

การแปรในแคล์สของระย่อม
(Rauwolfia serpentina Benth.)



นาย กรวิชัย ฒ กลาง



ศูนย์วิจัยทรัพยากร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชาพฤกษศาสตร์

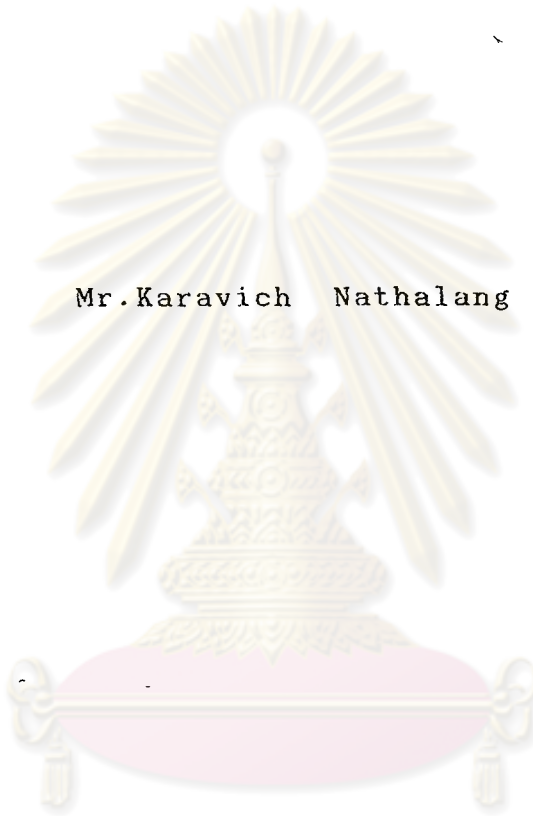
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2529

ISBN 974-566-706-4

013192

Variation in Callus of
Rauwolfia serpentina Benth.



Mr. Karavich Nathalang

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
For the degree of Master of Science

Department of Botany
Graduate School
Chulalongkorn University
1986

ISBN 974-566-706-4

หัวข้อวิทยานิพนธ์ : การแปรในแคลลัสของระย่อม
 (Rauwolfia serpentina Benth.)
 ชื่อนิสิต : นาย กรวิชัย ฅ กลาง
 อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ มนทกานติ วัชรากัย
 รองศาสตราจารย์ ดร.สุกัญญา นิมมานันต์ย์
 ภาควิชา : พฤกษศาสตร์
 ปีการศึกษา : 2528



บทคัดย่อ

แคลลัสที่ชักนำจากชิ้นส่วนปล้องจากระย่อม 7 พันธุ์ สามารถเจริญได้บนอาหารอาหารสูตร Murashige และ Skoog (1962) ที่ลดปริมาณแร่ธาตุลงครึ่งส่วน และเติม NAA 1 มก./ล. และ kinetin 1 มก./ล. นำไปเลี้ยงในห้องที่มีอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 24-26 องศาเซลเซียส แคลลัสครึ่งหนึ่งได้รับแสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน ในขณะที่แคลลัสอีกครึ่งหนึ่งนำไปเลี้ยงในที่มืดตลอดการทดลอง

จากการวิจัยพบว่าการแปรในรงควัตถุ ลักษณะนิสัยการเจริญและอัตราการเจริญของแคลลัส สามารถแบ่งแคลลัสที่เลี้ยงในที่สว่างออกได้เป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มสีขาวแถมน้ำตาล กลุ่มสีเขียว กลุ่มสีเขียวอ่อน กลุ่มสีขาวแถมแดง และกลุ่มสีเขียวแถมแดง ส่วนแคลลัสที่เลี้ยงในที่มืดมีเพียงกลุ่มเดียว คือ กลุ่มสีขาวแถมเทา การแปรของรงควัตถุพบในระย่อมทั้ง 7 พันธุ์ แต่มีเพียง 3 พันธุ์เท่านั้นที่พบความแตกต่างของรงควัตถุทั้ง 6 กลุ่ม จึงได้ทั้งหมด 37 สายพันธุ์ จาก 7 พันธุ์ การแปรในลักษณะนิสัยการเจริญพบว่า บางแคลลัสเนื้อเยื่ออัดแน่นและเจริญช้า ในขณะที่บางแคลลัสฟูเรียงตัวอยู่หลวม ๆ และเจริญได้เร็ว ดัชนีการเจริญของกลุ่มสีขาวแถมแดงและกลุ่มสีขาวแถมน้ำตาลมีค่าสูงสุดในขณะที่สีเขียวมีค่าต่ำสุด

เมื่อย้ายแคลลัสลงเลี้ยงในอาหารสูตร alkaloid production medium เป็นเวลา 2 สัปดาห์ จึงนำมาตรวจสอบแอลคาลอยด์

โดยวิธีการบดเซลล์ มีเพียง 14 สายพันธุ์จาก 37 สายพันธุ์เท่านั้นที่พบว่าสร้างแอลคาลอยด์โดยพบแอลคาลอยด์ปริมาณมากในกลุ่มสีเขียวแกมแดง กลุ่มสีขาวยอมแดง และกลุ่มสีขาวยอมเทาตามลำดับ การวิเคราะห์แอลคาลอยด์ที่เลือกมา 7 สายพันธุ์ด้วยวิธี Thin layer chromatography แสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์ RV1-RW สามารถสร้างแอลคาลอยด์หลัก 4 ชนิด ได้แก่ ajmaline, corynanthine, rescinnamine และ yohimbine ส่วนอีก 6 สายพันธุ์สร้างได้เฉพาะแอลคาลอยด์หลัก ajmaline และ yohimbine เท่านั้น การวิเคราะห์เชิงปริมาณพบว่าแอลคาลอยด์ที่มีอยู่ในแคลลัสมีปริมาณน้อยกว่าที่พบในราก แคลลัสสายพันธุ์ RV5-RG สร้าง ajmaline ได้สูงที่สุด คือ 0.057% และแคลลัสสายพันธุ์ RV5-RW สามารถสร้าง yohimbine ได้มากที่สุด คือ 0.009%

งานวิจัยนี้เป็นครั้งแรกที่พบ corynanthine และ rescinnamine ในแคลลัสของ Rauwolfia serpentina Benth. และพบความสัมพันธ์ระหว่างรงควัตถุสีแดงกับการสร้างแอลคาลอยด์ในปริมาณสูง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Thesis Title : Variation in callus of
Rauwolfia serpentina Benth.

Name : Mr. Karavich Nathalang

Thesis advisor: Associate Professor Montakan Vajrabhaya
Associate professor Sukanya Nimmannit, Ph.D.

Department : Botany

Academic Year : 1985

Abstract

Calli were induced from internodes of seven varieties, these grew well on a half-strength of Murashige and Skoog (1962) medium supplemented with 1 mg/l NAA and 1 mg/l kinetin. Cultures were kept in a room with temperature ranging from 24 to 26 °C half of which was exposed to a photoperiod of 16 hour-light period, while the other was in darkness throughout the experiment.

According to variation in color, growth habit and growth rate, those calli exposed to light were classified into five different color groups. They were brownish white, green, pale green, reddish white and reddish green. The calli that was in the dark throughout the experiment produced only greyish white color. Variation in color were found in all seven varieties but only three varieties produced all six color groups. A total of 37 lines from these seven varieties were obtained. Variation in growth

was found in growth habit where some of them became more compact and grew at slow rate, while the other were friable and grew rapidly. The growth indices of the reddish white and the brownish white groups were among the highest whereas that of the green group was the lowest.

The determination of alkaloid by cell squash method was made at the end of the second week after transferring of calli onto alkaloid production medium. Only 14 lines out of 37 were found to produce alkaloid. Among these, high contents were found in the reddish green, reddish white and the grayish white groups. Analysis of seven selected lines of calli by thin layer chromatography showed that the RV1-RW line produced four major alkaloid including ajmaline, corynanthine, rescinnamine and yohimbine. The other six lines produced only ajmaline and yohimbine. Quantitative analysis indicated that alkaloid content in calli were much less than those of roots. The callus from RV5-RG line produced the largest amount of ajmaline (0.057% DW.) and the RV5-RW produced the largest amount of yohimbine (0.009% DW.)

This is the first report which showed that corynanthine and rescinnamine were found in calli of *Rauwolfia serpentina* Benth. and red coloring associated with high alkaloid production.



กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ มณฑานติ วัชรากัย และรองศาสตราจารย์ ดร. สุกัญญา นิมมานนิตย์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาให้แนวความคิดและหลักการในการดำเนินการวิจัยพร้อมทั้งคำแนะนำที่มีประโยชน์ การคลี่คลายปัญหาและอุปสรรคต่างๆตลอดจนตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ ด้วยความห่วงใยและเอาใจใส่อย่างสูง จนเป็นผลให้วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลงอย่าง มีค่าและสมบูรณ์ อันเป็นสิ่งที่ผู้วิจัยซาบซึ้งในพระคุณเป็นอย่างยิ่ง

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ พรรณี ชีโนรักษ์ หัวหน้าภาค วิชาพฤกษศาสตร์ในฐานะประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปรีดา บุญ-หลง กรรมการตรวจวิทยานิพนธ์ที่ได้ให้ความเมตตา และเอื้อเฟื้อ ต่อผู้วิจัยมาโดยตลอดและ ได้กรุณาตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์นี้พร้อมคำชี้แนะต่าง ๆ ที่ก่อให้เกิดผลดีต่องานวิจัย ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.อบฉันท ไทยทอง รองศาสตราจารย์ วิยะดา เทพหัสดิ์ รองศาสตราจารย์ บุศยธรรม ฌ สงขลา รองศาสตราจารย์ นาฏฉลวย หลายชูไทย และผู้ช่วยศาสตราจารย์ เรณู ถาวโรฤทธิ์ ที่ได้ให้คำปรึกษาแนะนำตักเตือน และช่วยเหลือในด้านอุปกรณ์ และสถานที่บางส่วนที่ใช้ในการวิจัย

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ประโชติ เปล่งวิทยา รองศาสตราจารย์ ดร.สุนิพนธ์ กุมมางกูร และรองศาสตราจารย์ ลัดดาวัลย์ บุญรัตน์กรกิจ หัวหน้าภาควิชาชีวเคมี ภาควิชาเภสัชเคมี และภาควิชา เภสัชพฤกษศาสตร์ ตามลำดับ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้อนุมัติให้ผู้วิจัยได้อาศัยใช้สถานที่ อุปกรณ์ สารเคมี และเครื่องมือที่จำเป็น ต่อการวิเคราะห์ทางพิษเคมี และขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รพีพล ภาโววาท และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เอกรินทร์ สายฟ้า ที่ได้กรุณาสอนการใช้ เครื่อง Shimadzu TLC Scanner model CS 930 อีกทั้งได้ให้ข้อแนะนำและ วิธีการในการตรวจสอบแอลคาลอยด์ในเชิงปริมาณ ขอขอบพระคุณ Professor Yasuyuki Yamada, Ph.D. แห่ง Department of Agricultural Chemistry

มหาวิทยาลัยเกียวโต ประเทศญี่ปุ่นที่ได้กรุณาแนะนำการตรวจสอบแอลคาลอยด์ โดยวิธี cell squash method ตามวิธีของ Ogino และคณะ(1978)

ขอขอบพระคุณศาสตราจารย์ ดร.พัฐ ภูมิประวัติ อธิการบดีมหาวิทยาลัยมหิดล ที่ได้ให้ความสนับสนุนและแนะนำแหล่งจำหน่าย Standard Rauwolfia Alkaloids ในต่างประเทศ และขอขอบคุณ คุณกัลยา ภูมิเรศ ที่กรุณาหาซื้อแอลคาลอยด์บางชนิดได้แก่ deserpidine และ yohimbine จากสาธารณรัฐเยอรมัน ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ พรรณีภา ชุ่มศรี แห่งภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำเกี่ยวกับการเลี้ยงเนื้อเยื่อสมุนไพรร และเทคนิคบางอย่างของการสกัดแอลคาลอยด์ และให้ความอนุเคราะห์ในด้านสารเคมีบางชนิดที่หายาก ขอขอบพระคุณอาจารย์ ศศิธร วสุวัต ผู้อำนวยการสาขาวิจัยอุตสาหกรรมเภสัชและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย รองศาสตราจารย์ นายแพทย์อดิเรก ฌ กลาง แห่งภาควิชาสัตสศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ศาสตราจารย์ นายแพทย์อนุวัตร ลัมสุวรรณ แห่งภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์รามธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยงยุทธ เจียมไชยศรี และอาจารย์จิตตราภรณ์ เจียมไชยศรี แห่งภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ได้กรุณาให้ข้อมูลและความรู้ที่เป็นประโยชน์ต่อการวิจัย และบางท่านได้ยินดีเป็นบุคคลอ้างอิงในการสำรวจเอกสารการวิจัยอีกด้วย.

ขอขอบคุณอาจารย์ ดร.สัมพันธ์ดา ฌ กลาง และคุณสุรวิษ วรรมโกโรโรจน์ ที่ได้ช่วยเหลือในการค้นเอกสารการวิจัยในต่างประเทศ ขอขอบคุณ คุณสุนันท์ อ่าวแห่งสันติ และคุณสาธิต สุวรรณ ที่ได้มีส่วนช่วยเหลือในการทดลองวิเคราะห์แอลคาลอยด์ด้วยเครื่อง High performance liquid chromatography ในระยะแรกของการทำงานวิจัย ที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขอขอบคุณ คุณหวงเพชร พุทธิพิทย์ คุณธวัชชัย พาหาญ และคุณปกขวิญ หุตางกูร ที่ได้มีส่วนช่วยเหลือในการเลี้ยงเนื้อเยื่อของระย้อม และขอขอบคุณ คุณสิญรัฐ แพทย์พิทักษ์ และคุณเสนห์ สาครน้อย ที่ช่วยเหลือในการเตรียมวัสดุและอุปกรณ์ในการวิเคราะห์แอลคาลอยด์ด้วยความมีน้ำใจและเสียสละอย่างยิ่ง

ขอขอบคุณ คุณธวัชชัย พาหาญ คุณคารณิ ศ. เจริญ คุณสรัญญา วัชโรทัย คุณสุรางค์ หอมจันทร์ และคุณ สุธีรา อรรคโกรสีนี ที่ได้มีส่วนช่วยวิเคราะห์ แอลคาลอยด์ด้วยความมีน้ำใจอย่างสูง ขอขอบพระคุณและขอบคุณ คุณแม่ คุณสุธีรา อรรคโกรสีนี และคุณกิตติ โพธิ์ปัทมะ ที่ช่วยเหลือในการตรวจอักษรพิมพ์ จัดเรียง และเข้ารูปเล่ม ด้วยความอดทน เสียสละ อย่างน่าสรรเสริญ และขอขอบพระคุณ และขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ กิตติวดี บุญซื่อ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วงจันทร์ วงศ์แก้ว อาจารย์ ชุมศรี ชัยอนันต์ อาจารย์ มาลี ฌ นคร อาจารย์ สุมณ มาสุณ อาจารย์ นิรันดร์ จันทวงศ์ คุณเอนก จุศิริพงษ์กุล คุณดวงสอน มหาคันทา คุณยินดี สุขชี คุณดวงใจ เพชรดี คุณสง่า นามวงศ์ คุณวราภรณ์ ฉลองกิตติศักดิ์ และคุณอรสา ตันเวชกุล ที่ได้กรุณาช่วยเหลือในด้านต่างๆ รวมทั้งการเก็บตัวอย่างระย้อมจากแหล่ง ธรรมชาติหลายๆ แห่ง นอกจากนี้ขอขอบคุณ และขอบใจ พี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ชาว พุทธศาสตร์-พันธุศาสตร์ และจากหน่วยปฏิบัติการเลี้ยงเนื้อเยื่อพระยาอนุกุลสยามกิตติ อนุภิกษิตสยามรัฐ ทุกคนที่ได้มีส่วนช่วยเหลือทั้งทางตรงและทางอ้อมต่องานวิจัยนี้ และขอขอบคุณ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณามอบทุนอุดหนุน การทำวิทยานิพนธ์

ท้ายที่สุดนี้ขอกราบรำลึกในพระคุณของคุณพ่อ-คุณแม่ ที่ได้สนับสนุนส่งเสริมทั้งด้านกำลังทรัพย์และกำลังใจอย่างสูงจนบรรลุเป้าหมายในที่สุด ตลอดจน ครูบาอาจารย์ที่มีพระคุณโดยเฉพาะ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นภา โล่ห์ทอง และผู้ช่วย ศาสตราจารย์ สุภาพรรณ นามวงศ์พรหม อดีตอาจารย์ที่ปรึกษาระดับปริญญาบัณฑิต ของผู้วิจัย ที่ได้กรุณาสนับสนุน ช่วยเหลือ และให้กำลังใจมาโดยตลอด ความดี อันใดที่อาจยังมีจากวิทยานิพนธ์เรื่องนี้ ผู้วิจัยขออุทิศแด่ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ภัทรา ชินหารักษ์ณ์ อดีตกรรมการตรวจวิทยานิพนธ์ผู้ล่วงลับไปแล้ว

กรวิรัช ฌ กลาง

สารบัญ



หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ฉ
กิตติกรรมประกาศ	ช
สารบัญตาราง	ญ
สารบัญกราฟ	ณ
สารบัญแผนภูมิ	ด
สารบัญภาพ	ถ
สารบัญภาพถ่าย	ฝ

บทที่

1. บทนำ	1
2. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย	15
3. ผลการวิจัย	34
4. วิจาร์ณผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	123
5. สรุปผลการวิจัย	132

เอกสารอ้างอิง	135
ภาคผนวก	146
ประวัติ	161

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. สูตรอาหารต่างๆ ที่ใช้ในการชักนำและเพิ่มปริมาณแคลลัสและใช้กระตุ้นการสร้างแอลคาลอยด์	20
2. ผลการปักชำท่อนรากระย่อม 7 พันธุ์เปรียบเทียบกันในวัสดุเพาะที่ประกอบด้วยทรายและขี้เถ้าแกลบอัตราส่วน 1:1 เป็นเวลา 1 เดือน.....	36
3. เปรียบเทียบผลการฆ่าเชื้อที่ผิวส่วนต่างๆ ของยอดอ่อน บนวัสดุอาหารที่มีน้ำตาลซูโครส 3% เก็บไว้ในที่มืด อุณหภูมิ 24-26 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-7 วัน	38
4. เปรียบเทียบการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนปล้อง 7 พันธุ์ บนอาหารสูตร MSK ในที่สว่างและที่มืด อุณหภูมิ 24 - 26 องศาเซลเซียส เก็บผลเมื่อครบ 1 เดือน.....	41
5. เปรียบเทียบการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนปล้อง 7 พันธุ์ บนอาหารสูตร MSO ในที่สว่างและที่มืด อุณหภูมิ 24 - 26 องศาเซลเซียส เก็บผลเมื่อครบ 1 เดือน.....	42
6. เปรียบเทียบการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนปล้อง 7 พันธุ์ บนอาหารสูตร LSW ในที่สว่างและที่มืดอุณหภูมิ 24 - 26 องศาเซลเซียส เก็บผลเมื่อครบ 1 เดือน	43
7. ผลการคัดแยกแคลลัสที่ชักนำบนอาหารสูตร MSK ในสภาพสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน และสภาพมืดตลอด โดยวิธีการสังเกตตรงควัดฤเป็นเกณฑ์การจำแนก.....	45

8. น้ำนักสด น้ำนักแห้ง และค่าดัชนีการเจริญของแคลลัสกลุ่ม BW ทั้ง 7 สายพันธุ์ เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MSK เป็นเวลา 7 สัปดาห์ ได้รับแสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน (ค่าที่ได้เฉลี่ยจากแคลลัส 5 ชั้น) 61
9. น้ำนักสด น้ำนักแห้ง และค่าดัชนีการเจริญของแคลลัสกลุ่ม G ทั้ง 7 สายพันธุ์ เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MSK เป็นเวลา 7 สัปดาห์ ได้รับแสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน (ค่าที่ได้เฉลี่ยจากแคลลัส 5 ชั้น) 62
10. น้ำนักสด น้ำนักแห้ง และค่าดัชนีการเจริญของแคลลัสกลุ่ม PG ทั้ง 7 สายพันธุ์ เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MSK เป็นเวลา 7 สัปดาห์ ได้รับแสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน (ค่าที่ได้เฉลี่ยจากแคลลัส 5 ชั้น)..... 63
11. น้ำนักสด น้ำนักแห้ง และค่าดัชนีการเจริญของแคลลัสกลุ่ม RW ทั้ง 3 สายพันธุ์ เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MSK เป็นเวลา 7 สัปดาห์ได้รับแสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน (ค่าที่ได้เฉลี่ยจากแคลลัส 5 ชั้น)..... 64
12. น้ำนักสด น้ำนักแห้ง และค่าดัชนีการเจริญของแคลลัสกลุ่ม Grw ทั้ง 7 สายพันธุ์ เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MSK เป็นเวลา 7 สัปดาห์ ในสภาพมืดตลอด (ค่าที่ได้เฉลี่ยจากแคลลัส 5 ชั้น)..... 65
13. การแปรของค่าดัชนีการเจริญสูงสุดเทียบจาก น้ำนักสด (Max.GIFW) และเทียบจาก น้ำนักแห้ง (Max.GIDW) ของแคลลัสกลุ่มต่าง ๆ ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MSK เป็นเวลา 7

13(ต่อ)	สปีคาน์ได้รับแสงสว่าง 16 ชั่วโมง/วัน และ/หรือ มีดตลอด	66
14.	ผลการตรวจแอลคาลอยด์ในแคลลัสสายพันธุ์ต่างๆ โดยวิธีการ บดเซลล์ ค่าที่ได้ประมาณเฉลี่ยจากการทดลอง 5 ซ้ำ	77
15.	การแปรของน้ำหนักแห้งของตัวอย่างและปริมาณสารสกัดแอลคา ลอยด์ของรากและแคลลัสสายพันธุ์ต่างๆ	78
16.	ค่า hRf ของร่อไวลเพียแอลคาลอยด์มาตรฐาน เฉลี่ยจาก วิเคราะห์ 3 ครั้ง	108
17.	คุณสมบัติทางคุณภาพของร่อไวลเพีย แอลคาลอยด์มาตรฐาน . . .	109
18.	คุณสมบัติทางคุณภาพของแอลคาลอยด์ในสารสกัดจากรากสายพันธุ์ RV1	110
19.	คุณสมบัติทางคุณภาพของแอลคาลอยด์ในสารสกัดจากรากสายพันธุ์ RV2	111
20.	คุณสมบัติทางคุณภาพของแอลคาลอยด์ในสารสกัดจากรากสายพันธุ์ RV5	112
21.	คุณสมบัติทางคุณภาพของแอลคาลอยด์ในสารสกัดจากแคลลัส สายพันธุ์ RV1-RW	113
22.	คุณสมบัติทางคุณภาพของแอลคาลอยด์ในสารสกัดจากแคลลัส สายพันธุ์ RV2-RW	114

23.	คุณสมบัติทางคุณภาพของแอลคาลอยด์ในสารสกัดจากแคลลัส สายพันธุ์ RV5-RW	115
24.	คุณสมบัติทางคุณภาพของแอลคาลอยด์ในสารสกัดจากแคลลัส สายพันธุ์ RV5-RG	116
25.	คุณสมบัติทางคุณภาพของแอลคาลอยด์ในสารสกัดจากแคลลัส สายพันธุ์ RV1-GrW	117
26.	คุณสมบัติทางคุณภาพของแอลคาลอยด์ในสารสกัดจากแคลลัส สายพันธุ์ RV2-GrW	118
27.	คุณสมบัติทางคุณภาพของแอลคาลอยด์ในสารสกัดจากแคลลัส สายพันธุ์ RV5-GrW	119
28.	การแปรของปริมาณรโหว เพียแอลคาลอยด์ที่ผลิตโดยรากและแคล ลัสสายพันธุ์ต่างๆทั้งในรูปสารสกัดและรูปบริสุทธิ์ การตรวจสอบ ปริมาณละเอียด ใช้วิธี TLC densitometry.....	120

สารบัญกราฟ

ตารางกราฟที่

หน้า

1. เปรียบเทียบดัชนีการเจริญของน้ำหนักสด (GI_{Fw})
ของแคลลัส 7 สายพันธุ์ในกลุ่มเดียวกันและต่างกลุ่ม
กันเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MSK เป็นเวลา 7 สัปดาห์
ได้รับแสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน และ/หรือ มีดตลอด... **67**

2. เปรียบเทียบดัชนีการเจริญของน้ำหนักแห้ง (GI_{Dw})
ของแคลลัสทั้ง 7 สายพันธุ์ในกลุ่มเดียวกันและต่างกลุ่มกัน
เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MSK เป็นเวลา 7 สัปดาห์ ได้
รับแสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน และ/หรือมีดตลอด.. **68**

3. การแปรของค่าดัชนีการเจริญ (GI_{Fw} และ GI_{Dw})
ของแคลลัสกลุ่ม G ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MSK ได้รับแสง
สว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 7 สัปดาห์..... **72**

4. การแปรของค่าดัชนีการเจริญ (GI_{Fw} และ GI_{Dw})
ของแคลลัสกลุ่ม PG ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MSK ได้รับแสง
สว่าง 16 ชั่วโมงต่อวันเป็นเวลา 7 สัปดาห์..... **74**

สารบัญแผนภูมิ

ตารางแผนภูมิที่

หน้า

1. การแปรในการเจริญของ แคลลัสกลุ่ม BW ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MSK ได้รับแสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 7 สัปดาห์..... 69
2. การแปรในการเจริญของ แคลลัสกลุ่ม G ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MSK ได้รับแสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 7 สัปดาห์..... 70
3. การแปรในการเจริญของ แคลลัสกลุ่ม PG ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MSK ได้รับแสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 7 สัปดาห์ 71
4. การแปรในการเจริญของ แคลลัสกลุ่ม RW ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MSK ได้รับแสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 7 สัปดาห์..... 73
5. การแปรในการเจริญของ แคลลัสกลุ่ม GrW ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MSK ในสภาพมืดตลอดเป็นเวลา 7 สัปดาห์. 75
6. การแปรของน้ำหนักแห้ง และปริมาณสารสกัดแอลคาลอยด์ของรากระย่อม 7 พันธุ์ ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2 เซนติเมตร เจริญในสภาพแวดล้อมตามธรรมชาติ.... 79
7. การแปรของน้ำหนักแห้ง และปริมาณสารสกัดแอลคาลอยด์ของแคลลัสระย่อม 7 สายพันธุ์ ที่เลี้ยงในอาหารสูตร

สารบัญแผนภูมิ

ตารางแผนภูมิที่

หน้า

- 7.(ต่อ) MSK ได้รับแสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน และ/หรือ มีด
ตลอด เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายมาเลี้ยงในอาหาร
สูตร AP เป็นเวลา 2 สัปดาห์ในสภาพแวดล้อมเดิม.... 80
8. การแปรของปริมาณสารสกัดแอลคาลอยด์และแอลคาลอยด์
Ajmaline ที่ผลิตในรากและ แคลลัสสายพันธุ์ต่าง ๆ.. 121
9. การแปรของรูปแบบการสร้างรอไวลเพียแอลคาลอยด์หลัก
ชนิดต่างๆ ของราก และแคลลัสสายพันธุ์ต่างๆ..... 122

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1. Indole skeleton	4
2. ปฏิกิริยาชีวสังเคราะห์ของ Ajmaline	5
3. ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย	19
4. ขั้นตอนการสกัดแอลคาลอยด์.....	29
5. Thin layer chromatogram ของสารสกัดแอลคาลอยด์ จากรากและแคลลัสสายพันธุ์ต่างๆ เทียบกับร็อบโรไวลเพียแอล คาลอยด์มาตรฐานทุกตัวอย่างจุดลงบนแผ่น Kieselgel GF254 ความหนาของlayer 0.25 มม. ผ่านการแยกใน ระบบตัวทำละลาย Acetone-methanol-ethylamine (70:20:10) ตรวจแอลคาลอยด์โดยใช้ ferric-chloride -perchloric acid เป็นสารทำปฏิกิริยาให้สี.....	84
6. Thin layer chromatogram ของสารสกัดแอลคาลอยด์ จากราก และแคลลัสสายพันธุ์ต่างๆ เทียบกับร็อบโรไวลเพีย แอลคาลอยด์มาตรฐานทุกตัวอย่างจุดลงบนแผ่น Kiesel- gel GF254 ความหนาของlayer 0.25 มม. ผ่าน การแยกในระบบตัวทำละลาย Acetone-methanol-glacial acetic acid (70:25:5) ตรวจแอลคาลอยด์โดยใช้ ferric chloride-perchloric acid เป็นสารทำ ปฏิกิริยาให้สี.....	85

สารบัญภาพ

ภาพที่

หน้าที่

- 7. Thin layer chromatogram ของสารสกัดแอลคาลอยด์ จากรากและแคลลัสสายพันธุ์ต่างๆ เทียบกับรอกิวลเพียแอลคาลอยด์มาตรฐาน ทุกตัวอย่างจุดลงบนแผ่น Kieselgel 60F254 ความหนาของlayer 0.25 มม. ผ่านการแยกในระบบตัวทำละลาย Acetone-petroleum ether (b.p.40 - 60 C) - dichthylamine (20:70:10) ตรวจแอลคาลอยด์โดยใช้ ferric chloride-perchloric acid เป็นสารทำปฏิกิริยาให้สี..... 86
- 8. Thin layer chromatogram ของสารสกัดแอลคาลอยด์ จากรากและแคลลัสสายพันธุ์ต่างๆ เทียบกับรอกิวลเพียแอลคาลอยด์มาตรฐานทุกตัวอย่างจุดลงบนแผ่น Kieselgel 60F254 ความหนาของlayer 0.25 มม. ผ่านการแยกในระบบตัวทำละลาย Acetone-petroleum ether (b.p.40 -60 C) - glacial acetic acid (45:45:10) ตรวจแอลคาลอยด์โดยใช้ ferric chloride-perchloric acid เป็นสารทำปฏิกิริยาให้สี..... 87
- 9. Thin layer chromatogram ของสารสกัดแอลคาลอยด์ จากรากและแคลลัสสายพันธุ์ต่างๆ เทียบกับรอกิวลเพียแอลคาลอยด์มาตรฐานทุกๆ ตัวอย่างจุดลงบนแผ่น Kieselgel 60F254 ความหนาของlayer 0.25 มม. ผ่านการแยกในระบบตัวทำละลาย Ethylacetate-isopropanal-ammonia (85:15:5) ตรวจแอลคาลอยด์โดยใช้ ferric chloride perchloric acid เป็นสารทำปฏิกิริยาให้สี..... 88

สารบัญภาพ

ภาพที่

หน้าที่

10. Thin layer chromatogram ของสารสกัดแอลคาลอยด์จากรากและแคลลัสสายพันธุ์ต่างๆ เทียบกับรอกไวลเพียแอลคาลอยด์มาตรฐานทุกตัวอย่างจุดลงแผ่น Kieselgel 60F254 ความหนาของ layer 0.25 มม. ผ่านการแยกในระบบตัวทำละลาย n-Butanol-glacial acetic acid-water(4:1:1) ตรวจแอลคาลอยด์โดยใช้ ferric chloride-perchloric acid เป็นสารทำปฏิกิริยาให้เกิดสี 89
11. Thin layer chromatogram ของสารสกัดแอลคาลอยด์จากรากและแคลลัสสายพันธุ์ต่าง เทียบกับรอกไวลเพียแอลคาลอยด์มาตรฐาน ทุกตัวอย่างจุดลงบนแผ่น Kieselgel 60F254 ความหนา layer 0.25 มม. ผ่านการแยกในระบบตัวทำละลาย Methanol-methyl ethylketone-n-heptane (8.1:33.6:58) ตรวจแอลคาลอยด์โดยใช้ ferric chloride-perchloric acid เป็นสารทำปฏิกิริยาให้สี..... 90
12. Reflection absorption spectra ของรอกไวลเพียแอลคาลอยด์มาตรฐาน 4 ชนิด คือ Ajmaline (---) corynanthine(-°-°-) Rescinamine (—) และ yohimbine (-°-°-) ในย่านช่วงคลื่น 200-370 นาโนเมตร บนแผ่น Kieselgel 60 F254..... 91
13. Reflection absorption spectra ของรอกไวลเพียแอลคาลอยด์มาตรฐาน 3 ชนิด คือ Ajmalicine (---) Deserpidine (—) และ Reserpine(-°-°-) ใน

ภาพที่

หน้าที่

13. (ต่อ) ย่านช่วงคลื่น 200-370 นาโนเมตร บนแผ่น Kieselgel 60 F254 92
14. เปรียบเทียบ Reflection absorption spectra ระหว่าง Ajmaline(—) กับ unknown ที่คาดว่าเป็น Ajmaline(---) ในย่านช่วงคลื่น 200-370 นาโนเมตร บนแผ่น Kieselgel 60 F254 93
15. เปรียบเทียบ Reflection absorption spectra ระหว่าง Corynanthine(—) กับ unknown ที่คาดว่าเป็น Corynanthine(---) ในย่านช่วงคลื่น 200-370 นาโนเมตร บนแผ่น Kieselgel 60 F254 94
16. เปรียบเทียบ Reflection absorption spectra ระหว่าง Rescinnanthine (---) กับ unknown ที่คาดว่าเป็น Rescinnanthine(—) ในย่านช่วงคลื่น 200-370 นาโนเมตร บนแผ่น Kieselgel 60 F254 95
17. เปรียบเทียบ Reflection absorption spectra ระหว่าง Yohimbine (---) กับ unknown ที่คาดว่าเป็น Yohimbine(—) ในย่านช่วงคลื่น 200-370 นาโนเมตร บนแผ่น Kieselgel 60 F254 96
18. Reflection absorption chromatogram ของ รอวัลเฟียแอลคาลอยด์มาตรฐาน 4 ชนิด คือ Ajmaline (Aj1) Corynanthine (Cnt) Rescinnamine

สารบัญภาพ

ภาพที่

หน้าที่

- 18.(ต่อ)(RC) และ Yohimbine (Yoh) ปริมาตรจุดลงบนแผ่น Kieselgel 60 F254 เป็น 2.5, 1.1 และ 2.5 ไมโครกรัม ตามลำดับ zigzag scanning ระบบช่วงคลื่นเดี่ยวที่ 245 นาโนเมตร..... 97
19. Reflection absorption chromatogram ของ สารสกัดแอลคาลอยด์จากรากระย่อมสายพันธุ์ RV 1 ปริมาตรที่จุดลงบนแผ่น Kieselgel 60 F254 10 ไมโครกรัม zigzag scanning ระบบช่วงคลื่นเดี่ยวที่ 245 นาโนเมตร..... 98
20. Reflection absorption chromatogram ของ สารสกัดแอลคาลอยด์จากระยอมสายพันธุ์ RV2 ปริมาตรที่จุดลงบนแผ่น Kieselgel 60 F254 10 ไมโครกรัม zigzag scanning ระบบช่วงคลื่นเดี่ยว 245 นาโนเมตร..... 99
21. Reflection absorption chromatogram ของ สารสกัดแอลคาลอยด์จากรากระยอมสายพันธุ์ RV5 ปริมาตรที่จุดลงบนแผ่น Kieselgel 60 F254 10 ไมโครกรัม zigzag scanning ระบบช่วงคลื่นเดี่ยวที่ 245 นาโนเมตร..... 100
22. Reflection absorption chromatogram ของ สารสกัดแอลคาลอยด์จากแคลลัสสายพันธุ์ RV1 - RW

สารบัญภาพ

ภาพที่

หน้าที่

22. (ต่อ) ปริมาตรที่จุดลงบนแผ่น Kieselgel 60 F254 10 ไมโครลิตร zigzag scanning ระบบช่วงคลื่นเดี่ยวที่ 245 นาโนเมตร.....	101
23. Reflection absorption chromatogram ของ สารสกัดแอลคาลอยด์จากแคลลิสสายพันธุ์ RV2-RW ปริมาตรที่จุดลงบนแผ่น Kieselgel 60 F254 30 ไมโครลิตร zigzag scanning ระบบช่วงคลื่นเดี่ยวที่ 245 นาโนเมตร.....	102
24. Reflection absorption chromatogram ของ สารสกัดแอลคาลอยด์จากแคลลิสสายพันธุ์ RV5 - RW ปริมาตรจุดลงบนแผ่น Kieselgel 60 F254 10 ไมโครลิตร zigzag scanning ระบบช่วงคลื่นเดี่ยวที่ 245 นาโนเมตร.....	103
25. Reflection absorption chromatogram ของ สารสกัดแอลคาลอยด์จากแคลลิสสายพันธุ์ RV 5-RG ปริมาตรที่จุดลงบนแผ่น Kieselgel 60 F254 10 ไมโครลิตร zigzag scanning ระบบช่วงคลื่นเดี่ยวที่ 245 นาโนเมตร.....	104
26. Reflection absorption chromatogram ของ สารสกัดแอลคาลอยด์จากแคลลิส สายพันธุ์ RV1 -GrW. ปริมาตรที่จุดลงบนแผ่น Kieselgel 60F254 20 ไมโครลิตร zigzag scanning ระบบช่วงคลื่นเดี่ยวที่	

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้าที่
26. (ต่อ) 245 นาโนเมตร.....	105
27. Reflection absorption chromatogram ของ สารสกัดแอลคาลอยด์แคล์สสายพันธุ์ RV2-GrW ปริมาตร ที่จุดลงบนแผ่น Kieselgel 60 F254 20 ไมโครลิตร zigzag scanning ระบบช่วงคลื่นเดี่ยวที่ 245 นาโนเมตร.....	106
28. Reflection absorption chromatogram ของ สารสกัดแอลคาลอยด์จากแคล์สสายพันธุ์ RV5-GrW ปริ- มาตรที่จุดลงบนแผ่น Kieselgel 60 F254 20 ไม- โครลิตร zigzag scanning ระบบช่วงคลื่นเดี่ยวที่ 245 นาโนเมตร.....	107
29. โครงสร้างของ rescinnamine และ reserpine..	129
30. โครงสร้าง Ajmaline Corynanthine และ Yohimbine.....	129

สารบัญภาพถ่าย

ภาพถ่ายที่	หน้า
1. ต้นระย้อม (<i>Rauwolfia serpentina</i> Benth.).....	35
2. ยอดใหม่ที่ออกจากท่อนรากผักข่าอายุ 2 สัปดาห์	35
3. ชิ้นส่วนของปล้อง ความยาว 5 มิลลิเมตร ก่อนนำลงเลี้ยง ในอาหารสูตรชักนำตั้ง 3 สูตร (กำลังขยาย 40 เท่า)..	37
4. ชิ้นส่วนปล้องที่เกิดแคลลัสบริเวณรอยตัดทั้งสองข้าง เลี้ยงบนอาหารสูตร MSK ในที่สว่างเป็นเวลา 2 สัปดาห์ (กำลังขยาย 44 เท่า).....	37
5. ชิ้นส่วนปล้องที่เกิดแคลลัสบริเวณรอยตัดทั้งสองข้างเลี้ยง บนอาหารสูตร MSK ในที่มืดเป็นเวลา 2 สัปดาห์ (กำลัง ขยาย 40 เท่า).....	40
6. ลักษณะแคลลัสที่เลี้ยงในที่สว่างที่เกิดการเปลี่ยนแปลง ของเนื้อเยื่อหลังซึ่งนำไปเลี้ยงใหม่เป็นครั้งที่ 3 (กำลัง ขยาย 60 เท่า).....	40
7. แคลลัสกลุ่มสีขาวแกมน้ำตาล (BW) (กำลังขยาย 76 เท่า)	47
8. กลุ่มเซลล์ในแคลลัสกลุ่มสีขาวแกมน้ำตาล (BW) (กำลัง ขยาย 160 เท่า).....	47
9. กลุ่มเซลล์แฉวยลอกจากแคลลัสกลุ่มสีขาวแกมน้ำตาล (BW) ถ่ายโดยระบบ phase contrast (กำลังขยาย 400 เท่า).....	48
10. แคลลัสกลุ่มสีเขียว (G) (กำลังขยาย 40 เท่า).....	49

ภาพถ่ายที่	หน้า
11. พื้นผิวแคลลัสกลุ่มสีเขียว (G) (กำลังขยาย 80 เท่า)....	49
12. กลุ่มเซลล์แขวนลอยจากแคลลัสกลุ่มสีเขียว (G) ถ่ายโดยระบบ phase contrast (กำลังขยาย 400 เท่า)	50
13. แคลลัสกลุ่มสีเขียวอ่อน (PG) (กำลังขยาย 40 เท่า).....	51
14. พื้นผิวของแคลลัสกลุ่มสีเขียวอ่อน (PG) (กำลังขยาย 80 เท่า)	51
15. เซลล์แขวนลอยจากแคลลัสกลุ่มสีเขียวอ่อน (PG) ถ่ายโดยระบบ phase contrast (กำลังขยาย 400 เท่า)	52
16. แคลลัสกลุ่มสีเขียวแกมแดง (RG) ที่เริ่มเกิด เซลล์สีแดงเข้มในเนื้อเยื่อ (กำลังขยาย 36 เท่า).....	53
17. พื้นผิวของแคลลัสกลุ่มสีเขียวแกมแดง (RG) ที่ เริ่มเกิดเซลล์ในเนื้อเยื่อ (กำลังขยาย 120 เท่า).....	53
18. แคลลัสกลุ่มสีเขียวแกมแดง (RG) ที่เกิดเซลล์ สีแดงเข้มเกือบทั่วทั้งก้อน สีเขียวของแคลลัส เริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลือง (กำลังขยาย 40 เท่า).....	54
19. กลุ่มเซลล์ในแคลลัสกลุ่มสีเขียวแกมแดง (RG) ที่เกิดเซลล์สีแดงเข้มเกือบทั่วทั้งก้อน (กำลังขยาย 120 เท่า)	54
20. เซลล์แขวนลอยจากแคลลัสกลุ่มสีเขียวแกมแดง (RG) ถ่ายโดยระบบ phase contrast (กำลังขยาย 400 เท่า)	55

ภาพถ่ายที่	หน้า
21. เซลล์สีแดงเข้มในกลุ่มเซลล์แขวนลอยจากแคลลัส กลุ่มสีเขียวแกมแดง (RG) ถ่ายโดยระบบ Bright field (กำลังขยาย 800 เท่า).....	55
22. แคลลัสกลุ่มสีเขียวแกมแดง (RW) (กำลังขยาย 44 เท่า)	
23. กลุ่มเซลล์ในแคลลัสกลุ่มสีเขียวแกมแดง (RW) (กำลังขยาย 140 เท่า).....	56
24. เซลล์แขวนลอยจากแคลลัสในกลุ่มสีเขียวแกมแดง (RW) ถ่ายโดยระบบ phase contrast (กำลังขยาย 400 เท่า).....	57
25. แคลลัสกลุ่มสีเขียวแกมเทา (GrW) (กำลังขยาย 40 เท่า)	
26. กลุ่มเซลล์ในแคลลัสกลุ่มสีเขียวแกมเทา (GrW) (กำลังขยาย 130 เท่า).....	58
27. เซลล์แขวนลอยจากแคลลัสกลุ่มสีเขียวแกมเทา (GrW) ถ่ายโดยระบบ phase contrast (กำลังขยาย 400 เท่า).....	59