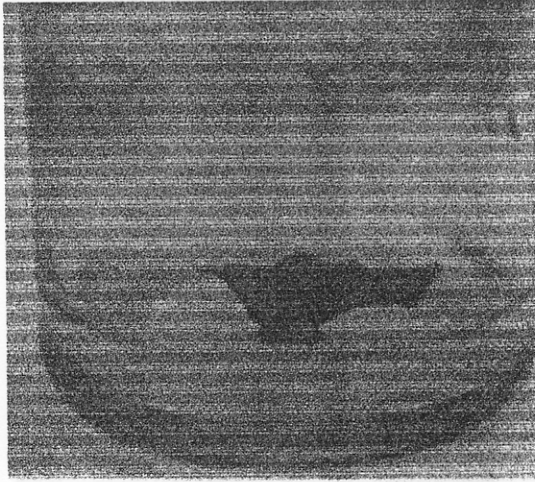
จากการศึกษาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยนำใบเจตมูลเพลิงขาวมาเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS solid medium ซึ่งมีความเข้มข้นของฮอร์โมน NAA:2,4-D อย่างละ 0.5 mg/l พบว่าสูตรอาหารดังกล่าวสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดแคลลัสได้ภายใน 1 สัปดาห์ จากนั้น subculture แคลลัสลงในอาหารใหม่ทุก 2 สัปดาห์ พบว่าแคลลัสที่ได้จะมีลักษณะเป็นกลุ่มก้อนของเนื้อเยื่อและจะมีตุ่มของรากเกิดขึ้นด้วย (รูปที่ 3.2) และเมื่อ subculture แคลลัสลงในอาหารใหม่เรื่อย ๆ พบว่า แคลลัสจะมีการเจริญเติบโตเพิ่มปริมาณมากขึ้นและมีการงอกของรากเกิดขึ้นซึ่งลักษณะรากที่ได้จะยาว (รูปที่ 3.3 และ 3.4 ตามลำดับ) ต่อมาได้มีการทดลอง subculture แคลลัสตามรูปที่ 3.4 ลงในเพาะเลี้ยงใน suspension culture จะพบว่ามีอาการเจริญเติบโตของรากเพิ่มขึ้นแต่ลักษณะรากที่ได้จะสั้น จึงต้องมีการศึกษาเพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดรากเพาะเลี้ยงต่อไป

2. การศึกษาผลของฮอร์โมนต่อการเติบโตของเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง

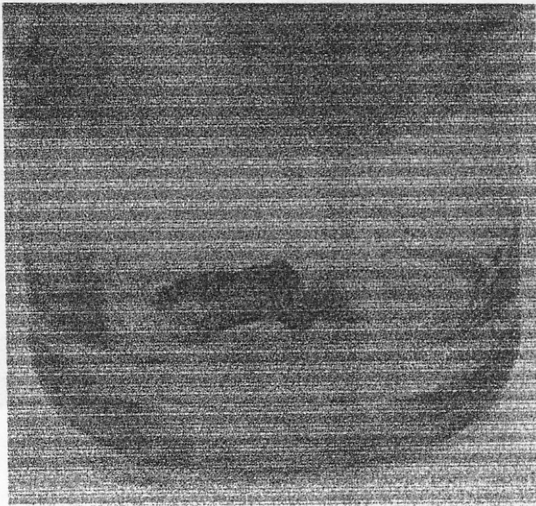
จากการศึกษาผลของฮอร์โมนต่อการเติบโตของเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง ทำใน MS solid medium ที่ประกอบด้วยฮอร์โมนแตกต่างกันเป็น 3 สูตรดังตารางที่ 3 โดยจะแบ่งเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่มี NAA หรือ auxin มากกว่า kinetin และกลุ่มที่มี kinetin มากกว่า auxin ผลที่ได้พบว่าเป็นสูตรที่มี NAA:kinetin เท่ากับ 0.2:0.5 mg/l จะเกิดเป็นแคลลัสเจริญออกมาจากใบที่ใช้เพาะเลี้ยง (explants) ดังรูปที่ 4 เมื่อเปรียบเทียบกับในสูตรที่มี NAA:kinetin เท่ากับ 1.0:0.2 mg/l ซึ่งจะมีทั้งรากและแคลลัสเจริญออกมาจากใบแต่มีรากมากกว่า (ดังรูปที่ 5) ที่เป็นเช่นนี้เพราะว่า auxin



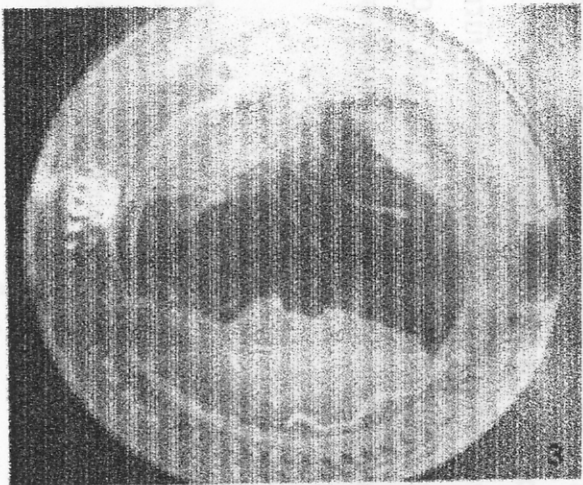
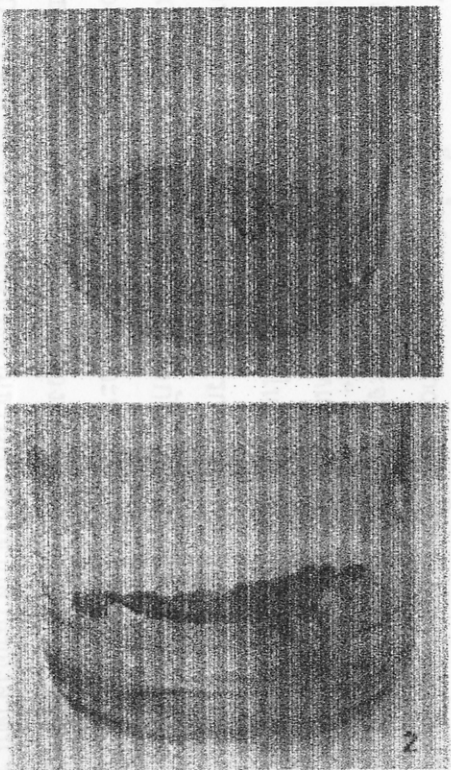
รูปที่ 3 MS medium ความเข้มข้น 2,4-D: NAA ; 0.5:0.5 mg/l



รูปที่ 4 MS medium ความเข้มข้น NAA: Kinetin ; 0.2:0.5 mg/l



รูปที่ 5 MS medium ความเข้มข้น NAA: Kinetin ; 1.0:0.2 mg/l



รูปที่ 6 MS medium ความเข้มข้น NAA: Kinetin ; 1.0:0.2 mg/l

หรือ NAA ในพืชจะเป็นฮอร์โมนที่กระตุ้นให้มีการเจริญเติบโตของราก ในขณะที่ Kinetin ในพืชจะเป็นตัวกระตุ้นให้มีการเจริญเติบโตของยอดและการแบ่งเซลล์ ดังนั้นในสูตรอาหารที่มี auxin มากกว่าจึงน่าจะมีการเจริญของรากได้ดีกว่า เมื่อเปรียบเทียบการเจริญของเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่มี NAA:kinetin เท่ากับ 1.0:0.2 mg/l และ 0.5:0.2 mg/l จะพบว่าในสูตรอาหารที่มี NAA:kinetin เท่ากับ 0.5:0.2 mg/l จะมีการเจริญของรากงอกออกมาจาก explants และได้ปริมาณรากที่มากกว่าและยาวกว่า(ดังรูปที่ 6) ที่เป็นเช่นนี้เพราะว่าการที่ auxin จะกระตุ้นให้เกิดรากในพืชได้นั้นจะต้องอยู่ในช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสม ถ้ามีปริมาณมากหรือน้อยเกินไปแทนที่จะเป็นการกระตุ้นกลับเป็นการยับยั้งการเจริญของราก ดังนั้นในสูตรอาหาร MS solid medium ที่มี NAA:kinetin เท่ากับ 0.5:0.2 mg/l จึงเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของรากในเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงของต้นเจตมูลเพลิงขาวเพราะว่าสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดรากได้เร็ว ได้รากยาว และมีปริมาณมาก

3. การศึกษาการสร้างสารกลุ่ม naphthoquinones ในแคลลัสและรากเพาะเลี้ยง

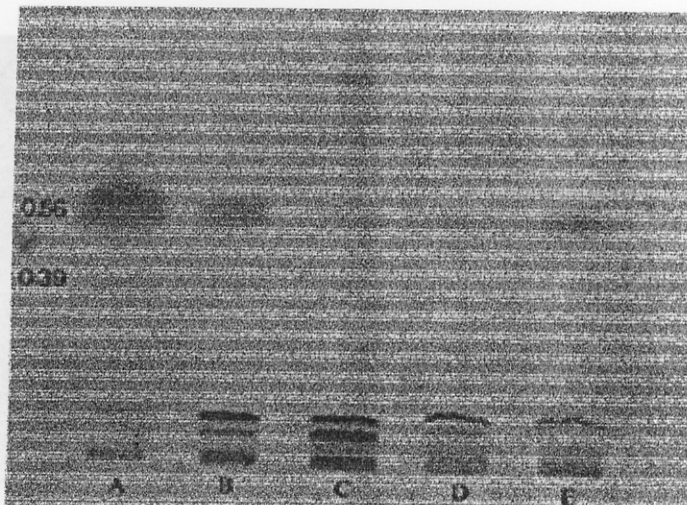
การวิเคราะห์จะทำในรูปสารสกัดหยาบดั่งวิธีการเตรียมในข้อ 3 (หน้า 9) ทำการวิเคราะห์โดยวิธีรังเคลขมิบบาง(TLC) ซึ่งใช้ในการตรวจสอบสารกลุ่ม naphthoquinones ในการวิเคราะห์นี้จะเป็นการวิเคราะห์เชิงคุณภาพโดยจะเปรียบเทียบระหว่างแคลลัสและรากเพาะเลี้ยงกับต้นจริงในธรรมชาติในส่วนของใบ ส่่อดัน และราก เมื่อนำแต่ละส่วนมา spot บนแผ่น TLC และทำการวิเคราะห์จะได้ผลการทดลองดังนี้

รูปที่ 7 พบว่าสารที่สนใจ(naphthoquinones) จะให้แถบสีเหลืองที่ $R_f=0.56$ ซึ่งพบได้ทั้งจากส่วนของแคลลัส(D) รากเพาะเลี้ยง(E) และจากต้นจริง(A,B,C) เมื่อนำมาส่องด้วย UV_{254} ดังรูปที่ 8 ถ้าเป็นสารกลุ่ม naphthoquinones จะให้แถบสีน้ำตาลแดง พบว่าที่ R_f 0.56 ทั้งในส่วน ของแคลลัส(E) รากเพาะเลี้ยง(D) และต้นจริงในธรรมชาติ(A,B,C) จะให้แถบสีน้ำตาลแดงเหมือนกัน เมื่อนำมาส่องด้วย UV_{366} ถ้าเป็นสารกลุ่ม naphthoquinones จะให้แถบสีส้มแดง พบว่าทุกจุดจะให้แถบสีส้มแดงที่ R_f 0.56 เช่นเดียวกัน สุดท้ายนำมาพ่นด้วย 10% Ethanolic KOH ถ้าเป็น naphthoquinones จะให้แถบสีม่วงแดง จะพบว่าทั้งส่วนของแคลลัส(D) รากเพาะเลี้ยง(E) และต้นจริงตามธรรมชาติ(A,B,C) จะให้แถบสีม่วงแดงที่ R_f 0.56 แต่ในแคลลัสจะพบว่ายังให้แถบสีม่วงแดงที่ R_f 0.43 ด้วยซึ่งไม่พบในต้นจริงตามธรรมชาติทั้งจากส่วนของลำต้น ราก และใบ ซึ่ง อาจจะเป็นสารใหม่ที่สร้างขึ้นในแคลลัสอาจจะเป็นสารในกลุ่ม naphthoquinones หรือ anthraquinones ก็ได้ ซึ่งต้องมีการศึกษาต่อไป

★ SOLVENT FRONT

UV 254

★ SOLVENT FRONT



★ ORIGIN

A,B,C = MeOH extract from root , stem , leaf , respectively

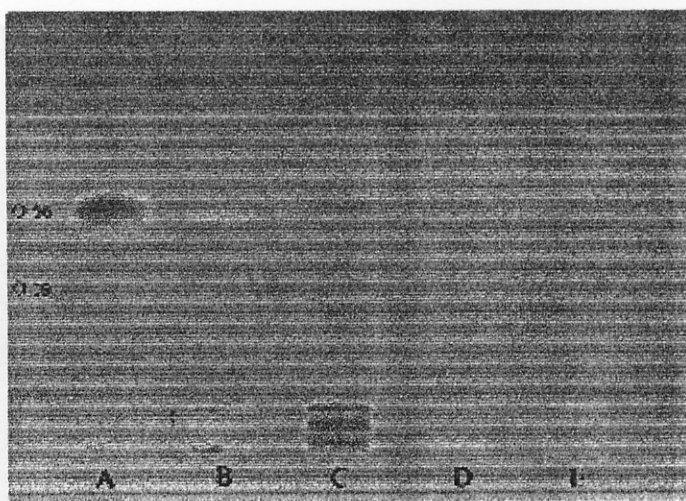
D = MeOH extract from callus culture

E = MeOH extract from root culture

รูปที่ 7

UV 254

*SOLVENT FRONT



ORIGIN

A,B,C = MeOH extract from root , stem , leaf , respectively

D = MeOH extract from root culture

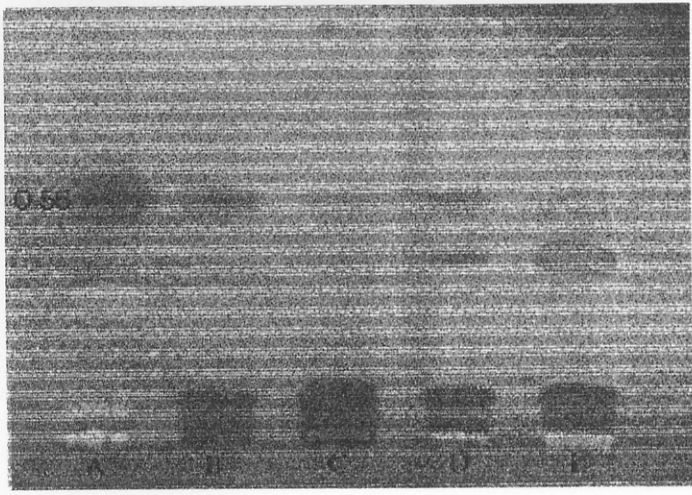
E = MeOH extract from callus culture

รูปที่ 8

UV 366

*SOLVENT FRONT

*SOLVENT FRONT



*ORIGIN

A,B,C = MeOH extract from root , stem , leaf , respectively

A,B,C = MeOH extract from root , stem , leaf , respectively

D = MeOH extract from root culture

E = MeOH extract from callus culture

รูปที่ ๑

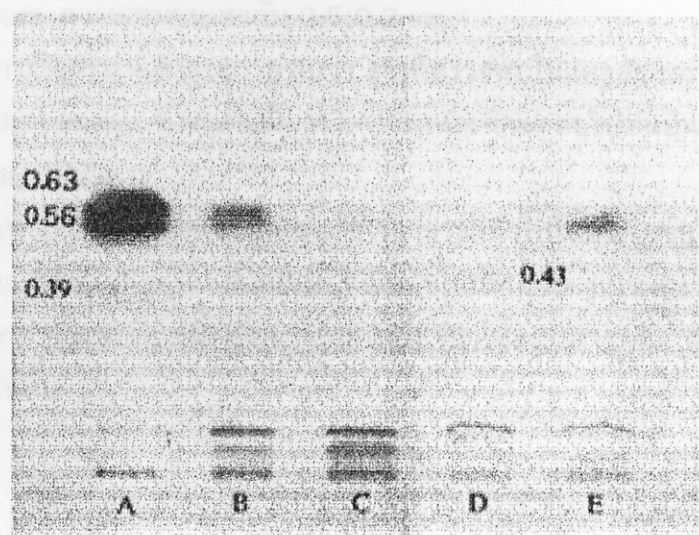
๗. ส่วนผลการทดลอง

จะสังเกตเห็นว่าสีของแผ่นกรองเปลี่ยนจากสีขาวเป็นสีน้ำตาลเข้ม

1) สกัดสารจาก MS medium ที่มีความเข้มข้นของฮอร์โมน NAA 2,4-D อย่างละ 0.5 mg/l สามารถเปลี่ยนสีของแผ่นกรองได้

2) จากการสกัดสารของฮอร์โมนออกฤทธิ์เชิงไลกอทอจิกเมื่อเพาะเลี้ยงพบว่า สารฮอร์โมนที่มีฤทธิ์ในแผ่นกรองนำไปเกิดจากเพาะเลี้ยงคือ สกัดอาหาร MS medium ที่มีฮอร์โมน NAA

*SOLVENT FRONT



*ORIGIN

A,B,C = MeOH extract from root , stem , leaf , respectively

D = MeOH extract from callus culture

E = MeOH extract from root culture

รูปที่ 10

VII. สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลการเหนี่ยวนำให้เกิดรากเพาะเลี้ยงในต้นเจตมูลเพลิงขาวสรุปผลได้ดังนี้

- 1) สูตรอาหาร MS medium ที่มีความเข้มข้นของฮอร์โมน NAA:2,4-D อย่างละ 0.5 mg/l สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดรากเพาะเลี้ยงได้
- 2) จากการศึกษาผลของฮอร์โมนต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงพบว่า อัตราส่วนฮอร์โมนที่เหมาะสมในการเหนี่ยวนำให้เกิดรากเพาะเลี้ยงคือ สูตรอาหาร MS medium ที่มีฮอร์โมน NAA:kinetin ความเข้มข้นเท่ากับ 0.5:0.2 mg/l
- 3) จากการวิเคราะห์เชิงคุณภาพพบว่า สารที่ตรวจพบในแคลลัสและรากเพาะเลี้ยงจะเป็นสารในกลุ่ม naphthoquinones ซึ่งจะต้องมีการวิเคราะห์และศึกษาต่อไปว่าเป็นสารอะไร โดยอาศัยเทคนิคทาง Spectroscopys

จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจตมูลเพลิงขาวสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในอนาคตเพื่อเป็นแหล่งของสารทุติยภูมิ(secondary metabolites) และใช้ในการศึกษาขบวนการชีวสังเคราะห์ในการสร้างสาร เนื่องจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถเหนี่ยวนำให้สร้างสารทุติยภูมิได้ในปริมาณมาก และใช้ระยะเวลาอันสั้น