บทที่ 1

บทนำ

1.1 ประวัติความเป็นมา

เปล้าน้อยเป็นพืชสมุนไพรพื้นเมืองของไทยเกิดขึ้นตามธรรมชาติในป่าและตามไหล่เขาในประเทศไทย มีผู้นำมาปลูกไว้ตามวัดและตามบ้านเพื่อประโยชน์สำหรับใช้ในการทำยา (สายสนม กิตติขจร, 2526) ใช้เป็นยาขับพยาธิและแก้โรคผิวหนัง (Ogiso *et al.*, 1978) พบเฉพาะในประเทศทางแถบทะเลอันดามัน ได้แก่ อินโดนีเซีย ไทย มาเลเซีย และจีน (ณรงค์ เพ็งปรีชา, 2530; ชนะ พรหมเดช, 2538) จากการรายงานของ Ogiso *et al.*, 1978; Kitazawa *et al.*, 1979; 1980 พบว่าในใบเปล้าน้อยมีสารเปลาโนทอล (Plaunotol) ซึ่งเป็นตัวยาสำหรับรักษาโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้ที่มีประสิทธิภาพดีและไม่มีผลข้างเคียงเหมือนยาสังเคราะห์ที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน (วีณา วิรัจฉริยากูล และคณะ, 2533) จากการสำรวจพบว่าเปล้าน้อยที่ปลูกที่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์มีปริมาณเปลาโนทอลสูงกว่าต้นเปล้าน้อยที่พบที่จังหวัดปราจีนบุรี (Ogiso *et al.*, 1978) ดังนั้นบริษัทซังเกียวของญี่ปุ่นจึงได้ลงทุนปลูกเปล้าน้อยเพื่อผลิตสารที่มีฤทธิ์ในการรักษาแผลในกระเพาะอาหารที่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ขึ้น ขณะนี้เปลาโนทอลได้ขึ้นทะเบียนเพื่อจำหน่ายในประเทศไทยแล้ว ทำให้มีผู้สนใจศึกษาเกี่ยวกับสารเปลาโนทอลในเปล้าน้อยมากขึ้น เนื่องจากเป็นยารักษาโรคกระเพาะอาหารจากสมุนไพรตัวเดียวของโลก ดังนั้นการผลิตใบเปล้าน้อยที่มีคุณภาพสูงเพื่อป้อนโรงงานผลิตยาจึงเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญมาก จากการวิจัยของนลิน นิลอุบล และคณะ (2537) รายงานผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารเปลาโนทอลในตัวอย่างใบเปล้าน้อยที่เก็บจากจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ กาญจนบุรี และกรุงเทพมหานคร รวม 137 ตัวอย่าง พบว่าคุณภาพของใบเปล้าน้อยขึ้นอยู่กับสายพันธุ์เป็นหลัก ไม่ได้ขึ้นกับสถานที่ปลูก ใบเปล้าน้อยจากต้นที่ปลูกในพื้นที่เดียวกันมีปริมาณเปลาโนทอลต่างกันอย่างชัดเจน ต้นเปล้าน้อยที่มีอยู่ตามธรรมชาติจะมีความหลากหลายในสายพันธุ์ คุณภาพของใบเปล้าน้อยนอกจากจะขึ้นกับสายพันธุ์แล้ว ยังขึ้นอยู่กับช่วงฤดูที่เก็บและความสมบูรณ์ของใบด้วย ใบเปล้าน้อยที่มีคุณภาพดีเหมาะที่จะใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตยาเปลาโนทอล ต้องมีปริมาณสารเปลาโนทอลสูง มีปริมาณสารเจือปนอื่นๆ ในสารสกัดที่สกัดจากใบ (crude extract) ต่ำ

1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

เปล้าน้อย มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Croton sublyratus* Kurz (รูปที่ 1-1 และ 1-2) เป็นพืชในวงศ์ Euphorbiaceae (สุพจน์ อัศวพันธุ์ธนกุล และคณะ, 2528) จัดเป็นไม้พุ่มหรือไม้ต้นผลัดใบ ขนาดเล็ก สูง 2-3.5 เมตร ตามยอดอ่อนปกคลุมด้วยรังแคสนิม ใบเป็นใบเดี่ยว เรียงสลับกัน รูปไข่หัวกลับมีขนาดกว้าง 4-6 เซนติเมตร ยาว 10-15 เซนติเมตร โคนใบสอบแคบ เป็นรูปหัวใจ และมีต่อม 2 ต่อม ขอบใบมีรอยหยักเล็กๆ ไม่สม่ำเสมอคล้ายฟันเลื่อย ปลายใบแหลมหรือทู่ เนื้อใบบางผิวใบเรียบสีเขียวจะเปลี่ยนเป็นสีส้มเมื่อใบแก่ ใบแก่จะเกลี้ยง หรือมีขนรูปดาวตามเส้นใบด้านล่าง เส้นกลางใบและเส้นใบสาก ก้านใบยาว 0.6-3.7 เซนติเมตร บางช่วงใบจะออกถี่ ก้านใบจะสั้น แต่บางช่วงใบจะออกห่าง ก้านใบยาวมีขนรูปดาว

ดอกมีขนาดเล็ก ออกเป็นช่อเหนือรอยแผลใบบริเวณใกล้ยอด ดอกมีสีเหลืองนวล ดอกเพศผู้และดอกเพศเมียอยู่บนต้นเดียวกัน ดอกเพศผู้ส่วนใหญ่จะมีกลีบดอกและกลีบรองดอก 5 กลีบ เป็นรูปหอกค่อนข้างกว้าง ปลายแหลม ด้านนอกมีขนสีน้ำตาลอมเหลือง ขอบกลีบมีขน ฐานรองดอกมีขนยาว เกสรตัวผู้มี 15-20 อัน ลักษณะเกลี้ยง ส่วนดอกเพศเมีย ไม่มีกลีบดอก แต่มีกลีบรองดอกลักษณะเหมือนกับดอกเพศผู้ แต่มีจำนวนกลีบมากกว่า บริเวณรังไข่มีขนสีน้ำตาลอมเหลืองหนาแน่นเป็นรูปดาว ปลายเกสรตัวเมียจะสั้น (ลีนา ผู้พัฒนพงศ์ และธวัชชัย วงศ์ประเสริฐ, 2530; วันดี กฤษณพันธุ์, 2537)

ผลเป็นรูปกลม มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.8 เซนติเมตร มีผล 3 ผลเล็กๆอยู่รวมกัน ยาว 3-5 มิลลิเมตร และมีขนรูปดาว ส่วนเมล็ดมีขนาดยาว 2-3 มิลลิเมตร มีผิวเรียบ มีลายตามยาวสีขาวและสีน้ำตาล (ลีนา ผู้พัฒนพงศ์ และธวัชชัย วงศ์ประเสริฐ, 2530; Hooker, 1973)

ถิ่นที่อยู่ กระจายอยู่ทั่วไปในเขตร้อนของโลก โดยเฉพาะประเทศทางแถบทะเลอันดามัน เช่น อินโดนีเซีย มาเลเซีย ไทย พม่า ทางตอนใต้ของจีน สำหรับในประเทศไทยพบในป่าเบญจพรรณ ที่ตำบลโนนน้อม จังหวัดปราจีนบุรี และตำบลห้วยทราย ตำบลห้วยยาง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (สุพจน์ อัศวพันธุ์ธนกุล และคณะ, 2528; ณรงค์ เพ็งปรีชา, 2530; ลีนา ผู้พัฒนพงศ์ และธวัชชัย วงศ์ประเสริฐ, 2530)

พันธุ์เปล้าน้อยมีหลายชนิดคือ *Croton sublyratus* Kurz, *C. joufra* Roxb และ *C. kerri* Craib แต่ชนิดที่มีสารเปลาโนทอล (plaunotol) ได้แก่ *C. sublyratus* Kurz (ณรงค์ เพ็งปรีชา, 2530) พบขึ้นกระจายตามภาคต่างๆ ของประเทศ การขยายพันธุ์ของเปล้าน้อยใช้วิธีเพาะเมล็ด (seedling) และการปักชำ (cutting) (เปรมจิต ฆาคประสิทธิ์, บรรณาธิการ, 2528)

รูปที่ 1-1 เปล้าน้อย (*Croton sublyratus* Kurz)

รูปที่ 1-2 ยอดของเปล้าน้อยที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.3 ประโยชน์ทางยา

เปล้าน้อยเป็นยาไทยมักใช้ร่วมกับเปล้าใหญ่โดยใช้ใบบำรุงธาตุ ดอกแก้พยาธิ ลูกดองกินขับโลหิต เปลือกและกระพี้ช่วยย่อยอาหาร ผลขับหนองให้กระจาย แก่นขับเลือดขับหนอง รากขับลมแก้ลมขึ้น ในชนบทใช้รากแก้น้ำเหลืองเสีย แก้โรคเรื้อน มะเร็ง คุดทะราด ทำให้น้ำเหลืองแห้ง การใช้เปล้าน้อยในลักษณะยาไทยใช้ประกอบกันอยู่ในตำรับที่เกี่ยวกับยาเลือด (สุพจน์ อัศวพันธุ์ธนกุล และคณะ, 2528) ใช้ใบต้มอาบแก้ผื่นคันตามผิวหนังและขับพยาธิ (Ogiso *et al.*, 1978; สุพจน์ อัศวพันธุ์ธนกุล และคณะ, 2528)

1.4 การปลูกเปล้าน้อยเพื่อเป็นอุตสาหกรรม

การปลูกเปล้าน้อยเพื่อเป็นอุตสาหกรรม จะปลูกจำนวน 250-258 ต้น ในเนื้อที่ 1 ไร่ มีระยะระหว่างต้นประมาณ 2.5 x 2.5 เมตร เก็บเกี่ยวผลผลิตได้เมื่อต้นมีอายุ 3 ปีขึ้นไป และให้ผลผลิตเป็นระยะเวลานานกว่า 10 ปี โดยเก็บใบอ่อนปีละ 2-3 ครั้ง ขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของต้น ปีหนึ่งๆ จะให้ผลผลิตเป็นน้ำหนักใบแห้งประมาณ 625-750 กิโลกรัมต่อไร่ (ณรงค์ เพ็งปรีชา, 2530) แม้จะมีโรงงานสกัดสารจากใบเปล้าน้อย แต่ผลผลิตที่ได้เป็นสารสกัดที่ยังมีสิ่งเจือปน (crude extract) ในรูปสารละลายจากใบเปล้าน้อย มีความเข้มข้นของเปลาโนทอลสูงสุดประมาณ 10 % ขณะนี้ได้ผลิตเป็นยาเม็ดแผนปัจจุบัน และจดลิขสิทธิ์โดยบริษัทชังเกียวของประเทศญี่ปุ่นซึ่งมีพื้นที่ปลูกที่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์มากกว่า 7,000 ไร่ ตั้งโรงงานสกัดสารในขั้นต้นต้นด้วยเมทานอลได้วันละ 9 ตัน (ชมรมสมุนไพรไทย, 2539) และนำกลับไปดำเนินการต่อที่ญี่ปุ่นได้สารเปลาโนทอลซึ่งเป็นวัตถุดิบในการผลิตยารักษาแผลในกระเพาะอาหาร (สุพจน์ อัศวพันธุ์ธนกุล และคณะ, 2528; ชมรมสมุนไพรไทย, 2539)

1.5 สารสำคัญของเปล้าน้อย

มีรายงานพบสารประกอบในเปล้าน้อยหลายกลุ่ม เช่น ไดเทอร์พีนแลกโทน (diterpene lactones) (Kitazawa *et al.*, 1979; Kitazawa *et al.*, 1980) ฟิวรานอยด์ไดเทอร์พีน (furanoid diterpenes) (Takahashi *et al.*, 1983) ไดเทอร์พีนแอลกอฮอล์ (diterpene alcohols) (Kitazawa and Ogiso, 1981) เอสเทอร์ของไดเทอร์พีนแอลกอฮอล์ (ester of diterpene

alcohols) และเปลาโนทอล (plaunotol) เป็นสารที่มีฤทธิ์ในการรักษาแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้ (antipeptic ulcer) ผลผลิตของแต่ละไดเทอร์พีนอยด์ที่แยกได้จากแต่ละส่วนของเปล้าน้อยแสดงในตารางที่ 1-1

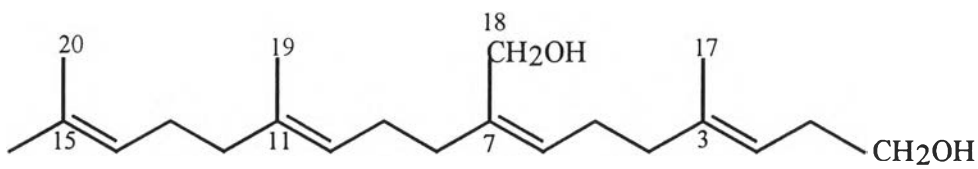
ตารางที่ 1-1 สารประกอบไดเทอร์พีนที่พบในเปล้าน้อย (*C. sublyratus* Kurz)

ชื่อสารประกอบ	ส่วนที่พบ	ผลผลิต(%)	เอกสารอ้างอิง
Furanoditerpene A	ลำต้น	0.0147	Ogiso และคณะ, 1978
Furanoditerpene B	ลำต้น	0.0344	Ogiso และคณะ, 1978
Hexaleca-2-trans-6-cis-10-trans-14-tetraen -1-ol-7-hydroxy-methyl-3-11-15-trimethyl	ลำต้น	0.0650	Ogiso และคณะ, 1978
Raurane,16-beta-17-dehydroxy	ลำต้น	0.0018	Kitazawa และ Ogiso, 1981
Manool,13-tP1:3-alpha-hydroxy	ลำต้น	0.0019	Kitazawa และ Ogiso, 1981
Plaunol	ทุกส่วน	0.0344	Ogiso และคณะ, 1978
Plaunol A	ลำต้น	0.0069	Kitazawa และคณะ, 1980
Plaunol B	ลำต้น	0.0015	Kitazawa และคณะ, 1980
Plaunol C	ลำต้น	0.0018	Kitazawa และคณะ, 1980
Plaunol D	ลำต้น	0.0006	Kitazawa และคณะ, 1980
Plaunol E	ลำต้น	0.0050	Kitazawa และคณะ, 1980
Plaunolide	ลำต้น	0.2699	Takahashi และคณะ, 1983
Plaunotol	ใบ	0.0650	Ogiso และคณะ, 1978

$$\underline{\text{หมายเหตุ}} \quad \text{ผลผลิต(\%)} = \frac{\text{น้ำหนักสารที่สกัดได้}}{\text{น้ำหนักวัตถุดิบเปล้าน้อยเริ่มต้น}} \times 100$$

1.5.1 เปลาโนทอล

เปลาโนทอลเป็นสารสำคัญที่พบในเปล้าน้อย ได้แก่ ต้น ใบ ดอก และเมล็ด ซึ่งพบมากในใบอ่อน(ลีนา ผู้พัฒนพงศ์ และธวัชชัย วงศ์ประเสริฐ, 2530) เป็นสารประกอบทุติยภูมิพวกอะไซคลิกไดเทอร์พีนแอลกอฮอล์ (acyclic diterpene alcohol) มีชื่อทางเคมีว่า (E,Z,E)-7-hydroxymethyl-3,11,15-trimethyl-2,6.10,14-hexadecateraen-1-ol หรือ 18-hydroxygeranylgeraniol มีสูตรโครงสร้างคือ $C_{20}H_{34}O_2$ ดังแสดงในรูปที่ 1-3 และมีน้ำหนักโมเลกุล 306.256 (Ogiso *et al.*, 1978) ผ่านการจดทะเบียนจากองค์การอนามัยโลก หรือ World Health Organization (WHO) มีชื่อรหัสย่อว่า CS-684



รูปที่ 1-3 โครงสร้างทางเคมีของเปลาโนทอล (Plaunotol: (E,Z,E)-7-hydroxymethyl-3,11,15-trimethyl-2,6,10,14-hexadecateraen-1-ol หรือ 18-hydroxygeranylgeraniol)

เปลาโนทอลมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เป็นยารักษาโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้ (antipeptic ulcerative) ที่มีฤทธิ์กว้าง มีประสิทธิภาพดี ไม่มีผลข้างเคียงทางยาเหมือนยาสังเคราะห์ที่ใช้ในปัจจุบัน (วีณา วิรัจฉริยากูล และคณะ, 2533; วันดี กฤษณะพันธุ์, 2537) นับเป็นครั้งแรกในโลกที่สามารถสกัดสารสำคัญจากสมุนไพรที่มีผลในการรักษาโรคอย่างปลอดภัยที่สุด (สุพจน์ อัศวพันธุ์ธนกุล และคณะ, 2528) และมีคุณสมบัติพิเศษที่ต่างจากยารักษาแผลในกระเพาะชนิดอื่นๆ คือ มีคุณสมบัติกระตุ้นการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ขึ้นมาแทนที่ทำให้แผลหายเร็วและกระตุ้นการสร้างโพรสทาแกลนดิน (Prostaglandin) ซึ่งเป็นผลให้การหลั่งกรดลดลง ทำให้ระบบป้องกันการดูดซับกรดของเนื้อเยื่อบุกระเพาะอาหารซึ่งอาจถูกทำลายด้วยสารบางอย่างกลับดีขึ้น (ณรงค์ เพ็งปรีชา, 2530; วันดี กฤษณะพันธุ์, 2537; ชมรมสมุนไพรไทย, 2539)

จากการศึกษาวิจัยของศิริมา พรสุวัฒนกุล (2531) พบว่าสารจากใบเปล้าน้อยที่ได้จากการสกัดอย่างหยาบด้วยแอลกอฮอลล์และน้ำมีประสิทธิภาพในการรักษาและป้องกันโรคแผลในกระเพาะได้ใกล้เคียงกับไซเมทิดีน (cimetidine)

เปลาโนทอลถูกค้นพบในปี ค.ศ. 1977 โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่น (Ogiso *et al.*,1978) เริ่มจำหน่ายครั้งแรกในญี่ปุ่น เมื่อปี ค.ศ. 1986 มียอดขายสูงถึง 800 ล้านบาทขณะนี้ขึ้นทะเบียนเพื่อจำหน่ายในประเทศไทยและจดลิขสิทธิ์โดยบริษัทซังเกียวประเทศญี่ปุ่น (วีณา วิรัจฉริยากูล และคณะ, 2533) ปัจจุบันมีการสกัดเปลาโนทอลจากใบของต้นเปล้าน้อยเพื่อผลิตยารักษาแผลในกระเพาะอาหารมีชื่อทางการค้าว่า Kelnac ซึ่งผลิตใน 2 รูปแบบ คือ ชนิดเหลวบรรจุแคปซูล (soft gelatin capsule) ขนาด 80 มิลลิกรัม และชนิดผงบรรจุซอง (micro granule) ขนาด 80 มิลลิกรัม (สุพจน์ อัศวพันธุ์ธนกุล และคณะ, 2528; วีณา วิรัจฉริยากูล และคณะ, 2533) ขนาดที่เหมาะสมจากการวิจัยคือ 80 มิลลิกรัม วันละ 3 ครั้ง ติดต่อกัน 8 สัปดาห์ (ชมรมสมุนไพรไทย, 2539) อาการของผู้ป่วยจะดีขึ้น 80-90% (วันดี กฤษณพันธุ์, 2537) มีรายงานการศึกษาในการใช้ยาเคลแนคร่วมกับยาปฏิชีวนะบางตัวพบว่าสามารถฆ่าเชื้อ *H. pylori* ซึ่งเชื่อว่าเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดมะเร็งในกระเพาะอาหารได้อีกด้วย (ชนะ พรหมเดช, 2538)

อาการข้างเคียงพบน้อยมาก ไม่ปรากฏว่ามีฤทธิ์ข้างเคียงที่สำคัญแต่อย่างใด อาจมีผื่นขึ้นตามลำตัว ท้องเสีย แน่นท้อง ท้องผูก หรือท้องเดินบ้าง แต่เป็นอาการเพียงเล็กน้อยเฉพาะบางคนเท่านั้น สารชนิดนี้ถูกดูดซึมในทางเดินอาหารได้ดี และถูกออกซิไดซ์ในตับแล้วขับผ่านไตออกมาจากร่างกายทางปัสสาวะและอุจจาระ (ชมรมสมุนไพรไทย, 2539) สตรีมีครรภ์สามารถใช้ยานี้ได้ ไม่มีผลข้างเคียงต่อทารกเหมือนอย่างเช่น ยาทาลิโดไมด์ (Thalidomide) ของอเมริกาเมื่อ 30-40 ปีก่อน ที่ทำให้ทารกแขนขากุดที่เรียกว่า "ทารกทาลิโดไมด์" (ชนะ พรหมเดช, 2538) มีการทดลองในหนูขาวที่กำลังตั้งครรภ์พบว่าไม่มีพิษต่อตัวอ่อน ไม่มีฤทธิ์ก่อการกลายพันธุ์ (วันดี กฤษณะพันธุ์, 2537) ส่วนเปลานอลนั้น บริษัทซังเกียวได้ทำการทดลองพบว่าได้ผลดีเช่นเดียวกัน แต่ไม่ควรใช้ใบเปล้าน้อยในรูปสมุนไพรเพราะเปลาโนทอลสลายตัวเมื่อถูกความร้อนและอาจมีสารอื่นๆ ซึ่งเป็นพิษก็ได้ (ชมรมสมุนไพรไทย, 2539)

1.6 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Plant Tissue Culture : Micropropagation)

เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อชักนำให้เนื้อเยื่อมีการพัฒนาเป็นต้นและเพิ่มปริมาณต้นที่ได้จนสามารถผลิตเป็นการค้าได้นั้น (Hartmann and Kester, 1983) นับเป็นวิธีการสำคัญที่นำมาใช้กันอย่างกว้างขวางสำหรับการพัฒนางานทางด้านการเกษตร และงานในสาขาวิชาอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง ทั้งนี้เนื่องจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการขยายพันธุ์นั้นจะทำให้พืชมีลักษณะตรงตามพันธุ์เดิมมากที่สุด และมีปริมาณมากในระยะเวลาอันสั้น

1.7 สารควบคุมการเจริญเติบโต

ฮอร์โมนพืช คือ สารประกอบอินทรีย์ที่พืชชั้นสูงสร้างขึ้นเองตามธรรมชาติเพื่อควบคุมการเจริญเติบโตและการพัฒนาการของพืช (Janet, 1980; Pierik, 1989) สารเหล่านี้ถูกผลิตขึ้นมาในปริมาณน้อยมาก โดยจะมีฤทธิ์ต่อส่วนต่างๆ ของพืชแตกต่างกันไป มีสารอีกพวกหนึ่งที่สังเคราะห์ขึ้นมาโดยเลียนแบบจากฮอร์โมนพืชในธรรมชาติ ฮอร์โมนพืชและสารสังเคราะห์ขึ้นมานี้รวมเรียกว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต (Growth regulators) (Pierik, 1989)

สารประกอบเหล่านี้มีหลายกลุ่ม ได้แก่ ออกซิน, ไซโตไคนิน, จิบเบอเรลลิน และกรดแอบไซซิก เป็นต้น แต่กลุ่มที่ใช้ประโยชน์ทางการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมากที่สุด คือ ออกซิน และไซโตไคนิน (Donald, 1980; Nemeth, 1986)

1.7.1 ออกซิน

ออกซินเป็นสารเร่งการเจริญเติบโตที่ค้นพบเป็นกลุ่มแรก มีบทบาทช่วยในการขยายขนาดของเซลล์ (cell enlargement) ทั้งทางด้านกว้างและด้านยาว ทำให้เซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้นและยังเพิ่มอัตราการแบ่งเซลล์ ทำให้เนื้อเยื่อพืชเจริญเป็นแคลลัส (callus) กระตุ้นการเจริญของราก และยับยั้งการเจริญของยอด (Zaerr and Mapes, 1982) ถ้าออกซินความเข้มข้นต่ำจะกระตุ้นการออกราก ความเข้มข้นสูงกระตุ้นให้เจริญเป็นแคลลัสมากกว่างอกราก (Pierik, 1989) และยังมีผลต่อการผลิตสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสมุนไพร

ชนิดของออกซิน (Zaerr and Mapes, 1982)

ก. ออกซินจากธรรมชาติ ได้แก่

- IAA (Indole-3-acetic acid)
- Indolepropionic acid (IPA)

สารประกอบเหล่านี้เกิดขึ้นในพืชโดยมีทริปโทเฟน (trytophan) เป็นสารเริ่มต้นในการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจะไม่ใช้ออกซินจากธรรมชาติ เนื่องจากทำการแยกสกัดจากพืชได้ยาก เพราะพืชผลิตขึ้นมาในปริมาณน้อยมาก (Donald, 1980; Pierik, 1989)

ข. ออกซินจากการสังเคราะห์ (synthetic auxins) ได้แก่

- IAA (สังเคราะห์)
- NAA (α-naphthaleneacetic acid)
- IBA (Indole-3-butyric acid)
- 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid)

ออกซินที่ได้จากการสังเคราะห์จะมีฤทธิ์แรงกว่าออกซินที่ได้จากธรรมชาติ และมีประโยชน์มากในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช แต่การใช้ 2,4-D จะมีข้อจำกัด เพราะสามารถทำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ สามารถยับยั้งการสังเคราะห์แสงของพืชด้วย ในขณะที่ NAA, IBA, IAA ไม่มีผลดังกล่าว (Pierik, 1989) และ 2,4-D จะใช้ในการชักนำให้เกิดแคลลัส (Janet, 1980) ส่วน IAA, IBA, NAA จะใช้ในการชักนำให้เกิดราก (Smith, 1992)

1.7.2 ไซโตไคนิน

ไซโตไคนินเป็นสารเร่งการเจริญเติบโตของพืช มีบทบาทเกี่ยวกับการแบ่งตัวของเซลล์พืช (Szweykowska, 1974; Donald, 1980) และการสังเคราะห์สารประเภทโปรตีน กระตุ้นการแบ่งเซลล์โดยเฉพาะเมื่อใช้ร่วมกับออกซิน ไซโตไคนินความเข้มข้นสูง (1-10 มิลลิกรัมต่อลิตร) จะกระตุ้นให้เกิดยอดแต่จะยับยั้งการเกิดราก (Pierik, 1989)

ชนิดของไซโตไคนิน

ก. ไซโตไคนินที่ได้จากธรรมชาติ ได้แก่

- kinetin (6-furfurylaminopurine หรือ 6-furfurylasenine)
- Zeatin (6-(4-hydroxy-3-methylbut-2-enyl) aminopurine)
- 2iP (iso-pentenylaminopurine) (Banga และ Durzan, 1987)

ข. ไซโตไคนินที่ได้จากการสังเคราะห์ (Synthetic cytokinins) ได้แก่

- kinetin (สังเคราะห์)
- BA (N_6-benzyladenine) หรือ BAP (6-benzylaminopurine)

ไซโตไคนินชนิดที่ได้จากการสังเคราะห์จะมีประโยชน์ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมากกว่าไซโตไคนินที่ได้จากธรรมชาติ (Donald, 1980)

การเติมออกซินและไซโตไคนินลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อให้เซลล์ของพืชมีการขยายขนาด และ/หรือมีการแบ่งเซลล์เกิดขึ้น ขึ้นอยู่กับชนิดของเนื้อเยื่อพืช และชนิดของพืชที่นำมาเลี้ยง เช่น เนื้อเยื่อพืชที่สามารถสร้างออกซินได้เพียงพอ จะไม่ต้องการออกซินจากอาหารอีก ดังนั้นสามารถแบ่งการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชตามความต้องการออกซินและไซโตไคนินของพืชได้ 4 ชนิด (Pierik, 1989) คือ

1. เนื้อเยื่อพืชที่ไม่ต้องการทั้งออกซินและไซโตไคนิน
2. เนื้อเยื่อพืชที่ต้องการเฉพาะออกซิน
3. เนื้อเยื่อพืชที่ต้องการเฉพาะไซโตไคนิน
4. เนื้อเยื่อพืชที่ต้องการทั้งออกซินและไซโตไคนิน

1.8 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเปล้าน้อย

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเปล้าน้อยมีรายงานครั้งแรกในปี 1990 โดย Murai, Akiyama และ Morimoto ทำการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงจากเมล็ดของเปล้าน้อยในอาหารแข็งสูตรมูราชิเกะและสคูค (Murashige และ Skoog, 1962, MS) ที่มีการเติม NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถพัฒนาเป็นแคลลัส (callus) และเมื่อย้ายลงในอาหารแข็งที่มีการเติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับกรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถพัฒนาเป็นยอดได้ปริมาณมาก (multiple shoots) และเมื่อเลี้ยงในอาหารแข็งที่มีการเติมกรดอินโดลแอซิติก (IAA) 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีการเติมไบโอไฟเบอร์ (BD_2) 5 กรัม สามารถชักนำให้เกิดรากและพัฒนาเป็นต้นได้

บริษัทซังเกียว ประเทศญี่ปุ่น ทำการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบ ใบอ่อน และแคลลัสจากใบอ่อนของพืชในกลุ่ม Croton โดยเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบในอาหารที่มีการเติมเบนซิลอะมิโนพิวรีน (Benzylaminopurine, BAP) 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงใบอ่อนในอาหารที่มีการเติม BAP 0.2-5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.2-0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และเพาะเลี้ยงแคลลัสจากใบอ่อนในอาหารที่มีการเติม BAP 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ GA_3 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 1-5 ยอดต่อ 1 ชิ้นส่วน คิดเป็นร้อยละ 40 และสามารถชักนำให้เกิดรากร้อยละ 15 โดยใช้ไฟเบอร์เป็นตัวยึดเกาะในอาหารเหลว MS ที่มี IAA 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร (Sankyo, Kirin-Brew, 1990)

Shibata *et al.*, 1996 เพาะเลี้ยงตายอดที่ได้จากการเพาะเมล็ดเปล้าน้อยในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และเพาะเลี้ยงตาข้างในอาหารสูตร MS ที่มีการเติมฟีนิลยูเรีย (N-(2-chloro-4-pyridyl)-N^1-phenylurea, 4PU) 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถชักนำให้เกิดยอดได้และสามารถเพิ่มจำนวนยอดได้โดยเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร และชักนำให้เกิดรากได้ร้อยละ 60 ในอาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นสารอาหารเหลือเพียง 1 ใน 10 (1/10 MS) ร่วมกับเวอร์มิคูไลท์ (vermiculite) ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต

สำหรับในประเทศไทย อพัชชา วงศ์เจริญสถิตย์ (2537) ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแคลลัสที่ได้จากใบเปล้าน้อย (*Croton sublyratus* Kurz) ในอาหารสูตร MS ที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ GA_3 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 13 ยอดต่อเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง และมีประสิทธิภาพการเกิดยอดเป็นร้อยละ 87.5

เนื่องจากยังไม่มีการศึกษาการขยายพันธุ์เปล้าน้อยโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมากนัก การศึกษาส่วนใหญ่เกี่ยวกับเปล้าน้อยจะเป็นการศึกษาทางด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อผลิตสารเปลาโนทอล และเพื่อให้งานการขยายพันธุ์เปล้าน้อยสามารถประสบความสำเร็จ ดังนั้นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเปล้าน้อยจึงใช้แนวทางการทดลองจากพืชตระกูลเดียวกันคือ พืชในวงศ์ Euphorbiaceae และพืชที่มีลักษณะเนื้อไม้เป็นไม้เนื้อแข็งเช่นเดียวกัน

1.9 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม้เนื้อแข็ง

Hansen และ Lazarte (1984) เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างและปล้องของ pecan (*Carya illinoinensis* (Wang.) K. Koch) ในอาหารสูตร WPM (Woody plant medium: Lloyd และ McCown, 1981) ที่มี BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถพัฒนาเป็นยอดได้ 10 ยอดต่อ 1 ชิ้นส่วน และเมื่อเลี้ยงใน WPM ที่มีการเติม IBA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 วัน หรือในอาหารที่มี IBA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 10 วัน สามารถชักนำให้เกิดรากได้ร้อยละ 93

Lakshmi (1986) ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างของ *Eucalyptus grandis* ใน MS ที่มีการเติม BAP 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 30-50 ยอดชิ้น และสามารถชักนำให้เกิดรากได้ร้อยละ 70 ในอาหารสูตรของไวท์ (White's medium) ที่มี IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

Sugiura *et al.* (1986) ทำการเพาะเลี้ยงตาข้างของ Japanese persimmon ในอาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นของไนเทรตลงครึ่งหนึ่ง {MS (1/2 NO_3)} และมีการเติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ และสามารถชักนำให้เกิดรากได้ในอาหารสูตร MS ที่มี IBA 250 มิลลิกรัมต่อลิตร

Zhang และ Davies (1986) เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างของ *Crape myrtle* ในอาหารสูตร WPM ที่มีการเพิ่มสารแอมโมเนียมไนเทรต แคลเซียมไดไนเทรต ไดโพแทสเซียมซัลเฟต แมกนีเซียมซัลเฟต แมงกานีสซัลเฟต ซิงค์ซัลเฟต และคอปเพอร์ซัลเฟตเป็น 2 เท่า ร่วมกับ PBA (*N*-(phenylmethyl)-9-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)-9*H*-purin-6-amine) 9.7 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดการแตกตาได้ และสามารถชักนำให้เกิดรากได้ร้อยละ 95 โดยจุ่มยอดอย่างเร็วเป็นเวลา 15 วินาทีใน IBA 0-49.2 ไมโครโมลาร์

Vieitez, Barciela และ Ballester (1989) เพาะเลี้ยงตาข้างของ *Camellia japonica* cv. Alba plena ในอาหารสูตร WPM ที่มี BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ซีเอติน (Zeatin) 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

ร่วมกับ 2iP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ และเมื่อจุ่มยอดใน IBA 1 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 15 นาที และเพาะเลี้ยงในอาหาร WPM ในที่มืด 12 วัน จึงนำสู่สภาพแสง พบว่าสามารถชักนำให้เกิดรากได้ร้อยละ 76

Suparman และ Blake (1990) เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างของต้น clove ในอาหารสูตร WPM ที่มี BAP 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ และเมื่อจุ่มยอดใน NAA 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้

Blomstedt *et al.* (1991) เพาะเลี้ยงตาข้างที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ด *Eucalyptus regnans* (mountain ash) ในอาหารสูตร MS ที่มี NAA 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ และสามารถชักนำให้เกิดรากได้ในอาหารสูตร WPM ที่มี IBA 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายในระยะเวลา 7 วัน แล้วย้ายลงใน WPM ที่มีผงถ่าน 5 กรัมต่อลิตร

Smith และ Obeidy (1991) เพาะเลี้ยงปลายยอดและตาข้าง Kentucky coffeetree ในอาหารสูตร MS ที่เติม กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0.1 หรือ 1.0 ไมโครโมล สามารถแตกยอดใหม่ได้ เมื่อย้ายลงในอาหารที่มี BA 36 โมลาร์ ร่วมกับ IBA 5 โมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากเฉลี่ย 35 ยอดต่อเดือน และชักนำให้เกิดรากได้ในอาหารสูตร MS ที่มีสารอาหารเพียงครึ่งหนึ่ง ที่มีการเติม IBA 7.5 โมลาร์

Yamada *et al.* (1991) เพาะเลี้ยงตาข้างของ *Gentiana scabra* Bunge var. buergeri Maxim ในอาหาร MS ที่มี GA_3 ร่วมกับ BA ชนิดละ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถพัฒนาเป็นยอดได้ และเมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่าสามารถชักนำให้เกิดรากได้

Zimmerman, Davies และ Zajicek (1991) ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปล้องและตาข้างของ wildflower (*Dyssodia pentacheta* (D.C.)) ในอาหารสูตร WPM ที่มีการเติม BA 1-10 ไมโครโมลาร์ สามารถพัฒนาเป็นยอดได้ และเมื่อจุ่มยอดใน IBA 3 หรือ 10 มิลลิโมลาร์ พบว่าสามารถชักนำให้เกิดรากได้

Shim, Ha และ Lee (1992) เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้าง Trast Dwarf (*Betula pendula*) ในอาหารสูตร WPM ที่มี BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือในอาหารสูตร WPM ที่มี BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 10.28 และ 9.8 ยอดต่อชิ้น ตามลำดับ และชักนำให้เกิดรากได้ในอาหารสูตร GD (Gresshoff และ Doy's medium) หรืออาหารสูตร GD ที่มีสารอาหารเพียงครึ่งหนึ่ง (1/2 GD) ร่วมกับ IBA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร

Raghava, Himabindu และ Lakshmi (1992) เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างของ rosewood ในอาหารสูตร MS หรือ WPM ที่มีการเติม BAP 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kn 0.5-1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 8 ยอดต่อชิ้น และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มีสารอาหารเพียงครึ่งหนึ่ง (1/2 MS) ที่มีการเติม IBA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถชักนำให้เกิดรากได้

Corchete, Diez และ Valle (1993) ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างของ *Ulmus pumila* L. ในอาหารสูตร MS ที่มี BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 5.1 ยอดต่อชิ้น และสามารถชักนำให้เกิดรากได้ในอาหารสูตร MS ที่มี NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ MS ที่มีสารอาหารเพียงครึ่งหนึ่ง และมีการเติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

Edson, Wenny และ Leege (1994) ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปล้องของต้น Pacific dogwood ในอาหารสูตร WPM ที่มี BA 4.4 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 3.1 ยอดต่อชิ้น และนำไปออกรากในสภาวะเรือนทดลองโดยจุ่มในผง IBA ร้อยละ 4.5 สามารถชักนำให้เกิดรากได้

Rasai, Kantharajah และ Dodd (1994) ทำการเพาะเลี้ยงตาข้างของ Atemoya ในอาหารสูตร MS ที่มีแอมโมเนียมไนเทรต 1 กรัมต่อลิตร และย้ายลงใน MS ที่มี BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ และชักนำให้เกิดรากได้ร้อยละ 40 ในอาหารเหลว MS ที่มี IBA 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับผงถ่านร้อยละ 0.25 ทำการเพาะเลี้ยงในที่มืดเป็นเวลา 3 วันก่อนจึงนำออกสู่สภาพที่มีแสง

Silveira และ Cottignies (1994) ทำการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปล้องที่มีตายอด 2 ตา ในอาหารสูตร WPM ที่มี BAP 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือในอาหาร WPM ที่มี BAP 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA 0.03 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 3 ยอดต่อชิ้น และชักนำให้เกิดรากได้ในอาหารสูตร WPM ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต

Deora และ Shekhawat (1995) ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างของ *Capparis decidua* (Forsk) Edgew ในอาหารสูตร MS ที่มี IAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BAP 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 4-7 ยอดต่อ 1 ชิ้นส่วน และเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีสารอาหารเพียงครึ่งหนึ่ง ร่วมกับ IBA 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ในที่มืดเป็นเวลา 4 ชั่วโมง และย้ายลงเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติมผงถ่าน 500 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถชักนำให้เกิดรากได้

Mathr, Ramawat และ Nandwani (1995) เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นของต้น jujube ในอาหารสูตร MS ที่มีการเติมโพแทสเซียมไดเทรต 3,800 มิลลิกรัมต่อลิตร แอมโมเนียมไนเทรต 2,475 มิลลิกรัมต่อลิตร BA 11 ไมโครโมลาร์ และ IAA 0.5 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 15-20 ยอด และจุ่มยอดใน IBA หรือ NAA 50 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และย้ายลงในอาหาร White's medium ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตสามารถชักนำให้เกิดรากได้

Sarinee *et al.* (1996) ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างของ *Melia azedarach* ในอาหารสูตรลินสเมียร์และสคูค (Linsmaier และ Skoog: LS) ที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ และสามารถชักนำให้เกิดรากได้ร้อยละ 85 โดยจุ่มในสารละลาย IAA และ IBA ชนิดละ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 วัน และเลี้ยงในอาหาร LS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต

Sudha และ Seeni (1996) เพาะเลี้ยงปลายยอดและตาข้างของ *Rauwolfia micrantha* ในอาหารสูตร MS ที่มี BA 13.2 ไมโครโมลาร์ และ NAA 2.68 ไมโครโมลาร์ ชักนำให้เกิดยอดได้ 3 ยอด และสามารถชักนำให้เกิดรากได้ในอาหารสูตร MS ที่มี NAA 2.6 ไมโครโมลาร์

Kaveriappa, Phillipps และ Trigiano (1997) ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างของต้น dogwood (*Cronus florida*) ในอาหารสูตร WPM ที่มี BA 2.2 หรือ 4.4 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดการพัฒนาเป็นยอดได้ 3 และ 14 ยอดต่อชิ้น ตามลำดับ และชักนำให้เกิดรากได้ในอาหารสูตร WPM ที่มี IBA 4.9 ไมโครโมลาร์

Ajithkumar และ Seeni (1998) เพาะเลี้ยงตาข้างของพืชสมุนไพร *Aegle marmelos* (L) Corr. ในอาหาร MS ที่มีการเติม BAP 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยได้ 12.1 ยอดต่อชิ้น คิดเป็นร้อยละ 48 และสามารถชักนำให้เกิดรากร้อยละ 70 ในอาหารสูตร 1/2 MS ที่มี IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือสามารถชักนำให้เกิดรากได้ร้อยละ 90 ในอาหารสูตร 1/2 MS ที่มี IBA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

Kaur, Verma และ Kant (1998) เพาะเลี้ยงตาข้างของสีเสียด (*Acacia catechu* Willd) ในอาหารสูตร MS ที่มีการเติม BAP 4 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร อะดีนีนซัลเฟต (adenine sulphate) 25 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดแอสคอร์บิก 20 มิลลิกรัมต่อลิตร และกลูทามีน (glutamine) 150 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้พัฒนาเป็นยอดได้ 8-10 ยอดต่อ 1 ชิ้นส่วน และสามารถเกิดรากได้ในอาหารสูตร MS ที่ลดปริมาณสารอาหารลงเหลือเพียง 1 ใน 4(1/4 MS) ที่เติม IAA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

Quraishi และ Mishra (1998) ทำการเพาะเลี้ยงตาข้างของ *Cleistanthus collinus* ซึ่งเป็นไม้เนื้อแข็งในวงศ์ Euphorbiaceae ในอาหารสูตร MS ที่มีกรดซิทริก 104.1 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ

พอลิไวนิลไพร์โรลิโดน 40 (Polyvinyl pyrrolidone, PVP 40) 12.5 หรือ 25 ไมโครโมลาร์ ที่มีการเติม BA 0.44 ไมโครโมลาร์ พบว่าสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 5.3 ยอดต่อชิ้น และเมื่อจุ่มยอดใน IAA 11.4 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 2 นาที และเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต ในที่มืดเป็นเวลา 72 ชั่วโมง สามารถชักนำให้เกิดรากได้ร้อยละ 50

ในประเทศไทย ธวัชชัย วรรธนะวลัญช์ (2532) เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างของขนุนในอาหารสูตร WPM ที่มี BA 14 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถพัฒนาเป็นยอดได้ และสามารถชักนำให้เกิดรากได้ในอาหารสูตร WPM ที่มี IBA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

พิมล เที่ยงธรรม (2538) เพาะเลี้ยงปลายยอดและตาข้างของต้นกฤษณาในอาหารสูตร WPM หรือ MS ที่ลดความเข้มข้นของไนเตรทลงครึ่งหนึ่ง (1/2 NO_3) ที่เติม BA 0.25-4.00 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก และเกิดรากได้ทั้งในอาหาร WPM ที่เติมและไม่เติมออกซิน

1.10 มูลเหตุจูงใจในการทำวิจัย

ขณะนี้เปลาโนทอลได้ขึ้นทะเบียนเพื่อจำหน่ายในประเทศไทยแล้ว ทำให้มีผู้สนใจศึกษาเกี่ยวกับสารเปลาโนทอลในเปล้าน้อยมากขึ้น เนื่องจากเป็นตัวยารักษาโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้จากสมุนไพรตัวเดียวของโลก ดังนั้นการผลิตใบเปล้าน้อยที่มีคุณภาพสูงเพื่อป้อนโรงงานผลิตยาจึงเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญมาก ใบเปล้าน้อยที่มีคุณภาพดีเหมาะที่จะใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตยาเปลาโนทอล จะต้องมีปริมาณสารเปลาโนทอลสูง และมีปริมาณสารเจือปนอื่น ๆ ในสารสกัดที่สกัดจากใบ (crude extract) ต่ำ

การปลูกเปล้าน้อยเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตยาในปัจจุบันประสบปัญหาต่าง ๆ หลายด้าน เช่น ความแปรปรวนของปริมาณสารเปลาโนทอล และปริมาณสารเจือปน ดังนั้นในการผลิตใบเปล้าน้อยเพื่อใช้ผลิตเปลาโนทอลหรือยารักษาโรคแผลในกระเพาะอาหารนั้น จะต้องมีการคัดเลือกพันธุ์ที่มีคุณภาพสูง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงนำเทคโนโลยีทางชีวภาพทางด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้ขยายพันธุ์เปล้าน้อยที่ผ่านการคัดเลือกพันธุ์แล้ว เพื่อขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนต้นเปล้าน้อยให้มีลักษณะเหมือนต้นพันธุ์เดิมและมีปริมาณมากในระยะเวลาสั้น เพื่อแก้ปัญหาการขาดแคลนวัตถุดิบที่มีคุณภาพ เป็นการประหยัดเวลาและพื้นที่ในการขยายพันธุ์

1.11 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการชักนำให้เกิดยอดจากส่วนต่าง ๆ ของเปล้าน้อย เช่น ปลายยอด ตาข้าง ปล้อง และเพื่อศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการชักนำให้ยอดของเปล้าน้อยเกิดรากในสภาพปลอดเชื้อ

1.12 ขั้นตอนของงานวิจัย

1.12.1 ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดยอดของเปล้าน้อยและการเพิ่มปริมาณยอด (Multiple shoots)

1.12.2 ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดราก

1.12.3 การย้ายต้นที่ได้ออกปลูกในสภาวะแวดล้อมในเรือนทดลอง

1.12.4 คำนวณต้นทุนการผลิตและจำนวนต้นที่ได้ภายในระยะเวลา 1 ปี