

พัฒนาระบบการผลิตต้นพันธุ์โพลีด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อ
ส่งเสริมการผลิตสารทุติยภูมิ



วิทยานิพนธ์เสนอมหาวิทยาลัยพะเยา เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร

กุมภาพันธ์ 2567

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยพะเยา

พัฒนาระบบการผลิตต้นพันธุ์โพลีด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อส่งเสริมการผลิต
สารทุติยภูมิ



วิทยานิพนธ์เสนอมหาวิทยาลัยพะเยา เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร

กุมภาพันธ์ 2567

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยพะเยา

DEVELOPING *ZINGIBER CASSUMUNAR* ROXB. PRODUCTION SYSTEM USING PLANT
TISSUE CULTURE TECHNIQUES FOR ENHANCING SECONDARY METABOLITES
PRODUCTION.



A Thesis Submitted to University of Phayao
in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Master of Science Degree in Agricultural Science
February 2024

Copyright 2024 by University of Phayao

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

พัฒนาระบบการผลิตต้นพันธุ์โพลีด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อส่งเสริมการผลิต

สารทุติยภูมิ

ของ ญัฐชนันท์ ดวงก้อน

ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร

ของมหาวิทยาลัยพะเยา

..... ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อภิชาติ ชิตบุรี)

..... ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

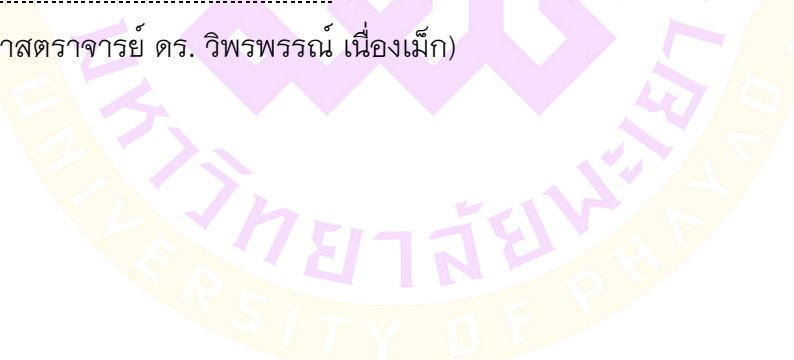
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุกัลยา ภูทอง)

..... กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ภาวิณี จันทร์วิจิตร)

..... คณบดีคณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิพรพรรณ เนื่องเม็ก)



เรื่อง:	พัฒนาระบบการผลิตต้นพันธุ์โพลด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อส่งเสริมการผลิตสารทุติยภูมิ
ผู้วิจัย:	ณัฐชนันท์ ดวงก้อน, วิทยานิพนธ์: วท.ม. (วิทยาศาสตร์การเกษตร), มหาวิทยาลัยพะเยา, 2566
อาจารย์ที่ปรึกษา:	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุกัลยา ภูทอง อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภาวิณี จันทร์วิจิตร
คำสำคัญ:	โพล, ไซโตไคนิน, สารทุติยภูมิ, น้ำตาล

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาระบบการผลิตหัวพันธุ์โพล (*Zingiber cassumunar* Roxb.) คุณภาพสูง โดยนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาประยุกต์ใช้ ในการทดลองที่ 1 ศึกษาผลของไซโตไคนินร่วมกับการเติมนาโนซีท พบว่า การใช้สูตรอาหารพื้นฐาน Murashige and Skoog (MS) ที่เติม benzylaminopurine (BAP) เพียงอย่างเดียว ที่ความเข้มข้น 1 หรือ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำการเกิดยอดใหม่ได้มากที่สุด (2.78 ยอด) และมีการเจริญเติบโตที่ดีที่สุดอีกด้วย ส่วนการทดลองที่ 2 การศึกษาผลของการปรับธาตุอาหารในกลุ่ม nitrogen, mesosnutrients และ micronutrients ร่วมกับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP พบว่า การปรับธาตุอาหารร่วมกับการเติม BAP ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของโพล สำหรับการทดลองที่ 3 ศึกษาผลของการเติมสารกระตุ้น ได้แก่ phenylalanine (Phe), jasmonic acid (JA) และ salicylic acid (SA) ต่อการเจริญเติบโตของโพลภายใต้สภาพปลอดเชื้อและการสร้างสารทุติยภูมิ พบว่า สูตรอาหารที่ไม่เติมสารกระตุ้นส่งผลให้ต้นโพลที่เพาะเลี้ยงมีการเจริญเติบโตทางด้านลำต้นดีที่สุด แต่เมื่อทำการคัดเลือกสูตรอาหารมา 5 สูตร แล้วนำไปวิเคราะห์สารสำคัญ พบว่า สูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 75 มิลลิกรัมต่อลิตร และสูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมากที่สุด (1.87 และ 1.86 mg GAE/ g DW) และยังพบว่าสูตรอาหารที่เติมสารกระตุ้น มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าสูตรที่ไม่เติมสารกระตุ้น และการทดลองที่ 4 ศึกษาผลของการปรับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสต่อการเกิดเหง้าและอัตราการรอดหลังย้ายปลูกร พบว่า สูตรอาหารที่ปรับความเข้มข้นของน้ำตาลร้อยละ 9 มีการเกิดเหง้าหัวและอัตราการรอดหลังย้ายปลูกรดีที่สุด

Title: DEVELOPING *ZINGIBER CASSUMUNAR* ROXB. PRODUCTION SYSTEM USING PLANT TISSUE CULTURE TECHNIQUES FOR ENHANCING SECONDARY METABOLITES PRODUCTION.

Author: Nutchanan Duangkon, Thesis: M.Sc. (Agricultural Science), University of Phayao, 2023

Advisor: Assistant Professor Sukalya Poothong , Ph.D. Co–advisor Assistant Professor Dr.PAVINEE CHANVICHIT

Keywords: Phlai Cytokinin Secondary metabolite Sucrose

ABSTRACT

This study aimed to develop the production of high quality *Zingiber cassumunar* (Roxb.) rhizome using plant tissue culture technique. The first experiment was to examine the effect of cytokinin and nanosheets. It was found that the Murashige and Skoog (MS) medium, with the addition of benzylaminopurine (BAP) at concentrations of 1 or 2 mg/L, could stimulate the highest number of new shoots (2.78 shoots). The highest growth was also observed. The second experiment assessed the impact of nutrient modification (nitrogen, mesonutrients, and micronutrients groups) with the addition of BAP growth regulator. The result revealed that the growth of *Z. cassumunar* was not affected. In the third experiment, the effect of elicitors including phenylalanine (Phe), jasmonic acid (JA), and salicylic acid (SA) on growth and the production of secondary metabolites, was examined. As a result, the growth of *Z. cassumunar* was significantly highest in the MS medium alone. Five medium formulas were then selected, and plant growth on those mediums was analyzed for biochemical substance production. The highest total phenolic compounds were found in the medium containing 20 mg/L of Phe plus 75 mg/L of JA and the one containing 30 mg/L of Phe plus 50 mg/L of JA (1.87 and 1.86 mg GAE/g DW, respectively). Furthermore, antioxidant activity was higher in plant growth in the medium with the addition of elicitors than in the one without elicitors. The last experiment studied the influence of sugar concentrations on rhizome growth and survival rate after transplantation. The medium added with a 9% sugar concentration enhanced the growth of rhizomes and increased survival rates of post-transplantation.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุกัลยา ภูทอง อาจารย์ที่ปรึกษาที่ให้ความรู้ และคำแนะนำแนวทางการดำเนินงานวิจัยและจัดทำเล่มวิทยานิพนธ์ ตลอดจนแนะนำทักษะความรู้ในการปฏิบัติงาน

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ภาวินี จันทร์วิจิตร ที่ให้ความกรุณาช่วย ตรวจสอบความถูกต้องและชี้แนะแนวทางการแก้ไขของการทำเล่มวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรดา ชุมภูคำ อาจารย์จากคณะวิทยาศาสตร์ การแพทย์ ที่ให้ความรู้และให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการทำวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อภิชาติ ชิตบุรี จากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนาลำปาง ที่ให้เกียรติเป็นประธานสอบวิทยานิพนธ์ และให้คำปรึกษา พร้อมกับให้คำแนะนำในการวิเคราะห์ผลการทดลองทำให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณอาจารย์คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา ทุก ๆ ท่าน ที่ให้ความรู้ และแนะแนวทางการทำงานวิจัยเป็นอย่างดี

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการคณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา ที่อนุเคราะห์และให้ความช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือในห้องปฏิบัติการ และ พี่ ๆ เจ้าหน้าที่สำนักงานเกษตรศาสตร์ฯ ทุก ๆ ท่าน ที่อำนวยความสะดวกในการติดต่อประสานงาน และดำเนินงานทางด้านเอกสารต่าง ๆ ตลอดจนให้กำลังใจ รวมไปถึงขอขอบคุณรุ่นน้องสาขาเกษตรศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา ที่คอยช่วยเหลือในงานวิจัยด้านต่าง ๆ จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณบิดา และมารดา ที่ให้กำลังใจ คอยสนับสนุน เข้าใจ และให้โอกาส ในการเรียนครั้งนี้ และทางผู้วิจัยขอขอบคุณคณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา สถาบันในการศึกษา ที่สนับสนุนสถานที่และทรัพยากรในการทำวิจัยในครั้งนี้

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่างานวิทยานิพนธ์เล่มนี้จะเป็นประโยชน์แก่ผู้ที่สนใจ เพื่อนำองค์ความรู้ในด้านการผลิตโพลีไปพัฒนาและยกระดับคุณภาพการปลูกโพลีของเกษตรกรไทยต่อไป

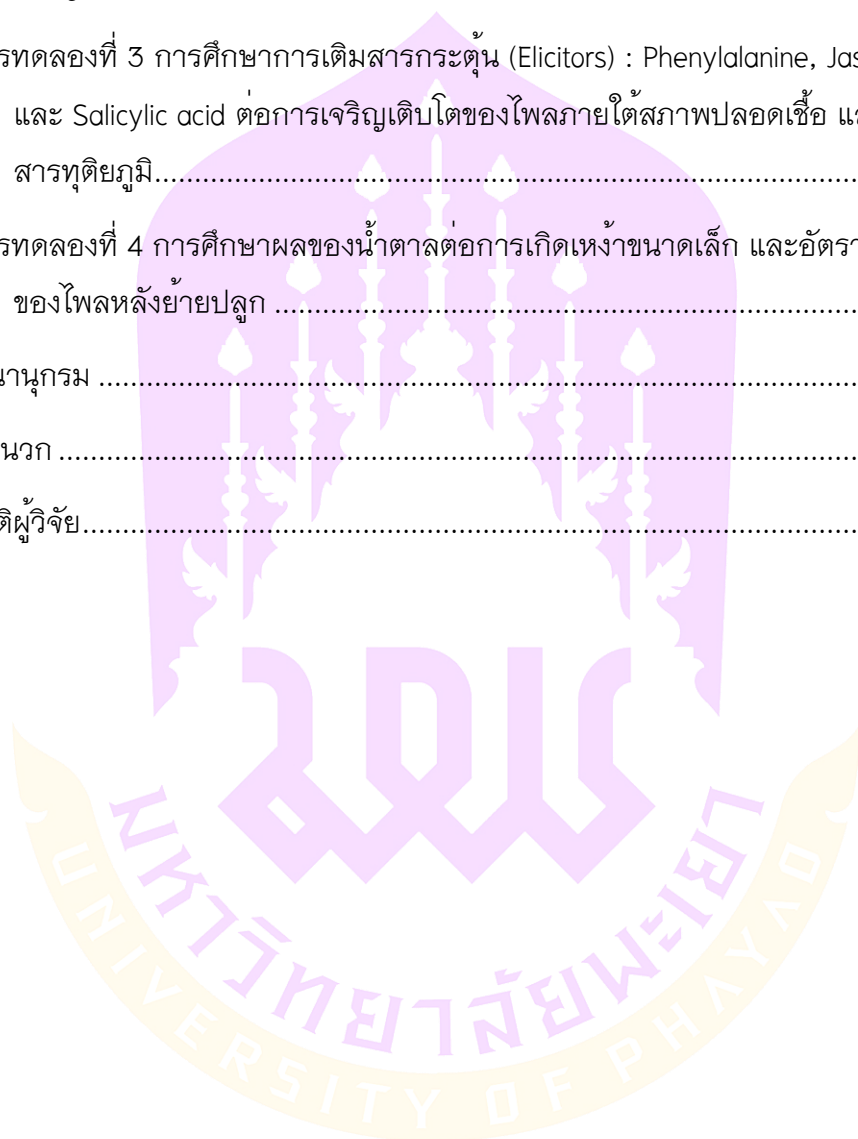
ณัฐชนันท์ ดวงก้อน

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง	ญ
สารบัญรูปภาพ.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
ที่มาและความสำคัญ	1
วัตถุประสงค์	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของไพล.....	3
สารออกฤทธิ์ในไพล	4
การปลูกและการขยายพันธุ์ไพล.....	6
การขยายพันธุ์ไพลโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.....	7
งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการขยายพันธุ์ไพลโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	8
การผลิตสารทุติยภูมิในพืช.....	10
กรดจัสโมนิก (Jasmonic acid: JA).....	12
กรดซาลิไซลิก (Salicylic acid: SA).....	13
นาโนชีท (Nano sheet: NS).....	14
งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางเภสัช.....	15

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	16
การเตรียมชิ้นส่วนพืชของโพลสำหรับการทดลอง	16
การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของไซโตไคนินและนาโนซีทต่อการเจริญเติบโตของโพล	16
การทดลองที่ 2 ศึกษาการปรับความเข้มข้นของธาตุอาหารรวมกับการเติม BAP ต่อการเจริญเติบโตของโพล	17
การทดลองที่ 3 การเติมสารกระตุ้น (Elicitors) : Phenylalanine, Jasmonic acid และ Salicylic acid ต่อการเจริญเติบโตของโพลภายใต้สภาพปลอดเชื้อ และการสร้าง สารทุติยภูมิ.....	17
การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total phenolic content).....	18
การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม (Total flavonoids content).....	19
การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH.....	19
การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP.....	20
การทดลองที่ 4 ผลของน้ำตาลต่อการเกิดเหง้าขนาดเล็ก และอัตราการรอดชีวิตของโพลหลังย้ายปลูก.....	21
บทที่ 4 ผลการทดลอง	25
การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของไซโตไคนินและนาโนซีทต่อการเจริญเติบโตของโพล	25
การทดลองที่ 2 การศึกษาการปรับความเข้มข้นของธาตุอาหารรวมกับการเติม BAP ต่อการเจริญเติบโตของโพล	31
การทดลองที่ 3 การศึกษาผลของการเติมสารกระตุ้น (Elicitors) : Phenylalanine, Jasmonic acid และ Salicylic acid ต่อการเจริญเติบโตของโพลภายใต้สภาพปลอดเชื้อ และการสร้างสารทุติยภูมิ.....	35
การทดลองที่ 3.1 การศึกษาผลของการเติมสารกระตุ้นต่อการเจริญเติบโตของโพล ..	35
การทดลองที่ 3.2 การคัดเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของโพลและสารทุติยภูมิ	40
การทดลองที่ 4 การศึกษาผลของน้ำตาลต่อการเกิดเหง้าขนาดเล็ก และอัตราการรอดชีวิตของโพลหลังย้ายปลูก	48

บทที่ 5 วิจัยรณัผลการทดลอง	54
การทดลองที่ 1 การศึกษาผลของไซโตไคนินและนาโนซีทต่อการเจริญเติบโตของโพล54	
การทดลองที่ 2 การศึกษาการปรับความเข้มข้นของธาตุอาหารรวมกับการเติม BAP ต่อการเจริญเติบโตของโพล	57
การทดลองที่ 3 การศึกษาการเติมสารกระตุ้น (Elicitors) : Phenylalanine, Jasmonic acid และ Salicylic acid ต่อการเจริญเติบโตของโพลภายใต้สภาพปลอดเชื้อ และการสร้างสารทุติยภูมิ.....	60
การทดลองที่ 4 การศึกษาผลของน้ำตาลต่อการเกิดเหง้าขนาดเล็ก และอัตราการรอดชีวิตของโพลหลังย้ายปลูก	62
บรรณานุกรม	65
ภาคผนวก	76
ประวัติผู้วิจัย.....	89



สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 1 แหล่งผลิตไพลที่สำคัญของไทยปี 2565.....	5
ตาราง 2 สถิติการผลิตไพลในปี 2563-2565.....	5
ตาราง 3 ราคาขายผลผลิตไพล.....	6
ตาราง 4 กรรมวิธีที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน (BAP, KN และ TDZ) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับการเติมและไม่เติม Nano sheet ที่ระดับความเข้มข้น 10 มก./ล. ต่อการเจริญเติบโตของไพล.....	22
ตาราง 5 กรรมวิธีที่มีการปรับความเข้มข้นของธาตุอาหารในกลุ่ม Nitrogen, Mesosnutrients และ Micronutrients ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับการเติม BAP ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของไพล.....	23
ตาราง 6 กรรมวิธีที่มีการเติมสารกระตุ้น (Elicitors) ได้แก่ Phenylalanine, Jasmonic acid และ Salicylic acid ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของไพลภายใต้สภาพปลอดเชื้อ และการสร้างสารทุติยภูมิ.....	24
ตาราง 7 ผลของการเติมเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน (BAP, KN และ TDZ ความเข้มข้น 1, 2 และ 4 มก./ล.) ร่วมกับการเติมหรือไม่เติม NS ที่ความเข้มข้น 10 มก./ล. ต่อการเพิ่มจำนวนยอดใหม่และการเจริญเติบโตของไพล เมื่อทำการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์.....	28
ตาราง 8 ผลของการเติมสารกระตุ้น Phe (ความเข้มข้น 10, 20 และ 30 มก./ล.) ร่วมกับ JA หรือ SA (ความเข้มข้น 50, 75 และ 100 มก./ล.) ต่อการเจริญเติบโตของไพลภายใต้สภาพปลอดเชื้อ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 4 สัปดาห์.....	37
ตาราง 9 ผลของการคัดเลือกสูตรอาหารที่เติมสารกระตุ้นและไม่เติมสารกระตุ้นที่ดีที่สุดจากการทดลอง 3.1 ต่อการเจริญเติบโตของไพลภายใต้สภาพปลอดเชื้อ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์.....	44
ตาราง 10 สารละลายเข้มข้นของธาตุอาหารสูตร MS.....	76

ตาราง 11 แสดงการวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) ของการทดลองที่ 1 การศึกษาผลของไซโตไคนินและนาโนซีตต่อการเจริญเติบโตของโพล..... 77

ตาราง 12 แสดงการวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) การทดลองที่ 2 การศึกษาการปรับความเข้มข้นของธาตุอาหารรวมกับการเติม BAP ต่อการเจริญเติบโตของโพล 78

ตาราง 13 แสดงการวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) ของการทดลองที่ 3 การศึกษาผลของการเติมสารกระตุ้น (Elicitors: Phenylalanine, Jasmonic acid และ Salicylic acid) ต่อการเจริญเติบโตของโพลภายใต้สภาพปลอดเชื้อ และการสร้างสารทุติยภูมิ 84

ตาราง 14 แสดงการวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) ของสารประกอบ ฟีนอลิกรวมของสารสกัดโพลทั้งหมด 5 ชุดการทดลอง เทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก 85

ตาราง 15 แสดงการวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) ของการทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดโพลใช้ความเข้มข้นและชนิดของตัวทำละลายแตกต่างกัน เทียบกับกราฟมาตรฐานโพลีฟีนอล..... 85

ตาราง 16 แสดงการวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) ของการทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของสารสกัดโพลใช้ความเข้มข้นและชนิดของตัวทำละลายแตกต่างกัน เทียบกับกราฟมาตรฐานโพลีฟีนอล..... 85

ตาราง 17 แสดงการวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) ของการทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดโพลใช้ความเข้มข้นและชนิดของตัวทำละลายแตกต่างกัน เทียบกับกราฟมาตรฐานโพลีฟีนอล..... 86

ตาราง 18 แสดงการวิเคราะห์ผลหาค่าความแปรปรวนทางสถิติของการทดลองที่ 3 การศึกษาผลของการเติมสารกระตุ้น (Elicitors: Phenylalanine, Jasmonic acid และ Salicylic acid) ต่อการเจริญเติบโตของโพลภายใต้สภาพ ปลอดเชื้อ และการสร้างสารทุติยภูมิ ที่ทำการคัดเลือกสูตรอาหารที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 3.1..... 87

ตาราง 19 แสดงการวิเคราะห์ผลหาค่าความแปรปรวนทางสถิติของการทดลองที่ 4 การศึกษาผลของน้ำตาลต่อการเกิดเหง้าขนาดเล็ก และอัตราการรอดชีวิตของโพลหลังย้ายปลูก 88

สารบัญรูปภาพ

	หน้า
ภาพ 1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของโพล (ก) ลำต้น (ข) เหนง่า (ค) ดอก.....	5
ภาพ 2 กระบวนการเมแทบอลิซึมที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างสารทุติยภูมิในพืช.....	12
ภาพ 3 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลที่เป็นโครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบ ฟีนอลิก โดยทั่วไป.....	12
ภาพ 4 การสังเคราะห์กรดจัสโมนิก.....	13
ภาพ 5 การสังเคราะห์กรดซาลิไซลิก.....	14
ภาพ 6 ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นโพลที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน (BAP, KN และ TDZ) ความเข้มข้น 1, 2 และ 4 มก./ล. ร่วมกับการเติม NS ความเข้มข้น 10 มก./ล. หรือไม่เติม NS เมื่อทำการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์.....	30
ภาพ 7 กราฟการเปลี่ยนแปลงจำนวนยอดใหม่ (A) ความสูงยอดใหม่ (B) และความสูงต้นใหม่ (C) ของโพลที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารพื้นฐานสูตร MS ที่มีการปรับความเข้มข้นของ Nitrogen, Mesosnutrient และ Micronutrients ที่ความเข้มข้น 0.5–2x MS.....	33
ภาพ 8 กราฟการเปลี่ยนแปลงขนาดเหง้าหัว (A) ความยาวราก (B) และจำนวนราก (C) ของโพลที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารพื้นฐานสูตร MS ที่มีการปรับความเข้มข้นของ Nitrogen, Mesosnutrient และ Micronutrients ที่ความเข้มข้น 0.5–2x MS.....	34
ภาพ 9 ลักษณะทางสัณฐานและการเจริญเติบโตของโพลภายในขวดทดลองขนาด 8 ออนซ์ หลังจากการเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มีการเติมสารกระตุ้น Phe ความเข้มข้น 10, 20 และ 30 มก./ล. ร่วมกับการเติมหรือไม่เติม JA และ SA ความเข้มข้น 50, 75 และ 100 มก./ล. เมื่อเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	38
ภาพ 10 ลักษณะการเจริญเติบโตของโพลภายนอกขวดอาหาร หลังจากการเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มีการเติมสารกระตุ้น Phe ความเข้มข้น 10, 20 และ 30 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA หรือ SA ความเข้มข้น 50, 75 และ 100 มก./ล. เมื่อเพาะเลี้ยงในสภาพ ปลอดเชื้อเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	39

ภาพ 11 ผลของการคัดเลือกสูตรอาหารที่เติมสารกระตุ้น (Elicitors) ต่อการเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (A) และฟลาโวนอยด์รวม (B) หลังจากทำการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์.....	45
ภาพ 12 ผลของการคัดเลือกสูตรอาหารที่เติมสารกระตุ้น (Elicitors) ต่อการเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH (A) และ FRAP (B) หลังจากทำการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์	46
ภาพ 13 ลักษณะการเจริญเติบโตทางสัณฐานวิทยาของโพลหลังจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรอาหารที่โพลเจริญเติบโตดีที่สุดที่คัดเลือกมาจากการทดลองที่ 3.1 มีทั้งสิ้น 5 กรรมวิธีเมื่อเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์.....	47
ภาพ 14 ผลของการปรับปริมาณน้ำตาลในสูตรอาหารพื้นฐาน MS ต่อจำนวนยอดใหม่ต่อต้น(A) และความสูงต้นแม่ (B) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	50
ภาพ 15 ผลของการปรับปริมาณน้ำตาลในสูตรอาหารพื้นฐาน MS ต่อความสูงเฉลี่ย ต้นใหม่ (A) และขนาดของเหง้าหัว (B) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	51
ภาพ 16 ผลของการปรับปริมาณน้ำตาลในสูตรอาหารพื้นฐาน MS ต่อจำนวนเหง้า (A) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ และอัตราการรอดหลังจากย้ายปลูก (B) เมื่อย้ายปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์	52
ภาพ 17 ลักษณะการเจริญเติบโตของโพลที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีการปรับปริมาณของน้ำตาลซูโครสเป็นร้อยละ 3, 6 และ 9 เมื่อทำการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	53

บทที่ 1

บทนำ

ที่มาและความสำคัญ

ไพล (*Zingiber cassumunar* Roxb.) เป็นพืชสมุนไพรที่นิยมใช้อย่างแพร่หลายในทุกภูมิภาคของประเทศไทย โดยมีข้อมูลการใช้ในการรักษาทางการแพทย์ทางเลือกมาเป็นระยะเวลานาน ซึ่งใช้รักษาอาการอักเสบของกล้ามเนื้อ กระดูก และข้อ (Koontongkaew et al., 2014) ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากไพลในบัญชียาหลักแห่งชาติ ยามาจากสมุนไพร รวมถึงการผลิตและจัดจำหน่ายในท้องตลาดจะพบในรูปแบบน้ำมันไพล ซึ่งในอดีตใช้กรรมวิธีการผลิตอย่างง่ายเพื่อให้ได้น้ำมันและน้ำมันหอมระเหยจากไพล ซึ่งเป็นสารที่ออกฤทธิ์ลดการอักเสบ และยังพบรูปแบบขี้ผึ้งไพล ครีมไพล หรือเจลไพล นอกจากนี้น้ำมันหอมระเหยเป็นสารออกฤทธิ์ลดการอักเสบแล้ว ยังพบสารในกลุ่มเทอร์ปีนอยด์และฟีนิลบิวทานอยด์ (Phenylbetanoid) ซึ่งมีรายงานการศึกษาวิจัยที่สามารถลดอาการอักเสบของกล้ามเนื้อได้ (Jeenapongsa et al., 2003)

ปัจจุบันนโยบายภาครัฐได้มีแผนยุทธศาสตร์ในการพัฒนาการผลิตพืชสมุนไพร โดยในยุทธศาสตร์ที่เกี่ยวข้องในด้านการเกษตร คือ ส่งเสริมการวิจัยและพัฒนาสมุนไพรให้ครบวงจร ส่งเสริมการผลิตวัตถุดิบสมุนไพรที่มีคุณภาพ และกำหนดมาตรฐานรวมถึงการควบคุมคุณภาพสมุนไพร โดยมีเป้าหมายเพื่อให้ได้วัตถุดิบสมุนไพรที่มีคุณภาพสูงทั้งหมด 11 ชนิด ซึ่งไพลนับเป็นหนึ่งในพืชสมุนไพรที่ภาครัฐให้ความสนใจอย่างมาก เนื่องจากไพลเป็นสมุนไพรที่มีศักยภาพสูงทางเศรษฐกิจอย่างครบวงจรในอุตสาหกรรมยา เครื่องสำอาง ธุรกิจสปา การนวด ลูกประคบ หรือการทำน้ำมัน เป็นต้น โดยมีการใช้ไพลเป็นส่วนประกอบหลัก ซึ่งแนวทางการสร้างผลิตภัณฑ์สมุนไพรของพืชนี้มีความค่อนข้างหลากหลาย ดังนั้นวัตถุดิบไพลที่มีคุณภาพจึงเป็นที่ต้องการของตลาดมากขึ้น ทำให้ราคาผลผลิตไพลเพิ่มสูงขึ้นด้วย แต่อย่างไรก็ตามปัญหาการผลิตไพล คือ การปลูกไพลให้มีคุณภาพดี และได้สารออกฤทธิ์ทางเภสัชสูง รวมทั้งมีความปลอดภัยจากสารเคมีตกค้างในวัตถุดิบ ดังนั้นงานวิจัยเพื่อพัฒนาคุณภาพของไพลที่นำมาใช้จึงต้องอาศัยงานวิจัยของทางด้านการเกษตร เพื่อทำวิจัยในเรื่องของการผลิตพันธุ์พืชที่มีคุณภาพ การจัดการพื้นที่ปลูก และการดูแลรักษา รวมไปถึงการเก็บเกี่ยว โดยการผลิตไพลหรือสมุนไพรวงศ์ขิงในประเทศไทยมักพบปัญหาเรื่องรากเน่าโคนเน่า ซึ่งสร้างความเสียหายให้กับการปลูกไพลหรือพืชสมุนไพรเป็นอย่างมาก การผลิตไพลเพื่อให้ได้คุณภาพและมีสารสำคัญสูงต้องให้ต้นไพลมีการสะสมอาหารที่ส่วนเหง้าหรือลำต้นใต้ดิน โดยมีการพักตัวในดินไม่ต่ำกว่าสองปี

แต่อย่างไรก็ตามการเก็บเหง้าหัวพันธุ์ที่อยู่ในดินเป็นเวลานานอาจเสี่ยงต่อการได้หัวพันธุ์ที่มีการปนเปื้อนของเชื้อก่อโรค ในปัจจุบันจังหวัดพะเยาเป็นพื้นที่ที่มีศักยภาพในการผลิตสมุนไพรเป็นอันดับต้นของประเทศไทย (กรมวิชาการเกษตร, 2563) เนื่องจากจังหวัดพะเยามีความเหมาะสมทั้งเรื่องภูมิประเทศ และสภาพสังคมที่ผู้คนส่วนใหญ่ยังให้ความสำคัญกับภูมิปัญญาและความเชื่อเรื่องของสมุนไพร ดังจะเห็นได้จากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนการผลิตพืชสมุนไพร ซึ่งนับเป็นกิจกรรมที่สอดคล้องกับแนวนโยบายของจังหวัด เพื่อส่งเสริมให้พะเยาเป็นเมืองแห่งสมุนไพร โดยการสร้างองค์ความรู้ในการผลิตสมุนไพร ที่เริ่มต้นตั้งแต่การผลิตต้นพันธุ์ที่มีคุณภาพ ซึ่งจะช่วยให้เกษตรกรสามารถมีช่องทางในการสร้างรายได้เสริม ดังนั้นการศึกษาวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตเหง้าหรือต้นพันธุ์โพลที่ปลอดโรค และมีคุณภาพสม่ำเสมอ จึงเป็นอีกแนวทางที่สำคัญ และจำเป็นต่อการยกระดับมาตรฐานการผลิตสมุนไพรของประเทศไทย โดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ซึ่งเป็นวิธีการขยายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสำหรับผลิตต้นพืชให้ได้ปริมาณมาก มีคุณภาพสม่ำเสมอในระยะเวลาอันรวดเร็ว และเพื่อส่งเสริมการผลิตโพลให้ได้ตามมาตรฐาน Good Agricultural Practice (GAP) สำหรับใช้เป็นวัตถุดิบในภาคอุตสาหกรรมพืชสมุนไพรต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อผลิตต้นกล้าที่มีคุณภาพและมีปริมาณมากสำหรับใช้ในการผลิตสารสำคัญทางเภสัช (สารทุติยภูมิ)
2. เพื่อผลิตต้นโพลที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่มีสารทุติยภูมิเพิ่มสูงขึ้น

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพิ่มประสิทธิภาพการผลิตหัวพันธุ์โพลที่ปลอดโรค มีคุณภาพที่สม่ำเสมอ และมีปริมาณเพียงพอต่อการผลิตหัวพันธุ์เชิงการค้า
2. พัฒนาศักยภาพการผลิตโพลเพื่อให้ได้มาตรฐานการปฏิบัติทางการเกษตรที่ดี

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของไพล

ไพลมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Zingiber cassumunar* Roxb. เป็นพืชสมุนไพรวงศ์ Zingiberaceae ไพลเป็นไม้ล้มลุก สูงประมาณ 1-1.5 เมตร (ม.) (ภาพ 1ก) มีเหง้าอยู่ใต้ดิน มีส่วนลำต้นหรือเหง้าอยู่ใต้ดินเนื้อในมีสีเหลือง และมีกลิ่นหอมเฉพาะตัว (ภาพ 1ข) ใบเป็นใบเดี่ยว เรียงสลับระนาบเดียว ลักษณะเป็นใบรูปหอกแกมรูปขอบขนาน ปลายใบเรียวแหลม ขอบใบเรียบ โคนใบมน โคนก้านใบแผ่ออกมีหูใบ ส่วนดอกออกเป็นช่อ แทงช่อดอกออกจากเหง้าใต้ดิน มีใบประดับสีม่วงซ้อนกันแน่น รูปโค้งห่อรองรับเป็นกาบใบปิดแน่น และจะขยายเปิดอ้าออกภายหลัง ออกดอกระหว่างกลีบใบประดับ (ภาพ 1ค) ผลเป็นผลแห้งแตก ทรงกลม ภายในมีเมล็ดกลมแข็ง เปลือกเมล็ดมีสีน้ำตาลแกมเหลือง ไพลฤทธิ์ทางเภสัชมากมายไม่ว่าจะเป็นฤทธิ์ในการรักษาอาการอักเสบ แก้เคล็ดขัดยอก สมานแผล เป็นยาขับลม ขับประจำเดือน แก้บิด และมีฤทธิ์ระบายอ่อน ๆ นอกจากนี้ในปัจจุบันไพลถูกนำไปผลิตเครื่องสำอางชนิดต่าง ๆ เช่น ผลิตภัณฑ์ถนอมผิว ชะลอริ้วรอย และรักษาสิว รวมไปถึงผลิตภัณฑ์ที่ทำให้ผิวขาวใสกระจ่าง เนื่องจากสารสกัดไพลมีส่วนประกอบของเคอร์คูมินอยด์ มีคุณสมบัติในการป้องกันเซลล์ผิวจากอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นสาเหตุของการเสื่อมสภาพของเซลล์ผิว (Li et al., 2019; Rajkumari and Sanatombi, 2017, 2020; Zulkhairi et al., 2017; กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข, 2546) โดยทั่วไปส่วนที่นิยมนำมาใช้ประโยชน์ คือ ส่วนของลำต้นใต้ดิน หรือที่โดยทั่วไปเรียกว่า เหง้า ซึ่งเป็นส่วนที่มีสารออกฤทธิ์สำคัญสูง ในประเทศไทยได้มีพื้นที่ผลิตไพลอยู่กระจายเกือบทุกภูมิภาค ไม่ว่าจะเป็นจังหวัดราชบุรี มุกดาหาร พิษณุโลก นครสวรรค์ และจังหวัดอุทัยธานี เป็นต้น (ตาราง 1) โดยมีปริมาณผลผลิตโดยรวมตั้งแต่ปี 2563-2565 ประมาณ 507-1,539 ตันต่อปี (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2566) ผลผลิตมีแนวโน้มลดลง โดยในปี 2563 มีปริมาณการผลิตอยู่ที่ 1,539 ตันต่อปี ส่วนในปี 2565 อยู่ที่ 954 ตันต่อปี (ตาราง 2) แต่ราคาผลผลิตไพลที่ได้จะสูงขึ้น (ตาราง 3) (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2566) ส่วนการใช้ประโยชน์จากไพลมีทั้งในด้านอุตสาหกรรมยาและอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง โดยผลิตภัณฑ์แปรรูปจากไพลในกลุ่ม

อุสาหกรรมการยา ซึ่งมีทั้งยาใช้ภายในและยาใช้ภายนอก เช่น ยาประสะไพลที่ใช้บรรเทาอาการปวดประจำเดือน และน้ำมันไพล ซึ่งจะใช้เหง้าไพลแห้งเป็นหลัก (Sitthisradoo et al., 2022)

สารออกฤทธิ์ในไพล

สารออกฤทธิ์ในไพลนอกจาก Curcumin ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม Curcuminoids แล้วยังมีสาร Cassumunarin A, B และ C ซึ่งเป็นสารประกอบในกลุ่ม Complex curcuminoids มีฤทธิ์ต้านการอักเสบที่ดีกว่า Curcumin (Masuda and Jitoe, 1994) โดยการสกัดไพลมีหลายวิธี ได้แก่ การสกัดไพลด้วยไดคลอโรมีเทนที่ออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้ดี ส่วนการสกัดไพลด้วยเมทิลแอลกอฮอล์จะไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อทั้งสองชนิด แต่มีฤทธิ์ลดการหลั่งของสารที่ทำให้เกิดอาการแพ้และอักเสบของเซลล์ผิวหนังในคน นอกจากนี้สาร Zerumbone ซึ่งเป็นสารพวก Sesquiterpene ที่สกัดได้จากไพลยังมีฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ซึ่งเป็นเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคเน่าในพืช โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่มีผลฆ่าเชื้อราได้เท่ากับ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร (มก./ล.) ซึ่งได้ผลดีกว่ายาฆ่าเชื้อราบางชนิด โดยการทดลองใช้ป้องกันการเน่าของเมล็ดพืชที่เกิดเชื้อรา *R. solani* พบว่า สามารถป้องกันได้ถึงร้อยละ 85.7 (Giwanon et al., 2000) ซึ่งองค์ประกอบหลักทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยไพลเป็นสารกลุ่ม Terpenoid เช่น α -pinene, Sabinene, α -terpinene, Terpinen-4-ol และสารกลุ่ม Phenylbutanoid เช่น (E)-1-(3,4-dimethoxyphenyl) butadiene (DMPBD), (E)-4(3-4-dimethylphenyl) but-3-en-2-ol เป็นต้น โดยมีรายงานการวิจัยว่า DMPBD มีฤทธิ์ลดอาการปวดและการอักเสบของข้อเท้าได้ดีกว่ายาแก้ปวด ยาแก้อักเสบในกลุ่ม NSAD เช่น Diclofenac, Phenidone เป็นต้น จึงมีการใช้ไพลเป็นส่วนประกอบในการอบไอน้ำหรือในลูกประคบเพื่อแก้ปวด นอกจากนี้ DMPBD ยังมีฤทธิ์ในการกำจัดหมัดสุนัข (Jeenapongsa et al., 2003) โดยน้ำมันหอมระเหยจากไพลมีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อรา *Aspergillus flavus* ซึ่งเป็นเชื้อราที่สร้างความเสียหายให้กับอาหาร และสารเคมีอีกชนิดหนึ่งที่พบในไพลและมีความสำคัญ คือ Sabinene และ Terpinen-4-ol โดยสารทั้งสองชนิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฆ่าเชื้อราโรคพืชได้ดี พบว่า Terpinen-4-ol ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 มีฤทธิ์ฆ่าเชื้ออสุจิของวัวใกล้เคียงกับยาสังเคราะห์ในกลุ่ม Delfen (ศศิธร วสุวัตติ, 2527) นอกจากนี้ Terpinen-4-ol ยังมีฤทธิ์ต้านการอักเสบและการติดเชื้อ จากที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นว่า น้ำมันหอมระเหยจากไพลสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างหลากหลาย และสามารถใช้ได้ทั้งในคน สัตว์ และพืช (ศศิธร วสุวัตติ, 2527)



ภาพ 1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของไพล (ก) ลำต้น (ข) เหงา (ค) ดอก

ตาราง 1 แหล่งผลิตไพลที่สำคัญของไทยปี 2565

จังหวัด	พื้นที่ปลูก (ไร่)
1. ราชบุรี	100.50
2. มุกดาหาร	57.25
3. พิชณุโลก	25.25
4. นครสวรรค์	20.00
5. อุทัยธานี	18.00

ที่มา: กรมส่งเสริมการเกษตร, 2566

ตาราง 2 สถิติการผลิตไพลในปี 2563-2565

	ปี 2563	ปี 2564	ปี 2565
จำนวนเกษตรกร (ราย)	245	126	357
พื้นที่ปลูก (ไร่)	513	169	318
พื้นที่เก็บเกี่ยว (ไร่)	513	169	318
ผลผลิตโดยเฉลี่ย (กก./ไร่)	3,000	3,000	3,000
ผลผลิตรวม (ตัน)	1,539	507	954

ที่มา: กรมส่งเสริมการเกษตร, 2566

ตาราง 3 ราคาขายผลผลิตไพล

(หน่วย: บาทต่อกิโลกรัม)

ปี	ไพลสด	ไพลแห้ง	ไพลผง	น้ำมันหอมระเหย
2563	23	130	150	5,000
2564	12	100	150	5,000
2565	20	120	200	5,000

ที่มา: กรมส่งเสริมการเกษตร, 2566

การปลูกและการขยายพันธุ์ไพล

ไพลเจริญเติบโตได้ดีในสภาพมีแสงแดดจัด ดินที่เหมาะสมควรเป็นดินทรายที่มีอินทรียวัตถุสูง และระบายน้ำได้ดี โดยการขยายพันธุ์ที่นิยมมี 4 วิธี ได้แก่ การเพาะเมล็ด การแยกหัวพันธุ์ การแยกชิ้นส่วนหัวพันธุ์ และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเพาะเมล็ดเป็นการผสมพันธุ์ใหม่ โดยการเพาะเมล็ดควรเพาะในกระบะทรายผสมกลบในอัตราส่วน 1:1 โดยให้เมล็ดจมอยู่ในวัสดุปลูกลึกประมาณ 0.5–1 เซนติเมตร (ซม.) และควรรดน้ำอย่างระมัดระวังเพื่อไม่ให้เมล็ดกระเด็น เมื่อดันกล้ามีใบงอกออกมาประมาณ 3–4 ใบ จึงแยกต้นกล้าไปปลูกในดินผสม โดยเว้นระยะปลูก 10x10 ซม. จนออกดอกเพื่อทำการคัดเลือกต่อไป (สมชาย สุคนธ์สิงห์ และคณะ, 2543)

การแยกหัวพันธุ์เป็นวิธีที่นิยมในการขยายพันธุ์ไพล ซึ่งเป็นวิธีที่ได้ต้นที่มีลักษณะเหมือนต้นแม่พันธุ์ การแยกหัวพันธุ์สามารถใช้มือหักแยกหัวออกจากกัน จากนั้นนำหัวพันธุ์ไปล้างให้แห้ง แล้วจึงนำหัวพันธุ์ไปผสมกับสารเคมีป้องกันเชื้อราเพื่อไม่ให้แผลมีการติดเชื้อ และควรเก็บรักษาหัวพันธุ์ในที่ร่ม และอากาศถ่ายเท (สมชาย สุคนธ์สิงห์ และคณะ, 2543) โดยการผ่าหัวพันธุ์ ควรทำก่อนการปลูกเพียงเล็กน้อย เพราะชิ้นส่วนหัวพันธุ์ที่ผ่าแล้วไม่สามารถเก็บรักษาได้นาน แต่วิธีการขยายพันธุ์เหล่านี้มีความเสี่ยงที่จะเกิดการสะสมโรคจากแปลงปลูก ซึ่งโรคที่เป็นปัญหาร้ายแรง ได้แก่ โรคเหี่ยว (Bacterial wilt) หรือโรคหัวเน่า (Brown rot) ซึ่งเกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียที่มีชื่อว่า *Ralstonia solanacearum* หรือชื่อเดิมเรียกว่า *Pseudomonas solanacearum* (Yabuuchi et al., 1995) โดยอาการของโรคในระยะแรกพบว่ามีแก้มด้านข้างของต้นจะห่อและมีสีเหลือง ส่วนโคนต้นมีลักษณะข้ำ ลำต้นมีสีน้ำตาลคล้ำหรือสีน้ำตาลเข้มเมื่อมีการลุกลามของเชื้อมากขึ้น ส่วนโคนต้นจะเน่า แล้วเกิดการยุบตัวและตายในที่สุด ส่วนโรคจุดสนิม (Angal disease) เกิดจากการติดเชื้อราที่มีชื่อว่า *Sphaceloma* sp. มีลักษณะจุดกลมขนาดเล็กสีน้ำตาล มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5–1

มิลลิเมตร (มม.) ล้อมรอบด้วยสีเหลืองใสกระจายทั่วไป ขณะที่โรคใบไหม้ (*Acremonium leaf spot*) เกิดจากเชื้อราที่มีชื่อว่า *Acremonium sp.* โดยมีจุดสีน้ำตาลขนาดเล็กกระจายทั่วไป ก้านช่อดอก และลำต้น และโรคใบจุด (*Phoma leaf spot*) เกิดจากเชื้อราที่มีชื่อว่า *Phoma sp.* โดยมีจุดสีน้ำตาล ค่อนข้างกลม ขนาดไม่แน่นอน และมีสีน้ำตาล (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติกระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2553) เพื่อแก้ไขปัญหาการสะสมโรคสำหรับการผลิตหัวพันธุ์จึงมีความสนใจที่จะนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้เพื่อผลิตต้นพันธุ์โพลที่มีคุณภาพสม่ำเสมอ และปลอดโรค สำหรับเป็นต้นพันธุ์ในการผลิตหัวพันธุ์ต่อไป โดยประโยชน์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือ ได้ต้นพืชที่ปลอดโรค มีลักษณะที่เหมือนต้นแม่พันธุ์ และได้ต้นพืชในปริมาณมากในระยะเวลาสั้น (ธราธร ทิรชฐิติ และคณะ, 2559)

การขยายพันธุ์โพลโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นการขยายพันธุ์พืชด้วยวิธีการนำชิ้นส่วนต่าง ๆ ของต้นพืชไปเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และนำไปเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ โดยมีการควบคุมอุณหภูมิ แสง และความชื้น ข้อดีของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คือ ได้ต้นพืชที่ปลอดโรค สามารถผลิตต้นพืชได้ปริมาณมาก และใช้ระยะเวลาที่สั้นลง (ศุภวรรณ บุญระเทพ, 2549) ซึ่งเมื่อนำเทคนิคดังกล่าวมาปรับใช้ในการผลิตหัวพันธุ์พืชแทนการเพาะเลี้ยงในแปลงปลูก ทำให้ลดโอกาสเสี่ยงต่อการสะสมของโรคเหี่ยวที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2553) ดังนั้น การผลิตต้นพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจึงเป็นอีกหนทางเลือกในการผลิตต้นพันธุ์หรือหัวพันธุ์โพลปราศจากโรคดังที่กล่าวมาแล้ว

อย่างไรก็ตามสูตรอาหารสังเคราะห์สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืช (Anderson, 1980; Driver and Kuniyuki, 1984; Lloyd and McCown, 1980; Murashige and Skoog, 1962) ซึ่งแต่ละสูตรอาหารจะประกอบไปด้วยองค์ประกอบต่าง ๆ ได้แก่ ธาตุอาหาร วิตามิน น้ำตาล ฮอร์โมน และสารควบคุมการเจริญเติบโต (สถาบันวิจัยและอบรมการเกษตรลำปาง สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล, 2560) ในปัจจุบันมีสูตรอาหารสังเคราะห์หลายสูตรที่เป็นที่นิยมสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่หลากหลาย โดยทั่วไปธาตุอาหารพืชมีผลต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของเนื้อเยื่อพืช เนื่องจากในปัจจุบันมีความก้าวหน้าทางเทคโนโลยี และมีความทันสมัยมากขึ้น จึงมีการพัฒนาสูตรอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างมีระบบเพื่อศึกษาผลของธาตุอาหารต่อการเจริญเติบโตและผลปฏิสัมพันธ์ของธาตุอาหารที่ใช้การพัฒนาสูตรอาหารด้วยวิธีการสร้างรูปแบบ

การตอบสนองต่อหลายปัจจัย หรือธาตุอาหารหลายกลุ่มที่ได้จากการคำนวณความสัมพันธ์ตามหลักคณิตศาสตร์ โดยวิธีการแสดงผลตอบสนองแบบโครงร่างพื้นผิวหรือ Response Surface Methodology (RSM) ซึ่งเป็นการออกแบบการทดลองอย่างหนึ่งที่สามารถทำได้ในเชิงปฏิบัติ และมีประโยชน์ในการที่จะศึกษาผลของปัจจัยการทดลองที่มีมากกว่าสองปัจจัยขึ้นไปในการทำการทดลองหนึ่งครั้ง และเป็นวิธีการทางคณิตศาสตร์และสถิติที่เป็นประโยชน์ในการสร้างแบบจำลอง (Model) และการวิเคราะห์ผลจะแสดงผลตอบสนองหรือค่าตัวแปรตามเป็นผลมาจากตัวแปรต้นต่าง ๆ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อหาจุดหรือระดับความเหมาะสมของตัวแปรต้นต่อค่าตัวแปรตามนั้น เมื่อทำการประมวลผลด้วยโปรแกรมทางสถิติจะสามารถสร้างกราฟโครงร่าง (Contour plot) และกราฟพื้นผิวตอบสนอง (Surface plot) (Montgomery, 2017) ดังนั้นในการพัฒนาสูตรอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจึงได้มีการประยุกต์ใช้ RSM เพื่อศึกษาผลขององค์ประกอบที่สำคัญในอาหารเป็นปัจจัยการทดลอง แล้วสร้างแบบจำลองในการสร้างความสัมพันธ์ระหว่างธาตุอาหารหรือปัจจัยอื่น ๆ ต่อการเจริญเติบโตของพืช (Halloran and Adelberg, 2011; Niedz et al., 2014; Niedz and Evens, 2007; 2008; Poothong and Reed, 2014; Reed et al., 2013)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการขยายพันธุ์โพลโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

โพลเป็นพืชสมุนไพรที่ปลูกได้ทั่วไป ลงทุนน้อย และสามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาพอากาศแบบร้อนชื้น ซึ่งการขยายพันธุ์สามารถใช้เมล็ด หรือใช้การขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยใช้ส่วนลำต้นหรือเหง้าใต้ดินเป็นท่อนพันธุ์ในการปลูก โดยระยะเวลาในการเก็บเกี่ยวผลผลิตของโพลจะใช้เวลานานถึง 2 ปี เพื่อที่จะได้โพลที่มีปริมาณและคุณภาพของสารออกฤทธิ์สูง ดังนั้นการผลิตโพลให้เพียงพอตามความต้องการของตลาดจึงจำเป็นต้องใช้แหล่งพันธุ์โพลที่มีคุณภาพ ซึ่งเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นอีกหนึ่งวิธีที่นิยมใช้ในการขยายพันธุ์พืชให้ได้ปริมาณมากในระยะเวลาอันรวดเร็ว ได้ต้นพืชที่ปลอดโรค และคุณภาพสม่ำเสมอ โดยการขยายพันธุ์โพลด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้มีการเผยแพร่ครั้งแรกตั้งแต่ปี 1993 ซึ่งพบว่า การใช้อาหารสังเคราะห์สูตร Linsmaier and Skoog (LS) ที่เติม BAP ความเข้มข้น 4 มก./ล. สามารถชักนำการเกิดยอดได้สูงถึง 13 ยอด ภายในเวลา 8 สัปดาห์ ต่อมาได้มีการศึกษาและพัฒนาเทคนิคการขยายพันธุ์โพลด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทั้งในแง่ของการศึกษาผลของสูตรอาหารหรือธาตุอาหารพืช และการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช (Chirangini and Sharma, 2005; Hamirah et al., 2010; Poonsapaya and Kraisintu, 1993; Rajkumari and Sanatombi, 2017) โดยปัจจัยที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณ

ต้นโพลในหลอดทดลอง คือ สารควบคุมการเจริญเติบโตพืชในกลุ่มไซโคนินและออกซิน จากการศึกษาของ Chirangini and Sharma (2005) ได้ทำการศึกษาการขยายพันธุ์โพลในสภาพปลอดเชื้อ โดยใช้อาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) (Murashige and Skoog, 1962) ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชที่ต่างกันเพื่อชักนำการเกิดยอด พบว่า อาหารที่เติม N6-benzylaminopurine (BAP) ความเข้มข้น 4.44 ไมโครโมลาร์ (μM) ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดสูงถึงร้อยละ 100 จากนั้นทำการชักนำการเพิ่มปริมาณยอด พบว่า การใช้ BAP ความเข้มข้น 4.44 μM ร่วมกับการเติม NAA ความเข้มข้น 0.54 μM หรือ 2.69 μM เพิ่มจำนวนยอดต่อรอบการเปลี่ยนอาหารสูงถึง 7 หรือ 8 ยอด เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ รวมทั้งได้ทำการศึกษาผลของความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสต่อการเกิดเหง้าหัวพันธุ์ขนาดเล็กหรือ Microrhizome จากผลการทดลองพบว่า การใช้น้ำตาลซูโครสที่ความเข้มข้นร้อยละ 7 และ 9 ให้จำนวนเหง้าหัวพันธุ์ขนาดเล็กสูงที่สุด คือ 5.5 ถึง 5.80 เหง้าต่อหลอดทดลอง เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (Chirangini and Sharma, 2005) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาการชักนำการเกิดเหง้าของขิงในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสเป็นร้อยละ 8 ร่วมกับการให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมง เป็นวิธีการที่เหมาะสมที่สุดในการสร้างเหง้าของขิง (ชลธิชา ใจมาแก้ว และคณะ, 2559) ส่วนงานวิจัยของรัตนา ขามฤทธิ์ และ จิตรกร ปรีแมน ในปี 2562 ได้ทำการศึกษาผลของการพอกฆ่าเชื้อที่ผิวและชักนำการเกิดต้นจากชิ้นส่วนลำต้นใต้ดินของโพล พบว่า การพอกด้วยสารละลายคลอโรกซ์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 30 เป็นเวลา 30 นาที แล้วทำการพอกครั้งที่สองด้วยสารละลายคลอโรกซ์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 เป็นเวลา 10 นาที เหมาะสมสำหรับการพอกฆ่าเชื้อที่ผิว โดยมีร้อยละการปนเปื้อนเพียง 22.22 และมีอัตราการรอดร้อยละ 77.78 นอกจากนี้ยังพบว่า การเพาะเลี้ยงส่วนลำต้นใต้ดินของโพลในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 9 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดต้นได้ถึง 2.5 ต้นต่อชิ้นส่วนพืช (รัตนา ขามฤทธิ์ และ จิตรกร ปรีแมน ในปี 2562)

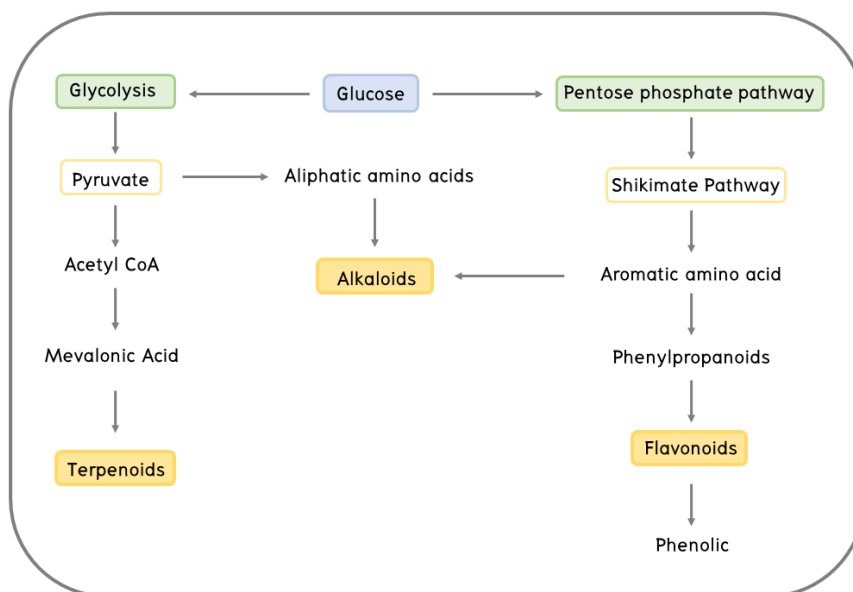
นอกจากนี้ยังพบว่า การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถใช้ในการเพิ่มการผลิตสารทุติยภูมิ (Secondary metabolites) ได้ จากงานวิจัยของ Jirakiattikul et al. (2021) ได้แสดงให้เห็นถึงการเพิ่มประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเหง้ากระชายที่เลี้ยงในสภาวะปลอดเชื้อ ส่วนงานวิจัยของ ฤทธิ์พันธ์ รุ่งเรือง และคณะ (2558) ได้ศึกษาการเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในเซลล์แขวนลอย ถั่วเหลืองที่กระตุ้นด้วยเมทิลจัสโมเนต (Methyl jasmonate; MeJA) นอกจากนี้ยังพบว่า พืชที่ผลิตสารทุติยภูมิสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลากหลายรูปแบบ เช่น เป็นพืชสมุนไพรเพื่อใช้

ในการรักษาโรค เป็นส่วนผสมของอาหาร เครื่องดื่ม หรือเครื่องเทศ รวมทั้งใช้ในทางเวชสำอาง (ปริญา สุคนธ์รัตน์ และคณะ, 2559) อย่างไรก็ตามในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจะทำให้มีการผลิตสารทุติยภูมิได้น้อยกว่าพืชที่ปลูกตามธรรมชาติ เนื่องจากสารทุติยภูมิที่ถูกผลิตขึ้นมาจะถูกขับออกมาอยู่ในอาหารเพาะเลี้ยงแทน (ศุภวรรณ บุญระเทพ, 2549) ดังนั้น การเติมสารกระตุ้น (Elicitors) จึงเป็นวิธีการหนึ่งที่ถูกนำมาใช้เพื่อกระตุ้นการเพิ่มปริมาณการผลิตสารทุติยภูมิ โดยสารกระตุ้นที่นิยมใช้ได้แก่ กรดจัสโมนิก (Jasmonic acid; JA) และกรดซาลิไซลิก (Salicylic acid; SA) ซึ่งในธรรมชาติพืชจะผลิตสาร JA เพื่อช่วยในการกระตุ้นให้มีการป้องกันตัวเองของพืชจากการทำลายของเชื้อจุลินทรีย์ (รัชนีวรรณ จิระพงศ์พัฒนา และคณะ, 2560) ส่วน SA จะถูกผลิตขึ้นเพื่อเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (รังสิมา วิเศษศร และ วัฒนา พัฒนากุล, 2555) โดยสารกระตุ้นทั้งสองมีหน้าที่ในการกระตุ้นและตอบสนองต่อการมีชีวิตรอดของพืชจากสภาพแวดล้อม การเจริญเติบโตของต้นอ่อนพืช การป้องกันตัวจากศัตรูพืช และการสร้างสารทุติยภูมิ แต่ยังไม่มีการศึกษาการเพิ่มปริมาณสารทุติยภูมิของโพลีที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ แล้วมีการเติมสารกระตุ้นชนิด JA และ SA รวมไปถึงการศึกษาผลของความเข้มข้นของสารทั้งสองชนิดที่อาจเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณการผลิตสารทุติยภูมิ

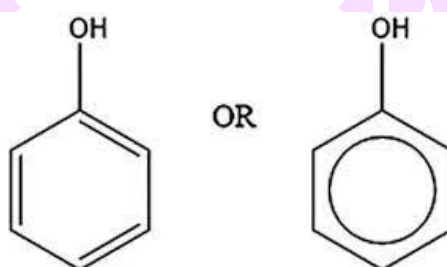
การผลิตสารทุติยภูมิในพืช

ในธรรมชาติ พืชมีการผลิตสารปฐมภูมิ (Primary metabolite) เช่น คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และโปรตีน ซึ่งเป็นสารในกลุ่มที่มีความจำเป็นต่อการดำรงชีวิตของพืช ทั้งในการสร้างพลังงาน การแบ่งเซลล์ การเจริญเติบโต และการสืบพันธุ์ โดยเกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมหลักของพืช เช่น กระบวนการไกลโคไลซิส (Glycolysis) และวัฏจักรเครบ (Krebs cycle) ซึ่งอยู่ในกระบวนการหายใจระดับเซลล์ รวมถึงกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (Photosynthesis) เป็นต้น อย่างไรก็ตาม พืชสามารถเหนี่ยวนำให้สารปฐมภูมิเกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นสารทุติยภูมิ (ภาพ 2) ซึ่งสารทุติยภูมิ คือ สารที่พืชสร้างขึ้นเพื่อใช้ในกระบวนการป้องกันตัวเองจากสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม หรือเพื่อทำหน้าที่เฉพาะอย่าง เช่น การป้องกันตนเองจากศัตรูพืช โรค แมลง และความเครียดที่เกิดจากปัจจัยทางกายภาพ โดยสามารถจำแนกสารทุติยภูมิออกได้เป็น 3 กลุ่ม ตามโครงสร้างทางเคมี ได้แก่ สารกลุ่มอัลคาลอยด์ (Alkaloids) สารประกอบฟีนอลิก (Phenolics) และเทอร์พีนอยด์ (Terpenoids) (ประเวท เกษกัน และคณะ, 2556) โดยพบว่า สารประกอบฟีนอลิกจัดเป็นสารกลุ่มใหญ่ที่สุดของสารทุติยภูมิ ซึ่งเกิดจากโครงสร้างพื้นฐานของฟีนอล (ภาพ 3) แล้วมีหมู่เคมีอื่น ๆ เข้ามาเกาะที่คาร์บอนอะตอมตำแหน่งต่าง ๆ ทำให้เกิดเป็นโครงสร้างขนาดใหญ่ที่มีความซับซ้อนและหลากหลาย เช่น

กรดซินนามิก (Cinnamic acid) แอนโทไซยานิน (Anthocyanin) และแทนนิน (Tannins) เป็นต้น ทั้งนี้มีปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารกลุ่มทุติยภูมิในพืชหลายปัจจัย เช่น สายพันธุ์ อายุการเก็บเกี่ยว สภาพแวดล้อม สภาพการปลูก ความเครียดที่เกิดจากความแห้งแล้ง อุณหภูมิ การขาดธาตุอาหาร แมลงศัตรูพืช และเชื้อก่อโรค เป็นต้น ในธรรมชาติ สารทุติยภูมิหลายชนิดเป็นสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ สารเคอร์คูมินมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ต้านเชื้อจุลินทรีย์ และต้านการอักเสบ ซึ่งพบในพืชวงศ์ขิงและข่า (ประเวศ เกษกัน และคณะ, 2556) ส่วนสารแคปไซซินเป็นสารให้ความเผ็ด พบได้ในพริก (พัชรพร ทองมะโรง และภาเกล้า ภูมิใหญ่, 2560) ขณะที่สารเคอควิทินหรือสารซาโปนินพบมากในมะขามป้อม มีฤทธิ์ในการต้านไวรัส และต้านการอักเสบ (สิริธัญญา ทายะ และคณะ, 2564) ดังนั้น การผลิตสารทุติยภูมิให้ได้ในปริมาณมาก ๆ เพื่อประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ยา และเครื่องสำอาง โดยสร้างเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมจากธรรมชาติให้กับกลุ่มผู้บริโภคที่สนใจในการรักษาสุขภาพซึ่งมีแนวโน้มความต้องการของตลาดที่เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง จึงเป็นที่น่าสนใจในการประยุกต์ใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อกระตุ้นการสร้างสารทุติยภูมิให้เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งการเพิ่มการสร้างสารทุติยภูมิของพืชที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถถูกเหนี่ยวนำได้ด้วยการเติมสารกระตุ้นโดยสารกระตุ้นหากแบ่งตามแหล่งที่มา โดยสามารถแบ่งได้ 3 กลุ่ม คือ สารประกอบที่มีชีวิตสังเคราะห์ขึ้น (Biotic elicitors) สารที่ได้จากสิ่งไม่มีชีวิต (Abiotic elicitors) และฮอร์โมนพืช (Plant hormones) ซึ่งสารในกลุ่มฮอร์โมนพืชเป็นสารอินทรีย์ที่พืชสังเคราะห์ขึ้นสามารถกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะต่าง ๆ ของพืช ได้แก่ กลุ่มฮอร์โมนออกซิน และไซโตไคนิน ซึ่งจัดเป็นฮอร์โมนที่รู้จักกันอย่างกว้างขวาง และเป็นที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช นอกจากนี้ยังมีฮอร์โมนหรือสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชที่เพิ่งได้รับการค้นพบ และนำมาประยุกต์ใช้ในการผลิตพืช เช่น กรดจัสโมนิก และซาลิไซลิก (ยงยุทธ โอสธสภา, 2558)



ภาพ 2 กระบวนการเมแทบอลิซึมที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างสารทุติยภูมิในพืช
ที่มา: ดัดแปลงจาก Isah et al., 2018



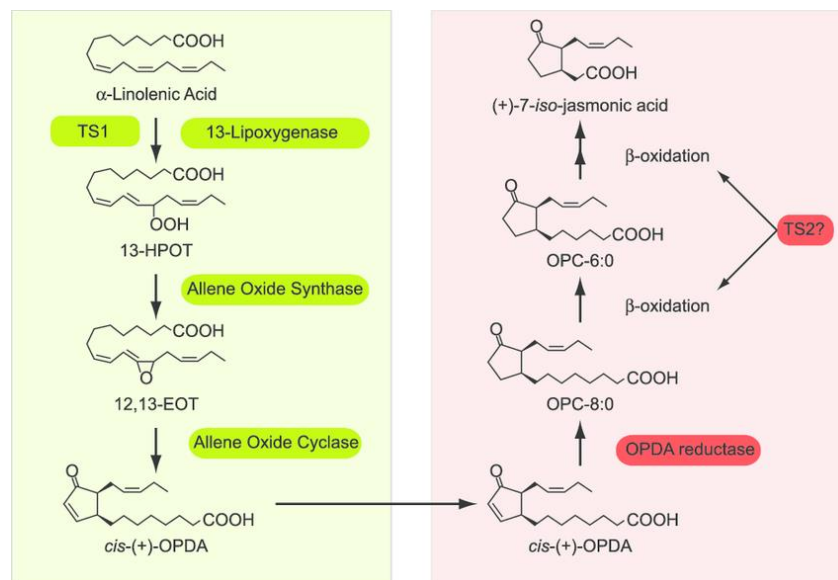
ภาพ 3 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลที่เป็นโครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟีนอลิกโดยทั่วไป

ที่มา: พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนานพนธ์ (ม.ป.ป.)

กรดจัสโมนิก (Jasmonic acid: JA)

กรดจัสโมนิกเป็นสารอินทรีย์ที่พบในพืชหลายชนิด โดยสังเคราะห์มาจากกรดไขมันแอลฟาไลโนเลนิก (α -Linolenic acid; α -LA) กลไกของการสังเคราะห์กรดจัสโมนิก เริ่มจากสารตั้งต้น α -LA ถูกเปลี่ยนเป็น (13S)-Hydroperoxyoctadecatrienoic acid (13-HPOT) ด้วยการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ 13-Lipoxygenase จากนั้นถูกกระตุ้นด้วย Allene oxide synthase ให้กลายเป็น (13S)-12,13-Epoxy-octadecatrienoic acid (12,13-EOT) ก่อนจะถูกเปลี่ยนให้เป็น *cis*-(+)-12-Oxophytodienoic acid (OPDA) โดยมี OPDA reductase เปลี่ยน

cis-(+)- OPDA ให้กลายเป็น 12- Oxophytoenoic acid (OPC-8) จากนั้นสารตัวกลางดังกล่าว จะเข้าสู่กระบวนการเบต้าออกซิเดชัน (β -Oxidation) แล้วเปลี่ยนเป็นกรดจัสโมนิกในที่สุด (Acosta et al., 2009) ดังแสดงในภาพ 4



ภาพ 4 การสังเคราะห์กรดจัสโมนิก

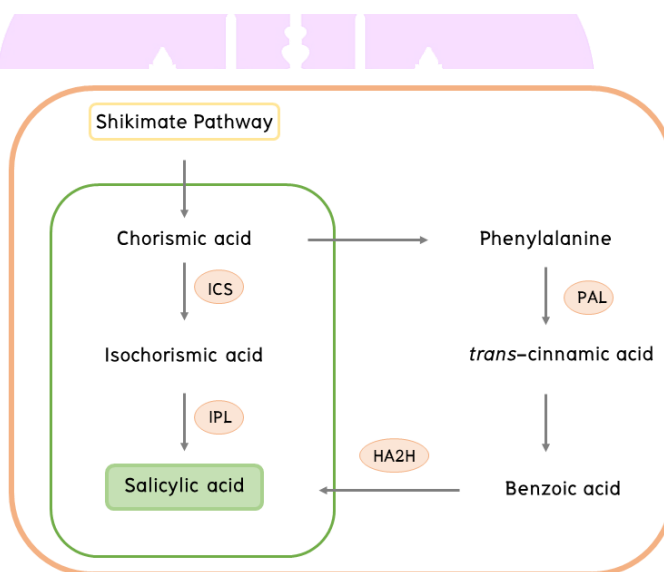
ที่มา: Acosta et al., 2009

พืชสร้างกรดชนิดนี้ขึ้นมาเพื่อช่วยในการต้านทานโรคที่เกิดจากเชื้อราหรือจุลินทรีย์ รวมทั้งทำให้พืชสามารถทนต่อความเครียดจากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น การเหี่ยวของดอกไม้ การสุกของผล การเกิดโรคของพืช และยังมีส่วนเกี่ยวข้องกับการสะสมและการย่อยสลายของต้นพืช (Acosta et al., 2009)

กรดซาลิไซลิก (Salicylic acid: SA)

กรดซาลิไซลิกเป็นกรดอินทรีย์ที่เป็นอนุพันธ์ของสารฟีนอล ทำหน้าที่ช่วยให้พืชรับรู้ต่อการโจมตีของเชื้อโรค (ยงยุทธ โอสถสภา, 2558) จัดเป็นสารในกลุ่มฟีนอลิกที่พบได้ในพืชทั่วไป มีฤทธิ์ในการควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ควบคุมอัตราการแบ่งเซลล์ การหายใจของพืชควบคุมการปิด-เปิดของปากใบ การงอกของเมล็ด เพิ่มการแสดงออกของเพศ การต้านทานต่อโรคของพืช และยับยั้งการทำงานของเอทิลีน ทำให้ถูกนำมาใช้เพื่อชะลอการสุกของผลไม้อีกด้วย นอกจากนี้ กรดซาลิไซลิกยังทำหน้าที่เป็นตัวส่งสัญญาณในการกระตุ้นการทำงานของยีนที่ทำหน้าที่ควบคุมการสร้างโปรตีนต่าง ๆ ในกระบวนการที่

ช่วยในการต้านทานต่อโรคของพืช (จริงแท้ ศิริพานิช, 2549; ศิริชัย กัลยาณรัตน์, 2548) โดยการสังเคราะห์กรดซาลิไซลิกในพืช ซึ่งเกิดขึ้นใน Shikimic acid pathway โดยเริ่มจากกรดซินนามิก ถูกเร่งด้วยเอนไซม์ Isochorismate synthase (ICS) แล้วเปลี่ยนเป็น Isochorismic acid จากนั้นออคัยเอนไซม์ Isochorismate pyruvate lyase (IPL) เปลี่ยนสารดังกล่าวให้เป็นกรดซาลิไซลิก นอกจากนี้ เซลล์พืชยังมีการสังเคราะห์กรดซาลิไซลิกได้จากการเปลี่ยน Phenylalanine โดยออคัยเอนไซม์ Phenylalanine ammonia lyase (PAL) เปลี่ยนเป็น *trans*-cinnamic acid แล้วถูกเปลี่ยนเป็นกรดเบนโซอิก (Benzoic acid) จากนั้นออคัยเอนไซม์ Benzoic-acid-2-hydroxylase (BA2H) ในการเปลี่ยนให้เป็นกรดซาลิไซลิกต่อไป (Saleem et al., 2021) ดังแสดงในภาพ 5



ภาพ 5 การสังเคราะห์กรดซาลิไซลิก

ที่มา: Saleem et al., 2021

นาโนชีท (Nano sheet: NS)

เทคโนโลยีนาโนได้ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อสร้างอนุภาคที่ขนาดเล็ก นำมาใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย โดยในยุคแรกได้มีการพัฒนานาโนพาร์ทิเคิล (Nanoparticle) หรืออนุภาคนาโนขึ้นโดยเป็นอนุภาคทรงกลมที่มีขนาดเล็กระดับไมโครเมตรหรือนาโนเมตร ถูกนำมาใช้ในการพัฒนารูปแบบการนำส่งสารสำคัญในเครื่องสำอาง หรือใช้เป็นตัวพาสารและควบคุมการปลดปล่อยสารสำคัญหรือสารออกฤทธิ์ทางยา ในปัจจุบันความก้าวหน้าของงานทางด้านเคมีและวัสดุศาสตร์ทำให้มีการพัฒนาโครงสร้างของวัสดุนาโนที่มีความซับซ้อนมากขึ้น โดยสร้างเป็นโครงสร้างวัสดุแผ่นบาง หรือที่เรียกว่า นาโนชีทแบบแกรฟีน ซึ่งเป็นวัสดุรูปแบบใหม่ที่เพิ่งค้นพบ (แมนมนัส ศรีแก้ว และสายันต์ แสงสุวรรณ, 2563) นอกจากนี้วัสดุแผ่นบางแล้วยังมีวัสดุนาโนสองมิติอีกหลายประเภทที่มี

การสังเคราะห์ขึ้นมา โดยมีลักษณะของโครงสร้างผลึกและองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันออกไป ซึ่งทำให้มีคุณสมบัติที่แตกต่างกันไปด้วยโดยคุณสมบัติทางชีวภาพของนาโนซีท ยังมีการศึกษาวิจัยหรือแนวทางการใช้ประโยชน์ค่อนข้างน้อย แม้จะมีการศึกษาการใช้นาโนพาร์ทิเคิลในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการศึกษาทางด้านสรีรวิทยาพืช (นาโนเทคโนโลยีชีวภาพกับการเกษตรไทย, 2549; แมนมนัส ศรีแก้ว และ สายันต์ แสงสุวรรณ, 2563) แต่ยังไม่มียางานบทบาทของสารนาโนซีทต่อการเจริญเติบโตของพืช

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางเภสัช

จากงานวิจัยของ Rajkumari and Sanatombi (2020) ได้ทำการประเมินการสร้างสารทุติยภูมิ สารต้านอนุมูลอิสระ และการทำงานของเอนไซม์ฟีนิลอะลานีนแอมโมเนียไลเอส (Phenylalanine ammoniolyase: PAL) ของโพลีที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเปรียบเทียบกับโพลีที่เจริญเติบโตในแปลงปลูก โดยเบื้องต้นนักวิจัยได้ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำการเกิดเหง้าในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า การใช้สูตรอาหารที่เติม BAP ความเข้มข้น 5 มก./ล. ร่วมกับการใช้น้ำตาลซูโครสที่ร้อยละ 6 หรือ 7 ให้เหง้าหัวพันธุ์ขนาดเล็กที่ดีที่สุด และให้สารทุติยภูมิสูงสุด จากนั้นยังได้ทำการศึกษาผลของสารกระตุ้นต่อการเจริญเติบโต และการสร้างสาร พบว่า สาร Methyl jasmonate (MeJA) ความเข้มข้น 50 มก./ล. สามารถชักนำการเจริญเติบโตและสร้างสารได้ดีขึ้น จากการเปรียบเทียบการผลิตสารทุติยภูมิของต้นโพลีที่ได้จากแปลงปลูกและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชบนสูตรอาหารต่าง ๆ รวมทั้งจากแคลลัสของพืช พบว่า การเพาะเลี้ยงโพลีบนอาหารที่เติมสารกระตุ้น MeJA ชักนำให้มีการสร้างสาร ทุติยภูมิหลายชนิดสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ไม่ว่าจะเป็น Phenolic, Tannin, Alkaloid, Saponin และ Steroid นอกจากนี้ยังพบว่า มีการออกฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระสูงขึ้นด้วย จากการรายงานของ Eng-Chong et al. (2012) ได้นำเสนอข้อมูลการใช้สารกระตุ้นหรือ Elicitors เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโต และการสร้างสารออกฤทธิ์ เช่น การใช้ Polysaccharides, Salicylic acid และ Methyl Jasmonate หรือ โลหะหนัก Ag⁺ รวมถึงการใช้ความเครียดทางกายภาพ หรือแสงเพื่อกระตุ้นการผลิตสาร (Eng-Chong et al., 2012) ดังนั้นการประยุกต์ใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนี้ยังเป็นที่ยอมรับในการเพิ่มปริมาณหรือผลิตต้นพันธุ์พืช และการผลิตสารทุติยภูมิ รวมไปถึงการใช้รวบรวมสายพันธุ์พืชในวงศ์ชิงช้าหลายชนิด (Chirangini and Sharma, 2005; Hamirah et al., 2010; Islam et al., 2004; Khumaida et al., 2019; Mehaboob et al., 2019; Mohanty et al., 2011; Nayak, 2000; Preethi et al., 2010; กมลทิพย์ ไหลไผ่ทอง และ คณะ, 2561; จิราภรณ์ ปาสี และคณะ, 2563; อรุณี ม่วงแก้วงาม, 2559; วิสสุตา ประเสริฐพรศักดิ์ และ ปิยะมาศ ศรีรัตน์, 2558)

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมชิ้นส่วนพืชของไหลสำหรับการทดลอง

นำชิ้นส่วนเหง้าไหลมาจากแปลงปลูกในพื้นที่ตำบลนาอาจ อำเภอพิชัย จังหวัดอุตรดิตถ์ ตั้งแต่ปี 2562 มาปลูกลงดินเพื่อให้ได้เหง้า จากนั้นนำชิ้นส่วนลำต้นใต้ดินหรือเหง้าของไหล มาทำการเปิดน้ำไหลผ่านเป็นเวลา 30 นาที เพื่อชะล้างฝุ่นละอองและแมลงที่ติดอยู่กับไหลออก แล้วฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 0.9 เป็นเวลา 30 นาที ร่วมกับการเติมสารลดแรงตึงผิว Tween 20 ปริมาณ 1 มิลลิลิตร (มล.) จากนั้นล้างชิ้นส่วนเหง้าของไหลด้วยน้ำกลั่น Deionized water (DI) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ จำนวน 3 ครั้ง ๆ ละ 3 นาที แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (MS) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 6-Benzylaminopurine (BAP) ความเข้มข้น 2 มก./ล. โดยเปลี่ยนอาหารเมื่อครบ 4 สัปดาห์ จนกว่าจะได้จำนวนยอดเพียงพอต่อการทดลอง หลังจากนั้นจะเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่ไม่เติม BAP ก่อนจะเริ่มการทดลอง 4 สัปดาห์

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของไซโตไคนินและนาโนซีทต่อการเจริญเติบโตของไหล

ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน ได้แก่ BAP, Kinetin (KN) และ Thidiazuron (TDZ) ที่มีระดับความเข้มข้น 3 ระดับ ได้แก่ 1, 2 และ 4 มก./ล. ร่วมกับการเติมและไม่เติม Nano sheet (NS) ความเข้มข้น 10 มก./ล. เมื่อนำต้นพืชไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์บนสูตรอาหาร MS ดังกล่าว แล้วนำไปเลี้ยงในห้องที่มีการควบคุมอุณหภูมิประมาณ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ที่ทำการให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน โดยความเข้มแสงที่ 1,800 ลักซ์ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design: CRD) มีกรรมวิธีทั้งหมด 19 กรรมวิธี ๆ ละ 9 ซ้ำ ๆ ละ 1 ชิ้นส่วนพืช (ตาราง 4) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จึงทำการบันทึกผลการทดลอง โดยวัดจำนวนยอดใหม่ (ยอด) ความสูงต้นใหม่ ซึ่งเป็นหน่อใหม่ที่ได้ออกหรือแตกหน่อจากชิ้นส่วนพืชทดลอง (หน่อไหลขนาด 2 เซนติเมตร: ซม.) จำนวนใบ (ใบต่อต้น) ค่าความเขียวของใบ (SPAD reading scores) ด้วยเครื่อง SPAD-502 meter ยี่ห้อ Konica Minolta (Japan) ความกว้างใบ (ซม.) โดยวัดส่วนที่กว้างที่สุดของใบ ความยาวใบ (ซม.) ความยาวราก (ซม.) และจำนวนราก (ราก) จากนั้นนำข้อมูลที่บันทึกผลมาทำการวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of variance: ANOVA) และหาความ

แตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละกรรมวิธีด้วยวิธี Duncan multiple range test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)

การทดลองที่ 2 ศึกษาการปรับความเข้มข้นของธาตุอาหารร่วมกับการเติม BAP ต่อการเจริญเติบโตของไหล

ทำการตัดส่วนต้นของไหลที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในสภาพปลอดเชื้อให้มีความสูงต้นประมาณ 2 ซม. จากนั้นวางบนอาหารสูตร MS ที่มีการปรับความเข้มข้นของกลุ่มธาตุอาหาร Nitrogen, Mesosnutrients และ Micronutrients ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP โดยวางแผนการทดลองโดยใช้วิธีพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology, RSM) แบบ Response surface methodology (RSM) มีกรรมวิธีทั้งหมด 22 กรรมวิธี ๆ ละ 6 ชั่วโมง ๆ ละ 1 ชิ้นส่วนพืช (ตาราง 5) ทำการเปลี่ยนถ่ายอาหารทุก 4 สัปดาห์ จนครบ 12 สัปดาห์ จึงทำการบันทึกผลการทดลอง โดยวัดจำนวนยอดใหม่ (ยอด) ความสูงต้นใหม่ (ซม.) ความสูงต้นแม่ (ซม.) ความยาวราก (ซม.) จำนวนราก (ราก) และขนาดของเหง้าหัว (มม.) จากนั้นนำข้อมูลที่บันทึกผลมาวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of variance: ANOVA) และตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละกรรมวิธีด้วยวิธี Duncan multiple range test (DMRT)

การทดลองที่ 3 การเติมสารกระตุ้น (Elicitors) : Phenylalanine, Jasmonic acid และ Salicylic acid ต่อการเจริญเติบโตของไหลภายใต้สภาพปลอดเชื้อ และการสร้างสารทุติยภูมิ

นำยอดพืชที่ได้จากการเตรียมพืชทดลองที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารพื้นฐาน MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต มาเพาะเลี้ยงลงบนอาหาร MS ที่ได้มีการปรับความเข้มข้นของธาตุอาหาร โดยทำการทดสอบผลของสารกระตุ้น (Elicitors) ได้แก่ Phenylalanine ที่ความเข้มข้น 10, 20 และ 30 มก./ล., Jasmonic acid ที่ความเข้มข้น 50, 75 และ 100 มก./ล. และ Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 50, 75 และ 100 มก./ล. ซึ่งวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design: CRD) มีทั้งหมด 19 กรรมวิธี ๆ ละ 5 ชั่วโมง ๆ ละ 1 ต้น (ตาราง 6) โดยจะทำการเพาะเลี้ยงพืชเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นทำการบันทึกข้อมูลจำนวนยอดใหม่ (ยอด) ความสูงของยอดใหม่ (ซม.) ความสูงของยอดแม่ (ซม.) ค่าความเขียวของใบ (SPAD reading scores) และจำนวนใบ (ใบ) จากนั้นนำข้อมูลที่บันทึกผลมาวิเคราะห์หา

ค่าความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of variances: ANOVA) และหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละกรรมวิธีด้วยวิธี Duncan multiple range test (DMRT)

ทำการคัดเลือกสูตรอาหารที่ทำให้ต้นโพลที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ มีการเจริญเติบโตที่ดีที่สุด 5 กรรมวิธี (สูตรอาหารที่มีการเติมสาร Elicitors) โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design: CRD) จากนั้นทำการเพาะเลี้ยงโพลในสูตรอาหารดังกล่าว กรรมวิธีละ 20 ซ้ำ ๆ ละ 3 ต้น ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นบันทึกผลการเจริญเติบโต ได้แก่ ความสูงของต้นแม่ (ซม.) ความสูงของต้นใหม่ (ซม.) จำนวนยอดใหม่ (ยอด) จำนวนใบ (ใบต่อต้น) ค่าความเขียวของใบ (SPAD reading scores) อัตราการเกิดราก (ร้อยละ) น้ำหนักแห้ง (กรัม) และน้ำหนักสด (กรัม) จากนั้นนำตัวอย่างพืชอบแห้ง ด้วยเครื่อง Hot air oven ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส แล้วบดตัวอย่างพืช แล้วนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จากนั้นหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละกรรมวิธีด้วยวิธี Duncan multiple range test (DMRT)

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total phenolic content)

การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid)

ทำการเจือจางสารละลายกรดแกลลิกให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 0, 1.25, 2.5, 5, 10 และ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($\mu\text{g/mL}$) ใส่ลงใน 96 Well plate หลุมละ 20 ไมโครลิตร (μL) เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu phenol reagent ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 100 μL จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (NaCO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 80 μL ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปบ่มไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนดให้นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร (nm) โดยใช้เครื่องอ่านปฏิกิริยาไมโครเพลท จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานกรดแกลลิก หน่วยเป็น $\mu\text{g/mL}$ (แกน X) กับค่าการดูดกลืนแสง (แกน Y) (Ueda et al., 2019)

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total phenolic content)

ทำการเจือจางสารสกัดแต่ละตัวอย่าง ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 500 และ 1,000 $\mu\text{g/mL}$ ใส่ลงใน 96 Well plate หลุมละ 20 μL เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu phenol reagent ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 100 μL จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 80 μL ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปบ่มไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนดจึงนำไปตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น

750 nm โดยใช้เครื่องอ่านปฏิกิริยาไมโครเพลท จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาคำนวณหาสารประกอบฟีนอลิกรวมเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก แล้วรายงานปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในหน่วย มิลลิกรัม (มก.) Gallic acid equivalent (mg GAE/g DW) (Ueda et al., 2019)

การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม (Total flavonoids content)

การเตรียมสารละลายมาตรฐานคาเทชิน (Catechin)

ทำการเจือจางสารละลายคาเทชินให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 31.25, 62.5, 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ เมื่อทำการเจือจางแล้วมาทดสอบหาปริมาณ Total flavonoid compounds วิธีที่นิยม คือ ใช้ Aluminium nitrate colorimetric method นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 nm โดยใช้เครื่องอ่านปฏิกิริยาไมโครเพลท จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานคาเทชิน หน่วยเป็น $\mu\text{g/mL}$ (แกน X) กับค่าการดูดกลืนแสง (แกน Y) (Shirazi et al., 2014)

การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม (Total flavonoids content)

โดยใช้ Catechin เป็นสารมาตรฐาน แล้วทำการนำสารละลายมาตรฐานคาเทชินความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/mL}$ ใส่ลงใน 96 Well plate หลุมละ 25 μL จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 152.5 μL และเติมสารละลายโซเดียมไนไตรต์ (NaNO_2) ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 7.5 μL ทุกหลอด ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปบ่มไว้ในที่มืดเป็นเวลา 6 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนด นำหลอดที่ 1 มาเติมน้ำกลั่นปริมาตร 15 μL ส่วน หลอดที่ 2-4 เติมอะลูมิเนียมคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 15 μL นำไปบ่มที่มืด 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อครบเวลาแล้วนำทุกหลอดเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ที่ความเข้มข้น 1 โมล (M) ปริมาตร 50 μL แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 nm ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท (Microplate reader) จากนั้นนำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณของสารฟลาโวนอยด์รวมเทียบกับกราฟมาตรฐานคาเทชิน โดยแสดงค่าในรูปของ Catechin equivalent มีหน่วยเป็น mg catechin/g extract (Shirazi et al., 2014)

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

การเตรียมสารละลายมาตรฐานโทรล็อกซ์ (Trolox)

ทำการเจือจางสารละลายโทรล็อกซ์ด้วยน้ำกลั่น ให้มีความเข้มข้น 0, 1.25, 2.5, 5, 10 และ 20 $\mu\text{g/mL}$ จากนั้นนำสารละลายโทรล็อกซ์ที่ถูกเจือจางใส่ลงใน 96 Well plate หลุมละ 20 μL แล้วเติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 180 μL ผสมให้เข้ากัน แล้วบ่มในที่มืดเป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนดให้นำตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 nm

โดยใช้เครื่องอ่านปฏิกิริยาไมโครเพลท โดยสารละลาย Blank จะใช้น้ำกลั่นแทนสารละลาย ไทโรลิกซ์ จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH (ร้อยละ DPPH radical inhibition) ตามสมการที่ 1 แล้วนำมาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไทโรลิกซ์ หน่วยเป็น $\mu\text{g/mL}$ (แกน X) กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH (แกน Y)

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยวิธี DPPH

ทำการเจือจางสารสกัดด้วยน้ำให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 0, 312.5, 625, 1250 และ 2500 $\mu\text{g/mL}$ ทำการทดลองตามขั้นตอนที่กล่าวข้างต้นและคำนวณ ร้อยละ DPPH radical inhibition ของแต่ละความเข้มข้น หลังจากนั้นใช้ค่า ร้อยละ DPPH radical inhibition ของตัวอย่าง แล้วทำการเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากกราฟมาตรฐาน โดยรายงานผล 2 รูปแบบ ได้แก่ Ascorbic acid equivalent antioxidant capacity (AAEAC) ในหน่วย mg ascorbic acid equivalent (mg AAE/g DW) เมื่อเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก และ Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) ในหน่วย mg Trolox equivalent (mg TE/g DW) เมื่อเทียบกราฟมาตรฐานไทโรลิกซ์ (Sridhar and Charles, 2019)

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

การเตรียมสารละลายมาตรฐานไทโรลิกซ์

ทำการเจือจางสารละลายไทโรลิกซ์ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 0, 0.625, 1.25, 2.5, 5 และ 10 $\mu\text{g/mL}$ ใส่ลงใน 96 Well plate หลุมละ 20 μL แล้วเติมสารละลาย FRAP ปริมาตร 180 μL ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปบ่มไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนดจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 nm โดยใช้เครื่องอ่านปฏิกิริยาไมโครเพลท จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานไทโรลิกซ์ หน่วยเป็น $\mu\text{g/mL}$ (แกน X) กับค่าการดูดกลืนแสง (แกน Y)

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยวิธี FRAP

ทำการเจือจางสารสกัดให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 500 และ 1,000 $\mu\text{g/mL}$ ใส่สารสกัดที่เตรียมลงใน 96 Well plate หลุมละ 20 μL แล้วเติมสารละลาย FRAP ปริมาตร 180 μL ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปบ่มไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนดจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 nm โดยใช้เครื่องอ่านปฏิกิริยาไมโครเพลท จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยทำการเทียบกับกราฟมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟตและไทโรลิกซ์ มีหน่วยเป็น mg Ferrous sulfate equivalent

(mg FE/g DW) และค่า mg Trolox equivalent (mg TE/g DW) ตามลำดับ (Sridhar and Charles, 2019)

การทดลองที่ 4 ผลของน้ำตาลต่อการเกิดเหง้าขนาดเล็ก และอัตราการรอดชีวิตของไหลหลังย้ายปลูก

นำส่วนต้นของไหลที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อมาตัดแยกเป็นต้นเดี่ยว ให้มีความสูงของต้นประมาณ 1-2 ซม. จากนั้นนำไปวางบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติมน้ำตาลที่ความเข้มข้นร้อยละ ดังนี้ 3, 6 และ 9 โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design: CRD) โดยมีชุดการทดลองทั้งหมด 3 ชุดการทดลอง แต่ละชุดการทดลองจะมีจำนวนซ้ำทั้งหมด 5 ซ้ำ ๆ ละ 1 ขวด และวางต้นพืชขวดละ 3 ต้น ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นเวลา 12 สัปดาห์ จากนั้นบันทึกผล ได้แก่ จำนวนยอดใหม่ (ยอดต่อต้น) ความสูงต้นแม่ (ซม.) ความสูงต้นใหม่ (ซม.) โดยใช้ไม้บรรทัดวัดจากโคนลำต้น จนถึงระหว่งการแยกของกาบใบบนสุด ขนาดเหง้าหัว (mm) โดยใช้เวอร์เนียร์คาลิปเปอร์ วัดตรงที่ใหญ่กว้างที่สุดของเหง้า จำนวนเหง้าหัวขนาดเล็ก (เหง้า) และ หลังจากนั้นย้ายปลูกลงในกระถาง โดยใช้วัสดุปลูกเป็นพีทมอส ทำการตัดลำต้นให้สูงประมาณ 2-3 ซม. และตัดรากให้เหลือประมาณ 1-2 ซม. เลี้ยงในสภาพควบคุมแบบร้อนชื้น เป็นเวลา 4 สัปดาห์เมื่อครบเวลา บันทึกอัตราการรอดหลังย้ายปลูก (ร้อยละ) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of variances: ANOVA) และตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละกรรมวิธีด้วยวิธี Duncan multiple range test (DMRT)

ตาราง 4 กรรมวิธีที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน (BAP, KN และ TDZ) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับการเติมและไม่เติม Nano sheet ที่ระดับความเข้มข้น 10 มก./ล. ต่อการเจริญเติบโตของไหล

กรรมวิธี (Trt)	สารควบคุมการเจริญเติบโต (mg/l)			Nano sheet (mg/l)
	BAP	Kn	TDZ	
1	0	0	0	ไม่เติม
2	1	0	0	ไม่เติม
3	2	0	0	ไม่เติม
4	4	0	0	ไม่เติม
5	0	1	0	ไม่เติม
6	0	2	0	ไม่เติม
7	0	4	0	ไม่เติม
8	0	0	1	ไม่เติม
9	0	0	2	ไม่เติม
10	0	0	4	ไม่เติม
11	1	0	0	เติม
12	2	0	0	เติม
13	4	0	0	เติม
14	0	1	0	เติม
15	0	2	0	เติม
16	0	4	0	เติม
17	0	0	1	เติม
18	0	0	2	เติม
19	0	0	4	เติม

ตาราง 5 กรรมวิธีที่มีการปรับความเข้มข้นของอาหารธาตุอาหารในกลุ่ม Nitrogen, Mesonutrients และ Micronutrients ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับการเติม BAP ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของโพล

Trt.	N (xMS)	Mesonutrients (xMS)	Micronutrient (xMS)	BAP (mg/l)
1	2	0.5	1	2
2	1	1	1	1
3	2	1	0.5	2
4	2	0.5	0.5	0
5	2	2	0.5	1
6	0.5	0.5	0.5	0
7	2	0.5	2	2
8	1	2	0.5	2
9	2	2	2	0
10	1	0.5	2	2
11	2	2	0.5	1
12	0.5	2	0.5	0
13	2	2	1	0
14	2	1	0.5	2
15	1	2	2	0
16	0.5	2	2	2
17	2	2	2	2
18	1	1	1	1
19	2	0.5	2	0
20	0.5	0.5	0.5	2
21	0.5	0.5	2	0
22	1	1	1	0

ตาราง 6 กรรมวิธีที่มีการเติมสารกระตุ้น (Elicitors) ได้แก่ Phenylalanine, Jasmonic acid และ Salicylic acid ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของโพล ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ และการสร้างสารทุติยภูมิ

Trt.	สารกระตุ้น (Elicitors) (มก./ล.)		
	Phenylalanine	Jasmonic acid	Salicylic acid
1	10	50	0
2	10	75	0
3	10	100	0
4	20	50	0
5	20	75	0
6	20	100	0
7	30	50	0
8	30	75	0
9	30	100	0
10	10	0	50
11	10	0	75
12	10	0	100
13	20	0	50
14	20	0	75
15	20	00	100
16	30	0	50
17	30	0	75
18	30	0	100
19	0	0	0

บทที่ 4

ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของไซโตไคนินและนาโนซีทต่อการเจริญเติบโตของไหล

จำนวนยอดใหม่ของการศึกษา พบว่า ทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 โดยสูตรอาหารที่มีการเติม BAP ความเข้มข้น 1, 2 และ 4 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม BAP ความเข้มข้น 2 และ 4 มก./ล. ร่วมกับการเติม NS และสูตรอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2 และ 1 มก./ล. ร่วมกับการเติม NS ให้จำนวนยอดใหม่สูงที่สุด ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.78, 2.78, 2.33, 2.22, 2.11, 2.00 และ 1.89 ยอด ตามลำดับ ขณะที่กรรมวิธีควบคุมได้จำนวนยอดเฉลี่ย เท่ากับ 0.58 ยอด (ตาราง 7)

ความสูงของยอดใหม่ของการศึกษา พบว่า ทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 โดยสูตรอาหารที่เติม KN ความเข้มข้น 2 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม KN ความเข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับการเติม NS สูตรอาหารที่เติม BAP ความเข้มข้น 1 มก./ล. และสูตรอาหารที่เติม KN ความเข้มข้น 1 มก./ล. ให้ความสูงยอดใหม่สูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 3.61, 2.73, 2.61 และ 2.42 ซม. ตามลำดับ โดยกรรมวิธีดังกล่าวข้างต้นไม่มีความแตกต่างกับกรรมวิธีควบคุมที่มีความสูงยอดใหม่เฉลี่ย เท่ากับ 3.43 ซม. (ตาราง 7)

จำนวนใบโดยเฉลี่ยของการศึกษา พบว่า ทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 โดยสูตรอาหารที่เติม KN ความเข้มข้น 1 และ 2 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม BAP ความเข้มข้น 1 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม BAP ความเข้มข้น 2 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม BAP ความเข้มข้น 4 มก./ล. ร่วมกับการเติม NS, สูตรอาหารที่เติม BAP ความเข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับการเติม NS, สูตรอาหารที่เติม KN ความเข้มข้น 2 มก./ล. ร่วมกับการเติม NS สูตรอาหารที่เติม BAP ความเข้มข้น 4 มก./ล. และสูตรอาหารที่เติม KN ความเข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับการเติม NS ให้จำนวนใบสูงที่สุด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.56, 3.56, 2.89, 2.89, 2.78, 2.44, 2.22, 2.22, 2.11 และ 2.11 ตามลำดับ โดยกรรมวิธีดังกล่าวข้างต้นไม่มีความแตกต่างกับกรรมวิธีควบคุมที่มีจำนวนใบโดยเฉลี่ย เท่ากับ 2.67 ใบ (ตาราง 7)

ค่าสีใบของการศึกษา พบว่า ทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 โดยสูตรอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2 มก./ล. สูตรอาหารที่มีการเติม KN ความเข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับการเติม NS สูตรอาหารที่เติม BAP ความเข้มข้น

1 และ 2 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม KN ความเข้มข้น 2 มก./ล. ร่วมกับการเติม NS สูตรอาหารที่เติม KN ความเข้มข้น 1 และ 2 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม BAP ความเข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับการเติม NS, สูตรอาหารที่เติม BAP ความเข้มข้น 4 มก./ล. และสูตรอาหารที่เติม KN ความเข้มข้น 4 มก./ล. ค่าสีใบสูงที่สุดเท่ากับ 17.68, 16.44, 15.19, 14.93, 14.72, 14.01, 13.84, 13.59, 13.29, 12.41, 11.44 และ 10.12 ตามลำดับ โดยกรรมวิธีดังกล่าวข้างต้นไม่มีความแตกต่างกับกรรมวิธีควบคุมที่มีค่าสีใบอยู่ที่ 14.78 (ตาราง 7)

ความกว้างใบของการศึกษา พบว่า ทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 โดยสูตรอาหารที่มีการเติม BAP ความเข้มข้น 2, 1 และ 4 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2 มก./ล. สูตรอาหารที่มีการเติม BAP ความเข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับการเติม NS สูตรอาหารที่มีการเติม KN ความเข้มข้น 2 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม KN ความเข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับการเติม NS สูตรอาหารที่มีการเติม KN ความเข้มข้น 1 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม KN ความเข้มข้น 4 และ 2 มก./ล. ร่วมกับการเติม NS สูตรอาหารที่เติม BAP ความเข้มข้น 4 มก./ล. ร่วมกับการเติม NS สูตรอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้น 4 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม KN ความเข้มข้น 4 มก./ล. และสูตรอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2 มก./ล. ร่วมกับการเติม NS ให้ความกว้างใบสูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 0.97, 0.92, 0.90, 0.88, 0.86, 0.84, 0.83, 0.77, 0.76, 0.71, 0.69, 0.67, 0.61 และ 0.59 ซม. ตามลำดับ โดยกรรมวิธีดังกล่าวข้างต้นไม่มีความแตกต่างกับกรรมวิธีควบคุมที่มีความกว้างใบเท่ากับ 0.97 ซม.

ค่าความยาวใบของการศึกษา พบว่า ทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 โดยสูตรอาหารที่เติม KN ความเข้มข้น 1 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม KN ความเข้มข้น 2 มก./ล. ร่วมกับการเติม NS สูตรอาหารที่เติม KN ความเข้มข้น 2 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม BAP ความเข้มข้น 2 และ 4 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม KN ความเข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับการเติม NS สูตรอาหารที่เติม BAP ความเข้มข้น 1 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม KN ความเข้มข้น 4 มก./ล. ร่วมกับการเติม NS และสูตรอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2 มก./ล. ให้ค่าความยาวใบสูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 3.89, 3.37, 3.32, 3.27, 3.12, 2.92, 2.78, 2.48 และ 2.44 ซม. ตามลำดับ โดยกรรมวิธีดังกล่าวข้างต้นไม่มีความแตกต่างกับกรรมวิธีควบคุมที่มีความยาวใบเท่ากับ 3.89 ซม.

ความยาวรากของการศึกษา พบว่า ทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 โดยสูตรอาหารที่เติม KN ความเข้มข้น 1 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม KN ความเข้มข้น 2 มก./ล. ร่วมกับการเติม NS และสูตรอาหารที่เติม BAP ความเข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับการเติม NS ให้ความยาวรากมากที่สุด มีค่าเท่ากับ 4.52, 4.10 และ 3.53 ซม.

ตามลำดับ ซึ่งสูตรอาหารที่เติม KN ความเข้มข้น 1 มก./ล. มีความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม ที่มีความยาวราก เท่ากับ 3.02 ซม. ขณะที่อีก 2 กรรมวิธี ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (ตาราง 7)

จำนวนรากของการศึกษา พบว่า ทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 โดยสูตรอาหารที่เติม KN ความเข้มข้น 2 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม KN ความเข้มข้น 1 มก./ล. และสูตรอาหารที่เติม BAP ความเข้มข้น 1 มก./ล. ให้จำนวนรากมากที่สุด มีค่าเท่ากับ 6.56, 6.11 และ 4.78 ราก ตามลำดับ ซึ่งสูตรอาหารที่เติม KN ความเข้มข้น 2 มก./ล. มีความแตกต่างจากชุดการทดลองควบคุมที่มีจำนวนรากเท่ากับ 4.44 ราก ขณะที่อีก 2 กรรมวิธี ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (ตาราง 7)

จากภาพ 6 แสดงให้เห็นว่า ต้นโพลในสูตรอาหารที่เติม BAP ความเข้มข้น 1 และ 2 มก./ล. มีจำนวนยอดใหม่เพิ่มขึ้น รวมไปถึงการเจริญเติบโตทางด้านต่าง ๆ ที่ดีกว่ากรรมวิธีอื่น ได้แก่ การเพิ่มจำนวนใบ ค่าสีใบ ความกว้างใบ ความยาวใบ ความยาวราก และจำนวนราก ดังนั้นสูตรอาหารดังกล่าวจึงเหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของโพล และให้จำนวนยอดโพลที่สูงที่สุด

ตาราง 7 ผลของการเติมเต็มสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน (BAP, KN และ TDZ ความเข้มข้น 1, 2 และ 4 มก./ล.) ร่วมกับ การเติมหรือไม่เติม NS ที่ความเข้มข้น 10 มก./ล. ต่อการเพิ่มจำนวนยอดใหม่และการเจริญเติบโตโพล เมื่อทำการเพาะเลี้ยงใน สภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

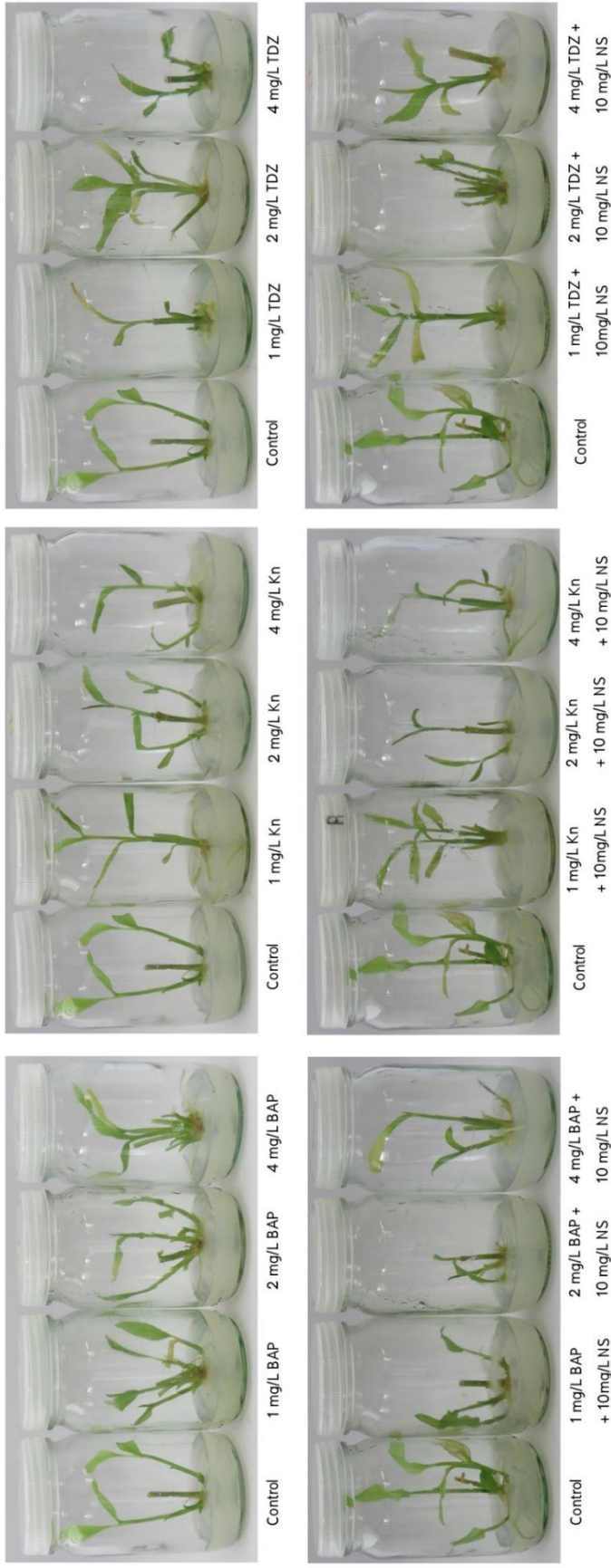
Trt	ค่าเฉลี่ย							
	จำนวนยอดใหม่ (ยอด)	ความสูง ต้นใหม่ (ซม.)	จำนวนใบ (ใบ)	(SPAD reading score)	ความกว้างใบ (ซม.)	ความยาวใบ (ซม.)	ความยาวราก (ซม.)	จำนวนราก (ราก)
Control	0.89±0.20 ^g	3.43±1.01 ^a	2.67±0.47 ^{a-d}	14.78±3.03 ^{abc}	0.97±0.13 ^a	3.89±0.59 ^a	3.02±0.34 ^{bcd}	4.44±0.85 ^{bcd}
1 มก./ล. BAP	2.78±0.46 ^a	2.61±0.37 ^{abc}	2.89±0.45 ^{ab}	15.19±2.01 ^{abc}	0.92±0.14 ^{ab}	2.78±0.39 ^{a-d}	2.88±0.43 ^{bcd}	4.78±0.83 ^{abc}
2 มก./ล. BAP	2.78±0.43 ^a	1.70±0.25 ^{bcd}	2.78±0.43 ^{abc}	14.93±1.96 ^{abc}	0.97±0.07 ^a	3.27±0.36 ^{ab}	1.84±0.31 ^{def}	2.22±0.49 ^{gh}
4 มก./ล. BAP	2.33±0.041 ^{ab}	1.49±0.10 ^{bcd}	2.11±0.31 ^{a-d}	11.44±3.04 ^{a-d}	0.90±0.04 ^{ab}	3.12±0.44 ^{abc}	0.90±0.37 ^f	1.22±0.64 ^{gh}
1 มก./ล. KN	0.67±0.24 ^g	2.42±0.78 ^{a-d}	3.56±0.56 ^a	14.01±1.00 ^{a-d}	0.77±0.05 ^{abc}	3.89±0.21 ^a	4.52±0.52 ^a	6.11±1.16 ^{ab}
2 มก./ล. KN	1.44±0.34 ^{b-g}	3.61±0.20 ^a	3.56±0.53 ^a	13.84±2.02 ^{a-d}	0.84±0.06 ^{abc}	3.32±0.35 ^{ab}	3.10±0.25 ^{bcd}	6.56±0.87 ^a
4 มก./ล. KN	1.22±0.28 ^{c-g}	1.67±0.42 ^{bcd}	2.0±0.50 ^{bcd}	10.12±1.98 ^{a-d}	0.61±0.12 ^{abc}	2.17±0.51 ^{bcd}	2.97±0.31 ^{bcd}	4.44±0.94 ^{bcd}
1 มก./ล. TDZ	1.11±0.20 ^{d-g}	1.13±0.21 ^d	1.33±0.33 ^{cd}	9.04±2.50 ^{bcd}	0.49±0.10 ^c	2.00±0.47 ^{bcd}	1.91±0.61 ^{def}	1.11±0.9 ^{gh}
2 มก./ล. TDZ	1.11±0.26 ^{d-g}	1.59±0.32 ^{bcd}	2.89±0.51 ^{ab}	17.68±1.89 ^a	0.88±0.13 ^{abc}	2.44±0.30 ^{a-d}	2.25±0.42 ^{c-f}	2.44±0.50 ^{d-g}
4 มก./ล. TDZ	1.44±0.41 ^{b-g}	1.17±0.28 ^d	1.67±0.47 ^{bcd}	8.27±2.13 ^{cd}	0.67±0.13 ^{abc}	2.26±0.50 ^{bcd}	1.26±0.42 ^{ef}	1.00±0.33 ^{gh}

ค่าเฉลี่ย±ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (n=9) ตามเครื่องหมายกำกับตัวเลขที่ต่างกันตามคอลัมน์คือแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p≤0.05)

ตาราง 7 ต่อ

Trt	จำนวน ยอดใหม่ (ยอด)	ความสูง ต้นใหม่ (ซม.)	จำนวนใบ (ใบ)	ค่าสีใบ (SPAD reading score)	ความกว้างใบ (ซม.)	ความยาวใบ (ซม.)	ความยาวราก (ซม.)	จำนวนราก (ราก)
1 มก./ล. BAP + 10 มก./ล. NS	1.56±0.29 ^{b-g}	1.86±0.20 ^{bcd}	2.22±0.32 ^{a-d}	12.41±2.74 ^{a-d}	0.86±0.10 ^{abc}	2.19±0.15 ^{bcd}	3.53±0.52 ^{abc}	2.78±0.22 ^{c-f}
2 มก./ล. BAP + 10 มก./ล. NS	2.22±0.32 ^{abc}	1.37±0.12 ^{cd}	1.33±0.44 ^{cd}	8.81±2.65 ^{bcd}	0.49±0.13 ^c	1.57±0.57 ^d	2.51±0.32 ^{cde}	2.56±0.41 ^{d-g}
4 มก./ล. BAP + 10 มก./ล. NS	2.11±0.51 ^{a-d}	1.40±0.26 ^{bcd}	2.44±0.50 ^{a-d}	6.88±1.89 ^d	0.69±0.14 ^{abc}	2.13±0.54 ^{bcd}	1.62±0.34 ^{def}	1.22±0.28 ^{gh}
1 มก./ล. KN + 10 มก./ล. NS	1.22±0.22 ^{c-g}	2.73±0.41 ^{ab}	2.11±0.51 ^{a-d}	16.44±2.66 ^{ab}	0.83±0.07 ^{abc}	2.92±0.24 ^{a-d}	2.67±0.40 ^{b-e}	4.44±0.84 ^{bcd}
2 มก./ล. KN + 10 มก./ล. NS	1.00±0.29 ^{efg}	1.63±0.55 ^{bcd}	2.22±0.57 ^{a-d}	14.72±2.28 ^{a-d}	0.71±0.09 ^{abc}	3.37±0.52 ^{ab}	4.10±0.48 ^{ab}	4.33±0.71 ^{bcd}
4 มก./ล. KN + 10 มก./ล. NS	1.11±0.11 ^{d-g}	1.77±0.21 ^{bcd}	2.00±0.41 ^{bcd}	13.59±2.32 ^{a-d}	0.76±0.16 ^{abc}	2.48±0.52 ^{a-d}	2.30±0.59 ^{c-f}	3.56±0.77 ^{cde}
1 มก./ล. TDZ + 10 มก./ล. NS	1.89±0.31 ^{o-f}	1.16±0.18 ^d	1.22±0.28 ^d	7.31±2.36 ^{cd}	0.56±0.12 ^{bc}	1.49±0.39 ^d	2.68±0.44 ^{b-e}	2.00±0.41 ^{gh}
2 มก./ล. TDZ + 10 มก./ล. NS	2.00±0.33 ^{o-e}	1.41±0.20 ^{bcd}	1.67±0.37 ^{bcd}	13.29±2.62 ^{a-d}	0.59±0.12 ^{abc}	1.69±0.46 ^{cd}	1.96±0.59 ^{def}	1.22±0.40 ^{gh}
4 มก./ล. TDZ + 10 มก./ล. NS	1.67±0.17 ^{b-g}	1.49±0.26 ^{bcd}	1.22±0.46 ^d	9.57±2.92 ^{bcd}	0.53±0.17 ^{bc}	1.57±0.52 ^d	1.24±0.61 ^{ef}	0.56±0.24 ^h

ค่าเฉลี่ย±ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (n=9) ตามด้วยอักษรภาพข้างต้นซึ่งมีนัยสำคัญแตกต่างกันตามค่าเฉลี่ยต้นคือแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)



ภาพ 6 ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นโพลที่เพาะที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน (BAP, KN และ TDZ) ความเข้มข้น 1, 2 และ 4 มก./ล. ร่วมกับ การเติม NS ความเข้มข้น 10 มก./ล. หรือไม่เติม NS เมื่อทำการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

การทดลองที่ 2 การศึกษาการปรับความเข้มข้นของธาตุอาหารรวมกับการเติม BAP ต่อการเจริญเติบโตของไหล

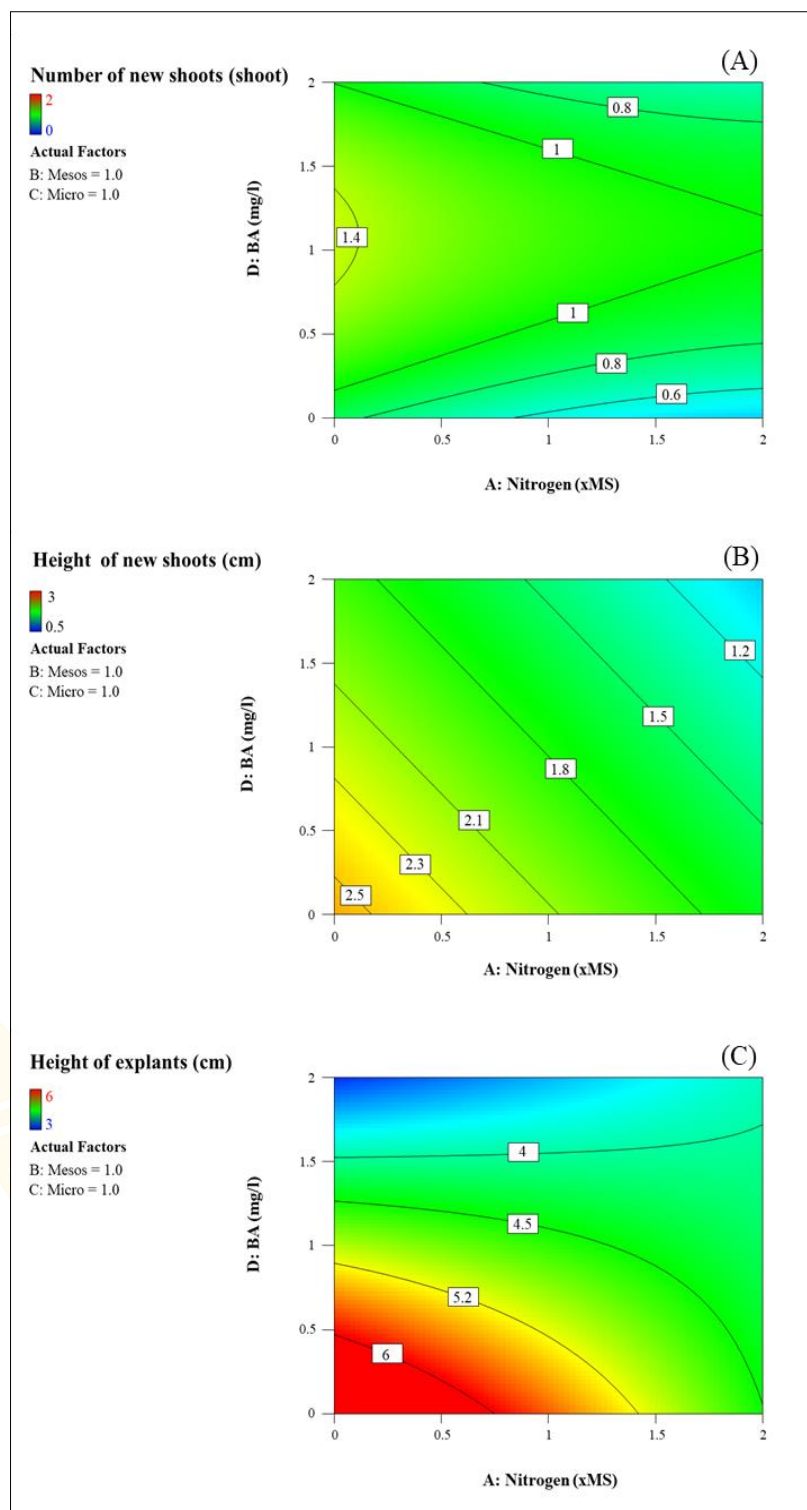
จากการศึกษาผลของการปรับความเข้มข้นของกลุ่มธาตุอาหาร Nitrogen, Mesosnutrients และ Micronutrients ที่ระดับความเข้มข้น 0.5–2x MS ร่วมกับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ที่ระดับความเข้มข้น 0–2 มก./ล. โดยการศึกษาในครั้งนี้ ได้นำซอฟต์แวร์การตอบสนองแบบโครงสร้างพื้นผิว (Response surface methodology: RSM) มาประยุกต์ใช้ในการวางแผนและออกแบบการทดลอง ซึ่งมีกรรมวิธีทั้งหมด 22 กรรมวิธี ๆ ละ 6 ซ้ำ ๆ ละ 1 ชั้นส่วนพืช ทำการเปลี่ยนถ่ายอาหารทุก 4 สัปดาห์ จนครบ 12 สัปดาห์ จึงทำการบันทึกผลการทดลอง โดยวัดจำนวนยอดใหม่ (ยอด) ความสูงต้นใหม่ (ซม.) ความสูงต้นแม่ (ซม.) ความยาวราก (ซม.) จำนวนราก (ราก) และขนาดของเหง้าหัว (มม.) จากนั้นนำข้อมูลที่บันทึกผลมาวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of variance: ANOVA)

จากผลของการศึกษาและการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่า การปรับความเข้มข้นของธาตุอาหารในกลุ่ม Nitrogen, Mesosnutrient และ Micronutrients ที่ความเข้มข้น 0.5–2x MS ไม่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนยอดใหม่อย่างมีนัยสำคัญ แต่การปรับความเข้มข้นของ Nitrogen ลดลง ร่วมกับการปรับความเข้มข้นของ BAP เป็นประมาณ 1.3 มก./ล. โดยใช้ Mesosnutrient และ Micronutrients ความเข้มข้น 1x MS มีแนวโน้มที่จะช่วยเพิ่มจำนวนยอดใหม่ (ภาพ 7A) ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ได้จำนวนยอดใหม่ของไหลประมาณ 0.6–1.4 ยอดต่อชั้นส่วนพืช ส่วนการศึกษาผลของธาตุอาหาร Nitrogen, Mesosnutrient และ Micronutrients ที่ความเข้มข้น 0.5–2x MS ร่วมกับการเติม BAP ต่อการเพิ่มความสูงยอดใหม่ พบว่า การปรับความเข้มข้นของธาตุอาหารดังกล่าวไม่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนยอดใหม่ แต่อย่างไรก็ตามการปรับลดความเข้มข้นของ Nitrogen ลง ร่วมกับการปรับความเข้มข้นของ BAP เป็นประมาณ 0.2 มก./ล. มีแนวโน้มที่จะให้ยอดใหม่มีความสูงเพิ่มขึ้นประมาณ 2.5 ซม. (ภาพ 7B) ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวค่อนข้างสอดคล้องกับผลการปรับความเข้มข้นของธาตุรวมกับการเติม BAP ที่ไม่มีผลต่อการเพิ่มความสูงของต้นแม่ แต่มีแนวโน้มว่าการปรับลดความเข้มข้นของ Nitrogen ลง ร่วมกับการปรับความเข้มข้นของ BAP เป็นประมาณ 0.5 มก./ล. ทำให้ต้นแม่มีความสูงที่เพิ่มขึ้นประมาณ 6 ซม. ซึ่งสูงมากกว่าการใช้ Nitrogen ร่วมกับการเติม BAP ที่ความเข้มข้นสูง (ภาพ 7C)

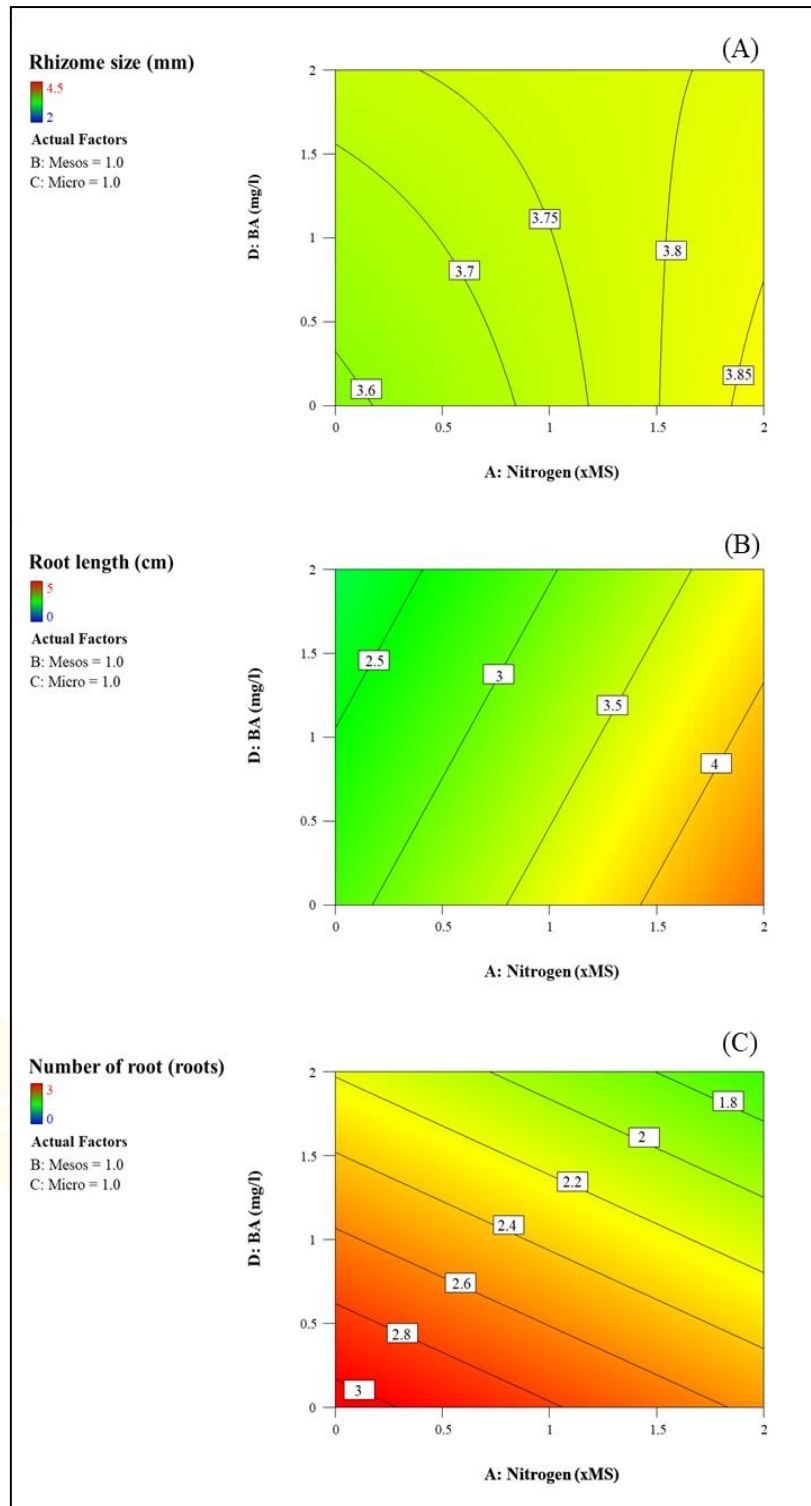
จากผลการศึกษาน้ำหนักของเหง้าไหล พบว่า ต้นไหลที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ที่มีการปรับความเข้มข้นของ Nitrogen, Mesosnutrients และ Micronutrients

ตั้งแต่ความเข้มข้น 0.5–2x MS ร่วมกับการเติม BAP ต่อการเกิดเหง้าหัวของไพล พบว่าการปรับความเข้มข้นของธาตุอาหารที่ความเข้มข้นดังกล่าวข้างต้นไม่มีผลต่อการเพิ่มขนาดเหง้าหัวของไพล (ภาพ 8A) แต่ในขณะที่การปรับความเข้มข้นของ Nitrogen ที่เพิ่มขึ้น ร่วมกับการปรับความเข้มข้นของ BAP เป็นประมาณ 0.75 มก./ล. มีแนวโน้มที่จะชักนำให้เกิดเหง้าขนาดใหญ่ขึ้นประมาณ 3.85 มม (ภาพ 8A) ในส่วนของการปรับความเข้มข้นของธาตุอาหารและ BAP ที่มีต่อความยาวรากของไพล พบว่าการปรับความเข้มข้นของธาตุอาหารไม่มีผลต่อการเพิ่มความยาวราก แต่การปรับความเข้มข้นของธาตุอาหารในกลุ่ม Nitrogen ที่เพิ่มขึ้น ร่วมกับการปรับความเข้มข้นของ BAP เป็นประมาณ 1.4 มก./ล. มีแนวโน้มที่จะชักนำความยาวรากให้เพิ่มขึ้น (ภาพ 8B) จากการศึกษาผลของการปรับความเข้มข้นของธาตุอาหารในกลุ่ม Nitrogen, Mesosnutrient และ Micronutrients ที่ความเข้มข้น 0.5–2x MS ร่วมกับการเติม BAP ไม่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนจํานวนรากอย่างมีนัยสําคัญ แต่อย่างไรก็ตามการปรับลดความเข้มข้นของ Nitrogen ร่วมกับการปรับความเข้มข้นของ BAP เป็นประมาณ 0.2 มก./ล. มีแนวโน้มที่จะเพิ่มจํานวนรากได้มากขึ้นประมาณ 3 ราก (ภาพ 8C)





ภาพ 7 กราฟการเปลี่ยนแปลงจำนวนยอดใหม่ (A) ความสูงยอดใหม่ (B) และความสูงต้นใหม่ (C) ของไพล์ที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารพื้นฐานสูตร MS ที่มีการปรับความเข้มข้นของ Nitrogen, Mesosnutrient และ Micronutrients ที่ความเข้มข้น 0.5–2x MS



ภาพ 8 กราฟการเปลี่ยนแปลงขนาดเหง้าหัว (A) ความยาวราก (B) และจำนวนราก (C) ของไพล์ที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารพื้นฐานสูตร MS ที่มีการปรับความเข้มข้นของ Nitrogen, Mesosnutrient และ Micronutrients ที่ความเข้มข้น 0.5–2x MS

การทดลองที่ 3 การศึกษาผลของการเติมสารกระตุ้น (Elicitors) : Phenylalanine, Jasmonic acid และ Salicylic acid ต่อการเจริญเติบโตของโพลภายใต้สภาพปลอดเชื้อ และการสร้างสารทุติยภูมิ

การทดลองที่ 3.1 การศึกษาผลของการเติมสารกระตุ้นต่อการเจริญเติบโตของโพล

จากการเติมสารกระตุ้นหรือ Elicitors ต่อผลการเจริญเติบโตของโพลที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า ทุกสูตรอาหารที่มีการเติมสารกระตุ้น ต้นพืชมีจำนวนยอด ความสูงของยอดใหม่ที่ได้ ความสูงของต้นใหม่ และจำนวนใบลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับต้นพืชที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่ไม่มีการเติมสารกระตุ้น (ชุดการทดลองควบคุม) ซึ่งทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตาราง 8)

จากการศึกษาจำนวนยอดใหม่ พบว่า มีเพียง 4 สูตรอาหารที่มีการเพิ่มจำนวนยอดใหม่ โดยต้นโพลที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารชุดการทดลองควบคุมมีจำนวนยอดใหม่มากที่สุด คือ 2 ยอด แต่เกิดในจำนวน 4 ช้ำ ส่วนต้นโพลที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม Phe ความเข้มข้น 30 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 50 มก./ล. และสูตรที่เติม Phe ความเข้มข้น 10 และ 20 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 75 มก./ล. มีจำนวนยอด เท่ากับ 1 ยอด โดยเกิดในจำนวน 1 ช้ำ ขณะที่สูตรอาหารที่เหลือไม่มีการเกิดยอดใหม่เลย โดยสูตรอาหารที่มีการเติมสารกระตุ้นมีจำนวนยอดใหม่น้อยกว่าต้นโพลที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารชุดการทดลองควบคุม (ตาราง 8)

จากการศึกษาความสูงต้นใหม่ พบว่า ต้นโพลที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารชุดการทดลองควบคุมมีความสูงต้นใหม่สูงที่สุด คือ 6.4 ซม. จากจำนวน 4 ช้ำ ที่มีการเกิดยอด โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.6 ซม. ส่วนต้นโพลที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารสูตรที่เติม Phe ความเข้มข้น 20 มก./ล. ร่วมกับ JA ความเข้มข้น 75 มก./ล., สูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 30 มก./ล. ร่วมกับ JA ความเข้มข้น 50 มก./ล. และสูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 10 มก./ล. ร่วมกับ JA ความเข้มข้น 75 มก./ล. มีความสูงต้นใหม่เท่ากับ 3.9, 2.8 และ 2.0 ซม. จากจำนวน 1 ช้ำ ที่มีการเกิดยอด ซึ่งต้นโพลที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่มีการเติมสารกระตุ้นมีความสูงยอดใหม่น้อยกว่าชุดการทดลองควบคุม (ตาราง 8)

จากการศึกษาความสูงต้นแม่ พบว่า ทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 โดยต้นโพลที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารชุดการทดลองควบคุมมีความสูงของต้นแม่มากที่สุด เท่ากับ 6.92 ซม. รองลงมา คือ ต้นโพลที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่เติมสารกระตุ้น Phe ความเข้มข้น 10 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 75 มก./ล. และสูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 20 มก./ล. ร่วมกับ SA ความเข้มข้น 50 มก./ล. ให้ความสูง

ของต้นแม่ เท่ากับ 4.85 และ 4.78 ซม. ตามลำดับ ซึ่งความสูงของต้นแม่ที่ได้จากสูตรอาหารดังกล่าวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความสูงของต้นแม่ที่ได้จากสูตรอาหารชุดการทดลองควบคุม (ตาราง 8)

จากการศึกษาจำนวนใบ พบว่า ทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 โดยสูตรอาหารชุดการทดลองควบคุมให้จำนวนใบมากที่สุด เท่ากับ 4 ใบต่อต้น รองลงมา คือ สูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 30 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 50 มก./ล. และสูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 10 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 75 มก./ล. ให้จำนวนใบ เท่ากับ 2.17 และ 2.00 ใบต่อต้น ตามลำดับ และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสูตรอาหารชุดการทดลองควบคุม (ตาราง 8)

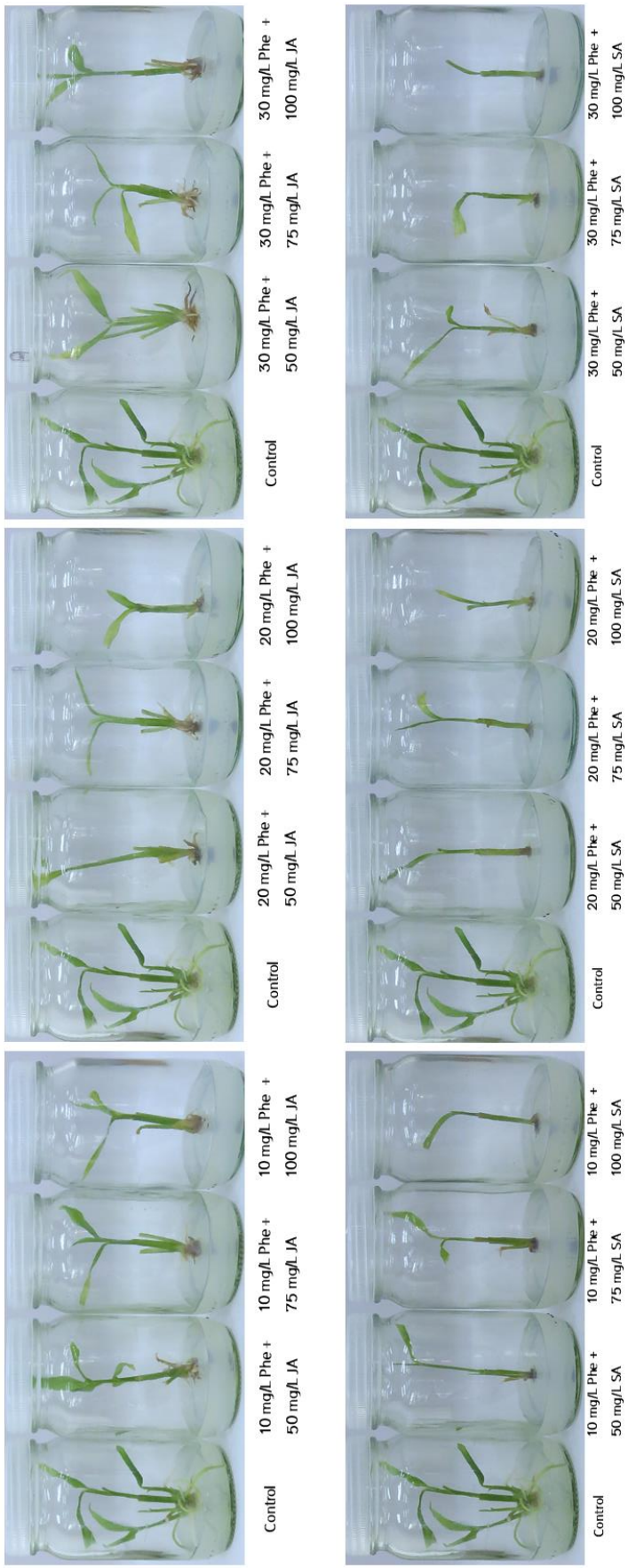
ค่าสีใบจากการศึกษา พบว่า ทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 โท้เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารชุดการทดลองควบคุมมีค่าสีใบมากที่สุด เท่ากับ 19.50 รองลงมา คือ สูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 30 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 50 มก./ล., สูตรที่เติม Phe ความเข้มข้น 10 มก./ล. ร่วมกับ JA ความเข้มข้น 75 มก./ล., สูตรที่เติม Phe ความเข้มข้น 20 มก./ล. ร่วมกับ JA ความเข้มข้น 75 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 20 มก./ล. ร่วมกับ JA ความเข้มข้น 100 มก./ล. และสูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 10 มก./ล. ร่วมกับ JA ความเข้มข้น 50 มก./ล. มีค่าสีใบที่ และ ไม่แตกต่างจากชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าสีใบเท่ากับ 16.62, 13.57, 13.37, 12.48 และ 12.42 ตามลำดับ (ตาราง 8)

จากภาพที่ 9 และ 10 แสดงลักษณะของต้นโพลที่เจริญเติบโตอยู่ภายในขวดอาหารขนาด 8 ออนซ์ และภายนอกขวดอาหารสังเคราะห์ ซึ่งจะเห็นให้เห็นว่าต้นโพลที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารชุดการทดลองควบคุมมีความสมบูรณ์หรือการเติบโตดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่มีการเติมสารกระตุ้น

ตาราง 8 ผลของการเติมสารกระตุ้น Phe (ความเข้มข้น 10, 20 และ 30 มก./ล.) ร่วมกับ JA หรือ SA (ความเข้มข้น 50, 75 และ 100 มก./ล.) ต่อการเจริญเติบโตของโพลกอยีเตสสภาพปลอดเชื้อ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 4 สัปดาห์

Trt	จำนวนยอดใหม่ (ยอด)	ความสูงต้นใหม่ (ซม.)	ความสูงต้นแม่ (ซม.)	จำนวนใบ (ใบ)	ค่าเฉลี่ย (SPAD reading score)
10 มก./ล. Phe + 50 มก./ล. JA	0	0	4.33±0.50 ^{bc}	1.67±0.61 ^{bcd}	12.42±2.87 ^{abc}
10 มก./ล. Phe + 75 มก./ล. JA	1	2	4.85±0.54 ^b	2±0.26 ^{bc}	13.57±2.13 ^{abc}
10 มก./ล. Phe + 100 มก./ล. JA	0	0	3.88±0.45 ^{bc}	1.33±0.33 ^{bf}	11.22±2.81 ^{bcd}
20 มก./ล. Phe + 50 มก./ล. JA	0	0	4.00±0.88 ^{bc}	1.5±0.34 ^{b-e}	10.47±3.28 ^{b-e}
20 มก./ล. Phe + 75 มก./ล. JA	1	3.9	4.13±0.33 ^{bc}	1.67±0.33 ^{bcd}	13.37±1.41 ^{abc}
20 มก./ล. Phe + 100 มก./ล. JA	0	0	2.88±0.38 ^c	1.5±0.43 ^{b-e}	12.48±2.61 ^{abc}
30 มก./ล. Phe + 50 มก./ล. JA	1	2.8	4.07±0.57 ^{bc}	2.17±0.40 ^b	16.62±1.81 ^{ab}
30 มก./ล. Phe + 75 มก./ล. JA	0	0	3.20±0.80 ^{bc}	1.5±0.56 ^{b-e}	8.25±2.99 ^{-f}
30 มก./ล. Phe + 100 มก./ล. JA	0	0	3.93±0.50 ^{bc}	1±0.37 ^{b-f}	10.42±3.59 ^{b-e}
10 มก./ล. Phe + 50 มก./ล. SA	0	0	4.15±0.39 ^{bc}	0.17±0.17 ^f	3.17±3.17 ^{ef}
10 มก./ล. Phe + 75 มก./ล. SA	0	0	4.33±0.26 ^{bc}	0.67±0.21 ^{d-f}	8.28±3.12 ^{-f}
10 มก./ล. Phe + 100 มก./ล. SA	0	0	4.05±0.47 ^{bc}	0.33±0.21 ^{ef}	2.27±1.86 ^{ef}
20 มก./ล. Phe + 50 มก./ล. SA	0	0	4.78±0.17 ^b	0.67±0.33 ^{def}	5.20±3.32 ^{-f}
20 มก./ล. Phe + 75 มก./ล. SA	0	0	3.50±0.32 ^{bc}	0.5±0.34 ^{def}	1.73±1.17 ^f
20 มก./ล. Phe + 100 มก./ล. SA	0	0	2.82±0.25 ^c	0.17±0.17 ^f	0.60±0.60 ^f
30 มก./ล. Phe + 50 มก./ล. SA	0	0	3.83±0.30 ^{bc}	0.83±0.31 ^{c-f}	6.12±2.53 ^{-f}
30 มก./ล. Phe + 75 มก./ล. SA	0	0	3.47±0.37 ^{bc}	0.17±0.17 ^f	0.62±0.62 ^f
30 มก./ล. Phe + 100 มก./ล. SA	0	0	3.22±0.15 ^{bc}	0.83±0.31 ^{c-f}	2.67±1.89 ^{ef}
Control	2	3.6	6.92±0.82 ^a	4±0.73 ^a	19.50±2.78 ^a

ค่าเฉลี่ย±ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (n=9) ตามด้วยอักษรกำกับตัวเลขที่ต่างกันตามคอลัมน์คือแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p≤0.05)



ภาพ 9 ลักษณะทางสัณฐานและการเจริญเติบโตของโพลภายในขวดทดลองขนาด 8 ออนซ์ หลังจากการเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มีสารเติมสารกระตุ้น Phe ความเข้มข้น 10, 20 และ 30 มก./ล. ร่วมกับสารเติมหรือไมเติม JA และ SA ความเข้มข้น 50, 75 และ 100 มก./ล. เมื่อเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 4 สัปดาห์



ภาพ 10 ลักษณะการเจริญเติบโตของงาโผล่ภายนอกขวดอาหาร หลังจากการเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มีการเติมสารกระตุ้น Phe ความเข้มข้น 10, 20 และ 30 มก./ล. ร่วมกับสารเติม JA หรือ SA ความเข้มข้น 50, 75 และ 100 มก./ล. เมื่อเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 4 สัปดาห์

การทดลองที่ 3.2 การคัดเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของไพลและสารทุติยภูมิ

สูตรอาหารที่ไพลเจริญเติบโตดีที่สุดที่คัดเลือกมาจากการทดลองที่ 3.1 มีทั้งสิ้น 5 กรรมวิธี คือ 1) สูตรอาหาร MS ที่เติม Phe ความเข้มข้น 10 มก./ล. ร่วมกับ JA ความเข้มข้น 50 มก./ล. 2) สูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 10 มก./ล. ร่วมกับ JA ความเข้มข้น 75 มก./ล. 3) สูตรอาหาร MS ที่เติม Phe ความเข้มข้น 20 มก./ล. ร่วมกับ JA ความเข้มข้น 75 มก./ล. 4) สูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 30 มก./ล. ร่วมกับ JA ความเข้มข้น 50 มก./ล. และ 5) สูตรอาหารที่ไม่เติมสารกระตุ้นหรือชุดการทดลองควบคุม (Control) จากการทดลองพบว่า สูตรอาหาร MS ที่ไม่เติมสารกระตุ้นสามารถชักนำการเจริญเติบโตของต้นไพลได้ดีที่สุด ได้แก่ ความสูงต้นแม่ ความสูงต้นใหม่ จำนวนยอดใหม่ต่อต้น ค่าสีใบ จำนวนใบต่อต้น อัตราการเกิดราก น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่มีการเติมสารกระตุ้นลงในอาหารสังเคราะห์ ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองที่ 3.1 (ตาราง 9)

ความสูงของต้นแม่ไพล พบว่า ต้นแม่ไพลที่เพาะเลี้ยงบนอาหารชุดการทดลองควบคุม มีความสูงของต้นแม่มากที่สุด เท่ากับ 6.93 ซม. ซึ่งแตกต่างจากสูตรอาหารที่มีการเติมสารกระตุ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 รองลงมา คือ สูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 30 มก./ล. ร่วมกับ JA ความเข้มข้น 50 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 20 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 75 มก./ล. และสูตรที่เติม Phe ความเข้มข้น 10 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 75 หรือ 50 มก./ล. มีค่าความสูงของต้นแม่ที่น้อยกว่าชุดการทดลองควบคุม อยู่ที่ 4.65, 4.19, 4.58 และ 4.41 ซม. ตามลำดับ (ตาราง 9 และ ภาพ 13)

ความสูงของต้นใหม่ พบว่า ชุดการทดลองควบคุมมีค่าความสูงต้นใหม่มากที่สุด เท่ากับ 6.28 ซม. ซึ่งแตกต่างจากสูตรอาหารที่มีการเติมสารกระตุ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 รองลงมา คือ สูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 20 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 75 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 30 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 50 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 10 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 50 มก./ล. และสูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 10 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 75 มก./ล. มีความสูงของต้นใหม่ เท่ากับ 1.87, 1.26, 1.11 และ 0.98 ซม. ตามลำดับ (ตาราง 9 และ ภาพ 13)

จำนวนยอดใหม่ต่อต้นจากการศึกษา พบว่า สูตรอาหารชุดการทดลองควบคุม มีจำนวนยอดใหม่ต่อต้นมากที่สุด เท่ากับ 1.06 ยอดต่อต้น ซึ่งแตกต่างจากสูตรอาหารที่มี

การเติมสารกระตุ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 รองลงมา คือ สูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 20 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 75 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 10 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 50 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 10 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 75 มก./ล. และสูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 30 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 50 มก./ล. มีจำนวนยอดใหม่ต่อต้น เท่ากับ 0.34, 0.31, 0.31 และ 0.29 ยอดต่อต้น ตามลำดับ (ตาราง 9)

ค่าความเสียหายของสีใบจากการศึกษา พบว่า สูตรอาหารชุดการทดลองควบคุมให้ค่าสีใบมากที่สุดเท่ากับ 23.75 ซึ่งแตกต่างจากสูตรอาหารที่มีการเติมสารกระตุ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 รองลงมา คือ สูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 20 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 75 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 30 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 50 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 10 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 75 มก./ล. และสูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 10 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 50 มก./ล. ให้ค่าความเสียหายของใบน้อยกว่าชุดการทดลองควบคุม เท่ากับ 12.25, 11.03, 9.97 และ 8.93 ตามลำดับ (ตาราง 9 และ ภาพ 13)

จำนวนใบต่อต้นจากการศึกษา พบว่า สูตรอาหารชุดการทดลองควบคุมมีจำนวนใบต่อต้นที่มากที่สุด เท่ากับ 4.85 ใบต่อต้น ซึ่งแตกต่างจากสูตรอาหารที่มีการเติมสารกระตุ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 รองลงมา คือ สูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 30 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 50 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 20 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 75 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 10 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 50 มก./ล. และสูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 10 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 75 มก./ล. มีจำนวนใบต่อต้น เท่ากับ 1.96, 1.68, 1.65 และ 1.56 ใบต่อต้น ตามลำดับ (ตาราง 9 และ ภาพ 13)

อัตราการเกิดรากจากการศึกษา พบว่า ทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 โดยสูตรอาหารชุดการทดลองควบคุมมีอัตราการเกิดรากมากที่สุดเท่ากับ ร้อยละ 100 รองลงมา คือ สูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 30 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 50 มก./ล. และ สูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 20 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 75 มก./ล. มีอัตราการเกิดราก เท่ากับ ร้อยละ 54.95 และ 49.98, ตามลำดับ ซึ่งทั้งสองสูตรอาหารมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดการทดลองควบคุม (ตาราง 9 และ ภาพ 13)

น้ำหนักสดจากการศึกษา พบว่า สูตรอาหารชุดการทดลองควบคุม ให้น้ำหนักสดของ ไพลมากที่สุด คือ 5.01 กรัม ซึ่งแตกต่างจากสูตรอาหารที่มีการเติมสารกระตุ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 รองลงมา คือ สูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 20 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 75 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 30 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 50 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 10 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 75 มก./ล. และสูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 10 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 50 มก./ล. มีน้ำหนักสดของไพล เท่ากับ 2.00, 1.86, 1.80 และ 1.69 ± 0.6 กรัม ตามลำดับ (ตาราง 9 และ ภาพ 13)

น้ำหนักแห้งจากการศึกษา พบว่า สูตรอาหารชุดการทดลองควบคุมมีน้ำหนักแห้งมากที่สุด เท่ากับ 0.37 ± 0.1 กรัม ซึ่งแตกต่างจากสูตรอาหารที่มีการเติมสารกระตุ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 รองลงมา คือ สูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 20 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 75 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 10 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 75 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 10 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 50 มก./ล. และสูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 30 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 50 มก./ล. มีน้ำหนักแห้ง เท่ากับ 0.20, 0.19, 0.18 และ 0.18 ตามลำดับ (ตาราง 9 และ ภาพ 13)

จากการนำตัวอย่างพืชอบแห้งด้วยเครื่อง Hot air oven ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส แล้วบดตัวอย่างพืช จากนั้นนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวม และการหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 2 วิธี พบว่า สูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 20 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 75 มก./ล. สูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 30 มก./ล. ร่วมกับการเติม JA ความเข้มข้น 50 มก./ล. และ ส่วนสูตรอาหารที่เติม Phe ความเข้มข้น 10 มก./ล. ร่วมกับ JA ความเข้มข้น 75 มก./ล. ให้ปริมาณสารฟีนอลิกรวมมากที่สุด อยู่ที่ 1.87 1.86 และ 1.75 mg GAE/ g DW ตามลำดับ ขณะที่สูตรอาหารที่ไม่มีการเติมสารกระตุ้นให้ปริมาณสารฟีนอลิกรวมน้อยที่สุด คือ 1.57 mg GAE/ g DW (ภาพ 11A)

จากการวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม พบว่า ทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ซึ่งมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมอยู่ในช่วง 0.61–0.7 mg CE/ g DW (ภาพ 11B)

จากการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่วัดด้วยวิธี DPPH พบว่า ทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 โดยสูตรอาหารที่เติมสารกระตุ้นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่วัดด้วยวิธี DPPH มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าชุดการทดลองควบคุม

โดยสูตรที่เติมสารกระตุ้น Phe ความเข้มข้น 30 มก./ล. ร่วมกับเติม JA ความเข้มข้น 50 มก./ล. สูตรที่เติมสารกระตุ้น Phe ความเข้มข้น 20 มก./ล. ร่วมกับเติม JA ความเข้มข้น 75 มก./ล. สูตรที่เติมสารกระตุ้น Phe ความเข้มข้น 10 มก./ล. ร่วมกับเติม JA ความเข้มข้น 75 มก./ล. และ สูตรอาหารที่เติมสารกระตุ้น Phe ความเข้มข้น 10 มก./ล. ร่วมกับเติม JA ความเข้มข้น 50 มก./ล. มีค่า 3.77, 3.65, 3.41 และ 3.17 mg TE/ g DW ตามลำดับ ขณะที่ชุดการทดลองควบคุมมีปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 2.99 mg TE/ g DW (ภาพ 12A)

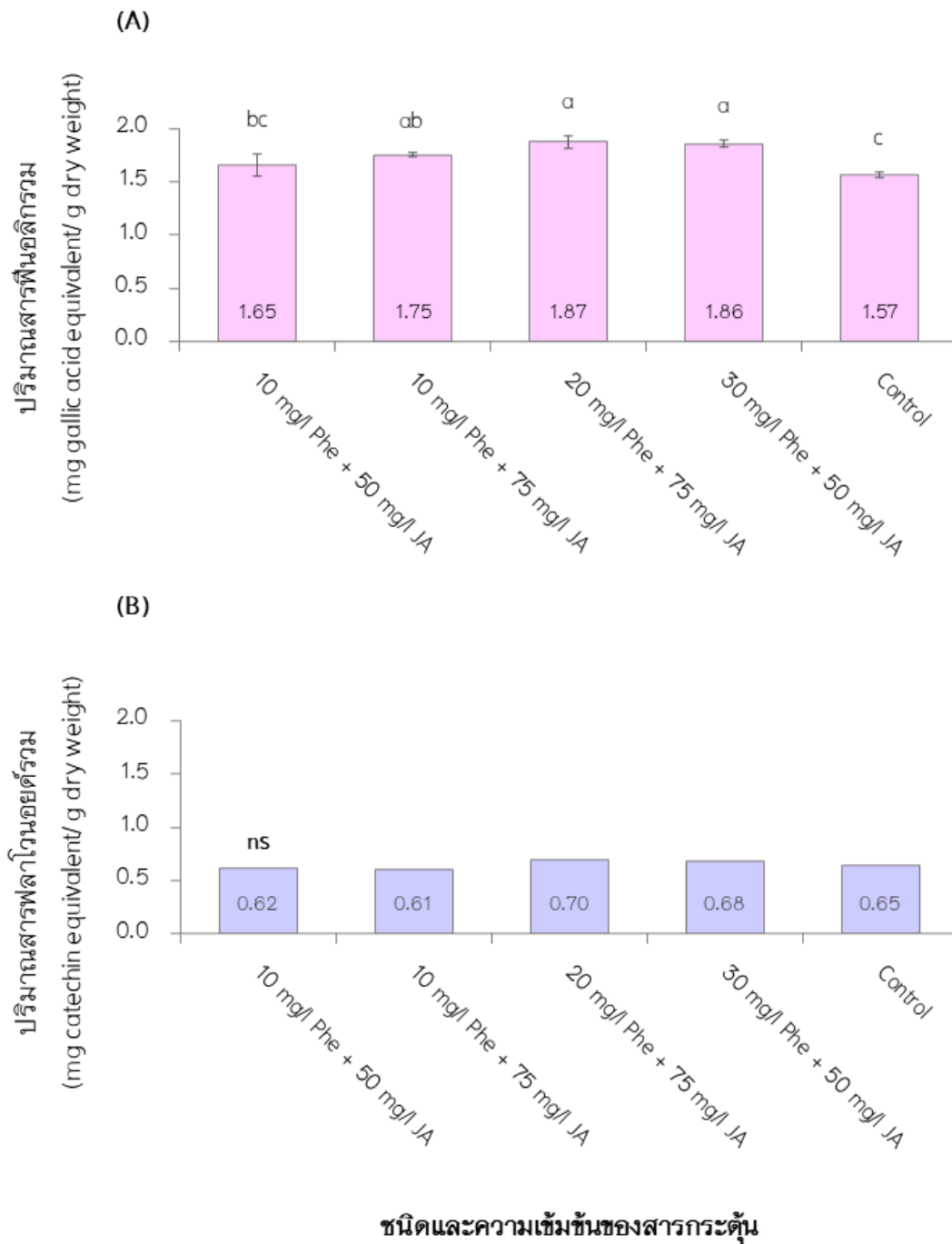
จากการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่วัดด้วยวิธี FRAP พบว่า สูตรอาหารที่เติมสารกระตุ้นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่วัดด้วยวิธี FRAP ทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติกับชุดการทดลองควบคุมที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยสูตรที่เติมสารกระตุ้น Phe ความเข้มข้น 20 มก./ล. ร่วมกับเติม JA ความเข้มข้น 75 มก./ล. สูตรที่เติมสารกระตุ้น Phe ความเข้มข้น 30 มก./ล. ร่วมกับเติม JA ความเข้มข้น 50 มก./ล. สูตรที่เติมสารกระตุ้น Phe ความเข้มข้น 10 มก./ล. ร่วมกับเติม JA ความเข้มข้น 75 มก./ล. และสูตรอาหารที่เติมสารกระตุ้น Phe ความเข้มข้น 10 มก./ล. ร่วมกับเติม JA ความเข้มข้น 50 มก./ล. มีปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูงที่สุด เท่ากับ 1.91, 19.0, 1.79, 1.74 mg TE/ g DW ตามลำดับ ส่วนชุดการทดลองควบคุมมีค่าน้อยที่สุด เท่ากับ 1.57 mg TE/ g DW (ภาพ 12B)

จากภาพที่ 13 ที่แสดงถึงลักษณะของไฟล์ที่เพาะเลี้ยงภายในขวดอาหารที่มีการเติมสารกระตุ้นและไม่เติมสารกระตุ้น จะเห็นได้ว่า ไฟล์ที่เพาะเลี้ยงบนชุดการทดลองควบคุม มีความสมบูรณ์ และการเจริญเติบโตทางด้านลำต้นดีที่สุด เมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่มีการเติมสารกระตุ้นซึ่งได้ผลการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 3.1

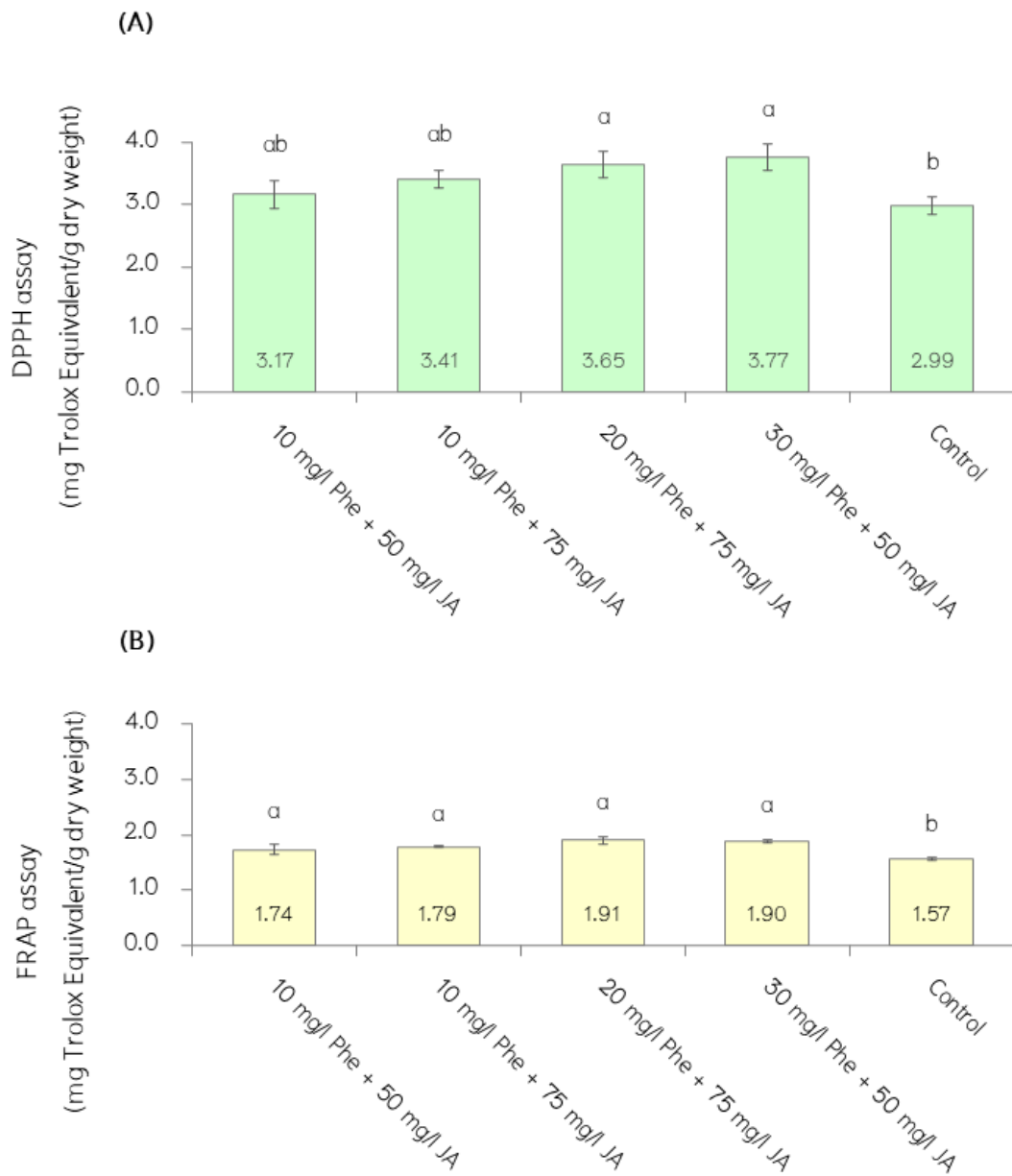
ตาราง 9 ผลของการคัดเลือกสูตรอาหารที่เติมสารกระตุ้นและไม่เติมสารกระตุ้นที่ดีที่สุดจากการทดลอง 3.1 ต่อการเจริญเติบโตของโพลีเอทิลีนพลาสต์เชื้อ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

สารกระตุ้น (มก./ล.)	ความสูงของ ต้นแม่ (ซม.)	ความสูงของ ต้นใหม่ (ซม.)	จำนวนยอดใหม่ ต่อต้น (ยอด)	ค่าสีใบ (SPAD reading scores)	จำนวนใบ ต่อต้น (ใบ)	อัตราการ เกิดการาก (%)	น้ำหนักสด (g)	น้ำหนักแห้ง (g)
Phe JA	(ซม.)	(ซม.)	(ยอด)	(scores)	(ใบ)	(%)	(g)	(g)
10	4.19±0.8 ^b	1.11±1.3 ^b	0.29±0.3 ^b	8.93 ±7.7 ^b	1.65±1.6 ^b	18.32±6.15 ^c	1.69± 0.6 ^b	0.18±0.1 ^b
10	4.41±0.9 ^b	0.98±1.2 ^b	0.31±0.3 ^b	9.97 ±6.5 ^b	1.56±1.4 ^b	3.33 ±2.29 ^d	1.80±0.6 ^b	0.19±0.0 ^b
20	4.58±1.5 ^b	1.87±2.5 ^b	0.34±0.3 ^b	12.25±7.4 ^b	1.68±1.4 ^b	49.98±7.83 ^b	2.00±1.1 ^b	0.20±0.1 ^b
30	4.65±1.1 ^b	1.26±1.2 ^b	0.31±0.3 ^b	11.03±6.5 ^b	1.96±1.5 ^b	54.95±6.05 ^b	1.86±0.8 ^b	0.18±0.1 ^b
0	6.93±3.1 ^a	6.28±2.0 ^a	1.06±0.6 ^a	23.75±4.5 ^a	4.58±1.3 ^a	100 ^a	5.01±1.3 ^a	0.37±0.1 ^a

ค่าเฉลี่ย±ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (n=9) ตามด้วยอักษรภาษาอังกฤษตัวเล็กที่ต่างกันตามคอลัมน์คือแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

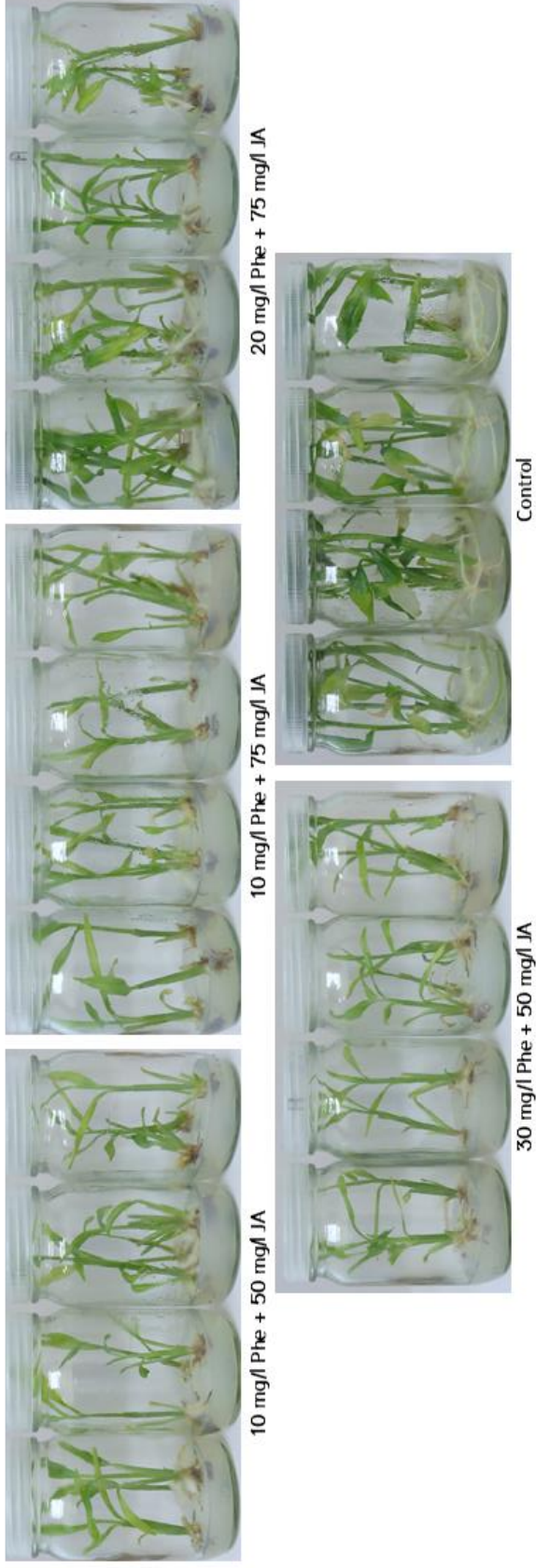


ภาพ 11 ผลของการคัดเลือกสูตรอาหารที่เติมสารกระตุ้น (Elicitors) ต่อการเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (A) และฟลาโวนอยด์รวม (B) หลังจากทำการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์



ชนิดและความเข้มข้นของสารกระตุ้น

ภาพ 12 ผลของการคัดเลือกสูตรอาหารที่เติมสารกระตุ้น (Elicitors) ต่อการเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH (A) และ FRAP (B) หลังจากทำการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์



ภาพ 13 ลักษณะการเจริญเติบโตทางสัณฐานวิทยาของโพลหสังจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรอาหารที่โพลเจริญเติบโตดีที่สุดที่ตัดเลือก มาจากการทดลองที่ 3.1 มีทั้งสิ้น 5 กรรมวิธี เมื่อเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 4 สัปดาห์

การทดลองที่ 4 การศึกษาผลของน้ำตาลต่อการเกิดเหง้าขนาดเล็ก และอัตราการรอดชีวิตของไหลหลังย้ายปลูก

จำนวนยอดใหม่จากการศึกษา พบว่า ทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 โดยมีจำนวนยอดใหม่อยู่ในช่วง 1.67–2.27 ยอด (ภาพ 14A)

ความสูงของต้นแม่จากการศึกษา พบว่า ทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 โดยสูตรอาหารที่เติมน้ำตาลความเข้มข้นร้อยละ 6 ให้ความสูงของต้นแม่สูงมากที่สุด เท่ากับ 7.97 ซม. รองลงมา คือ ต้นไหลที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลร้อยละ 9 และ 3 ซึ่งให้ความสูงของต้นแม่ เท่ากับ 4.74 และ 3.83 ซม. ตามลำดับ (ภาพ 14B)

ความสูงของยอดใหม่จากการศึกษา พบว่า ทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 โดยสูตรอาหาร MS ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส ร้อยละ 3 สามารถชักนำให้ต้นใหม่ของไหลมีความสูงมากที่สุด เท่ากับ 9.00 ซม.รองลงมา คือ ต้นไหลที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่ปรับน้ำตาลเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 9 และ 6 ซึ่งทำให้ต้นใหม่มีความสูงเฉลี่ยอยู่ที่ 2.86 ซม. และ 3.36 ซม. ตามลำดับ (ภาพ 15A)

ขนาดเหง้าหัวจากการศึกษา พบว่า ทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 โดยสูตรอาหารที่ปรับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสเป็นร้อยละ 9 สามารถชักนำให้มีเหง้าหัวใหญ่ที่สุด เท่ากับ 4.31 มม. รองลงมา คือ สูตรอาหารที่เติมซูโครสความเข้มข้นร้อยละ 6 และ 3 มีขนาดเหง้าหัวเท่ากับ 0.54 และ 0.43 มม. ตามลำดับ (ภาพ 15B)

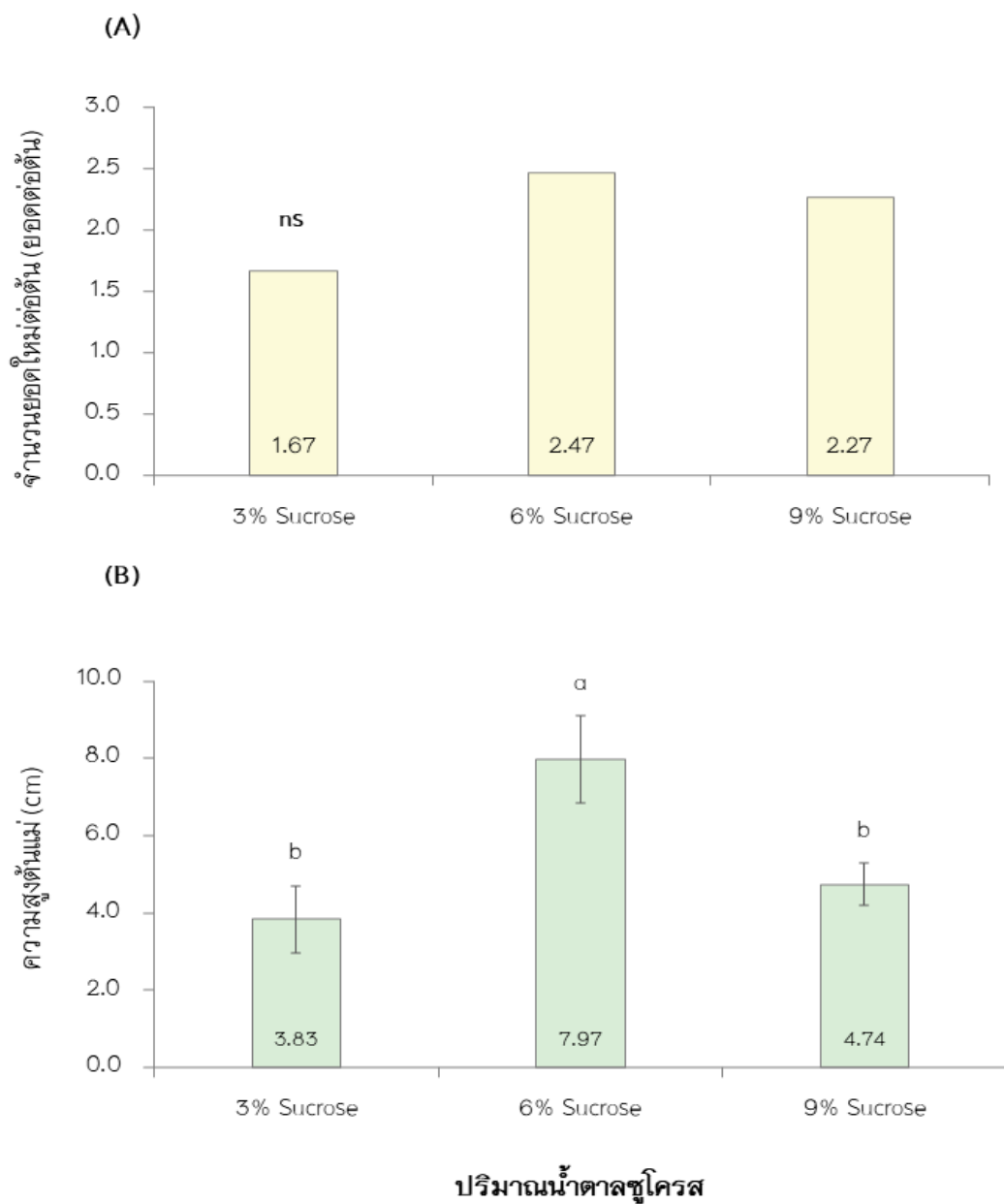
จำนวนเหง้าหัวจากการศึกษา พบว่า ทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 โดยสูตรอาหารที่ปรับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสเป็นร้อยละ 9 ส่งผลให้มีจำนวนเหง้าหัวมากที่สุด เท่ากับ 1.20 เหง้า รองลงมา คือ สูตรที่เติมน้ำตาลซูโครสที่ร้อยละ 3 และ 6 ให้จำนวนเหง้าเท่ากับ 0.07 เหง้า (ภาพ 16A)

จากนั้นเมื่อนำต้นไหลที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนสูตรอาหารสังเคราะห์ทั้ง 3 กรรมวิธี และได้ทำการบันทึกผลการทดลองเป็นที่เรียบร้อยแล้ว ทำการย้ายปลูกลงในวัสดุปลูก ซึ่งในการทดลองนี้ใช้พีทมอสเป็นวัสดุปลูก เมื่อย้ายปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ต้นไหลที่ได้จากสูตรอาหารที่ปรับความเข้มข้นของน้ำตาลเป็นร้อยละ 9 มีอัตราการรอดหลังการย้ายปลูก สูงที่สุด (ร้อยละ 100) รองลงมา คือ ต้นไหลที่ได้จากสูตรอาหารที่มีปริมาณน้ำตาลซูโครสเป็นร้อยละ 3 มีอัตราการรอด เท่ากับ ร้อยละ 86.67 และต้นไหลที่ได้จากสูตรอาหารที่ปรับ

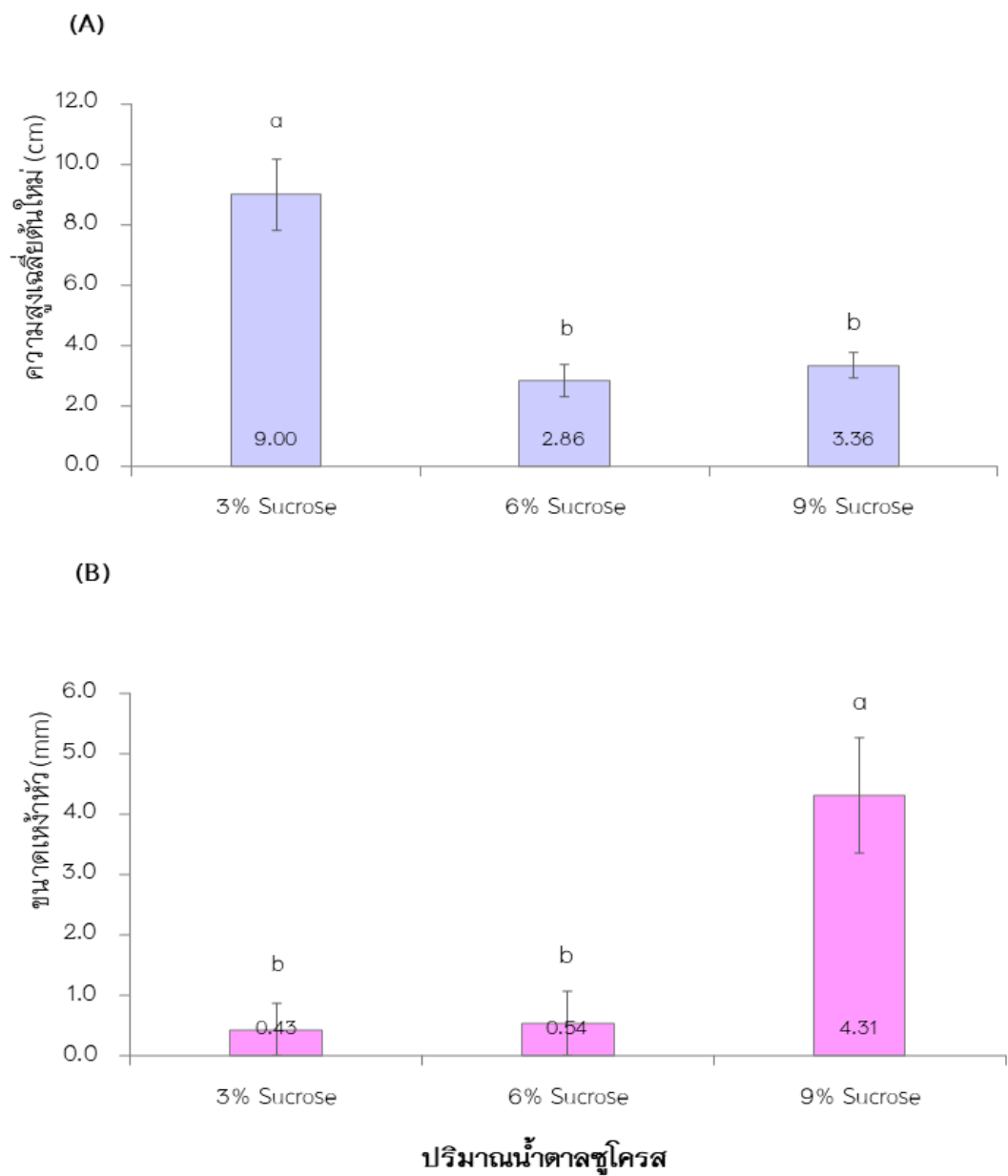
ปริมาณน้ำตาลซูโครสเป็นร้อยละ 6 มีอัตราการรอดหลังย้ายปลูก เท่ากับ ร้อยละ 80 (ภาพ 17B และ ภาพ 19)

จากภาพที่ 19 ที่แสดงถึงลักษณะการเจริญเติบโตของโพลที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งจะเห็นได้ว่า โพลที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่ปรับความเข้มข้นของน้ำตาลที่ร้อยละ 3 และ 6 มีการเจริญทางด้านลำต้นที่ดี ส่วนโพลที่เลี้ยงบนสูตรอาหารที่ปรับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสเป็นร้อยละ 9 จะมีการเจริญเติบโตที่ลดลง แต่มีการเกิดเหง้าหัวขนาดเล็กที่เห็นได้ชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอาหารที่ปรับความเข้มข้นของน้ำตาลที่ร้อยละ 3 และ 6

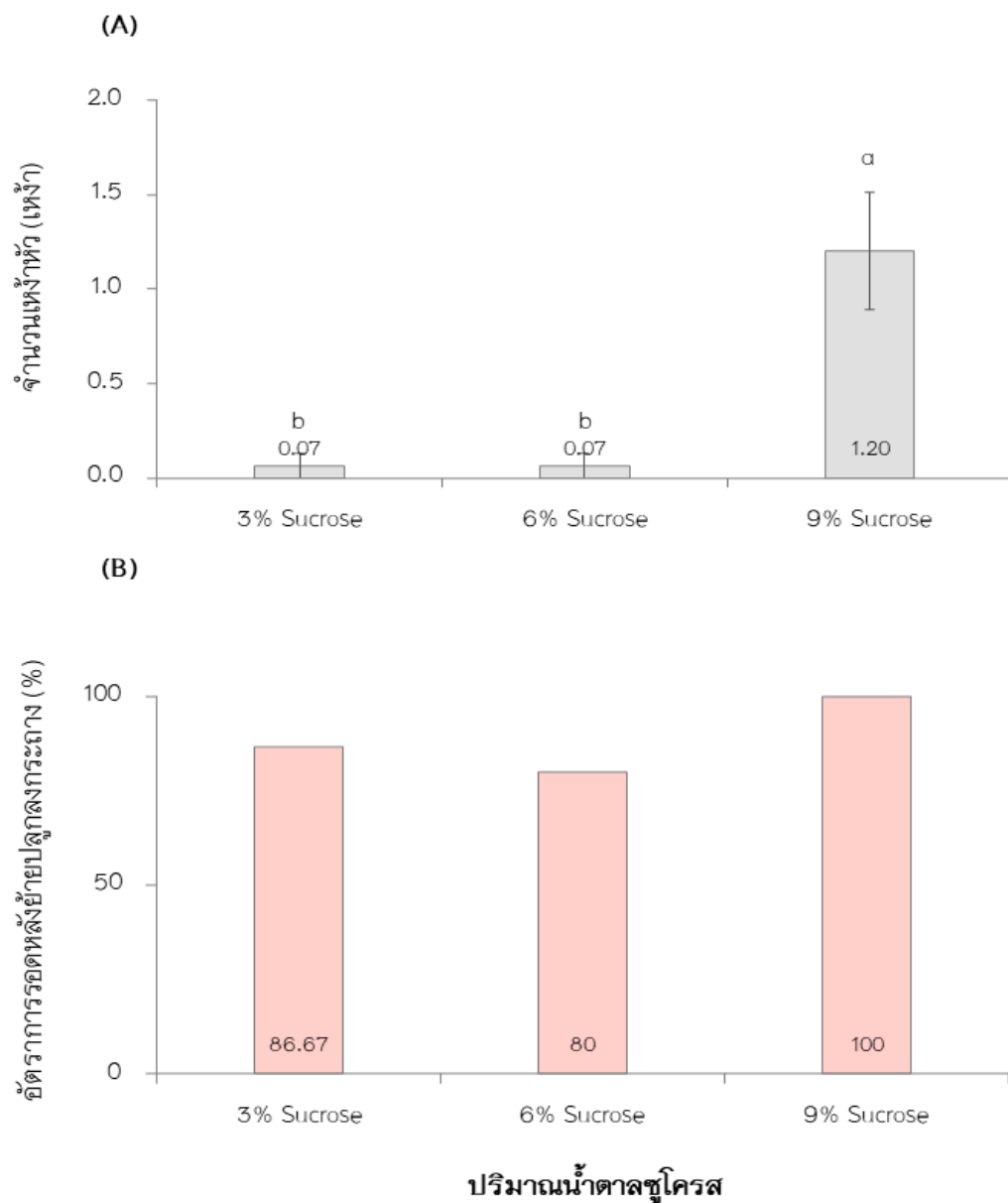




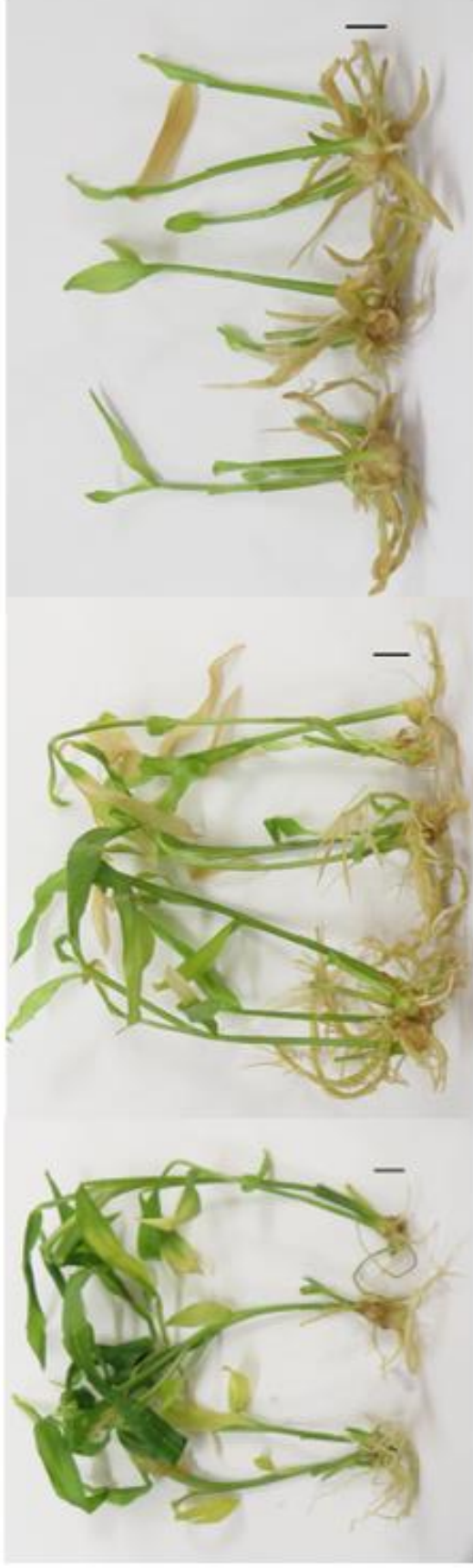
ภาพ 14 ผลของการปรับปริมาณน้ำตาลในสูตรอาหารพื้นฐาน MS ต่อจำนวนยอดใหม่ต่อต้น(A) และความสูงต้นแม่ (B) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์



ภาพ 15 ผลของการปรับปริมาณน้ำตาลในสูตรอาหารพื้นฐาน MS ต่อความสูงเฉลี่ยต้นใหม่ (A) และขนาดของเหง้าหัว (B) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์



ภาพ 16 ผลของการปรับปริมาณน้ำตาลในสูตรอาหารพื้นฐาน MS ต่อจำนวนเหง้า (A) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ และอัตราการรอดหลังย้ายปลูก (B) เมื่อย้ายปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์



3% Sucrose

6% Sucrose

9% Sucrose

ภาพ 17 ลักษณะการเจริญเติบโตของพืชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีการปรับปริมาณของน้ำตาลซูโครสเป็นร้อยละ 3, 6 และ 9
เมื่อทำการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 12 สัปดาห์

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 การศึกษาผลของไซโตไคนินและนาโนซีทต่อการเจริญเติบโตของไหล

ไหลที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรที่เติม BAP ความเข้มข้น 1, 2 และ 4 มก./ล. ซึ่งทั้งสามกรรมวิธีนี้ให้จำนวนยอดใหม่ที่ไม่ว่าแตกต่างกัน แต่ค่าเฉลี่ยของจำนวนยอดใหม่จากทั้งสามกรรมวิธีมีความแตกต่างจากค่าเฉลี่ยของจำนวนยอดใหม่ที่ได้จากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเมื่อทำการเปรียบเทียบผลของสูตรอาหารที่เติมสารในกลุ่มไซโตไคนินต่อการเพิ่มจำนวนยอด พบว่า การเติม BAP สามารถทำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีกว่าการใช้ KN และ TDZ เนื่องจาก BAP เป็นฮอร์โมนที่กระตุ้นการแบ่งเซลล์เพื่อเพิ่มจำนวนยอดใหม่ ซึ่งประสิทธิภาพของการไซโตไคนินขึ้นอยู่กับชนิดของสาร ความเข้มข้น และชนิดพืช รวมทั้งลักษณะการเกิดยอดที่มีทั้งแบบการชักนำขึ้นส่วนพืชให้เกิดยอดโดยตรง และการเกิดผ่านการสร้างแคลลัส อย่างไรก็ตามในการศึกษาพืชวงศ์ชิง พบว่า การใช้ BA หรือ BAP มีประสิทธิภาพในการเพิ่มจำนวนหน่อได้ดีกว่าไซโตไคนินชนิดอื่น (Keng and Hing, 2004) โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมของ BAP สำหรับชักนำให้ขึ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยงสามารถเจริญเติบโตและพัฒนาเพื่อเพิ่มจำนวนยอดได้ในพืชแต่ละชนิดอาจแตกต่างกัน (Zhang et al., 2013) จากงานวิจัยของรัตนา ขามฤทธิ์ และ จิตรกร ปรีแมน (2562) พบว่า การเพาะเลี้ยงไรโซมของไหลในสูตรอาหาร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 9 มก./ล. ชักนำให้เกิดต้นสูงสุด คือ 2.50 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช ในขณะที่การทดลองในครั้งนี้ พบว่า การใช้ BAP ความเข้มข้นเพียง 1 หรือ 2 มก./ล. ทำให้เกิดจำนวนยอดได้ใกล้เคียงกับงานวิจัยข้างต้น คือ ประมาณ 2.78 ยอด ดังนั้นการใช้ BAP ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน แต่สามารถชักนำการเกิดจำนวนยอดที่ใกล้เคียงกันได้ อาจเป็นผลมาจากแหล่งไหลที่นำมาใช้ในการศึกษาอาจมีความแตกต่างกัน ซึ่งโดยทั่วไปนั้นการเติมไซโตไคนินควรใช้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำหรือเท่าที่จำเป็นต้องการสำหรับการเพิ่มจำนวนยอด เพราะการใช้สารในปริมาณที่มากเกินไปอาจทำให้เกิดการเจริญเติบโตที่ผิดปกติหรือกลายพันธุ์ได้ และก่อให้เกิดต้นทุนการผลิตพืชด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เพิ่มขึ้น (Asghari et al., 2012; Jafari et al., 2011) หรืออาจเป็นผลตกค้างจากการใช้สาร BAP ในการเพิ่มจำนวนยอดสำหรับใช้ในการทดลอง เนื่องจากเว้นระยะในการใช้สูตรอาหารที่ไม่ใส่สาร BAP เพียง 4 สัปดาห์ ซึ่งอาจยังมีสาร BAP ตกค้างในพืชได้ ในการศึกษาผลของ

ไซโตโคลินเพื่อเพิ่มปริมาณยอดของพืชชนิดอื่นในวงศ์ขิงข่า ซึ่งมีรายงานเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระชายดำ โดยสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพิ่มปริมาณ คือ สูตรอาหารพื้นฐาน MS ที่มีการเติม BA ความเข้มข้น 35.52 μM (8 มก./ล.) ให้จำนวนยอดใหม่ได้ 22.4 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 9 สัปดาห์ (Labrooy et al., 2020) ส่วนงานของ Khairudin et al., (2020) พบว่า การใช้อาหาร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1.5 มก./ล. เหมาะสมสำหรับการเพิ่มปริมาณยอดของกระชายดำ โดยมีอัตราการเกิดยอด คือ 1.4 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช ซึ่งงานวิจัยของทั้ง Labrooy et al. (2020) และ Khairudin et al. (2020) มีการใช้ไซโตโคลินที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน และให้ผลการเกิดยอดที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ยานวิจัยของ Lo-Apirukkul et al. (2012) ที่ทำการศึกษากลับมาเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อว่านชักมดลูกพบว่า สูตรอาหารพื้นฐาน MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 18.16 μM (3.99 มก./ล.) เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ให้จำนวนยอดใหม่ได้ 11.82 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช ซึ่งให้ผลการทดลองที่แตกต่างกับการทดลองที่กล่าวข้างต้นแม้จะเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Zingiberacea เช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตามแม้ศึกษาพืชชนิดเดียวกัน แต่มีผลการทดลองที่แตกต่างกันอย่างสิ้นเชิง โดยมีการใช้ BAP หรือ BA ที่ความเข้มข้นต่างกันมาก จึงมีจำนวนยอดที่ได้แตกต่างกันอย่างชัดเจน นอกจากจำนวนยอดที่ได้แล้ว ความสูงของยอดพืชจึงเป็นการเจริญเติบโตที่บ่งบอกถึงคุณภาพของพืชที่ผลิตได้ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยการศึกษาครั้งนี้ พบว่า ยอดใหม่ของโพลจากสูตรอาหารที่เติม BAP ความเข้มข้น 1 และ 2 มก./ล. มีความสูงไม่ต่างกัน ในขณะที่ความสูงของยอดใหม่จากสูตรที่เติม BAP ความเข้มข้น 1 มก./ล. ไม่มีความแตกต่างจากชุดควบคุม แต่ความสูงของยอดใหม่จากอาหารสูตรอาหารที่เติม BAP ความเข้มข้น 2 มก./ล. มีความแตกต่างจากชุดควบคุม นอกจากนี้สูตรอาหารที่เติม KN ความเข้มข้น 2 มก./ล. ให้ความสูงของยอดใหม่มากที่สุด แต่ไม่แตกต่างจากความสูงของยอดใหม่จากสูตรอาหารที่เติม BAP ความเข้มข้น 1 มก./ล. ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Khairudin et al. (2020) ที่พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1.5 มก./ล. ทำให้ยอดของกระชายดำมีความสูงเฉลี่ยมากที่สุด คือ 4.3 ซม. จากงานวิจัยนี้เมื่อเปรียบเทียบผลของไซโตโคลินต่อความสูงของยอดใหม่ที่ได้ พบว่า การใช้ KN ความเข้มข้น 2 มก./ล. ทำให้ได้ยอดมีความสูงมากกว่าการใช้ BAP หรือ TDZ ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวมีความแตกต่างจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขิงที่ศึกษาผลของไซโตโคลิน (BAP, TDZ, zeatin, KN และ 2i-P) โดยการเติม TDZ ความเข้มข้น 1 ppm (1 มก./ล.) ส่งผลให้ยอดของขิงใหม่ที่ได้มีความสูงเฉลี่ยมากที่สุด คือ 1.58 ซม. (Sukarnih et al., 2021) และจากการศึกษาผลของแกรฟีนออกไซด์ที่มีลักษณะคล้ายกับนาโนซีทต่อการเติบโต

ของต้นกล้าข้าวสาลี พบว่า การใช้สารที่ความเข้มข้นต่ำ (100 มก./ล.) จะส่งเสริมการเจริญเติบโต แต่ความเข้มข้นสูง(1,000 มก./ล.) จะมีผลเชิงลบต่อการเจริญเติบโต (Ren et al., 2020) นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้อนุภาคนาโนไทเทเนียมออกไซด์เพื่อกระตุ้นการเกิดแคลลัสของข้าวบาร์เลย์ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ พบว่า อาหารพื้นฐานสูตร MS ที่เติมสาร TiO_2 60 $\mu g/mL$ สามารถชักนำการเกิดแคลลัสและให้ขนาดของแคลลัสที่ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอาหารที่เติม TiO_2 ต่ำลง และมีแนวโน้มการเกิดแคลลัสและให้ขนาดของแคลลัสลดลงเช่นกัน (Mandeh et al., 2012) ซึ่งการใช้นาโนซีทในงานวิจัยนี้ยังไม่ได้ทำการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสม แต่ได้ทำการอ้างอิงความเข้มข้นของนาโนซีทดังกล่าวจากการศึกษาอิสระของนิสิตระดับปริญญาตรี โดยพบว่า นาโนซีทมีผลต่อการกระตุ้นการผลิตสารทุติยภูมิในปทุมมาพันธุ์แม่ใจอิมเพลส (พิมพ์กาย ไบยา และยุพา แซ่ย่าง, 2564) แต่อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาผลของนาโนซีทในครั้งนี้มีการใช้นาโนซีทร่วมกับไซโตไคนินที่มีชนิดและระดับความเข้มข้นต่างกัน จึงทำให้การประเมินผลของนาโนซีทต่อการเจริญเติบโตของโพลที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อไม่ชัดเจน แต่การเติมนาโนซีทร่วมกับการใช้ไซโตไคนินไม่มีผลต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของโพลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นในการศึกษาครั้งต่อไปควรทดสอบผลของนาโนซีทร่วมกับการใช้ไซโตไคนินเพียงชนิดใดชนิดหนึ่งเท่านั้น

ข้อเสนอแนะในการทำการทดลองครั้งต่อไป

ในช่วงการเพิ่มจำนวนยอดจะมีการใส่สาร BAP เพื่อเพิ่มจำนวนยอด แต่เมื่อได้จำนวนยอดที่เพียงพอแล้ว จะทำการย้ายลงอาหารที่ไม่เติมสาร BAP โดยในการทดลองครั้งนี้ใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงในอาหารที่ไม่เติมสาร BAP เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ซึ่งระยะเวลาเพียงเท่านี้อาจไม่เพียงพอในการสลายสาร BAP ในพืช ทำให้ผลการทดลองอาจมีการคลาดเคลื่อนไปได้ ดังนั้น ระยะเวลาในการเตรียมพืชสำหรับทดลองควรเพิ่มระยะเวลาสำหรับการเพาะเลี้ยงโพลในอาหาร MS ที่ไม่เติม BAP จากระยะเวลา 4 สัปดาห์ เป็น 8 สัปดาห์ เพื่อให้สาร BAP สลายตัวได้หมด ไม่ตกค้าง และไม่แสดงความเป็นพิษต่อต้นพืชได้ ทำให้เห็นได้จากการทดลองที่ต้นพืชที่อยู่ในอาหารการทดลองที่เติม BAP ความเข้มข้น 4 มก./ล. มีจำนวนยอดใหม่ที่ลดลงได้ ขณะที่งานวิจัยของ รัตนา ขามฤทธิ์ และ จิตรกร ปรีแมน (2562) ใช้ BAP ความเข้มข้น 9 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดต้นได้สูงสุด ซึ่งไม่แน่ใจว่าผลการทดลองในครั้งนี้เกิดจากผลของ BAP ที่เติมในอาหารมากเกินไป หรือจากอาหารร่วมกับสารที่ตกค้างในต้นพืช

การทดลองที่ 2 การศึกษาการปรับความเข้มข้นของธาตุอาหารร่วมกับการเติม BAP ต่อการเจริญเติบโตของไหล

วิธีการตอบสนองแบบโครงสร้างพื้นผิว (RSM) เป็นการรวบรวมเอาเทคนิคทั้งทางคณิตศาสตร์ และทางสถิติที่มีประโยชน์ต่อการสร้างแบบจำลองและการวิเคราะห์ปัญหา โดยที่ผลตอบสนองที่สนใจจะขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายตัวแปร และมีวัตถุประสงค์ที่จะหาค่าที่ดีที่สุดของผลตอบสนองนั้น โดยส่วนใหญ่พื้นผิวผลตอบสนองจะถูกแสดงในรูปกราฟิก โดยที่ค่าผลตอบสนองจะถูกพลอตกับระดับของตัวแปรต้นที่ 1 (X1) และ ตัวแปรต้นที่ 2 (X2) เพื่อที่จะช่วยให้มองรูปร่างของพื้นผิวผลตอบสนองได้ดียิ่งขึ้น จากการทดลองในครั้งนี้ได้ประยุกต์ใช้เทคนิค RSM เพื่อหาผลของการปรับธาตุอาหารและความเข้มข้นของ BAP ที่ใช้เพื่อพัฒนาการเจริญเติบโตของต้นโพลอตรดิตถ์ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ผลการทดลองที่ได้จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแสดงให้เห็นว่า ตัวแปรที่นำมาศึกษาไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มจำนวนยอดของต้นโพลอตรดิตถ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาก่อนหน้านี้ที่ได้มีการประยุกต์ใช้เทคนิควิธีการตอบสนองแบบโครงสร้างพื้นผิวดังกล่าวนี้ไปประยุกต์เพื่อพัฒนาสูตรอาหารสำหรับพืชอื่น ๆ ได้แก่ เฮเซลนัท ส้ม มะกอก เป็นต้น

จากการทดลองของ Nas and Reed ในปี 2004 ได้พัฒนาสูตรอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงต้นเฮเซลนัท (hazelnut) โดยการทดสอบอาหารที่มีการปรับเปลี่ยนธาตุอาหารและสารประกอบอินทรีย์ จากการศึกษาการเจริญเติบโตของยอดลูกผสมเฮเซลนัท (*Corylus americana* x *C. avellana*) บนอาหารที่พัฒนามาจากอาหารสูตร MS, DKW, NM และ WPM พบว่า เมล็ดพืชมีการยืดยาวของยอดที่ได้และมีการเพิ่มจำนวนได้ดีที่สุดบนอาหาร NM (Nas and Reed medium) ซึ่งเป็นสูตรที่มีธาตุอาหารบางตัวสูงกว่าที่มีการใช้ในอาหารสูตรพื้นฐาน โดยมีความเข้มข้นของแมกนีเซียมซัลเฟตเพิ่มสูงเป็นสี่เท่า ($4 \times \text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดฟอสเฟตเพิ่มสูงเป็นแปดเท่า ($8 \times \text{KH}_2\text{PO}_4$) และมีความเข้มข้นของคอปเปอร์ซัลเฟตเพิ่มสูงเป็นหนึ่งร้อยเท่า ($100 \times \text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) เมื่อเทียบความเข้มข้นของเกลือโดยใช้สูตรอาหาร MS เป็นสูตรพื้นฐาน จากงานวิจัยของ Niedz and Evens (2007) ที่ได้ศึกษาผลของธาตุอาหารต่อการเจริญเติบโตของแคลลัสของส้ม (sweet orange) [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck 'Valencia'] โดยมีห้ากลุ่มของธาตุอาหารที่ใช้อาหารพื้นฐานสูตร MS ซึ่งประกอบไปด้วยธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช 14 ตัว เป็นปัจจัยการทดลองที่ถูกออกแบบชุดการทดลองโดยใช้เทคนิค RSM จากการศึกษาผลการเจริญเติบโตของแคลลัส พบว่ามีค่าเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเพิ่มสูงขึ้นภายหลังการเพาะเลี้ยงไปได้สองสัปดาห์ โดยแอมโมเนียมไนเตรต (NH_4NO_3) และธาตุเหล็ก (Fe) เป็นธาตุอาหารซึ่งเป็น

องค์ประกอบในอาหารที่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของแคลลัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่สุด เพราะเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของปัจจัยทั้งสองจะทำให้การเจริญเติบโตของแคลลัสจะลดลง ต่อมา Brito and Santos (2009) ได้ทำการปรับสูตรอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงมะกอก (*Olea maderensis* (Lowe) Rivas Mart. & del Arco) โดยเริ่มต้นจากการปรับอาหารพื้นฐานที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงมะกอก (Basal olive medium หรือ OM) พบว่า การปรับเพิ่มความเข้มข้นของธาตุเหล็ก แมงกานีส และแมกนีเซียมเป็นสองเท่าจะสามารถช่วยให้ต้นมะกอกที่ได้มีลักษณะที่แข็งแรง และมีใบสีเขียวมากขึ้น ซึ่งจะส่งผลไปถึงกระบวนการสังเคราะห์แสง นอกจากนี้ยังพบว่า ยอดใหม่ที่ได้มีการยืดยาว (shoot elongation) และการเพิ่มจำนวนยอด (shoot multiplication) ได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับอาหารสูตร OM จากงานของ Halloran and Adelberg (2011) ได้ทดลองใช้ a D-optimal design space ซึ่งเป็นโปรแกรมที่คล้ายคลึงกับ RSM เพื่อที่จะศึกษาผลของธาตุอาหารหลัก (macronutrients) ต่อการเจริญเติบโตของขมิ้น (*Curcuma longa* L.) ร่วมกับการปรับปริมาตรของอาหารที่ใช้ ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส และจำนวนของพืชที่เริ่มต้นเพาะเลี้ยงในอาหาร จากผลการศึกษาพบว่า การปลูกพืชให้มีความหนาแน่นน้อยหรือใช้จำนวนพืชที่เริ่มต้นเพาะเลี้ยงในอาหารน้อย และสัดส่วนของแอมโมเนียมต่อโพแทสเซียม ($\text{NH}_4^+ : \text{K}^+$) ในอัตราส่วน 1:1 ร่วมกับการลดความเข้มข้นของธาตุอาหารหลัก จะทำให้การขยายพันธุ์หรือการเพิ่มจำนวน (shoot multiplication) และอัตราการอยู่รอดภายหลังการย้ายปลูกสูงขึ้น ส่วนการศึกษาการดูดซึมธาตุอาหารภายในต้นพืช พบว่า แอมโมเนียมไนเตรทและโพแทสเซียมมีผลเล็กน้อยต่อคุณภาพของต้นพันธุ์ที่ได้ ซึ่งจากผลที่ได้สามารถสะท้อนให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างการปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของธาตุอาหารพืช (mineral modification) และการดูดซึมหรือการนำธาตุอาหารไปใช้ประโยชน์ (mineral utilization) (Halloran and Adelberg, 2011) โดยการเพิ่มขึ้นของฟอสฟอรัส แคลเซียม แมกนีเซียมและแมงกานีส (P, Ca, Mg และ Mn) มีส่วนช่วยในการเพิ่มปริมาณยอดใหม่ที่ได้นอกจากนี้ยังส่งผลต่อคุณภาพของต้นกล้าภายหลังการย้ายปลูกและการปรับสภาพต้นกล้าในโรงเรือน (acclimatization) ขณะที่ Greenway et al. (2012) ได้ทำการประเมินผลของสูตรอาหาร MS และ B5 เปรียบเทียบกับสูตรอาหารที่ได้มีการปรับสูตรของธาตุอาหารเพื่อใช้ในการพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชต่างสปีชีส์ (ข้าว ข้าวโพด ถั่วเหลือง ผัก หอม ยาสูบ องุ่น ราสพ์เบอร์รี่ และเยอบีรา) โดยได้พิจารณาผลของการปรับธาตุอาหารต่อการสร้างแคลลัส การสร้างพืชจากกลุ่มเนื้อเยื่อ (plant regeneration) การเพิ่มจำนวน (multiplication) การสร้างราก (root formation) และการสร้างสารทุติยภูมิ (secondary metabolite production) จากผลการศึกษาพบว่า

มีช่วงกว้างของการตอบสนองของการเจริญเติบโตและการพัฒนาของเนื้อเยื่อขึ้นอยู่กับชนิดพืช แต่โดยรวมผลการศึกษาสະท้อนให้เห็นถึงความสำคัญและความจำเป็นของการปรับธาตุอาหาร เพื่อการพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ในปี 2013 Reed et al. ได้ทำการศึกษา และเสนอว่า การปรับธาตุอาหารในอาหารสูตร MS ซึ่งเป็นสูตรอาหารพื้นฐานที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชโดยทั่วไป สามารถพัฒนาการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มลูกแพร์ (pears) ได้โดยใช้ RSM ในการออกแบบการทดลองและวิเคราะห์ พบว่า สูตรธาตุอาหารใน MS (MS salt formulation) ไม่ได้เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงลูกแพร์ และมีการตอบสนองที่หลากหลายของสายพันธุ์แพร์ ซึ่งการรวบรวมพันธุกรรมทั้งในด้านคุณภาพโดยรวม (overall quality) การยืดยาว (shoot elongation) และการเพิ่มจำนวนของยอด (shoot multiplication) โดยธาตุอาหารหลักที่พืชต้องการในปริมาณที่ไม่มากหรือน้อยจะถูก เรียกว่า mesos ซึ่งเป็นกลุ่มของ CaCl_2 , MgSO_4 and KH_2PO_4 ซึ่งมีผลต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโต และคุณภาพของต้นพันธุ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยการเพาะเลี้ยงต้นพันธุ์ของแพร์บนอาหารสูตรที่มีการเพิ่มความเข้มข้นของ mesos จะมีการเจริญเติบโตที่ดีที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของ NH_4NO_3 มีแนวโน้มที่จะยับยั้งการเพิ่มจำนวนของยอด นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยของ Wada et al. ในปี 2013 ที่ทำการศึกษาผลของธาตุอาหารในกลุ่ม mesos เช่นเดียวกัน ซึ่งศึกษาเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแพร์ 6 ชนิด และ 10 สายพันธุ์ พบว่า แพร์ 6 ชนิด ไม่ต้องการธาตุอาหารในกลุ่ม mesos สูงกว่าสูตรอาหารพื้นฐาน MS ได้แก่ สายพันธุ์ Capital (*Pyrus calleryana*) ที่ต้องการปริมาณ CaCl_2 และ MgSO_4 สูงกว่าความเข้มข้นที่มีในอาหารพื้นฐานสูตร MS แต่ต้องการ KH_2PO_4 ต่ำกว่าสูตรอาหาร MS นอกจากนี้ในการทำแบบจำลองการตอบสนองหรือการเจริญเติบโตของราสพ์เบอรี่ที่ถูกสร้างโดยหลัก polynomial regression analysis ที่ได้จากการใช้ RSM ส่วนการศึกษาของ Poothong and Reed (2014) ซึ่งเป็นการทดลองที่ใช้ทดสอบผลของธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับพืชทั้งหมด โดยจะแบ่งธาตุเหล่านี้ ออกเป็น 5 กลุ่มหลัก และทำการทดสอบผลของกลุ่มธาตุอาหารต่อการเจริญเติบโต และคุณภาพของต้นพันธุ์ เพื่อบ่งชี้ว่ากลุ่มของธาตุอาหารใดเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดต่อการพัฒนาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อราสพ์เบอรี่ จากการทดลองครั้งพบว่า การใช้เทคนิค RSM สามารถช่วยกำหนดหรือบ่งชี้ได้ว่า mesos เป็นกลุ่มของธาตุอาหารที่มีผลต่อการเจริญเติบโต และพัฒนาของต้นพันธุ์ราสพ์เบอรี่ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติมากที่สุด

การทดลองที่ 3 การศึกษาการเติมสารกระตุ้น (Elicitors) : Phenylalanine, Jasmonic acid และ Salicylic acid ต่อการเจริญเติบโตของโพลีภายใต้สภาพปลอดเชื้อ และการสร้างสารทุติยภูมิ

สารกระตุ้นหรือ Elicitors เป็นสารที่ใช้เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและการสร้างสารภายใต้สภาพปลอดเชื้อ ซึ่งเป็นแนวทางที่มีการศึกษาวิจัยมาอย่างต่อเนื่อง โดยในปัจจุบันพืชอาจสร้างสารขึ้นเอง หรือสภาพแวดล้อมบางอย่างที่พืชได้รับและสามารถกระตุ้นกระบวนการสรีรวิทยาของพืชได้ (ยงยุทธ โอสถสภา, 2558) สารกระตุ้นที่เป็นที่รู้จักและนิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย ได้แก่ JA และ SA ซึ่งเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช โดยที่สารทั้งสองชนิดนี้ทำหน้าที่เป็นตัวส่งสัญญาณในการแสดงออกของยีนที่ช่วยป้องกันตัวของพืช โดยสาร SA สามารถต้านเชื้อแบคทีเรีย รา และไวรัส ในขณะที่สาร JA สามารถควบคุมการสร้างโปรตีน จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า การเติมสารกระตุ้นในอาหารสังเคราะห์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชไม่มีผลต่อการส่งเสริมหรือกระตุ้นการเจริญเติบโตของโพลีอุตรดิตถ์ แต่อย่างไรก็ตามการเติมสารกระตุ้นมีผลในการชักนำการสร้างสารประกอบฟีนอลิกรวมและส่งเสริมฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยผลการศึกษาดังกล่าวมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Nitzsche et al. (2004) ซึ่งได้ทำการศึกษาการเหนี่ยวนำการผลิตสารสำคัญด้วยการเพาะเลี้ยงเซลล์ของต้นลาเวนเดอร์ (*Lavandula angustifolia*) โดยการสร้างความเครียดและการเติม JA ในอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อปริมาณสาร Caffeic acid ซึ่งผลการวิจัยพบว่าการเพาะเลี้ยงเซลล์ (เซลล์ที่ใช้มีอายุประมาณ 5 วัน) ลงบนอาหารสังเคราะห์ที่เติมสาร JA ความเข้มข้น 10 μ M เซลล์ถูกกระตุ้นให้มีการสร้างสาร Caffeic acid มากขึ้น นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยของ Miclea et al. (2020) ที่ได้ศึกษาผลของ JA และ SA ต่อการเจริญเติบโตและองค์ประกอบทางเคมีของยอดลาเวนเดอร์ในสภาพปลอดเชื้อ จากการทดลองพบว่า JA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. กระตุ้นให้พืชมีการสร้างสารเพิ่มมากขึ้น โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและคลอโรฟิลล์ เอ เป็น 22.5 mg/g FW และ 1.05 mg/g FW ตามลำดับ ในขณะที่ฤทธิ์พันธุ์ รุ่งเรือง และคณะ (2558) ได้ทำการศึกษาการเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในเซลล์แขวนลอยของถั่วเหลืองที่กระตุ้นด้วย MeJA ในสภาพปลอดเชื้อ จากผลการทดลองพบว่า การใช้สารกระตุ้น MeJA ความเข้มข้น 50 μ M (5.75 มก./ล.) เติมนลงในอาหารสังเคราะห์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ สามารถกระตุ้นให้เซลล์มีการเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงขึ้นเป็น 0.812 mg GAE/g DW และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 0.811 mg TE/g DW

จากงานวิจัยของ (Jirakiattikul et al., 2021b) ที่ได้ศึกษาผลของการเติมสาร SA ต่อการสังเคราะห์ทุติยภูมิและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของกล้วย *Musa acuminata* L. cv. 'Gros Michel' ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ จากผลการทดลองพบว่า ยอดของกล้วยที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม SA ความเข้มข้น 100 μM (11.51 มก./ล.) กระตุ้นให้พืชสังเคราะห์ประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้น โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเฉลี่ย 124.44 mg GAE/g dry extract และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ต่อมา Jirakiattikul et al. (2021a) ได้ทำการศึกษาผลของการเพิ่มประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในเหง้าของกระชายขาวหรือ *Boesenbergia rotunda* L. พบว่า การเติมสาร MeJA ความเข้มข้น 200 μM (23.03 มก./ล.) ลงในอาหารสังเคราะห์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สามารถกระตุ้นให้ยอดของกระชายขาวที่เพาะเลี้ยงมีการสังเคราะห์พินอสโตรบิน (Pinostrobin) ให้สูงขึ้นได้ โดยมีปริมาณสารพินอสโตรบินสูงถึง 17.97 mg/g extract และมีการสังเคราะห์ประกอบฟีนอลิกในปริมาณที่เพิ่มขึ้นเป็น 86.01 mg GAE /g extract รวมไปถึงสารประกอบฟลาโวนอยด์ในปริมาณ 166.60 mg quercetin equivalents/g extract นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยของ Lugato et al. (2014) ได้ศึกษาผลของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกของใบเสาวรสจากแปลงปลูกและที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า ตัวอย่างที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าที่ได้จากแปลงปลูกประมาณสองเท่า ซึ่งผลของงานวิจัยครั้งนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Jirakiattikul et al. (2021b) ที่พบว่าต้นกระชายขาวที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าสารที่พบในกระชายขาวที่ปลูกในแปลง โดยมีสารประกอบฟีนอลิกรวมคือ 35.10 mg GAE/g dry extract และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ EC50 มีค่าเท่ากับ 213.76 $\mu\text{g/mL}$ ในขณะที่ส่วนของราก โคนต้น และเหง้าใต้ดินของกระชายขาวมีสารประกอบฟีนอลิกรวมประมาณ 150 mg GAE/g dry extract และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ EC50 มีค่าประมาณ 150 $\mu\text{g/mL}$ ซึ่งสอดคล้องกับจากการศึกษาอิสระของนิลิตระดับปริญญาตรี ที่ได้ทำการศึกษาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของปทุมมาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชและปทุมมาที่ปลูกในกระถาง จากผลการทดลองพบว่า ต้นปทุมมาสายพันธุ์แม่ใจอิมเพรสที่เติบโตในสภาพปลอดเชื้อ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าตัวอย่างใบที่ได้จากต้นปทุมมาที่ปลูกกลางแจ้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 9.71 mg GAE/g DW ในขณะที่ตัวอย่างใบที่ได้จากต้นปทุมมาที่ปลูกกลางแจ้งที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 50 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงกว่า มีค่าเท่ากับ 15.88 mg GAE/g DW (พิมพ์กาย ใบยา

และ ยุกา แซ่ย่าง, 2564) ซึ่งโดยธรรมชาติแล้วการสร้างสารทุติยภูมิจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มักจะมีปริมาณน้อยกว่าต้นพืชที่ปลูกในดิน เนื่องจากข้อจำกัดของการเป็น undifferentiated cells ของเนื้อเยื่อพืชทำให้การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารทุติยภูมิถูกยับยั้ง (ศุภวรรณ บุญระเทพ, 2549) แต่อย่างไรก็ตามอาจพบว่า ในพืชบางชนิดการสร้างสารทุติยภูมิในสภาพปลอดเชื้อหรือปลอดทดลองเกิดได้มากกว่าพืชที่เจริญเติบโตในแปลง โดยจากงานวิจัยของ Thiruvengadam and Chung (2015) ที่ได้ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพของแตงกวา พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของแตงกวาที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อสูงกว่าแตงกวาที่ปลูกในแปลง โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 382.72 $\mu\text{g/g}$ DW และ 353.59 $\mu\text{g/g}$ DW ตามลำดับ และแตงกวาที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าแตงกวาในแปลง

จากการทดลองในครั้งนี้มีค่าสีใบหรือค่าความเขียวของโพลีที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ไม่เติมสารกระตุ้นมีค่าสูงที่สุดถึง 19.50 โดยค่าสีใบบ่งบอกถึงปริมาณในโตรเจนหรือคลอโรฟิลล์ในพืช ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ถึงสภาพความสมบูรณ์ของพืช เมื่อพืชได้รับธาตุอาหารที่เพียงพอและมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต พืชก็จะสร้างคลอโรฟิลล์เพื่อใช้ในการสังเคราะห์แสงและผลิตน้ำตาล ส่งผลให้พืชมีการเจริญเติบโตเพิ่มมากขึ้น (ยงยุทธ ไอสถสภา, 2549) แต่เมื่อพืชได้รับความเครียดที่เกิดจากสภาพแวดล้อมหรือการได้รับการกระตุ้นให้เกิดความเครียด (stress) เช่น การเติมสารกระตุ้น เป็นต้น จึงทำให้พืชมีการเจริญเติบโตลดลง แต่จะมีกลไกการสร้างสารทุติยภูมิเพื่อป้องกันตัวเองจากความเครียดเหล่านั้นเพื่อให้ต้นพืชอยู่ในสภาวะที่สมดุล (ยงยุทธ ไอสถสภา, 2559)

การทดลองที่ 4 การศึกษาผลของน้ำตาลต่อการเกิดเหง้าขนาดเล็ก และอัตราการรอดชีวิตของโพลีหลังย้ายปลูก

น้ำตาลเป็นสารในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตซึ่งเป็นแหล่งพลังงานแก่พืช โดยทั่วไปพืชที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติสามารถสังเคราะห์น้ำตาลได้เองด้วยกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง แต่ในกระบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ต้นพืชหรือชิ้นส่วนเนื้อเยื่อพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองหรือภาชนะที่ใช้อาหารสังเคราะห์ในการเจริญเติบโตไม่สามารถสังเคราะห์แสงแล้วสร้างน้ำตาลเองได้ ดังนั้นจึงต้องทำการเติมน้ำตาลลงไปในการสังเคราะห์เพื่อให้เป็นแหล่งพลังงานแก่พืช ตัวอย่างน้ำตาลที่สามารถใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้แก่ น้ำตาลซูโครส น้ำตาลกลูโคส หรือน้ำตาลฟรุคโตส เป็นต้น โดยอาหารสังเคราะห์ทั่วไปนิยมเติมน้ำตาลซูโครสในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช นอกจากน้ำตาลซูโครสจะเป็นแหล่งพลังงานที่

สำคัญในการเจริญเติบโตของพืชในสภาพปลอดเชื้อแล้ว ยังมีบทบาทในการช่วยส่งเสริมการสร้างเหง้าหัวของพืชหลายชนิด เนื่องจากอวัยวะสะสมอาหารของพืชมีคาร์โบไฮเดรตสะสมอยู่ เช่น มันฝรั่ง (Garner and Blake, 1989) ชมัน (Islam et al., 2004; S. Nayak and Naik, 2006) และขิง (Archana et al., 2013; Rout et al., 2001; Sharma and Singh, 1995; Tyagi et al., 2006) จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า การปรับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เพิ่มขึ้นมีผลต่อการชักนำการเกิดเหง้าหัวและขนาดเหง้า โดยผลการทดลองดังกล่าวมีความสอดคล้องกับมีงานศึกษาวิจัยของ Tharawoot (2019) ที่ทำการศึกษาเกี่ยวกับการเพิ่มจำนวนยอดและเหง้าหัวของไพลดำ (*Zingiber ottensii*) ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า สูตรอาหาร MS ที่ปรับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสเป็น 100 มก./ล. ร่วมกับการเติม BA ความเข้มข้น 26.6 μM (5.99 มก./ล.) ภายใต้การให้แสงเป็นระยะเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ให้จำนวนเหง้าหัวไพลดำที่เพิ่มขึ้น 5.90 เหง้า นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยที่ทำการศึกษาพืชที่อยู่ในวงศ์ขิงข่า (Zingiberaceae) โดยมีงานวิจัยของ Swarnathilaka et al. (2016) ที่ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการชักนำเหง้าหัวของขิง ซึ่งผลการทดลองพบว่า สูตรอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 4 มก./ล., NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. ร่วมกับการเติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 90 ก./ล. สามารถชักนำการเกิดเหง้าขิงที่เพิ่มขึ้น (Swarnathilaka et al., 2016) ต่อมา จากงานวิจัยของ Abbas et al. (2014) ที่ศึกษาเกี่ยวกับการเพิ่มจำนวนเหง้าขิง พบว่า สูตรอาหารพื้นฐาน MS ที่มีการเติมน้ำตาลซูโครสที่ปรับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสเป็น 90 มก./ล. ให้จำนวนเหง้าขิงที่เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยของ Zheng et al. (2008) ซึ่งได้ศึกษาผลของสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำเหง้าขิง โดยผลการทดลองพบว่า สูตรอาหารที่ปรับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสเป็น 80 ก./ล. ร่วมกับการเติม kinetin ความเข้มข้น 2 มก./ล. และเติม NAA ความเข้มข้น 0.8 มก./ล. ในสูตรอาหาร 1xMS micro-elements และ 2xMS macro-elements เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำการเกิดเหง้าของขิง

นอกจากการศึกษาผลของน้ำตาลซูโครสเพียงอย่างเดียวต่อการเจริญเติบโตและการสะสมอาหารในส่วนของลำต้นหรือหัวนั้น ยังมีหลายงานวิจัยที่ศึกษาผลของน้ำตาลซูโครสร่วมกับการเติมสารอื่นๆ หรือปัจจัยอื่น โดยจากงานวิจัยของ (ชลธิชา ใจมาแก้ว, 2016) ชลธิชา ใจมาแก้ว และคณะ (2559) ที่ทำการศึกษาผลของน้ำตาลซูโครส ถ่านกัมมันต์ และระยะเวลาการให้แสงต่อการสร้างเหง้าของขิงในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า ขิงที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่มีการเติม BA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. ร่วมกับการเติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นร้อยละ 8 และให้แสงเป็นระยะเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นวิธีการที่เหมาะสมต่อการชักนำเหง้าขิง นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยของ Mehaboob et al. (2019) ซึ่งทำการศึกษาผลของ

การคัดเลือกเนื้อเยื่อและการเพิ่มจำนวนเหง้าหัวของขิง พบว่า การใช้ตาข้างของขิงมาเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่มีการเติม BA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. และเติม IAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. ร่วมกับการเติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นร้อยละ 8 ภายใต้การให้แสงเป็นระยะเวลา 8 ชั่วโมงต่อวัน สามารถชักนำการเกิดเหง้าขิงได้เพิ่มขึ้น ในขณะที่งานวิจัยของ Zahid et al. (2021) ได้ทำการศึกษาผลของการเหนี่ยวนำการเกิดเหง้าหัว การเพิ่มจำนวนและการชักนำรากของขิง (*Zingiber officinale* Roscoe) var. Bentong โดยการปรับความเข้มข้นของซูโครสและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช จากผลการทดลองพบว่า การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขิงบนสูตรอาหาร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 60 ก./ล. (ร้อยละ 6) ร่วมกับการเติม zeatin ความเข้มข้น 10 μM และ NAA ความเข้มข้น 7.5 μM เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการเพิ่มจำนวนเหง้าหัวของขิงสายพันธุ์ Bentong อีกทั้งยังมีการศึกษาของ Diem (2019) ทำการศึกษาผลของ BA และน้ำตาลซูโครสต่อการเพิ่มจำนวนเหง้าหัวของว่านนางคำ (*Curcuma aromatica* Salisb.) พบว่า สูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มก./ล. หรือ 5 มก./ล. ร่วมกับการเติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 80 มก./ล. เหมาะสมที่สุดสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อว่านนางคำ แม้วาน้ำตาลซูโครสจะเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญแก่พืชที่ผลิตด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงแล้ว การเพิ่มปริมาณซูโครสที่สูงขึ้นในอาหารสังเคราะห์อาจทำให้เกิดหรือเหนี่ยวนำสภาวะ osmotic stress ที่มีผลทำให้การสร้างหัวหรือส่วนสะสมอาหารใต้ดิน เช่น microrhizomes หรือ tubers ของพืชหลายชนิดที่นำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยทั่วไปความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่ใช้ในการให้เป็นแหล่งพลังงานและรักษาสภาวะของความดันออสโมติกที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ คือ น้ำตาลซูโครสที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยพืชที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนี้จะไม่มีรูปแบบการสะสมอาหารไว้ในส่วนของลำต้นที่อยู่ในบริเวณอาหารสังเคราะห์ (Cui et al., 2010)

ข้อเสนอแนะในการทำการทดลองครั้งต่อไป

ในการทดลองครั้งนี้มีอัตราการรอดของโพลหลังจากย้ายปลูกลงในกระถาง หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ มีอัตราการรอดที่ไม่เท่ากัน อาจเนื่องมาจากจำนวนเหง้าในแต่ละสูตรอาหารไม่เท่ากัน และอาจเป็นเพราะมีการตัดรากต้นพืชก่อนย้ายปลูกที่มากจนเกินไป จึงทำให้โพลหยุดชะงักการเจริญเติบโต ซึ่งต้นโพลที่ตายจะมีอาการใบเริ่มเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง แล้วค่อย ๆ แห้งจนตายในที่สุด ซึ่งในการทดลองในเรื่องการย้ายมาอนุบาลควรจะทำการปรับสภาพแวดล้อมให้เป็นแบบเย็นชื้นก่อน แล้วค่อยปรับเป็นร้อนชื้น เนื่องจากต้นพืชอยู่ในสภาพเย็นชื้นมาก่อน จากนั้นค่อย ๆ ปรับอุณหภูมิให้สูงขึ้น จนต้นพืชมีการแตกยอดหรือใบใหม่ ค่อยทำการย้ายลงออกให้เจอกับสภาพแวดล้อมปกติ

บรรณานุกรม

- Abbas, M., Aly, U., Taha, H. and Gaber, E.–S. (2014). *In vitro* production of microrhizomes in ginger (*Zingiber officinale* Rosco). **The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, 4(2), 142.
- Acosta, I. F., Laparra, H., Romero, S. P., Schmelz, E., Hamberg, M., Mottinger, J. P. and Dellaporta, S. L. (2009). tasselseed1 is a lipooxygenase affecting jasmonic acid signaling in sex determination of maize. **Science**, 323(5911), 262–265.
- Anderson, W. C. (1980). Tissue culture propagation of red and black raspberries, *Rubus idaeus* and *R. occidentalis*. **Paper presented at the Symposium on Breeding and Machine Harvesting of Rubus** 112.
- Archana, C., Geetha, S. and Indira, B. (2013). Microrhizome and minirhizome production in three high yielding cultivars of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, 2(10), 477–484.
- Asghari, F., Hossieni, B., Hassani, A. and Shirzad, H. (2012). Effect of explants source and different hormonal combinations on direct regeneration of basil plants (*Ocimum basilicum* L.). **Australian Journal of Agricultural Engineering**, 3(1), 12–17.
- Brito, G. and Santos, C. (2009). Basal medium improvement for routine micropropagation of *Olea maderensis*: physiological comparative studies. **Canadian journal of forest research**, 39(4), 814–822.
- Chirangini, P. and Sharma, G. (2005). *In vitro* propagation and microrhizome induction in *Zingiber cassumunar* (Roxb.) an antioxidant–rich medicinal plant. **J. Food Agric. Environ**, 3(1), 139–142.
- Cui, X.–H., Murthy, H. N., Wu, C.–H. and Paek, K.–Y. (2010). Sucrose–induced osmotic stress affects biomass, metabolite, and antioxidant levels in root suspension cultures of *Hypericum perforatum* L. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, 103, 7–14.

- Diem, N. T. T. (2019). Effect of benzyl adenine and sucrose for in vitro microrhizome production in *curcuma aromatica* salisb. **Methods**, 24(2), 0C.
- Driver, J. A. and Kuniyuki, A. H. (1984). *In vitro* propagation of Paradox walnut rootstock. **HortScience**, 19(4), 507–509.
- Eng–Chong, T., Yean–Kee, L., Chin–Fei, C., Choon–Han, H., Sher–Ming, W., Li–Ping, C. T. and Karsani, S. A. (2012). *Boesenbergia rotunda*: from ethnomedicine to drug discovery. **Evidence–Based Complementary and Alternative Medicine**, 2012.
- Garner, N. and Blake, J. (1989). The induction and development of potato microtubers *in vitro* on media free of growth regulating substances. **Annals of Botany**, 63(6), 663–674.
- Giwanon, R., Thubthimthed, S., Rerkam, U. and Sunthornatanasart, T. (2000). Antimicrobial activity of terpinen–4–ol and sabinene. **Thai J Pharm Sci**, 24(27), 8–16.
- Greenway, M. B., Phillips, I. C., Lloyd, M. N., Hubstenberger, J. F. and Phillips, G. C. (2012). A nutrient medium for diverse applications and tissue growth of plant species *in vitro*. **In Vitro Cellular & Developmental Biology–Plant**, 48.
- Halloran, S. M. and Adelberg, J. (2011). A macronutrient optimization platform for micropropagation and acclimatization: using turmeric (*Curcuma longa* L.) as a model plant. **In Vitro Cellular & Developmental Biology–Plant**, 47, 257–273.
- Hamirah, M., Sani, H., Boyce, P. and Sim, S. (2010). Micropropagation of red ginger (*Zingiber montanum* Koenig), a medicinal plant. **Paper presented at the Proceedings Asia Pacific Conference on Plant Tissue and Agribiotechnology (APaCPA)**.
- Isah, T., Umar, S., Mujib, A., Sharma, M. P., Rajasekharan, P., Zafar, N. and Fruk, A. (2018). Secondary metabolism of pharmaceuticals in the plant in vitro cultures: strategies, approaches, and limitations to achieving higher yield. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, 132, 239–265.
- Islam, M., Kloppstech, K. and Jacobsen, H. (2004). Efficient procedure for *in vitro* microrhizome induction in *Curcuma longa* L.(Zingiberaceae)–a medicinal plant of tropical Asia. **Plant Tissue Cult**, 14(2), 123–134.

- Jafari, N., Othman, R. Y. and Khalid, N. (2011). Effect of benzylaminopurine (BAP) pulsing on *in vitro* shoot multiplication of *Musa acuminata* (banana) cv. Berangan. **African Journal of Biotechnology**, 10(13), 2446–2450.
- Jeenapongsa, R., Yoovathaworn, K., Sriwatanakul, K. M., Pongprayoon, U. and Sriwatanakul, K. (2003). Anti-inflammatory activity of (E)-1-(3, 4-dimethoxyphenyl) butadiene from *Zingiber cassumunar* Roxb. **Journal of ethnopharmacology**, 87(2–3), 143–148.
- Jirakiattikul, Y., Rithichai, P., Prachai, R. and Itharat, A. (2021a). Elicitation enhancement of bioactive compound accumulation and antioxidant activity in shoot cultures of *Boesenbergia rotunda* L. **Agriculture and Natural Resources**, 55(3), 456–463.
- Jirakiattikul, Y., Rithichai, P., Songsoem, K. and Itharat, A. (2021b). Elicitation of salicylic acid on secondary metabolite production and antioxidant activity of *in vitro* *Musa acuminata* L. cv. 'Gros Michel' Shoots. **Current Applied Science and Technology**, 569–578.
- Keng, C. L. and Hing, T. W. (2004). *In vitro* propagation of Zingiberaceae species with medicinal properties. **Journal of Plant Biotechnology**, 6(3), 181–188.
- Khairudin, N. A., Haid, Z. and Hakiman, M. (2020). *In Vitro* Shoot and Root Induction of *Kaempferia parviflora* (Zingiberaceae) Rhizome Using 6-Benzylaminopurine. **Journal of Tropical Plant Physiology**, 12(2), 10–10.
- Khumaida, N., Ardie, S. W., Setiadi, A. and Artiningsih, L. N. (2019). *In vitro* multiplication and acclimatization of black galangale (*Curcuma Aeruginosa* Roxb.). **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, 9(4), 110–116.
- Koontongkaew, S., Poachanukoon, O., Sireeratawong, S., Dechatiwongse Na Ayudhya, T., Khonsung, P., Jaijoy, K. and Chanchai, M. (2014). Safety evaluation of *Zingiber cassumunar* Roxb. rhizome extract: acute and chronic toxicity studies in rats. **International Scholarly Research Notices**, 2014, 1–14.
- Labrooy, C., Abdullah, T. L. and Stanslas, J. (2020). Influence of N6-benzyladenine and sucrose on *in vitro* direct regeneration and microrhizome induction of *Kaempferia parviflora* Wall. ex Baker, an important ethnomedicinal herb of Asia. **Tropical life sciences research**, 31(1), 123.

- Li, M.-X., Bai, Xue., Ma, Yong-Peng., Zhang, Hong-Xia., Nama, Nousa., Pei, Sheng-Ji. and Du, Zhi-Zhi. (2019). Cosmetic potentials of extracts and compounds from *Zingiber cassumunar* Roxb. rhizome. *Industrial Crops and Products*, 141, 111764.
- Lloyd, G. and McCown, B.H. (1980). Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **Paper presented at the Combined Proceedings, International Plant Propagators' Society 30**, 421-427.
- Lo-Apirukkul, S., Jenjittikul, T., Saralamp, P. and Prathantururug, S. (2012). Micropropagation of a Thai medicinal plant for women's health, *Curcuma comosa* Roxb., via shoot and microrhizome inductions. **Journal of natural medicines**, 66, 265-270.
- Lugato, D., Simao, M. J., Garcia, R., Mansur, E. and Pacheco, G. (2014). Determination of antioxidant activity and phenolic content of extracts from *in vivo* plants and *in vitro* materials of *Passiflora alata* Curtis. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, 118, 339-346.
- Mandeh, M., Omid, M. and Rahaie, M. (2012). In vitro influences of TiO₂ nanoparticles on barley (*Hordeum vulgare* L.) tissue culture. **Biological trace element research**, 150, 376-380.
- Masuda, T. and Jitoe, A. (1994). Antioxidative and antiinflammatory compounds from tropical gingers: isolation, structure determination, and activities of cassumunins A, B and C new complex curcuminoids from *Zingiber cassumunar*. **Journal of Agricultural and food Chemistry**, 42(9), 1850-1856.
- Mehaboob, V. M., Faizal, K., Shamsudheen, K.M., Raja, P., Thiagu, G. and Shajahan, A. . (2019). Direct organogenesis and microrhizome production in ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, 8, 2880-2883.
- Miclea, I., Suhani, A., Zahan, M. and Bunea, A. (2020). Effect of jasmonic acid and salicylic acid on growth and biochemical composition of *in-vitro*-propagated *Lavandula angustifolia* Mill. **Agronomy**, 10(11), 1722.

- Mohanty, S., Panda, M. K., Sahoo, S. and Nayak, S. (2011). Micropropagation of *Zingiber rubens* and assessment of genetic stability through RAPD and ISSR markers. **Biologia plantarum**, 55, 16–20.
- Montgomery, D. C. (2017). **Design and analysis of experiments (19th ed.)**. Hoboken: John Wiley and Sons Inc.
- Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, 15, 473–497.
- Nas, M. N. and Read, P. E. . (2004). A hypothesis for the development of a defined tissue culture medium of higher plants and micropropagation of hazelnuts. **Scientia Horticulturae**, 101(1–2).
- Nayak, S. (2000). *In vitro* multiplication and microrhizome induction in *Curcuma aromatica* Salisb. **Plant Growth Regulation**, 32, 41–47.
- Nayak, S. and Naik, P. K. (2006). Factors effecting *in vitro* microrhizome formation and growth in *Curcuma longa* L. and improved field performance of micropropagated plants. **Science Asia**, 32(1), 31–37.
- Niedz, R. P., Hyndman, S. E., Evens, T. J. and Weathersbee, A. A. . (2014). Mineral nutrition and *in vitro* growth of *Gerbera hybrida* (Asteraceae). **In Vitro Cellular and Developmental Biology–Plant**, 50(4), 458–470.
- Niedz, R. P. and Evens., T. J. (2007). Regulating plant tissue growth by mineral nutrition. **In Vitro Cell. Dev. Biol. – Plant**, 43, 370–381.
- Niedz, R. P. and Evens., T. J. . (2008). The effects of nitrogen and potassium nutrition on the growth of nonembryogenic and embryogenic tissue of sweet orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). **BMC Plant Biol**, 8, 126.
- Nitzsche, A., Tokalov, S.V., Gutzeit, H.O. and Ludwig–Müller, J. (2004). Chemical and biological characterization of cinnamic acid derivatives from cell cultures of lavender (*Lavandula officinalis*) induced by stress and jasmonic acid. **Journal of Agricultural and food Chemistry**, 52(10), 2915–2923.

- Poonsapaya, P. and. Kraisintu, K. (1993). MICROPROPAGATION OF *ZINGIBER CASSUMUNAR* ROXB. In **International Symposium on Medicinal and Aromatic Plants**, 344, 557–564.
- Poothong, S. and Reed, B. M. (2014). Modeling the effects of mineral nutrition for improving growth and development of micropropagated red raspberries. **Scientia Horticulturae**, 165, 132–141.
- Preethi, T. P., Shinija, K., Rakhi, K. P., Sabu, M., Madhusoodanan, P. V. and Benjamin, S. (2010). Micropropagation and chemical profiling of *Curcuma aromatica*. **Journal of Tropical Medicinal Plants**, 11(1), 65–69.
- Rajkumari S. and Sanatombi, K. (2017). Biotechnology of *Zingiber montanum* (Koenig) Link ex A. Dietr.: a review. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, 4, 1–4.
- Rajkumari, S. and. Sanatombi, K. (2020). Secondary metabolites content and essential oil composition of in vitro cultures of *Zingiber montanum* (Koenig) Link ex A. Dietr. **Biotechnology Letters**, 42(7), 1237–1245.
- Reed, B. M., Wada, S., DeNoma, J. and Niedz, R. P. (2013). Improving *in vitro* mineral nutrition for diverse pear germplasm. **In Vitro Cell. Dev. Biol. – Plant** 49, 343–355.
- Ren, W., Chang, H., Li, L. and Teng, Y. (2020). Effect of graphene oxide on growth of wheat seedlings: Insights from oxidative stress and physiological flux. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, 105, 139–145.
- Rout, G. R., Palai, S. K., Samantaray, S. and Das, P. (2001). Effect of growth regulator and culture conditions on shoot multiplication and rhizome formation in ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) *in vitro*. **In Vitro Cellular & Developmental Biology–Plant**, 37, 814–819.
- Saleem, M., Fariduddin, Q. and Janda, T. (2021). Multifaceted Role of Salicylic Acid in Combating Cold Stress in Plants: A Review. **J Plant Growth Regul**, 40, 464–485.
- Sharma, T. R. and Singh, B. M. (1995). *In vitro* microrhizome production in *Zingiber officinale* Rosc. **Plant cell reports**, 15(3–4), 274–277.

- Shirazi, O. U., Khattak, M. M. A. K., Nor Shukri, A. M. and Nasyriq, M. N. A. . (2014). Determination of total phenolic, flavonoid content and free radical scavenging activities of common herbs and spices. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, 3(3), 104–108.
- Sitthisradoo, P., Wongkaew, K. and Kham-ai, M. (2022). Study of Plai using in thai traditional medical formulas for treatment of musculoskeletal disorder. **Journal of MCU Nakhondhat**, 9(5), 462–475.
- Sridhar, K. and Chaeles, A. L. . (2019). *In vitro* antioxidant activity of Kyoho grape extracts in DPPH and ABTS assays: Estimation methods for EC50 using advanced statistical program. **Food Chemistry**, 257, 41–49.
- Sukarnih, T., Ruidiyana, Y., Hanifah, N. F. and Sa'adah, N. (2021). Micropropagation of red ginger (*Zingiber officinale* Rosc. Var. rubrum) using several types of cytokinins. . **Journal of Physics: Conference Series**, 1751(1), 012051.
- Swarnathilaka, D. B. R., Kottearachchi, S. and Weerakkody, J. S. K. (2016). **In-vitro** multiplication of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) cultivars local, Chinese and Rangun. **Paper presented at the In: Proceedings of 1st International Conference on Bioscience and Biotechnology**, 15–20. Colombo: Sri Lanka
- Tharawoot, T. (2019). Effect of 6-Benzyladenine and culture conditions on shoot multiplication and microrhizome induction in *Zingiber ottensii* Valet. *in vitro*. **Thai Journal of Botany**, 11, 67–78.
- Thiruvengadam, M. and Chung, I. M. . (2015). Phenolic compound production and biological activities from *in vitro* regenerated plants of gherkin (*Cucumis anguria* L.). **Electronic Journal of Biotechnology**, 18(4): 295–301.
- Tyagi, R. K., Agrawal, A. and Yusuf, A. (2006). Conservation of Zingiber germplasm through *in vitro* rhizome formation. . **Scientia Horticulturae**, 108(2), 210–219.
- Ueda, Y., Apiphuwasukcharoen, N., Tsutsumi, S., Matsuda, Y., Areekul, V. and Yasuda, S. (2019). Optimization of hot-water extraction of dried yacon herbal tea leaves: enhanced antioxidant activities and total phenolic content by response surface methodology. **Food Science and Technology Research**, 25(1),131–139.

- Wada, S., Niedz, R. P., DeNoma, J. and Reed, B. M. . (2013). Mesos components (CaCl₂, MgSO₄, KH₂PO₄) are critical for improving pear micropropagation. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 49, 356–365.
- Yabuuchi, E., Kosako, Y., Yano, I., Hotta, H. and Nishiuchi, Y. (1995). Transfer of two Burkholderia and an Alcaligenes species to Ralstonia genus nov.: proposal of *Ralstonia pickettii* (Ralston, Palleroni and Douderoff, 1973) comb. nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) comb. nov. and *Ralstonia eutropha* (Davis, 1969) comb. nov. *Microbiology and Immunology*, 39, 897–904.
- Zahid, N. A., Jaafar, H. Z. and Hakimian, M. . (2021). Alterations in microrhizome induction, shoot multiplication and rooting of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) var. Bentong with regards to sucrose and plant growth regulators application. *Agronomy*, 11(2), 320.
- Zhang, W., Swarup, R., Bennett, M., Schaller, G. E. and Kieber, J. J. (2013). Cytokinin induces cell division in the quiescent center of the Arabidopsis root apical meristem. . *Current Biology*, 23(20), 1979–1989.
- Zheng, Y., Liu, Y., Ma, M. and Xu, K. (2008). Increasing *in vitro* microrhizome production of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Acta physiologiae plantarum*, 30, 513–519.
- Zulkhairi, A. M., Aspollah, S. M., Lian, E. and Bustamam, A. A. . (2017). Phytochemicals and cytotoxic studies of *Zingiber cassumunar* Roxb. *J Trop Agric and Fd Sc*, 45, 187–197.
- กมลทิพย์ ไหลไผ่ทอง, สมปอง เตชะโต และ ทศนีย์ เนียมขาว. (2561). การพัฒนาเป็นต้นพืชใหม่จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดของกระชายดำในหลอดทดลอง. *วารสารสงขลานครินทร์*, 5(1), 13–18.
- กรมวิชาการเกษตร. (2563). การสำรวจระบบการผลิตพืชสมุนไพรและเครื่องเทศเชิงการค้าภาคเหนือ. Retrieved from สืบค้นจาก www.doa.go.th/hort/wp-content/uploads/2020/12/การสำรวจระบบการผลิตพืชสมุนไพรและเครื่องเทศเชิงการค้าภาคเหนือ.pdf
- กรมส่งเสริมการเกษตร. (2566). แหล่งผลิตโพลีที่สำคัญของไทย ปี 2565. Retrieved from สืบค้นจาก <http://www.agriman.doae.go.th/home/news/2566/33phlai.pdf>

- กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. (2546). **ประมวลผลงานวิจัยด้านพืชวิทยาของสถาบันวิจัยสมุนไพร เล่ม 1**. โรงพิมพ์การศาสนา: กรุงเทพฯ.
- จิราภรณ์ ปาลี, สมบูรณ์ คำเตจา และ จุฬาลักษณ์ ลาเกิด. (2563). การใช้ประโยชน์พืชวงศ์ขิงตามภูมิปัญญาท้องถิ่นอำเภอเชียงแสนจังหวัดเชียงราย และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการอนุรักษ์. **วารสารวิจัยรามคำแหง (วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี)**, 23(1), 36-47.
- จริงแท้ ศิริพานิช. (2549). **ชีววิทยาหลังการเก็บเกี่ยวและการวางของพืช**. ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.
- ชลธิชา ใจมาแก้ว, ศิวาพร ธรรมดี และ จามจุรี โสติดิกุล. (2559). ผลของน้ำตาลซูโครสส่วนเกินที่ม้วนและระยะเวลาการให้แสงต่อการสร้างเหง้าของขิงในสภาพปลอดเชื้อ. **วารสารเกษตร**, 32(1), 9-17.
- ธราธร ทิระฐิติ, อรุณช สีสภาพ, ยินดี ชาญวิวัฒนา และ ลิขิต มณีสินธุ์. (2559). **คู่มือส่งเสริมการเรียนรู้ด้านพืช “การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ไม้ดอกไม้ประดับ”**. Retrieved from สืบค้นจาก <https://waa.inter.nstda.or.th/stks/pub/2020/20200604-plant-tissue-culture.pdf>
- นาโนเทคโนโลยีชีวภาพกับการเกษตรไทย. (2549). **นาโนเทคโนโลยีชีวภาพกับการเกษตรไทย**. Retrieved from สืบค้นจาก <http://bio510.blogspot.com/2006/01/bionanotechnology-21-3-21.html>
- ประเวท เกษกัน, สุภาภรณ์ ดิลาเลิศเดชกุล และ ฐาปณีย์ หงส์รัตนาวรกิจ. (2556). **ขมิ้นชันสมุนไพรสำหรับนักกีฬาและคนทั่วไป**. Retrieved from สืบค้นจาก <https://li01.tcithaijo.org/index.php/SRIMEDJ/article/download/13345/12002>
- ปริญญา สุคนธ์รัตน์, ทศนี ขาวเนียม และ สมปอง เตชะโต. (2559). การขยายพันธุ์ขมิ้นชันโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากหน่ออกนอกหลอดทดลอง. **วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์**, 3(2), 1-5.
- พัชรพร ทองมะโรง และภาเกล้า ภูมิใหญ่. (2560). ปริมาณแคปไซซินและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสมุนไพรสด. **รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการระดับชาติ สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร ครั้งที่ 4**, หน้า 931 - 936. กำแพงเพชร: มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร.

- พิมพ์กาย ไบยา และ ยุกพา แซ่ย่าง. (2564). **ผลของกรดจัสโมนิกและซาลิไซลิกต่อการเจริญเติบโต และการสร้างสารฟีนอลิกของปทุมมาที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ.**
พะเยา: มหาวิทยาลัยพะเยา. 79.
- รังสิมา วิเศษคร และ วัฒนา พัฒนากุล. (2555). อิทธิพลของกรดซาลิไซลิกต่อการเจริญเติบโต และเมแท-บอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตของข้าวโพดข้าวเหนียวในสภาวะขาดน้ำ. ใน: **การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาระดับชาติ ครั้งที่ 23**, 517-527.
ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- รัชนีวรรณ จิระพงศ์พัฒนา, เขาวพา จิระเกียรติกุล, ภาณุมาศ ฤทธิไชย, ศรีโสภา เรืองหนู และ อรุณพร อธิรัตน์. (2560). ผลของ Jasmonic acid และ Yeast extract ต่อปริมาณสารทุติยภูมิของยอดหัวข้าวเย็น (*Dioscorea birmanica* Prain & Burkill) ในสภาพปลอดเชื้อ.
วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 25(3), 485-496.
- รัตนา ขามฤทธิ์ และ จิตรกร ปรีแมน. (2562). การพอกฆ่าเชื้อที่ผิวและการชักนำให้เกิดต้นจากไรโซมของไพลในหลอดทดลอง. **แก่นเกษตร**, 47(1), 1393-1398.
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์. (ม.ป.ป.). **สารประกอบฟีนอล**. Retrieved from สืบค้นจาก <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2585/phenolic-compound>
- แมนมนัส ศรีแก้ว และ สายันต์ แสงสุวรรณ. (2563). วัสดุหัตถ์จรรยากรรม: กลยุทธ์การสังเคราะห์สมบัติการพัฒนาการฟิสชันเอกซ์คัลชันและการประยุกต์ใช้.
วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 22(2): 39-49.
- ยงยุทธ ไอสถสภา. (2549). ธาตุอาหารพืช. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 424 หน้า.
- ยงยุทธ ไอสถสภา. (2558). บทบาทของอีลิคิเตอร์ต้านสรีระของพืช. **วารสารดินและปุ๋ย**, 37(1-4), 6-29.
- ยงยุทธ ไอสถสภา. (2559). ความเครียดของพืชและการบรรเทาความเครียด.
วารสารดินและปุ๋ย, 38(1-4), 47-78.
- วิสสุตา ประเสริฐพรรคศักดิ์ และ ปิยะมาศ ศรีรัตน์. (2558). การขยายพันธุ์ขมิ้นชันในสภาพปลอดเชื้อโดยระบบการเพาะเลี้ยงที่ใช้อาหารกึ่งแข็งและอาหารเหลว.
วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 46(3), 717-720.
- สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล. (2560). **องค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. Retrieved from สืบค้นจาก <http://www.lartc.rmutl.ac.th/ptclab/Tissue%20Culture/media.html>

สมชาย สุคนธ์สิงห์, โอฟาร์ พิทักษ์, ภาวนา อัศวะประภา, ทวีพงศ์ สุวรรณโร,

เศรษฐพงศ์ เลขาวัฒนะ และ อภิชาติ สุวรรณ. (2543). **การปลูกปทุมมาและกระเจียว.**

Retrieved from สืบค้นจาก <http://eto.ku.ac.th/neweto/ebook/plant/flower/zinger.pdf>

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติกระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2553).

การปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีสำหรับไม้ดอกกลุ่มปทุมมาและกระเจียว. Retrieved from สืบค้นจาก

https://www.acfs.go.th/files/files/commoditystandard/20190608151819_81508_5.pdf

สิริัญญา ทายะ, นิชกานต์ หวังชัย และ รวีวรรณ วงศ์ภูมิชัย. (2564). ตักยภาพเคมีป้องกันมะเร็งของผลมะขามป้อม. **วารสารพิษวิทยาไทย**, 36(1), 33–53.

ศุภวรรณ บุญระเทพ. (2549). การผลิตสารทุติยภูมิโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชและเทคโนโลยีชีวภาพ. **วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์**, 20(2), 185–195.

ศศิธร วสุวัตติ. (2527). การศึกษาผลทางเภสัชวิทยาของน้ำมันไพล *Zingiber cassumunar* Roxb.

ใน: การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ครั้งที่ 10, หน้า 218–219.

เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ศิริชัย กัลยาณรัตน์. (2548). ผลของกรดซาลิไซลิกต่อคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้. **ว.เทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว**, 4(2), 2–5.

อรุณี ม่วงแก้วงาม. (2559). **รายงานวิจัยการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตต้นพันธุ์ดาหลาด้วย**

วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. ยะลา: คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา.

ฤทธิพันธ์ รุ่งเรือง, อรพิน เกิดชูชื่น, ณีฎฐา เลหากุลจิตต์ และ แพรงก์ มาทา. (2558).

การเพิ่มปริมาณฟีนอลิกและความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในเซลล์แขวนลอยถั่วเหลืองที่กระตุ้นด้วยเมทิลลิจัสโมเนท. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร**, 46(3), 81–84.

ภาคผนวก

ตาราง 10 สารละลายเข้มข้นของธาตุอาหารสูตร MS

ชื่อสารละลายเข้มข้น (Stock solution)	สารเคมีที่ใช้ (Compounds)	ปริมาณสารต่อลิตร (AMT/Liter)	ปริมาตรที่ใช้ต่อ อาหาร 1 ลิตร
Stock A	NH_4NO_3	82.5 g	20 ml
Stock B	KNO_3	95.0 g	20 ml
Stock C	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	44.0 g	10 ml
Stock D	KH_2PO_4	17.0 g	10 ml
Stock E	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	37.0 g	10 ml
Stock F	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	1.66 g	10 ml
	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.0025 g	
	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.860 g	
Stock G	KI	0.083 g	10 ml
	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.0025 g	
	H_3BO_3	0.620 g	
	$\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.025 g	
Stock H	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2.78 g	10 ml
	$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	3.724 g	
L&S Vitamins (Freeze)	Thiamine HCL	40 mg	10 ml
	Glycine	200 mg	
	Myo-inositol	10 g	
	Nicotinic acid	50 mg	
	Pyridoxine HCL	50 mg	

ตาราง 11 แสดงการวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) ของการทดลองที่ 1 การศึกษาผลของไซโตโคอินและนาโนซีทต่อการเจริญเติบโตของโพล

		Sum of		Mean		
		Squares	df	Square	F	Sig.
จำนวนยอดใหม่	Between Groups	62.971	18	3.498	3.751	0.000
	Within Groups	141.778	152	0.933		
	Total	204.749	170			
ความสูงต้นใหม่	Between Groups	89.696	18	4.983	3.437	0.000
	Within Groups	220.353	152	1.450		
	Total	310.049	170			
จำนวนใบ	Between Groups	83.836	18	4.658	2.528	0.001
	Within Groups	280.000	152	1.842		
	Total	363.836	170			
ค่าสีใบ	Between Groups	1688.227	18	93.790	1.938	0.017
	Within Groups	7357.262	152	48.403		
	Total	9045.490	170			
ความกว้างใบ	Between Groups	4.190	18	0.233	1.958	0.015
	Within Groups	18.073	152	0.119		
	Total	22.263	170			
ความยาวใบ	Between Groups	94.838	18	5.269	3.032	0.000
	Within Groups	264.107	152	1.738		
	Total	358.944	170			
ความยาวราก	Between Groups	147.631	18	8.202	4.541	0.000
	Within Groups	274.526	152	1.806		
	Total	422.157	170			
จำนวนราก	Between Groups	531.111	18	29.506	7.747	0.000
	Within Groups	578.889	152	3.808		
	Total	1110.000	170			

ตาราง 12 แสดงการวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) การทดลองที่ 2 การศึกษาการปรับความเข้มข้นของธาตุอาหารรวมกับการเติม BAP ต่อการเจริญเติบโตของไหล

Response	1	number of new shoots				
ANOVA for Response Surface Linear model						
Analysis of variance table [Partial sum of squares – Type III]						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	0.11	4	0.027	0.21	0.9274	not significant
A–Nitrogen	0.057	1	0.057	0.45	0.5109	
B–Mesos	1.84E–04	1	1.84E–04	1.45E–03	0.9701	
C–Micro	0.015	1	0.015	0.11	0.739	
D–BA	0.027	1	0.027	0.21	0.6515	
Residual	2.16	17	0.13			
Lack of Fit	0.81	14	0.058	0.13	0.9973	not significant
Pure Error	1.35	3	0.45			
Cor Total	2.26	21				

ตาราง 12 ต่อ

Response	2	The average height of new shoots				
ANOVA for Response Surface Quadratic model						
Analysis of variance table [Partial sum of squares – Type III]						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	15.03	14	1.07	3.31	0.0587	not significant
A–Nitrogen	0.73	1	0.73	2.25	0.1769	
B–Mesos	1.25	1	1.25	3.85	0.0907	
C–Micro	0.71	1	0.71	2.2	0.1816	
D–BA	6.50E–03	1	6.50E–03	0.02	0.8915	
AB	6.22E–03	1	6.22E–03	0.019	0.8938	
AC	0.5	1	0.5	1.55	0.2532	
AD	0.032	1	0.032	0.098	0.7634	
BC	3.18	1	3.18	9.8	0.0166	
BD	1.26	1	1.26	3.89	0.0893	
CD	6.54	1	6.54	20.17	0.0028	
A ²	0.077	1	0.077	0.24	0.6407	
B ²	1.54	1	1.54	4.74	0.0659	
C ²	0.17	1	0.17	0.53	0.4905	
D ²	2.81	1	2.81	8.65	0.0217	
Residual	2.27	7	0.32			
Lack of Fit	1.19	4	0.3	0.82	0.5882	not significant
Pure Error	1.08	3	0.36			
Cor Total	17.3	21				

ตาราง 12 ต่อ

Response	3	The average height of the shoots				
ANOVA for Response Surface Linear model						
Analysis of variance table [Partial sum of squares – Type III]						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	1.55	4	0.39	0.2	0.9335	not significant
A–Nitrogen	0.59	1	0.59	0.31	0.5858	
B–Mesos	0.18	1	0.18	0.092	0.7649	
C–Micro	0.024	1	0.024	0.013	0.9115	
D–BA	0.57	1	0.57	0.3	0.5932	
Residual	32.61	17	1.92			
Lack of Fit	28.56	14	2.04	1.51	0.411	not significant
Pure Error	4.05	3	1.35			
Cor Total	34.17	21				



ตาราง 12 ต่อ

Response	4	Rhizome size				
ANOVA for Response Surface Linear model						
Analysis of variance table [Partial sum of squares – Type III]						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	0.67	4	0.17	1.3	0.3098	not significant
A-Nitrogen	0.13	1	0.13	1	0.3318	
B-Mesos	0.57	1	0.57	4.43	0.0506	
C-Micro	5.73E-04	1	5.73E-04	4.46E-03	0.9475	
D-BA	7.10E-04	1	7.10E-04	5.53E-03	0.9416	
Residual	2.18	17	0.13			
Lack of Fit	1.97	14	0.14	1.97	0.3168	not significant
Pure Error	0.21	3	0.071			
Cor Total	2.85	21				



ตาราง 12 ต่อ

Response	5	root length				
ANOVA for Response Surface Linear model						
Analysis of variance table [Partial sum of squares – Type III]						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	12.39	4	3.1	0.77	0.5588	not significant
A-Nitrogen	5.56	1	5.56	1.38	0.2555	
B-Mesos	0.59	1	0.59	0.15	0.7051	
C-Micro	5.11	1	5.11	1.27	0.2751	
D-BA	2.1	1	2.1	0.52	0.4799	
Residual	68.28	17	4.02			
Lack of Fit	60.91	14	4.35	1.77	0.3531	not significant
Pure Error	7.38	3	2.46			
Cor Total	80.67	21				



ตาราง 12 ต่อ

Response	6	number of root				
ANOVA for Response Surface Linear model						
Analysis of variance table [Partial sum of squares – Type III]						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	4.74	4	1.18	0.53	0.7121	not significant
A-Nitrogen	0.59	1	0.59	0.27	0.6131	
B-Mesos	0.11	1	0.11	0.05	0.8257	
C-Micro	0.12	1	0.12	0.053	0.8205	
D-BA	3.47	1	3.47	1.57	0.2274	
Residual	37.63	17	2.21			
Lack of Fit	33.55	14	2.4	1.76	0.3548	not significant
Pure Error	4.08	3	1.36			
Cor Total	42.37	21				



ตาราง 13 แสดงการวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) ของการทดลอง
ที่ 3 การศึกษาผลของการเติมสารกระตุ้น (Elicitors: Phenylalanine,
Jasmonic acid และ Salicylic acid) ต่อการเจริญเติบโตของโพลภายใต้สภาพ
ปลอดเชื้อ และการสร้างสารทุติยภูมิ

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ความสูงของ ต้นแม่	Between Groups	87.523	18	4.862	3.392	0.000
	Within Groups	136.188	95	1.434		
	Total	223.711	113			
ความสูงของ ต้นใหม่	Between Groups	34.388	18	1.910	3.547	0.000
	Within Groups	51.162	95	0.539		
	Total	85.549	113			
จำนวนยอด ใหม่	Between Groups	10.404	18	0.578	4.452	0.000
	Within Groups	12.333	95	0.130		
	Total	22.737	113			
ค่าสีใบ	Between Groups	3422.242	18	190.125	5.040	0.000
	Within Groups	3583.895	95	37.725		
	Total	7006.137	113			
จำนวนใบ	Between Groups	92.754	18	5.153	6.044	0.000
	Within Groups	81.000	95	0.853		
	Total	173.754	113			

ตาราง 14 แสดงการวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) ของสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดโพลีทั้งหมด 5 ชุดการทดลอง เทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.420	4	0.105	5.604	0.002
Within Groups	0.469	25	0.019		
Total	0.889	29			

ตาราง 15 แสดงการวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) ของการทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดโพลีใช้ความเข้มข้นและชนิดของตัวทำละลายแตกต่างกัน เทียบกับกราฟมาตรฐานโทรลิกซ์

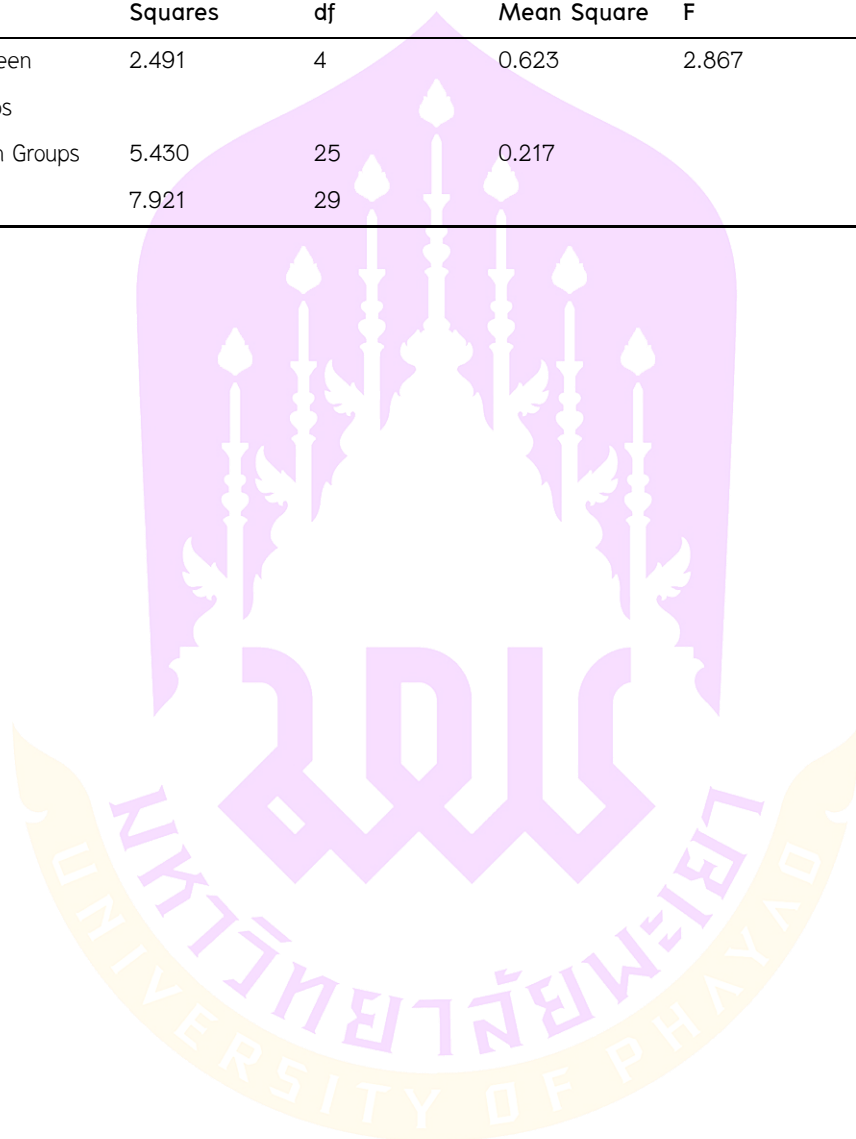
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.038	4	0.010	1.141	0.360
Within Groups	0.208	25	0.008		
Total	0.246	29			

ตาราง 16 แสดงการวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) ของการทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของสารสกัดโพลีใช้ความเข้มข้นและชนิดของตัวทำละลายแตกต่างกัน เทียบกับกราฟมาตรฐานโทรลิกซ์

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.455	4	0.114	6.396	0.001
Within Groups	0.444	25	0.018		
Total	0.899	29			

ตาราง 17 แสดงการวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) ของการทดสอบ
 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดโพลีใช้ความเข้มข้นและ
 ชนิดของตัวทำละลายแตกต่างกัน เทียบกับกราฟมาตรฐานโทรลลิกซ์

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.491	4	0.623	2.867	0.044
Within Groups	5.430	25	0.217		
Total	7.921	29			



ตาราง 18 แสดงการวิเคราะห์ผลหาค่าความแปรปรวนทางสถิติของการทดลองที่ 3 การศึกษาผลของการเติมสารกระตุ้น (Elicitors: Phenylalanine, Jasmonic acid และ Salicylic acid) ต่อการเจริญเติบโตของโพลภายใต้สภาพปลอดเชื้อ และการสร้างสารทุติยภูมิ ที่ทำการคัดเลือกสูตรอาหารที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 3.1

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ความสูงของต้นแม่	Between Groups	100.442	4	25.111	8.616	0.000
	Within Groups	276.875	95	2.914		
	Total	377.318	99			
ความสูงของต้นใหม่	Between Groups	405.045	4	101.261	34.157	0.000
	Within Groups	281.635	95	2.965		
	Total	686.680	99			
จำนวนยอดใหม่ต่อต้น	Between Groups	8.936	4	2.234	11.233	0.000
	Within Groups	18.893	95	0.199		
	Total	27.829	99			
ค่าสีเขียว	Between Groups	2910.537	4	727.634	16.675	0.000
	Within Groups	4145.389	95	43.636		
	Total	7055.926	99			
จำนวนใบต่อต้น	Between Groups	133.347	4	33.337	16.085	0.000
	Within Groups	196.891	95	2.073		
	Total	330.238	99			
อัตราการเกิดราก	Between Groups	111923.961	4	27980.990	49.540	0.000
	Within Groups	53657.827	95	564.819		
	Total	165581.787	99			
น้ำหนักสด	Between Groups	162.225	4	40.556	50.232	0.000
	Within Groups	76.701	95	0.807		
	Total	238.926	99			
น้ำหนักแห้ง	Between Groups	0.523	4	0.131	33.815	0.000
	Within Groups	0.367	95	0.004		
	Total	0.890	99			

ตาราง 19 แสดงการวิเคราะห์ผลหาค่าความแปรปรวนทางสถิติของการทดลองที่ 4 การศึกษาผลของน้ำตาลต่อการเกิดเหง้าขนาดเล็ก และอัตราการรอดชีวิตของไหลหลังย้ายปลูก

		Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
จำนวนยอดใหม่	Between Groups	5.200	2	2.600	1.138	0.330
	Within Groups	96.000	42	2.286		
	Total	101.200	44			
ความสูงต้นแม่	Between Groups	142.080	2	71.040	6.152	0.005
	Within Groups	484.959	42	11.547		
	Total	627.039	44			
ความสูงต้นใหม่	Between Groups	349.463	2	174.731	18.663	0.000
	Within Groups	393.225	42	9.362		
	Total	742.688	44			
ขนาดเหง้าหัว	Between Groups	146.242	2	73.121	10.477	0.000
	Within Groups	293.132	42	6.979		
	Total	439.374	44			
จำนวนเหง้า	Between Groups	12.844	2	6.422	12.114	0.000
	Within Groups	22.267	42	0.530		
	Total	35.111	44			

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	ณัฐชนันท์ ดวงก้อน
วัน เดือน ปี เกิด	30 กันยายน 2541
สถานที่เกิด	จังหวัดแพร่
วุฒิการศึกษา	2564-ปัจจุบัน ระดับปริญญาโท หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา จังหวัดพะเยา 2560-2562 ระดับปริญญาตรี หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา จังหวัดพะเยา
ที่อยู่ปัจจุบัน	27 ม.3 ต.แม่ยางตาล อ.ร้องกวาง จ.แพร่ 54140
ผลงานตีพิมพ์	ณัฐชนันท์ ดวงก้อน และสุกัลยา ภูทอง. (2023). อิทธิพลของไซโตไคนินร่วมกับนาโนซีทต่อการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนยอดของไหลภายใต้สภาพปลอดเชื้อ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตรและการจัดการ, 6(1), 48-55.

