การศึกษาปัจจัยสภาพแวดล้อมและแสง LED ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ (*Anoectochilus burmanicus* Rolfe)

พีราดา แก้วทองประคำ

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2562

การศึกษาปัจจัยสภาพแวดล้อมและแสง LED ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ (*Anoectochilus burmanicus* Rolfe)

พีราดา แก้วทองประคำ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2562

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

การศึกษาปัจจัยสภาพแวดล้อมและแสง LED ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ (*Anoectochilus burmanicus* Rolfe)

พีราดา แก้วทองประคำ

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

พิจารณาเห็นชอบโดย **อาจารย์ที่ปรึกษา**

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก .....
(อาจารย์ ดร.ทิพย์สุดา ตั้งตระกูล)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ภูมิสุทธาผล)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เยาวนิตย์ ธาราฉาย)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

ประธานอาจารย์ผู้รับผิดชอบหลักสูตร .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.วศิน เจริญตัณธนกุล)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ญาณิน โอภาสพัฒนกิจ)
รักษาการแทนรองอธิการบดี ปฏิบัติการแทน
อธิการบดีมหาวิทยาลัยแม่โจ้
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

ชื่อเรื่อง การศึกษาปัจจัยสภาพแวดล้อมและแสง LED ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ (*Anoectochilus burmanicus* Rolfe)
ชื่อผู้เขียน นางสาวพีราดา แก้วทองประคำ
ชื่อปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก อาจารย์ ดร.ทิพย์สุดา ตั้งตระกูล

บทคัดย่อ

การศึกษาปัจจัยสภาพแวดล้อมและแสง LED ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ (*Anoectochilus burmanicus* Rolfe) มีวัตถุประสงค์เพื่อ1) สำรวจและศึกษาสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ 2) ศึกษาผลของแสง LED ที่มีต่อการเจริญเติบโตและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ การสำรวจและศึกษาสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟดำเนินการในพื้นที่ป่าบ้านปงไคร้ ตำบลโป่งแยง อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ โดยทำการวางแปลงศึกษา แบบเจาะจง 2 แบบ คือ ขนาด 2 x 2 เมตร จำนวน 9 แปลง และขนาด 10 x 10 เมตร จำนวน 1 แปลง ที่ความสูง 1,000 เมตร จากระดับน้ำทะเลปานกลางขึ้นไป ทำการวัดความสูงจากระดับน้ำทะเล วัดอุณหภูมิของดิน วัดความเข้มแสง ทำการเก็บดินที่ความลึก 0-30 เซนติเมตร นำมาวิเคราะห์คุณสมบัติของดิน สำรวจจำนวนต้นที่พบในแต่ละแปลง หาค่าความหนาแน่น (Density) ของจำนวนต้นต่อหน่วยพื้นที่ บันทึกลักษณะสัณฐานวิทยา จากนั้นนำมาหาค่าสหสัมพันธ์เพียร์สัน (Pearson's Correlation Coefficient) ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าปัจจัยสภาพแวดล้อมของป่าดิบเขาที่ไม่ถูกรบกวน ที่ความสูง 1,000 เมตร จากระดับน้ำทะเลปานกลางขึ้นไป ดินมีความเป็นกรด-ด่าง ปานกลาง ปริมาณอินทรียวัตถุในดินสูง ธาตุอาหารในดินอยู่ในระดับปานกลางไปถึงสูง และความเข้มแสงต่ำ มีผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ

ส่วนการศึกษาผลของแสง LED ที่มีผลต่อการเจริญเติบโต และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้ดิน นกคุ้มไฟ ทำการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design : CRD) โดยเพาะเลี้ยงต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟในสภาพปลอดเชื้อ ภายใต้การให้คุณภาพแสงต่าง ๆ 5 กรรมวิธี คือ แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วน 3:1 1:1 1:3 แสงจากหลอด LED สีขาว และแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ ให้แสง 12 ชั่วโมงต่อวัน ที่ความเข้มแสง 20 $\mu molm^{-2}s^{-1}$ เป็นเวลา 15 สัปดาห์ สุ่มเก็บตัวอย่างกรรมวิธีละ 10 ต้น เพื่อวัดการเจริญเติบโต ปริมาณ

คลอโรฟิลล์ จำนวนปากใบต่อพื้นที่ และประมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่าแสงจากหลอด LED สีขาว ให้ความสูงลำต้น ความกว้างทรงพุ่ม จำนวนใบ ความกว้างใบ จำนวนราก และ ความยาวราก สูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่น ในขณะที่แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน ในอัตราส่วน 1:3 ให้ความหนาของลำต้น ความยาวใบ และน้ำหนักแห้งสูงที่สุด ส่วนต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ ให้ปริมาณน้ำหนักสดสูงที่สุด แสงจากหลอด LED สีขาว ให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ บี คลอโรฟิลล์รวม และจำนวนปากใบต่อพื้นที่สูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่น จากการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่าต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:1 ให้ปริมาณฟีนอลิกรวมและพอลิแซคคาไรด์รวมสูงที่สุด ในขณะที่แสงจากหลอด LED แดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 ให้ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่น

คำสำคัญ : กล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ สัณฐานวิทยา กายวิภาค แสง LED สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

Title STUDY OF ENVIRONMENT AND LED AFFECTING THE GROWTH AND BIOACTIVE COMPOUND CONTENTS OF *ANOECTOCHILUS BURMANICUS* ROLFE

Author Miss Perada Kaewthongprakum

Degree Master of Science in Biotechnology

Advisory Committee Chairperson Dr. Tipsuda Tangtragoon

ABSTRACT

The objective of this research was to 1) study the environment that affects the growth of *Anoectochilus burmanicus* Rolfe and 2) study LEDs affecting the growth and bioactive compound contents of *A. burmanicus* Rolfe. For the first part; study sites were located in Ban Pong Krai Forest, Pong Yang Sub District, Mae Rim District, Chiang Mai Province. The plant survey considered two types, 9 plots 2m x 2m, and 1 plot 10m x 10m using specific sampling method at 1,000 meters above the mean sea level (MASL). Altitude, soil temperature, and light intensity were measured. Soil samples at 0-30 cm. in each plot were collected for soil properties analysis. The number and density of *A. burmanicus* Rolfe in each plot were collected. Morphological characteristics were recorded. The relationship between environment, plant growth, and density was subjected to analysis of Pearson's correlation. The results of this research showed that the environment of the undisturbed dry to evergreen forest, the height at more of 1,000 meters above the mean sea level, the moderately acidic-alkaline soil, the amount of high organic matter in the soil, the moderately high nutrients in the soil and shaded conditions were suitable for the growth of *A. burmanicus* Rolfe.

In the second part; *A. burmanicus* Rolfe. were cultured in a temperature-controlled room at 25 ^{o}C under light density 20 μmolm^{-2}s^{-1} .Completely Randomized Design (CRD) was conducted by exposing to LEDs red light (RL) and blue light (BL) in ratio of RL to BL was 3: 1, 1: 1, 1: 3., white LEDs (WL) and fluorescent light (FL) for 12

hours a day for 15 weeks to investigate the effects of various light qualities on growth indices, photosynthetic pigments, stomatal density and the accumulation of secondary metabolites. The results showed that WL had positive effects on *A. burmanicus* Rolfe ; stem high, bush width, leaf number, leaf width, root number, root length, chlorophyll A content, chlorophyll B content, total chlorophyll content and stomatal density increased significantly. RL: BL (1:3) treatment showed significantly higher stem diameter, leaf length, dry weight. FL treatment showed significantly higher fresh weight. RL:BL (1:1) showed significantly higher total phenolic contents and total polysaccharide contents than the others. RL:BL (3:1) showed significantly higher total flavonoid contents than the others.

Keywords : Anoectochilus burmanicus Rolfe Morphology Anatomy LEDs Bioactive compounds

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษางานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องด้วยความกรุณาของประธานกรรมการที่ปรึกษา อาจารย์ ดร.ทิพย์สุดา ตั้งตระกูล ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ ข้อคิดในการทำงาน การวางแผนการทำงาน และแก้ไขข้อผิดพลาดที่เกิดขึ้นขณะดำเนินการวิจัย รวมถึงดูแลและให้ความช่วยเหลือข้าพเจ้าในทุกๆด้าน ทั้งด้านการเรียน การวิจัย การทำงาน และการเงิน ตลอดจนให้ความรู้และประสบการณ์ในการทำงานร่วมกับผู้อื่น และให้โอกาสในการเข้าร่วมกิจกรรมต่างๆ ที่เป็นประสบการณ์ที่ดี ตลอดระยะเวลาการศึกษา

ขอขอบพระคุณกรรมการที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปวีณา ภูมิสุทธาผล ที่กรุณาให้คำปรึกษาและช่วยเหลือในกระบวนการเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ข้อมูลการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ และการสกัดคลอโรฟิลล์ รวมถึงแนะนำและตรวจแก้ไขเล่มวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เยาวนิตย์ ธาราฉาย ที่กรุณาให้คำปรึกษาเกี่ยวกับข้อมูลนิเวศวิทยาของพื้นที่และข้อมูลลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกล้วยไม้สกุล Anoectochilus รวมถึงการนำทีมลงสำรวจกล้วยไม้ในหลายพื้นที่ของประเทศไทย ตลอดจนการตรวจทานและแก้ไขวิทยานิพนธ์จนกระทั่งเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อุษาวดี ชนสุต ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็น และความรู้ในหลายๆ ด้าน มาปรับใช้กับงานวิจัยเพื่อให้ได้งานวิจัยที่มีคุณภาพ ตลอดจนการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์เล่มนี้ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชวโรจน์ ใจสิน อาจารย์ประจำวิทยาลัยพลังงานทดแทน มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่กรุณาให้คำปรึกษาและวางแผนระบบการให้คุณภาพแสง LED ตั้งแต่ขั้นตอนการออกแบบกล่อง LED จนกระทั่งติดตั้งกล่อง LED ทดลองระบบ และซ่อมแซมระบบ รวมถึงให้คำแนะนำเกี่ยวกับการใช้แสงในการเจริญเติบโต ทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปฏิภาณ สุทธิกุลบุตร อาจารย์ประจำภาควิชาปฐพีศาสตร์ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่กรุณาให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการวิเคราะห์และแปรผลเกี่ยวกับธาตุอาหารในดินบริเวณแปลงวิจัย รวมถึงให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการวิเคราะห์ค่าทางสถิติของผลการทดลอง ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Statistix 8.0 ทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้น่าเชื่อถือมากยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณนางสาวรุ่งทิพย์ กาวารี เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการกลาง สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ที่อำนวยความสะดวก และให้คำแนะนำแก่ข้าพเจ้าตลอดระยะเวลาที่ดำเนินการวิจัย และขอขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพทุกท่าน ที่ให้ความสะดวกในการเดินเอกสาร การทำงานวิจัย ให้ความช่วยเหลือในการปฏิบัติงาน และให้กำลังใจจนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) และสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่สนับสนุนทุนวิจัยให้แก่ข้าพเจ้า จนทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วง

ขอขอบคุณนายวันชัย อินยม หัวหน้ากลุ่มอนุรักษ์ฟ้ามุ่ยหมู่บ้านปงไคร้ ตำบลโป่งแยง อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ ที่ให้ความกรุณาในการนำทางเข้าสำรวจและวางแปลง รวมถึงให้ความรู้ ความเข้าใจเกี่ยวกับกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ รวมถึงเอื้อเฟื้อสถานที่และต้นพันธุ์กล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ เพื่อใช้ในงานวิจัย จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ ที่ให้ความรู้ คำแนะนำ และข้อชี้แนะ เกี่ยวกับข้อมูลเพิ่มเติมของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ ทั้งการผสมเกสรและการขยายพันธุ์ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ขอขอบคุณทุนการศึกษา “ศิษย์ก้นกุฏิ” ของบัณฑิตวิทยาลัยที่ได้มอบทุนการศึกษาให้แก่ข้าพเจ้าในปีการศึกษา 2559

เหนือสิ่งอื่นใดข้าพเจ้าขอขอบพระคุณนายเฉลียว แก้วทองประคำ นางจงรักษ์ จิตตกูล บิดาและมารดาของข้าพเจ้า และญาติพี่น้องทุกคน ที่ให้การอบรมสั่งสอน สนับสนุนทั้งด้านกำลังใจ และสนับสนุนค่าใช้จ่ายระหว่างการศึกษามาโดยตลอด และขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ รวมถึงบุคคลรอบตัวของข้าพเจ้า ที่คอยให้กำลังใจ ให้ความช่วยเหลือ และสร้างแรงผลักดัน ตลอดเวลาที่ศึกษาในมหาวิทยาลัยแม่โจ้แห่งนี้ จนทำให้งานวิจัยสมบูรณ์

ทั้งนี้ ข้าพเจ้าหวังว่า งานวิจัยฉบับนี้จะมีประโยชน์แก่ผู้ที่สนใจศึกษา จึงขอมอบความดีอันมาจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้แด่ บิดา มารดา ตลอดจนครูอาจารย์ที่อบรมสั่งสอน ประสิทธิ์ประสาทความรู้มาจนถึงปัจจุบัน

พีราดา แก้วทองประคำ

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ค

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ช

สารบัญ ..... ฌ

สารบัญตาราง ..... ฎ

สารบัญภาพ ..... ฐ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ที่มาและความสำคัญ 1

1.2 วัตถุประสงค์ 3

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

1.4 ขอบเขตการศึกษาวิจัย 3

บทที่ 2 ตรวจเอกสาร 5

2.1 ข้อมูลเกี่ยวกับกล้วยไม้ 5

2.2 สกุล *Anoectochilus* 10

2.3 การสำรวจกล้วยไม้ในประเทศไทย 13

2.4 การอนุรักษ์กล้วยไม้ 13

2.5 บทบาทของแสงที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช 14

2.6 ไดโอดเปล่งแสง 18

2.7 สารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ 20

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 24

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 29

3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง 29
3.1.1 พืชที่ใช้ในการทดลอง 29
3.1.2 เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง 29
3.2 วิธีการดำเนินการทดลอง 34
3.2.1 การสำรวจประชากรและศึกษาปัจจัยทางกายภาพที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟในสภาพธรรมชาติ 34
3.2.2 ศึกษาผลของแสง LED ที่มีต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยา และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ *(A. burmanicus* Rolfe) 36
3.2.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ 40
3.3 กรอบแผนวิจัย 41
บทที่ 4 ผลการวิจัย 42
การทดลองที่ 1 การสำรวจประชากร และศึกษาปัจจัยทางกายภาพที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟในสภาพธรรมชาติ 42
การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของแสง LED ที่มีต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยา และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ 59
วิจารณ์ผลการทดลอง 82
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 88
บรรณานุกรม 90
ภาคผนวก ก. สเปกตรัมของชุดให้แสง LED 95
ภาคผนวก ข. การวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ 101
ประวัติผู้วิจัย 109

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างสีของแสง ความยาวคลื่นแสง และประโยชน์ต่อพืช 17

ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบข้อดีและข้อจำกัดของหลอดไฟ LED เพื่อประโยชน์ในการใช้งาน 19

ตารางที่ 3 ความสูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง ความเข้มแสง และอุณหภูมิดินในแปลงสำรวจ..... 43

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีบางประการของดินในแปลงสำรวจที่ความลึก 0-15 เซนติเมตร 45

ตารางที่ 5 จำนวนต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่พบในแปลงวิจัย 46

ตารางที่ 6 ลักษณะสัณฐานวิทยาบางประการของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟในแปลงสำรวจ (NA =ไม่ออกดอก) 47

ตารางที่ 7 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ระหว่างปัจจัยทางกายภาพและเคมีบางประการของดินต่อความหนาแน่นต้นต่อพื้นที่ โดยใช้สูตรของเพียร์สัน (Pearson's Correlation Coefficient) (r = ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์) 50

ตารางที่ 8 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ระหว่างปัจจัยทางกายภาพและเคมีบางประการของดินต่อการเจริญเติบโตของพืชโดยใช้สูตรของเพียร์สัน (Pearson's Correlation Coefficient) (r = ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์) 51

ตารางที่ 9 ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้ชุดให้แสง LED ทั้ง 5 กรรมวิธี 59

ตารางที่ 10 ปริมาณน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 สัปดาห์ 70

ตารางที่ 11 ปริมาณคลอโรฟิลล์ในต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 สัปดาห์ 73

ตารางที่ 12 จำนวนปากใบต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร ในต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 สัปดาห์..... 75

ตารางที่ 13 ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 สัปดาห์..... 78

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกล้วยไม้ 8
ภาพที่ 2 ลักษณะดอกกล้วยไม้ 9
ภาพที่ 3 ลักษณะดอกกล้วยไม้ด้านข้าง 9
ภาพที่ 4 ลักษณะสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ (A. burmanicus Rolfe) 12
ภาพที่ 5 ลักษณะกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ (A. burmanicus Rolfe) 13
ภาพที่ 6 PAR wavelengths และการดูดกลืนคลื่นแสงเพื่อใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช 15
ภาพที่ 7 หลอดไฟ LED (ก) โครงสร้างภายในของหลอดไฟ LED (ข) ความสูงของหลอดไฟ LED (ค) ลักษณะของตัวหลอดไฟ LED 19
ภาพที่ 8 โครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบฟีนอล 21
ภาพที่ 9 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์ 23
ภาพที่ 10 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟในสภาพธรรมชาติ 35
ภาพที่ 11 การศึกษาลักษณะทางกายวิภาคของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ 35
ภาพที่ 12 การให้คุณภาพแสง (ก) RL:B:L 3:1 (ข) RL:B:L 1:1 (ค) RL:B:L 1:3 (ง) WL และ (จ) FL 36
ภาพที่ 13 การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพโดยชุดสกัด Soxhlet 39
ภาพที่ 14 การระเหยสารสกัดด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ 39
ภาพที่ 15 สภาพนิเวศของบริเวณที่พบกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ 44
ภาพที่ 16 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่พบบริเวณแปลงทดลอง 49
ภาพที่ 17 ลักษณะทางกายวิภาคของรากกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ (ก) ภาพตัดขวางของราก (ข) กระจุกเซลล์อาบัสคูลของเชื้อราไมเคอร์ไรซา 53
ภาพที่ 18 ลักษณะทางกายวิภาคของรากกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ (ค) กระจุกเซลล์อาบัสคูลของเชื้อรา ไมเคอร์ไรซา (ง) กลุ่มเนื่อเยื่อท่อลำเลียง 54

ภาพที่ 19 ลักษณะทางกายวิภาคของลำต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ (ก) ภาพตัดขวางของลำต้น (ข) เนื้อเยื่อพาเรนไคมาชนิดคลอเลนไคมา..... 55

ภาพที่ 20 ลักษณะทางกายวิภาคของลำต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ (ค) และ (ง) กลุ่มเนื้อเยื่อท่อลำเลียง 56

ภาพที่ 21 ลักษณะทางกายวิภาคของใบกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ (ก) ภาพตัดขวางของใบ (ข) ลักษณะของเนื้อใบ ชนิด Palisade mesophyll และ Spongy mesophyll 57

ภาพที่ 22 ลักษณะทางกายวิภาคของใบกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ (ค) กลุ่มเนื้อเยื่อท่อลำเลียง (ง) เซลล์ผิวและปากใบของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ..... 58

ภาพที่ 23 ลักษณะของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 15 สัปดาห์ 60

ภาพที่ 24 ความสูงของลำต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 15 สัปดาห์ 61

ภาพที่ 25 ความกว้างทรงพุ่มของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 15 สัปดาห์..... 62

ภาพที่ 26 ความหนาของลำต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟเพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 15 สัปดาห์ 63

ภาพที่ 27 จำนวนใบต่อต้นของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟเพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 15 สัปดาห์ 64

ภาพที่ 28 ความกว้างใบของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟเพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 15 สัปดาห์ 65

ภาพที่ 29 ความยาวใบของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟเพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 15 สัปดาห์ 66

ภาพที่ 30 ลักษณะใบของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดง ร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 15 สัปดาห์ 67

ภาพที่ 31 จำนวนรากของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟเพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับ สีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 15 สัปดาห์ 68

ภาพที่ 32 ความยาวรากของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟเพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับ สีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 15 สัปดาห์ 69

ภาพที่ 33 น้ำหนักสดของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟเพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับ สีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 15 สัปดาห์ 71

ภาพที่ 34 น้ำหนักแห้งของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดง ร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 15 สัปดาห์ 72

ภาพที่ 35 การสกัดคลอโรฟิลล์จากตัวอย่างต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED แดงร่วมกับน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 สัปดาห์ 73

ภาพที่ 36 ปริมาณคลอโรฟิลล์ในต้นของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED แดงร่วมกับน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 สัปดาห์ 75

ภาพที่ 37 จำนวนปากใบต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร ในต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอด ฟลูออเรสเซนต์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 สัปดาห์ 76

ภาพที่ 38 จำนวนปากใบต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร ในต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วน (ก)3:1 (ข)1:1 (ค)1:3 (ง)หลอด LED สีขาว และ(จ)หลอดฟลูออเรสเซนต์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 สัปดาห์ 77

ภาพที่ 39 ปริมาณฟีนอลิกรวม ในสารสกัดต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 สัปดาห์ 79

ภาพที่ 40 ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัดต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 สัปดาห์..... 80

ภาพที่ 41 ปริมาณพอลิแซคคาไรด์รวม ในสารสกัดต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 สัปดาห์..... 81

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

กล้วยไม้เป็นพืชวงศ์ขนาดใหญ่ที่มีคุณค่าต่อมนุษย์ทั้งทางด้านสังคม เศรษฐกิจ วัฒนธรรม ประเพณีและจิตใจ กล้วยไม้มีความงามและมีเอกลักษณ์เฉพาะตัว ทั้งความหลากหลายของชนิดพันธุ์ สีสัน หรือ ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ จึงเป็นพืชที่ได้รับความสนใจจากผู้คนอย่างแพร่หลาย ซึ่งในอีกแง่มุมหนึ่ง กล้วยไม้ก็เป็นพืชที่ค่อนข้างมีความเสี่ยงสูงในการสูญพันธุ์ไปจากแหล่งอาศัยในธรรมชาติ โดยเฉพาะ “กล้วยไม้ไทย” ซึ่งเป็นพืชที่อาศัยตามป่าหรือแหล่งธรรมชาติและบางชนิดมีเฉพาะในท้องถิ่นนั้นๆ จึงเป็นสิ่งที่ควรหวงแหนและมีคุณค่าต่อการอนุรักษ์ โดยกล้วยไม้หายากบางชนิดเป็นพืชสมุนไพรที่สร้างคุณประโยชน์ทางการแพทย์ ซึ่งกล้วยไม้สมุนไพรที่สนใจศึกษา คือ กล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ (*Anoectochilus burmanicus* Rolfe) ซึ่งเป็นกล้วยไม้เฉพาะถิ่นที่พบในป่าดงดิบทางภาคเหนือของประเทศไทย เป็นกล้วยไม้ดินหายากที่จัดอยู่ในกลุ่ม jewel orchid ซึ่งจัดเป็นกลุ่มที่มีใบสวยมีเกล็ดประกายสะท้อนแสง กล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ (*A. burmanicus* Rolfe) เป็นกล้วยไม้ดินหนึ่งใน 6 ชนิด ที่พบในประเทศไทย มีขนาดเล็ก พบในป่าดิบเขา แสงส่องถึงเล็กน้อย บริเวณริมลำธาร ดินเป็นดินร่วนปนทราย มีเศษซากพืชและกิ่งไม้ทับถมจำนวนมาก อาจพบตามซอกหินที่มีเศษซากพืชทับถม ที่ระดับความสูงจากระดับน้ำทะเลปานกลางตั้งแต่ 1,000 เมตรขึ้นไป มีลักษณะอวบน้ำและค่อนข้างบอบบาง (อบฉันท์, 2549) มีลำต้นทอดชูยอดเลื้อยไปตามพื้นดิน ใบเป็นรูปรีแกมไข่ สีม่วงคล้ำและมีลายร่างแหสีแดง ออกดอกในช่วงเดือนตุลาคมถึง เดือนพฤศจิกายน ช่วงออกดอกจะไม่ทิ้งใบ (สลิล, 2551) ในประเทศไทยพบในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ตาก เลย และกาญจนบุรี (Santisuk et al., 2011; สลิล, 2558)

การศึกษาเกี่ยวกับกล้วยไม้สกุลนี้ในต่างประเทศ พบว่ามีสาร Flavonoids ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และมีสรรพคุณรักษาโรคทางระบบไหลเวียนโลหิต โรคตับและโรคไต (Du et al., 2008; Zhang et al., 2010) และทำเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสุขภาพ (Functional food) กันอย่างแพร่หลาย (Takatsuki et al., 1992) แต่ในประเทศไทยยังไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับกล้วยไม้สกุลนี้ จึงมีความเป็นไปได้ที่กล้วยไม้สกุลนี้ของประเทศไทย โดยเฉพาะกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ น่าจะมีคุณสมบัติทางสมุนไพรเช่นเดียวกับที่พบในต่างประเทศ

สำหรับจังหวัดเชียงใหม่ พบการกระจายตัวของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟในพื้นที่ชุมชนหมู่บ้านปงไคร้ ซึ่งเป็นชุมชนที่มีความสมบูรณ์ด้านทรัพยากร ตั้งอยู่ในเขตพื้นที่ของตำบลโป่งแยง อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ สภาพพื้นที่เป็นชุมชนที่มีหุบเขาล้อมรอบ ระดับความสูงจากน้ำทะเลปานกลาง 800-1,100 เมตร ป่าต้นน้ำที่ชาวบ้านร่วมกันอนุรักษ์ทรัพยากรไว้อย่างลงตัว ชุมชนบ้านปงไคร้เป็นชุมชนที่มีการจัดการท่องเที่ยวโดยชุมชน ที่เป็นการท่องเที่ยวเชิงนิเวศและท่องเที่ยวเชิงเกษตร ชุมชนบ้านปงไคร้เป็นเขตพื้นที่ซึ่งมีการกระจายพันธุ์ของกล้วยไม้สมุนไพรนกคุ้มไฟ กล้วยไม้ฟ้ามุ่ย และกล้วยไม้พันธุ์แท้อีกหลากหลายชนิด การท่องเที่ยวโดยชุมชนของบ้านปงไคร้เน้นการเรียนรู้วัฒนธรรม วิถีชีวิตความเป็นอยู่ และที่สำคัญการท่องเที่ยวบ้านปงไคร้เน้นการเรียนรู้ด้านการอนุรักษ์กล้วยไม้ฟ้ามุ่ย และกล้วยไม้สมุนไพรนกคุ้มไฟ โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ได้รับต้นพันธุ์จากสวนพฤกษ์ศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์และได้รับการถ่ายทอดเทคนิคในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากมหาวิทยาลัยรามคำแหง เพื่อเป็นการขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณ เพื่อการจำหน่ายแก่ผู้สนใจในการปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ดิน รวมถึงการศึกษาวิจัยและนำกลับเข้าไปปลูกเพิ่มจำนวนในสภาพธรรมชาติ (วรเดช, 2560) จึงถือได้ว่าชุมชนปงไคร้เป็นแหล่งพันธุกรรมของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟแหล่งสำคัญในการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน

ทั้งนี้กล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ ลดจำนวนลงอย่างรวดเร็วเนื่องจากการบุกรุกป่าทำพื้นที่การเกษตร สภาพป่าที่เปลี่ยนแปลง ความชื้นในอากาศลดน้อยลงไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต กล้วยไม้ชนิดนี้จึงค่อยๆหายไปในที่สุด กล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ จึงเป็นกล้วยไม้ไทยพันธุ์แท้หายาก ที่เสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาความต้องการใช้พืชสมุนไพรที่มีศักยภาพในปัจจุบันมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นทุกปี ส่งผลให้มีการเก็บพืชสมุนไพรจากป่าในปริมาณเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นจึงเป็นประเด็นสำคัญที่มีผลกระทบต่อการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชในแหล่งธรรมชาติ นอกจากนี้ความต้องการต้นพืชสมุนไพรสำหรับการเตรียมยาหรือผลิตภัณฑ์อาหารเสริมเพื่อสุขภาพ ต้องคำนึงถึงคุณภาพและความสม่ำเสมอของต้นพืชสมุนไพรอีกด้วย เนื่องจากการเจริญเติบโตในแหล่งธรรมชาติมีปัญหาหลายประการ เช่น เมล็ดมีอัตราการงอกช้า มีการเจริญเติบโตช้า และพืชมีความไวต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ดังนั้นเพื่อการอนุรักษ์พืชสมุนไพรที่อยู่ในป่า และเพื่อตอบสนองความต้องการต้นพืชสมุนไพร จึงควรพัฒนาเทคโนโลยีใหม่ๆ เพื่อการผลิตต้นสมุนไพรที่ดีและมีคุณภาพสูง

การใช้แสงกระตุ้นให้เกิดสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) ในพืชเป็นเทคโนโลยีสมัยใหม่ที่น่าสนใจ ซึ่งแสงเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาด้านต่างๆ และผลผลิตของพืช ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจประชากร และศึกษาปัจจัยทางกายภาพที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟในสภาพธรรมชาติ และออกแบบและสร้างชุดให้แสง LED ที่เหมาะสมที่สุดต่อการเจริญเติบโตทางสัณฐานวิทยา และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้ดิน

นกคุ้มไฟ ซึ่งองค์ความรู้ที่ได้นี้จะนำมาประยุกต์สู่การออกแบบโรงเรือนที่มีระบบคุณภาพแสง LED ที่เหมาะสมและต่อยอดเพื่อส่งเสริมให้เกษตรกรผู้ปลูกกล้วยไม้สมุนไพรนกคุ้มไฟ สามารถนำไปใช้งานจริงในการผลิตกล้วยไม้ในโรงเรือนเชิงพาณิชย์ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อสำรวจประชากร และศึกษาปัจจัยทางกายภาพที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟในสภาพธรรมชาติ
2. เพื่อศึกษาผลของแสง LED ที่มีต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยา และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงปัจจัยทางกายภาพที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ เพื่อนำไปสู่การอนุรักษ์และการขยายพันธุ์ในสภาพที่เหมาะสมอย่างถูกวิธี
2. ทราบถึงผลของคุณภาพแสง LED ที่เหมาะสมที่สุดต่อการเจริญเติบโตทางสัณฐานวิทยา และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ

1.4 ขอบเขตการศึกษาวิจัย

1. ขอบเขตด้านพื้นที่
   - พื้นที่ป่าชุมชนหมู่บ้านปงไคร้ ตำบลโป่งแยง อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่
   - ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชุมชนบ้านปงไคร้ ตำบลโป่งแยง อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่
   - ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ศูนย์กล้วยไม้และไม้ดอกไม้ประดับ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
2. ขอบเขตด้านเนื้อหา

ในงานวิจัยครั้งนี้ทำการศึกษาปัจจัยสภาพแวดล้อมและแสง LED ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟในสภาพปลอดเชื้อ โดยมีขอบเขตเนื้อหา ดังนี้

2.1 การสำรวจประชากร และศึกษาปัจจัยทางกายภาพที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟในสภาพธรรมชาติ โดยจะศึกษาลักษณะพื้นที่ ระดับความสูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง อุณหภูมิปริมาณแสง ความชื้น สภาพดิน นิเวศวิทยาของพื้นที่ที่พบกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ รวมถึงการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟในสภาพธรรมชาติ เช่น ความสูงของลำต้น ความกว้างทรงพุ่ม จำนวนข้อ จำนวนใบ ความกว้างใบ ความยาวใบ จำนวนดอก และจำนวนฝัก

2.2 การศึกษาผลของคุณภาพแสง LED ที่มีต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยา และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ โดยทำการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟภายใต้ชุดให้แสงจากหลอด LED สีแดงต่อสีน้ำเงินอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ เพื่อหาคุณภาพแสงที่เหมาะสมต่อการเกิดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในปริมาณสูงที่สุด

บทที่ 2
ตรวจเอกสาร

การศึกษาวิจัยเรื่อง การศึกษาปัจจัยทางกายภาพและผลของแสง LED ต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ เพื่อให้เกิดความเข้าใจและถูกต้อง โดยครอบคลุมเนื้อหา ดังนี้

2.1 ข้อมูลเกี่ยวกับกล้วยไม้
2.2 สกุล *Anoectochilus*
2.3 การสำรวจกล้วยไม้ในประเทศไทย
2.4 การอนุรักษ์กล้วยไม้
2.5 บทบาทของแสงที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช
2.6 ไดโอดเปล่งแสง (LED)
2.7 สารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (Secondary metabolite) และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive compound)
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้อมูลเกี่ยวกับกล้วยไม้

กล้วยไม้ หรือภาษาอังกฤษ เรียกว่า Orchid มีรากศัพท์มาจากคำว่า Orchis ในภาษากรีก โดยในโลกนี้มีกล้วยไม้พันธุ์แท้มากกว่า 800 สกุล (genera) และมากกว่า 30,000 ชนิด (species) กล้วยไม้เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว อยู่ในวงศ์กล้วยไม้ (Orchidaceae) ซึ่งเป็นพืชดอกที่มีความหลากหลายมากที่สุดวงศ์หนึ่ง พืชในวงศ์กล้วยไม้สามารถพบได้ทั่วโลก มีการกระจายพันธุ์ในหลายภูมิประเทศ ยกเว้นทะเลทรายและธารน้ำแข็ง ซึ่งกล้วยไม้ในธรรมชาติถึง 85% พบในเขตร้อนและกึ่งร้อน โดยเฉพาะเขตร้อนจากเส้น Tropic of cancer ถึง Tropic of Capricorn คือ เอเชีย, อเมริกาใต้ และอเมริกากลาง นอกจากนี้ยังพบบริเวณเหนือเส้น Arctic Circle ในตอนใต้ของพาทาโกเนียและยังพบบนเกาะแมคควารี ซึ่งใกล้กับทวีปแอนตาร์กติกา

กล้วยไม้ (Orchid) เป็นพืชวงศ์ใหญ่ที่มีดอกสวยงาม มีความหลากหลายทั้งสีสันลวดลาย ขนาด รูปทรง และกลิ่น เรียกได้ว่าเป็นพืชดอกที่มีความหลากหลายมากที่สุดกลุ่มหนึ่ง จึงได้มีการจัดจำแนกตามหลักอนุกรมวิธาน ดังนี้

Kingdom (อาณาจักร)	**Plantae**
Division (หมวด)	Spermatophyta
Class (ชั้น)	Monocotyledonae
Order (อันดับ)	Orchidales
Family (วงศ์)	Orchidaceae
Subfamily (วงศ์ย่อย)	Apostasioideae Orchidoideae Cypripediodeae Spiranthoideae Epidendrioideae Vandoideae

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกล้วยไม้ (ภาพที่ 1,2 และ 3)

2.1.1.1 ลักษณะของราก (Root)

ตามหลักพฤกษศาสตร์กล้วยไม้จัดเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว จึงมีเฉพาะรากฝอยจำนวนมาก มีทั้งขนาดเล็กและขนาดใหญ่ โดยรากของกล้วยไม้จะงอกออกจากส่วนที่เป็นข้อของลำต้น หรือเหง้าที่ทอดเลื้อย รวมถึงหัวสะสมอาหารใต้ดิน ซึ่งตำแหน่งที่ปรากฏของรากสามารถแบ่งได้ออกเป็น 4 ประเภท (สำอางค์, 2547) คือ

- ระบบรากแบบรากดิน (Terrestrial orchid) จะมีขนอ่อนที่ปลายราก ทำหน้าที่ดูดน้ำและสารอาหารชอนไชไปตามซากใบไม้ผุ รากเกิดจากหัวที่อวบน้ำ ทำให้รากมีน้ำมาก จึงพบกล้วยไม้ชนิดนี้บริเวณที่มีความชื้นสูง เช่น สกุลว่านนกคุ้ม (*Anoectochilus*) สกุลฮาเบนาเรีย (*Habenaria*) เพคไทลิส (*Pacteilis*) และแบรคคีคอไรทิส (*Brachycorythis*) ได้แก่ ท้าวคูลู และนางอั้ว เป็นต้น
- ระบบรากแบบรากกึ่งดิน (Semi-terrestrial orchid) เป็นรากที่อยู่เหนือผิวดิน ไม่อวบน้ำ รากประเภทนี้มีลักษณะค่อนข้างละเอียด พบอยู่ตามพื้นที่มีหินผุและใบไม้ที่ทับถมอยู่บนพื้นดิน ซึ่งกล้วยไม้ที่มีระบบรากกึ่งดินนี้จะใช้ซากหินผุและซากใบไม้เป็นอาหาร

เช่น กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี (*Paphiopedilum*) สกุลเอื้องพร้าว (*Phaius*) สกุลสเปโธกล๊อตลิส (*Spathoglotlis*) และกล้วยไม้บางชนิดในสกุลยูโรเฟีย (*Eulophia*) และสกุลฮาเบนาเรีย (*Habenaria*) เป็นต้น

- ระบบรากแบบรากกึ่งอากาศ (Semi-epiphyte) กล้วยไม้ที่มีรากประเภทนี้ขึ้นอยู่บนพื้นดิน บนหิน และบนต้นไม้ หากพบขึ้นบนพื้นดิน จะอยู่บนพื้นดินซึ่งมีใบไม้ทับถมกันค่อนข้างหนา เช่น สกุลหวาย (*Dendrobium*) สกุลแคทลียา (*Cattaleya)* สกุลซิมบิเดียม (*Cymbidium*) และสกุลออนซิเดียม (*Oncidium*) เป็นต้น
- ระบบรากแบบรากอากาศ (Epiphyte) กล้วยไม้ที่มีรากประเภทนี้จะเจริญเติบโตได้ดีบนต้นไม้หรือโขดหิน เป็นรากขนาดใหญ่ที่มีเนื้อเยื่อผิว (Epidermis) หลายชั้น มีลักษณะคล้ายฟองน้ำ บริเวณปลายรากมีสีเขียวสามารถสังเคราะห์แสงได้ เรียกว่า วีลาเมน (Velamen) ทำหน้าที่ป้องกันการระเหยของน้ำมากและกักเก็บความชุ่มชื้น เช่น สกุลแวนด้า (Vanda) สกุลฟาเลนนอปซิส (Phalaenopsis) เป็นต้น

2.1.1.2 ลักษณะของลำต้น (Stem)

สำหรับลำต้นของกล้วยไม้ที่โผล่พ้นจากเครื่องปลูกแบ่งได้ 2 ประเภท (สลิล และนฤมล, 2550) คือ

- ลำต้นแท้ คือ ลำต้นที่มี ข้อ ปล้อง เหมือนลำต้นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวทั่วไป ส่วนเหนือข้อจะมีตาสามารถเจริญเป็นหน่อใหม่ และช่อดอกได้ ลำต้นประเภทนี้จะเจริญออกทางยอด (Monopodial orchid) ซึ่งกล้วยไม้ที่มีลำต้นประเภทนี้ จะเป็นลำต้นเดี่ยว สามารถผลิใบและออกดอกได้บนลำต้นเดิม ลำต้นจะมีลักษณะเป็นลำ กลมยาว เป็นเส้นค่อนข้างเล็ก แข็งและเหนียว
- ลำต้นเทียม หรือที่เรียกว่า ลำลูกกล้วย ทำหน้าที่สะสมอาหาร ตาที่อยู่ตามข้อของลำลูกกล้วยสามารถแตกเป็นหน่อหรือช่อดอกได้ กล้วยไม้ประเภทนี้มีการเจริญเติบโตทางด้านข้าง (Sympodial orchid) เป็นการเจริญของลำต้นที่มีลักษณะเป็นกอ โดยมีลำลูกกล้วย หัวหรือต้นเป็นลำปรากฏบนเหง้าที่มีทั้งสั้น และยาว มีหน่อใหม่เจริญขึ้นในช่วงเวลาที่เหมาะสมแทนหน่อเก่าที่สิ้นสุดการเจริญลง

2.1.1.3 ลักษณะของใบ (Leaf)

กล้วยไม้เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว เส้นใบ มีลักษณะขนานไปตามความยาวของใบ ใบของกล้วยไม้เป็นใบเดี่ยว มีขนาดและรูปร่างของใบแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดและสกุล ซึ่งบางสกุลมีรูปร่างของใบแตกต่างกันอย่างเด่นชัด เช่น ใบรูปกลม รูปรี รูปไข่ รูปใบหอก รูปหัวใจ ปลายใบมีทั้งใบมน ปลายแหลม ปลายเรียวแหลม ปลายติ่งแหลม ปลายเว้า และโคนใบมี 2 ลักษณะ คือ โคนใบ

ที่เป็นก้านแข็ง และโคนใบที่เป็นแผ่นกาบ กล้วยไม้ส่วนใหญ่มักมีใบมากกว่า 1 ใบ ลักษณะใบของกล้วยไม้มีหลายชนิด เช่น ใบแบน ใบกลม ซึ่งเป็นลูกผสมระหว่างใบกลมกับใบแบน การเรียงตัวจะมีทั้งเรียงสลับกันและเรียงซ้อนทับกัน สีของใบส่วนใหญ่มีสีเขียวอมเหลือง บางชนิดใบมีลวดลายสวยงาม (สลิล และนฤมล, 2550)

2.1.1.4 ลักษณะของช่อดอก (Inflorescence)

กล้วยไม้ออกดอกเป็นช่อ มีทั้งช่อกระจะ ช่อกระจุก หรือบางชนิดเป็นดอกเดี่ยว ซึ่งช่อดอกของกล้วยไม้มีลักษณะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสกุลและชนิดของกล้วยไม้ เช่น ก้านช่อยาว ก้านช่อสั้น ช่อดอกตั้งแข็ง ช่อดอกโค้งหรือห้อยหัวลง เป็นต้น (ครรชิต, 2547)

2.1.1.5 ลักษณะของดอก (Flowers)

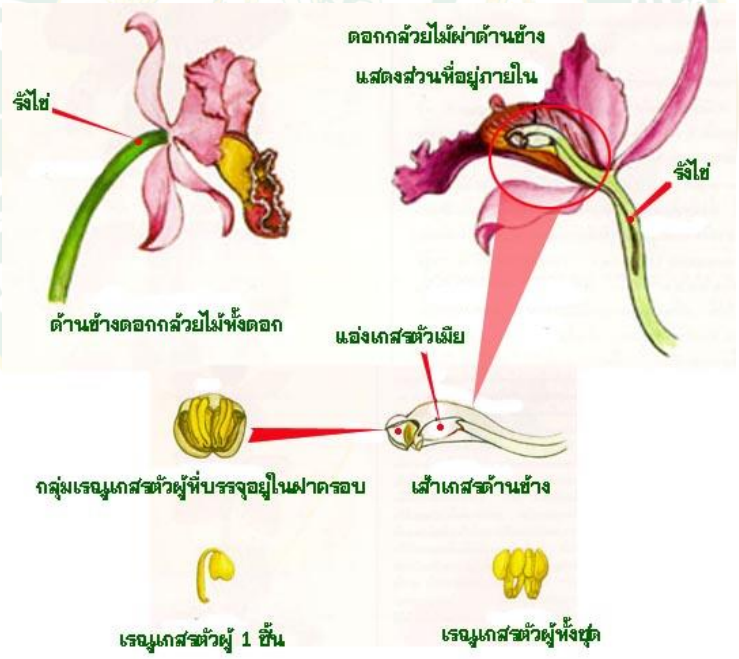
ดอกกล้วยไม้เป็นดอกสมบูรณ์เพศ คือ เกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียอยู่ในดอกเดียวกัน ดอกมีลักษณะ คือ กลีบชั้นนอก เป็นส่วนที่ห่อหุ้มป้องกันส่วนต่างๆ มักมีลักษณะและสีสันคล้ายใบ กลีบดอกมี 6 กลีบ แบ่งออกเป็น 2 ชั้น ชั้นนอก 3 กลีบ คือ กลีบบน (Dorsal sepal) และกลีบล่าง (Lateral sepal) 2 กลีบ ส่วนชั้นใน 3 กลีบ คือ กลีบใน (Petal) 2 กลีบ และ กลีบปาก (Lip) หรือกระเป๋า (Porch) เส้าเกสร (Staminal column) มีลักษณะเป็นแท่งอยู่ตรงกลางดอก ส่วนบนสุดมักจะมีฝาเล็กๆ (Anther cap) ปิดคลุมกลุ่มเรณูไว้ ต่ำลงมาทางด้านหน้า มีแอ่งเว้าลึกเข้าไปในเส้าเกสร ภายในมีน้ำเหนียวๆ คือ ส่วนยอดของเกสรเพศเมีย (Stigma) เหนือส่วนเว้าที่เป็นแอ่งในกล้วยไม้บางกลุ่มอาจจะมีการเจริญของเนื้อเยื่อออกไปเป็นจะงอย (Rostellum) เป็นส่วนของเกสรเพศเมียที่เป็นหมัน

ภาพที่ 1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกล้วยไม้

ที่มา: นางสาวพีราดา แก้วทองประคำ

ภาพที่ 2 ลักษณะดอกกล้วยไม้

ที่มา: นางสาวพีราดา แก้วทองประคำ



ภาพที่ 3 ลักษณะดอกกล้วยไม้ด้านข้าง

ที่มา: (Siam Exotica Plants, 2006)

2.1.1.6 ลักษณะของฝัก (Pod) และเมล็ด (Seed)

ผลหรือฝัก และเมล็ด กล้วยไม้เป็นพันธุ์ไม้ที่แต่ละผลหรือฝักมีขนาด ลักษณะรูปร่างต่างกัน เมื่อแก่เต็มที่จะแตกตามแนวยาว 3 แนว ภายในมีเมล็ดที่มีขนาดเล็กมาก ลักษณะเป็นผงละเอียด จำนวนมาก บางชนิดอาจมีถึงล้านเมล็ดและภายในมีเมล็ดที่ไม่มีอาหารสะสม หรือใบเลี้ยง (Cotyledon) ที่ไม่เจริญ ในธรรมชาติเมล็ดจำนวนมากมายเหล่านี้มีโอกาสงอกเจริญเป็นต้นใหม่ได้ไม่มากนัก เมล็ดที่งอกเจริญเติบโตได้นั้นต้องตกในที่ที่มีสภาพแวดล้อมเหมาะสม และมีราจำพวกไมคอร์ไรซา (Mycorrhiza) อยู่ด้วย ราพวกนี้จะมีเส้นใยเจริญเข้าไปในเมล็ด ทั้งราและเมล็ด หรือต้นอ่อนของกล้วยไม้จะอยู่ด้วยกันพึ่งพาอาศัยกัน นอกจากนั้นส่วนใหญ่ภายในฝักกล้วยไม้ยังมี Spring hairs ซึ่งมีลักษณะเป็นเส้นยาว สีขาวนวลหรือน้ำตาลอ่อนแทรกปะปนกับเมล็ด การเคลื่อนไหวของเส้นยาวเหล่านี้ เมื่อความชื้นเปลี่ยนช่วยทำให้เมล็ดกระจายออกจากฝักได้ดียิ่งขึ้น (อบฉันท์, 2549)

2.2 สกุล *Anoectochilus*

สกุล *Anoectochilus* เป็นไม้ล้มลุกอายุหลายปีที่อยู่ในวงศ์กล้วยไม้ (Orchidaceae) ประกอบด้วยสมาชิกประมาณ 35 ชนิด (Species) พบการกระจายพันธุ์ในเขตร้อนจากประเทศอินเดียผ่านเทือกเขาหิมาลัย จนถึงเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ไปยังทางตะวันออกเฉียงเหนือของเกาะควีนแลนด์ และทางตอนใต้ของหมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิก โดยในประเทศไทยพบ 6 ชนิด คือ *A. burmanicus, A. lylei, A. roxburghii, A. albolineatus, A. geniculatus* และ *A. reinwardtii* กล้วยไม้สกุล *Anoectochilus* เรียกอีกชื่อหนึ่งว่า “กล้วยไม้อัญมณี (Jewel orchid)” ซึ่งจัดเป็นกลุ่มที่มีใบสวยมีเกล็ดประกายสะท้อนแสง เนื่องจากสีของเส้นใบที่โดดเด่นคล้ายอัญมณี กล้วยไม้สกุลนี้เป็นไม้ในร่ม เจริญเติบโตดีในพื้นที่ชื้นแฉะที่มีซากผุของหินและซากทับถมของใบไม้ (Santisuk et al., 2011)

ในต่างประเทศมีการศึกษาเกี่ยวกับสรรพคุณทางยาของกล้วยไม้สกุล *Anoectochilus* โดยมีการรายงานว่า *A. roxburghii, A. formasamus, A. koshunensis* และ *A. elwesii* ใช้รักษาโรคเบาหวาน ความดันโลหิตสูง โรคหัวใจ โรคเกี่ยวกับไตและตับ ช่วยกระตุ้นการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสในเซลล์ที่ไม่ตอบสนองต่ออินซูลิน แต่ในประเทศไทยยังไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับกล้วยไม้สกุลนี้ จึงมีความเป็นไปได้ที่กล้วยไม้สกุลนี้ที่พบในประเทศไทย อาจมีสรรพคุณทางยาที่ใกล้เคียงกัน

2.2.1 กล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ (*A. burmanicus* Rolfe)

กล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ เป็นกล้วยไม้ดินขนาดเล็ก ลักษณะลำต้นทอดชูยอด ใบรูปรีแกมรูปไข่หรือรีกว้างจนเกือบกลม ขนาดของใบกว้าง 3 ซม. ยาว 5 ซม. ปลายใบแหลม สีม่วงคล้ำ มีลายร่างแหสีแดง ช่อดอกยาว 6 - 8 ซม. ช่อดอกมีลักษณะมีขนปกคลุม ดอกขนาด 1 ซม. กลีบเลี้ยงบนรูปรี กลีบเลี้ยงคู่ข้างรูปขอบขนานและเบี้ยว ปลายกลีบมน ทั้งสามกลีบสีม่วงแดง ด้านหลังมีขนปกคลุม กลีบดอกเชื่อมกันกับกลีบเลี้ยงบน กลีบปากสีเหลืองสด กลางกลีบเป็นรูปแถบและมีครีบอยู่ด้านหลัง ปลายกลีบแผ่ออกเป็นสองแฉก มีเดือยดอกรูปกรวย พบในป่าดิบเขาริมลำธาร ที่ดินเป็นดินร่วนปนทรายและมีเศษซากพืชทับถม แสงแดดรำไร เขตกระจายพันธุ์แถบประเทศพม่า ประเทศไทย และประเทศลาว โดยพบครั้งแรกในประเทศพม่า ส่วนประเทศไทยพบที่ เชียงใหม่ ตาก และเลย ออกดอกช่วงเดือนตุลาคม – พฤศจิกายน ช่วงออกดอกจะไม่ทิ้งใบ (ภาพที่ 4 และภาพที่ 5)

การจัดจำแนกกล้วยไม้นกคุ้มไฟ (*A. burmanicus* Rolfe) ในระดับวงศ์ย่อยสามารถจำแนกได้ตามระบบของ (Dressler, 1993) ได้ดังนี้

Kingdom (อาณาจักร)	Plantae
Division (จำพวก)	Spermatophyta
Subdivision (จำพวกย่อย)	Angiospermata
Class (ชั้น)	Monocotyledonae
Order (อันดับ)	Orchidales
Family (วงศ์)	Orchidaceae
Subfamily (วงศ์ย่อย)	Spiranthoideae
Tribe (เผ่า)	Cranichideae
Subtribe (เผ่าย่อย)	Goodyerinae
Genus (สกุล)	*Anoectochilus*
Species (ชนิด)	*burmanicus*

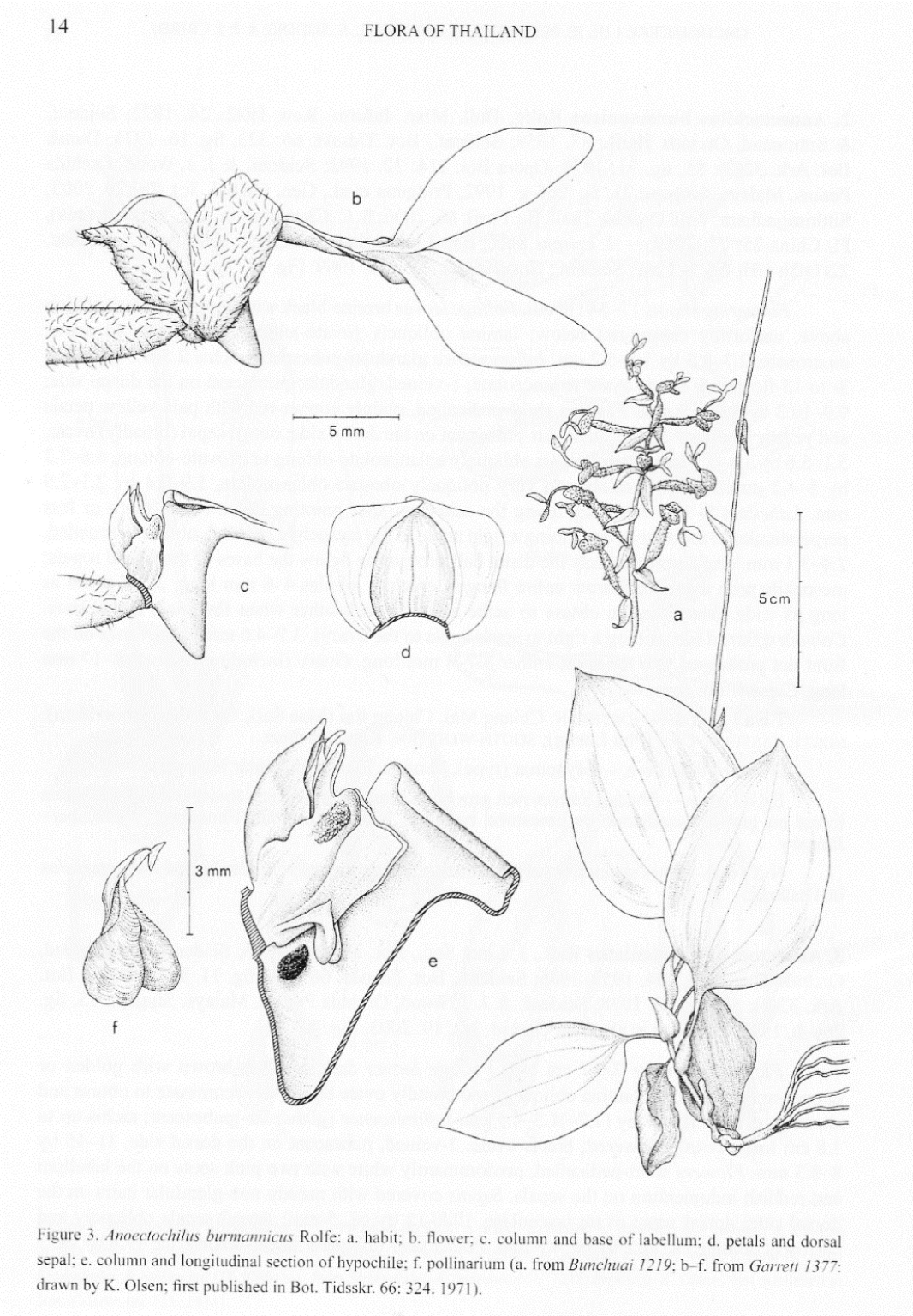


Figure 3. *Anoectochilus burmannicus* Rolfe: a. habit; b. flower; c. column and base of labellum; d. petals and dorsal sepal; e. column and longitudinal section of hypochile; f. pollinarium (a. from *Bunchuai 1219*; b–f. from *Garrett 1377*; drawn by K. Olsen; first published in Bot. Tidsskr. 66: 324. 1971).

ภาพที่ 4 ลักษณะสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ (*A. burmanicus* Rolfe)
ที่มา: (Santisuk et al., 2011)

ภาพที่ 5 ลักษณะกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ (*A. burmanicus* Rolfe)
ที่มา: นางสาวพีราดา แก้วทองประคำ

2.3 การสำรวจกล้วยไม้ในประเทศไทย

ในประเทศไทยมีการสำรวจและศึกษากล้วยไม้ไทยมาเป็นเวลาหลายยุคหลายสมัย จากการบันทึกที่ผ่านมา การศึกษาและการเก็บตัวอย่างในประเทศไทยเริ่มตั้งแต่สมัยกรุงธนบุรี โดยนักพฤกษศาสตร์ชาวเดนมาร์ก ได้สำรวจครั้งนั้นพบกล้วยไม้ 24 ชนิด จึงได้กล่าวว่าเป็นการตั้งชื่อพฤกษศาสตร์ครั้งแรกให้กับกล้วยไม้ที่สำรวจพบในประเทศไทย ต่อมามีการสำรวจอย่างจริงจังขึ้นอีกครั้งโดย Arthur Francis George Kerr นายแพทย์ชาวไอริช ผู้จัดตั้งกองตรวจรุกขชาติ และเป็นผู้จัดตั้งพิพิธภัณฑ์พืชสิรินธรซึ่งเป็นพิพิธภัณฑ์พืชแห่งแรกของประเทศไทย

สำหรับยุคเฟื่องฟูที่สุดของการศึกษากล้วยไม้ในประเทศไทยอยู่ระหว่าง พ.ศ. 2474 – 2478 ในรัชสมัยของพระบาทสมเด็จพระปกเกล้าเจ้าอยู่หัว เมื่อศาสตราจารย์ Gunnar Seidenfaden เอกอัครราชทูตเดนมาร์กประจำประเทศไทย ได้เริ่มเก็บตัวอย่างกล้วยไม้อย่างจริงจังในหลายภูมิภาค ต่อมาท่านได้ร่วมงานกับ ศาสตราจารย์ ดร.เต็ม สมิตนันทน์ นักพฤกษศาสตร์ชาวไทย เพื่อสำรวจกล้วยไม้ทั่วประเทศและรวบรวมผลการศึกษาทั้งหมดจัดพิมพ์เป็นหนังสือวิชาการเล่มแรกเกี่ยวกับกล้วยไม้ในประเทศไทย โดยใช้ชื่อว่า “The Orchids of Thailand: A Preliminary List” เมื่อปี พ.ศ. 2502

2.4 การอนุรักษ์กล้วยไม้

ปัจจุบันกล้วยไม้ป่าของไทยลดจำนวนลงอย่างรวดเร็วและต่อเนื่อง โดยเฉพาะในพื้นที่ป่าอนุรักษ์ต่างๆ ทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทย ซึ่งแต่เดิมเป็นพื้นที่ที่มีความหลากหลายของกล้วยไม้เป็นจำนวนมหาศาล ทั้งจำนวนชนิดพันธุ์ และจำนวนประชากร ในปัจจุบันกลับลดจำนวนลงด้วยเหตุนี้สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถ จึงมีพระกระแสรับสั่งให้มีการอนุรักษ์กล้วยไม้ป่าอย่างเร่งด่วน อันเป็นที่มาของการจัดตั้ง “โครงการคืนกล้วยไม้สู่ไพรพฤกษ์” ในพระราชดำริของ

สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถ ที่มุ่งเน้นการเพาะเลี้ยงและขยายพันธุ์กล้วยไม้ป่าเพื่อกลับคืนสู่ธรรมชาติ อันเป็นแนวทางหนึ่งของภาครัฐที่มุ่งหวังเพื่อการอนุรักษ์ ปัจจุบันโครงการนี้ยังคงดำเนินงานอย่างต่อเนื่อง โดยกองทัพบกร่วมกับมหาวิทยาลัยแม่โจ้ นอกจากนี้ยังมีการรวบรวมชนิดพันธุ์กล้วยไม้ป่าเพื่ออนุรักษ์และการศึกษาไว้ตามสวนพฤกษศาสตร์ที่สำคัญต่างๆ ได้แก่ สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ (สลิล, 2549) การดำเนินการอนุรักษ์พันธุ์กล้วยไม้

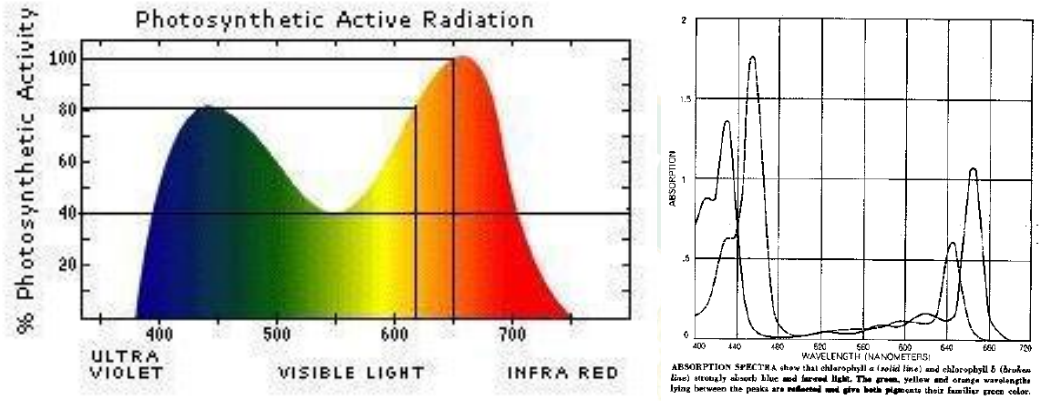
2.4.1 การอนุรักษ์ในสภาพหรือแหล่งธรรมชาติ วิธีที่ดีที่สุดในการอนุรักษ์กล้วยไม้คือการอนุรักษ์ในแหล่งธรรมชาติที่กล้วยไม้นั้นเจริญเติบโตอยู่ดังนั้น จึงต้องมีการวิจัยถึงสภาพนิเวศวิทยาที่กล้วยไม้นั้นเจริญ เติบโต รวมทั้งการกระจายพันธุ์ ประชากรและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม แต่เนื่องจากการทำลายพื้นที่ป่า และพื้นดินทั่วไปเป็นไปอย่างรวดเร็ว จึงไม่สามารถที่จะรอข้อมูลทางนิเวศวิทยาดังนั้นจึงควรดำเนินการทันทีอย่างเร่งด่วน โดยปรึกษานักวิทยาศาสตร์ที่ทราบข้อมูลเกี่ยวกับการกระจายพันธุ์ในท้องที่นั้น

2.4.2 การอนุรักษ์ในสภาพนอกแหล่งธรรมชาติ การอนุรักษ์พันธุ์กล้วยไม้นอกแหล่งธรรมชาติเกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์และการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ วัตถุประสงค์หลักในการอนุรักษ์พันธุ์แบบนี้เป็นการทำกล้วยไม้ที่หายากและเป็นพันธุ์ใหม่สามารถที่จะให้มีจำนวนต้นเพียงพอในทันที การเก็บจากป่าต้องมีขั้นตอนที่เข้มงวดเพื่อป้องกันไม่ให้ทำลายประชากรในธรรมชาติ เมื่อขยายพันธุ์ได้เพียงพอก็ไม่มีความจำเป็นต้องเก็บจากป่า (ครรชิต, 2547)

2.5 บทบาทของแสงที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช

แสงมีความสำคัญและจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตทั้งพืชและสัตว์ แสงสามารถอธิบาย ได้ในเชิงปริมาณ (ความเข้มของแสง) และในเชิงคุณภาพ (ความยาวคลื่นของแสง) การวัดปริมาณของแสง หรือจำนวนพลังงานรวมที่แสงผลิตออกมา จะอยู่ ในรูปของพลังงานต่อพื้นที่ มีหน่วยเป็นวัตต์ต่อตารางเมตร (W/m^2) หรือเทอมของจำนวนโฟตอน (Moles of photons) หน่วยเป็นไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ($\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$) แสงธรรมชาติที่มาจากดวงอาทิตย์ประกอบด้วยสเปกตรัมของแสง (Light spectrum) ในช่วงความยาวคลื่นแสงระหว่าง 250-3,000 นาโนเมตร (nm) การที่แสงมีความยาวคลื่นแตกต่างกัน ทำให้เกิดสีที่แตกต่างกันไปด้วยแสงที่พืชนำมาใช้ประโยชน์ในการสังเคราะห์ด้วยแสงเพื่อการเจริญเติบโต สร้างใบ ดอก และผล คือ แสงในช่วงที่มนุษย์มองเห็น (Visible light) ซึ่งเป็นแสงที่มีความยาวคลื่น 380-770 นาโนเมตร แต่จะมีช่วงแสงเฉพาะที่พืชใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสง ที่เรียกว่า Photo Synthetically Active Radiation (PAR) อยู่ ในช่วงความยาวคลื่น 400-700 นาโนเมตร ซึ่งสำคัญมากต่อพืชในการใช้พลังงานเพื่อสังเคราะห์

ด้วยแสง จากภาพที่ 5 พบว่าพืชจะดูดซึมแสงเพื่อสร้างคลอโรฟิลด์ ชนิด a และ b (Chlorophyll molecules type a & b) ได้ดีที่สุดระหว่างความยาวคลื่น 400-480 นาโนเมตร (แสงสีน้ำเงิน) และระหว่าง 630-680 นาโนเมตร (แสงสีแดง) โดยช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 400-700 นาโนเมตร พืชต้องการแสงเหล่านั้นในช่วงเวลาใดบ้าง และต้องการแสงสีอะไรบ้าง เพื่อใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง การเพาะเมล็ด และการสร้างดอก ใบ และผลที่ดีที่สุด พิจารณาได้จากตารางที่ 1 (นภัทร และไชยยันต์, 2560)



ภาพที่ 6 PAR wavelengths และการดูดกลืนคลื่นแสงเพื่อใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช
ที่มา: (นภัทร และไชยยันต์, 2560)

2.5.1 ความเข้มของแสง (Light Intensity)

ความเข้มของแสง คือ ปริมาณแสงทั้งหมดที่พืชได้รับ ซึ่งความเข้มของแสงจะแตกต่างกันตามพื้นที่ เวลา ฤดูกาล และระยะห่างจากเส้นศูนย์สูตรของโลก ในพื้นที่เดียวกันความเข้มของแสงจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นตั้งแต่ดวงอาทิตย์ขึ้นจนถึงเที่ยงวัน หรือในช่วงบ่าย จากนั้นจะค่อยๆ ลดลงไปจนกระทั่งดวงอาทิตย์ตก บริเวณเส้นศูนย์สูตรของโลกจะมีความเข้มของแสงสูงที่สุดและค่อยๆ ลดลงตามเส้นรุ้งที่มุ่งไปหาขั้วโลกในช่วงเวลาเดียวกัน อิทธิพลของความเข้มของแสงต่อการ เจริญเติบโตของพืช คือ

1. ความเข้มของแสงที่เหมาะสมโดยที่มีปัจจัยอื่นๆ เหมาะสมและการหายใจเป็นปกติ การสังเคราะห์แสงจะมีอัตราสูง ทำให้ได้อาหารเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตมาก ระดับความเข้มของแสงที่เหมาะสมต่อพืชแต่ละชนิดจะแตกต่างกัน อาจแบ่งพืชตามความต้องการความเข้มของแสงออกได้ดังนี้

- พืชในร่ม เป็นพืชที่ต้องการความเข้มของแสงน้อยจึงจะเจริญเติบโตได้ดี พืชพวกนี้ถ้านำไปอยู่กลางแดดที่มีความเข้มของแสงสูง ใบจะไหม้และต้นชะงักการเจริญเติบโต พืชพวกนี้มักนิยมปลูกไว้ในร่ม ตามชายคาบ้าน บริเวณข้างหน้าต่าง และไม้ประดับอาคารสถานที่

- พืชกึ่งร่มกึ่งแจ้ง เป็นพืชที่ต้องการแสงที่มีการพรางหรือลดความเข้มของแสงลงแล้ว พืชพวกนี้นิยมปลูกในที่ร่มที่มีแสงแดดรำไร
- พืชกลางแจ้ง พวกนี้ต้องการความเข้มของแสงสูง มีการเจริญเติบโตได้ดีในที่กลางแจ้ง พวกนี้จะเป็นพืชที่ปลูกอยู่ทั่วไป

2. ความเข้มของแสงที่ต่ำเกินไป เมื่อความเข้มของแสงไม่เพียงพอ จะทำให้มีอัตราการเจริญเติบโตต่ำและให้ผลผลิตน้อย หรือผลผลิตมีคุณภาพต่ำ เพราะในการรวมตัวของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์กับน้ำในปฏิกริยาสังเคราะห์แสงนั้น ขั้นตอนของขบวนการนี้ต้องการพลังงานที่มีปฏิกริยาที่ใช้แสงเป็นตัวกระตุ้นจึงจะเกิดขึ้นได้ กรณีที่แสงมีความเข้มต่ำ พลังงานที่ใช้ในการรวมตัวของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์กับน้ำจะมีน้อย อัตราการสังเคราะห์แสงจะต่ำ ส่งผลให้มีอาหารน้อยตามไปด้วย ซึ่งอาหารจากการสังเคราะห์แสงนี้จะเป็นสารตั้งต้นในการสร้างสารประกอบที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตอื่น ๆ เมื่อพืชมีอาหารต่ำอยู่แล้ว การสร้างสารทำเป็นต่อการเจริญเติบโตจะเกิดได้น้อย พืชจะมีการเจริญเติบโตช้า และมีผลผลิตต่ำ หรือผลผลิตมีคุณภาพต่ำ

3. ความเข้มของแสงที่สูงเกินไป จะส่งผลลบต่อพืชดังนี้

- ปริมาณคลอโรฟิลล์ (Chlorophyll content) ความเข้มของแสงที่สูงเกินไปจะทำให้พืชบางชนิดมีปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลง หรือคลอโรฟิลล์มีประสิทธิภาพต่ำลง การสังเคราะห์แสงจะต่ำไปด้วย
- น้ำ แสงที่มีความเข้มมากเกินไปจะทำให้อุณหภูมิของใบเพิ่มขึ้นอย่างมาก ทำให้พืชมีอัตราการคายน้ำสูง หากอัตราการดูดน้ำของรากไม่สมดุลกับอัตราการคายน้ำ พืชจะแสดงอาการขาดน้ำ
- กิจกรรมของน้ำย่อย (Enzymes) แสงที่มีความเข้มมากเกินไปทำให้อุณหภูมิของใบสูงขึ้น เป็นผลให้ระบบน้ำย่อยลดการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นแป้งลง ทำให้พืชมีการสะสมน้ำตาลแทนแป้ง นอกจากนี้น้ำย่อยที่มีส่วนในการสังเคราะห์แสงก็จะลดกิจกรรมลงด้วยทำ ให้อัตราการสังเคราะห์แสงลดลง (สังคม, ม.ป.ป.)

2.5.2 คุณภาพของแสง (Light quality) หรือความยาวของคลื่นแสง (Wavelength)

แสงมีคุณสมบัติเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า มีความยาวคลื่นหลายระดับ โดยที่แสงอาทิตย์ประกอบด้วยแสงที่มีความยาวคลื่นอยู่ระหว่าง 225–2,500 นาโนเมตร (nanometer, nm, 1 nm = 10-7 cm) แต่แสงอาทิตย์ที่ตกลงมายังพื้นโลก จะมีความยาวคลื่นระหว่าง 310-2,300 nm ทั้งนี้เนื่องจาก คลื่นสั้น หรือแสงเหนือม่วง (Ultra Violet, UV) ซึ่งเป็นแสงที่มีอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต โดยส่วนใหญ่จะถูกดูดซับไว้ โดยชั้นของโอโซน (ozone) ในบรรยากาศ ส่วนแสงที่มีความยาวคลื่น

มากกว่าแสงสีแดง (Infra-red) ความยาวคลื่นมากกว่า 2,300 nm จะถูกดูดซับไว้โดยไอน้ำและคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งแสงอาทิตย์ที่ตกลงมายังพื้นผิวโลก อาจแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ

1. คลื่นแสงที่มองไม่เห็น (Invisible light) ได้แก่ แสงเหนือม่วง (Ultra Violet, UV) ช่วงความยาวคลื่น ต่ำกว่า 390 นาโนเมตร เป็นตัวการในการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช และแสง Infra-red ช่วงความยาวคลื่นสูงกว่า 810 นาโนเมตร จะทำให้ปล้องของพืชยืดยาวออก

2. คลื่นแสงที่มองเห็น (Visible light) อยู่ในช่วงความยาวคลื่น 390-810 nm แต่ละช่วงความยาวคลื่นจะมีสีต่างกัน แสงในกลุ่มนี้จะมีผลต่อพืช ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างสีของแสง ความยาวคลื่นแสง และประโยชน์ต่อพืช

ช่วงคลื่น (นาโนเมตร)	**สี**	**ประโยชน์ต่อพืช**
380-410	ม่วง	เกี่ยวข้องกับการตอบสนองของพืชต่อแสงที่เรียกว่า Phototropism เช่น การที่ดอกไม้บางชนิดหันเข้าหาแสง การโค้งงอของพืชเข้าหาแสง เป็นต้น มีความสำคัญต่อการสังเคราะห์แสง (ที่ 430 สำหรับคลอโรฟิลล์ เอ และ 453 nm สำหรับคลอโรฟิลล์ บี) และความเข้มต่ำๆ มีความจำเป็นในการเพาะเมล็ดและการอนุบาลพืช
411-425	คราม	
426-495	น้ำเงิน	
495-566	เขียว	ไม่มีความจำเป็น แต่มีส่วนช่วยในการสังเคราะห์ด้วยแสง
566-589	เหลือง	มีส่วนช่วยในการสังเคราะห์ด้วยแสง และส่งเสริมการงอกของเมล็ด
589-627	ส้ม	ดีที่สุดสำหรับกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงสูงสุด
627-770	แดง	ส่งเสริมการงอกและหรือยับยั้งการงอกของเมล็ดพืชบางชนิด และมีความสำคัญต่อการสังเคราะห์แสง (ที่ 642 สำหรับคลอโรฟิลล์ เอ และ 662 nm สำหรับคลอโรฟิลล์ บี)
761-810	แดงไกล	ยับยั้งการงอกของเมล็ด

ที่มา : (นภัทร และไชยยันต์, 2560; สังคม, ม.ป.ป.)

2.5.3 ช่วงแสง (Light Duration or Photoperiod)

ช่วงแสง (Light Duration or Photoperiod) หมายถึง ระยะเวลายาวนานของแสงในแต่ละช่วงวัน ซึ่งจะแตกต่างกันตามฤดูกาล ความยาวของช่วงแสงจะมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการของพืชบางชนิดเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งอิทธิพลในการเปลี่ยนพืชจากระยะการเจริญเติบโตทางกิ่งใบ (Vegetative growth) ไปเป็นการเจริญเติบโตทางด้านการสืบพันธุ์

(Reproductive growth) นั่นคือ ช่วงแสงมีอิทธิพลต่อการออกดอกและการลงหัวของพืชบางชนิด การตอบสนองของพืชต่อช่วงแสงนี้ อาจแบ่งพืชออกเป็น

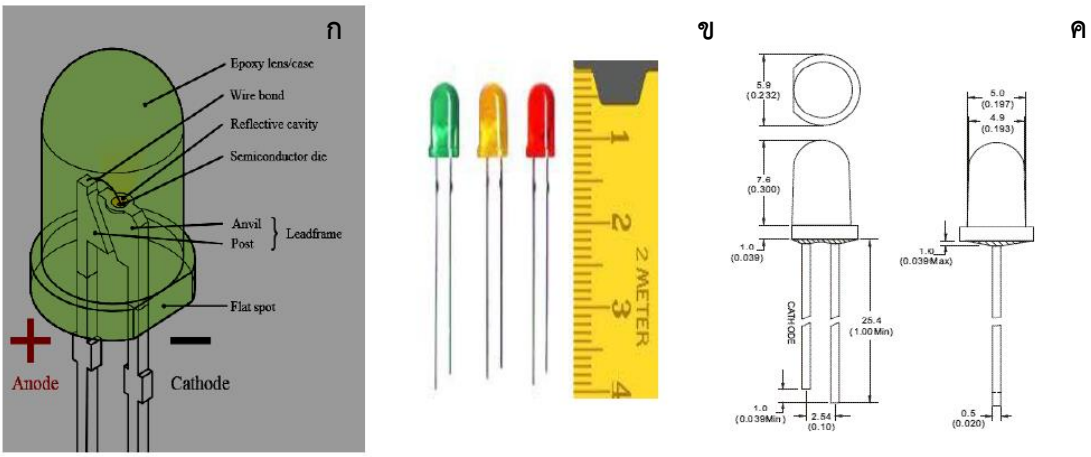
- พืชวันสั้น (Short day plant, SD) เป็นพืชที่ต้องการความยาวช่วงแสงสั้นกว่าช่วงวันวิกฤติ (Critical day length) จึงจะออกดอกได้
- พืชวันยาว (Long day plant, LD) เป็นพืชที่ต้องการความยาวช่วงแสง ยาวกว่าช่วงวันวิกฤติ จึงจะออกดอก
- พืชที่ไม่ตอบสนองต่อช่วงแสง (Day neutral plant) พืชพวกนี้เมื่อได้รับสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม หรือมีอายุเหมาะสม ก็จะสามารถออกดอกได้ โดยไม่เกี่ยวข้องกับช่วงแสง (สังคม, ม.ป.ป.)

2.6 ไดโอดเปล่งแสง

ไดโอดเปล่งแสง (Light-Emitting Diode : LED) เป็นอุปกรณ์สารกึ่งตัวนำอย่างหนึ่งจัดอยู่ในจำพวกไดโอด ที่สามารถเปล่งแสงในช่วงสเปกตรัมแคบ เมื่อถูกไบอัสทางไฟฟ้าในทิศทางไปข้างหน้า ปรากฏการณ์นี้อยู่ในรูปของ Electroluminescence สีของแสงที่เปล่งออกมานั้นขึ้นอยู่กับองค์ประกอบทางเคมีของวัสดุกึ่งตัวนำที่ใช้ และเปล่งแสงได้ใกล้ ช่วงอัลตราไวโอเลต ช่วงแสงที่มองเห็น และช่วงอินฟราเรด ผู้พัฒนาไดโอดเปล่งแสงขึ้นเป็นคนแรก คือ นิก โฮโลยัก (Nick Holonyak Jr.) แห่งบริษัทเจเนรัล อิเล็กทริก (General Electric Company) โดยได้พัฒนาไดโอดเปล่งแสง ในช่วงแสงที่มองเห็น และสามารถใช้งานได้ในเชิงปฏิบัติเป็นครั้งแรกเมื่อ ค.ศ. 1962 ที่สามารถเปล่งแสงสีแดงที่มีความสว่าง ออกมามากเพียงพอที่จะนำมาใช้ประโยชน์ได้ ทำให้ทั่วโลกเริ่มมีการตื่นตัววิจัยและพัฒนาในด้านนี้อย่างจริงจัง (หทัยชนก, 2556)

2.6.1 หลักการทำงานของไดโอดเปล่งแสง (Light-Emitting Diode : LED)

โครงสร้างประกอบไปด้วยสารกึ่งตัวนำสองชนิด (สารกึ่งตัวนำชนิด N และสารกึ่งตัวนำชนิด P) ประกบเข้าด้วยกัน มี ผิวข้างหนึ่งเรียบคล้ายกระจกเมื่อจ่ายไฟฟ้ากระแสตรงผ่านตัว LED โดยจ่ายไฟบวกให้ขาแอโนด (A) จ่ายไฟลบให้ขาแคโทด (K) ทำให้อิเล็กตรอนที่สารกึ่งตัวนำชนิด N มีพลังงานสูงขึ้น จนสามารถวิ่งข้ามรอยต่อจากสารชนิด N ไปรวมกับโฮลในสารชนิด P การที่อิเล็กตรอนเคลื่อนที่ผ่านรอยต่อ PN ทำให้เกิดกระแสไหล เป็นผลให้ระดับพลังงานของอิเล็กตรอนเปลี่ยนไปและคายพลังงานออกมาในรูปคลื่นแสง (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 หลอดไฟ LED (ก) โครงสร้างภายในของหลอดไฟ LED (ข) ความสูงของหลอดไฟ LED (ค) ลักษณะของตัวหลอดไฟ LED

ที่มา: (หทัยชนก, 2556)

2.6.2 ข้อดีและข้อจำกัดของหลอดไฟ LED (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบข้อดีและข้อจำกัดของหลอดไฟ LED เพื่อประโยชน์ในการใช้งาน

ข้อดีของหลอดไฟ LED	ข้อจำกัดของหลอดไฟ LED
1. มีประสิทธิภาพการให้แสงสว่างสูง 2. ใช้พลังงานน้อย 3. ทนต่อการสั่นสะเทือนและแรงกระแทก 4. สามารถเปิดปิดได้บ่อยครั้ง และเมื่อเปิดจะให้แสงสว่างโดยทันที 5. อายุการใช้งานยาวนานถึง 100,000 ชั่วโมง 6. สามารถควบคุมคุณภาพของแสงที่ปล่อยออกมาได้ 7. ปล่อยความร้อนออกมาน้อยมาก ทำให้ลดการสูญเสียพลังงานไฟฟ้า 8. การดูแลรักษาต่ำ 9. น้ำหนักเบา ขนาดเล็ก	1. ในการนำหลอด LED มาใช้งานต้องมีการทดสอบสีว่า แสงที่ออกมาเป็นแสงสีที่ถูกต้องหรือไม่ 2. ราคาหลอด LED ยังแพงกว่าหลอดฟลูออเรสเซนต์อยู่มาก

ที่มา: (นภัทร และไชยยันต์, 2560)

2.7 สารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

พฤกษเคมี (Phytochemicals) เป็นการศึกษาเกี่ยวกับสารเคมีชนิดต่างๆ ที่พบในพืช โดยมีขอบเขตเกี่ยวกับการสกัดสารสำคัญจากพืช การแยกสารให้บริสุทธิ์ การหาสูตรโครงสร้าง และการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารเคมีที่แยกได้จากพืช การวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญในพืช ตลอดจนการศึกษากระบวนการชีวสังเคราะห์ และกระบวนการสลายสารเคมีในพืช เป็นต้น (นพมาศ, 2544)

กลุ่มสารสำคัญในพืช สารเคมีที่พบในพืชมีจำนวนมาก สามารถแบ่งกลุ่มสารเคมีในพืชตามสารตั้งต้นของสารเหล่านี้ได้ 2 กลุ่มใหญ่ คือ สารปฐมภูมิ (Primary metabolites) และสารทุติยภูมิ (Secondary metabolites)

1.1 สารปฐมภูมิ (Primary metabolites) เป็นสารเคมีพื้นฐานที่พบในพืชชั้นสูงโดยทั่วไปพบได้ในพืชเกือบทุกชนิด เป็นกลุ่มสารที่เกี่ยวข้องกับเมตาโบลิซึมที่จำเป็นของเซลล์ส่วนใหญ่ เป็นสารที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืช และกระบวนการชีวสังเคราะห์กรดอะมิโนบางชนิด ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต ไขมัน โปรตีน กรดอะมิโน เอนไซม์ เป็นต้น

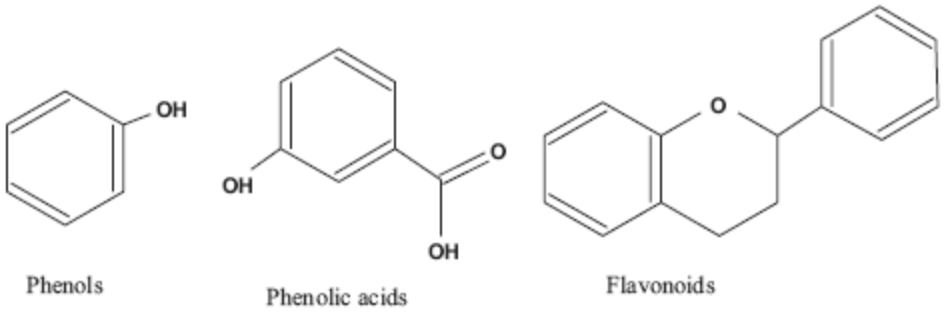
1.2 สารทุติยภูมิ (Secondary metabolites) เป็นสารประกอบที่พบแตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด สารเหล่านี้มักแสดงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอย่างชัดเจน ตัวอย่างของสารพฤกษเคมี ได้แก่ แทนนิน (tannin) สารประกอบพอลิฟีนอลิก (polyphenolic compound) แอนทราควิโนน (anthraquinones) ซาโปนิน (saponins) อัลคาลอยด์ (alkaloids) และคูมาริน (coumarins) สารพฤกษเคมีในพืชมีหลายชนิดแต่ละชนิดมีฤทธิ์ต่าง ๆ กันไป แต่โดยส่วนใหญ่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ เนื่องจากมีโครงสร้างที่มีความซับซ้อนและมีแนวโน้มให้อิเล็กตรอนได้ดี (ดาลัด, 2551) โดยกลุ่มสารแต่ละชนิดจะมีลักษณะเฉพาะแตกต่างกันไป

2.7.1 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic Compound) (พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา, 2010)

สารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) หรือสารประกอบฟีนอล เป็นสารที่พบตามธรรมชาติในพืชหลายชนิด เช่น ผัก ผลไม้ เครื่องเทศ สมุนไพร ถั่วเมล็ดแห้ง เมล็ดธัญพืช ซึ่งถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในการเจริญเติบโต สารประกอบฟีนอลมีโภชนเภสัช ซึ่งสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพ คือ มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลิสระ (antioxidant) สามารถละลายได้ในน้ำ

2.7.1.1 โครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบฟีนอล

สารประกอบฟีนอล มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวน ที่เป็นอนุพันธ์ของวงแหวนเบนซิน มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) อย่างน้อยหนึ่งหมู่ต่ออยู่ สารประกอบฟีนอลพื้นฐาน คือ สารฟีนอล (phenol) ในโมเลกุลประกอบด้วยวงแหวนเบนซิน 1 วง และหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่



ภาพที่ 8 โครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบฟีนอล

ที่มา: (พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา, 2010)

สารประกอบฟีนอลที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด และมีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน ตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก (Phenolic acids) ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ เช่น ลิกนิน (Lignin) กลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบคือ สารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ (Flavonoid)

สารประกอบฟีนอลที่พบในพืชมักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (Glycoside) น้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดในโมเลกุลของสารประกอบฟีนอล คือ น้ำตาลกลูโคส (Glucose) และพบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลด้วยกันเอง หรือสารประกอบฟีนอลกับสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดอินทรีย์ (Organic acid) รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีน แอลคาลอยด์ (Alkaloid) และเทอร์พีนอยด์ (Terpenoid) เป็นต้น

สารประกอบฟีนอล พบอยู่ในส่วนของช่องว่างภายในเซลล์ (Cell vacuole) ในส่วนต่างๆ ของพืช เป็นสารที่ถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในกระบวนการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์ของพืชแต่ละชนิด เช่น ถั่วเมล็ดแห้ง ได้แก่ ถั่วเหลือง ถั่วลิสง เมล็ดธัญพืช เช่น ข้าว และ งา ผลไม้ ได้แก่ องุ่น ส้ม กระท้อน เครื่องเทศ เช่น พริกไทย พริก ขิง กระเทียม หอมแดง หอมหัวใหญ่ พืชเครื่องดื่ม ได้แก่ ชา โกโก้ และพืชหัว ได้แก่ มันเทศ

ตัวอย่างของสารประกอบฟินอลที่พบตามธรรมชาติในพืช เช่น จินเจอรอล (Gingerol) พบใน ขิง ยูจินอล (Eugenol) ใน กานพลู ตะไคร้ ใบกระเพรา แคปไซซิน (Capsaicin) ในพริก เคอคิวมิน (Curcumin) ในขมิ้น แคทีชิน (Catechin) ในชา

ตัวอย่างของสารประกอบฟีนอล ประเภทสารสังเคราะห์ เช่น BHT, BHA และ TBHQ

2.7.1.2 สรรพคุณของสารประกอบฟีนอล

1. ประโยชน์ต่อสุขภาพ สารประกอบฟีนอลหลายชนิดมีฤทธิ์เป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน และเป็นสารต้านการกลายพันธุ์ (Antimutagens) มีสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพ สามารถป้องกันโรคต่างๆ โดยเฉพาะโรคหัวใจ ขาดเลือด และมะเร็ง โดยสารประกอบฟีนอล จะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระ (free radical) และไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่นๆ โดยใช้ตัวเองเป็นตัวรับอนุมูลอิสระ (free radical) ทำให้ยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ ที่มีอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุ แต่สารต้านอนุมูลอิสระจะถูกทำลายไปด้วย
2. ใช้เพื่อการถนอมอาหาร โดยใช้เป็นสารกันหืน ป้องกันปฏิกิริยาการออกซิเดชันของลิพิด (lipid oxidation)

2.7.2 สารประกอบฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) (วิภพ, 2556)

ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เป็นกลุ่มของสารประกอบ ที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นฟีนิลเบนโซไพโรน (Phenylbenzopyrones) ซึ่งมีโมเลกุลขนาดเล็กและมีโครงสร้างประกอบ ด้วยการจัดเรียงตัวของคาร์บอน 15 ตัว (C6 - C3 – C6) เป็นวงแหวน 3 วง ได้แก่ วงแหวนเบนซีน (Benzene ring) 2 วง (A and B) เชื่อมต่ออยู่กับวงแหวนไพแรน (Heterocyclic pyran ring) ซึ่งอยู่ตรงกลางของโครงสร้าง (C)8 (ภาพที่ 8) โดยสามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยตามตำแหน่งของหมู่ฟังก์ชัน ซึ่งแทนที่ในโครงสร้างพื้นฐานได้เป็น 7 กลุ่ม ได้แก่

1. ฟลาโวนอล (Flavonols) เช่น เคอร์ซิติน (Quercetin) แคมป์เฟอรอล (Kaempferol) ไมริซิติน (Myricetin)

2. ฟลาโวน (Flavones) เช่น ลูติโอลิน (Luteolin), อาพิจินิน (Apigenin) ไครซิน (Chrysin)

3.ฟลาวาโนน (Flavanones) เช่น เฮสเพอริติน (Hesperetin) นารินจินิน (Naringenin) อีริโอดิคทิออล (Eriodictyol)

4. ฟลาวานอล (Flavanols) เช่น แคทิชิน (Catechin), แกลโลแคทิชิน (Gallocatechin) อีพิแคทิชิน (Epicatechin) อีพิแกลโลแคทิชิน (Epigallocatechin) อีพิแคทิชิน-3-แกลเลต (Epicatechin-3-gallate) อิพิแกลโลแคทิชิน-3-แกลเลต (Epigallocatechin-3-gallate)

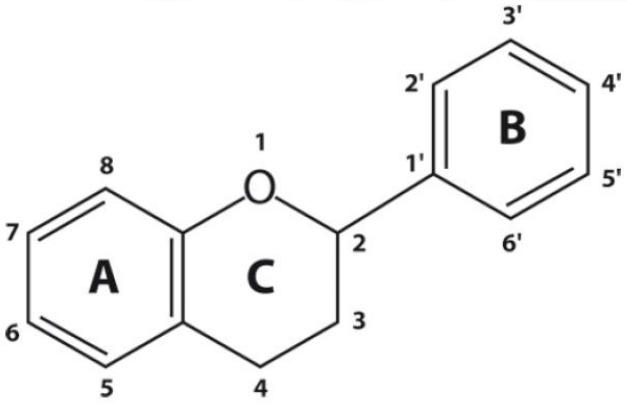
5. ฟลาวาโนนอล (Flavanonols) เช่น แทกซิโฟลิน (Taxifolin)

6. ไอโซฟลาโวน (Isoflavones) เช่น เดดซีน (Daidzein), จีนิสตีน (Genistein) ไกลซิตีน (Glycitein) ฟอร์โมโนเนติน (Formononetin)

7. แอนโธไซยานิดิน (Anthocyanidins) เช่น ไซยานิดิน (Cyanidin), เดลฟินิดิน (Delphinidin) มาลวิดิน (Malvidin) พีลาร์โกนิดิน (Pelargonidin) พีโอนิดิน (Peonidin) พีทูนิดิน (Petunidin)

ฟลาโวนอยด์เป็นสารเมแทบอไลท์ขั้นทุติยภูมิในพืชสร้าง จากกรดอะมิโนที่มีวงแหวน (Aromatic amino acids) ได้แก่ phenylalanine, tyrosine และ malonate โดยทำหน้าที่เป็นสารให้สีที่สำคัญในพืช ช่วยในการกรองรังสีอัลตราไวเลต และการช่วยตรึงไนโตรเจน

ฟลาโวนอยด์พบได้ใน ผัก ผลไม้ ธัญพืช พืชตระกูลถั่ว เครื่องเทศ สมุนไพร ลำต้น กิ่งก้าน ดอก และเมล็ด รวมถึงเครื่องดื่มบางชนิด เช่น ชา โกโก้ เบียร์ และไวน์ เป็นต้น ฟลาโวนอยด์ที่พบในพืชส่วนใหญ่อยู่ในรูปที่จับอยู่กับน้ำตาลในรูปเบต้าไกลโคไซด์ (β-glycosides) ในระบบทางเดินอาหารฟลาโวนอยด์จะถูกย่อยโดยน้ำย่อย และถูกดูดซึมที่ลำไส้เล็กเป็นส่วนใหญ่ ส่วนฟลาโวนอยด์ที่ ไม่ถูกดูดซึมที่ลำไส้เล็กและฟลาโวนอยด์ที่ถูกดูดซึมแล้วถูก ขับออกทางน้ำดีจะเข้าสู่ลำไส้ใหญ่และถูกสลายโดยจุลชีพ บางชนิดทำให้ได้กรดฟีนอลิกซึ่งจะถูกดูดซึมกลับเข้ากระแสเลือดอีกครั้ง โดยฟลาโวนอยด์ที่อยู่ในกระแสเลือดก็จะไปยังเนื้อเยื่อของอวัยวะต่างๆ ทั่วร่างกาย และสามารถถูกกำจัดได้ทางไต โดยที่เซลล์ของเนื้อเยื่อต่างๆ ฟลาโวนอยด์อาจผ่านกระบวนการเมแทบอลิซึมหรือเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง ซึ่งอาจทำให้ฤทธิ์ทางชีวภาพเปลี่ยนแปลงไปได้



ภาพที่ 9 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์

ที่มา: (วิภพ, 2556)

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.8.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสำรวจกล้วยไม้ในประเทศไทย

อนุพันธ์ และคณะ (2550) การสำรวจกล้วยไม้ป่าบริเวณอุทยานแห่งชาติภูเรือ อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย ตั้งแต่เดือนมีนาคม 2546 ถึง มีนาคม 2548 พบจำนวน 3 วงศ์ย่อย คือ Spiranthoideae จำนวน 2 สกุล 2 ชนิด วงศ์ย่อย Orchidoideae จำนวน 2 สกุล 6 ชนิด และวงศ์ย่อย Epidendroideae จำนวน 37 สกุล 82 ชนิด รวมทั้งหมด 41 สกุล รวม 90 ชนิด และไม่สามารถจำแนกชนิดได้ 1 ชนิดในสกุล *Flickingeria* สกุลกล้วยไม้ที่พบมากที่สุด คือสกุล *Dendrobium* 20 ชนิดตามด้วย สกุล *Bulbophyllum* 11 ชนิด สกุล *Eria* 7 ชนิด สกุล *Habenaria* 5 ชนิด สกุล *Coelogyne* 4 ชนิด สกุล *Pholidota* 3 ชนิด สกุล *Liparis* สกุล *Cymbidium* สกุล *Calanthe* สกุล *Panisea* สกุล *Aerides* สกุลละ 2 ชนิด และอีก 30 สกุล ที่สำรวจพบสกุลละ 1 ชนิด คือสกุล *Acriopsis, Anoectochilus, Anthogonium, Aphyllorchis, Appendicula, Arundina, Bromheadia, Chiloschista, Cleisomeria, Cleisostoma, Doritis, Drymoda, Epigeneium, Eulophia, Flickingeria, Gastrochilus, Luisia, Nervilia, Ornithochilus, Otochilus, Pecteilis, Polystachya, Rhytionanthos, Sarcoglyphis, Schoenorchis, Spathoglottis, Thrixspermum, Trichotosia, Vanda* และสกุล *Zeuxine* ตามลำดับ

ปกรณ์ และฉัตรชัย (2551) ได้ศึกษากล้วยไม้ดินบางชนิดในอุทยานแห่งชาติภูหินร่องกล้า จังหวัดพิษณุโลก ได้ดำเนินการตั้งแต่เดือน กรกฎาคม พ.ศ. 2549 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2550 สำรวจและเก็บตัวอย่างกล้วยไม้ดินในภาคสนาม 7 จุดสำรวจ ครอบคลุมสังคมพืช 2 ชนิด คือ ป่าดิบเขาต่ำ ที่ความสูงจากระดับน้ำทะเล 1,100-1,650 เมตร และป่าละเมาะเขาต่ำ ที่ความสูงจากระดับน้ำทะเล 1,100-1,650 เมตร พบกล้วยไม้ดิน 18 สกุล 24 ชนิด ได้แก่ เหยือกน้ำดอย (*Acanthephippium striatum*) เอื้องดินสยาม (*Anoectochillus siamensis*) เอื้องน้ำต้น (*Calanthe cardioglossa*) อั้ว (*C. triplicata*, *Chrysoglossum ornatum*, *Collabiopsis formosanum*, *Collabium chinense*), หูเสือ (*Crepidium acuminatum*) เอื้องปากนกแก้ว (*Cymbidium lowianum*) สิกุนคล (*Dienia ophrydis*) กล้วยปลวก (*Epipogium roseum*) นางอั้วน้อย (*Habenaria dentata*) ปดแดง (*H. rhodocheila*) เอื้องผักปราบ (*Herpysma longicaulis*), *Liparis nigra* Seidenf., หญ้าเปราะนก (*L. regnieri*) เอื้องข่าวสาร (*L. viridiflora*), *Nephelaphyllum tenuiflorum*, เอื้องคำผา (*Phaius flavus*) กล้วยไม้ดง (*P. mishmensis*) เอื้องเหลืองพิศมร (*Spathoglottis affinis*) เอื้องสีลาน้อย (*Tainia latifolia*) เอื้องสีลา (*T. viridifusca*) และเศวตสอดสี (*Thunia alba*) ในจำนวนนี้พบกล้วยไม้ดินที่จัดอยู่ในสถานภาพมีแนวโน้มใกล้สูญพันธุ์ 1 ชนิด คือ เอื้องปากนกแก้ว (*Cymbidium lowianum)* และเป็นพืชหายาก

5 ชนิด ได้แก่ เหยือกน้ำดอย *(Acanthephippium striatum)* เอื้องน้ำต้น *(Calanthe cardioglossa)* เอื้องเถาดิน *(Collabiopsis formosanum)* เอื้องหางกระรอก (*Liparis regnieri)*และกล้วยไม้ดง *(Phaius mishmensis)*

2.8.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการประยุกต์ใช้แสง LED

จิตราพรรณ (2550) ประยุกต์ใช้หลอด LED ให้แสงประดิษฐ์แทนหลอดฟลูออเรสเซนต์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ โดยใช้หลอด LED สีแดงและสีน้ำเงิน คือ หลอด LED สีแดง 90 % และสีน้ำเงิน 10 % พบว่าการใช้หลอด LED ช่วยในการพัฒนาตาบนก้านช่อดอกได้สูงกว่าการใช้หลอดฟลูออเรสเซนต์ และช่วยเพิ่มจำนวนเนื้อเยื่อมากกว่า 2.5 เท่า และในการเลี้ยงต้นกล้าขนาดเล็กในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 120 วัน ทำให้ต้นกล้ามีน้ำหนักสดและความสูงมากกว่าต้นกล้าที่เลี้ยงด้วยแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ อย่างมีนัยสำคัญ

อนุพันธ์ และแสงเดือน (2550) ศึกษาผลของแสงต่อการงอกและพัฒนาการของเมล็ดกล้วยไม้เอื้องคำผักปราบ (*Dendrobium ochreatum* Lindl.) ในหลอดทดลอง โดยการนำเมล็ดจากฝักอายุ 8 เดือน มาเพาะบนอาหารแข็งดัดแปลงสูตร VW (1949) ที่เติมน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร น้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลิตรต่อลิตร มันฝรั่ง 150 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น 8 กรัมต่อลิตร โดยให้ระยะเวลาที่ได้รับแสงแตกต่างกัน คือ ได้รับแสง 8 ชั่วโมงต่อวัน 16 สัปดาห์ ได้รับแสง 24 ชั่วโมงต่อวัน 16 สัปดาห์ ได้รับความมืด 4 สัปดาห์ แล้วตามด้วยแสง 8 ชั่วโมงต่อวัน 12 สัปดาห์ ได้รับความมืด 8 สัปดาห์ แล้วตามด้วยแสง 8 ชั่วโมงต่อวันอีก 8 สัปดาห์ และได้รับความมืดตลอด 16 สัปดาห์ พบว่า เมล็ดสามารถพัฒนาเป็นต้นอ่อนที่มีใบ 3 - 4 ใบ และรากอย่างน้อย 1 ราก ภายหลังการเพาะเมล็ดเป็นเวลา 12 สัปดาห์ และเมล็ดที่ได้รับความมืด 4 สัปดาห์ แล้วตามด้วยแสง 12 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดเป็นต้นอ่อนสูงที่สุดถึง 92.64 เปอร์เซ็นต์

วันทนา และคณะ (2558) ทำการศึกษาผลของหลอด LED ต่อการเพิ่มจำนวนโปรโตคอร์มไลท์บอดี้ (Protocorm-Like Bodies: PLBs) ของกล้วยไม้สกุลหวายโซเนียเอียในสภาพปลอดเชื้อทำโดยการเพาะเลี้ยง PLBs บนอาหารแข็งสูตร Vacin and Went ดัดแปลง ภายในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 40 $\mu molm^{-2}s^{-1}$ วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design มี 7 สิ่งทดลอง สิ่งทดลองละ 20 ซ้ำ โดยเลี้ยง PLBs ภายใต้แสงสีต่างๆ จากหลอด LED ได้แก่ แสงสีขาว สีแดง สีน้ำเงิน สีแดงกับสีขาว (1:1) สีน้ำเงินกับสีขาว (1:1) สีน้ำเงินกับสีแดง (1:1) เปรียบเทียบกับแสงสีขาวจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ (ชุดควบคุม) ให้แสงไฟเป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อวันเป็นเวลา 1 เดือน พบว่า PLBs ที่เลี้ยงภายใต้แสงสีแดงจากหลอด LED มีจำนวน PLBs ค่าอัตราเพิ่มปริมาณ น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งสูงที่สุด โดยมีจำนวน PLBs เพิ่มขึ้น

มากกว่าแสงสีขาวจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ถึง 28.6 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่แสงสีต่างๆ จากหลอด LED มีผลต่อการเพิ่มจำนวนของ PLBs ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่แสงสีแดงจากหลอด LEDส่งผลให้ PLBs มีปริมาณรงควัตถุ ได้แก่ คลอโรฟิลล์ a คลอโรฟิลล์ b คลอโรฟิลล์รวม และแคโรทีนอยด์มีปริมาณน้อยที่สุด ซึ่งส่งผลให้ PLBs มีสีเขียวซีด อย่างไรก็ตามปริมาณรงควัตถุดังกล่าวมีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ PLBs ที่เลี้ยงภายใต้แสงสีขาวจากหลอดฟลูออเรสเซนต์

แพรวรี และคณะ (2559) ได้ศึกษาผลของแสงสีจากหลอด LED ต่อการเพาะเลี้ยงกลีบดอกเบญจมาศสายพันธุ์แคนเทอร์ ภายใต้แหล่งกำเนิดแสงที่แตกต่างกันได้แก่ หลอด cool white แสงสีขาว หลอด LED แสงสีขาว แสงสีน้ำเงิน แสงสีแดง หลอด LED แสงสีน้ำเงิน:แสงสีแดง (อัตราส่วน 1:3) และเลี้ยงในสภาพไม่มีแสง เป็นเวลา 10 สัปดาห์ โดยเลี้ยงกลีบดอกเบญจมาศขนาด 0.5X0.5 เซนติเมตร บนสูตรอาหาร Murashige and Skoog (MS) ที่เติม α Naphthalene acetic acid (NAA) ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ N6-furfuryladenine (Kinetin) 4 มิลลิกรัมต่อลิตร นำไปวางเลี้ยงในที่อุณหภูมิ 25±3 องศาเซลเซียส วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์จำนวน 6 ทรีตเมนต์ พบว่า กลีบดอกเบญจมาศที่เลี้ยงภายใต้หลอด cool white แสงสีขาวมีอัตราการเกิดแคลลัสมากที่สุด คือ 96.00±0.00 เปอร์เซ็นต์ และขนาดแคลลัสใหญ่ที่สุด คือ 1.83±0.44 เซนติเมตร ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติ และชิ้นส่วนที่เลี้ยงภายใต้หลอด LED แสงสีแดง มีน้ำหนักสดแคลลัสมากที่สุด 0.74±0.55 กรัม และมีจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนมากที่สุดคือ 22.20±0.57 ยอดต่อชิ้นส่วน เมื่อวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ของแคลลัสที่เลี้ยงภายใต้หลอด LED แสงสีน้ำเงิน:สีแดง (อัตราส่วน 1:3) พบว่ามีปริมาณคลอโรฟิลล์เท่ากับ 1.60±0.15 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักสด ซึ่งมากกว่าการเลี้ยงแคลลัสภายใต้สภาพแสงจากแหล่งอื่นๆ การนำหลอด LED มาใช้ทดแทนหลอดฟลูออเรสเซนต์จึงเป็นทางเลือกหนึ่งเพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตพืชภายใต้สภาพปลอดเชื้อ

สุกัญญา และคณะ (2561) ได้ทำการทดลองศึกษาผลของแสง LED ต่ออัตราการเพิ่มจำนวนของ PLBs ของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์มิสเวิร์ด โดยนำก้อน PLBs มาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร Modified Vacin and Went (1949) ในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 25±1 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเข้มแสง 45-50 $\mu molm^{-2}s$ วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย PLBs ที่เลี้ยงภายใต้แสงสีขาวที่ได้จากหลอดไฟฟลูออร์เรสเซนต์ (FL: ชุดควบคุม) และแสงสีแดง (RL: 670 nm) หรือแสงสีน้ำเงิน (BL: 455 nm) จากหลอด LED 12 ชั่วโมงต่อวัน นาน 45 วัน พบว่าแสง RL ทำให้ PLBs มีค่า hue angle และปริมาณคลอโรฟิลล์ต่ำกว่า PLBs ที่อยู่ภายใต้แสง FL และแสง BL อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่งผลให้ PLBs มีสีเขียวซีด นอกจากนี้แสงจากทั้ง RL และ BL กระตุ้นให้ PLBs ที่มีขนาดของก้อนระหว่าง 0.5-1.0 เซนติเมตร มีจำนวนมากกว่าและมีน้ำหนักสดมากกว่า PLBs ที่อยู่ภายใต้แสง FL แต่อย่างไรก็ตามแสงจากหลอดแอลอีดีมีแนวโน้มทำให้อัตราการเพิ่มจำนวนของ PLBs มากกว่าแสง FL อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

Bello-Bello et al. (2015) ได้ทำการศึกษาผลของคุณภาพแสง LED ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนหน่อและการเจริญเติบโตของวานิลลา โดยทำการเพาะเลี้ยงหน่อของต้นวานิลลา ในสภาพปลอดเชื้อภายใต้ 5 คุณภาพแสง คือ หลอดฟลูออเรสเซนต์ หลอด LED สีขาว หลอด LED สีน้ำเงิน หลอด LED สีแดง และชุดหลอด LED สีน้ำเงินร่วมกับสีแดงอัตราส่วน 1:1 ผลการทดลองพบว่า หน่อของต้นวานิลลาที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอดหลอดฟลูออเรสเซนต์ หลอด LED สีขาว และชุดหลอด LED สีน้ำเงินร่วมกับสีแดงอัตราส่วน 1:1 มีจำนวนยอดต่อต้นเพิ่มขึ้นมากกว่า 10 หน่อ ยอดของต้นวานิลลามีความยาวมากกว่า 3 เซนติเมตร หลังการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีน้ำเงิน สีแดง สีน้ำเงินร่วมกับสีแดงอัตราส่วน 1:1 และสีขาว หน่อของต้นวานิลลาที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED น้ำเงินร่วมกับสีแดงอัตราส่วน 1:1 ให้ปริมาณน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งสูงที่สุด และพบว่าหน่อของต้นวานิลลาที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีขาวและหลอดฟลุออเรสเซนต์ ให้การเจริญเติบโตของหน่อ ความสูงของต้น จำนวนใบ จำนวนและความยาวของราก น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และปริมาณคลอโรฟิลล์ เพิ่มมากขึ้น กล่าวโดยสรุปว่า หลอด LED สีขาว หรือสีน้ำเงินร่วมกับสีแดงอาจใช้เป็นแหล่งกำเนิดแสงทางเลือกสำหรับการเพิ่มจำนวนยอด และหลอด LED สีขาว อาจใช้สำหรับการเจริญเติบโตในหลอดทดลอง

Shenyi et al. (2017) ได้ทำการรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับพฤกษเคมีเภสัชวิทยาและการใช้งานทางคลินิกของว่านไหมนา (*Anoectochilus roxburghii*) พบว่า ว่านไหมนา มีพฤกษเคมีที่สำคัญ คือ พอลิแซคคาไรด์ ฟลาโวนอยด์ ไกลโคไซด์ กรดอินทรีย์ สารประกอบที่ระเหยได้ สเตียรอยด์ เทอร์ปีน อัลคาลอยด์ และนิวคลีโอไซด์ สารเหล่านี้ได้รับการพิสูจน์แล้วว่าเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพทางเภสัชวิทยา เช่น ต้านเบาหวาน ต้านการอักเสบ ต้านไวรัส รักษาโรคตับและไต สารปรับปรุงระบบภูมิคุ้มกัน ต้านการระคายเคือง ยาระงับประสาท และต้านมะเร็ง ซึ่งพฤกษเคมีที่หลากหลายของว่านไหมานา กำลังถูกนำไปใช้กับผู้ป่วยที่มีภาวะเลือดคั่งในเลือดสูง เบาหวานชนิดที่ 2 โรคไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง การติดเชื้อโรค *Helicobacter pylori* และโรคหอบหืด

Shenyi et al. (2017) ได้ทำการวิจัยเพื่อศึกษาผลของคุณภาพแสงที่มีต่อคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยากายวิภาคศาสตร์ของใบ เอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ (superoxide dismutase, catalase และ peroxidase) ปริมาณรงควัตถุที่ใช้สังเคราะห์แสง และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (phenol, flavonoids และ polysaccharides) ของกล้วยไม้ดินว่านไหมนา(*Anoectochilus roxburghii*) โดยปลูกว่านไหมนา ภายใต้แสงที่ผ่านฟังก์ชันตัวกรองแสง 4 สี เป็นระยะเวลา 8 เดือน ได้แก่ ฟังก์ชันตัวกรองแสงชนิด แสงสีแดง (RF) แสงสีน้ำเงิน (BF) แสงสีเหลือง (YF) และฟังก์ชันตัวกรองแสงชนิดใส (ชุดควบคุม, CK) การทดลองพบว่ากล้วยไม้ดินว่านไหมนา ที่ผ่านการให้แสงสีน้ำเงินมีเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น น้ำหนักสด พื้นที่ใบ จำนวนปากใบ ปริมาณคลอโรฟิลล์ (คลอโรฟิลล์ เอ, คลอโรฟิลล์ บี, คลอโรฟิลล์ เอ + คลอโรฟิลล์ บี) เอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารออกฤทธิ์

ทางชีวภาพมากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนกล้วยไม้ดินว่านไหมนา ที่ผ่านการให้แสงสีแดงมีความสูงต้นและปริมาณสารฟีนอลิคมากกว่าชุดทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า กล้วยไม้ดินว่านไหมนา ที่ให้แสงสีน้ำเงินช่วยเพิ่มคุณภาพให้พืช เทคนิคนี้สามารถนำไปใช้ในการปลูกเพื่อผลิตกล้วยไม้ดินว่านไหมนาในปริมาณมากได้

Poobathy et al. (2018) ได้ทำการศึกษาออโตฟลูออเรสเซนส์และการวัดปริมาณไซยานิดินในกล้วยไม้อัญมณีสกุล *Anoectochilus* และว่านน้ำทอง (*Ludisia discolor*) โดยทำการศึกษาโครงสร้างภายในของใบ *Anoectochilus* sp. และว่านน้ำทอง ด้วยเทคนิค Free hand section และส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบไบร์ทฟิลด์และกล้องจุลทรรศน์แบบฟลูออเรสเซนต์ พบว่า ทุกส่วนของกล้วยไม้ดินทั้งสองชนิดมีลักษณะของพืชใบเลี้ยงเดี่ยวยกเว้นส่วนของใบที่มีลักษณะคล้ายใบเลี้ยงคู่ เนื่องจากส่วนเนื้อใบ (Mesophyll) มีโครงสร้าง 2 แบบ คือ Palisade mesophyll และ Spongy mesophyll โดยเนื้อใบมีลักษณะเป็นรูพรุน และไซยานิดินถูกตรวจพบในใบของว่านน้ำทองจากการวิเคราะห์ด้วย HPLC

Wang et al. (2018) ได้ศึกษาผลของคุณภาพแสงที่แตกต่างกันต่อการเจริญเติบโตและปริมาณสารทุตยภูมิของว่านไหมนา (*Anoectochilus roxburghii*) โดยทำการเพาะเลี้ยงว่านไหมนาในเรือนกระจก ให้แสงเสริมในช่วงเวลากลางคืน (18.00-02.00) ภายใต้การให้แสงสีแดง (RL) แสงสีน้ำเงิน (BL) แสงสีเหลือง (YL) แสงสีเขียว (GL) แสงสีขาว (WL) และการไม่ให้แสง (CK) เป็นกลุ่มควบคุม เพื่อตรวจสอบผลของคุณภาพแสงต่างๆที่มีต่อการเจริญเติบโต, รงควัตถุสังเคราะห์แสง, ปริมาณคลอโรฟิลล์, ความหนาแน่นปากใบ, โปรตีนที่ละลายน้ำได้, น้ำตาลและการสะสมของสารทุติยภูมิ ผลการทดลองพบว่า แสงสีน้ำเงิน ให้ผลเชิงบวกต่อการเจริญเติบโตของและการสะสมสารทุติยภูมิของว่านไหมนา ทำให้จำนวนใบ เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งปริมาณคลอโรฟิลล์ และปริมาณสารทุติยภูมิ (ฟลาโวนอยด์รวมและฟีนอลิกรวม) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และพบว่าว่านไหมนาที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีเหลือง มีปริมาณน้ำตาลที่ละลายน้ำได้และปริมาณโพลีแซคคาไรด์รวมสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ จึงกล่าวได้ว่าการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีน้ำเงินนั้นเอื้อต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการสะสมของสารทุติยภูมิ และแสงสีเหลืองสามารถช่วยเพิ่มปริมาณน้ำตาลที่ละลายน้ำได้และโพลีแซคคาไรด์ได้มากกว่าชุดควบคุม

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

3.1.1 พืชที่ใช้ในการทดลอง

การทดลองที่ 1 การสำรวจประชากรและศึกษาปัจจัยทางกายภาพของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟในสภาพธรรมชาติ

ต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ (*A. burmanicus* Rolfe) จากป่าดิบเขา ในพื้นที่ชุมชนหมู่บ้านปงไคร้ ตำบลโป่งแยง อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่

การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของแสง LED ที่มีต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยา และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ

ต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ (*A. burmanicus* Rolfe) ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อจากห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของกลุ่มอนุรักษ์ฟ้ามุ่ย หมู่บ้านปงไคร้ ตำบลโป่งแยง อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่

3.1.2 เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

(1) เครื่องมือสำหรับการสำรวจประชากรและศึกษาการเจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ

- เครื่องมือระบุตำแหน่งทางภูมิศาสตร์ (GPS)
- เข็มทิศ
- แบบสำรวจประชากร
- อุปกรณ์วัด เช่น ตลับเมตร ไม้บรรทัด
- กล้องถ่ายรูป

(2) เครื่องมือและสารเคมีสำหรับการศึกษาลักษณะทางสรีรวิทยาโดยเทคนิค Free-hand section

- สีย้อม Safranin
- สีย้อม Methylene blue
- สีย้อม Fast green
- แผ่นสไลด์และกระจกปิดสไลด์
- ใบมีดโกน

- หลอดหยดสาร
- กระจกนาฬิกา
- กล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบแบบใช้แสง
- เครื่องตัดเนื้อเยื่อพืช (Microtome Fresh cut tissue)

(3) เครื่องมือสำหรับการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

- แท่งแก้วคนสาร (Stirring Rod)
- บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 30 50 150 250 600 และ 1,000 มิลลิลิตร
- ปิเปตต์ (Pipette) ขนาด 1 5 และ 10 มิลลิลิตร
- กระบอกตวง (Cylender) ขนาด 100 500 และ 1,000 มิลลิลิตร
- ช้อนตักสาร (Spatula)
- กระบอกน้ำกลั่น (Wash bottle)
- กระดาษชั่งสารเคมี
- กระดาษ label
- เครื่องชั่งอย่างละเอียด (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)
- เครื่องชั่งอย่างละเอียด (ทศนิยม 2 ตำแหน่ง)
- เครื่องวัดความเป็นกรด – ด่าง (pH-meter)

(4) สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

- Tricalcium phosphate ($Ca_3(PO_4)_2$)
- Potassium nitrate (KNO_3)
- Ammonium sulfate ($(NH_4)_2SO_4$)
- Monopotassium acid phosphate (KH_2PO_4)
- Magnesium sulfate ($MgSO_4$)
- Manganese sulfate ($MnSO_4$)
- Ferrous sulfate ($FeSO_4$)
- Sodium EDTA (Na_2-EDTA)
- Agar
- น้ำตาลทราย
- น้ำกลั่น
- กล้วยหอมบด

- น้ำมะพร้าว
- ผงถ่าน

(5) เครื่องมือสำหรับการตัดถ่ายเนื้อเยื่อพืช

- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- จานแก้ว (Petri dish)
- ปากคีบ (Forceps)
- ใบมีดและมีดผ่าตัด
- ผ้าสะอาดที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ
- ขวดขนาด 8 ออนซ์ บรรจุอาหาร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ
- ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar flow)

(6) เครื่องมือสำหรับการศึกษาผลของแสง LED ที่มีต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยา และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ

- ชุดให้แสง LED และแผงควบคุม
- เครื่องวัดอุณหภูมิและความเข้มแสง
- ขวดแก้วที่บรรจุกล้วยไม้ดินที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ
- ผ้าสีดำ
- ฟิวเจอร์บอร์ดสีดำ
- ไม้บรรทัด
- ปากคีบ (Forceps)
- เครื่องชั่งสาร 4 ตำแหน่ง

(7) เครื่องมือและสารเคมีสำหรับการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

- ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
- เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
- ชุดสกัด Soxhlet
- สารละลายเอทานอล 99.9%
- น้ำกลั่น
- ขวดก้นกลม
- หลอดทดลองฝาเกลียว ขนาด 12 มิลลิลิตร

- จานเพาะเชื้อ
- กระบอกตวง
- โกร่งบดยาเซรามิก (Motar and pestle)
- ช้อนตักสารสแตนเลส (Spatular)
- ขาตั้งสแตนเลสพร้อมเสาและข้อต่อ
- ที่จับคอนเดนเซอร์

(8) เครื่องมือและสารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

- เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography : HPLC)
- เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) พร้อม Cuvette
- เครื่องอ่านปฏิกิริยาไมโครเพลท (Microplate reader)
- เครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary Evaporator)
- เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge)
- เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
- เครื่องดูดจ่ายสารละลาย (Auto pipette)
- ทิป (Tips)
- ไมโครเวลเพลท (microwell plate)
- บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร
- หลอดทดลอง ขนาด 15 มิลลิลิตร
- ขวดปรับปริมาตร ขนาด 10 มิลลิลิตร
- ขวดปรับปริมาตร ขนาด 50 มิลลิลิตร
- ขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร
- ขวดเก็บสารละลายสีใส ขนาด 25 มิลลิลิตร
- ขวดเก็บสารละลายสีใส ขนาด 50 มิลลิลิตร
- ขวดเก็บสารละลายสีใส ขนาด 100 มิลลิลิตร
- ขวดเก็บสารละลายสีใส ขนาด 500 มิลลิลิตร
- กระดาษกรอง เบอร์ 1

- กระบอกตวง
- แท่งแก้วคนสาร
- ช้อนตักสาร
- DI water
- สารละลาย Acetone 80%
- สารละลาย Ethanol 99%
- สารละลาย Dimethyl Sulfoxide (DMSO)
- สารละลาย Folin-Ciocalteu
- สารมาตรฐาน Gallic acid
- สารละลาย Sodium carbonate (20% w/v)
- สารมาตรฐาน rutin hydrate
- สารละลาย Sodium nitrite (5%w/v)
- สารละลาย Aluminium nitrate (10%w/v)
- สารละลาย Sodium hydroxide (4.3%w/v)
- สารมาตรฐาน Glucose
- สารละลาย Phenol (5%w/v)
- สารละลาย Sulfuric acid (95.5%)

3.2 วิธีการดำเนินการทดลอง

3.2.1 การสำรวจประชากรและศึกษาปัจจัยทางกายภาพที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟในสภาพธรรมชาติ

3.2.1.1 กำหนดพื้นที่ศึกษา วิธีการสำรวจ และเก็บข้อมูล กล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ ในสภาพธรรมชาติ

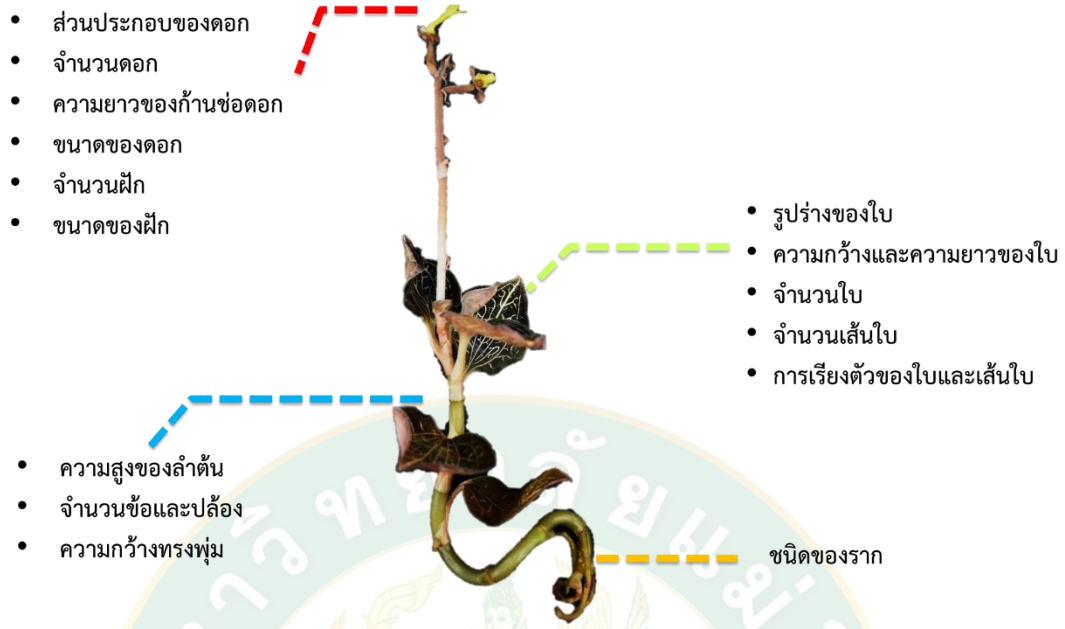
กำหนดพื้นที่ศึกษาคือ พื้นที่ป่าบ้านปงไคร้ ตำบลโป่งแยง อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ โดยการเดินสำรวจพื้นที่ป่าดิบเขาที่มีต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟเจริญเติบโตหนาแน่นที่สุด และที่ความสูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง 1,000 เมตรขึ้นไป ทำการวางแปลงศึกษากึ่งถาวร 2 แบบ คือ แบบที่ 1 ขนาด 2 x 2 เมตร จำนวน 9 แปลง และแบบที่ 2 ขนาด 10 x 10 ตารางเมตร จำนวน 1 แปลง รวมจำนวนแปลงทดลอง 10 แปลง พื้นที่รวมทั้งหมด 136 ตารางเมตร

สำรวจจำนวนต้นที่พบในแต่ละแปลง หาค่าความหนาแน่น (Density) ของจำนวนต้นต่อหน่วยพื้นที่ ทำการวัดความสูงจากระดับน้ำทะเล โดยใช้เครื่อง GPS บริเวณแปลงทดลอง วัดอุณหภูมิของดิน โดยใช้เครื่องมือวัดอุณหภูมิดินแบบอินฟาเรด ปรอทวัดอุณหภูมิ วัดความเข้มแสงโดยใช้เครื่องวัดความเข้มแสง ทำการเก็บดินทั้ง 10 แปลง ที่ความลึก 0-30 เซนติเมตร เพื่อนำไปวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีบางประการของดิน ณ ห้องปฏิบัติการภาควิชาทรัพยากรดินและสิ่งแวดล้อม คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

3.2.1.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟในสภาพธรรมชาติ

ทำการสำรวจและบันทึกข้อมูลการกระจายตัวของกล้วยไม้สมุนไพรนกคุ้มไฟ ในแปลงโดยการถ่ายภาพ จดบันทึกลักษณะสัณฐานวิทยา ทำการสุ่มตัวอย่างพืชในแปลงเพื่อศึกษาข้อมูลทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 10) ดังนี้

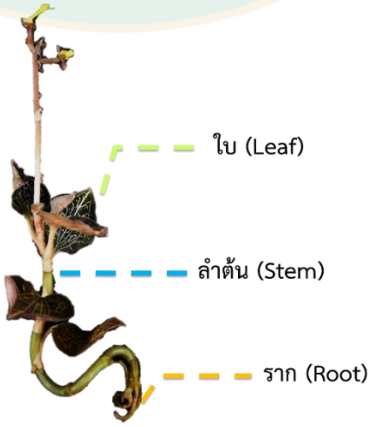
- ลำต้น บันทึกความสูงของลำต้น จำนวนข้อและปล้อง และความกว้างทรงพุ่ม
- ใบ บันทึกรูปร่างใบ ความกว้างและความยาวของใบ จำนวนใบ จำนวนเส้นใบ การเรียงตัวของใบและเส้นใบ
- ดอก บันทึกส่วนประกอบดอก จำนวนดอก ความยาวก้านช่อดอก ขนาดของดอก
- ฝัก บันทึกจำนวนฝักที่พบ สี ความกว้างและความยาวของฝัก



ภาพที่ 10 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟในสภาพธรรมชาติ
ที่มา: นางสาวพีราดา แก้วทองประคำ

2.2.1.3 การศึกษาลักษณะทางกายวิภาคของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างพืชจากแปลงเพื่อศึกษาข้อมูลด้วยวิธี Free hand section โดยนำต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เก็บจากธรรมชาติ ล้างทำความสะอาด เอาเศษดิน เศษหิน สิ่งสกปรกต่างๆ ออกให้หมด นำส่วนราก ลำต้นเหนือดิน และใบ ตัดตามขวางด้วยใบมีดโกน ย้อมด้วยสี Safranin O ประมาณ 20-30 วินาที แล้วล้างสีออก นำชิ้นส่วนพืชที่ติดสีวางลงบนแผ่นสไลด์ ปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ นำไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบ (Compound microscope) และบันทึกภาพ (ภาพที่ 11)



ภาพที่ 11 การศึกษาลักษณะทางกายวิภาคของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ
ที่มา: นางสาวพีราดา แก้วทองประคำ

3.2.2 ศึกษาผลของแสง LED ที่มีต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยา และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ *(A. burmanicus* Rolfe)

3.2.2.1 วางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) โดยมีการให้คุณภาพแสงต่างๆ (ภาพที่ 12) ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วน 3:1 (RL:B:L 3:1)

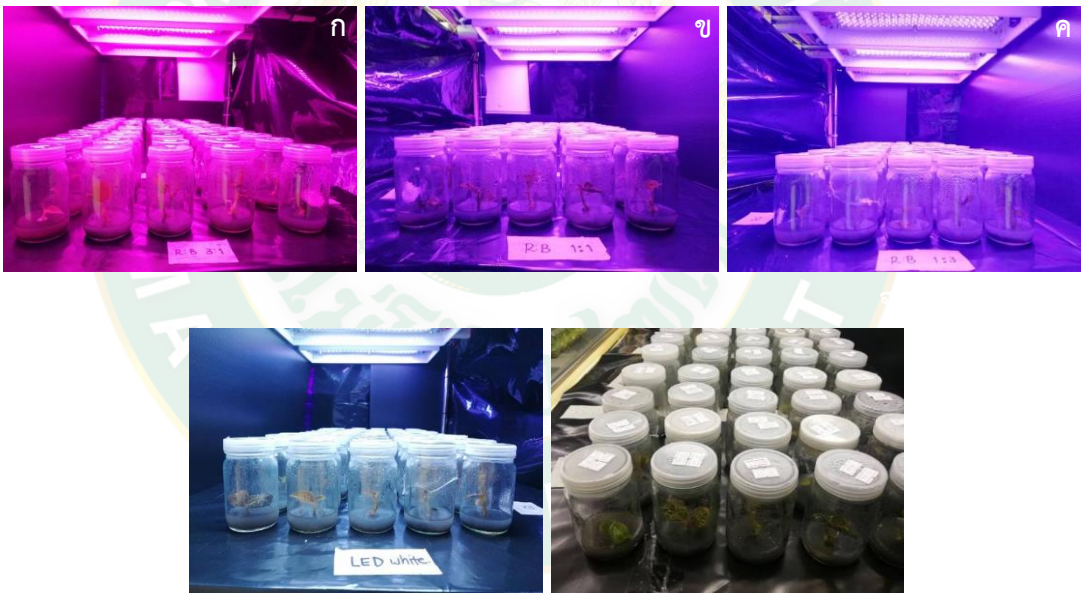
กรรมวิธีที่ 2 แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วน 1:1 (RL:B:L 1:1)

กรรมวิธีที่ 3 แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วน 1:3 (RL:B:L 1:3)

กรรมวิธีที่ 4 แสงจากหลอด LED สีขาว (WL)

กรรมวิธีที่ 5 แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ ชนิด warm white สีขาว (FL)

รวม 5 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 60 ซ้ำ



ภาพที่ 12 การให้คุณภาพแสง (ก) RL:B:L 3:1 (ข) RL:B:L 1:1 (ค) RL:B:L 1:3 (ง) WL และ (จ) FL

3.2.2.2 การเตรียมอาหาร

อาหารที่ใช้ในการทดลอง คือ อาหารแข็งสูตร VW ดัดแปลงที่เติม กล้วยหอมบด น้ำมะพร้าว และผงถ่าน นำไปต้มให้เดือด ปรับความเป็นกรด-ด่าง 4.8-5.0 แล้วบรรจุอาหารปริมาณ 40 มิลลิลิตร ลงในขวดแก้วขนาด 250 มิลลิลิตร ปิดฝา นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันสูงที่ความดัน 15 ปอนต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3.2.2.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

นำต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งในสภาพปลอดเชื้อ อายุประมาณ 24 เดือน ตัดชิ้นส่วนยอดให้มีความยาวประมาณ 3 เซนติเมตร นำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง จำนวน 1 ต้นต่อ 1 ขวด เพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ให้แสงตามกรรมวิธีที่กำหนด ความเข้มแสง 20 $\mu molm^{-2}s$ เป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน (08.00-20.00 น.) บันทึกผลการทดลองหลังเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทุกๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 15 สัปดาห์ (กุมภาพันธ์ – พฤษภาคม) โดยบันทึกข้อมูลความสูงลำต้น ความกว้างทรงพุ่ม จำนวนข้อและปล้อง จำนวนใบ จำนวนราก และจำนวนหน่อ

เมื่อครบ 15 สัปดาห์ สุ่มเก็บตัวอย่างต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้คุณภาพแสง LED กรรมวิธีละ 10 ขวด บันทึกข้อมูล ดังนี้

- ความสูงลำต้น
- ความกว้างทรงพุ่ม
- จำนวนข้อและปล้อง
- จำนวนใบ
- ความกว้างและความยาวใบ
- เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น
- จำนวนราก
- ความยาวราก
- จำนวนหน่อ
- น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง
- ปริมาณปากใบต่อพื้นที่

3.2.2.4 การนับจำนวนปากใบต่อพื้นที่

ตัวอย่างต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้คุณภาพแสง LED กรรมวิธีต่างๆ อย่างละ 2 ต้น ถูกนำมาล้างทำความสะอาด ซับให้แห้งหมาด เลือกใบจากแต่ละต้น ต้นละ 2 – 3 ใบ จากนั้นนำน้ำยาทาเล็บสีใสทาบริเวณผิวใบด้านล่าง รอจนน้ำยาทาเล็บแห้งจึงลอกส่วนที่เป็นฟิล์มใสออก แล้วนำไปวางบนแผ่นสไลด์ ปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ นำไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบ (Compound microscope) และบันทึกภาพ

3.2.2.5 การเตรียมตัวอย่างกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟก่อนการสกัด

สุ่มเก็บตัวอย่างต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง LED กรรมวิธีละ 8 ขวด ชั่งน้ำหนักสด แล้วนำไปอบด้วยเครื่องอบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ไม่เปลี่ยนแปลง บดตัวอย่างแห้งแล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียส เพื่อรอสกัด

3.2.2.6 การสกัดคลอโรฟิลล์

ชั่งตัวอย่างแห้งนกคุ้มไฟ 0.01 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลาย Acetone 80% ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แช่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง นำสารสกัดไปปั่นเหวี่ยงที่ 13,000 g เป็นเวลา 5 นาที นำ supernatant วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 663.6 646.6 446.6 และ 440.5 นาโนเมตร คำนวณหาค่าคลอโรฟิลล์ ดังสมการ

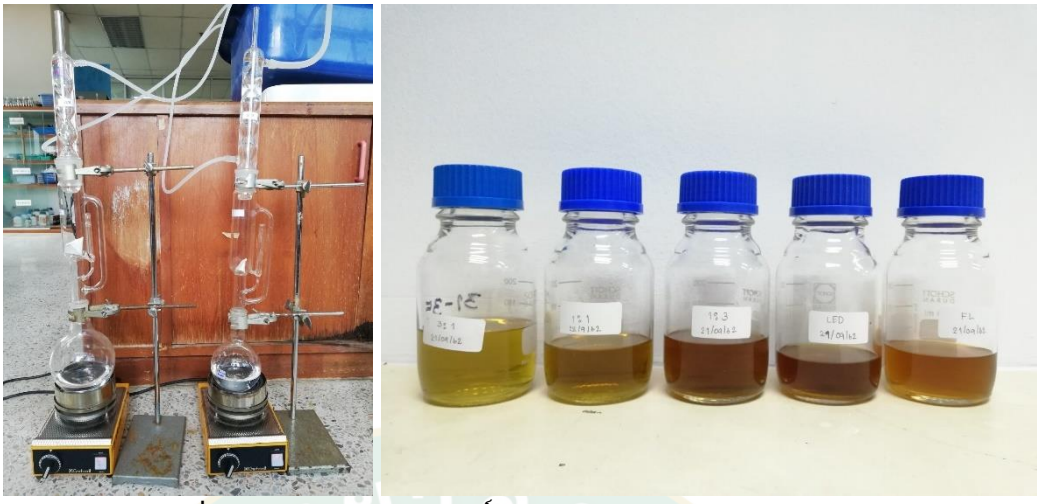
$$\text{Chlorophyll a} = \frac{(0.0127OD663.6 - 0.00269OD646.6) \times \text{ปริมาตรsupernatan(ml)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

$$\text{Chlorophyll b} = \frac{(0.0229OD646.6 - 0.00468OD663.6) \times \text{ปริมาตรsupernatan(ml)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

$$\text{Total Chlorophyll} = 20.2OD_{646.6} + 8.02OD_{663.3}$$

3.2.2.7 การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากตัวอย่างแห้งนกคุ้มไฟ

ชั่งตัวอย่างแห้งน้ำหนัก 0.300X กรัม ลงในกระดาษกรอง แล้วพับใส่ลงในชุดสกัด เติมตัวทำละลาย เอทานอล-น้ำกลั่น (80% v/v) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ลงในขวดก้นกลม (ชั่งน้ำหนักของขวดเปล่าไว้ก่อนหน้านี้) จากนั้นนำไปต่อกับชุดสกัด ให้ความร้อนที่ขวดก้นกลมจนตัวทำละลายระเหยแล้วควบแน่นลงมา จึงเริ่มจับเวลาสกัด ทำการสกัดจนตัวทำละลายใสไม่มีสี ซึ่งใช้เวลาประมาณ 2 ชั่วโมง (ภาพที่ 13) จากนั้นรอให้เย็นแล้วถอดออกจากชุดสกัด นำสารสกัดที่ได้ไประเหยเอาตัวทำละลายออกจนหมดด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (ภาพที่ 14) นำไปชั่งหาน้ำหนักแห้งของสารสกัดที่ได้



ภาพที่ 13 การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพโดยชุดสกัด Soxhlet

ภาพที่ 14 การระเหยสารสกัดด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ

3.2.2.8 การวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

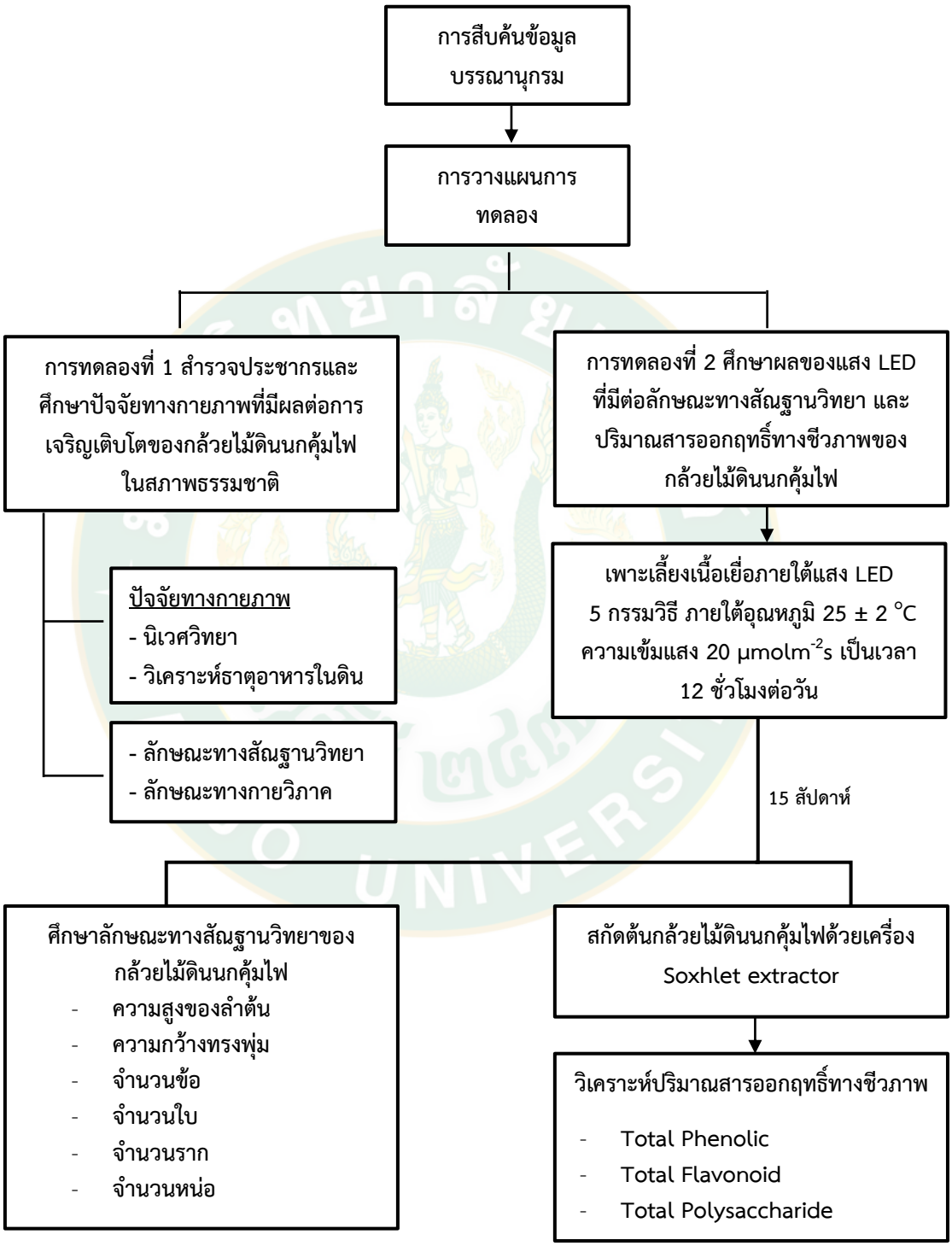
- ปริมาณฟีโนลิครวม (Total Phenolic) ด้วยเทคนิค Folin-Ciocalteu method โดยมีสารละลาย Gallic acid เป็นสารมาตรฐาน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader และคำนวณหาปริมาณฟีนอลลิค
- ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoids) ด้วยวิธี $NaNo_2$-$Al(NO_3)_3$-NaOH method โดยใช้สารละลาย rutin เป็นสารมาตรฐาน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader และคำนวณหาปริมาณฟลาโวนอยด์

- ปริมาณโพลิแซคคาไรด์รวม (Total Polysaccharide) วิเคราะห์ปริมาณโพลิแซคคาไรด์ด้วยเทคนิค Phenolsulfuric method วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 480 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer โดยมีสารละลาย d-glucose เป็นสารมาตรฐาน และคำนวณหาปริมาณโพลิแซคคาไรด์

3.2.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางกายภาพและเคมีบางประการของดินต่อความหนาแน่นต้นต่อพื้นที่ และการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ โดยการหาสหสัมพันธ์เพียร์สัน (Pearson's Correlation Coefficient) เปรียบเทียบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ 99% และศึกษาผลของแสง LED ที่มีต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยา และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ โดยนำข้อมูลการทดลองมาหาค่าเฉลี่ย ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Statistix 8.0 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี LSD ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.3 กรอบแผนวิจัย



บทที่ 4
ผลการวิจัย

การวิจัยเรื่อง การศึกษาปัจจัยสภาพแวดล้อม และแสง LED ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ (*A. burmanicus* Rolfe) มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) สำรวจประชากร และศึกษาปัจจัยทางกายภาพที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟในสภาพธรรมชาติ และ 2) ศึกษาผลของคุณภาพแสง LED ที่มีต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยา และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ ผลการวิจัยแบ่งออกเป็น 2 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1 การสำรวจประชากร และศึกษาปัจจัยทางกายภาพที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟในสภาพธรรมชาติ

การสำรวจและศึกษาข้อมูลเบื้องต้นทางชีววิทยาของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ ในพื้นที่ป่าบ้านปงไคร้ ตำบลโป่งแยง อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ มีผลการวิจัยดังนี้

1. สภาพแวดล้อมทางกายภาพของพื้นที่ศึกษา

ชุมชนบ้านปงไคร้ ตั้งอยู่ในเขตพื้นที่อุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย เป็นภูเขาสลับซับซ้อนในแนวเทือกเขาถนนธงไชย ระดับความสูงของพื้นที่ 1,000-1,200 เมตรจากระดับน้ำทะเล มีพื้นที่ราบบริเวณหุบเขา จึงเป็นที่ตั้งถิ่นฐานของชุมชนต่างๆ พื้นที่ส่วนใหญ่เป็นแหล่งต้นน้ำลำธาร ลักษณะภูมิอากาศมีสภาพหนาวเย็นตลอดทั้งปี โดยจะหนาวเย็นในเวลากลางคืน และอบอุ่นในเวลากลางวัน อุณหภูมิต่ำสุดประมาณ 8 องศาเซลเซียส และสูงสุดประมาณ 32 องศาเซลเซียส อุณหภูมิเฉลี่ยประมาณ 25 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยประมาณ 1,300-1,400 มิลลิเมตรต่อปี ลักษณะป่าเป็นป่าดิบเขา อยู่สูงเหนือระดับน้ำทะเลปานกลางตั้งแต่ 1000 เมตรขึ้นไป มีความโปร่งมากกว่าป่าดงดิบ เพราะมีพันธุ์ไม้ขนาดใหญ่ขึ้นน้อยกว่าแต่จะเขียวชอุ่มตลอดปี มีอากาศเย็น ความชื้นสูง เป็นป่าที่มีความสำคัญต่อต้นน้ำลำธารเป็นอย่างมาก พันธุ์ไม้ที่พบ ได้แก่ ไม้ในวงศ์ก่อ กำยาน อบเชย ไม้ชั้นล่างมีตระกูลกุหลาบป่า ผักกูด กล้วยไม้ดิน มอสชนิดต่าง ๆ เป็นต้น (สำนักบริหารพื้นที่อนุรักษ์ที่ 16, 2553)

กำหนดพื้นที่ศึกษาคือ พื้นที่ป่าบ้านปงไคร้ ตำบลโป่งแยง อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ โดยการเดินสำรวจร่วมกับกลุ่มอนุรักษ์กล้วยไม้ของชุมชนในพื้นที่ป่าทั้งหมด เลือกพื้นที่ป่าดิบเขาที่มีต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟเจริญเติบโตหนาแน่นที่สุด และที่ความสูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง 1,000 เมตรขึ้นไป ทำการวางแปลงศึกษากึ่งถาวร 2 แบบ คือ แบบที่ 1 ขนาด 2 x 2 เมตร จำนวน 9

แปลง และแบบที่ 2 ขนาด 10 x 10 ตารางเมตร จำนวน 1 แปลง รวมจำนวนแปลงวิจัย 10 แปลง พื้นที่รวมทั้งหมด 136 ตารางเมตร

จากการวัดความสูงจากระดับน้ำทะเล โดยใช้เครื่อง GPS วัดอุณหภูมิของดิน โดยใช้เครื่องมือวัดอุณหภูมิดินแบบอินฟาเรด ปรอทวัดอุณหภูมิ วัดความเข้มแสงโดยใช้เครื่องวัดความเข้มแสงบริเวณแปลงวิจัย ผลการศึกษาดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ความสูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง ความเข้มแสง และอุณหภูมิดินในแปลงสำรวจ

แปลงที่	ความสูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง (m)	ความเข้มแสง (lux)	อุณหภูมิดิน (°C)
1	1,082	113	21.9
2	1,094	120	22.9
3	1,094	121	22.5
4	1,009	100	22.5
5	1,092	212	22.2
6	1,084	123	20.2
7	1,086	252	20.7
8	1,086	95.2	20.1
9	1,084	183	20.9
10	1,088	187	20.5
เฉลี่ย	1,080	150.62	21.4

จากการวัดความสูงของพื้นที่ในแปลงวิจัย ทั้ง 10 จุด พบว่า บริเวณพื้นที่มีความสูงเหนือระดับน้ำทะเลปานกลางเฉลี่ย 1,080 เมตร โดยแปลงที่ 5 มีความสูงเหนือระดับน้ำทะเลปานกลางสูงที่สุด คือ 1,092 เมตร และแปลงที่ 4 มีความสูงเหนือระดับน้ำทะเลปานกลางต่ำที่สุด คือ 1,009 เมตร จากการวัดปริมาณความเข้มแสงที่ผิวดินในแปลงวิจัย พบว่า ปริมาณความเข้มแสงเฉลี่ยผิวดิน คือ 150.62 ลักซ์ โดยแปลงที่ 7 มีความเข้มแสงสูงที่สุด คือ 252 ลักซ์ และแปลงที่ 8 มีความเข้มแสงต่ำที่สุด คือ 95.2 ลักซ์ จากการวัดอุณหภูมิของดินในแปลงวิจัย พบว่า อุณหภูมิเฉลี่ยของผิวดิน คือ 21.4 องศาเซลเซียส โดยแปลงที่ 2 มีอุณหภูมิดินสูงที่สุด คือ 22.9 องศาเซลเซียส และแปลงที่ 8 มีอุณหภูมิดินต่ำที่สุด คือ 20.1 องศาเซลเซียส

จากการสำรวจในพื้นที่พบต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟเจริญเติบโตบนดินภายใต้ร่มเงาของป่าดิบเขา ลักษณะดินเป็นดินร่วนสีดำปนทราย มีเศษกิ่งไม้ ใบไม้ทับถมเป็นเวลานาน ทำให้มีปริมาณอินทรียวัตถุและความชื้นในดินสูงมาก สภาพพื้นที่เป็นพื้นที่ชื้นแฉะ มีน้ำหรือลำธารล้อมรอบต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ มีลักษณะที่ช่วยให้เกิดการอำพรางตัวไปกับสภาพแวดล้อมได้ดี เนื่องจากมีขนาดเล็ก และใบมีสีเขียวเข้มที่สามารถกลมกลืนไปกับธรรมชาติรอบข้าง (ภาพที่ 15)

ภาพที่ 15 สภาพนิเวศของบริเวณที่พบกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างดินในแปลงวิจัย ทั้ง 10 แปลง ที่ความลึก 0-15 เซนติเมตร เพื่อวิเคราะห์สมบัติทางเคมีบางประการของดินในห้องปฏิบัติการ แสดงผลในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีบางประการของดินในแปลงสำรวจที่ความลึก 0-15 เซนติเมตร

แปลงที่	ความเป็นกรด-ด่าง	ความหนาแน่นรวม (g./cm.^{3})	ปริมาณอินทรียวัตถุในดิน (%)	ปริมาณธาตุอาหาร (ppm)					
				N	P	K	Ca	Mg	S
1	6.93	0.98	4.80	0.24	9.53	621	1966	106	63.8
2	6.95	0.88	5.77	0.29	10.9	653	2416	110	64.8
3	7.19	0.79	5.74	0.29	8.54	315	2996	99.2	74.3
4	7.19	0.79	5.74	0.29	8.54	315	2996	99.2	74.3
5	6.12	0.56	6.30	0.32	14.8	337	2556	111	87.8
6	6.12	0.56	6.30	0.32	14.8	337	2556	111	87.8
7	6.42	0.48	6.36	0.32	10.4	216	2548	111	77.3
8	6.42	0.48	6.36	0.32	10.4	216	2548	111	77.3
9	6.73	1.00	5.86	0.29	9.81	293	2282	114	58.3
10	6.37	0.82	5.69	0.28	12.8	329	1574	108	64.3
เฉลี่ย	6.64	0.73	5.89	0.29	15.05	363.2	2443.8	108.04	73

ค่าความเป็นกรด-ด่างของดินเฉลี่ย 6.64 โดยแปลงที่ 3 และ 4 มีค่าความเป็นกรด-ด่างของดินสูงที่สุด คือ 7.19 แปลงที่ 7 และ 8 มีค่าความเป็นกรด-ด่างของดินต่ำที่สุด คือ 6.42

ความหนาแน่นรวมของดินเฉลี่ย 0.73 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร (g./cm.^{3}) โดยแปลงที่ 9 มีความหนาแน่นรวมของดินสูงที่สุด คือ 1.00 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร และแปลงที่ 7 และ 8 มีความหนาแน่นรวมของดินต่ำที่สุด คือ 0.48 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

ปริมาณอินทรียวัตถุในดินเฉลี่ยร้อยละ 5.89 โดยแปลงที่ 7 และ 8 มีปริมาณอินทรียวัตถุในดินสูงที่สุด คือ ร้อยละ 6.36 และแปลงที่ 1 มีปริมาณอินทรียวัตถุในดินต่ำที่สุด คือ ร้อยละ 4.80

ปริมาณไนโตรเจนในดินเฉลี่ย 0.29 ppm โดยแปลงที่ 5 6 7 และ 8 มีปริมาณไนโตรเจนในดินสูงที่สุด คือ 0.31 ppm และแปลงที่ 1 มีปริมาณไนโตรเจนในดินต่ำที่สุด คือ 0.24 ppm

ปริมาณฟอสฟอรัสในดินเฉลี่ย 15.05 ppm โดยแปลงที่ 5 และ 6 มีปริมาณโพแทสเซียมในดินสูงที่สุด คือ 14.8 ppm และแปลงที่ 3 และ 4 มีปริมาณฟอสฟอรัสในดินต่ำที่สุด คือ 8.54 ppm

ปริมาณโพแทสเซียมที่สามารถแลกเปลี่ยนได้เฉลี่ย 363.2 ppm โดยในแปลงที่ 3 มีปริมาณโพแทสเซียมสูงที่สุด คือ 653 ppm และแปลงที่ 7 และ 8 มีปริมาณโพแทสเซียมต่ำที่สุด คือ 216 ppm

ปริมาณแคลเซียมในดินเฉลี่ย 2443.8 ppm โดยแปลงที่ 3 และ 4 มีปริมาณแคลเซียมในดินสูงที่สุด คือ 2996 ppm และในแปลงที่ 10 มีปริมาณแคลเซียมในดินต่ำที่สุด คือ 1574 ppm

ปริมาณแมกนีเซียมในดินเฉลี่ย 108.04 ppm โดยแปลงที่ 9 มีปริมาณแมกนีเซียมในดินสูงที่สุด คือ 114 ppm และในแปลงที่ 3 และ 4 มีปริมาณแมกนีเซียมในดินต่ำสุด คือ 99.2 ppm

ปริมาณซัลเฟอร์ในดินเฉลี่ย 73 ppm โดยแปลงที่ 5 และ 6 มีปริมาณซัลเฟอร์ในดินสูงที่สุด คือ 87.8 ppm และในแปลงที่ 9 มีปริมาณซัลเฟอร์ในดินต่ำที่สุด คือ 58.3 ppm

2. จำนวนต้น ความหนาแน่น และการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ

ผลการสำรวจประชากรกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟในแปลงวิจัยทั้ง 10 แปลง มีจำนวนต้นในแต่ละแปลงแตกต่างกัน (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 จำนวนต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่พบในแปลงวิจัย

แปลงที่	จำนวนพื้นที่ (ตารางเมตร)	จำนวนต้นที่พบ	ความหนาแน่น (ต้น/ตารางเมตร)
1	4	2	0.5
2	4	1	0.25
3	4	5	1.25
4	4	2	0.5
5	4	2	0.5
6	4	4	1
7	4	9	2.25
8	4	2	0.5
9	4	1	0.25
10	100	29	0.29

พบกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟจำนวน 57 ต้น แบ่งเป็นแปลงขนาด 4 ตารางเมตร (แปลงที่1-9) โดยแปลงที่ 7 พบจำนวนต้นมากที่สุด คือ 9 ต้น จำนวนต้นต่อพื้นที่ 2.25 ต้น แปลงที่ 3 พบ 5 ต้น มีจำนวนต้นต่อพื้นที่ 1.25 ต้น แปลงที่ 6 พบ 4 ต้น มีจำนวนต้นต่อพื้นที่ 1 ต้น แปลงที่ 1, 4, 5, 8 พบแปลงละ 2 ต้น มีจำนวนต้นต่อพื้นที่ 0.5 ต้น แปลงที่พบจำนวนต้นน้อยที่สุดคือแปลงที่ 2 และ 9 พบแปลงละ 1 ต้น มีจำนวนต้นต่อพื้นที่ 0.25 ต้น ส่วนแปลงที่มีขนาด 100 ตารางเมตร พบจำนวน 29 ต้น มีจำนวนต้นต่อพื้นที่ 0.29 ต้น

จากการสำรวจประชากรกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟในแปลงวิจัยโดยคัดแยกขนาดของต้นตามความสูง 3 ขนาด คือ ต้นขนาดใหญ่ มีความสูงมากกว่า 10 เซนติเมตร ต้นขนาดกลาง มีความสูง 6 – 10 เซนติเมตร และต้นขนาดเล็ก มีความสูง 0 – 5 เซนติเมตร พบว่า พบต้นขนาดใหญ่ 6 ต้น ต้นขนาดกลาง 27 ต้น และต้นขนาดเล็ก 24 ต้น

จากการศึกษาทางสัณฐานวิทยาบนแปลงวิจัย 10 แปลง โดยศึกษาส่วนของราก ลำต้น ใบ ดอก และฝัก ของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ แสดงผลในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ลักษณะสัณฐานวิทยาบางประการของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟในแปลงสำรวจ (NA =ไม่ออกดอก)

แปลงที่	ขนาดลำต้น				ขนาดใบ			ขนาดช่อดอก	
	สูง	กว้างทรงพุ่ม	จำนวนข้อ	จำนวนใบ	ยาวใบ	กว้างใบ	จำนวนเส้นใบ	จำนวนดอก	ยาวก้านช่อดอก
	(cm.)				(cm.)				(cm.)
1	8.0	7.5	6.0	4.0	4.8	3.5	5.0	NA	NA
2	8.0	6.0	6.0	4.0	5.0	3.3	5.0	NA	NA
3	7.5	10.0	5.0	6.0	5.3	3.4	4.0	NA	NA
4	7.0	8.5	3.0	4.0	4.5	2.9	4.0	NA	NA
5	12.0	14.0	4.0	5.0	6.5	4.2	6.0	6.0	21.5
6	5.5	6.3	3.0	4.0	3.5	2.5	5.0	10.0	21.0
7	6.6	9.1	3.0	4.0	5.4	3.5	4.0	NA	NA
8	9.5	11.5	3.0	4.0	6.7	4.1	4.0	NA	NA
9	9.0	10.0	4.0	4.0	7.0	4.1	5.0	NA	NA
10	6.3	9.4	3.0	3.0	5.2	3.5	4.0	NA	NA
เฉลี่ย	7.9	9.2	4.0	4.2	5.4	3.5	4.6	8.0	21.3

ต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟเป็นพืชล้มลุกอายุหลายปี (Perennial herb) มีลำต้นใต้ดินแบบเหง้า (Rhizome) รากงอกออกจากข้อ จำนวน 4 – 5 ราก ความยาวเฉลี่ย 7 เซนติเมตร ลักษณะเป็นรากอวบน้ำ บริเวณปลายรากมีขนอ่อนเพื่อช่วยในการดูดซึมแร่ธาตุและสารอาหาร

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำต้น พบว่า ลำต้นเหนือดินสูง 5.5 – 12 เซนติเมตร ความกว้างทรงพุ่ม 6 - 14 เซนติเมตร และจำนวนข้อ 2.55 – 6 ข้อ โดยพบว่า แปลงที่ 5 มีลำต้นสูงที่สุด และความกว้างทรงพุ่มมากที่สุด คือ 12 และ 14 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของใบ พบว่า ต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ใบเป็นใบเดี่ยว รูปรี (Elliptic) ถึงรูปไข่ (Ovate) ปลายใบเรียวแหลม (Acuminate) ขอบใบเรียบ (Entire) ฐานใบรูปมน (Obtuse) ถึงกลม (Rounded) มีเส้นใบหลักเรียงตัวขนานรูปฝ่ามือ (Palmately parallel venation) การเรียงตัวของใบแบบสลับ ออกเป็นกระจุกบริเวณโคนต้น ก้านใบเป็นกาบหุ้มต้น ใบอ่อนม้วนขนานกับแกนของใบ (Convolute venation) ผิวใบเป็นขนละเอียดหรือกำมะหยี่ แผ่นใบด้านบนสีเขียวหรือเขียวเหลือบดำ ด้านล่างสีน้ำตาลเหลือบแดง เส้นใบสีเหลืองเหลือบทอง จำนวนใบ 3 – 5 ใบ โดยแปลงที่ 3 มีจำนวนใบมากที่สุด คือ 6 ใบ ขนาดของใบกว้าง 2.5 – 4.25 เซนติเมตร ยาว 3.5 – 7 เซนติเมตร โดยแปลงที่ 5 และ แปลงที่ 9 มีกว้างใบและความยาวใบสูงที่สุด คือ 4.25 และ 7 เซนติเมตร จำนวนเส้นใบ 3 – 6 เส้น โดยแปลงที่ 5 มีจำนวนเส้นใบมากที่สุด คือ 6 เส้น (ภาพที่ 15)

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดอก พบว่า ดอกเป็นดอกช่อแบบกระจะ (Raceme) ช่อตั้งตรง ความยาวช่อดอกเฉลี่ย 20.75 เซนติเมตร ดอกจะเริ่มบานจากโคนช่อไปจนสุดปลายช่อ มีจำนวนดอกย่อย 6-10 ดอก ดอกย่อยเป็นดอกสมบูรณ์และสมบูรณ์เพศ มีกลีบเลี้ยง 3 กลีบ สีม่วงแดง กลีบดอก 3 กลีบ กลีบดอกสองกลีบสีม่วงแดง กลีบดอกชั้นในสุด เรียกว่า กลีบปาก (Labellum) มีสีเหลืองลักษณะเป็นแฉก 2 แฉก กว้างประมาณ 0.2 – 0.5 เซนติเมตร ยาว 1.5 – 2 เซนติเมตร รังไข่อยู่ใต้วงกลีบ (Inferior ovary) ดอกมีสมมาตรแบบด้านข้าง (Zygomorphic) โดยจากแปลงวิจัย พบต้นที่ออกออกทั้งสิ้นจำนวน 2 ต้น คือในแปลงที่ 5 และ 6 โดยช่อดอกมีจำนวนดอกอยู่ในช่วง 6-10 ดอก และความยาวของก้านช่อดอกอยู่ในช่วง 21-21.5 เซนติเมตร ฝักเป็นรูปกระสวย สีม่วงแดง ขนาดกว้างเฉลี่ย 0.5 เซนติเมตร ความยาวเฉลี่ย 2 เซนติเมตร (ภาพที่ 16)

ภาพที่ 16 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่พบบริเวณแปลงทดลอง

3. ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางกายภาพและเคมีบางประการของดินต่อความหนาแน่นต้นต่อพื้นที่ และการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ

3.1 ปัจจัยทางกายภาพและเคมีบางประการของดินต่อความหนาแน่นต้นต่อพื้นที่สามารถสรุปได้จากค่าสหสัมพันธ์ (ตารางที่ 7) ดังนี้

ตารางที่ 7 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ระหว่างปัจจัยทางกายภาพและเคมีบางประการของดินต่อความหนาแน่นต้นต่อพื้นที่ โดยใช้สูตรของเพียร์สัน (Pearson's Correlation Coefficient) (r = ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์)

ปัจจัยคัดสรร	ตัวแปรตาม	r
ความหนาแน่นต้นต่อพื้นที่	ความหนาแน่นรวมของดิน	-0.7638**
	ไนโตรเจน	0.6904**
	ฟอสฟอรัส	-0.4542**
	โพแทสเซียม	-0.5131**
	แคลเซียม	0.6583**
	กำมะถัน	0.6037**
	อินทรียวัตถุในดิน	0.6507**
	ความเข้มแสง	0.4319**

**มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01

* มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

ความหนาแน่นของต้นต่อพื้นที่ มีความสัมพันธ์ในทิศทางบวก กับปริมาณไนโตรเจนในดิน ปริมาณแคลเซียมที่สามารถแลกเปลี่ยนได้ ปริมาณกำมะถันในดิน ปริมาณอินทรียวัตถุในดิน ความเข้มแสง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) ขณะที่มีความสัมพันธ์ในทิศทางลบต่อค่าความหนาแน่นรวมของดิน ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และ ปริมาณโพแทสเซียมที่สามารถแลกเปลี่ยนได้ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$)

3.2 ปัจจัยทางกายภาพและเคมีบางประการของดินต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟสามารถสรุปได้จากค่าสหสัมพันธ์ (ตารางที่ 8) ดังนี้

ตารางที่ 8 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ระหว่างปัจจัยทางกายภาพและเคมีบางประการของดินต่อการเจริญเติบโตของพืชโดยใช้สูตรของเพียร์สัน (Pearson's Correlation Coefficient) (r = ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์)

ปัจจัยคัดสรร	ตัวแปรตาม	r
อุณหภูมิดิน	จำนวนข้อ	0.4636**
	ความกว้างใบ	0.2718*
แคลเซียม	ความกว้างใบ	0.2947*
	จำนวนข้อ	0.3718**
	จำนวนเส้นใบ	0.3039*
ฟอสฟอรัส	จำนวนดอก	0.2981*
	ความยาวก้านช่อดอก	0.3076*
	จำนวนข้อ	-0.3671**
กำมะถัน	จำนวนดอก	0.3944**
	จำนวนเส้นใบ	0.3132*
	ความยาวก้านช่อดอก	0.4069**
	ความหนาแน่นต้นต่อพื้นที่	0.6037**
	จำนวนต้นในแปลง	-0.7282**
โพแทสเซียม	จำนวนข้อ	0.3521**
ไนโตรเจน	ความยาวก้านช่อดอก	0.2651*
ความเป็นกรด-ด่าง	จำนวนข้อ	0.4099**

**มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01

* มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

- อุณหภูมิของดิน มีความสัมพันธ์ในทิศทางบวกต่อจำนวนข้อของต้น และความกว้างใบ
- ปริมาณแคลเซียมที่สามารถแลกเปลี่ยนได้ มีความสัมพันธ์ในทิศทางบวกต่อจำนวนข้อของต้น ความกว้างใบ และจำนวนเส้นใบ
- ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ มีความสัมพันธ์ในทิศทางบวกต่อจำนวนดอก และความยาวของก้านช่อดอก ขณะที่มีความสัมพันธ์ในทิศทางลบต่อจำนวนข้อของต้น

- ปริมาณกำมะถันในดิน มีความสัมพันธ์ในทิศทางบวกต่อจำนวนเส้นใบ จำนวนดอก และความยาวของก้านช่อดอก และความหนาแน่นต้นต่อพื้นที่ แต่มีความสัมพันธ์เชิงลบต่อจำนวนต้นในแปลง
- ปริมาณโพแทสเซียมที่สามารถแลกเปลี่ยนได้ มีความสัมพันธ์ในทิศทางบวกต่อจำนวนข้อของต้น
- ปริมาณไนโตรเจนในดิน มีความสัมพันธ์ในทิศทางลบต่อความยาวก้านช่อดอก
- ความเป็นกรด-ด่างของดิน มีความสัมพันธ์ในทิศทางบวกต่อจำนวนข้อของต้น

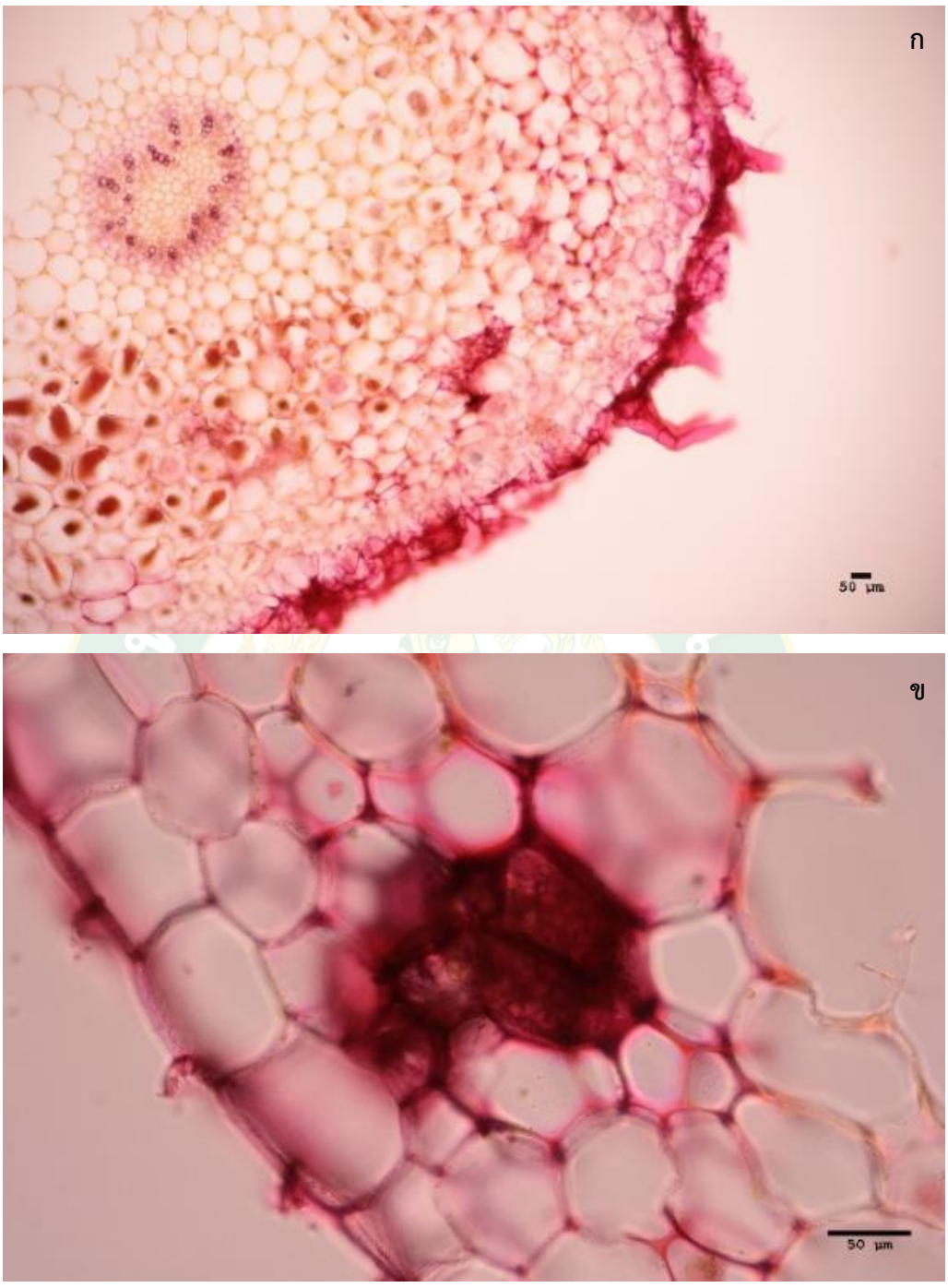
4. การศึกษาลักษณะทางกายวิภาคของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ

การศึกษาลักษณะทางกายวิภาคของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ ด้วยการทดลองตัดตามขวางของราก ลำต้นเหนือดิน และใบ โดยเทคนิค Free – hand section ได้ผลการทดลองดังนี้

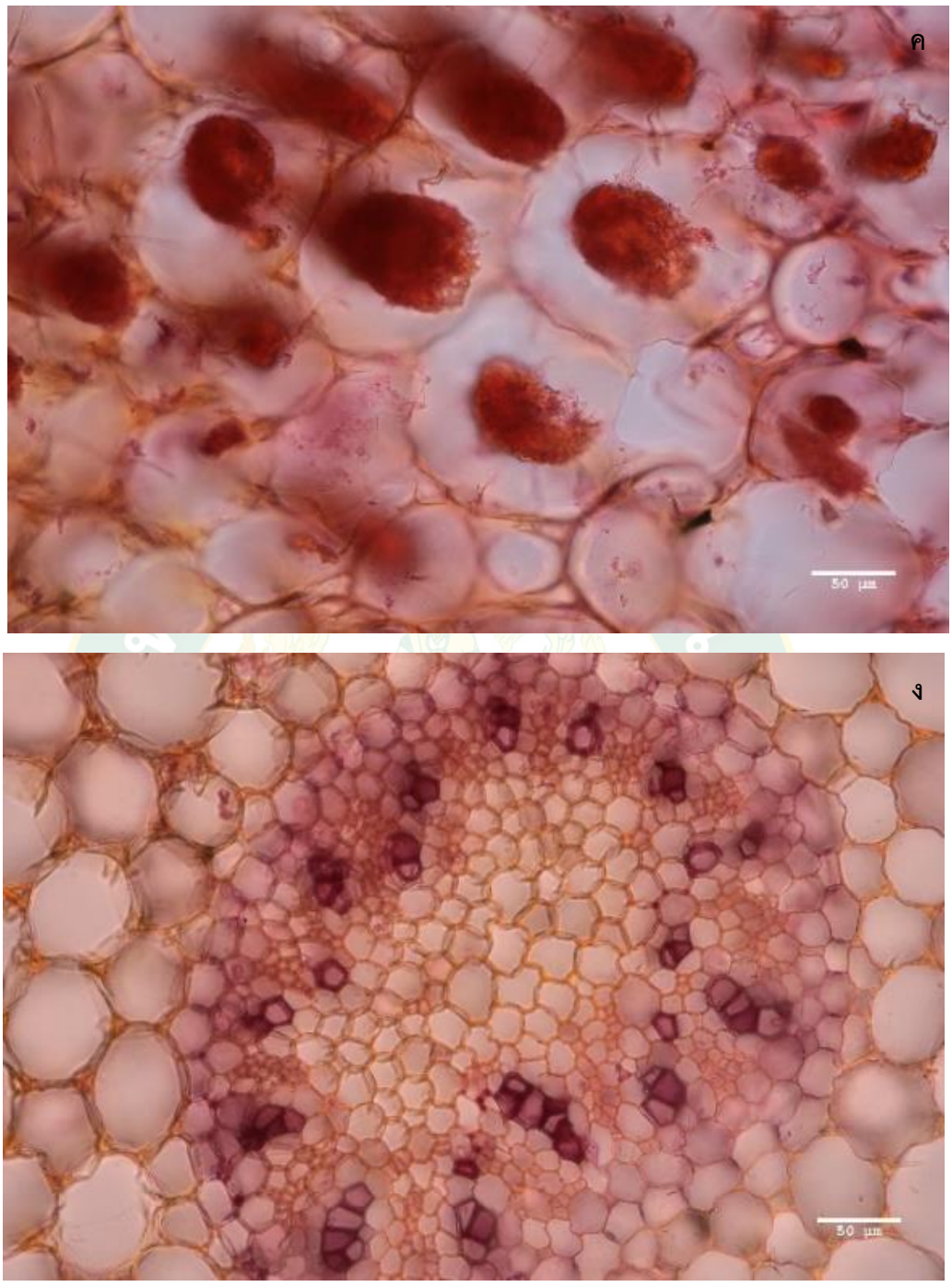
โครงสร้างภายในของรากประกอบด้วย 3 ส่วน คือ ส่วนที่ 1) ชั้นเนื้อเยื่อผิว (Epidermis) มีเซลล์รูปร่างสี่เหลี่ยมผืนผ้าเกือบกลม เรียงตัวชั้นเดียว ส่วนที่ 2) ชั้นคอร์เทกซ์ (Cortex) ประกอบด้วยเนื้อเยื่อพาเรนไคมา เรียงตัวกัน 10 – 12 ชั้น ภายในเซลล์พาเรนไคมาจำนวนมากพบเส้นใยราไมเคอร์ไรซา มีลักษณะเป็นกระจุกเซลล์ เหมือนเส้นขดแน่นเรียงตัวภายในเซลล์ ส่วนที่เป็นกระจุกเซลล์ เรียกว่า arbuscule มีเนื้อเยื่อชั้นในสุดคือเอนโดเดอร์มิส (Endodermis) และ ส่วนที่ 3) ชั้นเนื้อเยื่อลำเลียง (Vascular tissue) พบกลุ่มเนื้อเยื่อลำเลียง ประกอบด้วยกลุ่มท่อลำเลียงน้ำ (Xylem) และกลุ่มท่อลำเลียงอาหาร (Phloem) จำนวน 7 - 9 กลุ่ม (ภาพที่ 17 และภาพที่ 18)

โครงสร้างภายในของลำต้นประกอบด้วย 3 ส่วน คือ ส่วนที่ 1) ชั้นเนื้อเยื่อผิว เซลล์มีลักษณะคล้ายตัวยู (U) รูปร่างรีเกือบกลม เรียงตัวชั้นเดียว มีคิวติเคิลเคลือบ ส่วนที่ 2) ชั้นคอร์เทกซ์ ประกอบด้วยเซลล์พาเรนไคมาชนิดคลอเรนไคมา (Chlorenchyma) มีคลอโรพลาสต์ จำนวนมากอยู่ภายในเซลล์ และส่วนที่ 3) ชั้นเนื้อเยื่อลำเลียง พบกลุ่มเนื้อเยื่อลำเลียง ประกอบด้วยกลุ่มท่อลำเลียงน้ำ และกลุ่มท่อลำเลียงอาหาร จำนวน 14-22 กลุ่ม เรียงตัว 2-3 วง (ภาพที่ 19 และภาพที่ 20)

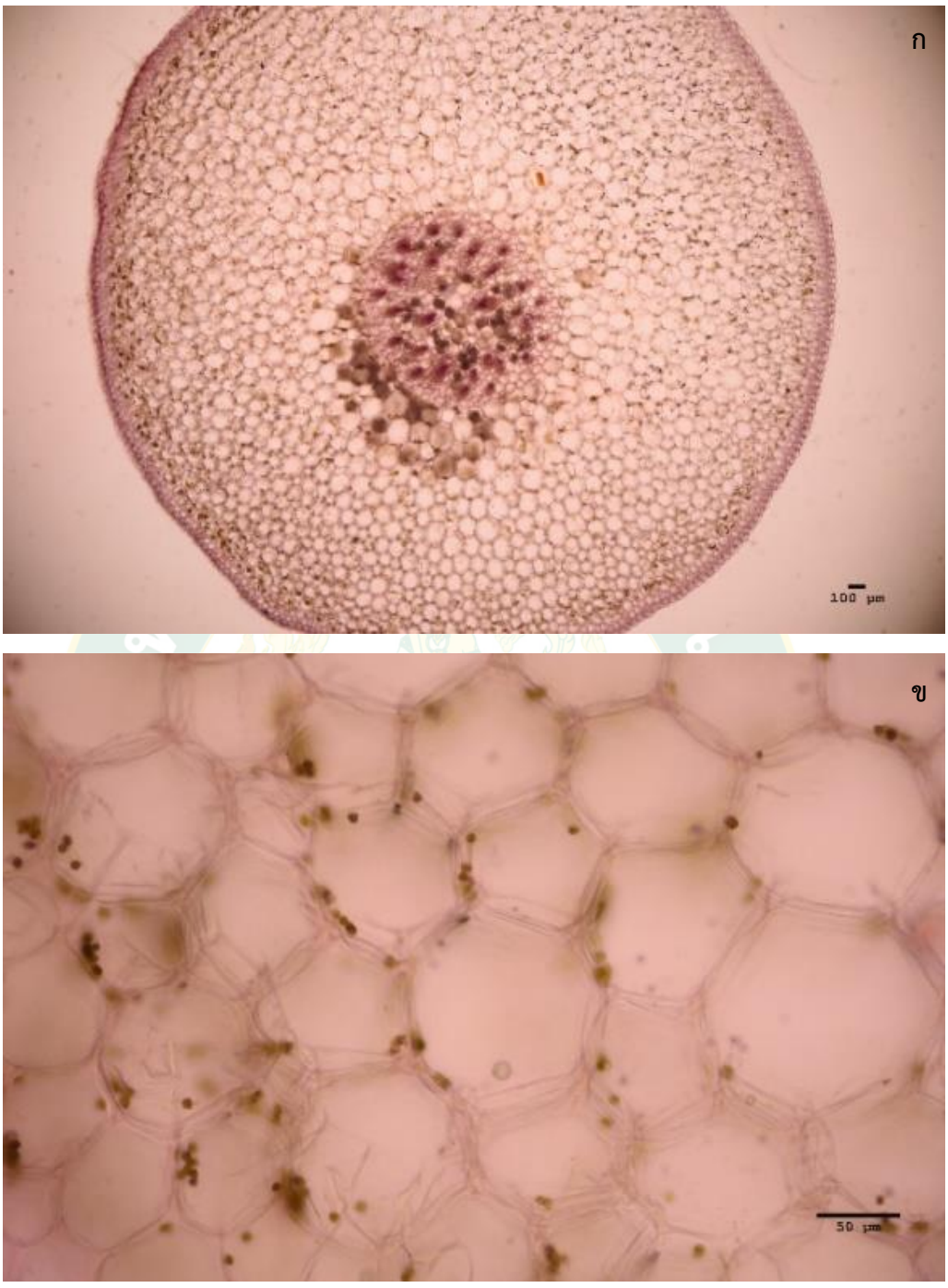
โครงสร้างภายในของใบประกอบด้วย 3 ส่วน คือ ส่วนที่ 1) ชั้นเนื้อเยื่อผิว อยู่ทั้งสองด้าน คือ ด้านบน (Upper epidermis) และด้านล่าง (Lower epidermis) รูปร่างคล้ายสามเหลี่ยม เรียงตัวชั้นเดียว มีคิวติเคิลเคลือบ ส่วนที่ 2) ชั้นเนื้อใบ (Mesophyll) ลักษณะเซลล์จำแนกเป็น 2 แบบ ชัดเจน คือ Palisade mesophyll และ Spongy mesophyll โดย Palisade mesophyll อยู่ถัดลงมาจากชั้น Upper epidermis มีประมาณ 3-4 แถว รูปร่างคล้ายตัววี (V) มีคลอโรพลาสต์จำนวนมากอยู่ภายในเซลล์ ส่วน Spongy mesophyll อยู่ติดด้าน Lower epidermis มีประมาณ 5-6 แถว รูปร่างค่อนข้างกลม มีคลอโรพลาสต์อยู่ภายในเซลล์เช่นเดียวกัน แต่น้อยกว่าชั้น Palisade mesophyll และส่วนที่ 3) ชั้นเนื้อเยื่อลำเลียง พบกลุ่มเนื้อเยื่อลำเลียง ของเส้นกลางใบ ประกอบด้วยกลุ่มท่อลำเลียงน้ำอยู่ทางด้าน Upper epidermis และกลุ่มท่อลำเลียงอาหารอยู่ทางด้าน Lower epidermis ใน Vacuole ของใบพบสีชมพู ซึ่งคาดว่าเป็นแอนโทไซยานิน (ภาพที่ 21 และภาพที่ 22)



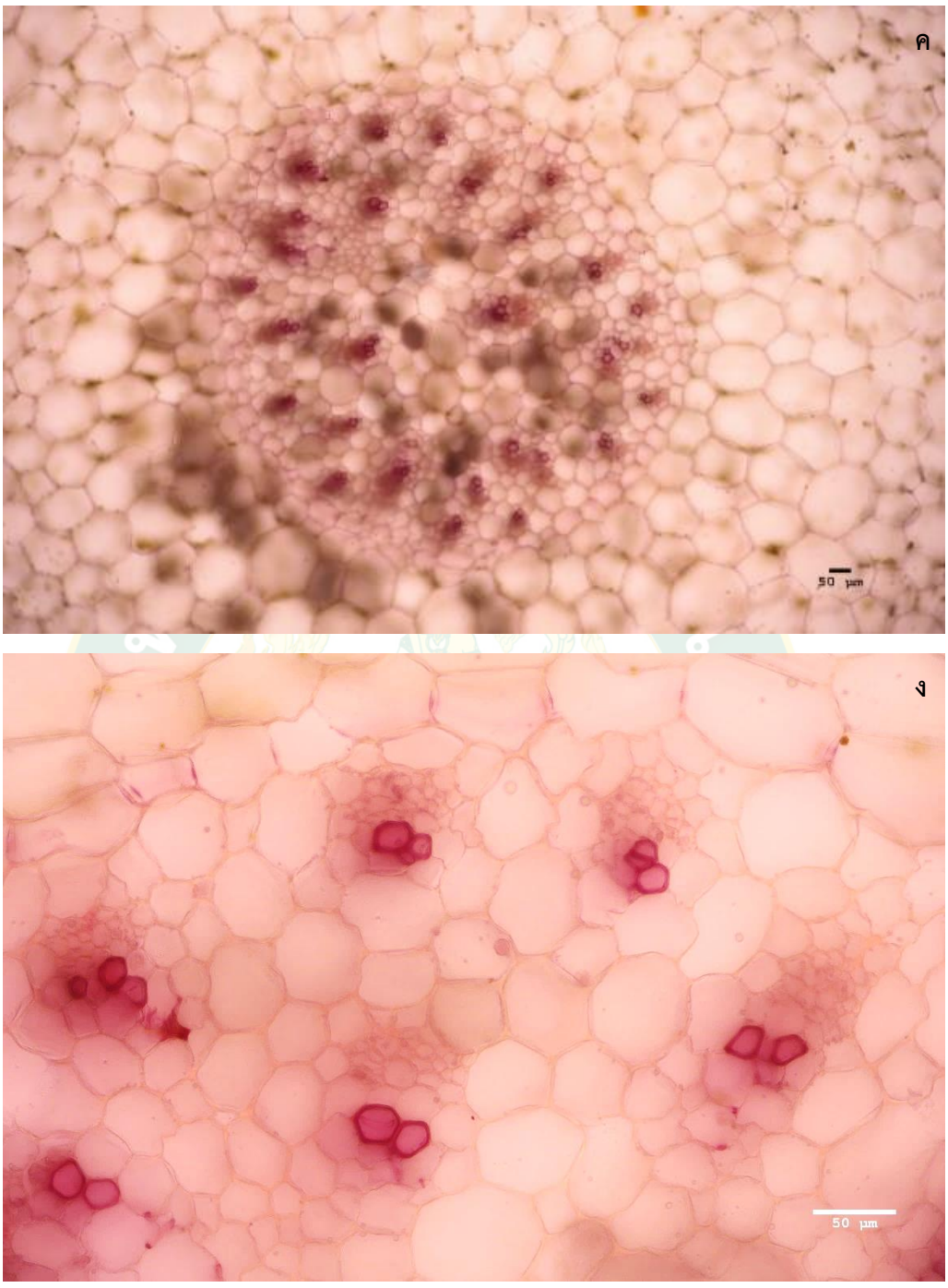
ภาพที่ 17 ลักษณะทางกายวิภาคของรากกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ (ก) ภาพตัดขวางของราก (ข) กระจุกเซลล์อาบัสคูลของเชื้อราไมเคอร์ไรซา



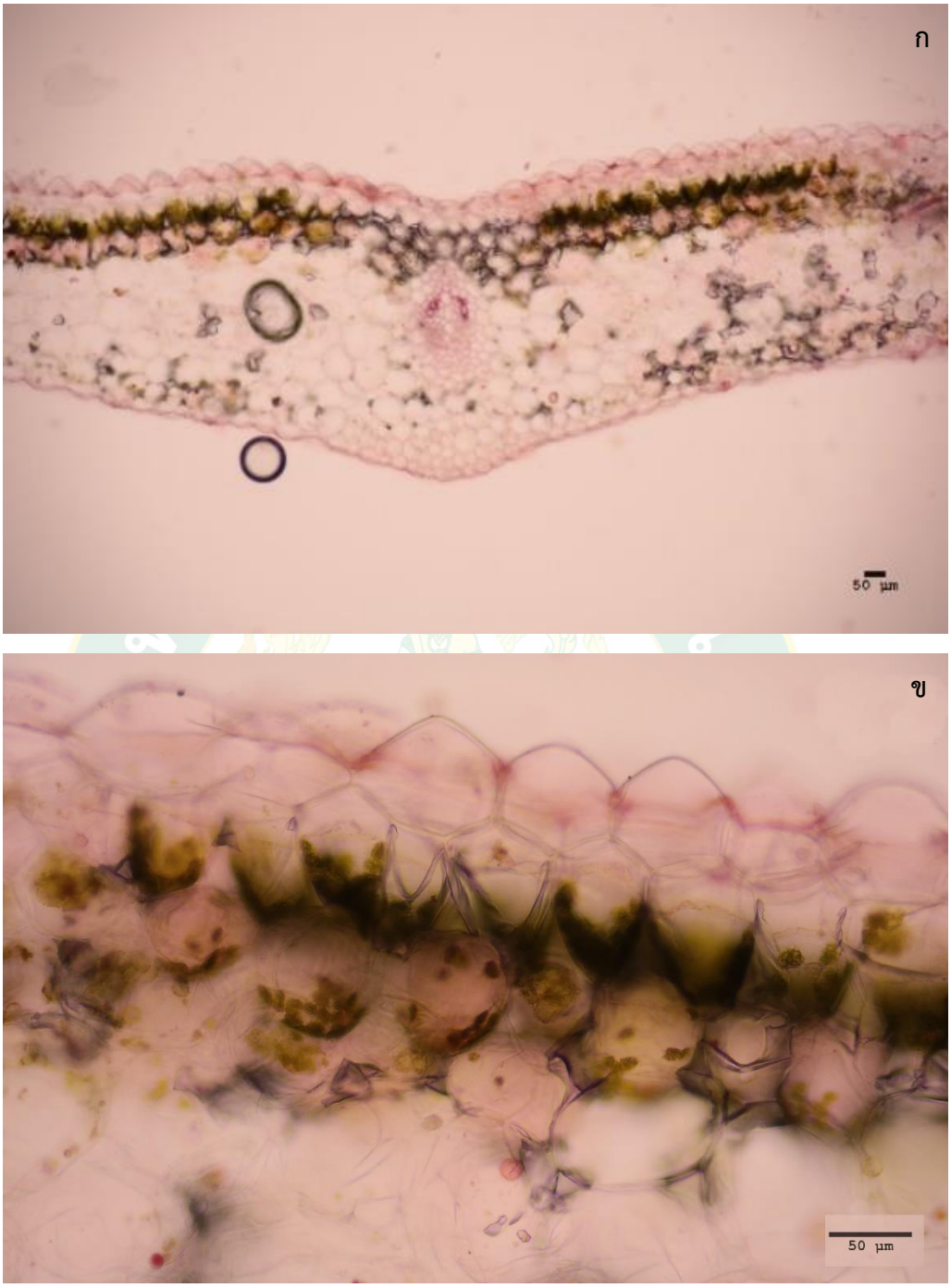
ภาพที่ 18 ลักษณะทางกายวิภาคของรากกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ (ค) กระจุกเซลล์อาบัสคูลของเชื้อราไมเคอร์ไรซา (ง) กลุ่มเนื่อเยื่อท่อลำเลียง



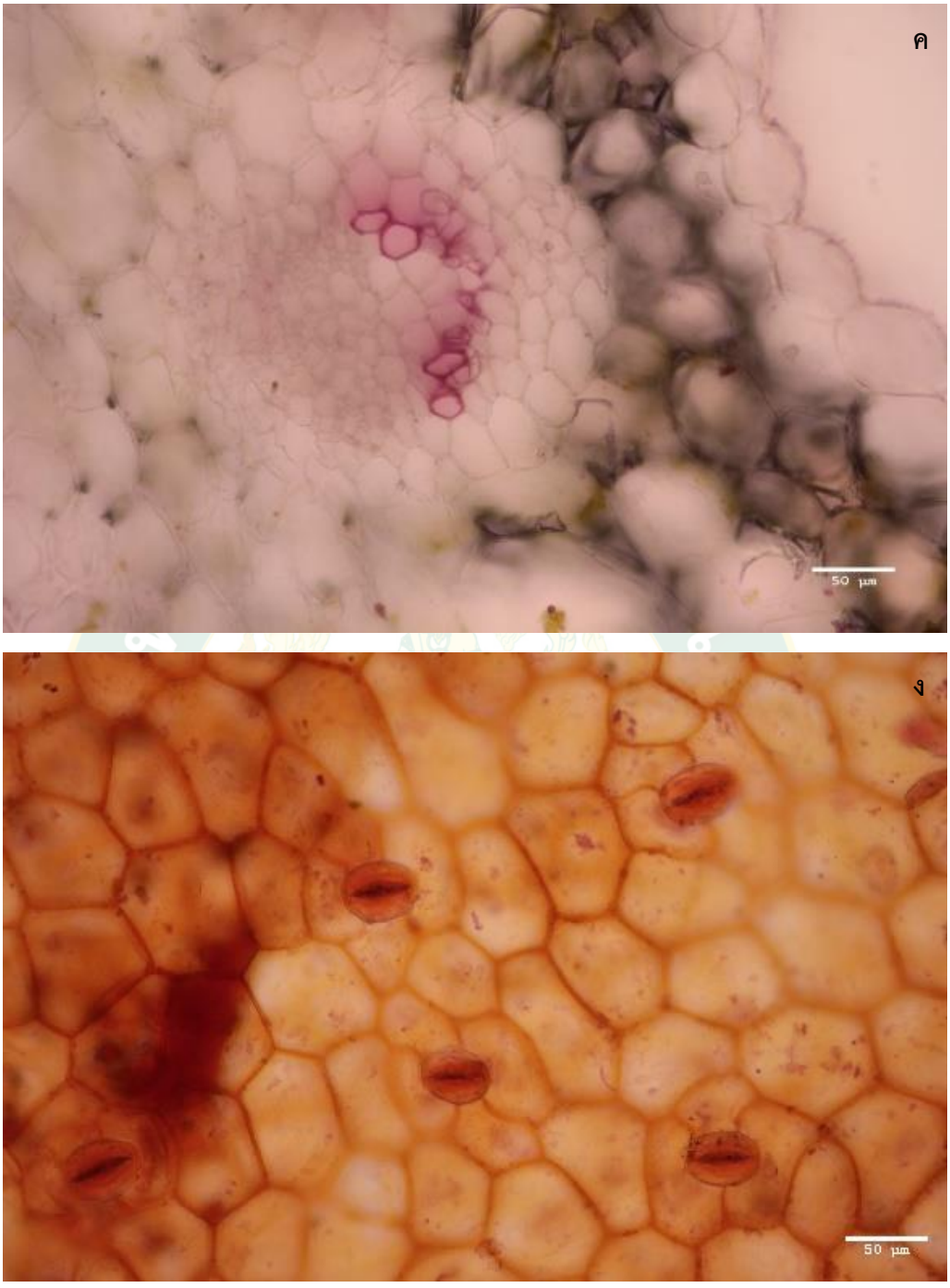
ภาพที่ 19 ลักษณะทางกายวิภาคของลำต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ (ก) ภาพตัดขวางของลำต้น (ข) เนื้อเยื่อพาเรนไคมาชนิดคลอเลนไคมา



ภาพที่ 20 ลักษณะทางกายวิภาคของลำต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ (ค) และ (ง) กลุ่มเนื้อเยื่อท่อลำเลียง



ภาพที่ 21 ลักษณะทางกายวิภาคของใบกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ (ก) ภาพตัดขวางของใบ (ข) ลักษณะของเนื้อใบ ชนิด Palisade mesophyll และ Spongy mesophyll



ภาพที่ 22 ลักษณะทางกายวิภาคของใบกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ (ค) กลุ่มเนื้อเยื่อท่อลำเลียง (ง) เซลล์ผิวและปากใบของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ

การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของแสง LED ที่มีต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยา และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ

การศึกษาผลของคุณภาพแสง LED ที่มีต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาและปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นนกคุ้มไฟภายใต้ชุดให้แสง LED ทั้ง 5 กรรมวิธี โดยให้แสง 12 ชั่วโมงต่อวัน ที่ความเข้มแสง 20 $\mu molm^{-2}s$ เป็นเวลา 15 สัปดาห์ สุ่มเก็บตัวอย่างกรรมวิธีละ 10 ต้น เพื่อวัดการเจริญเติบโต ได้แก่ ความสูงของลำต้น ความกว้างทรงพุ่ม เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น จำนวนข้อ จำนวนราก ความยาวราก จำนวนใบ ความกว้างใบ ความยาวใบ จำนวนหน่อ น้ำหนักแห้ง น้ำหนักสด ปริมาณคลอโรฟิลล์ และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ คือ ปริมาณฟินอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม และปริมาณพอลิแซคคาไรด์รวม มีผลการวิจัยดังนี้

1. **การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้ชุดให้แสง LED ทั้ง 5 กรรมวิธี**

ตารางที่ 9 ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้ชุดให้แสง LED ทั้ง 5 กรรมวิธี

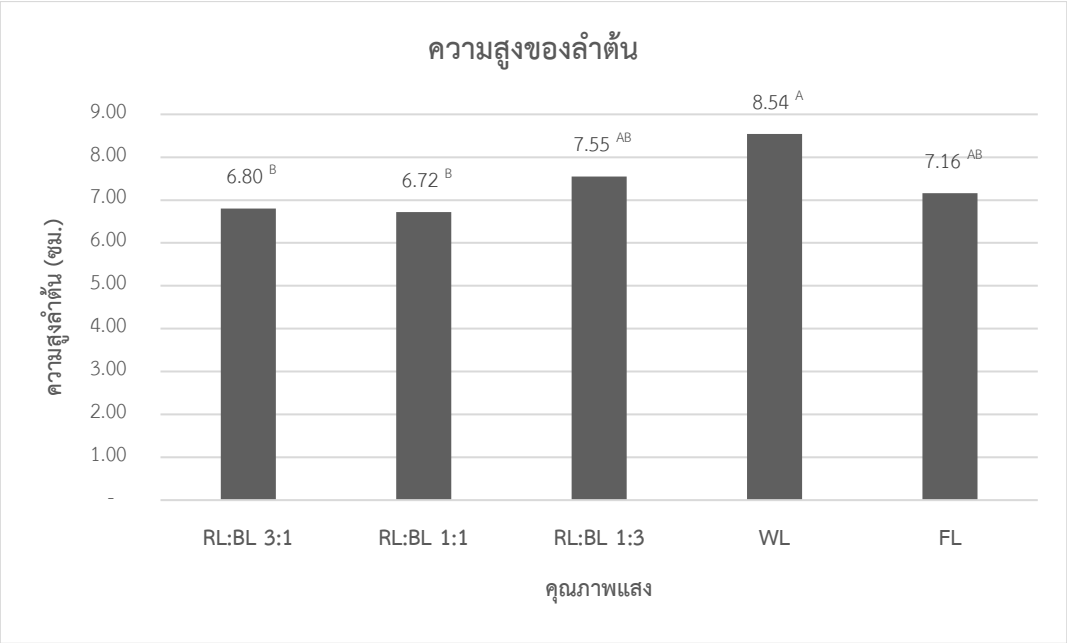
Light Quality	Stem			Leaf			Root	
	Stem height (cm.)	Canopy width (cm.)	Stem diameter (cm.)	Leaf no.	Leaf width (cm.)	Leaf length (cm.)	Root no.	Root length (cm.)
RL:BL 3:1	6.80^{B}	4.57^{C}	0.43^{A}	3.90^{A}	1.96^{A}	2.17^{A}	0.90^{B}	0.64^{AB}
RL:BL 1:1	6.72^{B}	5.12^{BC}	0.40^{AB}	4.10^{A}	2.08^{A}	2.85^{A}	1.00^{B}	0.51^{B}
RL:BL 1:3	7.55^{AB}	5.60^{B}	0.44^{A}	4.20^{A}	2.20^{A}	3.19^{A}	2.00^{A}	1.63^{A}
WL	8.54^{A}	7.03^{A}	0.35^{B}	4.70^{A}	2.21^{A}	2.91^{A}	2.10^{A}	1.47^{A}
FL	7.16^{AB}	5.71^{B}	0.40^{AB}	3.90^{A}	2.21^{A}	2.75^{A}	1.90^{A}	1.03^{B}
Grand Mean	7.35	5.61	0.40	4.16	2.13	2.86	1.58	1.08
CV (%)	22.47	19.60	21.44	22.78	19.00	22.30	37.76	37.75
LSD 0.05	1.49	0.99	0.08	0.85	0.36	0.58	0.88	0.71

*เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี LSD ตัวอักษรที่เหมือนกันหมายถึง ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทาง สถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ภาพที่ 23 ลักษณะของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 15 สัปดาห์

ความสูงของลำต้น

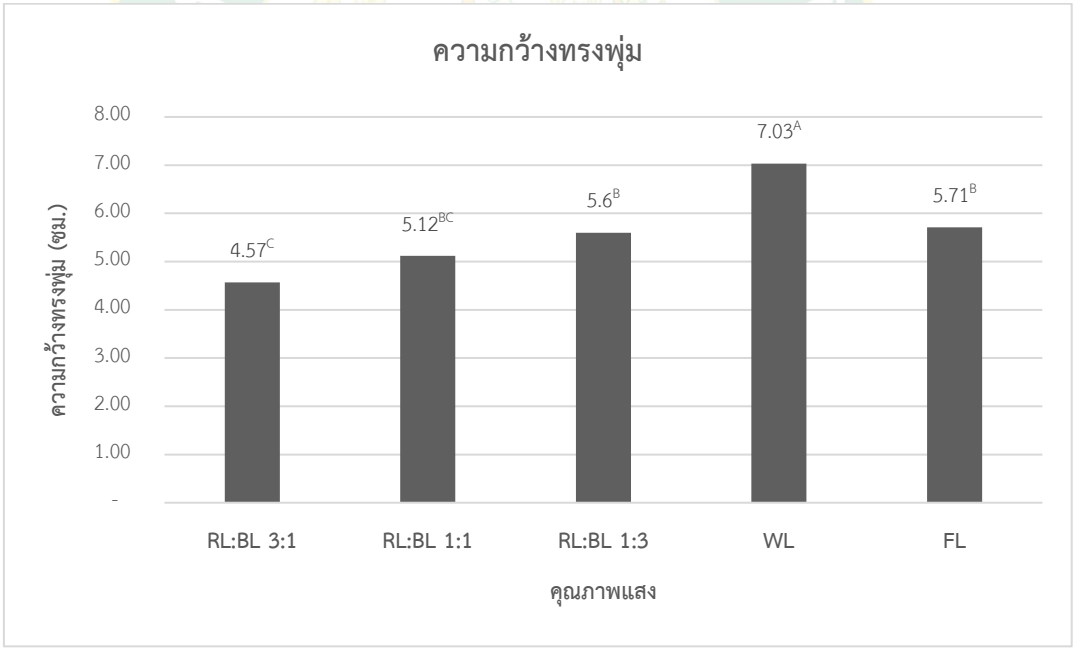
จากการวัดความสูงของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้คุณภาพแสงตามกรรมวิธีต่างๆ พบว่า มีความสูงเฉลี่ยอยู่ในช่วง 6.72 – 8.54 เซนติเมตร โดยต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีขาว มีความสูงของลำต้นมากที่สุด คือ 8.54 เซนติเมตร ในขณะที่ต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED แดงร่วมกับน้ำเงินอัตราส่วน 1:1 มีความสูงของลำต้นน้อยที่สุด คือ 6.72 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่า ต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีขาว มีความสูงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED กรรมวิธีอื่น ในขณะที่ต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED แดงร่วมกับน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 และ 1:1 มีความสูงไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างจากต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับน้ำเงินอัตราส่วน 1:3 และแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์อย่างมีนัยสำคัญ และต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED แดงร่วมกับน้ำเงินอัตราส่วน 1:3 และแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์มีความสูงไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ภาพที่ 24)



ภาพที่ 24 ความสูงของลำต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 15 สัปดาห์

ความกว้างทรงพุ่ม

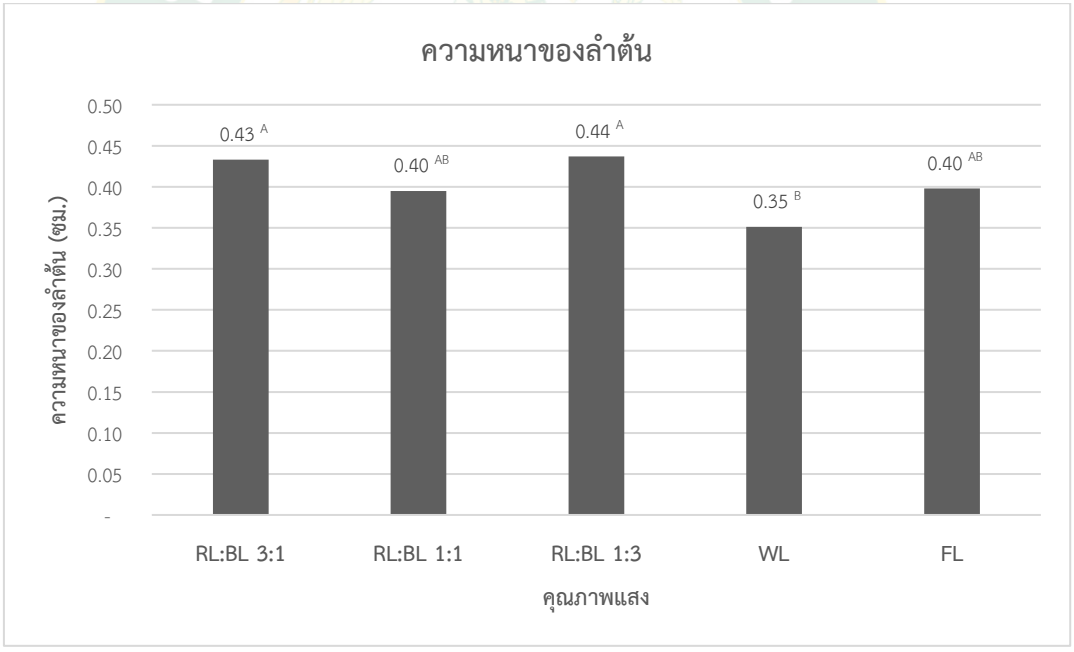
จากการวัดความกว้างทรงพุ่มของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้คุณภาพแสงต่างๆ พบว่า มีความกว้างทรงพุ่มเฉลี่ยอยู่ในช่วง 4.57 – 7.03 เซนติเมตร โดยต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีขาว มีความกว้างทรงพุ่มมากที่สุด คือ 7.03 เซนติเมตร ในขณะที่ต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED แดงร่วมกับน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 มีความกว้างทรงพุ่มน้อยที่สุด คือ 4.57 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่า ความกว้างทรงพุ่มของต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีขาว มีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED กรรมวิธีอื่น และความกว้างทรงพุ่มของต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:3 และแสงขาวฟลูออเรสเซนต์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่แตกต่างจากความกว้างทรงพุ่มของต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED แดงร่วมกับน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 และ 1:1 อย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 25)



ภาพที่ 25 ความกว้างทรงพุ่มของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 15 สัปดาห์

ความหนาของลำต้น

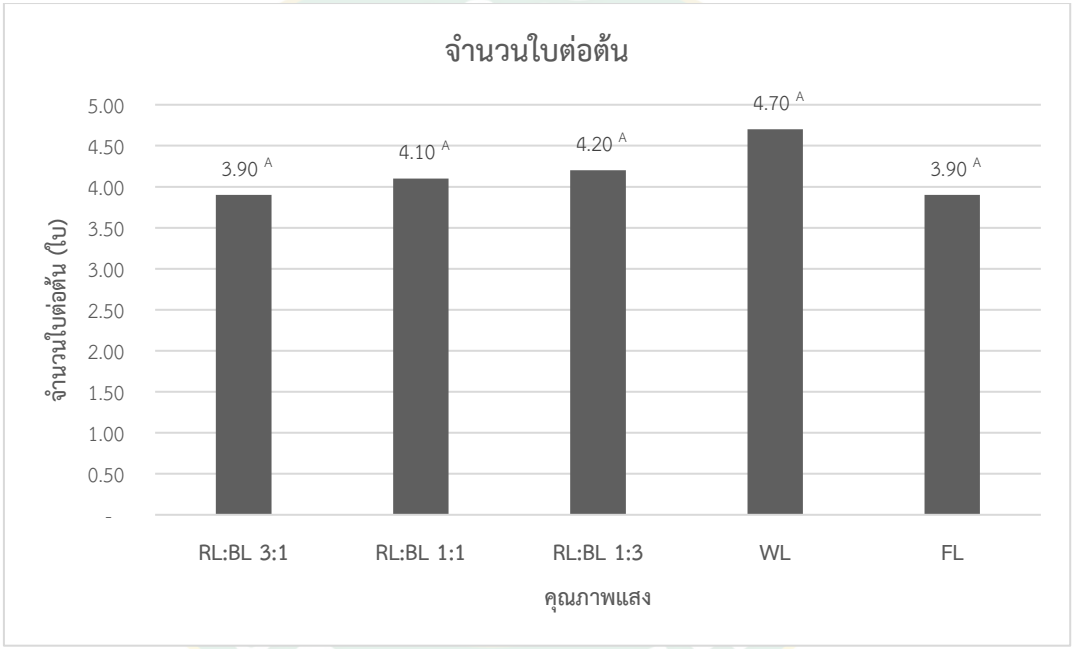
จากการวัดความหนาของลำต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้คุณภาพแสงต่างๆ พบว่า มีความหนาของลำต้นอยู่ในช่วง 0.35 – 0.44 เซนติเมตร โดยต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED แดงร่วมกับน้ำเงินอัตราส่วน 1:3 มีความหนาของลำต้นสูงที่สุด คือ 0.44 เซนติเมตร และต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีขาว มีความหนาของลำต้นน้อยที่สุด คือ 0.35 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่าความหนาของลำต้นต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับน้ำเงินอัตราส่วน 1:3 และ 3:1 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ แต่แตกต่างจากความหนาของต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:1 แสงจากหลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ความหนาของลำต้นของต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:1 และหลอดฟลูออเรสเซนต์ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ภาพที่ 26)



ภาพที่ 26 ความหนาของลำต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟเพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 15 สัปดาห์

จำนวนใบต่อต้น

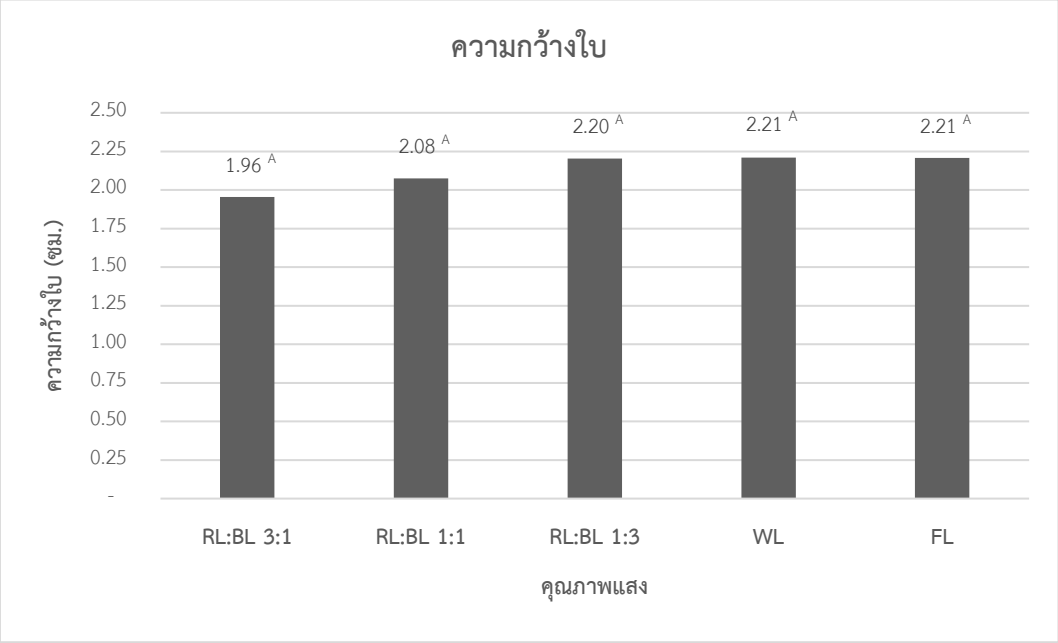
จากการนับจำนวนใบต่อต้นของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟเพาะเลี้ยงภายใต้คุณภาพแสงต่างๆ พบว่า ทุกกรรมวิธีมีจำนวนใบต่อต้นเพิ่มขึ้นจากตั้งต้นที่มีอยู่ 2 ใบ ซึ่งมีจำนวนใบต่อต้นอยู่ในช่วง 3.90 – 4.70 ใบ โดยต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีขาว มีจำนวนใบต่อต้นมากที่สุด คือ 4.70 ใบ และต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอดหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 และแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ มีจำนวนใบน้อยที่สุด คือ 3.90 ใบ เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่า ทุกกรรมวิธีจำนวนใบต่อต้นไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 27)



ภาพที่ 27 จำนวนใบต่อต้นของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟเพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 15 สัปดาห์

ความกว้างใบ

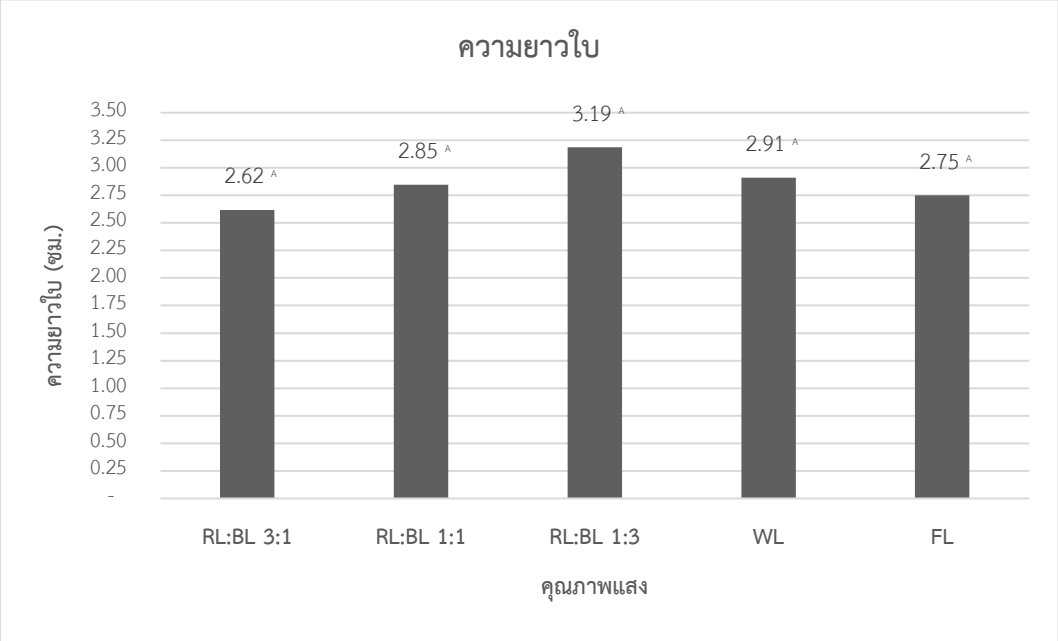
จากการวัดความกว้างใบของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟเพาะเลี้ยงภายใต้คุณภาพแสงต่างๆ พบว่า ต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงต่อสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:3 หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ มีความกว้างของใบใกล้เคียงกัน คือ 2.20 – 2.21 เซนติเมตร โดยต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงต่อสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:3 มีความกว้างของใบสูงที่สุด คือ 2.21 เซนติเมตร ในขณะที่ต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงต่อสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 และ 1:1 มีความกว้างของใบใกล้เคียงกัน คือ 1.96 – 2.08 เซนติเมตร โดยต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงต่อสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 มีความกว้างใบน้อยที่สุด คือ 1.96 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่า ทุกกรรมวิธีความกว้างใบไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ภาพที่ 28)



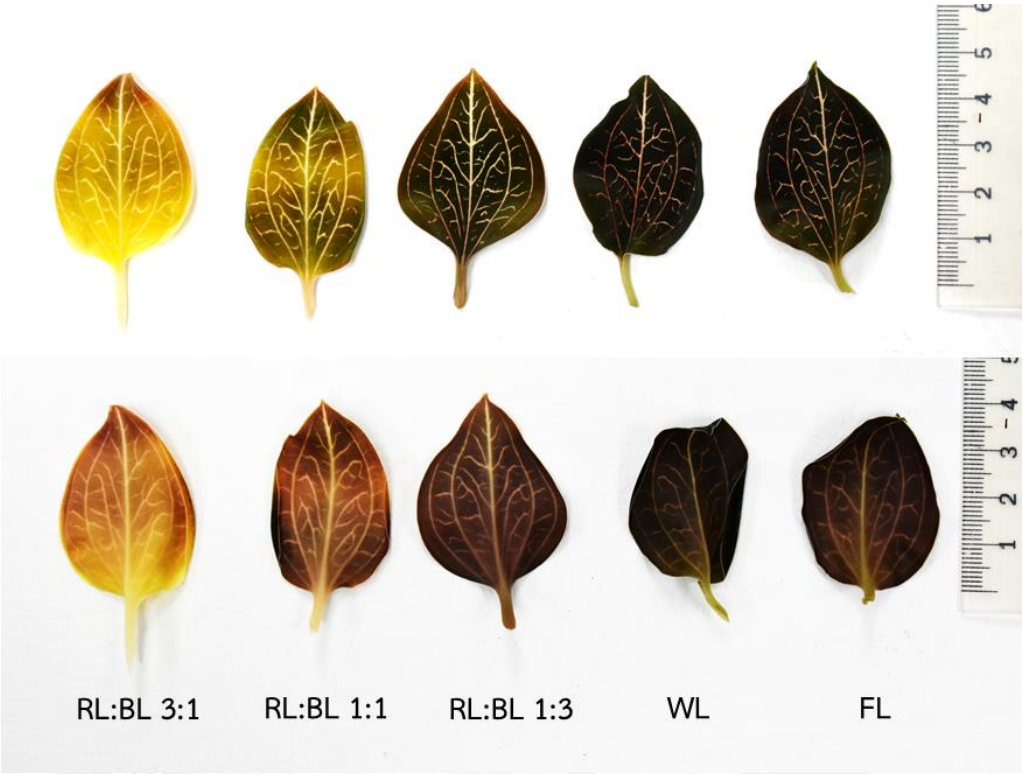
ภาพที่ 28 ความกว้างใบของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟเพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 15 สัปดาห์

ความยาวใบ

จากการวัดความยาวใบของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟเพาะเลี้ยงภายใต้คุณภาพแสงต่างๆ พบว่ามีความยาวใบอยู่ในช่วง 2.62 – 3.19 เซนติเมตร โดยต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงต่อสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:3 มีความยาวใบมากที่สุด คือ 3.19 เซนติเมตร และต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงต่อสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 มีความยาวใบน้อยที่สุด คือ 2.62 เซนติเมตร ในขณะที่ต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงต่อสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:1 และหลอด LED สีขาว มีความยาวใบใกล้เคียงกัน คือ 2.85 – 2.91 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่า ทุกกรรมวิธีความยาวใบไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ภาพที่ 29)



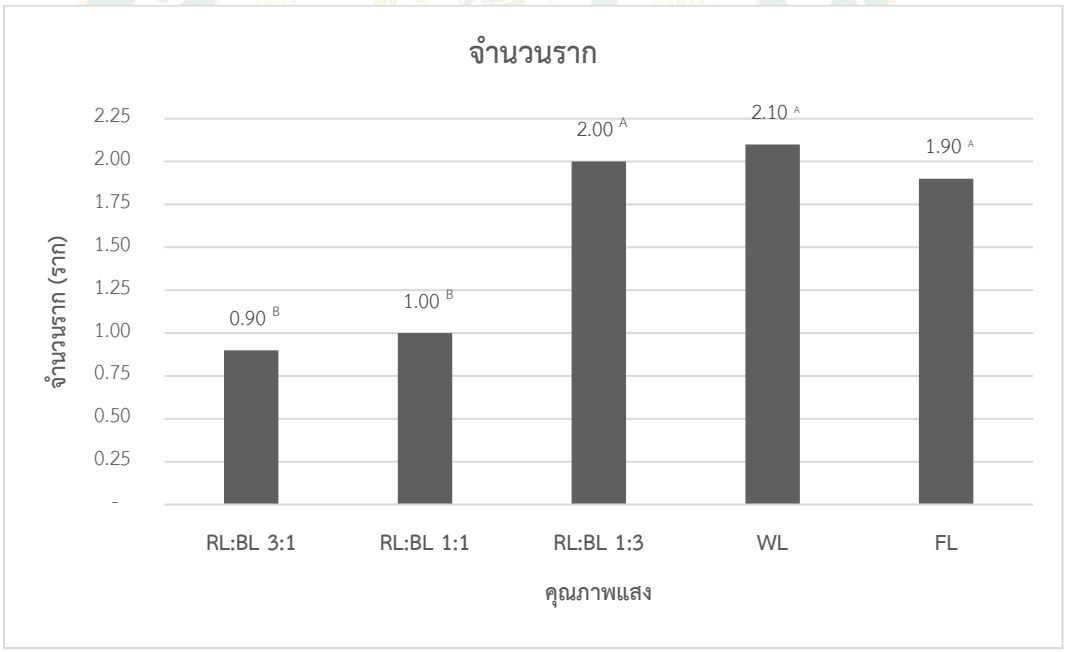
ภาพที่ 29 ความยาวใบของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟเพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 15 สัปดาห์



ภาพที่ 30 ลักษณะใบของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 15 สัปดาห์

จำนวนราก

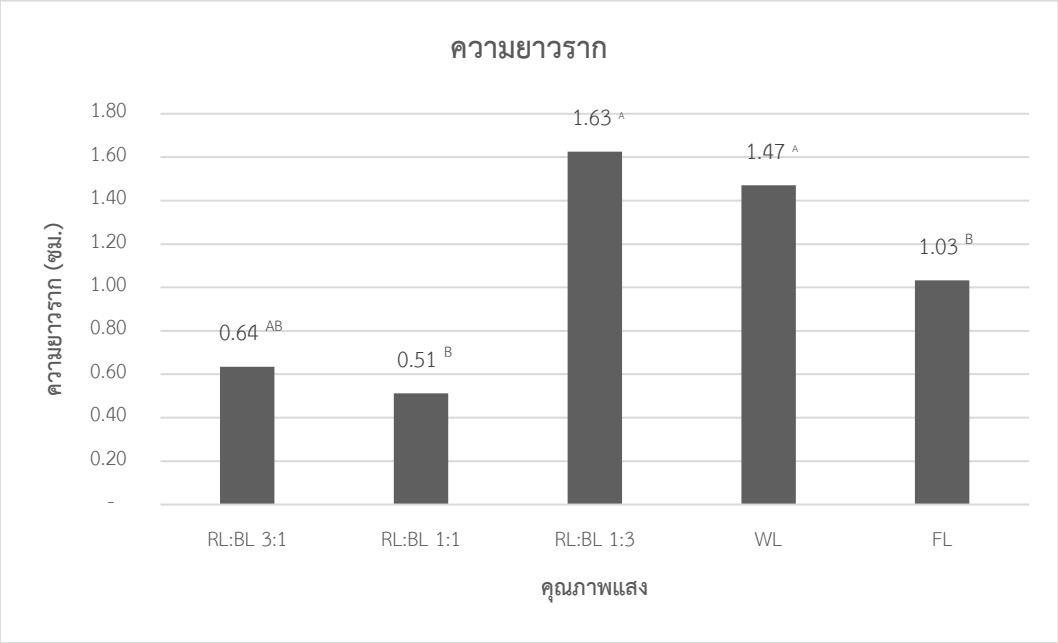
จากการนับจำนวนรากของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟเพาะเลี้ยงภายใต้คุณภาพแสงต่างๆ พบว่ามีจำนวนรากอยู่ในช่วง 0.90 – 2.10 ราก โดยต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีขาว หลอด LED สีแดงต่อสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:3 และหลอดฟลูออเรสเซนต์ มีจำนวนรากใกล้เคียงกัน คือ 1.90 – 2.10 เซนติเมตร โดยต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีขาว มีจำนวนรากมากที่สุด คือ 2.10 ราก ในขณะที่ต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงต่อสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 และ 1:1 มีจำนวนรากใกล้เคียงกัน คือ 0.90 – 1.00 ราก โดยมีต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงต่อสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 มีจำนวนรากน้อยที่สุด คือ 0.90 ราก เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่าจำนวนรากของต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงต่อสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:3 หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่มีความแตกต่างกับจำนวนรากของต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงต่อสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 และ 1:1 อย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 31)



ภาพที่ 31 จำนวนรากของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟเพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 15 สัปดาห์

ความยาวราก

จากการวัดความยาวรากของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟเพาะเลี้ยงภายใต้คุณภาพแสงต่างๆ พบว่า มีความยาวรากอยู่ในช่วง 0.51 – 1.63 เซนติเมตร โดยต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:3 มีความยาวรากสูงที่สุด คือ 1.63 เซนติเมตร และต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:1 มีความยาวรากน้อยที่สุด คือ 0.51 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่า ความยาวรากของต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:3 และหลอด LED สีขาว ไม่แตกต่างทางสถิติ แต่แตกต่างจากต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 1:1 และหลอดฟลูออเรสเซนต์อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ความยาวรากของต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:1 และหลอดฟลูออเรสเซนต์ ไม่แตกต่างทางสถิติ (ภาพที่ 32)



ภาพที่ 32 ความยาวรากของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟเพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 15 สัปดาห์

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟเพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 สัปดาห์ กรรมวิธีละ 10 ขวด นำไปชั่งน้ำหนักสดของต้นและน้ำหนักแห้งของต้น ดังแสดงในตารางที่ 10

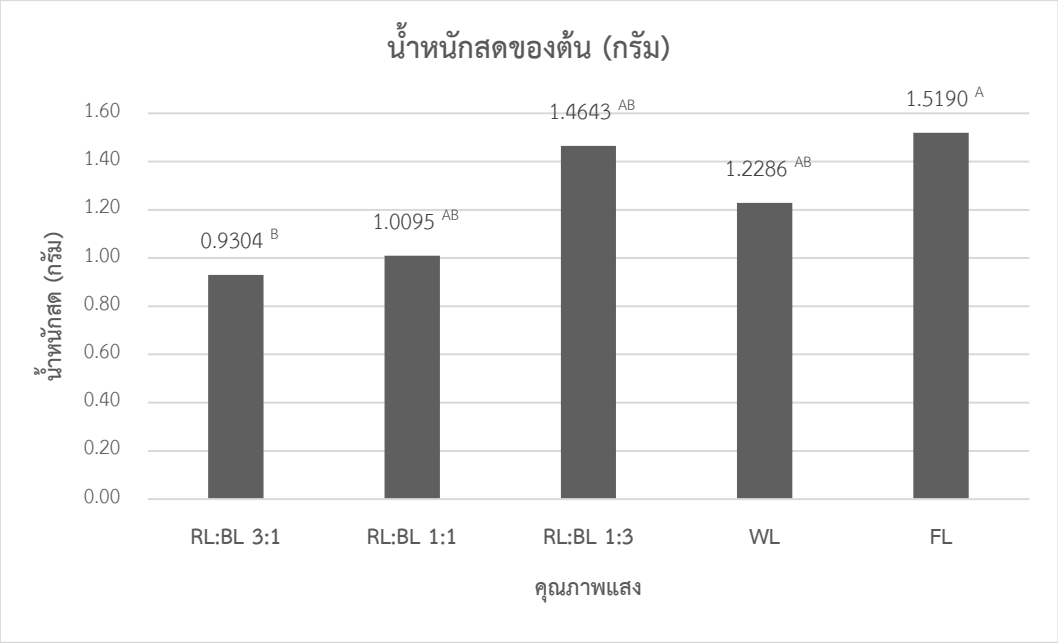
ตารางที่ 10 ปริมาณน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 สัปดาห์

Light Quality	Fresh weight (g)	Dry weight (g)	%Yield	%Water content
RL:BL 3:1	0.9304^{B}	0.0969^{A}	10.419	89.581
RL:BL 1:1	1.0095^{AB}	0.0983^{A}	9.734	90.266
RL:BL 1:3	1.4643^{AB}	0.1698^{A}	11.597	88.403
WL	1.2286^{AB}	0.1172^{A}	9.536	90.464
FL	1.5190^{A}	0.1646^{A}	10.838	89.162
Grand Mean	1.2304	0.1294		
CV (%)	52.37	87.67		
LSD 0.05	0.5804	0.1022		

*เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี LSD ตัวอักษรที่เหมือนกันหมายถึง ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทาง สถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95

น้ำหนักสดของต้น

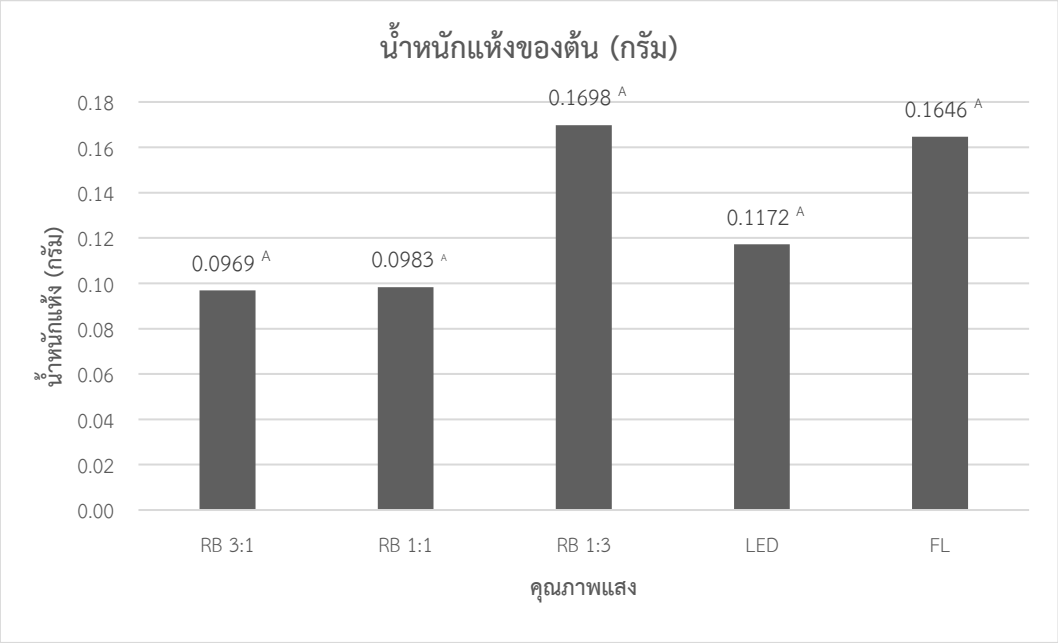
น้ำหนักสดของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้ชุดให้แสง ตามกรรมวิธีต่างๆ อยู่ในช่วง 0.9304 – 1.5190 กรัม โดยต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ ให้ปริมาณน้ำหนักสดมากที่สุด คือ 1.5190 กรัม และต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 ให้ปริมาณน้ำหนักสดน้อยที่สุด คือ 0.9304 กรัม เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่า น้ำหนักสดของต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ มีความแตกต่างจากกรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่น้ำหนักสดของต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED 1:1 1:3 และหลอด LED สีขาว ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ภาพที่ 33 และตารางที่ 10)



ภาพที่ 33 น้ำหนักสดของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟเพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 15 สัปดาห์

น้ำหนักแห้ง

น้ำหนักแห้งของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้ชุดให้แสง ตามกรรมวิธีต่างๆ อยู่ในช่วง 0.0969 – 0.1698 กรัม ต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:3 และหลอดฟลูออเรสเซนต์ ให้ปริมาณน้ำหนักแห้งใกล้เคียงกัน คือ 0.1646 – 0.1698 กรัม โดยต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:3 ให้ปริมาณน้ำหนักแห้งมากที่สุด คือ 0.1698 กรัม ต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 และ 1:1 ให้ปริมาณน้ำหนักแห้งใกล้เคียงกัน คือ 0.0969 – 0.0983 โดยต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 ให้ปริมาณน้ำหนักแห้งน้อยที่สุด คือ 0.0969 กรัม เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่า ทุกกรรมวิธีจำนวนใบต่อต้นไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ภาพที่ 34 และตารางที่ 10)



ภาพที่ 34 น้ำหนักแห้งของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 15 สัปดาห์

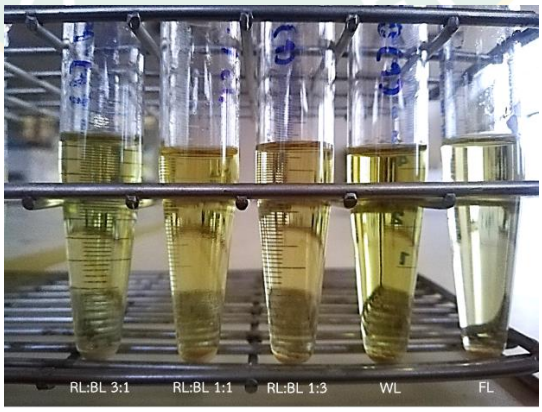
การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์

จากการวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ในต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้ชุดให้แสงตามกรรมวิธีต่างๆ โดยวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ บี และปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด ดังแสดงในตารางที่ 11 และภาพที่ 35

ตารางที่ 11 ปริมาณคลอโรฟิลล์ในต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 สัปดาห์

Light quality	Chlorophyll contents (mg/g DW)		
	a	b	Total
RL:BL 3:1	1.0038^{BC}	0.0849^{BC}	1.0888^{B}
RL:BL 1:1	0.8019^{C}	0.1102^{AB}	0.9120^{B}
RL:BL 1:3	1.4264^{B}	0.0924^{BC}	1.5188^{B}
WL	2.1591^{A}	0.1359^{A}	2.2949^{A}
FL	1.0785^{BC}	0.0731^{C}	1.1516^{B}
Grand Mean	1.2939	0.0993	1.3896
CV (%)	26.25	14.24	24.96
LSD 0.05	0.6179	0.0257	0.6311

*เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี LSD ตัวอักษรที่เหมือนกันหมายถึง ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทาง สถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



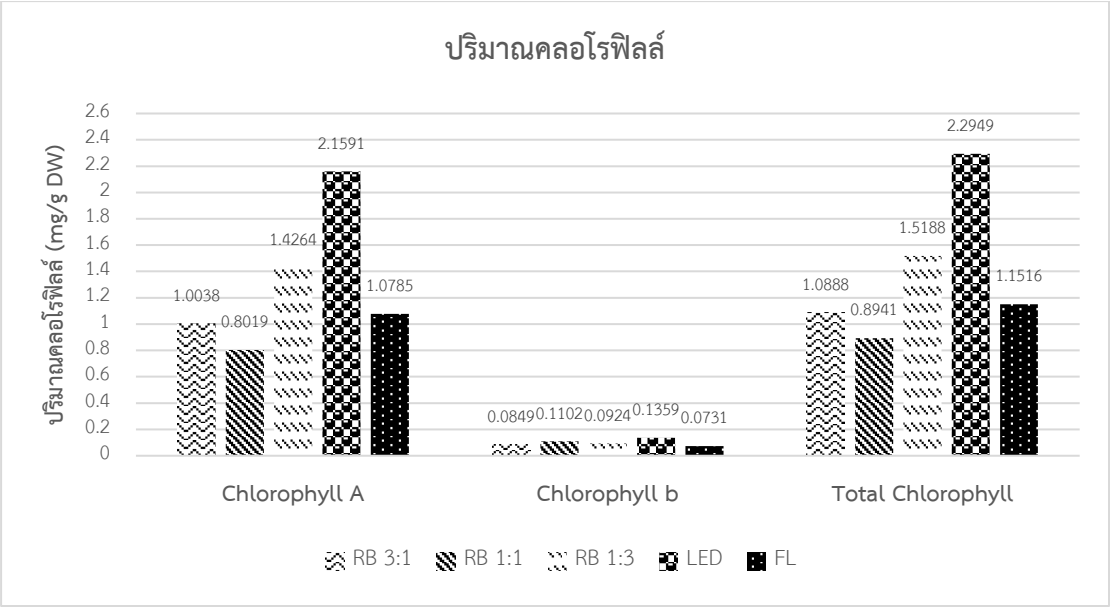
ภาพที่ 35 การสกัดคลอโรฟิลล์จากตัวอย่างต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED แดงร่วมกับน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 สัปดาห์

ต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีขาว มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ บี และปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดสูงที่สุด คือ 2.1591 0.1359 และ 2.2949 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ในขณะที่ต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:1 มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และปริมาณคลอโรฟิลล์รวม ต่ำที่สุด คือ 0.8019 และ 0.9120 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ต่ำที่สุด คือ 0.0731 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่า ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ในต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีขาว มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่น ในขณะที่ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ในต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:3 มีความแตกต่างกับต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:1 อย่างมีนัยสำคัญ แต่ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ในต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:3 และ 1:1 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 และแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์

ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ในต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีขาว มีความแตกต่างกับปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ในต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์อย่างมีนัยสำคัญ และปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ในต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ มีความแตกต่างกับปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ในต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 1:1 และ 1:3 อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ในต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 1:1 และ 1:3 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ปริมาณคลอโรฟิลล์รวม ในต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีขาว มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่น ในขณะที่ปริมาณคลอโรฟิลล์รวมในต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 1:1 1:3 และแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ



ภาพที่ 36 ปริมาณคลอโรฟิลล์ในต้นของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED แดงร่วมกับน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 สัปดาห์

การวิเคราะห์จำนวนปากใบต่อพื้นที่

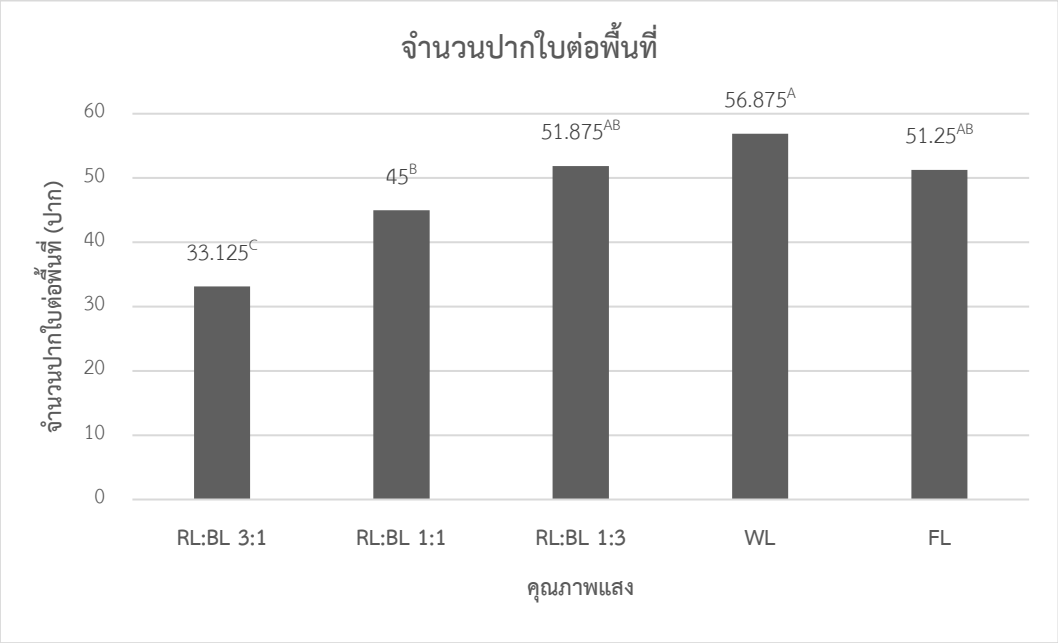
จากการวิเคราะห์จำนวนปากใบต่อพื้นที่ในต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้ชุดให้แสงตามกรรมวิธีต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 12

ตารางที่ 12 จำนวนปากใบต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร ในต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 สัปดาห์

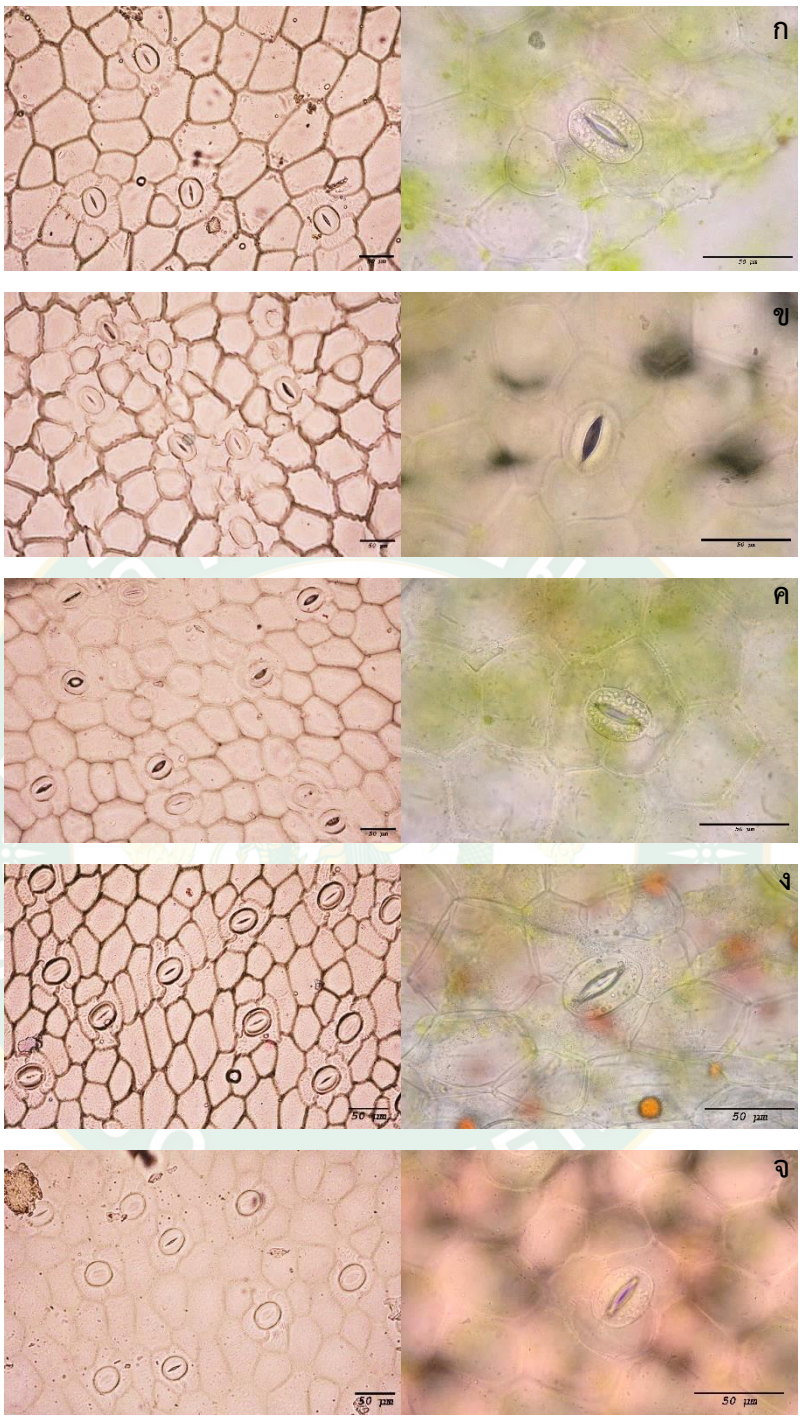
Light Quality	Stomata no.	Stomatal density
RL:BL 3:1	5.3000^{C}	33.125 ^{C}
RL:BL 1:1	7.2000^{B}	45.000 ^{B}
RL:BL 1:3	8.3000^{AB}	51.875 ^{AB}
WL	9.1000^{A}	56.875 ^{A}
FL	8.2000^{AB}	51.250 ^{AB}
Grand Mean	7.6200	47.625
CV (%)	16.86	16.86
LSD 0.05	1.1574	7.2338

*เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี LSD ตัวอักษรที่เหมือนกันหมายถึง ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทาง สถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากการนับจำนวนปากใบภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบแล้วคำนวณเทียบกับพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร พบว่า จำนวนปากใบต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร ของต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีขาวมีปริมาณมากที่สุด คือ 56.875 ปากใบ ต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน1:3 และแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ มีจำนวนปากใบต่อพื้นที่ใกล้เคียงกัน คือ 51.250 – 51.875 ปากใบ และต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 มีจำนวนปากใบต่อพื้นที่น้อยที่สุด คือ 33.125 ปากใบ เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่า จำนวนปากใบต่อพื้นที่ของของต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีขาวมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับคุณภาพแสงอื่น ในขณะที่ต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:1 และต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:3 และหลอด LED สีขาว ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ภาพที่ 37 และ 38)



ภาพที่ 37 จำนวนปากใบต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร ในต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 สัปดาห์



ภาพที่ 38 จำนวนปากใบต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร ในต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วน (ก)3:1 (ข)1:1 (ค)1:3 (ง)หลอด LED สีขาวและ (จ)หลอดฟลูออเรสเซนต์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 สัปดาห์

การวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

จากการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟเพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 สัปดาห์ ผลการวิเคราะห์ดังแสดงในตารางที่ 13

ตารางที่ 13 ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 สัปดาห์

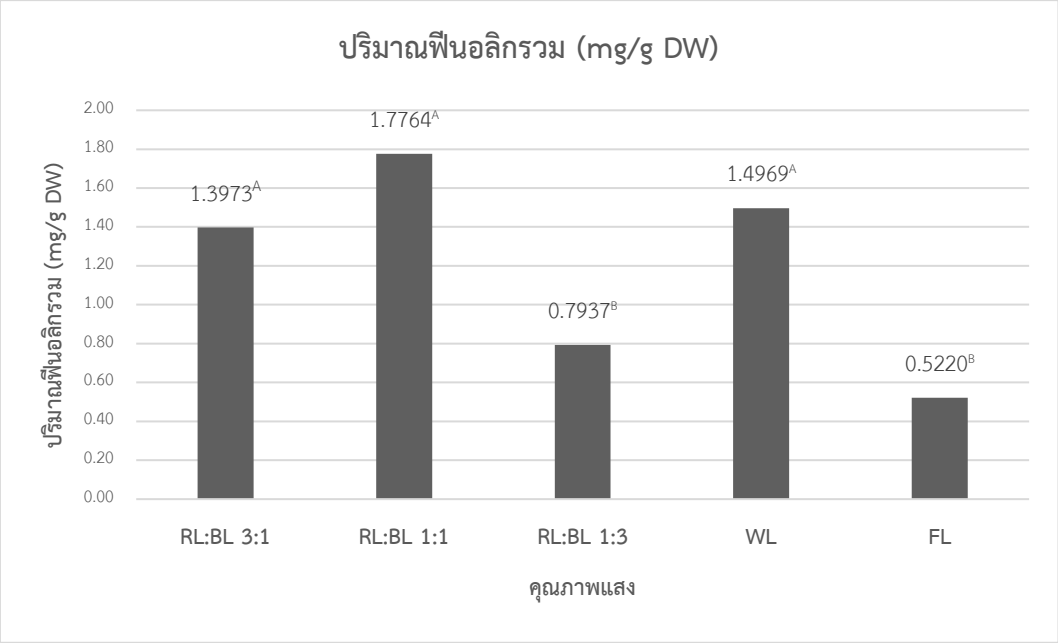
Light Quality	Total Phenolic (mg/g DW)	Total Flavonoid (mg/g DW)	Total Polysaccharide (mg/g DW)
RL:BL 3:1	1.3973^{A}	4.6830^{A}	73.22^{B}
RL:BL 1:1	1.7764^{A}	1.6654^{B}	115.32^{A}
RL:BL 1:3	0.7937^{B}	1.9125^{B}	46.05^{C}
WL	1.4969^{A}	4.1249^{A}	110.14^{A}
FL	0.5220^{B}	0.6532^{B}	42.78^{C}
Grand Mean	1.1974	2.6078	77.49
CV (%)	24.32	43.71	22.58
LSD 0.05	0.3841	1.5037	23.08

*เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี LSD ตัวอักษรที่เหมือนกันหมายถึง ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทาง สถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม (Total Phenolic)

จากการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 สัปดาห์ พบว่า ต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วน 3:1 1:1 1:3 และแสงจากหลอด LED สีขาว มีปริมาณฟีนอลิกรวม สูงกว่าต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ โดยต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วน 1:1 ให้ปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด คือ 1.7764 mg/g DW และต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยง

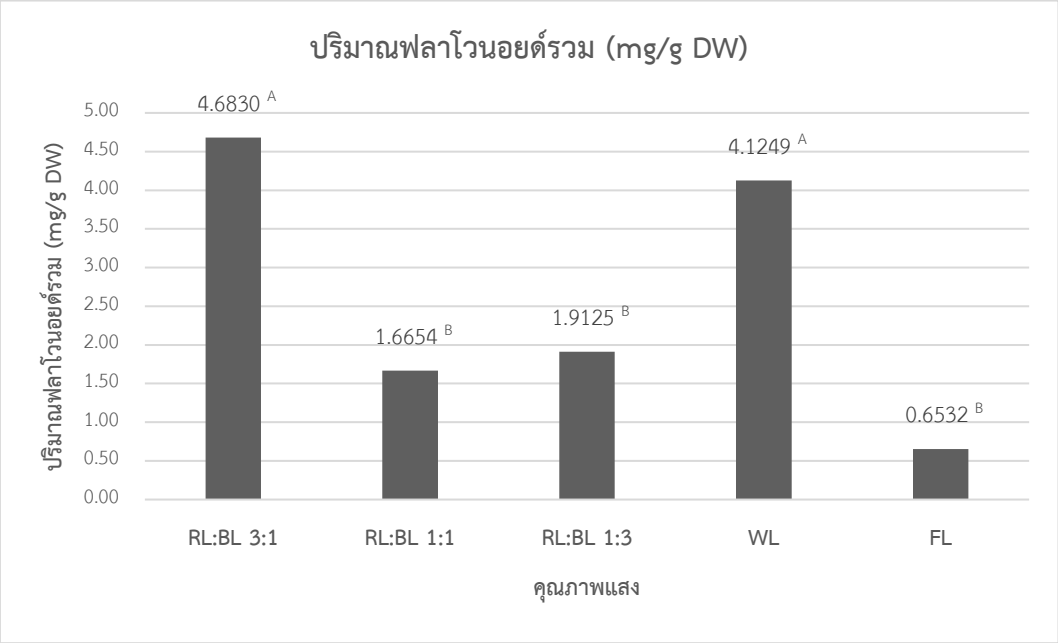
ภายใต้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ ให้ปริมาณฟีนอลิกรวมน้อยที่สุด คือ 0.5220 mg/g DW เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ พบว่า ปริมาณฟีนอลิกรวมของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วน 3:1 1:1 และแสงจากหลอด LED สีขาว ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่เมื่อเทียบกับกรรมวิธีอื่น พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ปริมาณฟีนอลิกรวมของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วน 1:3 แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 39)



ภาพที่ 39 ปริมาณฟีนอลิกรวม ในสารสกัดต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 สัปดาห์

การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoids)

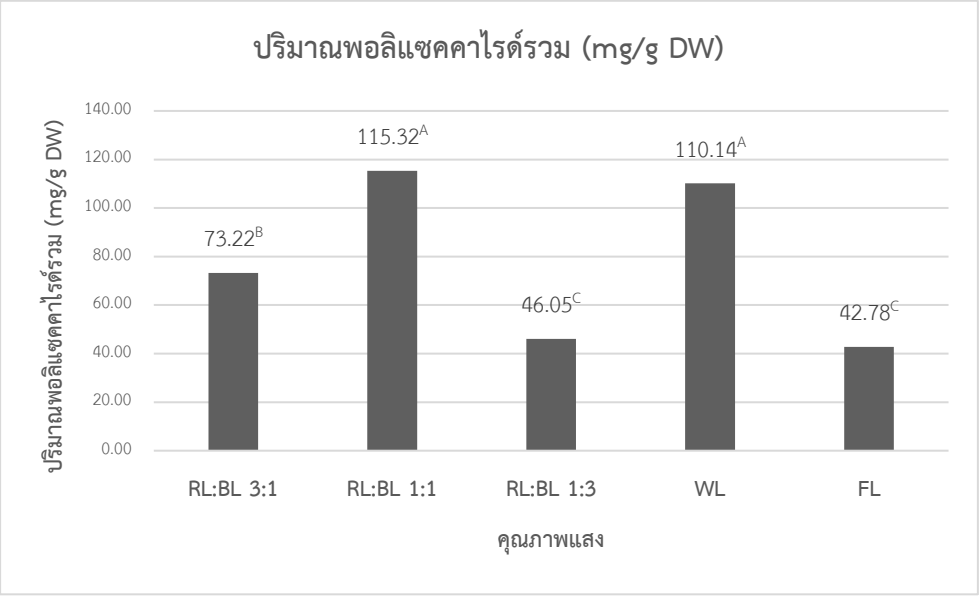
จากการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม ของสารสกัดจากกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 สัปดาห์ พบว่า ต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด คือ 4.6830 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ ให้ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมน้อยที่สุด คือ 0.6532 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ พบว่า ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 และแสงจากหลอด LED สีขาว แตกต่างจากกรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:1 1:3 และแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 34)



ภาพที่ 40 ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัดต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 สัปดาห์

การวิเคราะห์ปริมาณพอลิแซคคาไรด์รวม (Total Polysaccharide)

จากการวิเคราะห์ปริมาณพอลิแซคคาไรด์รวมของสารสกัดจากกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 สัปดาห์ พบว่า ต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:1 ให้ปริมาณพอลิแซคคาไรด์รวมสูงที่สุด คือ 115.32 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ ให้ปริมาณพอลิแซคคาไรด์รวมรวมน้อยที่สุด คือ 42.78 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติพบว่า ปริมาณพอลิแซคคาไรด์รวมของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:1 และหลอด LED สีขาว มีปริมาณใกล้เคียงกัน คือ 110.14 - 115.32 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่น ในขณะที่ปริมาณพอลิแซคคาไรด์รวมของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:3 และหลอดฟลูออเรสเซนต์ แต่ปริมาณพอลิแซคคาไรด์รวมของต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:3 และหลอดฟลูออเรสเซนต์ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 41)



ภาพที่ 41 ปริมาณพอลิแซคคาไรด์รวม ในสารสกัดต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนต่างๆ หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 สัปดาห์

วิจารณ์ผลการทดลอง

วัตถุประสงค์ที่ 1 การสำรวจประชากร และศึกษาปัจจัยทางกายภาพที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟในสภาพธรรมชาติ

จากการศึกษาทางนิเวศวิทยาของบริเวณที่พบกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ เปรียบเทียบกับข้อมูลทุติยภูมิของระบบนิเวศป่าจากแหล่งอ้างอิง พบว่า บริเวณที่พบกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ เป็นป่าดิบเขาที่ความสูงเหนือระดับน้ำทะเลปานกลาง 900 – 1,200 เมตร อุณหภูมิเฉลี่ย 20 – 24 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70 – 80 % จึงทำให้มีอากาศหนาวเย็นตลอดปี พบไม้ให้ร่มเงาขนาดใหญ่ ได้แก่ พืชวงศ์ก่อ (Fagaceae) อบเชย (Lauraceae) และยมหอม (Meliaceae) และไม้พื้นล่าง คือ ตองสาด (*Phrynium pubinerve* Blume) จากผลการศึกษาสภาพแวดล้อมทางกายภาพของพื้นที่ศึกษาพบว่ากล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟพบในป่าดิบเขา ที่มีความสูงตั้งแต่ 1,082 – 1,094 เมตร จากระดับน้ำทะเลปานกลาง ความเข้มแสงอยู่ระหว่าง 95.2-252 ลักซ์ และอุณหภูมิดิน อยู่ในช่วง 20.1-22.9 องศาเซลเซียส ลักษณะดินเป็นดินร่วนสีดำ มีเศษซากอินทรียวัตถุและความชื้นสูงมาก มีน้ำหรือลำธารล้อมรอบ และพบว่าต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟมีลักษณะที่ช่วยให้เกิดการอำพรางตัวไปกับสภาพแวดล้อมได้ดี เนื่องจากมีขนาดเล็ก และต้นมีสีเขียวเข้มที่สามารถกลมกลืนไปกับธรรมชาติรอบข้างได้อย่างดี ซึ่งเป็นไปตามที่ อบฉันท์ ไทยทอง (2549) กล่าวไว้ว่า กล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟมีถิ่นอาศัยในป่าดิบเขาตามริมลำธารที่ดินเป็นดินร่วนปนทราย และมีเศษซากพืชทับถม มีแสงส่องถึงเล็กน้อย ที่ความสูงประมาณ 1,000 เมตร จากระดับน้ำทะเลขึ้นไป แต่ขัดแย้งกับ สลิล (2551) กล่าวว่าพบที่ความสูงประมาณ 1,100 เมตร จากระดับน้ำทะเลขึ้นไป ซึ่งมีงานวิจัยอื่นๆที่เกี่ยวข้องกับนิเวศวิทยาและการกระจายพันธุ์ของกล้วยไม้ในสกุล *Anoectochilus* ในพื้นที่ต่างๆ พบว่า วรชาติและประนอม (2552) พบว่านไหมนา (*A. roxburghii*) ที่อุทยานแห่งชาติน้ำหนาว จังหวัดเพชรบูรณ์ สภาพป่าเป็นป่าดิบชื้นและป่าดิบเขา ที่ความสูง 650 – 1,200 เมตร เหนือระดับน้ำทะเล เป็นป่าต้นน้ำของแม่น้ำหลายสายในภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ นพรัตน์ และคณะ (2556) พบเอื้องดินสยาม (*A. albolineatus*) ที่อุทยานแห่งชาติแก่งกระจาน จังหวัดเพชรบุรี กระจายพันธุ์ในป่าดิบแล้งและป่าดิบเขาที่ความสูง 300 – 800 เมตร เหนือระดับน้ำทะเล อนุพันธ์ และคณะ (2556) พบว่านนกคุ้มดอกเหลือง (*A. lanceolatus*) ที่อุทยานแห่งชาติแม่วงก์ จังหวัดกำแพงเพชร สภาพป่าเป็นป่าดิบชื้นและป่าดิบเขา และอนุพันธ์ และคณะ (2550) พบเอื้องดินสยาม (*A. siamensis*) ที่อุทยานแห่งชาติภูเรือ จังหวัดเลย ที่มีลักษณะภูมิประเทศเป็นทิวเขาสูงสลับซับซ้อน สภาพป่า พื้นที่มีความสูงตั้งแต่ 800 เมตรจากระดับน้ำทะเลขึ้นไป สภาพป่าส่วนใหญ่เป็นป่าดงดิบเขาและป่าสนเขา จึงทำให้เห็นได้ว่า กล้วยไม้สกุลนี้เป็นพืชในร่ม มีการกระจายพันธุ์ในพื้นที่ชื้นแฉะ ที่ความสูงประมาณ 800 เมตร เหนือระดับน้ำทะเลขึ้นไป

ผลของการวิเคราะห์ดินในแปลงวิจัย พบว่า ความหนาแน่นรวมของดินเฉลี่ย 0.8 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 6.70 ปริมาณอินทรียวัตถุในดิน (OM) ร้อยละ 5.5 ปริมาณไนโตรเจน (N), ฟอสฟอรัส (P), โปแตสเซียม (K), แคลเซียม (Ca), แมกนีเซียม (Mg), และกำมะถัน (S) มีค่าเฉลี่ยร้อยละ 0.28, 10.44, 386.54, 2,280.01, 108.04 และ 68.23 ตามลำดับ จากผลการวิเคราะห์จะเห็นว่า ดินในแปลงทดลองมีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) อยู่ในช่วง 6.5-7.0 ซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช และส่งเสริมการทำงานของจุลินทรีย์ในดิน ทำให้พืชเจริญเติบโตได้ดี (บุญแสน, 2548) สอดคล้องกับสมบุญ (2544) ซึ่งกล่าวโดยรวมว่า ดินที่เป็นกรดมากมีธาตุอะลูมิเนียมและเหล็กเป็นจำนวนมาก จะรวมตัวกับอนุมูลฟอสเฟต ทำให้เกิดตะกอนของอะลูมิเนียมฟอสเฟต ทำให้ฟอสฟอรัสอยู่ในรูปที่พืชนำไปใช้ไม่ได้ ดังนั้นดินที่มีสภาพกรด-ด่างเป็นกลางช่วยให้อนุมูลฟอสเฟตอยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ ส่วนความหนาแน่นรวมอยู่ในช่วง 0.48-1.00 g/cm^3 ปริมาณอินทรียวัตถุในดินอยู่ในช่วง 4.80-6.36 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องตามที่กรมพัฒนาที่ดิน (2553) กล่าวไว้ว่าดินที่มีปริมาณอินทรียวัตถุมากกว่า 4.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นดินที่เหมาะสมต่อการปลูกพืช และมีธาตุอาหารในดินอยู่ในระดับปานกลางไปถึงสูง เนื่องจากเป็นดินป่าและสภาพพื้นที่ไม่ค่อยถูกรบกวน เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ สอดคล้องกับรายงานของครรชิต (2547) พบว่ากล้วยไม้สามารถเจริญเติบโตได้ดีในดินที่มี ปริมาณอินทรียวัตถุอยู่ในช่วง 6.19-6.33 เปอร์เซ็นต์

ผลการบันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยาบางประการของกล้วยไม้นกคุ้มไฟ พบว่า ความสูงของต้นอยู่ในช่วง 5.5-12 เซนติเมตร ความกว้างทรงพุ่มอยู่ในช่วง 6.3-14 เซนติเมตร จำนวนข้ออยู่ในช่วง 3-6 ข้อ จำนวนใบอยู่ในช่วง 3-6 ใบ ความยาวใบอยู่ในช่วง 3.5-7 เซนติเมตร ความกว้างใบอยู่ในช่วง 2.5-4.1 เซนติเมตร จำนวนเส้นใบอยู่ในช่วง 4-6 เส้น ส่วนข้อมูลเรื่องดอกนั้นพบต้นที่ออกออกทั้งสิ้นจำนวน 2 ต้นเท่านั้น คือในแปลงที่ 5 และ 6 โดยช่อดอกมีจำนวนดอกอยู่ในช่วง 6-10 ดอก และความยาวของก้านช่อดอกอยู่ในช่วง 21-21.5 เซนติเมตร โดยเมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลทุติยภูมิจากแหล่งอ้างอิง พบว่า กล้วยไม้สมุนไพรนกคุ้มไฟเป็นพืชล้มลุก มีลำต้นใต้ดินแบบเหง้า รากออกรอบข้อ ซึ่งเป็นลักษณะของกล้วยไม้ดินสกุลนี้ โดยอนุพันธ์ และคณะ (2556) ได้รายงานว่า กล้วยไม้ดินชนิดเอื้องนกคุ้มดอกเหลือง (*A. lanceolatus*) มีลำต้นอวบน้ำทอดยาวไปตามพื้นดิน เรียกว่า Rhizome ส่วนของสัณฐานวิทยาของลำต้น ใบ และดอก ซึ่งเมื่อนำข้อมูลเปรียบเทียบกับข้อมูลทางทุติยภูมิจากหนังสือ Flora of Thailand พบว่า กล้วยไม้สมุนไพรนกคุ้มไฟที่พบในแปลงทดลองมีลักษณะใกล้เคียงกับที่พบรายงาน แต่เนื่องด้วยสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน ทำให้ลำต้นมีขนาดเล็ก สีของใบสว่าง และฤดูการออกดอกที่เปลี่ยนแปลงไป

ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่พบในแปลงวิจัย เป็นข้อมูลที่มีความละเอียด ส่วนใหญ่สอดคล้องกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาตามที่อบฉันท์ (2549) สลิล (2551) และSantisuk et al. (2011) ที่ได้รายงานไว้ มีความแตกต่างบ้างในส่วนของข้อมูลเชิงปริมาณ

เนื่องจากสภาพแวดล้อมที่มีความแตกต่างกัน ส่วนผลการศึกษาทางกายวิภาคของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ พบกลุ่มเส้นใยของราไมคอร์ไรซา เป็นกระจุกเซลล์ ลักษณะเป็นเส้นขดแน่นเรียงตัวภายในเซลล์พาเรนไคมาในชั้นคอร์เท็กซ์ของราก ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของนันทนา และคณะ (2543) ที่กล่าวว่า พบไมคอร์ไรซาในรากกล้วยไม้เกาะอาศัยแทบทุกชนิด และในกล้วยไม้ดินทุกชนิด การเจริญของไมคอร์ไรซาในกล้วยไม้เกาะอาศัยและกล้วยไม้ดิน พบเส้นใยของราไมคอร์ไรซาเจริญอยู่ในเซลล์บริเวณคอร์เท็กซ์ของราก ประโยชน์ของราไมคอร์ไรซานอกจากช่วยดูดธาตุอาหารต่างๆ ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืชโดยเฉพาะอย่างยิ่งธาตุฟอสฟอรัส ยังช่วยสังเคราะห์ฮอร์โมน ได้แก่ ออกซินไซโทไคนิน และจิบเบอเรลลิน ทำให้พืชมีการเจริญเติบโตดีอีกด้วย (สมบุญ, 2537)

ส่วนลักษณะกายวิภาคของใบพบว่ามีลักษณะที่ต่างไปจากพืชใบเลี้ยงเดี่ยวทั่วไป คือ ชั้นเนื้อใบ (Mesophyll) มี 2 ชั้นชัดเจน คือ ชั้นของ Palisade mesophyll และ Spongy mesophyll ซึ่งเป็นลักษณะของพืชใบเลี้ยงคู่ นอกจากนี้ยังสังเกตเห็นสีชมพูในเซลล์ใบได้อย่างชัดเจน ซึ่งสีชมพูดังกล่าวอาจเป็นสีแอนโทไซยานินที่อยู่ภายในแวคิวโอลของเซลล์ในชั้น Mesophyll ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Poobathy et al. (2018) ที่พบว่าพืช *Anoectochilus* sp. มีลักษณะทุกส่วนสอดคล้องกับลักษณะเด่นของพืชทั่วไปเป็นแบบใบเลี้ยงเดี่ยวทุกประการ ยกเว้นลักษณะโครงสร้างภายในของใบ เนื่องจากพบว่าชั้นด้านบนเป็นชั้น Palisade mesophyll และด้านล่างเป็น Spongy mesophyll ซึ่งเป็นลักษณะโครงสร้างภายในของพืชใบเลี้ยงคู่ และพบว่าในชั้น Spongy mesophyll นั้นมีเซลล์ที่เรืองแสงสีแดงสดเมื่อสัมผัสกับความยาวคลื่นแสงอัลตราไวโอเลต แสงสีน้ำเงิน และแสงสีเขียว ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่จะเป็นเซลล์ที่มีสารแอนโทไซยานิน ที่ทำหน้าที่เพื่อป้องกันอันตรายจากแสงแดดในกระบวนการสังเคราะห์แสง ช่วยให้พืชสามารถปรับตัวได้ดีในสภาพภายใต้ร่มเงาสำหรับพืชที่ต้องการแสงน้อยหรือพืชอยู่ใต้ร่มเงา

วัตถุประสงค์ที่ 2 การศึกษาผลของแสง LED ที่มีต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยา และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ

แสงเป็นปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่สำคัญในการเจริญเติบโตของพืช คุณภาพของแสงในช่วงความยาวคลื่นสีแดงและสีน้ำเงินเป็นความยาวคลื่นสเปกตรัมหลักและมีความสำคัญมากต่อกระบวนการเมแทบอลิสมของพืช (Johkan et al., 2010) ช่วงความยาวคลื่นสีแดงมีส่วนช่วยในกระบวนสังเคราะห์แสงและอาจช่วยเพิ่มการสะสมแป้งในพืชหลายชนิด (Kobayashi et al., 2013) ขณะที่ช่วงความยาวคลื่นสีน้ำเงินมีความสำคัญต่อการสังเคราะห์แสง การพัฒนาคลอโรพลาสต์ การสร้างคลอโรฟิลล์ และองค์ประกอบทางเคมีของพืช (Hogewoning et al., 2010)

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงต้องการหาสัดส่วนคุณภาพของแสงคลื่นสีแดงและสีน้ำเงินที่จะมีผลต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาและปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ โดยการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ภายใต้ชุดให้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 1:1 1:3 หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 15 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่าต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟมีลักษณะสัณฐานวิทยาที่ตอบสนองต่อคุณภาพแสงแตกต่างกัน แต่พบว่าต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้ชุดให้แสงจากหลอด LED สีขาว ให้ความสูง ความกว้างทรงพุ่ม จำนวนใบ ความกว้างใบ จำนวนราก และความยาวราก สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่น ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Bello-Bello et al. (2015) ทำการศึกษาผลของคุณภาพแสง LED ต่อการเพิ่มจำนวนยอดและการเจริญเติบโตของต้นวานิลลาในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า แสงจากหลอด LED สีขาว ให้ความสูงของพืช จำนวนใบ จำนวนราก และความยาวของรากสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับ แสงจากหลอด LED สีแดง สีน้ำเงิน ในอัตราส่วนระหว่างสีแดงต่อสีน้ำเงิน 1:1 กล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้ชุดให้แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:3 ให้ความหนาของลำต้น และความยาวใบสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่น ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Shenyi et al. (2017) ทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของว่านไหมนา (*Anoectochilus roxburgii*) ที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED พบว่า ว่านไหมนาที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีน้ำเงิน มีความหนาของลำต้น และพื้นที่ใบมากที่สุด

ปริมาณคลอโรฟิลล์เป็นปัจจัยสำคัญของการสังเคราะห์แสง (Ghosh et al., 2004) จากผลการทดลองพบว่า ต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีขาว มีปริมาณคลอโรฟิลล์ a คลอโรฟิลล์ b และคลอโรฟิลล์รวมทั้งหมดสูงกว่ากรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งแตกต่างไปจากผลการศึกษาอื่นๆ ที่ระบุว่า LED ช่วงคลื่นแสงสีน้ำเงินมีบทบาทสำคัญในการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ของพืช เช่น การเพาะเลี้ยงกล้าไม้ Phalaenopsis“ Fortune Saltzman”

ที่ให้ LED ช่วงคลื่นแสงสีน้ำเงิน เป็นเวลา 5 เดือน มีปริมาณของคลอโรฟิลล์ a, b และคลอโรฟิลล์รวมทั้งหมดสูงอย่างมีนัยสำคัญ (Anuchai et al., 2017) และพบว่า LED ช่วงคลื่นแสงสีน้ำเงินมีผลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ a ของว่านไหมนา (*A. roxburghii)* อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์ b หลอด LED ทุกคลื่นแสงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่ LED ช่วงคลื่นแสงสีน้ำเงิน สีเขียว และสีขาว มีผลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์รวมทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญ (Wang et al., 2018) อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองนี้ที่พบว่า LED สีขาวมีปริมาณคลอโรฟิลล์ a, b และคลอโรฟิลล์รวมทั้งหมดสูงกว่ากรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญนั้น อาจเนื่องมาจากความเข้มของแสงที่ให้ในการทดลองมีความเข้มต่ำคือที่ 20 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ ขณะที่งานวิจัยของ Wang et al. (2018) ใช้ที่ 30 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ ส่วนงานวิจัยกล้วยไม้ชนิดอื่น ๆ จะใช้ความเข้มแสงที่ประมาณ 60 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ (Ewa et al., 2017)

ปากใบเป็นช่องทางสำหรับการแลกเปลี่ยนอากาศและทางออกของไอน้ำในระหว่างการดูดซับคาร์บอนไดออกไซด์ จากกระบวนการหายใจและการคายน้ำ ซึ่งขึ้นอยู่การปิดเปิดของปากใบ มีปัจจัยภายนอกหลายอย่างที่มีผลต่อการเปิดและปิดปากใบ เช่น แสง อุณหภูมิ และ คาร์บอนไดออกไซด์ จากผลการศึกษา LED สีขาว มีความหนาแน่นปากใบมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ในการศึกษาอื่นๆ ที่คล้ายกันปากใบของพืชชนิดต่าง ๆ ก็ตอบสนองต่อคุณภาพแสงแตกต่างกัน ใน *Stevia rebaudiana* แสงสีน้ำเงินไม่เพียงแต่ช่วยเพิ่มจำนวนปากใบเท่านั้นแต่ยังช่วยทำให้ช่องปากเปิดด้วย (Simlat et al., 2016) โดย Macedo et al. (2011) พบว่าแสงยูวีแดงและน้ำเงินช่วยลดจำนวนปากใบของใบ *Alternanthera brasiliana* ส่วน Wang et al. (2018) พบว่า LED สีเหลืองทำให้ความหนาแน่นปากใบเพิ่มขึ้นในว่านไหมนา (*A. roxburghii)* แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่น ผลลัพธ์เหล่านี้บ่งชี้ว่าผลของคุณภาพแสงที่แตกต่างกันมีผลต่อปากใบของพืชต่างชนิดกันแตกต่างกัน

การสร้างสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิเป็นส่วนที่ขาดไม่ได้ของชีวิตพืชและเกี่ยวข้องอย่างใกล้ชิดกับการเจริญเติบโตของพืชและปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม แสงเป็นปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่สำคัญที่มีผลต่อการสะสมของสารทุติยภูมิ จากงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง พบว่าแสง LED สีน้ำเงิน, UV-B และ UV-A เป็นช่วงคลื่นแสงที่กระตุ้นการแสดงออกของยีนของ chalcone synthase ใน flavonoid metabolic pathway และ flavonoid metabolism ใน Arabidopsis (Christie et al., 1996; Fuglevand et al., 1996) ใน *Phaseolus vulgaris* L. แสง LED สีน้ำเงินส่งผลต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ปริมาณฟีนอลิกในต้นกล้า *Lactuca sativa* L. ที่ให้แสง LED สีน้ำเงินเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (Johkan et al., 2010) ในการศึกษากล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ พบว่า คุณภาพแสง LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:1 แสง มีปริมาณฟีนอลิกรวม สูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับ Taulavuori (2016) ที่ให้ข้อเสนอแนะว่าอาจจำเป็นต้องให้ทั้งแสง LED สีน้ำเงิน และสีแดงเพื่อควบคุมการสะสมปริมาณฟีนอลิกในใบโหระพา ส่วนปริมาณฟลาโวนอยด์รวม พบว่า

แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 และแสงจากหลอด LED สีขาว ส่งผลต่อปริมาณฟลาโวนอยด์รวมอย่างมีนัยสำคัญ จากผลการวิจัยเหล่านี้บ่งชี้ว่าคุณภาพแสง LED สีขาว และคุณภาพและสัดส่วนที่เหมาะสมระหว่างแสง LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน ช่วยส่งเสริมการสะสมของสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิ ซึ่งเป็นสารสำคัญของพืชสมุนไพร

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

การศึกษาปัจจัยสภาพแวดล้อมและแสง LED ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ (*A. burmanicus* Rolfe) แบ่งเป็น 2 ส่วน คือ 1) การสำรวจประชากร และศึกษาปัจจัยทางกายภาพที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟในสภาพธรรมชาติ และ 2) การศึกษาผลของแสง LED ที่มีต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยา และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้สรุปผลการทดลองตามลำดับดังต่อไปนี้

วัตถุประสงค์ที่ 1 การสำรวจประชากร และศึกษาปัจจัยทางกายภาพที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟในสภาพธรรมชาติ

1. กล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟเป็นกล้วยไม้ดินขนาดเล็ก พบในพื้นที่ชื้นแฉะที่ความสูงเหนือระดับน้ำทะเลปานกลาง 1,000 – 1,100 เมตร เจริญเติบโตบนดินภายใต้ร่มเงาหนาแน่นของป่าดิบเขาที่ความเข้มแสงประมาณ 100-200 ลักซ์ อุณหภูมิเฉลี่ย 20 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70-80%
2. สภาพดิน มีค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 6.12 – 7.19 ถือเป็นกรดอ่อนถึงเป็นกลาง ซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช และส่งเสริมการทำงานของจุลินทรีย์ และดินมีปริมาณธาตุอาหาร K Ca Mg และ S สูง เนื่องจากมีการสะสมของปริมาณอินทรียวัตถุเป็นเวลานานทำให้ดินมีสภาพเป็นดินดำร่วน ที่มีปริมาณอินทรียวัตถุร้อยละ 4.80 - 6.36
3. นกคุ้มไฟเป็นพืชล้มลุกมีลำต้นใต้ดินแบบเหง้า รากงอกออกจากข้อ ลำต้นเหนือดิน มีความสูงของลำต้น 5.5-12 เซนติเมตร ลำต้นมี 2-4 ข้อ และความกว้างทรงพุ่ม 6-14 เซนติเมตร จำนวนใบ 3 - 5 ใบ ออกเป็นกระจุกที่บริเวณโคนต้น มีกาบใบหุ้มลำต้น ใบกว้างและยาวเฉลี่ย 3.5 – 4.25 และ 3.5 – 7 เซนติเมตร เส้นใบย่อย 5 เส้น ลักษณะเป็นร่างแห และการเรียงตัวของใบเป็นแบบสลับ ระบบรากเป็นรากฝอย
4. ลักษณะกายวิภาคของนกคุ้มไฟ พบกลุ่มเส้นใยราไมคอร์ไรซาในบางเซลล์ของพาเรนไคมาในชั้นคอร์เท็กซ์ของราก
5. จากผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าสภาพแวดล้อมของป่าดิบเขาที่ไม่ถูกรบกวน ที่ความสูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง 1000 เมตร จากระดับน้ำทะเลปานกลางขึ้นไป ดินมีความเป็นกรด-ด่าง ปานกลาง ปริมาณอินทรียวัตถุในดินสูงธาตุอาหารในดินอยู่ในระดับปานกลางไปถึงสูง มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ

วัตถุประสงค์ที่ 2 การศึกษาผลของแสง LED ที่มีต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยา และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ

1. แสงจากหลอด LED สีขาว ส่งผลต่อความสูงลำต้น ความกว้างทรงพุ่ม จำนวนใบ ความกว้างใบ จำนวนราก ความยาวราก ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ บี คลอโรฟิลล์รวมสูงที่สุด และจำนวนปากใบต่อพื้นที่มากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่น
2. แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วน 1:3 ส่งผลต่อความหนาของลำต้น ความยาวใบ และน้ำหนักแห้งสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่น
3. แสงจากหลอดฟลูเรสเซนต์ ส่งผลต่อน้ำหนักสดสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่น
4. แสงจากหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:1 ส่งผลต่อปริมาณฟีนอลิกรวมและปริมาณพอลิแซคคาไรด์รวมสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่น
5. แสงจากหลอด LED แดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 ให้ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่น

บรรณานุกรม

Anuchai J and Hsieh CH. 2017. Effect of change in light quality on physiological transformation of in vitro Phalaenopsis 'Fortune Saltzman' seedlings during the growth period. **Horticulture Journal**,83(3), 395-402.

Christie JM and Jenkins GI. 1996. Distinct UV-B and UV-A/blue light signal transduction pathways induce chalcone synthase gene expression in Arabidopsis cells. **Plant Cell** 8(9), 1555-1567.

Dressler R.L. 1993. **Phylogeny and Classification of Orchid Family**. Dioscorides Press: Portland, Oregon, USA.

Ewa Hanus-Fajerska and Renata Wojciechowska. 2017. **Impact of Light-Emitting Diodes (LEDs) on Propagation of Orchids in Tissue Culture**. Department of Agricultural and Food Engineering, Indian Institute of Technology Kharagpur India.

Fuglevand G, Jackson JA and Jenkins GI. 1996. UV-B, UV-A and blue light signal transduction pathways interact synergistically to regulate chalcone synthase gene expression in Arabidopsis. **Plant Cell** 8(12), 2347-2357.

Ghosh PK, Ramesh P, Bandyopadhyay KK, Tripathi AK, Hati KM, Misra AK and Acharya CL. 2004. Comparative effectiveness of cattle manure, poultry manure, phosphocompost and fertilizerNPK on three cropping systems in vertisols of semi-arid tropics. I. Crop yields and system performance. **Bioresource Technology** 95(1), 77-83.

Hogewoning SW, Trouwborst G, Maljaars H, Poorter H, van Ieperen W and Harbinson J. 2010. Blue light dose-responses of leaf photosynthesis, morphology, and chemical composition of *Cucumis sativus* grown under different combinations of red and blue light. **Journal of Experimental Botany**,61(11), 3107-3117.

Jericó Jabín Bello-Bello, Eduardo Martínez-Estrada, José Humberto Caamal-Velázquez and Victorino Morales-Ramos. 2015. Effect of LED light quality on in vitro shoot proliferation and growth of vanilla (*Vanilla planifolia* Andrews) **African Journal of Biotechnology** 15(8), 272-277

Johkan M, Shoji K, Goto F, Hashida S and Yoshihara T. 2010. Blue light-emitting diode light irradiation of seedlings improves seedling quality and growth after transplanting in red leaf lettuce. **Hortscience**,12(12), 1809-1814.

Kobayashi K, Amore T and Lazaro M. 2013. Light-emitting diodes (LEDs) for miniature hydroponic lettuce. **Optics and Photonics Journal** 3(1), 74-77.

Macedo AF, Leal-Costa MV, Tavares ES, Lage CLS and Esquibel MA. 2011. The effect of lightqualityon leaf production and development of in vitro-cultured plants of *Alternanthera brasiliana* Kuntze. **Environmental and Experimental Botany** 70(1), 43-50.

Plants, Siam Exotica. 2006. กล้วยไม้ (**Orchid**). [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.siamexotica.com/How-to-Grow-Orchid.html

Ranjetta Poobathy, Rahmad Zakaria, Vikneswaran Murugaiyah and Sreeramanan Subramaniam. 2018. Autofluorescence study and selected cyanidin quantification in the Jewel orchids *Anoectochilus sp*. and *Ludisia discolor*. **PLOS ONE** 13(4), 1-19.

Santisuk T and Kai Larsen. 2011a. **Floa of Thailand Vol.12**. Bangkok: Prachachon Co.Ltd.

Shenyi, Y., Qingsong, S., Mengjie, X., Shuailing, L., Mei, W., Xin, T. and Liyang, S. 2017. Effects of light Quality on morphology, enzyme activities and bioactive compound contents in *Anoectochilus roxburgii*. **Frontiers in Plant Science**,857(8), 1-7.

Shenyi Ye, Qingsong Shao and Ailian Zhangb. 2017. *Anoectochilus roxburghii*: A review of its phytochemistry, pharmacology, and clinical applications. **Journal of Ethnopharmacology**,209, 184-202.

Shenyi Ye, Qingsong Shao, Mengjie Xu, Shuailing Li, Mei Wu, Xin Tan and Liyang Su. 2017. Effects of Light Quality on Morphology, Enzyme Activities, and Bioactive Compound Contents in *Anoectochilus roxburghii.* **Front Plant Sci**,8(857), 1-7.

Simlat M, S ´le˛zak P, Mos ´ M, Warcho M, Skrzypek E and Ptak A. 2016. The effect of light quality on seed germination, seedling growth and selected biochemical properties of *Stevia rebaudiana* Bertoni. **Scientia Horticulturae** 211, 295-304.

Takatsuki S, Wang J D, Narui T and Okuyama T. 1992. Studies on the components of crude drug kim soan lian. **Journal of Japanese Botany 67(2): 121-123**, 67(2), 121-123.

Taulavuori K, Hyo¨ky V, Oksanen J, Taulavuori E and Julkunen-Tiitto R. 2016. Species-specific differences in synthesis of flavonoids and phenolic acids under increasing periods of enhanced blue light. **Environmental and Experimental Botany** 121, 145-150.

Wei Wang, Minghua Su, Huihua Li, Biyu Zeng, Qiang Chang and Zhongxiong Lai. 2018. Effects of supplemental lighting with different light qualities on growth and secondary metabolite content of *Anoectochilus roxburghii*. **PeerJ**1-20.

Xiao-Ming Du, Nobuto Irino, Norihiro Furusho, Jun Hayashi and Yukihiro Shoyama. 2008. Pharmacologically active compounds in the *Anoectochilus* and *Goodyera* species. **Journal of Natural Medicines**,62(2), 132-148.

Zhang F, Lv Y, Dong H and Guo S. 2010. Analysis of genetic stability through intersimple sequence repeats molecular markers in micropropagated plantlets of *Anoectochilus formosanus* Hayata, a medicinal plant. **Biol Pharm Bull**,33(3), 384-388.

แพรวรี ตะเพียนทอง, ลำแพน ขวัญพูล และกัญจนา แซ่เตียว. 2559. ผลของแสงสีจากหลอด LED ต่อการเพาะเลี้ยงกลีบดอกเบญจมาศพันธุ์แคนเทอร์ วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ ปีที่ **3** ฉบับพิเศษ 2, 57-62.

กรมพัฒนาที่ดิน. 2553. คู่มือปฏิบัติงานกระบวนการวิเคราะห์ตรวจสอบดินทางเคมี. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.ldd.go.th/PMQA/2553/Manual/OSD-03.pdf

ครรชิต ธรรมศิริ. 2547. เทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้. พิมพ์ครั้งที่ 1. บริษัท อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พลับลิชชิ่ง จำกัด(มหาชน): กรุงเทพมหานครฯ.

จิตราพรรณ พิลึก. 2550. การเพาะเมล็ดและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้. กรุงเทพมหานครฯ: ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ดาลัด ศิริวัน. 2551. พฤกษเคมีสารต้านอนุมูลอิสระในอาหาร:ของขวัญจากธรรมชาติ. อาหาร,38(1), 45-48.

นพมาศ สุนทรเจริญนนท์. 2544. ยาและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เล่ม **1**. ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์: มหาวิทยาลัยมหิดล.

นพรัตน์ ทูลมาลย์, สมราน สุดดี และสราวุธ สังข์แก้ว. 2556. ความหลากหลายของพืชวงก์กล้วยไม้ในเขตอุทยานแห่งชาติแก่งกระจาน จังหวัดเพชรบุรี. **Thai Journal of Botany**,5(1), 35-51.

นภัทร วัจนเทพินทร์ และไชยยันต์ บุญมี. 2560. ไดโอดเปล่งแสงสีอะไรเหมาะสมกับการปลูกพืช. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี,25(1), 158-176.

นันทนา คำเมือง, เลขา มาโนช, จิตราพรรณ พิลึก และพรพิมล อธิปัญญาคม. 2543. การแยกเชื้อและจัดจำแนกชนิดไมเคอร์ไรซากล้วยไม้. กรุงเทพมหานครฯ.

บุญแสน เตียวนุกูลธรรม. 2548. อินทรียวัตถุในดิน,บทเรียน **E-learning** วิชาปฐพีวิทยา (**Soil Science**). [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://elearning.nsru.ac.th/web_elearning/soil/lesson_6_4.php

ปกรณ์ ทิพยศรี และฉัตรชัย เงินแสงสรวย. 2551. กล้วยไม้ดินบางชนิดในอุทยานแห่งชาติภูหินร่องกล้า จังหวัดพิษณุโลก. 2010-07-04. สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. 2010. **Phenolic compounds /** สารประกอบฟีนอล. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2585/phenolic-compound

วรเดช ดัสดีสอง. 2560. การปลูกเลี้ยงกล้วยไม้สมุนไพรนกคุ้มไฟ (***Anoectochilus burmanicus***) โดยการมีส่วนร่วมของชุมชนเพื่ออนุรักษ์และใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน บ้านปงไคร้ อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่. มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

วรชาติ โตแก้ว และประนอม จันทรโณทัย. 2552. ความหลากหลายของพืชวงศ์กล้วยไม้ในอุทยานแห่งชาติน้ำหนาว จังหวัดเพชรบูรณ์. **Thai Journal of Botany**,1(1), 49-59.

วันทนา สมบูรณ์ทรัพย์, พัชรียา บุญกอแก้ว, พูนพิภพ เกษมทรัพย์ และเฌอมาลย์ วงศ์ชาวจันทร์. 2558. ผลของไดโอดเปล่งแสงต่อการเพิ่มจำนวนโปรโตคอร์มไลท์บอดี้ของกล้วยไม้สกุลหวายโซเนียเอีย. สำนักกองทุนสนับสนุนการวิจัย กรุงเทพมหานครฯ.

วิภพ สุทธนะ. 2556. ฤทธิ์ต้านมะเร็งของฟลาโวนอยด์: กลไกการออกฤทธิ์. ศรีนครินทร์เวชสาร,28(4), 567-582.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2537. พฤกษศาสตร์. พิมพ์ครั้งที่ 3. วี.บี.บุ๊คเซนเตอร์ (เค.ยู): กรุงเทพมหานครฯ.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2544. สรีรวิทยาของพืช. พิมพ์ครั้งที่ 3. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์: กรุงเทพมหานครฯ.

สลิล สิทธสัจจธรรม. 2551. กล้วยไม้ป่าเมืองไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์บ้านและสวน: กรุงเทพมหานครฯ.

สลิล สิทธิสัจจธรรม. 2549. กล้วยไม้ป่าเมืองไทย. กรุงเทพมหานครฯ: อมรินทร์พรินติ้งแอนด์พับลิชชิง จำกัด (มหาชน).

---. 2558. คู่มือกล้วยไม้ (ปรับปรุง). พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานครฯ: สำนักพิมพ์สารคดี.

สลิล สิทธิสัจจธรรม และนฤมล กฤษณชาญดี. 2550. คู่มือกล้วยไม้. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์สารคดี ในนามบริษัทวิริยะธุรกิจ จำกัด: กรุงเทพมหานครฯ.

สังคม เตชะวงค์เสถียร. ม.ป.ป. ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการของพืช. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://ag.kku.ac.th/suntec/134101/134101%20Factors%20affecting%20G-D%20(note).pdf

สำนักบริหารพื้นที่อนุรักษ์ที่ 16. 2553. หน่วยจัดการต้นน้ำโป่งไคร้. [ระบบออนไลน์].

สำอางค์ เนตรนารี. 2547. กล้วยไม้. กษรสยามการพิมพ์ จำกัด: กรุงเทพมหานครฯ.

สุกัญญา เอี่ยมลออ, อภิรดี อุทัยรัตนกิจ, ผ่องเพ็ญ จิตอารีย์รัตน์ และกัลยา ศรีพงษ์. 2561. ผลของแสง LED สีแดงและสีน้ำเงินต่อคุณภาพโปรโตคอร์มัลท์บอดี้ของกล้วยไม้สกุลหวาย. **Agricultural Sci. J.**,49(2(Suppl.)), 149-152.

หทัยชนก หมื่นกล้า. 2556. พลังหลอดไฟ LED (Light emitting diode) วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี,5(5), 36-40.

อนุพันธ์ กงบังเกิด และแสงเดือน วรรณชาติ. 2550. ผลของแสงต่อการงอกและพัฒนาการของเมล็ดกล้วยไม้เอื้องคำผักปราบในหลอดทดลอง (Dendrobium ochreatum Lindl.). **NU Science Journal 2007**,3(2), 231-241.

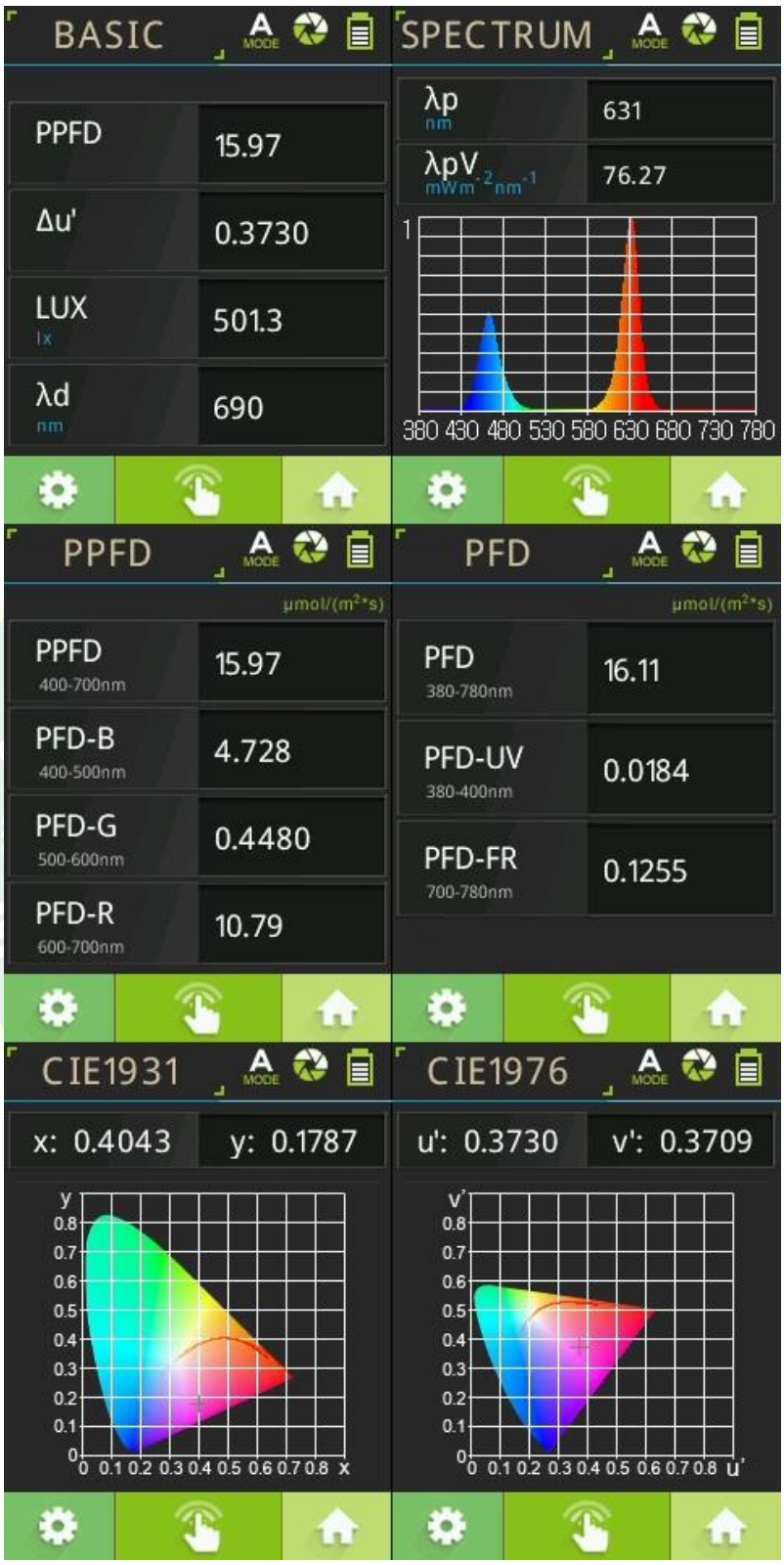
อนุพันธ์ กงบังเกิด, ทองพูล ราชวังอินทร์, วศิณี ทองคำ, สายสมร ปาระมี และคงศักดิ์ พร้อมเทพ. 2550. การสำรวจกล้วยไม้บริเวณอุทยานแห่งชาติภูเรือ อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย. **NU Science Journal 2007**,4(1), 53 - 66.

อนุพันธ์ กงบังเกิด, วัชรศักดิ์ มาเกิด, อุบลวรรณ บุญฉ่ำ, เชิดศักดิ์ ทัพใหญ่, ธนากร วงษศา, อดิศักดิ์ ทิพโชติ, ธีรภัทร เหลืองศุภบูลย์ และกำธร ทวีทรัพท์. 2556. การสำรวจและอนุกรมวิธานของกล้วยไม้บริเวณอุทยานแห่งชาติแม่วงก์ จังหวัดกำแพงเชร. มหาวิทยาลัยนเรศวร.

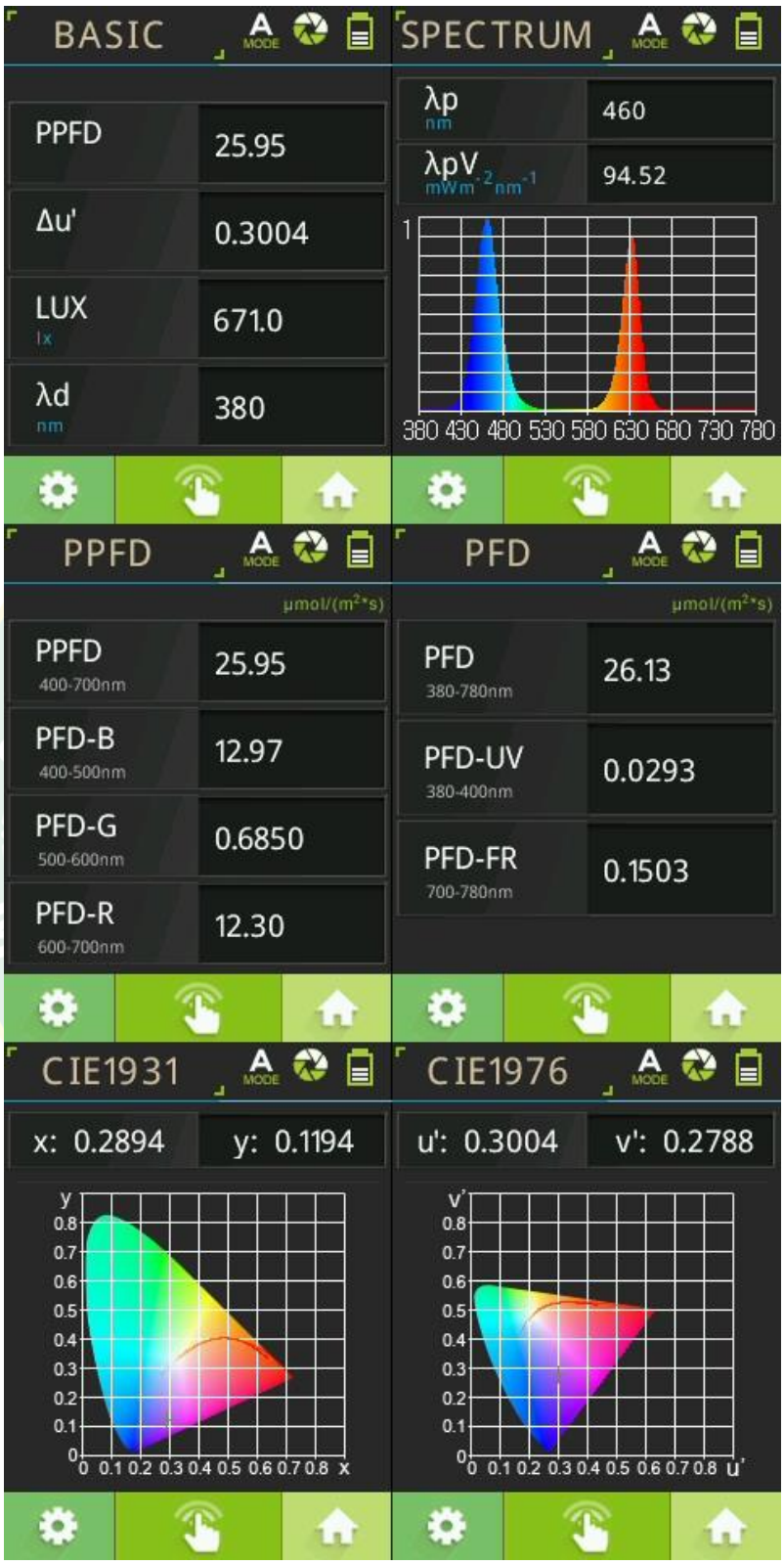
อบฉันท์ ไทยทอง. 2549. กล้วยไม้เมืองไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์บ้านและสวน: กรุงเทพมหานครฯ.

ภาคผนวก

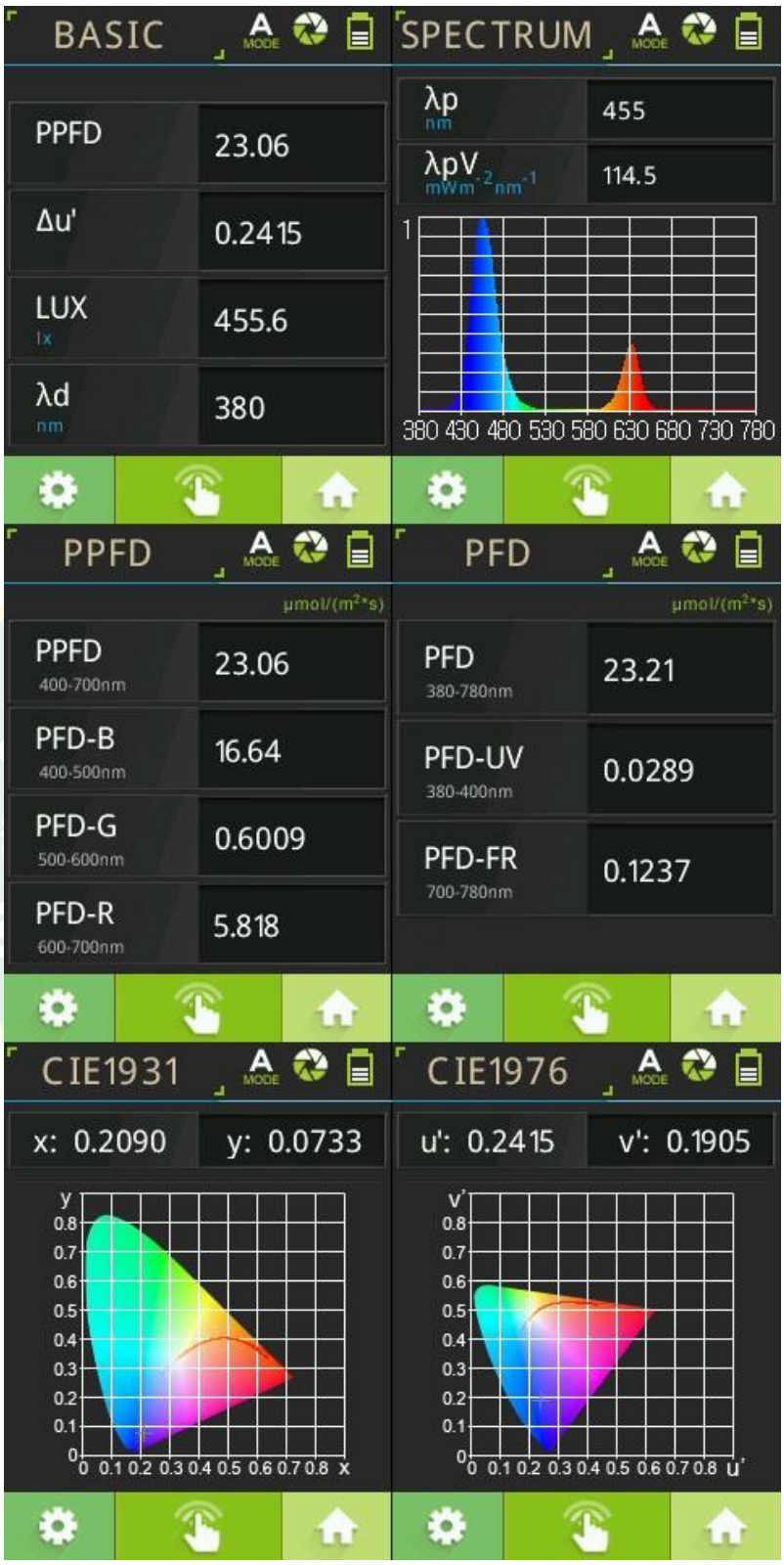
ก. สเปกตรัมของชุดให้แสง LED



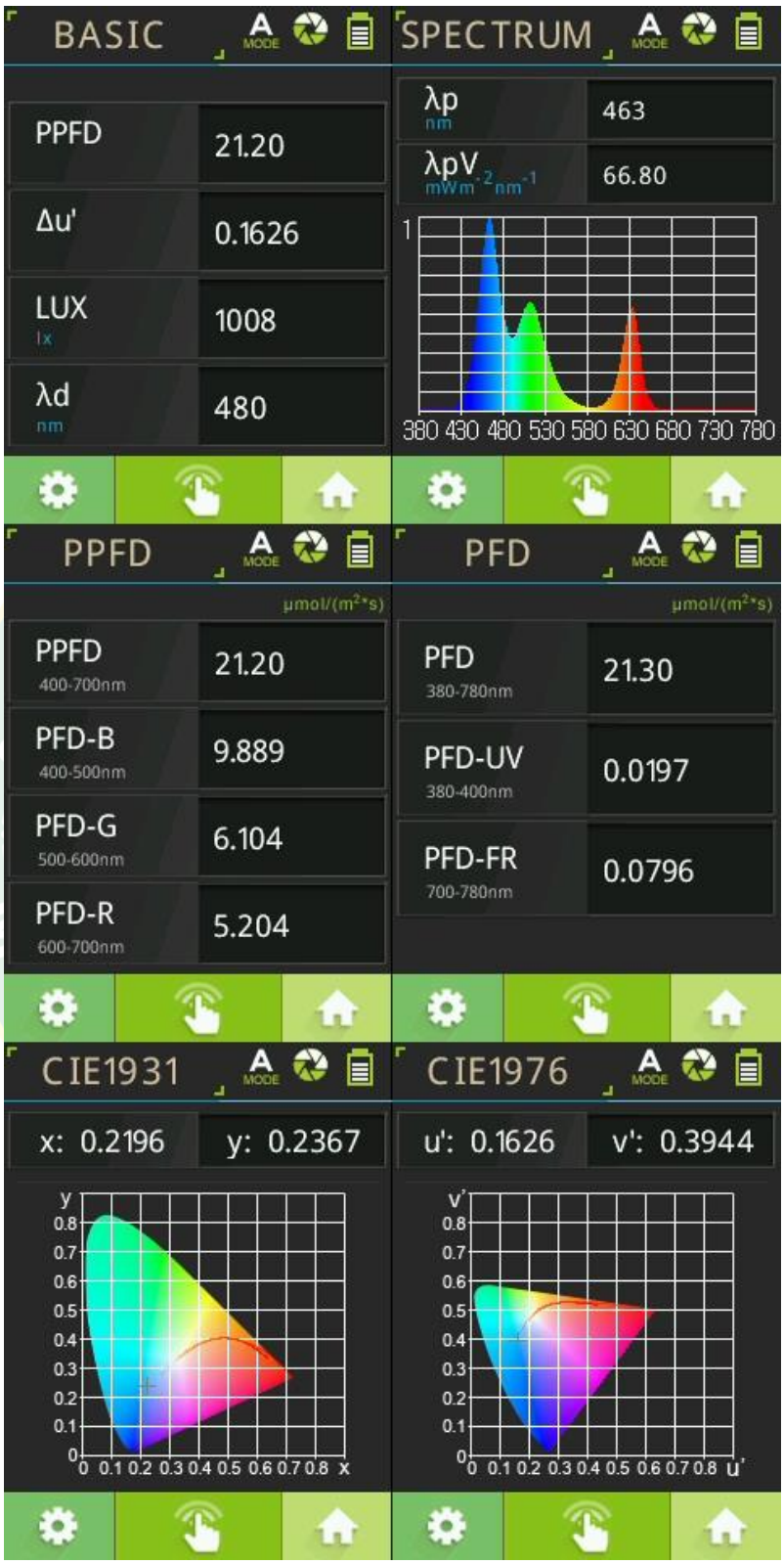
ภาพที่ 1 สเปตรัมแสงของชุดให้แสงหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1



ภาพที่ 2 สเปตรัมแสงของชุดให้แสงหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:1



ภาพที่ 3 สเปตรัมแสงของชุดให้แสงหลอด LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:3



ภาพที่ 4 สเปตรัมแสงของชุดให้แสงหลอด LED สีขาว

ภาพที่ 5 สเปตรัมแสงของชุดให้แสงหลอดฟลูออเรสเซนต์ ชนิด Warm white สีขาว

ภาคผนวก

ข. การวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

การเตรียมสารสัดกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ

การสกัดตัวอย่างนกคุ้มไฟ

คุณภาพแสง	น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (g)	น้ำหนักขวด (g)	น้ำหนักขวด+สารสกัด (g)	น้ำหนักสารสกัด (g)	%Yield
RB 3:1	0.2943	9.4581	9.5933	0.1352	45.94
RB 1:1	0.3001	9.4479	9.5943	0.1464	48.78
RB 1:3	0.5003	9.4621	9.6596	0.1975	39.48
LED	0.3505	9.4675	9.7349	0.2674	76.29
FL	0.5003	9.4233	9.5591	0.1358	27.14

การเตรียม stock สารสกัด

คำนวณปริมาตรตัวทำละลายที่ต้องใช้ในการละลายสารสกัดตัวอย่าง ให้มีความเข้มข้น 100 mg/ml โดยตัวทำละลายประกอบด้วย 10% DMSO ในเอทานอล และ 99.9% เอทานอล ด้วยสูตร

$$\text{ปริมาตรตัวทำละลาย (µl)} = \frac{\text{น้ำหนักสารสกัด x 1000}}{0.1}$$

เมื่อได้ปริมาตรตัวทำละลายแล้ว จึงคำนวณหาปริมาตร 10% DMSO ในเอทานอล และ 99.9% เอทานอล โดยในตัวทำละลาย 1000 µl เติม DMSO 100 µl และเติม 99.9% เอทานอล จนครบตามปริมาตรตัวทำละลาย จะได้สารสกัดตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 100 mg/ml

Tr	ปริมาตรตัวทำละลาย	ปริมาตร 10% DMSO in Ethanol	ปริมาตร 99.9% Ethanol
RB 3:1	1352	135.2	1216.8
RB 1:1	1464	146.4	1317.6
RB 1:3	1975	197.5	1777.5
LED	2674	267.4	2406.6
FL	1358	135.8	1222.2

การวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ

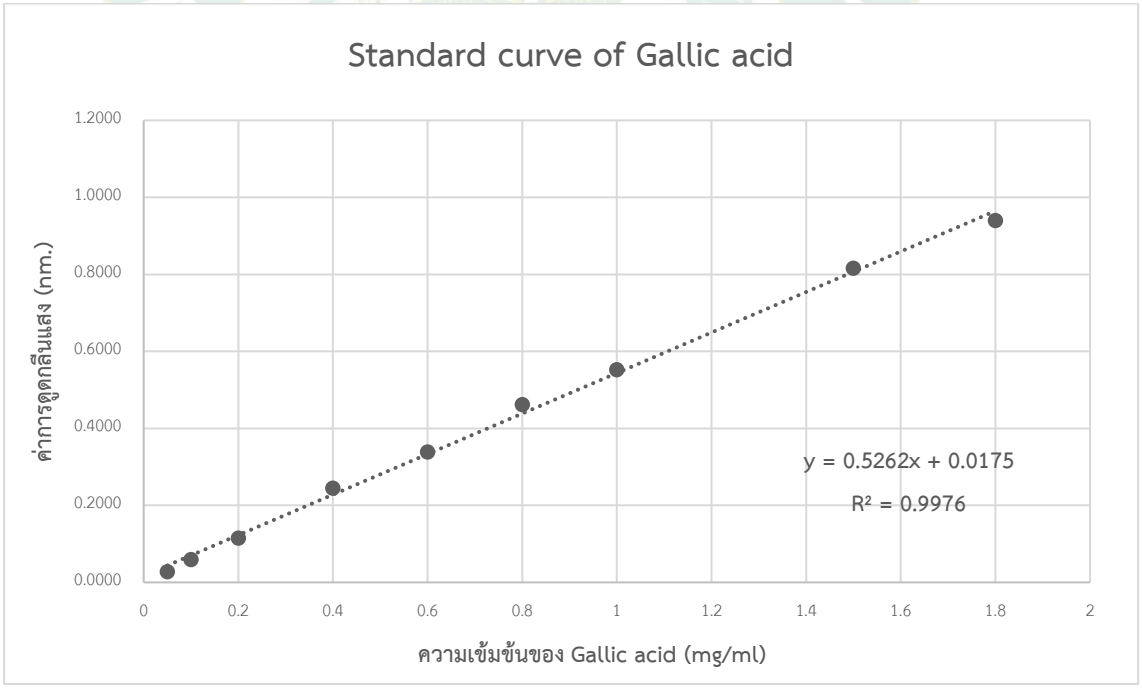
การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม โดยใช้ Folin-ciocolteu reagent

1. วิธีการเตรียมกราฟมาตรฐาน Gallic acid

เตรียม stock สารมาตรฐาน Gallic acid ที่ความเข้มข้น 100 mg/ml (0.1 g/ml ในน้ำกลั่น) แล้วเจือจางสารมาตรฐาน Gallic acid ให้มีความเข้มข้น 0.8, 0.6, 0.4, 0.2, 0.1 และ 0.05 mg/ml ในน้ำกลั่น เติมน้ำ DI water ลงในหลุม 96 well plate หลุมละ 118 µl จำนวน 5 หลุม เติมสารมาตรฐาน Gallic acid แต่ละความเข้มข้น หลุมละ 2 µl เติมสารละลาย Folin-ciocolteu reagent หลุมละ 20 µl จับเวลา 3 นาที เติมสารละลาย 20% Na_2CO_3 หลุมละ 80 µl ดังนั้นปริมาตรทั้งหมดต่อ 1 หลุม เท่ากับ 220 µl

Blank คือ น้ำกลั่น ปริมาตร 120 µl เติมสารละลาย Folin-ciocolteu reagent หลุมละ 20 µl จับเวลา 3 นาที เติมสารละลาย 20% Na_2CO_3 หลุมละ 80 µl

นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร โดยวัดทุกๆ 5 นาทีจนครบ 30 นาที คำนวณค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน จาก A sample = Abs sample – Abs blank นำไปพล๊อตกราฟระหว่าง A sample กับความเข้มข้น (mg/ml)



ภาพที่ 1 กราฟมาตรฐาน gallic acid

2. การวิเคราะห์สารสกัดนกคุ้มไฟเทียบกับกราฟมาตรฐาน

เตรียมสารสกัดตัวอย่างที่ความเข้มข้น 50 และ 75 mg/ml ใน 10% DMSO in Ethanol โดยดูดสารสกัดปริมาตร 2 µl ด้วยไมโครปิเปต ลงในไมโครเพลท แล้วเติมน้ำกลั่นปริมาตร 118 µl หรือเตรียมตัวอย่างให้มีความเข้มข้น 0.83 และ 1.67 mg/ml แล้วดูดสารละลายตัวอย่าง 120 µl ลงในไมโครเพลท เติมสารละลาย Folin-ciocolteu reagent หลุมละ 20 µl จับเวลา 3 นาที เติมสารละลาย 20% Na_2CO_3 หลุมละ 80 µl ดังนั้นปริมาตรทั้งหมดต่อ 1 หลุม เท่ากับ 220 µl

Blank คือ น้ำกลั่น ปริมาตร 120 µl เติมสารละลาย Folin-ciocolteu reagent หลุมละ 20 µl จับเวลา 3 นาที เติมสารละลาย 20% Na_2CO_3 หลุมละ 80 µl

นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร โดยวัดทุกๆ 5 นาทีจนครบ 30 นาที คำนวณค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน จาก A sample = Abs sample – Abs blank นำไปพล๊อตกราฟระหว่าง A sample กับความเข้มข้น (mg/ml) จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่คำนวณค่าการดูดกลืนแสงจาก A sample = Abs sample – Abs blank ไปแทนค่า y ในสมการ y = mx+c ของกราฟสารมาตรฐาน เพื่อหาค่า x จะได้ความเข้มข้นเทียบเท่า GA (mg/ml) แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณเทียบกับตัวอย่างสกที่นำมาสกัด 1 g โดยหาได้จาก

$$\text{mg GAE/g น้ำหนักสด} = \frac{[\text{ความเข้มข้นเทียบเท่า GA } \left(\frac{\text{mg}}{\text{ml}}\right) \text{ที่ได้ x \%yield แห้ง}]}{[\text{น้ำหนักของสารสกัดแห้งในปริมาตร 1 ml } (\text{g}) \text{x 100 g}}$$

รายงานปริมาณสารฟีนอลิคทั้งหมดในสารตัวอย่างในรูปของ milligram of Gallic Acid equivalents per gram (GAE/g) โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 0.05 – 0.80 mg/ml

การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

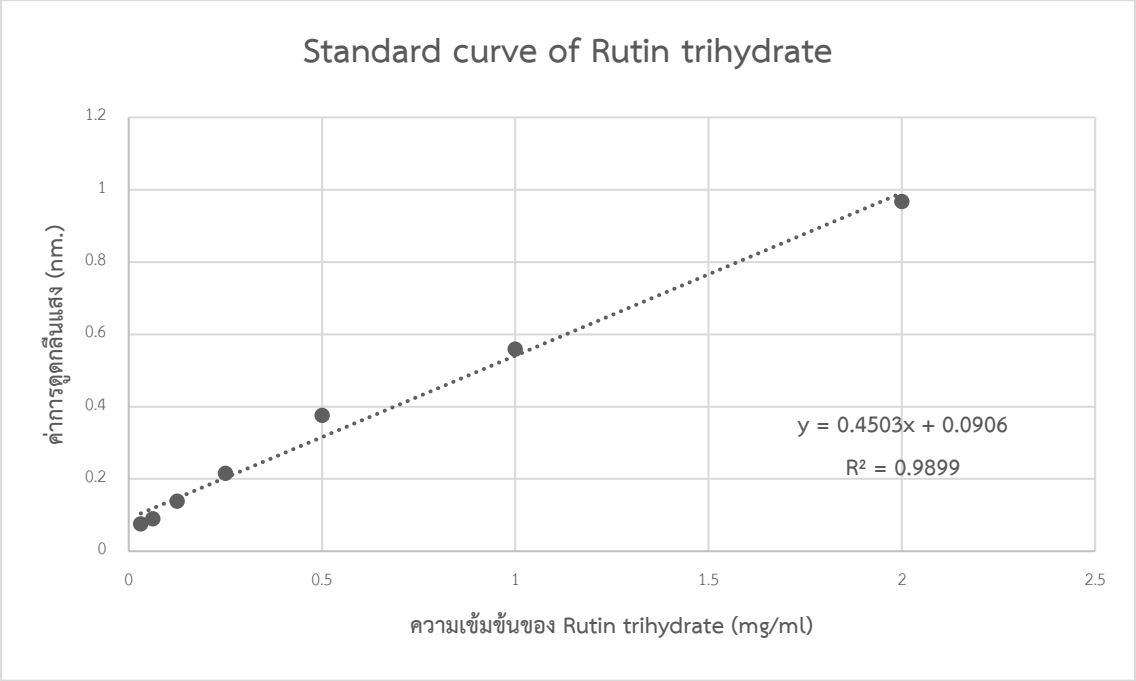
1. วิธีการเตรียมกราฟมาตรฐาน Rutin trihydrate

เตรียม stock สารมาตรฐาน Rutin trihydrate ให้มีความเข้มข้น 2 mg/ml ใน 70% เอทานอล แล้วเจือจางสารมาตรฐาน Rutin trihydrate ให้มีความเข้มข้น 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.063 และ 0.03 mg/ml

เติมสารมาตรฐาน Rutin trihydrate แต่ละความเข้มข้นลงในหลุมๆ ละ 50 µl เติมสารละลาย 5% w/v $NaNO_2$ 15 µl เขย่าและตั้งทิ้งไว้ 6 นาที เติมสารละลาย 10% w/v $Al(NO_3)_3$ 13 µl เขย่าและตั้งทิ้งไว้ 6 นาที เติมสารละลาย 4.3% w/v NaOH 75 µl เติมน้ำกลั่น 97 µl เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ 15 นาที ดังนั้นปริมาตรทั้งหมดต่อ 1 หลุม เท่ากับ 250 µl

Blank คือ น้ำกลั่น ปริมาตร 147 µl เติมสารละลาย 5% w/v $NaNO_2$ 15 µl เขย่าและตั้งทิ้งไว้ 6 นาที เติมสารละลาย 10% w/v $Al(NO_3)_3$ 13 µl เขย่าและตั้งทิ้งไว้ 6 นาที เติมสารละลาย 4.3% w/v NaOH 75 µl เติมน้ำกลั่น 97 µl เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ 15 นาที

นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร โดยวัดทุกๆ 5 นาทีจนครบ 30 นาที คำนวณค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน จาก A sample = Abs sample – Abs blank นำไปพล็อตกราฟระหว่าง A sample กับความเข้มข้น (mg/ml)



ภาพที่ 2 กราฟมาตรฐาน Rutin trihydrate

2. การวิเคราะห์สารสกัดนกคุ้มไฟเทียบกับกราฟมาตรฐาน

เตรียมสารสกัดตัวอย่างที่ความเข้มข้น 50 และ 75 mg/ml ใน 10% DMSO in Ethanol โดยเตรียมตัวอย่างให้มีความเข้มข้น 0.83 และ 1.67 mg/ml แล้วดูดสารละลายตัวอย่าง 50 µl ลงในไมโครเพลท เติมสารละลาย 5% w/v $NaNO_2$ 15 µl เขย่าและตั้งทิ้งไว้ 6 นาที เติมสารละลาย 10% w/v $Al(NO_3)_3$ 13 µl เขย่าและตั้งทิ้งไว้ 6 นาที เติมสารละลาย 4.3% w/v NaOH 75 µl เติมน้ำกลั่น 97 µl เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ 15 นาที ดังนั้นปริมาตรทั้งหมดต่อ 1 หลุม เท่ากับ 250 µl

Blank คือ น้ำกลั่น ปริมาตร 147 µl เติมสารละลาย 5% w/v $NaNO_2$ 15 µl เขย่าและตั้งทิ้งไว้ 6 นาที เติมสารละลาย 10% w/v $Al(NO_3)_3$ 13 µl เขย่าและตั้งทิ้งไว้ 6 นาที เติมสารละลาย 4.3% w/v NaOH 75 µl เติมน้ำกลั่น 97 µl เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ 15 นาที

นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร โดยวัดทุกๆ 5 นาทีจนครบ 30 นาที คำนวณค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน จาก A sample = Abs sample – Abs blank นำไปพล็อตกราฟระหว่าง A sample กับความเข้มข้น (mg/ml) จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่คำนวณค่าการดูดกลืนแสงจาก A sample = Abs sample – Abs blank ไปแทนค่า y ในสมการ y = mx+c ของกราฟสารมาตรฐาน เพื่อหาค่า x จะได้ความเข้มข้นในหน่วย mg/ml เทียบเท่า Rutin trihydrate

การวิเคราะห์ปริมาณพอลิแซคคาไรด์รวม

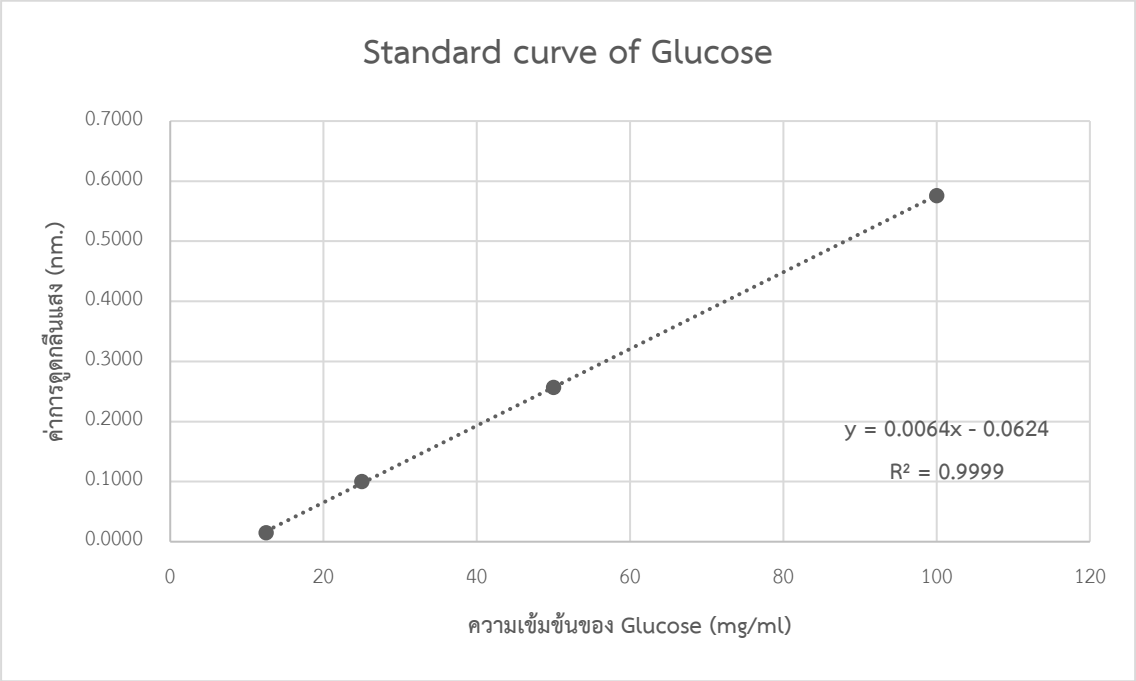
1. วิธีการเตรียมกราฟมาตรฐาน Glucose

เตรียม stock สารมาตรฐาน glucose ความเข้มข้น 400 mg/ml (0.0040 g/ 10 ml) เจือจางสารมาตรฐาน glucose ให้มีความเข้มข้น 50, 25, 12.5, 6.25 และ 3.125 mg/ml

เติมสารมาตรฐาน Glucose แต่ละความเข้มข้นลงในหลอดทดลอง 70 µl จำนวน 5 หลอด เติมสารละลาย 5% Phenol ปริมาตร 70 µl ลงในหลอดดทดลอง เติมสารละลาย 95.5% H_2SO_4 360 µl ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที ดังนั้น ปริมาตรต่อ 1 หลอดทดลอง คือ 500 µl

Blank คือ น้ำกลั่น 70 µl เติมสารละลาย 5% Phenol ปริมาตร 70 µl ลงในหลอดดทดลอง เติมสารละลาย 95.5% H_2SO_4 360 µl ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที

นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 480 นาโนเมตร โดยวัดทุกๆ 5 นาทีจนครบ 30 นาที คำนวณค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน จาก A sample = Abs sample – Abs blank นำไปพล๊อตกราฟระหว่าง A sample กับความเข้มข้น (µg/ml)



ภาพที่ 3 กราฟมาตรฐาน Glucose

2. การวิเคราะห์สารสกัดนกคุ้มไฟเทียบกับกราฟมาตรฐาน

เตรียมสารสกัดตัวอย่างที่ความเข้มข้น 6.25 mg/ml ใน 10% DMSO in Ethanol แล้วดูดสารละลายตัวอย่าง 70 µl เติมสารละลาย 5% Phenol ปริมาตร 70 µl ลงในหลอดดทดลอง เติมสารละลาย 95.5% H_2SO_4 360 µl ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที ดังนั้น ปริมาตรต่อ 1 หลอดทดลอง คือ 500 µl

Blank คือ น้ำกลั่น 70 µl เติมสารละลาย 5% Phenol ปริมาตร 70 µl ลงในหลอดดทดลอง เติมสารละลาย 95.5% H_2SO_4 360 µl ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที

นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 480 นาโนเมตร โดยวัดทุกๆ 5 นาทีจนครบ 30 นาที คำนวณค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน จาก A sample = Abs sample – Abs blank นำไปพล๊อตกราฟระหว่าง A sample กับความเข้มข้น (µg/ml) คำนวณหาค่า ปริมาณพอลิแซคคาไรด์รวม นำค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่คำนวณค่าการดูดกลืนแสงจาก A sample = Abs sample – Abs blank ไปแทนค่า y ในสมการ y = mx+c ของกราฟสารมาตรฐาน จะได้ความเข้มข้นในหน่วย µg/ml

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล พีราดา แก้วทองประคำ

เกิดเมื่อ 18 มกราคม 2537

ประวัติการศึกษา พ.ศ. 2562 วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2558 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เกียรตินิยมอันดับ 1

พ.ศ. 2554 มัธยมศึกษาปีที่ 6 โรงเรียนเดชะปัตตนยานุกูล จ.ปัตตานี

ประวัติการทำงาน เข้าร่วมประชุมวิชาการระดับชาติมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 10 และการประชุมวิชาการระดับนานาชาติมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 9

วารสารวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย (มทร.ศรีวิชัย) ปีที่ 11 ฉบับที่ 1 ประจำเดือน มกราคม-เมษายน พ.ศ. 2562 : การศึกษาทางชีววิทยาของกล้วยไม้สมุนไพรนกคุ้มไฟ (Anoectochilus burmanicus Rolfe) เพื่อการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน

Email peradakaewthongprakum@gmail.com