

บทที่ 4

ผลและอภิปรายผลการวิจัย

4.1 ผลการเตรียมสารสกัดจากดอกกล้วยไม้

จากการเตรียมสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ 3 ชนิด คือ เอื้องคำ เอื้องกุหลาบกระเปาะเปิด และกะเหร้งร้อน โดยการผึ่งลมให้แห้งแล้วปั่นให้ละเอียด ทำการแช่หมัก (Maceration) ด้วยตัวทำละลายเมทานอล 3 ครั้ง ครั้งละ 1 สัปดาห์ นำสารสกัดจากดอกกล้วยไม้แต่ละชนิดที่ได้ไประเหยตัวทำละลายด้วยออกด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ จากนั้นคำนวณหาร้อยละผลผลิตของสารสกัดต่อน้ำหนักแห้งของดอกกล้วยไม้ (%yield) ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 น้ำหนักสารสกัด ร้อยละผลผลิต (%yield) และลักษณะทางกายภาพของสารสกัด

ชนิดของดอกกล้วยไม้	น้ำหนัก (กรัม)		ร้อยละผลผลิต (%yield)	ลักษณะทางกายภาพของสารสกัด
	ตัวอย่างแห้ง	สารสกัด		
เอื้องคำ	38.2316	9.1324	23.89	ของเหลวข้นเหนียวสีส้มเข้ม
เอื้องกุหลาบกระเปาะเปิด	152.1992	47.8600	31.45	ของแข็งสีเหลืองอมน้ำตาล
กะเหร้งร้อน	37.7482	6.7451	17.87	ของเหลวเหนียวสีเหลืองส้ม

4.2 ผลการตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น (Phytochemical Screening)

การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นโดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสีหรือการตกตะกอนของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ 3 ชนิด คือ เอื้องคำ เอื้องกุหลาบกระเปาะเปิด และกะเหร้งร้อน ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ผลการตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ป่า 3 ชนิด

สารพฤกษเคมี	สารสกัดจากดอกกล้วยไม้ป่า		
	เอื้องคำ	เอื้องกุหลาบกระเปาะเปิด	กะเหร้งร้อน
แอนทราควิโนน	-	-	-
เทอร์ปีนอยด์	+++	+++	+++
ฟลาโวนอยด์	+++	++	++
ซาโปนิน	-	-	-
แทนนิน	+	+++	+

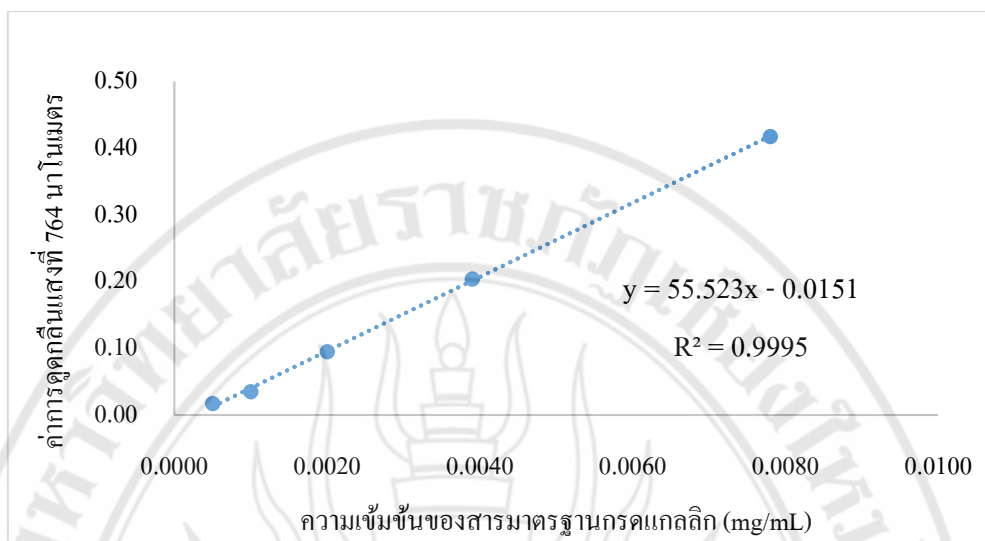
แอลคาลอยด์	-	-	-
คาร์ดิแอกไกลโคไซด์	+	+++	++

หมายเหตุ	-	หมายถึง ตรวจสอบไม่พบ
	+	หมายถึง ตรวจสอบพบน้อย
	++	หมายถึง ตรวจสอบพบปานกลาง
	+++	หมายถึง ตรวจสอบพบมาก

จากการตรวจสอบสารพฤษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ 3 ชนิด พบสารพฤษเคมีที่เหมือนกัน 4 ชนิด คือ เทอร์พีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ แทนนิน และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ แต่ละชนิดมีปริมาณมากน้อยแตกต่างกันไป อาทิเช่น ในสารสกัดจากดอกเอื้องคำตรวจพบฟลาโวนอยด์มากกว่าเอื้องกุหลาบกระเปาะเปิดและกะระกะร้อน ในขณะที่แทนนินตรวจสอบแล้วพบมากในเอื้องกุหลาบกระเปาะเปิดและพบมากกว่าในสารสกัดจากดอกกะระกะร้อนและดอกเอื้องคำเช่นเดียวกับคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ที่ตรวจสอบแล้วพบมากในเอื้องกุหลาบกระเปาะเปิด ส่วนแอนทราควิโนน ซาโปนิน และแอลคาลอยด์ ตรวจไม่พบในสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ทั้ง 3 ชนิด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ นิสา จุลโพธิ์ (2559) ทำการศึกษาสารพฤษเคมีของสารสกัดหยาบชั้นเอทานอลจากดอกกล้วยไม้สกุลหวาย 4 ชนิด คือ เอื้องสกุล เอื้องเจดชิเก้า เอื้องบูรณะเจด และเอื้องขาว 5 เอ็น พบว่าสารสกัดหยาบชั้นเอทานอลจากดอกกล้วยไม้สกุลหวาย 4 ชนิด สามารถตรวจพบสารพฤษเคมีต่าง ๆ คือ เทอร์พีนอยด์ สเตอรอยด์ คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ ฟลาโวนอยด์ แทนนิน และคูมาริน ซึ่งพืชแต่ละชนิดจะมีปริมาณสารพฤษเคมีที่แตกต่างกันออกไป และกลุ่มสารพฤษเคมีที่ตรวจสอบไม่พบคือ แอนทราควิโนน ซาโปนิน แอลคาลอยด์ และโพรบาแทนนิน เป็นต้น

4.3 ผลการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content : TPC)

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric โดยสร้างกราฟมาตรฐานจากกรดแกลลิก (Gallic acid) ความเข้มข้นระหว่าง 0.0078-0.0005 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่าได้กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ดังแสดงในรูปที่ 4.1 ($y = 55.523x - 0.0151$, $R^2 = 0.9995$) และเมื่อคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic Acid Equivalent : GAE) ในรูปมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ตัวอย่าง (mgGAE.g^{-1}) ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.3



ภาพที่ 4.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานกรดแกลลิกกับค่าการดูดกลืนแสงในการหาปริมาณฟีนอลิกรวม

ตารางที่ 4.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ทั้ง 3 ชนิด ในรูปมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ปั่วตัวอย่าง (mgGAE.g^{-1})

สารสกัดจาก ดอกกล้วยไม้	ความเข้มข้น (mg/mL)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (mgGAE.g^{-1})			
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
เอื้องคำ	0.0735	42.66	42.91	42.91	42.83 ± 0.14
เอื้องกุหลาบกระเปาเปิด	0.0730	55.78	56.03	56.52	56.11 ± 0.38
กะเรกะร่อน	0.2548	32.52	32.24	33.16	32.64 ± 0.47

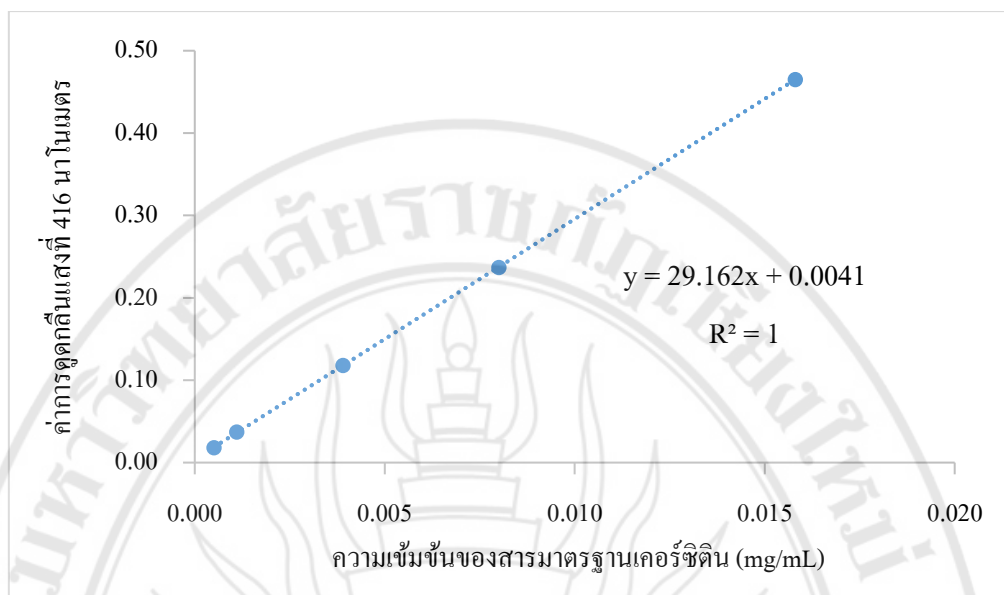
จากผลการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ทั้ง 3 ชนิด พบว่าสารสกัดจากดอกกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเปาเปิด ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงที่สุด $56.11 \pm 0.38 \text{ mgGAE.g}^{-1}$ รองลงมาคือ เอื้องคำ $42.83 \pm 0.14 \text{ mgGAE.g}^{-1}$ และกะเรกะร่อน $32.64 \pm 0.47 \text{ mgGAE.g}^{-1}$ ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของเกสรี กลิ่นสุคนธ์ และคณะ (2559) ซึ่งทำการศึกษาคูณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้สกุลหายาก 4 ชนิด คือ ไพร่เบิร์ด เอียสกุล บุรณะเจตน์ และชาวสนาน โดยใช้วิธีการแช่หมักด้วยเอทานอล พบว่ากล้วยไม้สกุลหายากทั้ง 4 ชนิดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมอยู่ที่ 35.20 ± 2.14 ถึง $54.17 \pm 2.48 \text{ mgGAE.g}^{-1}$ โดยที่ ไพร่เบิร์ดให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงที่สุด 54.17 ± 2.48

mgGAE.g⁻¹ รองลงมาได้แก่ เอียสกุล 36.95±0.93 mgGAE.g⁻¹ บุรณะเจตน์ 36.10±1.55 mgGAE.g⁻¹ และชาวสนาน 35.20±2.14 mgGAE.g⁻¹ ตามลำดับ

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมจากการวิจัยมีปริมาณใกล้เคียงกับงานวิจัยของเกสรี่ กลิ่นสุคนธ์ และคณะ (2559) ในขณะที่งานวิจัยของ Gargi Prasad, et. al. (2016) ที่ทำการศึกษา การเปรียบเทียบลายพิมพ์ HPLC และการต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรงิ้วไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าคิดที่เพาะเลี้ยงในและนอกหลอดทดลอง ใช้ส่วนใบและรากของเอื้องกุหลาบกระเป๋าคิดในการศึกษา พบว่าส่วนใบและรากที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุดอยู่ที่ 159.52±1.52 และ 189.65±3.75 mgGAE.g⁻¹ ส่วนรากและใบที่เพาะเลี้ยงนอกหลอดทดลองมี ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมอยู่ที่ 86.03±1.55 และ 111.62±2.40 mgGAE.g⁻¹ ตามลำดับ จาก ข้อมูลดังกล่าว พบว่าในใบและรากของกล้วยไม้ที่เพาะเลี้ยงทั้งในและนอกหลอดทดลองมีปริมาณสาร มากกว่าในสารสกัดของพืชที่ทำการทดลอง สันนิษฐานว่า ในแต่ละส่วนประกอบของพืชจะมี สารประกอบฟีนอลิกในปริมาณที่แตกต่างกัน

4.4 ผลการหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoid Content: TFC)

การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ด้วยวิธี Aluminium chloride (AlCl₃) colorimetric โดยสร้างกราฟมาตรฐานจากเคอร์ซีติน (Quercetin) ความเข้มข้นระหว่าง 0.0158-0.0005 มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร พบว่าได้กราฟมาตรฐานเคอร์ซีติน ดังแสดงในรูปที่ 4.2 ($y = 29.162x + 0.0041$, $R^2 = 1$) และคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ ตัวอย่าง จากกราฟมาตรฐานเคอร์ซีติน (Quercetin equivalent : QE) ในรูปมิลลิกรัมสมมูลของ เคอร์ซีตินต่อกรัมของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ตัวอย่าง (mgQE.g⁻¹) ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.4



ภาพที่ 4.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานคลอโรซิทินกับค่าการดูดกลืนแสงในการหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

ตารางที่ 4.4 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ป่าทั้ง 3 ชนิดในรูปมิลลิกรัมสมมูลของคลอโรซิทินต่อกรัมของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ป่าตัวอย่าง (mgQE.g^{-1})

สารสกัดจาก ดอกกล้วยไม้	ความเข้มข้น (mg/mL)	ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (mgQE.g^{-1})			
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
เอื้องคำ	0.1853	36.82	35.71	38.30	36.94 ± 1.30
เอื้องกุหลาบกระเปาเปิด	0.1748	22.15	19.60	20.58	20.78 ± 1.29
กะเรกะร่อน	0.1274	6.16	5.89	3.47	4.92 ± 0.43

จากผลการหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ทั้ง 3 ชนิด พบว่าสารสกัดจากดอกกล้วยไม้เอื้องคำ ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด $36.94 \pm 1.30 \text{ mgQE.g}^{-1}$ รองลงมาได้แก่ เอื้องกุหลาบกระเปาเปิด $20.78 \pm 1.29 \text{ mgQE.g}^{-1}$ และกะเรกะร่อน $5.17 \pm 1.48 \text{ mgQE.g}^{-1}$ ตามลำดับ เปรียบเทียบกับข้อมูลจากงานวิจัยของ นิสา จุลโพธิ์ (2559) ที่ทำการศึกษาสารพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบชั้นเอทานอลจากดอกกล้วยไม้สกุลหวาย 4 ชนิด คือ เอื้องสกุล เอื้องเจดชิกา เอื้องบูรณะเจต และเอื้องขาว 5 เอ็น พบว่าสารสกัดหยาบชั้นเอทา

นอลจากดอกกล้วยไม้สกุลหวาย 4 ชนิด มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมอยู่ที่ 1.12 ± 0.04 ถึง 4.01 ± 0.12 mgQE.g⁻¹ โดยที่ เจสซีก้า ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด 4.01 ± 0.12 mgQE.g⁻¹ รองลงมาได้แก่ เอียสกุล 3.80 ± 0.28 mgQE.g⁻¹ ขาว 5 เอ็น 1.24 ± 0.20 mgQE.g⁻¹ และ บุรณะเจต 1.12 ± 0.04 mgQE.g⁻¹

จากข้อมูลเปรียบเทียบดังกล่าว พบว่าปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมที่ได้จากการทดลองมีปริมาณมากกว่างานวิจัยของนินา จุลโพธิ์ อย่างไรก็ตามงานวิจัยของ Gargi Prasad, et al. (2016) ซึ่งทำการศึกษาการเปรียบเทียบลายพิมพ์ HPLC และการต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลองและเนื้อเยื่อของกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าดิบโดยใช้ส่วนใบและราก พบว่าส่วนใบและรากที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงสุดอยู่ที่ 22.61 ± 0.23 และ 25.78 ± 0.05 mg/g dry extract ส่วนรากและใบที่เพาะเลี้ยงนอกหลอดทดลองมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมอยู่ที่ 16.46 ± 0.02 และ 20.59 ± 0.19 mg/g dry extract ตามลำดับ

4.5 ผลการตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธีดีพีพีเอช (DPPH Method)

1) การหาค่า IC₅₀

การตรวจสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH Assay ในสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ 3 ชนิดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้วิตามินซี (Ascorbic acid) เป็นสารมาตรฐาน จากนั้นหาค่าการต้านอนุมูลอิสระ (%DPPH free-radical inhibition) และค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (50% Inhibitory Concentration : IC₅₀) ได้ผลดังตารางที่ 4.5

สารสกัดจากดอกเอื้องคำที่ความเข้มข้น 0.0339-1.0840 mg/mL สามารถต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ระหว่าง 1.86-68.63 % และมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.777 mg/mL ดังแสดงในรูปที่ 4.3 ก

สารสกัดจากดอกเอื้องกุหลาบกระเป๋าดิบที่ความเข้มข้น 0.0250-0.3998 mg/mL สามารถต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ระหว่าง 0.71-53.67 % และมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.372 mg/mL ดังแสดงในรูปที่ 4.3 ข

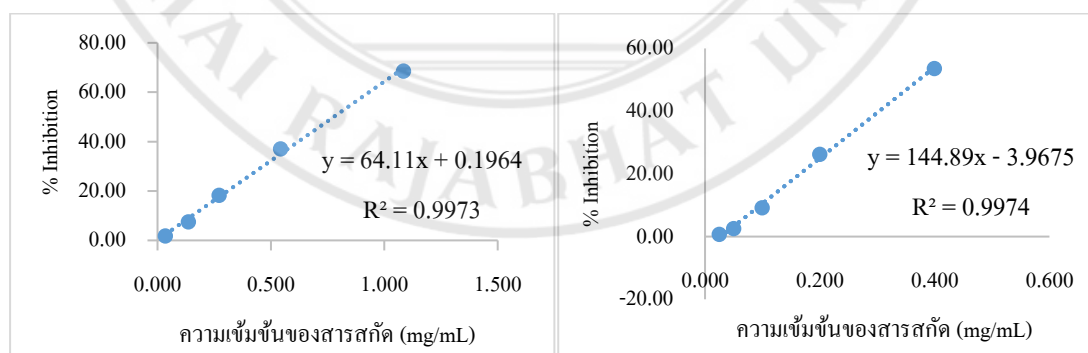
สารสกัดจากดอกกะเหรี่ยงที่ความเข้มข้น 0.1161-0.7606 mg/mL สามารถต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ระหว่าง 11.83- 66.63 % และมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.555 mg/mL ดังแสดงในรูปที่ 4.3 ค

สารละลายมาตรฐานวิตามินซีที่ความเข้มข้น 0.0003-0.0099 mg/mL สามารถต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ระหว่าง 1.28-62.37 % และมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.008 mg/mL ดังแสดงในรูปที่ 4.3 ง

จากผลการทดลองพบว่าข้อมูลสอดคล้องกับงานวิจัยของนิตา จุลโพธิ์ (2559) ซึ่งพบว่า สารสกัดหยาบจากดอกกล้วยไม้สกุลหวายที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ได้สูงถึง 5.28% และงานวิจัยของ Gargi Prasad, et. al. (2016) พบว่า ค่า IC_{50} ส่วนใบและรากของเอื้องกุหลาบกระเป๋าดอกอยู่ที่ 0.44 ± 0.015 และ 0.22 ± 0.007 mg/mL dry extract ตามลำดับ ซึ่งมีค่ามากกว่าสารสกัดของพืชที่ทดลอง อย่างไรก็ตาม จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดของดอกกล้วยไม้ทั้ง 3 ชนิด มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้น้อยกว่า สารมาตรฐานวิตามินซี

ตารางที่ 4.5 ค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ ดีพีพีเอช (% DPPH free-radical inhibition) และ ค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC_{50})

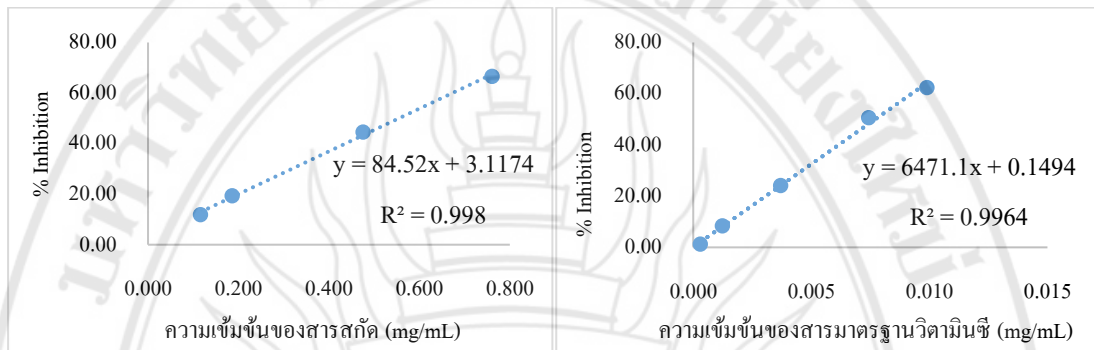
ตัวอย่างทดลอง	ช่วงความเข้มข้น (mg/mL)	ช่วง % DPPH free- radical inhibition	IC_{50} (mg/mL)
เอื้องคำ	0.0339-1.0840	1.86-68.63	0.777
เอื้องกุหลาบกระเป๋าดอก	0.0250-0.3998	0.71-53.67	0.372
กะเรกะร่อน	0.1161-0.7606	11.83-66.63	0.555
วิตามินซี	0.0003-0.0099	1.28-62.37	0.008



ก) เอื้องคำ

ข) เอื้องกุหลาบกระเปาเปิด

ภาพที่ 4.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถต้านอนุมูลอิสระ DPPH กับความเข้มข้นของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ 3 ชนิด และสารมาตรฐาน ก) เอื้องคำ ข) เอื้องกุหลาบกระเปาเปิด ค) กะระกะร่อน ง) วิตามินซี



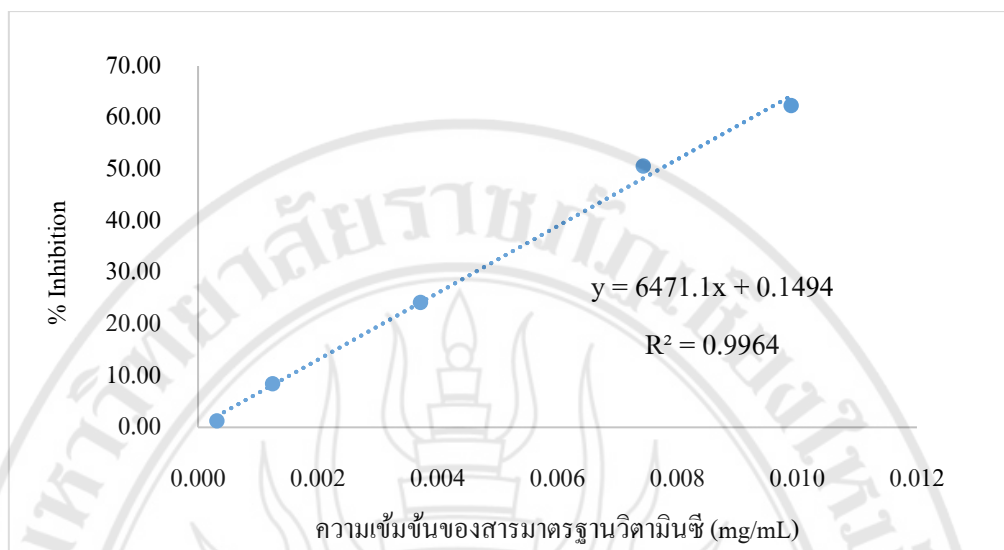
ค) กะระกะร่อน

ง) วิตามินซี

ภาพที่ 4.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถต้านอนุมูลอิสระ DPPH กับความเข้มข้นของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ 3 ชนิด และสารมาตรฐาน ก) เอื้องคำ ข) เอื้องกุหลาบกระเปาเปิด ค) กะระกะร่อน ง) วิตามินซี (ต่อ)

2) การหาค่า Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC)

การหาค่า VCEAC โดยการสร้างกราฟมาตรฐานสารละลายมาตรฐานวิตามินซี (Ascorbic acid) ความเข้มข้นระหว่าง 0.0003-0.0099 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่าได้กราฟสารละลายมาตรฐานวิตามินซี ดังแสดงในรูปที่ 4.4 และคำนวณหาค่า VCEAC กราฟสารละลายมาตรฐานวิตามินซี ในรูปมิลลิกรัมของวิตามินซีต่อกรัมของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ตัวอย่าง (mg Vitamin C/g extract) ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.6



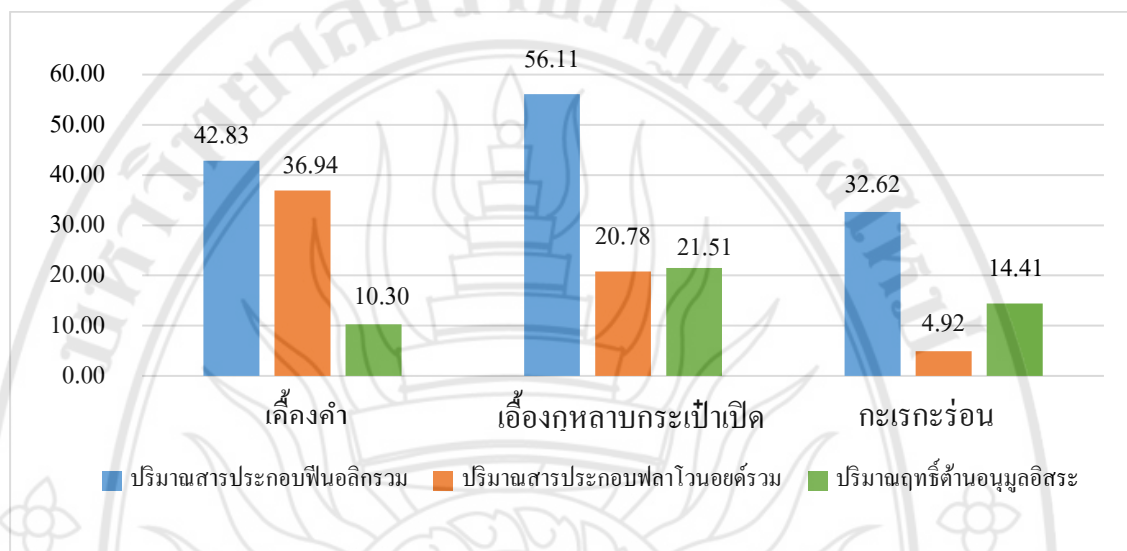
ภาพที่ 4.4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานวิตามินซีกับร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ โดยวิธีดีพีพีเอช

ตารางที่ 4.6 ช่วงความเข้มข้น ค่า IC_{50} และค่า VCEAC ของสารตัวอย่าง

ตัวอย่าง	ช่วง ความเข้มข้น (mg/mL)	IC_{50} (mg/mL)	VCEAC (mg Vitamin C / g extract)
เอื้องคำ	0.0339-1.0840	0.777	10.296
เอื้องกุหลาบกระเปาเปิด	0.0250-0.3998	0.372	21.505
กะเหรี่ยงร้อน	0.1161-0.7606	0.555	14.414
วิตามินซี	0.0003-0.0099	0.008	-

จากผลการหาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในรูปมิลลิกรัมของวิตามินซีต่อกรัมของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ (Vitamin C equivalent antioxidant capacity : VCEAC) พบว่าสารสกัดจากดอกกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเปาเปิด มีค่า VCEAC สูงที่สุด 21.505 mg Vitamin C/g extract รองลงมาได้แก่ กะเหรี่ยงร้อน และเอื้องคำ มีค่า VCEAC เท่ากับ 14.414, และ 10.296 mg Vitamin C/g extract ตามลำดับ

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม และปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ทั้ง 3 ชนิด คือ เอื้องคำ เอื้องกุหลาบกระเปาเปิด และกะระระร้อน สรุปได้ดังแสดงในรูปที่ 4.5



ภาพที่ 4.5 ผลรวมของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ป่าทั้ง 3 ชนิด

จากผลการทดลองพบว่า ในภาพรวมสารสกัดจากเอื้องกุหลาบกระเปาเปิด มีปริมาณสารต่าง ๆ มากที่สุด รองลงมา ได้แก่ เอื้องคำ และกะระระร้อน ตามลำดับ หากต้องการสารสกัดเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในด้านเครื่องสำอางและยา ควรเลือกสกัดสารจากเอื้องกุหลาบกระเปาเปิด เพื่อให้ได้ปริมาณสารต่างๆ มากและมีประสิทธิภาพ

4.6 ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากดอกกล้วยไม้

จากการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากดอกกล้วยไม้เอื้องคำ เอื้องกุหลาบกระเปาเปิด และกะระระร้อนต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* และ *Enterobacter aerogenes* ด้วยวิธี Agar well diffusion method สามารถอ่านผลการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (clear zone) เฉลี่ย มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร ได้ผลดังตารางที่ 4.7 4.8 และ 4.9

ตารางที่ 4.7 ผลของสารสกัดจากดอกเอื้องคำต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

ความเข้มข้นของ	เส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร)			
สารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. aerogenes</i>
Tetracycline				
(1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	30.00 ^a ±0.71	28.60 ^a ±0.82	24.50 ^a ±0.93	24.50 ^a ±1.12
10% DMSO	6.00 ^e ±0.00	6.00 ^d ±0.00	6.00 ^b ±0.00	6.00 ^b ±0.00
500	23.30 ^b ±1.67	11.40 ^b ±2.07	6.00 ^b ±0.00	6.00 ^b ±0.00
250	22.60 ^b ±2.04	8.00 ^c ±0.70	6.00 ^b ±0.00	6.00 ^b ±0.00
125	20.20 ^c ±1.09	6.60 ^d ±0.54	6.00 ^b ±0.00	6.00 ^b ±0.00
62.50	18.00 ^d ±1.27	6.20 ^d ±0.44	6.00 ^b ±0.00	6.00 ^b ±0.00
31.25	16.40 ^d ±1.14	6.80 ^d ±0.44	6.00 ^b ±0.00	6.00 ^b ±0.00

หมายเหตุ: - ขนาดของหลุมเท่ากับ 6.00 มิลลิเมตร

- ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในสดมภ์ หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากการทดลองพบว่าสารสกัดจากดอกเอื้องคำ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก 2 ชนิด คือ *S. aureus* และ *B. cereus* ได้ โดยที่ความเข้มข้นต่ำที่สุด 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* ได้ ในขณะที่ความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *B. cereus* ได้คือที่ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นดังกล่าวให้ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้แตกต่างจากตัวควบคุมเชิงลบ (10% DMSO) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sandrasagaran et al. (2014) ที่ได้ทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์จากส่วนต่างๆ ของพืชชนิด *Dendrobium crumenatum* (หวายตะมอยหรือเอื้องมะลิ) ซึ่งเป็นพืชสกุลเดียวกับเอื้องคำต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ 8 ชนิด (ทดสอบด้วยวิธี Disk diffusion method) พบว่า สารสกัดจาก *D. crumenatum* ที่สกัดด้วยเมทานอลมีประสิทธิภาพใน

การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* มากที่สุด อย่างไรก็ตาม ในงานวิจัยนี้สารสกัดจากดอกเอื้องคำไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* และ *E. aerogenes* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์แกรมลบได้

ตารางที่ 4.8 ผลของสารสกัดหยาบจากดอกเอื้องคำหลายกระเปาะเปิดต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

ความเข้มข้นของ สารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร)			
	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. aerogenes</i>
Tetracycline (1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	36.27 ^a ±0.83	24.20 ^a ±1.97	25.70 ^a ±1.40	23.67 ^a ±0.47
10% DMSO	6.00 ^f ±0.00	6.00 ^f ±0.00	6.00 ^c ±0.00	6.00 ^b ±0.00
500	15.17 ^b ±2.18	10.80 ^b ±1.97	6.43 ^b ±0.97	6.00 ^b ±0.00
250	12.03 ^c ±2.14	9.30 ^c ±0.45	6.00 ^c ±0.00	6.00 ^b ±0.00
125	10.70 ^{cd} ±1.20	8.37 ^{cd} ±0.50	6.00 ^c ±0.00	6.00 ^b ±0.00
62.50	9.10 ^d ±0.65	7.40 ^{cd} ±0.55	6.00 ^c ±0.00	6.00 ^b ±0.00
31.25	7.10 ^e ±0.22	6.20 ^e ±0.45	6.00 ^c ±0.00	6.00 ^b ±0.00

หมายเหตุ : ขนาดหลุมเท่ากับ 6.00 มิลลิเมตร

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในสดมภ์ หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบจากดอกเอื้องคำหลายกระเปาะเปิด สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่ใช้ทดสอบ 2 ชนิด คือ *S. aureus* และ *B. cereus* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดได้ดีที่สุด คือ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้น 250, 125, 62.50 และ 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่ายับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียลดลงมาตามระดับความเจือจาง แต่มีประสิทธิภาพไม่เทียบเท่ากับ positive control ในขณะที่สารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ

เชื้อแบคทีเรียแกรมลบที่ใช้ทดสอบได้เพียง 1 ชนิด คือ *E. coli* ที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตรเท่านั้น และทุกความเข้มข้นของการสกัดหยาบ ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. aerogenes* ได้ ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและเชื้อแบคทีเรียแกรมลบมีโครงสร้างและ องค์ประกอบทางเคมีของผนังเซลล์ที่แตกต่างกัน โดยจากการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบสามารถ ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพราะผนังเซลล์ของ แบคทีเรียแกรมบวกประกอบไปด้วยเพปทิโดไกลแคน (peptidoglycan) ที่หนาอยู่ชั้นนอกสุด ถัดเข้า มาเป็น lipid bilayer ในขณะที่แบคทีเรียแกรมลบมีผนังเซลล์ที่ประกอบไปด้วยไขมัน โดยมี lipid bilayer 2 ชั้น คือ outer membrane และ cytoplasmic membrane มีชั้น peptidoglycan อยู่ ตรงกลาง หากจะทำลายเซลล์แบคทีเรียได้ ต้องทำลายผนังเซลล์ชั้นนอกสุดก่อน ซึ่งเป็นชั้นไขมัน จึง อาจกล่าวได้ว่าสารสำคัญที่พบในดอกเอื้องกุหลาบกระเปาะเปิดมีประสิทธิภาพในการทำลายเพปทิโด ไกลแคนของแบคทีเรียแกรมบวกได้ แต่ไม่มีประสิทธิภาพในการทำลายไขมันของแบคทีเรียแกรมลบ หรืออาจมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตน้อยมาก ในขณะที่สารสกัดหยาบสามารถยับยั้ง การเจริญเติบโตของแบคทีเรียแกรมลบ คือ เชื้อ *E. coli* ได้บ้างเล็กน้อย แต่ไม่สามารถยับยั้งการ เจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *E. aerogenes* ได้เลย เนื่องจากแบคทีเรียทั้งสองชนิดเป็นเชื้อ แบคทีเรียที่สามารถเคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลกเจลลา ซึ่งเป็นโครงสร้างสำคัญของแบคทีเรียที่ยื่นออกมา จากเบซิลลอบดที่ฝังอยู่ในไซโทพลาสซึม โดย *E. coli* จะมีแฟลกเจลลายื่นออกมารอบๆเซลล์เป็น จำนวนมาก (peritrichous flagella) ในขณะที่ *E. aerogenes* ก็มีแฟลกเจลลายื่นออกมารอบเซลล์ เช่นกัน แต่มีจำนวนที่น้อยกว่า โดยบริเวณแฟลกเจลลามีแอนติเจน H อยู่ (antigen H) ซึ่งเป็นยีน ก่อโรคและสามารถถูกทำลายได้ด้วยสารที่มีชีวิต เมื่อสารสกัดหยาบเข้าทำปฏิกิริยากับแอนติเจน H ของแฟลกเจลลา *E. coli* ซึ่งมีจำนวนแฟลกเจลลาที่มากกว่าจึงถูกสารสำคัญที่พบในดอกเอื้องกุหลาบ กระเปาะเปิดจับได้มาก และเข้าทำปฏิกิริยาส่งผลให้เกิดการทำลายเซลล์ของแบคทีเรีย ทำให้เกิด บริเวณยับยั้งการเจริญเติบโตได้ แต่ *E. aerogenes* ที่มีจำนวนแฟลกเจลลำน้อยกว่า สารสำคัญที่พบ ในดอกเอื้องกุหลาบกระเปาะเปิดจึงเข้าทำปฏิกิริยากับแอนติเจน H ของแฟลกเจลลาได้น้อย สารสำคัญ จึงอาจไม่ส่งผลกระทบร้ายแรงหรือทำลายเซลล์ของ *E. aerogenes* ได้ (Veterinary Microbiology, 2554 อ่างโน นงลักษณ์และปรีชา, 2541) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Jhansi and Khasim (2018) ที่ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากเอื้องกุหลาบกระเปาะปิด ซึ่งเป็นกล้วยไม้สกุลเดียวกับเอื้องกุหลาบกระเปาะเปิด โดยใช้ตัวทำละลายเมทานอลในการสกัดสารและใช้ วิธี Agar well diffusion method ในการทดสอบเชื้อ *E. coli* ที่เป็นแบคทีเรียแกรมลบ และเชื้อ แบคทีเรียชนิดอื่นที่เป็นแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบอีก 7 ชนิด พบว่าสามารถยับยั้ง การเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* ได้ และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ ดังนั้นจากการทดลองพบว่า สารสกัดหยาบจากดอกเอื้องกุหลาบกระเปาะ

เปิดสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่ความเข้มข้นต่างๆ ของสารสกัดหยาบได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้เพียงเล็กน้อยหรือไม่เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโต

ตารางที่ 4.9 ผลของสารสกัดหยาบจากดอกกะเริ่งกระร่อนต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

ความเข้มข้นของ สารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร)			
	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. aerogenes</i>
Tetracycline				
(1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	26.00 ^a ±0.00	26.00 ^a ±0.70	25.00 ^a ±0.00	24.60 ^a ±0.55
10% DMSO	6.00 ^f ±0.00	6.00 ^f ±0.00	6.00 ^c ±0.00	6.00 ^b ±0.00
500	16.20 ^{bc} ±0.84	16.60 ^b ±1.14	12.60 ^b ±0.58	6.00 ^b ±0.00
250	14.60 ^{de} ±1.67	14.20 ^c ±1.30	6.00 ^c ±0.00	6.00 ^b ±0.00
125	17.40 ^b ±0.55	11.80 ^d ±1.48	6.00 ^c ±0.00	6.00 ^b ±0.00
62.5	15.40 ^{cd} ±1.67	9.60 ^e ±1.82	6.00 ^c ±0.00	6.00 ^b ±0.00
31.25	13.40 ^e ±1.52	7.80 ^e ±1.30	6.00 ^c ±0.00	6.00 ^b ±0.00

หมายเหตุ : ขนาดหลุมเท่ากับ 6.00 มิลลิเมตร

ตัวอักษรภาษาอังกฤษ ที่แตกต่างกันในสดมภ์ หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบจากดอกเอื้องกะเริ่งกระร่อน สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่ใช้ทดสอบ 2 ชนิด คือ *S. aureus* และ *B. cereus* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดได้ดีที่สุดคือ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้น 250, 125, 62.50 และ 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า

ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียลดลงตามระดับความเจือจาง แต่มีประสิทธิภาพไม่เทียบเท่ากับ positive control ในขณะที่สารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบที่ใช้ทดสอบได้เพียง 1 ชนิด คือ *E. coli* ที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเท่านั้น และทุกความเข้มข้นของการสกัดหยาบไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. aerogenes* ได้ และความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุดคือ 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเทวุ้นของอาหาร Mueller-Hinton agar ที่ไม่เท่ากันจึงส่งผลต่อการแพร่ทำให้สารสกัดที่ความเข้มข้น 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าสูงกว่าความเข้มข้นอื่นๆ และจากผลการทดลองพบว่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบในทุกระดับความเข้มข้นไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ เชื้อ *E. aerogenes* ได้ ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อแกรมลบมีผนังเซลล์ที่แตกต่างกับแกรมบวกทำให้สารสกัดหรือยาที่มี target ต่อ peptidoglycan ออกฤทธิ์ต่างกัน จุลินทรีย์แกรมลบมี lipid bilayer 2 ชั้น คือ outer membrane และ cytoplasmic membrane และมี ชั้น peptidoglycan อยู่ตรงกลาง ในการออกฤทธิ์ของยาหรือสารสกัดจึงต้องซึมผ่าน Outer membrane หรือแทรกผ่าน porin เข้าไปก่อนจึงจะจับกับ PBP ในชั้น peptidoglycan ซึ่งเป็น target ได้ จึงทำให้ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. aerogenes* ได้ อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองนี้แตกต่างจากงานวิจัยของ Shubha and Srinivas (2016) ที่ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากกะเพรา โดยใช้ตัวทำละลายเมทานอลในการสกัดและใช้วิธี Disc diffusion method ในการทดสอบเชื้อ พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ และ *S. aureus* ที่เป็นแบคทีเรียแกรมบวกได้ แต่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* ได้ดีกว่า ทั้งนี้เนื่องจากในงานวิจัยได้เลือกใช้ส่วนอื่นๆ เช่น ลำต้นหรือใบ ซึ่งไม่ใช่ส่วนดอกของเอื้องกะเพรา มาทำการสกัดสารเพื่อใช้ทดสอบเชื้อแบคทีเรีย ผลการทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Radhika et al. (2013) ซึ่งได้ศึกษาการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากกะเพรา โดยทำการทดลองกับเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 10 ชนิด ได้แก่ *E. coli*, *Proteus vulgaris*, *Xanthomonas* sp., *Pseudomonas mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxytoca*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus mitis*, *Staphylococcus angriness* พบว่าสารสกัดจากดอกกะเพราที่ทำการศึกษาด้วยตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ เฮกเซนและเมทานอลสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 10 ชนิด โดยได้ค่า Inhibition zone อยู่ที่ 7-18 มิลลิเมตร

4.7 การศึกษาผลของอาหารวุ้นสูตร KS ความเข้มข้นต่าง ๆ และอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยงต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องคำในสภาพปลอดเชื้อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อค่านอาหารวันสูตร VW และ KS ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้องเฉลี่ย 29.9 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส รวม 14 ชุด การทดลอง เป็นเวลา 3 เดือน ไม่พบการปนเปื้อนของชิ้นส่วนพืชและอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ผลการทดลองแสดงว่าวิธีการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้วยไฮเตอร์ และการตัดย้ายเนื้อเยื่อในตูปลานี้สามารถทำให้ปลอดเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในส่วนของการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเนื้อเยื่อได้แก่ความสูงเฉลี่ยของต้น และความยาวใบเฉลี่ย พบว่าต้นอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารวันสูตร KS ที่อุณหภูมิห้องเฉลี่ย 29.9 องศาเซลเซียส มีความสูงเฉลี่ยมากที่สุด คือ 2.2000 cm ซึ่งมากกว่าชุดควบคุม คือ อาหารวันสูตร VW ที่เพาะเลี้ยงในอุณหภูมิเดียวกัน และอาหารวันสูตร KS ที่เลี้ยงในอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 อย่างไรก็ตามพบว่าทั้ง 3 ชุดการทดลองมีความสูงเฉลี่ยของต้นอ่อนไม่แตกต่างจากอาหารวันสูตร 4/5KS ที่เลี้ยงในอุณหภูมิห้องอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.10) นอกจากนี้ยังพบว่าอาหารวันสูตร KS ที่เพาะเลี้ยงในอุณหภูมิห้องเฉลี่ย 29.9 องศาเซลเซียส สามารถชักนำให้มีความยาวใบเฉลี่ยมากที่สุด 2.8333 cm ซึ่งมากกว่าชุดการทดลองอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติอีกด้วย ซึ่งต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรดังกล่าวมีลักษณะแข็งแรง ลำต้นอวบใหญ่ ใบสีเขียวขนาดใหญ่ ดังภาพที่ 4.6

เมื่อเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนบนอาหารสูตรเดียวกันระหว่างอุณหภูมิห้องเฉลี่ย 29.9 องศาเซลเซียส กับ ที่อุณหภูมิต่ำ คือ 25 องศาเซลเซียส ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าที่อุณหภูมิห้องเฉลี่ย 29.9 องศาเซลเซียส ต้นอ่อนจะมีความสูงมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทาง นอกจากนี้ยังพบว่าการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนที่อุณหภูมิห้องเฉลี่ย 29.9 องศาเซลเซียส ทุกชุดการทดลองยังสามารถชักนำให้ต้นอ่อนเกิดรากได้ 100% (ภาพที่ 4.6)

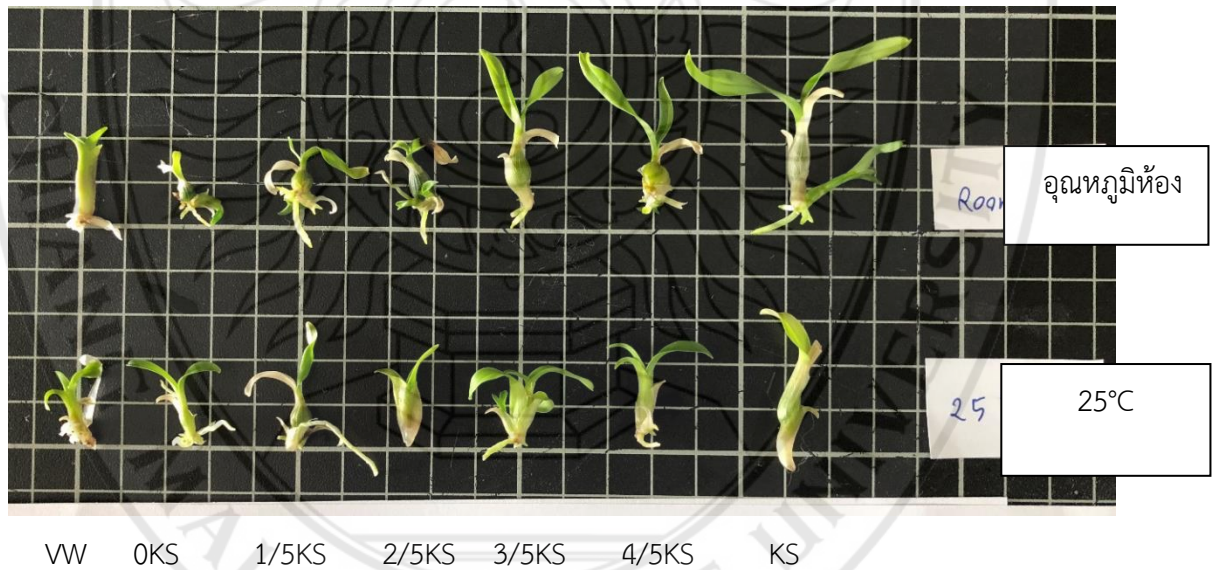
การย้ายต้นอ่อนเนื้อเยื่อที่ได้จากการทดลองทั้งหมดออกปลูกโดยปรับสภาพในแก้วพลาสติก ดังภาพที่ 2 เป็นเวลา 1 สัปดาห์ แล้วจึงเปิดฝารดน้ำวันละ 1 ครั้ง เลี้ยงในโรงเรือนต่อไปอีก 3 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารวันสูตร VW ทั้งหมดมีอาการฉ่ำน้ำและตาย ในขณะที่ต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารวันสูตร KS ทุกความเข้มข้นมีอัตราการรอดชีวิต 100% มีการแตกรากใหม่จำนวนมาก ลักษณะต้นแข็งแรง โดยเฉพาะอย่างยิ่งต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารวัน 1/5KS ที่ต้นมีขนาดใหญ่กว่าชุดการทดลองอื่น ๆ (ภาพที่ 4.8)

ตารางที่ 4.10 ความสูงและความยาวใบเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของต้นอ่อนเนื้อเยื่อภายหลังการเพาะเลี้ยงบนอาหารวันสูตรต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน

ชุดการทดลอง	อุณหภูมิ (°C)	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ)	ความสูงเฉลี่ย (cm±SD)	ความยาวใบ (cm±SD)	การเกิดราก (%)
-------------	---------------	---------------------------------------	-----------------------	-------------------	----------------

VW	29.9	1.000±0.0000 ^a	1.8250±0.2363 ^b	0.6250±0.6291 ^{cde}	100
0KS	29.9	1.000±0.0000 ^a	0.7000±0.3560 ^{ghi}	1.3250±1.0996 ^{bcd}	100
1/5KS	29.9	1.000±0.0000 ^a	0.6500±0.1643 ^{hi}	0.6667±0.5164 ^{bcd}	100
2/5KS	29.9	1.000±0.0000 ^a	1.0400±0.0894 ^{def}	0.3000±0.2738 ^e	100
3/5KS	29.9	1.000±0.0000 ^a	1.2750±0.2217 ^{cde}	1.5750±0.5058 ^{bc}	100
4/5KS	29.9	1.000±0.0000 ^a	1.9333±0.4041 ^{ab}	1.4600±0.8989 ^{bcd}	100
KS	29.9	1.000±0.0000 ^a	2.2000±0.2121 ^a	2.8333±0.2887 ^a	100
VW	25	1.000±0.0000 ^a	1.4333±0.1157 ^c	0.7333±0.2517 ^{bcd}	100
0KS	25	1.000±0.0000 ^a	0.6000±0.1000 ⁱ	0.5667±0.5774 ^{de}	100
1/5KS	25	1.000±0.0000 ^a	0.9333±0.1155 ^{fgh}	1.0000±0.0000 ^{bcd}	100
2/5KS	25	1.000±0.0000 ^a	0.9250±0.0957 ^{fgh}	0.6250±0.4787 ^{cde}	100
3/5KS	25	1.000±0.0000 ^a	1.0000±0.1000 ^{efg}	0.6667±0.7638 ^{bcd}	100
4/5KS	25	1.000±0.0000 ^a	1.3333±0.1527 ^{cd}	1.0667±0.1155 ^{bcd}	100
KS	25	1.000±0.0000 ^a	1.8500±0.1291 ^b	1.6250±0.2500 ^b	100

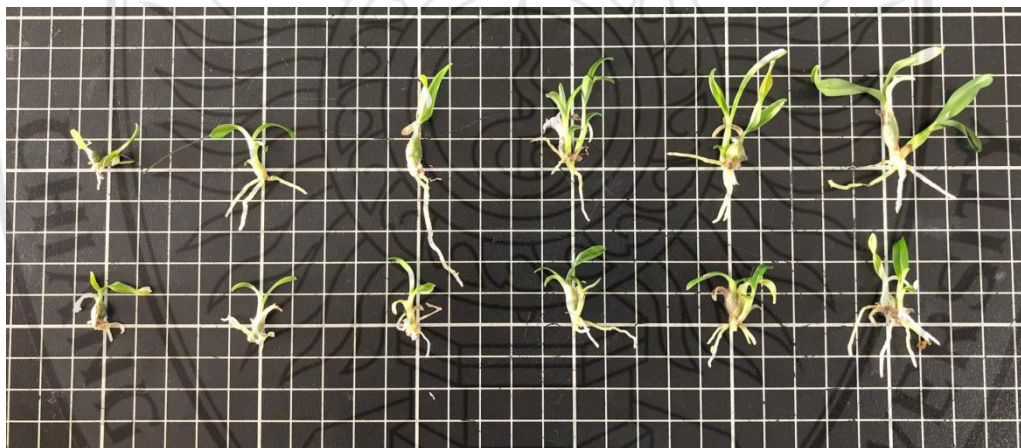
หมายเหตุ: ตัวอักษรที่ต่างกันภายในสัณคม์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อทดสอบด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 4.6 ต้นอ่อนเอื้องคำภายหลังการเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตรต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้อง และ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน



ภาพที่ 4.7 การปรับสภาพต้นอ่อนเอื้องคำจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อก่อนการย้ายออกปลูก
ในสภาพธรรมชาติ



อุณหภูมิห้อง
ง

25°C

OKS

1/5KS

2/5KS

3/5KS

4/5KS

KS

ภาพที่ 4.8 ต้นอ่อนเอื้องคำภายหลังการย้ายออกปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์

ผลการทดลองแสดงว่าการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารโดยการเติมไฮเตอร์ และการใช้ตู้ปลาในการย้ายเนื้อเยื่อแทนตู้ปลอดเชื้อนั้นไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ เช่นเดียวกับ กิตติศักดิ์

(2561) ซึ่งทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อลานไพลินของด้วยเทคนิคเดียวกัน ก็ได้รายงานว่ามีประสิทธิภาพไม่แตกต่างจากเทคนิคมาตรฐานเช่นกัน

สำหรับการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องคำนั้นพบว่าจะแปรผันตามความเข้มข้นของอาหารวุ้นสูตร KS ที่เพาะเลี้ยงในอุณหภูมิเดียว คือ อาหารที่มีความเข้มข้นมากกว่าจะชักนำให้ต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตได้มากกว่า และอาหารวุ้นสูตร KS จึงสามารถใช้ในการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องคำแทนอาหารสูตรมาตรฐานคือ VW ได้เนื่องจากให้ความสูง และความยาวใบมากกว่า สอดคล้องกับรายงานของ กนกวรรณ กิตติศักดิ์ และเฉลิมศรี (2558) ที่ศึกษาผลของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสูตร KS ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการงอก และการเจริญเติบโตของเมล็ดเอื้องกุหลาบกระเปาะเปิดเปรียบเทียบกับอาหารสูตร Vacin and Went (VW) ทำการเพาะเลี้ยงในสภาพให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 °C เป็นเวลา 16 สัปดาห์ พบว่าอาหารวุ้นสูตร KS สามารถชักนำให้ต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดมีการเจริญเติบโตในระยะพัฒนาการที่ 6 มากที่สุดคือ 60 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมากกว่าชุดการทดลองอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และสามารถนำมาใช้เป็นอาหารเพาะเลี้ยงเมล็ดเอื้องกุหลาบกระเปาะเปิดทดแทนอาหารสูตร VW ได้ เนื่องจากสามารถชักนำให้ต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตได้มากกว่า มีต้นทุนการเตรียมน้อยกว่า วิธีการเตรียมง่ายกว่า นอกจากนี้ยังพบว่าอาหารวุ้นสูตร KS ยังสามารถให้ทดแทนอาหารวุ้นสูตร MS ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อม่วงเทพรัตน์ หน่อกุหลาบ วานสีทิส และลานไพลินได้ (กิตติศักดิ์, 2558; 2559; 2561)

เมื่อเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนบนอาหารสูตรเดียวกันระหว่างอุณหภูมิห้องเฉลี่ย 29.9 องศาเซลเซียส กับ ที่อุณหภูมิต่ำ คือ 25 องศาเซลเซียส พบว่าที่อุณหภูมิห้องเฉลี่ย 29.9 องศาเซลเซียส ต้นอ่อนจะมีความสูงมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากเอื้องคำเป็นกล้วยไม้ที่เจริญเติบโตได้ดีในอุณหภูมิสูงตามธรรมชาติอยู่แล้ว ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานของ Kodym *et al.* (2001) ว่ากล้วย และมันฝรั่ง ซึ่งเพาะเลี้ยงโดยใช้แสงธรรมชาติในอุณหภูมิช่วง 16-41 องศาเซลเซียส มีการเจริญเติบโตสูงกว่าการเพาะเลี้ยงในห้องควบคุมอุณหภูมิอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชหลายชนิดสามารถทนต่ออุณหภูมิสูงในช่วงกลางวันได้ถึง 30 องศาเซลเซียส และต่ำสุดในช่วงกลางคืนได้ถึง 10 องศาเซลเซียส โดยไม่ทำให้การเจริญเติบโตของพืชลดลง (Ahloowalia and Savangkar, 2002)

การย้ายต้นอ่อนเอื้องคำออกปลูกพบว่าต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร VW ทั้งหมดมีอาการฉ่ำน้ำและตาย สาเหตุน่าจะเป็นเพราะต้นอ่อนในชุดการทดลองดังกล่าวมีรากจำนวนน้อย และสั้นมาก จึงไม่สามารถดูดน้ำและสารอาหารส่งไปยังลำต้นได้ และตายในที่สุด

4.8 การศึกษาผลของอาหารฐานสูตร KS ความเข้มข้นต่าง ๆ และอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยงต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเปาะเปิดในสภาพปลอดเชื้อ

การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องกุหลาบกระเปาะเปิดบนอาหารฐานสูตร KS ความเข้มข้นต่าง ๆ เปรียบเทียบกับสูตร VW ที่อุณหภูมิ 25°C และอุณหภูมิห้องเฉลี่ย 29.9°C เป็นเวลา 3 เดือน พบว่าอาหารสูตร OKS ต้นอ่อนทั้งหมดตาย ดังภาพที่ 2.4 เนื่องจากสูตรอาหารดังกล่าวไม่มีธาตุอาหารใด ๆ มีเพียงแค่น้ำตาลและน้ำเป็นส่วนประกอบ เช่นเดียวกับรายงานของ กนกวรรณ และคณะ (2558) ซึ่งศึกษาผลของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจากสารละลายสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน (Hydroponics) ต่อการงอก และการพัฒนาของเมล็ดเอื้องกุหลาบกระเปาะเปิดโดยการเพาะเมล็ดบนอาหาร ฐานที่เตรียมจากสารละลายสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน stock A และ B ความเข้มข้นอย่างละ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับอาหารสูตร Vacin and Went (VW) ทำการเพาะเลี้ยงในสภาพให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 °C เป็นเวลา 16 สัปดาห์ พบว่าทุกสิ่งทดลองสามารถชักนำให้เกิดการงอกของเมล็ดได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้นอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ไม่เติมสารละลายปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินทำให้เกิดการงอกของเมล็ดได้น้อยที่สุดเพียง 24.44 เปอร์เซ็นต์ สำหรับจำนวนยอดเฉลี่ยพบว่าอาหารสูตร VW ที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25°C และอุณหภูมิห้องเฉลี่ย 29.9°C มีจำนวนยอดเฉลี่ยเพียง 1 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ซึ่งน้อยกว่าต้นอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารสูตร 1/5, 2/5, 3/5, 4/5 และ KS ในทั้งสองอุณหภูมิอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 คือ 2 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ดังตารางที่ 4.11 อีกทั้งยังพบว่าความสูงของยอดต้นอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารสูตร 4/5KS ที่เลี้ยงที่อุณหภูมิห้องเฉลี่ย 29.9°C นั้นมีความสูงมากที่สุด คือ 1.40 ± 0.10 cm อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ดังตารางที่ 4.11 และต้นอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารสูตร 4/5KS ที่อุณหภูมิ 25°C มีจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด 4.00 ใบต่อยอด แต่ไม่แตกต่างกับชุดการทดลองที่เลี้ยงบนอาหารสูตร KS ที่อุณหภูมิ 25°C และอุณหภูมิห้องเฉลี่ย 29.9°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 นอกจากนี้ยังพบว่าชุดการทดลองที่เลี้ยงบนอาหารสูตร KS อุณหภูมิ 25°C ชักนำให้เกิดจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 4.33 รากต่อชิ้นเนื้อเยื่อ แต่ไม่แตกต่างจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 4/5KS อุณหภูมิ 25°C และอุณหภูมิห้องเฉลี่ย 29.9°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 แตกต่างจากรายงานของ จตุพร และคณะ (2560) ที่ศึกษาผลของ NAA และ BA ต่อการพัฒนาเป็นต้นของโปรโตคอร์มเอื้องกุหลาบกระเปาะเปิด พบว่าโปรโตคอร์มมีจำนวนราก และความสูงต้นเฉลี่ยสูงสุด คือ 2.40 ราก/ต้น และ 2.47 ซม. ตามลำดับ เมื่อเพาะเลี้ยงบน

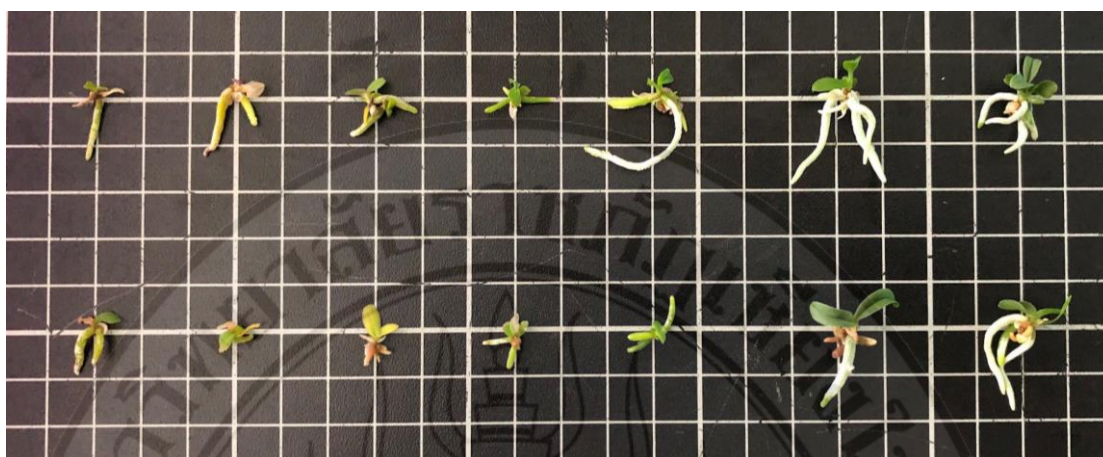
อาหาร New Dogashima (ND) (1993) ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 5 มก./ล. เมื่อพิจารณาจากลักษณะภายนอกพบว่าสีของใบนั้นจะเขียวเข้มขึ้นตามความเข้มข้นของสูตรอาหาร KS ดังภาพที่ 2.4 ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณของธาตุเหล็ก และแมกนีเซียมที่เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสูตรอาหารดังกล่าว เช่นเดียวกับรากซึ่งมีลักษณะยาว และอวบใหญ่ขึ้นตามความเข้มข้นของสูตรอาหารเช่นกัน และภายหลังการนำต้นอ่อนทั้งหมดไปทำการย้ายออกปลูกเป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร 4/5KS และ KS ที่อุณหภูมิ 25°C และอุณหภูมิห้องเฉลี่ย 29.9°C มีอัตราการรอดชีวิต 100%

ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าเอื้องกุหลาบกระเปาะเปิดสามารถเพาะเลี้ยงได้ดีบนอาหารวุ้นสูตร 4/5KS และ KS ที่อุณหภูมิ 25°C และอุณหภูมิห้องเฉลี่ย 29.9°C

ตารางที่ 4.11 การเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องกุหลาบกระเปาะเปิดที่เลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร KS ความเข้มข้นต่าง ๆ เปรียบเทียบกับสูตร VW ที่อุณหภูมิ 25°C และอุณหภูมิห้องเฉลี่ย 29.9°C เป็นเวลา 3 เดือน

ชุดการทดลอง	อุณหภูมิ	จำนวนยอด	ความสูง	จำนวนใบ	จำนวนราก
VW	25	1.00±0.00 ^b	0.70±0.20 ^{cd}	1.00±0.00 ^d	1.33±0.58 ^d
0KS	25	ตาย	ตาย	ตาย	ตาย
1/5KS	25	2.00±0.00 ^a	0.55±0.10 ^{de}	1.67±0.51 ^d	2.00±1.00 ^{de}
2/5KS	25	2.00±0.00 ^a	0.90±0.28 ^c	2.00±0.00 ^c	2.33±0.58 ^{cde}
3/5KS	25	2.00±0.00 ^a	0.78±0.07 ^c	2.00±0.00 ^c	3.00±0.00 ^{bcd}
4/5KS	25	2.00±0.00 ^a	0.92±0.05 ^c	4.00±0.00 ^a	3.67±0.58 ^{ab}
KS	25	2.00±0.00 ^a	1.17±0.17 ^b	3.00±1.15 ^b	4.33±0.58 ^a
VW	29.9	1.00±0.00 ^b	0.40±0.10 ^{ef}	2.00±0.00 ^c	2.00±0.00 ^d
0KS	29.9	ตาย	ตาย	ตาย	ตาย
1/5KS	29.9	2.00±0.00 ^a	0.22±0.05 ^f	2.00±0.00 ^c	0.67±0.57 ^f
2/5KS	29.9	2.00±0.00 ^a	0.21±0.05 ^f	2.00±0.00 ^c	1.67±0.58 ^{ef}
3/5KS	29.9	2.00±0.00 ^a	0.23±0.06 ^f	2.00±0.00 ^c	2.33±0.57 ^{cde}
4/5KS	29.9	2.00±0.00 ^a	1.40±0.10 ^a	2.00±0.00 ^c	3.33±0.58 ^{abc}
KS	29.9	2.00±0.00 ^a	0.90±0.20 ^c	3.33±1.15 ^{ab}	2.00±1.00 ^{de}

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่ต่างกันภายในสดมภ์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อทดสอบด้วยวิธี DMRT



VW

OKS

1/5KS

2/5KS

3/5KS

4/5KS

KS

ภาพที่ 4.9 ต้นอ่อนเอื้องกุหลาบกระเป๋าเปิดภายหลังการเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตรต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน

4.9 การศึกษาผลของอาหารวุ้นสูตร KS ความเข้มข้นต่าง ๆ และอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยงต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้กระถินในสภาพปลอดเชื้อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นอ่อนกระถินบนอาหารสูตร KS ความเข้มข้นที่ต่างกัน เปรียบเทียบกับอาหารสูตร VW เป็นเวลา 12 สัปดาห์ โดยในสัปดาห์ ที่ 12 พบว่าจำนวนยอดใกล้เคียงกันทุกชุดการทดลอง จากการทดลองทำให้ทราบว่าอุณหภูมิ และความเข้มข้นต่าง ๆ ของอาหารสูตร KS และอาหารสูตร VW ไม่มีผลต่อการเกิดยอดใหม่ได้ (ตารางที่ 4.12) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของกิตติศักดิ์ (2559) การศึกษาการใช้สารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินทดแทนธาตุอาหารในสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อว่านสี่ทิศโดยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนหัวของว่านสี่ทิศบนอาหารวุ้นที่เตรียมจากอาหารสำหรับปลูก พืชโดยไม่ใช้ดิน stock A และ B ความเข้มข้นเท่ากัน อย่างละ 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาล ซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ปรับ pH เป็น 5.7 เติมน้ำวุ้น 7 กรัมต่อลิตร นำวุ้นต้มให้ละลาย ร่อนอุณหภูมิของอาหารลดลงถึง 60 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมน้ำยาฟอกผ้าขาวไฮเตอร์ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับอาหารวุ้นสูตร MS ทำการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ในสภาพให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนหัวว่านสี่ทิศที่เพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นที่เตรียมจากอาหารสำหรับ

ปลูกพืชโดยไม่ใช้ ดิน stock A และ B ความเข้มข้นเท่ากันอย่างละ 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอด ความสูงของยอด และจำนวนราก ได้ไม่แตกต่างจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 แสดงให้เห็นว่าสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินสามารถใช้ทดแทนธาตุอาหารในสูตรอาหาร เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อว่านสี่ทิศได้

สำหรับการชักนำให้ต้นอ่อนกะระระอ่อนเกิดรากนั้น พบว่าชุดการทดลองที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร KS ทุกความเข้มข้น ที่ได้ศึกษาเปรียบเทียบกับอาหารสูตร VW ที่เพาะเลี้ยง 2 สภาพแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิควบคุมและอุณหภูมิห้อง มีอัตราการชักนำให้เกิดรากใกล้เคียงกันทุกชุดการทดลอง (ตารางที่ 4.12 ภาพที่ 4.10) ซึ่งไม่สอดคล้องกับงานวิจัยของ นาอิกา (2559) ที่ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เหลืองจันทร์พุดในหลอดทดลอง โดยนำชิ้นส่วนของต้นอ่อนขนาด 1 เซนติเมตรที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมาเพิ่มปริมาณ บนอาหารสูตร VW (1949) เป็นเวลา 6 เดือน ตัดรากและใบออกย้ายมาเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร ต่าง ๆ โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ตอน ดังนั้นตอนที่ 1 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการ เกิดยอดและราก ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW (1949) MS (1962) และปุ๋ยเคมี Y.V.P. Feed สูตร 20:20:20 หลังการเพาะเลี้ยง 90 วัน พบว่าอาหารสูตร VW ชักนำการเกิดรากเฉลี่ยมากที่สุดคือ 4.25 ราก/ชิ้นส่วน

การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกะระระอ่อนบนอาหารสูตร VW และอาหารสูตร KS ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอุณหภูมิควบคุม 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์ โดยในสัปดาห์ที่ 12 พบว่าชุดการทดลองอาหารสูตร KS ที่ความเข้มข้น 2/5 KS สามารถชักนำให้ความสูงมากที่สุด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 โดยมีค่าความสูงเฉลี่ย 3.25 ± 1.89 เซนติเมตรต่อชิ้นเนื้อเยื่อ และชุดการทดลองอาหารสูตร KS ที่ความเข้มข้น 1/5 KS สามารถชักนำให้ความสูงน้อยที่สุด (ตารางที่ 4.12) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 โดยมีค่าความสูงเฉลี่ย 1.60 ± 0.74 เซนติเมตรต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ส่วนชุดการทดลองที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 12 สัปดาห์ โดยในสัปดาห์ที่ 12 พบว่าชุดการทดลองอาหารสูตร KS ที่ความเข้มข้น 4/5 สามารถชักนำให้ความสูงมากที่สุด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 โดยมีค่าความสูงเฉลี่ย 3.68 ± 0.48 เซนติเมตรต่อชิ้นเนื้อเยื่อ และชุดการทดลองอาหารสูตร KS ที่ความเข้มข้น 0 KS สามารถชักนำให้ความสูงน้อยที่สุด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 โดยมีค่าความสูงเฉลี่ย 1.88 ± 0.13 เซนติเมตรต่อชิ้นเนื้อเยื่อ (ตารางที่ 4.12) การเพาะเลี้ยงในทั้ง 2 อุณหภูมิพบว่าชุดการทดลองที่เพาะเลี้ยงในสภาพอุณหภูมิปกติสามารถเจริญเติบโตได้ดีกว่าสภาพอุณหภูมิควบคุม อาจเป็นเพราะกล้วยไม้กะระระอ่อนเป็นไม้เขตร้อน ชอบความร้อนสภาพอุณหภูมิปกติ จึงทำให้มีการเจริญได้ดีกว่าสภาพอุณหภูมิที่เย็น ซึ่งไม่สอดคล้องกับงานวิจัยของ ชัยชาญ และคณะ (2554) จากการเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ *Bulbophyllum affine*

Lindl. อายุ 8 เดือน บนอาหารกึ่งแข็งคัดแปลงสูตรต่าง ๆ ได้แก่ สูตร Vacin and Went (VW,1949) พบว่าต้นอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารสูตร VW สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดใหม่เฉลี่ยมากที่สุด (3.75 ยอดต่อ ชิ้นส่วน) และไม่สอดคล้องกับงานวิจัยของ ยุพารณ์ และคณะ (2561) ศึกษาผลของการให้แสงสีต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้พันธุ์กะเหรี่ยงปากเป็ด (*Cymbidium finlaysonianum* Lindl.) ในสภาพปลอดเชื้อ โดยการนำเมล็ดมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครส 3% และวุ้น 0.75% ที่อุณหภูมิ 26 ± 2 องศาเซลเซียส ภายใต้การให้แสงสีแดง ขาว และเขียว จากหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 14 ชั่วโมงต่อวัน นาน 8 สัปดาห์ พบว่าเมล็ดกล้วยไม้ที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีขาว แดง และเขียว มีเปอร์เซ็นต์รอดชีวิตเท่ากัน 100% โดยที่เมล็ดเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีขาว สามารถสร้างยอด รวมเฉลี่ยได้สูงสุด 3.80 ยอดต่อชิ้นส่วน

ดังนั้นผลการทดลองดังกล่าวจึงแสดงให้เห็นว่าอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างง่ายอย่างง่ายสูตร KS มีประสิทธิภาพดีกว่าอาหารสูตร VW สำหรับการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ทั้ง 3 ชนิด นอกจากนี้เทคนิคดังกล่าวยังใช้สารเคมีที่หาซื้อได้ง่าย มีราคาถูก คือ การใช้ธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินแทนการใช้สารเคมีตามสูตร VW และไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องมือราคาแพงต่าง ๆ เช่น เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง เครื่องกลั่นน้ำ หม้อนึ่งความดันไอน้ำ ตู้ปลอดเชื้อสำหรับตัดเนื้อเยื่อ และเครื่องปรับอากาศ จึงทำให้งบประมาณในการลงทุนลดลงเหลือเพียงไม่ถึง 4,000 บาท ซึ่งน้อยกว่าเทคนิคมาตรฐานถึง 100 เท่า และยังลดต้นทุนค่าไฟฟ้าจากหม้อนึ่งความดันไอน้ำ และเครื่องปรับอากาศได้อย่างมาก เหมาะในการส่งเสริมให้เกษตรกรสามารถนำไปใช้ หรือนำไปประยุกต์ใช้กับพืชชนิดอื่น ๆ ได้

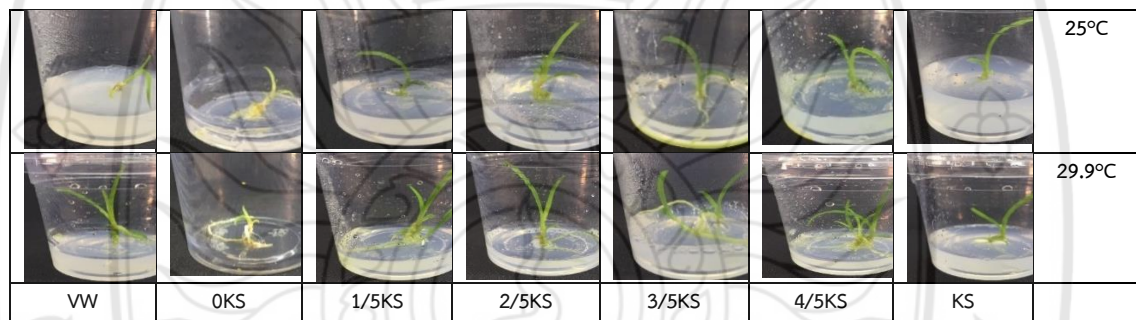
ตารางที่ 4.12 การเจริญเติบโตของต้นอ่อนกะเหรี่ยงที่เลี้ยงบนอาหารสูตร KS ความเข้มข้น

ต่าง ๆ เปรียบเทียบกับสูตร VW ที่อุณหภูมิ 25°C และอุณหภูมิห้องเฉลี่ย 29.9°C เป็นเวลา 3 เดือน

ชุดการทดลอง	อุณหภูมิ	จำนวนยอด	ความสูง	จำนวนราก
VW	25	1.37 ± 0.74^a	2.73 ± 1.13^{abcd}	2.25 ± 1.03^a
OKS	25	1.20 ± 0.44^a	2.02 ± 0.31^{de}	1.80 ± 0.44^a
1/5KS	25	1.20 ± 0.44^a	1.60 ± 0.74^e	0.60 ± 0.54^b
2/5KS	25	1.00 ± 0.00^a	3.25 ± 1.89^{abc}	2.25 ± 0.50^a
3/5KS	25	1.00 ± 0.00^a	2.65 ± 0.85^{bcd}	2.20 ± 0.63^a
4/5KS	25	1.42 ± 0.78^a	3.07 ± 0.66^{abc}	2.85 ± 1.06^a
KS	25	1.00 ± 0.00^a	2.83 ± 0.28^{abc}	2.00 ± 0.00^a
VW	29.9	1.66 ± 0.00^a	3.26 ± 0.86^{abc}	2.50 ± 1.22^a

0KS	29.9	1.20 ± 1.09^a	1.88 ± 0.13^{de}	2.00 ± 0.00^a
1/5KS	29.9	1.33 ± 0.57^a	2.46 ± 0.61^{cde}	2.66 ± 1.52^a
2/5KS	29.9	1.00 ± 0.00^a	3.53 ± 0.40^{ab}	2.33 ± 0.51^a
3/5KS	29.9	1.25 ± 0.35^a	3.33 ± 0.44^{abc}	2.37 ± 0.74^a
4/5KS	29.9	1.33 ± 0.70^a	3.68 ± 0.48^a	2.33 ± 0.70^a
KS	29.9	1.00 ± 0.00^a	3.17 ± 0.44^{abc}	2.25 ± 0.70^a

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่ต่างกันภายในสดมภ์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อทดสอบด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 4.10 ต้นอ่อนกะเหรี่ยงเปิดภายหลังการเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตรต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน