

บทที่ 5

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

1. การเตรียมโคโคซาน

โคโคซานที่เตรียมได้มีลักษณะสีขาวขุ่น เมื่อทำการหาค่า deacetylation มีค่า 56 % ถือว่ามี การกำจัดหมู่อะซีทิลในโคโคซานได้มากกว่า 50% แสดงว่ามีความเป็นโคโคซานมากขึ้น ขั้นตอนการแยก โคโคซานจากขั้นตอนการกำจัดเกลือแร่ การกำจัดโปรตีน และหมู่อะซีทิลเป็นสิ่งสำคัญ เมื่อใช้ อุณหภูมิสูงขึ้น ค่าการกำจัดหมู่อะซีทิลจะเพิ่มขึ้น (Odote *et al.*, 2005) ซึ่งการวิเคราะห์ % N-deacetylation โดยอินฟราเรดสเปกตรัม จากการวัดอัตราส่วนการดูดกลืนที่ A_{1655}/A_{3450} เป็นวิธีที่มี ความแม่นยำ (Sabnis and Block, 1997)

2. ความเข้มข้นของโคโคซานที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องเขากวางอ่อน

จากการทดลองพบว่าโพรโทคอร์มกล้วยไม้เอื้องเขากวางอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีการเติมโคโคซานมีน้ำหนักสดเพิ่มมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่มีการเติมโคโคซาน แต่หากความเข้มข้นของโคโคซานมากขึ้น โพรโทคอร์มจะเปลี่ยนจากสีเขียวสดกลายเป็นสีเขียวซีดและเหลืองตาย ทั้งนี้อาจเป็นเพราะความเข้มข้นของโคโคซานสูงเกินไป ทั้งนี้อาจเป็นเพราะโคโคซานเป็นแหล่ง ในโตรเจนที่ได้จากแกนหมัก ในโตรเจนจากโคโคซานสามารถปลดปล่อยออกมาเพื่อให้พืชใช้ ถ้ามีความเข้มข้นของโคโคซานมากเกินไปเป็นผลให้เกิดปริมาณไนโตรเจนที่ไม่เหมาะสมกับพืชในการ นำไปใช้ (Boonkerd *et al.*, 1996) ซึ่งผลเป็นไปในทำนองเดียวกับการเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งที่เติม โคโคซาน 15 มก./ล. ส่งเสริมให้โพรโทคอร์มมีการพัฒนาเกิดหน่อสูงที่สุด (1.46 หน่อ/ต้น) และมี จำนวนใบ จำนวนรากสูงสุดเช่นกัน

ในส่วนของน้ำหนักสดโพรโทคอร์มที่เลี้ยงบนอาหารแข็งที่เติมโคโคซานจะมีน้ำหนักสดเพิ่ม มากขึ้นที่ระดับความเข้มข้นของโคโคซาน 5 10 มก./ล. แต่เมื่อความเข้มข้นของโคโคซานสูงขึ้น น้ำหนักสดของโพรโทคอร์มจะไม่เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่มีเติมโคโคซาน ทั้งนี้เพราะจำนวนใบ จำนวนราก จำนวนหน่อ ไม่ได้พัฒนาเพิ่มขึ้น ถ้าความเข้มข้นของโคโคซานสูง ๆ สอดคล้องกับการ ทดลองของ Pornpeanpakdee และคณะ (2005) ทำการเลี้ยงโพรโทคอร์มไลค์บอดีของกล้วยไม้ สกุลเอื้องสกุลในอาหารเหลวสูตร VW ที่มีความเข้มข้นของโคโคซาน 10 20 40 80 และ 160 มก./ล. พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสม คือ โคโคซานความเข้มข้นต่ำ คือ 10 และ 20 มก./ล. ถ้าโคโคซานที่ ความเข้มข้น 160 มก./ล. มีผลทำให้เนื้อเยื่อซีดขาว และเซลล์ตาย ส่วนที่ความเข้มข้น 80 มก./ล. มีผล

ยับยั้งการเติบโตของโพโทคอร์มไลค์บอดี นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้ไคโตซานความเข้มข้นต่ำ ช่วยส่งเสริมการเติบโตของ *Vitis vinifera* L. แต่เมื่อให้ความเข้มข้นสูงจะทำให้พืชตาย (Barka *et al.*, 2004)

เมื่อได้ต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องเขากวางอ่อนจากการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ และนำออกย้ายปลูกโดยการรดด้วยไคโตซาน พบว่าช่วยให้ต้นกล้าเจริญเติบโตดี แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่รดด้วยไคโตซาน อย่างไรก็ตามที่มีไคโตซานจะให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงกว่าที่ความเข้มข้น 10 มก./ล. ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Kleankeo และคณะ (2003) พบว่าการใช้ไคโตซานในกล้วยไม้ *Paphiopedilum bellatulum* × PAPH. anghong ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สามารถกระตุ้นให้ต้นกล้วยไม้งอกราก เกิดใบใหม่ และกระตุ้นการเจริญเติบโตทางด้านความกว้างและความยาวของใบ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ให้ไคโตซาน โดยที่ระดับความเข้มข้น 10 มก./ล. ให้ผลดีที่สุด และมีอัตราการรอดตายสูง สำหรับการที่ไคโตซานสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ อาจเป็นเพราะโครงสร้างของไคโตซานที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ จึงมีส่วนช่วยให้พืชเจริญเติบโตได้ดีขึ้น (ภาวดี, 2544) นอกจากนี้ไคโตซานยังช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ เนื่องจากหมู่อะมิโนซึ่งมีประจุบวกของไคโตซานสามารถไปจับกับกลุ่มประจุลบบนผนังเซลล์ของแบคทีเรีย มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ (Hirano, 1999) ทำให้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม่เกิดปัญหาการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้การเจริญเติบโตเป็นไปได้ด้วยดี

สรุป

1. ไคโตซานสามารถแยกได้จากแกนหมึก ซึ่งเป็นของเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม โดยได้ไคโตซานคิดเป็น 20% เมื่อเทียบกับน้ำหนักของแกนหมึกเริ่มต้น และสามารถกำจัดหมู่อะซีติลได้ 56%
2. เมื่อนำโพโทคอร์มมาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร VW ที่เติมไคโตซาน มีผลช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตเมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่เติมไคโตซาน โดยที่ไคโตซานความเข้มข้น 15 มก./ล. ให้น้ำหนักสดของโพโทคอร์มเพิ่มมากที่สุด
3. เมื่อนำโพโทคอร์มมาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร VW ที่เติมไคโตซาน มีผลช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตเมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่เติมไคโตซาน โดยที่ไคโตซานความเข้มข้น 15 มก./ล. ให้การเจริญเติบโตโพโทคอร์มเพิ่มมากที่สุด ทั้งจำนวนใบ จำนวนราก จำนวนหน่อ
4. เมื่อนำต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องเขากวางอ่อนไปย้ายปลูก สามารถมีการรอดชีวิตมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์

ข้อเสนอแนะ

1. การเตรียมโคโตซานเปอร์เซ็นต์การกำจัดหุ้จะซีดลยงไม่สูงมากนั้ก ควรมีการพัฒนาวิธีการเตรียม เพื่อจะได้มีประสิทธิภพมากยิ่งขึ้น ทำให้ยังไม่สามารถเปรียบเทียบกับประสิทธิภพของโคโตซานที่ผลิตเป็นการค้าได้ ซึ่งได้มีการหาน้ำหนักโมเลกุลแล้ว อย่างไรก็ตามข้อมูลที่ได้เป็นพื้นฐานสำหรับการพัฒนากระบวนการเตรียมโคโตซานต่อไป
2. ระยะเวลาในการทำวิจัย 1 ปี ซึ่งเป็นเวลาที่ไม่มากสำหรับงานทางด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ในเรื่องของการย้ายปลูก เห็นผลการทดลองไม่ชัดเจนนัก เนื่องจากช่วงทำการทดลองมีฝนตก ตัวอย่างอยู่ในโรงเรือนสภาพเปิด ทำให้ควบคุมปัจจัยภายนอกได้ยาก หากผู้สนใจทำการทดลองในเรื่องนี้ต่อ ควรควบคุมสภาพแวดล้อมให้ได้
3. การทดลองที่ได้ ทำให้ทราบว่าสามารถนำโคโตซานมาใช้ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นไม้ในสภาพปลอดเชื้อและในสภาพย้ายปลูกได้ แต่เพื่อนำไปใช้จริงควรทำการศึกษาในพืชหลาย ๆ ชนิด และการทดลองใช้จำนวนตัวอย่าง และจำนวนซ้ำให้มากขึ้น เพื่อผลการทดลองมีความแม่นยำ

Prince of Songkla University
Pattani Campus