# วิจัยและพัฒนาการผลิตเพื่อเพิ่มปริมาณสารสำคัญในสภาพปลอดเชื้อของกล้วยไม้หวายตะมอยและหวายเหลืองจันทบูร

สุภาภรณ์ สาชาติ[1*], ยรรยง พันธ์พฤกษ์[2], ศศิมา เมืองแก้ว[3], เสาวลักษณ์ กิตติธนวัตร[1] และรัศมี สุรวาณิช[1]

[1]สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพมหานคร
[2]ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพมหานคร
[3]ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร, จันทบุรี
*sachati08@hotmail.com

**บทคัดย่อ**

กล้วยไม้เป็นไม้ดอกที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย หลายชนิดมีสรรพคุณเป็นยาสมุนไพรที่สำคัญ การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อชักนำให้กล้วยไม้หวายตะมอยและหวายเหลืองจันทบูรในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สร้างและเพิ่มปริมาณสารสำคัญที่ต้องการ ดำเนินการทดลองเดือนตุลาคม 2564 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2566 ทดลองในอาหาร 7 กรรมวิธี คือ สูตรอาหาร Murashige and Skoog (MS) สูตรอาหาร MS ที่เติม Jasmonic acid ความเข้มข้น 50, 100 และ 150 µM และ ที่เติม Yeast Extract ความเข้มข้น 2, 3 และ 4 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 120 วัน พบว่าอัตราสวนน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งของกล้วยไม้หวายตะมอยและกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูร บนอาหารสูตร MS ให้ค่าสูงที่สุด เท่ากับ 15.45 และ 14.19 ตามลำดับ ส่งวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ 6 ชนิด คือ (2*S*)-Eriodictyol, (2*S*)-Homoeriodictyol , Moscatilin, Gigantol, Chrysotoxine และ Crepidatin กล้วยไม้หวายตะมอยพบสาร (2S)-Homoeriodictyol และ Chrysotoxine มากที่สุด เมื่อเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติม Yeast Extract 4 กรัมต่อลิตร เท่ากับ 0.0145 และ 0.0099 %w/w ตามลำดับ สาร Crepidatin พบมากที่สุดบนสูตรอาหาร MS ที่เติม Jasmonic acid 100 µM เท่ากับ 0.0910 %w/w สาร Gigantol พบบนสูตรอาหาร MS ที่เติม N6-Benzyladenine (BA) 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เท่ากับ 0.0660 %w/w สาร Moscatilin พบมากที่สุดบนสูตรอาหาร MS ซึ่งเท่ากับ 0.0041 %w/w ในกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูร พบสารประกอบฟีนอล 3 ชนิด ดังนี้ สาร Moscatilin และ Chrysotoxine พบบนสูตรอาหาร MS ที่เติม Yeast Extract 2 กรัมต่อลิตร เท่ากับ 0.0051 และ 0.0021 %w/w ตามลำดับ และสาร Crepidatin พบมากที่สุดบนสูตรอาหาร MS ที่เติม Jasmonic acid 50 µM ซึ่งเท่ากับ 0.0053 %w/w

**คำสำคัญ:** กล้วยไม้สกุลหวาย Jasmonic acid Yeast Extract สารสำคัญ สภาพปลอดเชื้อ

# Research and develop production to increase phytochemical compounds in plant tissue culture of *Dendrobium crumenatum* Sw. and *Dendrobium friedericksianum* Rchb. F.

Supaporn Sachati[1*] , Yanyong Phanpruek[2] , Sasima Muangkaew[3] , Saowalak Kittithanawat[1] and Rasamee Suravanit[1]

[1]Horticultural Research Institute Department of Agriculture, Bangkok
[2]Information and Communication Technology Center Department of Agriculture, Bangkok Chanthaburi
[3]Horticultural Research Center Horticultural Research Institute Department of Agriculture, Chanthaburi
*sachati08@hotmail.com

**Abstract**

Orchids are economically important flowering plants in Thailand. Many species have important herbal medicinal properties. The objective is to obtain a sterile propagation method for the production of *D.argumentum* Sw. and *D. friedericksianum* Rchb. F, consisting of 2 steps: plant induction and an increase in the amount of phytochemical compounds, beginning in October 2021 and ending in September 2023. The experiment followed seven treatments, Murashige and Skoog (MS) medium MS medium combined with Jasmonic acid at concentrations of 50, 100, and 150 µM and combined with Yeast Extract at concentrations of 2, 3, and 4 g/L. for 120 days, The maximum ratio of fresh weight to dry weight of *D. crumenatum* Sw. and *D. friedericksianum* Rchb. F. on MS medium was 15. 45 and 14. 19, respectively. Analysis of six phenolic compounds including (2*S*)-Eriodictyol, (2*S*)-Homoeriodictyol, Moscatilin, Gigantol, Chrysotoxine and Crepidatin was performed. The results showed that *D. crumenatum* Sw. was found (2*S*)-Homoeriodictyol, and Chrysotoxine on MS medium combined with Yeast Extract 4 g/L, were 0.0145 and 0.0099 %w/w, respectively. Crepidatin on the MS medium combined with Jasmonic acid 100 µM, was 0.0910, %w/w Gigantol on MS medium combined with 5 mg/L of N6-Benzyladenine (BA) was 0.0660 %w/w. Moscatilin in MS medium was 0.0041 %w/w. *D. friedericksianum* Rchb was found three types of phenolic compounds as follows: Moscatilin and Chrysotoxine in MS medium combined with 2 g/L of Yeast Extract, were to 0.0051 and 0.0021 %w/w, respectively. Crepidatin on MS medium combined with Jasmonic acid. 50 µM was 0.0053 %w/w.

**Keywords:** *Dendrobium*, Jasmonic acid, Yeast Extract, Phenolic compound, Aseptic technique

**1. บทนำ**

พืชวงศ์กล้วยไม้ (ORCHIDACEAE) เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว มีการกระจายอยู่ทั่วไปแทบทุกมุมโลก มีไม่น้อยกว่า 800 สกุล และมากกว่า 30,000 ชนิด จึงจัดเป็นพืชวงศ์ใหญ่ที่มีจำนวนชนิดมากที่สุดในโลก ส่วนใหญ่มีการกระจายพันธุ์อยู่ในเขตร้อนและเขตอบอุ่น ในประเทศไทยมีกล้วยไม้ไม่น้อยกว่า 176 สกุล มากกว่า 1,157 ชนิด [1] ในประเทศไทยมีจำนวนกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* มากกว่า 150 ชนิด [2] ซึ่งในกล้วยไม้นี้มีสารประกอบฟีนอล (phenol) ในโครงสร้าง ได้แก่ bibenzyl, phenanthrene และ fluorenone เป็นองค์ประกอบหลัก [3] การศึกษาทางเภสัชวิทยาแสดงให้เห็นว่าสารกลุ่ม phenol โดยเฉพาะ moscatilin มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย เช่น ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (anti-inflammation), ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant), ฤทธิ์ต้านการเจริญของหลอดเลือด (anti-angiogenesis) [4-6]

ปี พ.ศ. 2557-2559 กรมวิชาการเกษตรและคณะเภสัชศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้ร่วมกันศึกษาสารประกอบฟีนอล 9 ชนิด ได้แก่ (2S)-eriodictyol, (2S)-homoeriodictyol, dendroflorin, moscatilin, lusianthridin, gigantol, nobilone, chrysotoxine และ crepidatin ในกล้วยไม้สกุลหวาย 33 ชนิด โดยเอื้องสายน้ำนม หวายตะมอย เอื้องผาเวียง เอื้องแซะหอม เอื้องผึ้ง เอื้องช้างน้าว เอื้องแววมยุรา และเอื้องสายสามสี พบสาร moscatilin เอื้องสายน้ำนม เอื้องคำป๊อก หวายตะมอย เอื้องแววมยุรา เอื้องเงิน และเอื้องผาเวียง พบสาร gigantol เอื้องผาเวียง กล้วยไม้หวายจีน No.1 เอื้องเค้าก๋วตาดำ และเอื้องคำปอน พบสาร chrysotoxine เอื้องช้างน้าว เอื้องสายน้ำนม และเอื้องสายสามสี พบสาร crepidatin ในปริมาณสูงกว่ากล้วยไม้ชนิดอื่น นอกจากนี้ใน chromatogram ของสารสกัดกล้วยไม้ยังพบ peak ของสารอื่นที่น่าจะไม่ใช่สารประกอบ ฟีนอลที่ทดสอบ (unknow) อีกหลายชนิด ซึ่งบางชนิดมีในกล้วยไม้หลายชนิดด้วย [7]

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาการชักนำให้เกิดต้น การเพิ่มปริมาณของกล้วยไม้หวายตะมอยและหวายเหลืองจันทรบูรในสูตรอาหารต่างๆ ในสภาพปลอดเชื้อ และศึกษาการสร้างและการเพิ่มปริมาณสารสำคัญ โดย Jasmonic acid (JA) และ Yeast Extract (YE) เป็นสารกระตุ้นที่นิยมใช้ และประสบความสำเร็จในการเพิ่มปริมาณสารทุติยภูมิ รวมทั้งวิเคราะห์สารสำคัญที่คาดว่าจะมีศักยภาพทางเภสัชกรรมของกล้วยไม้ทั้ง 2 ชนิด เพื่อเป็นทางเลือกในการเพิ่มรายได้ให้เกษตรกร และได้สารสกัดธรรมชาติที่ใช้ในการรักษาโรคร้ายแรงแก่ผู้ป่วยได้ในยุคสังคมผู้สูงวัยที่กำลังมาถึงอีกด้วย

**2. วิธีดำเนินการ**

นำหน่ออ่อนของกล้วยไม้หวายตะมอยและหวายเหลืองจันทบูรในสภาพปลอดเชื้อที่เลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่เติม N6-Benzyladenine (BA) 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้เกิดต้นและเพิ่มปริมาณต้น มาเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารตามกรรมวิธีต่าง ๆ วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำมีจำนวน 15 ขวด ขวดละ 5 ต้น (หวายตะมอย 15 ขวด ขวดละ 5 ต้น และหวายเหลืองจันทบูร 15 ขวด ขวดละ 5 ต้น) คือ สูตรอาหาร MS สูตรอาหาร MS ที่เติม Jasmonic acid ความเข้มข้น 50, 100 และ 150 µM และ สูตรอาหาร MS ที่เติม Yeast Extract ความเข้มข้น 2, 3 และ 4 กรัมต่อลิตร เพื่อกระตุ้นให้สร้างสารสำคัญ เลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่อุณหภูมิ 25±2°C ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ ให้แสง 12 ชั่วโมง/วัน เป็นเวลา 120 วัน เก็บข้อมูลการเจริญเติบโต ทุก 30 วัน เป็นเวลา 120 วัน และเมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงที่ 120 วัน บันทึกน้ำหนักสดของต้นอ่อน นำต้นอ่อน ที่ได้มาอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส 7 วัน บันทึกน้ำหนักแห้งของต้นอ่อน ดูดความชื้นในกล่องที่บรรจุวัสดุดูดความชื้น 3 วัน ส่งตัวอย่างวิเคราะห์สารสำคัญ ดำเนินการโดยการเตรียมตัวอย่างและนำตัวอย่างต้นอ่อนกล้วยไม้หวายตะมอยและหวายเหลืองจันทบูร ไปวิเคราะห์องค์ประกอบและปริมาณของสารสำคัญ 6 ชนิด ได้แก่ (2*S*)-Eriodictyol, (2*S*)-Homoeriodictyol , Moscatilin, Gigantol,Chrysotoxine และ Crepidatin โดยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ที่คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สถานที่และระยะเวลาในการทดลองคือ เดือนตุลาคม 2564 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2566 ณ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สถาบันวิจัยพืชสวน ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมวิชาการเกษตร และคณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**3. ผลการทดลองและวิจารณ์**

**3.1 อัตราการรอดชีวิต**

การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้หวายตะมอยและหวายเหลืองจันทบูรในอาหารแข็งสูตร MS และ MS ที่เติม Jasmonic acid ความเข้มข้น 50, 100, 150 µM หรือ Yeast Extract ความเข้มข้น 2, 3 และ 4 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 120 วัน พบว่าอัตราการรอดชีวิตของต้นอ่อนกล้วยไม้หวายตะมอยในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม Yeast Extract 2 กรัมต่อลิตร สูงที่สุด คือ 97.67 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คืออาหารแข็งสูตร MS ที่เติม Yeast Extract ความเข้มข้น 3 และ 4 กรัมต่อลิตร

และอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม Jasmonic acid ความเข้มข้น 50, 100 และ 150 µM มีอัตราการรอดชีวิต เท่ากับ 92.68, 88.89, 76.82, 67.22 และ 48.21 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ในกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูร เริ่มสังเกตเห็นการตายของต้นอ่อนที่ 90 วัน ในอาหารแข็งสูตร Jasmonic acid ความเข้มข้น 150 µM โดยทำการบันทึกอัตรากรรอดชีวิตเท่ากับ 79.52 เปอร์เซ็นต์ และหลังจาก 120 วัน พบว่าอัตราการรอดชีวิตของต้นอ่อนกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูรในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม Yeast Extract 2 กรัมต่อลิตร สูงที่สุด คือ 99.54 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม Yeast Extract ความเข้มข้น 3 และ 4 กรัมต่อลิตร และ อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม Jasmonic acid ความเข้มข้น 50, 100 และ 150 µM มีอัตราการรอดชีวิต เท่ากับ 99.41, 98.64, 93.35, 90.91 และ 70.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของ Jasmonic acid ที่เพิ่มสูงขึ้นมีผลในการเพิ่มความเครียดต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารทุติยภูมิของต้นอ่อนกล้วยไม้ทั้ง 2 ชนิด Ghorbanpour & Varma [8] โดยเฉพาะความเข้มข้น 150 µM ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Yaowapha Jirakiattikul et al. [9] ที่พบว่าสารกระตุ้นความเข้มข้นสูงขึ้นส่งผลให้การเจริญเติบโตของแคลลัสลดลง โดยแคลลัสที่พัฒนาบนอาหารที่เติม Jasmonic acid ความเข้มข้น 150 µM มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของกระเจี๊ยบแดง ดังนั้นควรเลือกใช้สารกระตุ้นในความเข้มข้นที่เหมาะสมกับพืชแต่ละชนิด

**ตารางที่ 1** อัตราการรอดชีวิตของกล้วยไม้หวายตะมอยและกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูร ที่ 60, 90 และ 120 วัน หลังจากเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ

| สูตรอาหาร | หวายตะมอย | | | หวายเหลืองจันทบูร | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 60 วัน | 90 วัน | 120 วัน | 60 วัน | 90 วัน | 120 วัน |
| MS | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 |
| MS ที่เติม Jasmonic acid 50 µM | 78.64 | 77.55 | 76.82 | 100.00 | 98.64 | 93.35 |
| MS ที่เติม Jasmonic acid 100 µM | 70.73 | 69.33 | 67.22 | 100.00 | 96.44 | 90.91 |
| MS ที่เติม Jasmonic acid 150 µM | 64.29 | 57.86 | 48.21 | 100.00 | 79.52 | 70.00 |
| MS ที่เติม Yeast Extract 2 g/L | 97.67 | 97.67 | 97.67 | 100.00 | 100.00 | 99.54 |
| MS ที่เติม Yeast Extract 3 g/L | 97.67 | 93.33 | 92.68 | 100.00 | 100.00 | 99.41 |
| MS ที่เติม Yeast Extract 4 g/L | 98.22 | 91.11 | 88.89 | 100.00 | 100.00 | 98.64 |

**3.2 อัตราส่วนของน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้ง**

จากการทดลองพบว่าอัตราส่วนของน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งในกล้วยไม้หวายตะมอยที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร MS และ MS ที่เติม Yeast Extract 2 กรัมต่อลิตร ให้อัตราส่วนของน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เท่ากับ 15.45 และ 14.19 ตามลำดับ และในกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูร พบว่าอาหารสูตร MS ให้อัตราส่วนของน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งมากที่สุดเช่นกัน เท่ากับ 14.19 (ตารางที่ 2) ดังนั้น Jasmonic acid และ Yeast Extract มีผลทำให้อัตราส่วนของน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งลดลงจากอาหารสูตรควบคุม และความเข้มข้นของ Yeast Extract ที่เพิ่มขึ้น มีแนวโน้มทำให้อัตราส่วนของน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Chong et al. [10] และ Yu et al. [11] กล่าวว่า การที่น้ำหนักยอดหรือเซลล์ลดลงอาจเนื่องมาจากสารกระตุ้นบางชนิดมีผลทำให้กระบวนการเมตาบอลิซึมสารประกอบปฐมภูมิลดลง ในขณะที่กระบวนการเมตาบอลิซึมของสารทุติยภูมิเกิดการเปลี่ยนแปลงกะทันหัน

**ตารางที่ 2** อัตราส่วนของน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งของกล้วยไม้หวายตะมอยและกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูรที่เลี้ยงด้วยอาหารตามกรรมวิธีที่กำหนด

| สูตรอาหาร | อัตราส่วนของน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้ง[1/] | |
|---|---|---|
| | หวายตะมอย | หวายเหลืองจันทบูร |
| MS | 15.45 [a] | 14.19 [a] |
| MS ที่เติม Jasmonic acid 50 µM | 10.00 [c] | 9.59 [d] |
| MS ที่เติม Jasmonic acid 100 µM | 11.25 [bc] | 9.99 [cd] |
| MS ที่เติม Yeast Extract 2 g/L | 14.19 [a] | 11.63 [b] |
| MS ที่เติม Yeast Extract 3 g/L | 12.11 [b] | 10.64 [c] |
| MS ที่เติม Yeast Extract 4 g/L | 12.03 [b] | 9.88 [cd] |
| C.V. (%) | 7.5 | 4 |

[1/] ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

**3.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบและปริมาณของสารสำคัญ**

กล้วยไม้หวายตะมอยที่เลี้ยงบนอาหารสูตรและความเข้มข้นที่ต่างกันให้สารประกอบฟีนอล 5 ชนิด ดังนี้

สาร (2S)-Homoeriodictyol พบในอาหารสูตร MS ที่เติม Jasmonic acid 100 µM และ MS ที่เติม Yeast extract ทั้ง 3 ความเข้มข้น โดยพบมากที่สุดในกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Yeast Extract 4 กรัมต่อลิตร ซึ่งเท่ากับ 0.0145 %w/w

สาร Moscatilin พบในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ MS (ชุดควบคุม) โดยพบมากที่สุดในอาหารสูตร MS ซึ่งเท่ากับ 0.0041 %w/w

สาร Gigantol พบในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงสูตรอาหารเดียว มีค่าเท่ากับ 0.0660 %w/w

สาร Chrysotoxine พบในอาหารสูตร MS ที่เติม Yeast Extract เท่านั้น โดยพบมากที่สุดบนอาหารสูตร MS ที่เติม Yeast Extract 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเท่ากับ 0.0099 %w/w

และสาร Crepidatin พบในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร , MS (ชุดควบคุม) และ MS ที่เติม Jasmonic acid ทั้ง 2 ความเข้มข้น โดยพบมากที่สุดบนอาหารสูตร MS ที่เติม Jasmonic acid 100 µM ซึ่งเท่ากับ 0.0910 %w/w

กล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูรที่เลี้ยงบนอาหารสูตรและความเข้มข้นที่ต่างกันให้สารประกอบฟีนอล 3 ชนิด ดังนี้

สาร Moscatilin พบในกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูรที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Yeast Extract และ MS ที่เติม Jasmonic acid ทุกความเข้มข้น พบมากที่สุดในกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Yeast Extract 2 กรัมต่อลิตร ซึ่งเท่ากับ 0.0051 %w/w จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าปริมาณของสาร Moscatilin

สาร Chrysotoxine พบในกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูรที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Jasmonic acid ทั้ง 2 ความเข้มข้น และ MS ที่เติม Yeast Extract 3 และ 4 กรัมต่อลิตร โดยพบมากที่สุดในกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Yeast Extract 2 กรัมต่อลิตร ซึ่งเท่ากับ 0.0021 %w/w

สาร Crepidatin พบในกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูรที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Yeast Extract และ MS ที่เติม Jasmonic acid ทุกความเข้มข้น พบมากที่สุดในกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Yeast Extract 2 กรัมต่อลิตร ซึ่งเท่ากับ 0.0051 %w/w (ตารางที่ 3)

จากการศึกษาการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารสำคัญ พบว่ามีการศึกษาเกี่ยวกับการเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) ในพืชหลายชนิด ซึ่ง Smetanska et.al [12] พบว่าการใช้ Yeast Extract ความเข้มข้น 5 กรัมต่อลิตร และ Jasmonic acid ความเข้มข้น 100 µM ในการเพาะเลี้ยงรากลอย (hairy root culture) ของ *Orthosiphon aristatus* ส่งผลให้เกิดการสะสมของ phenolic acid มีค่าสูงสุดเท่ากับ 17.99 $mg.g^{-1}$ DW และ 12.98 $mg.g^{-1}$ DW ตามลำดับ ในขณะที่สิ่งทดลองควบคุมมีค่าเท่ากับ 4.03 $mg.g^{-1}$ DW อย่างไรก็ตามในพืชสกุลเดียวกัน มีการทดสอบของ Pujari et.al [13] พบว่าการใช้สาร Methyl jasmonate ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร แสดงให้ว่ามีปริมาณสาร Moscatilin ใน *Dendrobium ovatum* (Willd.) Kraenzl เพิ่มขึ้นเป็น 3 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับสิ่งทดลองควบคุม โดยมีค่าอยู่ในช่วง 11 ถึง 19 µg/g ต่อน้ำหนักแห้งจากสารสกัด และการทดสอบโดยใช้ Yeast Extract ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม

ต่อลิตร พบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง 5.4 และ 8.9 µg/g ต่อน้ำหนักแห้งจากสารสกัด ซึ่งสอดคล้องกับชนิดของสารสำคัญที่พบในกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูร

ดังนั้นเมื่อพิจารณาผลของการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารสำคัญของกล้วยไม้หวายตะมอยและกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูร พบว่าทั้ง Yeast Extract และ Jasmonic acid สามารถเพิ่มปริมาณสารสำคัญได้ อย่างไรก็ตาม การตอบสนองของพืชในการสร้างสารสำคัญนั้น นอกจากจะขึ้นอยู่กับชนิดและความเข้มข้นของสารกระตุ้นแล้ว ยังขึ้นอยู่กับระยะเวลาในการได้รับสารกระตุ้นด้วย Waraporn Putalun [14]

**ตารางที่ 3** การกระจายและปริมาณของสารประกอบฟีนอลในกล้วยไม้หวายตะมอยและกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูร

| สูตรอาหาร | ปริมาณสารในตัวอย่างกล้วยไม้หวายตะมอย (%w/w)* | | | | | | ปริมาณสารในตัวอย่างกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูร (%w/w)* | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | E | H | M | G | Ch | Cr | E | H | M | G | Ch | Cr |
| MS ที่เติม BA 5 mg/L | - | - | 0.0030 | 0.0660 | - | 0.0080 | - | - | - | - | - | - |
| MS | - | - | 0.0041 | - | - | 0.0672 | - | - | - | - | - | - |
| MS ที่เติม Jasmonic acid 50 µM | - | - | - | - | - | 0.0680 | - | - | 0.0022 | - | 0.0013 | 0.0053 |
| MS ที่เติม Jasmonic acid 100 µM | - | 0.0017 | - | - | - | 0.0910 | - | - | 0.0016 | - | 0.0015 | 0.0052 |
| MS ที่เติม Yeast Extract 2 g/L | - | 0.0070 | - | - | 0.0049 | | | - | 0.0051 | - | 0.0021 | 0.0036 |
| MS ที่เติม Yeast Extract 3 g/L | - | 0.0086 | - | - | 0.0055 | | | - | 0.0045 | - | 0.0014 | 0.0026 |
| MS ที่เติม Yeast Extract 4 g/L | - | 0.0145 | - | - | 0.0099 | | | - | 0.0048 | - | - | 0.0029 |

E = (2*S*)-eriodictyol; H = (2*S*)-homoeriodictyol; M = moscatilin; G = gigantol; Ch = chrysotoxine; Cr = crepidatin; - = Not detected *ค่าเฉลี่ยจากการฉีดตัวอย่างสารสกัด 2 ชุด

**4. สรุปผลการทดลอง**

อัตราการรอดชีวิตของต้นอ่อนกล้วยไม้หวายตะมอยและกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูร บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม Yeast Extract 2 กรัมต่อลิตร สูงที่สุด คือ 97.67 และ 99.54 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนของน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้ง พบว่ากล้วยไม้หวายตะมอยและกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูร มีค่าสูงสุดในอาหารแข็งสูตร MS เท่ากับ 15.45 และ 14.19 ตามลำดับ

การเติม Jasmonic acid ความเข้มข้น 50 และ 100 µM และการเติม Yeast Extract ความเข้มข้น 2 , 3 และ 4 กรัมต่อลิตร ส่งผลบวกต่อการสร้างสารสำคัญบางชนิด โดยในกล้วยไม้หวายตะมอย พบสารประกอบฟีนอล 5 ชนิด ดังนี้ (2S)-Homoeriodictyol และสาร Chrysotoxine มากที่สุด เมื่อเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติม Yeast Extract 4 กรัมต่อลิตร เท่ากับ 0.0145 และ 0.0099 %w/w ตามลำดับ สาร Crepidatin พบมากที่สุดบนสูตรอาหาร MS ที่เติม Jasmonic acid 100 µM เท่ากับ 0.0910 %w/w สาร Gigantol พบบนสูตรอาหาร MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เท่ากับ 0.0660 %w/w สาร Moscatilin พบมากที่สุดบนสูตรอาหาร MS ซึ่งเท่ากับ 0.0041 %w/w

และในกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูร พบสารประกอบฟีนอล 3 ชนิด ดังนี้ สาร Moscatilin และ สาร Chrysotoxine พบบนสูตรอาหาร MS ที่เติม Yeast Extract 2 กรัมต่อลิตร เท่ากับ 0.0051 %w/w และ 0.0021 %w/w ตามลำดับ และสาร Crepidatin พบมากที่สุดบนสูตรอาหาร MS ที่เติม Jasmonic acid 50 µM ซึ่งเท่ากับ 0.0053 %w/w

งานวิจัยนี้สามารถนำข้อมูลความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของสารกระตุ้น การสร้างและการเพิ่มปริมาณสารสำคัญที่พบในกล้วยไม้ทั้ง 2 ชนิด ไปปรับใช้กับการวิจัยและพัฒนาการผลิตพืชสมุนไพรชนิดต่าง ๆ เพื่อเพิ่มปริมาณการสร้างสาระสำคัญในสภาพปลอดเชื้อ และนำมาใช้ประโยชน์ทางเภสัชกรรมได้

**5. เอกสารอ้างอิง**

[1] Department of National Parks, Wildlife and Plant Conservation . (2013 (CITES): Wild Orchid of Eastern Forest in Thailand Chapter 1. The Agriculture Co-operative Federation of Thailand. (ACFT), Bangkok. (In Thai)

[2] Peyachoknagul S, Mongkolsiriwatana C, Wannapinpong S, Huehne PS, Srikulnath K. (2014). Identification of native *Dendrobium* species in Thailand by PCR-RFLP of rDNA-ITS and chloroplast DNA. Science Asia.2014; 40 (2): 113-20. (In Thai)

[3] Liu, Y. N., Pan, S. L., Peng, C. Y., Huang, D. Y., Guh, J. H., Chen, C. C., Shen, C. C. and Teng, C. M. (2010). Moscatilin repressed lipopolysaccharide induced HIF-1**α** accumulation and NF-**K**B activation in murine RAW264.7 cells. Shock, 33(1), 70-75.

[4] Kowitdamrong, A., Chanvorachote, P., Sritularak, B., and Pongrakhananon, V. (2013). Moscatilin inhibits lung cancer cell motility and invasion via suppression of endogenous reactive oxygen species. BioMed Research International, 2013, Article ID 765894. (In Thai)

[5] Tsai, A.C., Pan, S.L., Liao, C.H., Guh, J.H., Wang, S.W., Sun, H.L., et al. (2010). Moscatilin, a bibenzyl derivative from the India orchid *Dendrobrium loddigesii*, suppresses tumor angiogenesis and growth in vitro and in vivo. Cancer Letter, 292(2), 163-170.Seidenfaden G. (1985) Orchid Genera in Thailand XII. *Dendrobium* Sw. Opera Botanica no. 83. Council for Nordic Publications in Botany, Copenhagen.

[6] Seidenfaden G. (1985) Orchid Genera in Thailand XII. *Dendrobium* Sw. Opera Botanica no. 83. Council for Nordic Publications in Botany, Copenhagen.

[7] Yupin Kasinkasaempong. (2016). Research and Development on *Dendrobium* spp. as herb. Horticulture Research Institute, Department of Agriculture. (In Thai)

[8] Ghorbanpour, M. and A. Varma. 2017. Medicinal Plants and Environmental Challenges. Springer International Publishing AG. Switzerland. 413 p.

[9] Yaowapha Jirakiattikul, Papichaya Kwanthong and Panumart Rithichai. (2019). Effects of Phe and JA on Growth and Secondary Metabolite Contents of Roselle Callus (*Hibiscus sabdariffa* L.) under Aseptic Conditions. Thai Science and Technology Journal (TSTJ). Vol. 28 No. 9 September 2020. DOI: 10.14456/tstj.2020.126 (In Thai)

[10] Chong, T.M., Abdullah, M.A., Lai, O.., Aini, F.M.N., and Lajis, N.H., (2005). Effective elicitation factors in Morinda ellipticacell suspension culture, Process Biochem. 40: 3397-3405.

[11] Kee-Won Yu, Wen-Yuan Gao, Sung-Ho Son & Kee-Yoeup Pae. (2002). Improvement of ginsenoside production by jasmonic acid and some other elicitors in hairy root culture of ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer). *In Vitro Cell. Dev. Biol. - Plant 36, 424–428.* https://doi.org/10.1007/s11627-000-0077-4.

[12] Iryna Smetanska, Oksana Tonkha, Tetjana Patyka, Dase Hunaefi, Diaa Mamdouh, Mykola Patyka, Anatolyi Bukin, Mikhailo Mushtruk, Natalia Slobodyanyuk, Alina Omelian. (2020). The influence of yeast extract and jasmonic acid on phenolic acids content of in vitro hairy root cultures of *Orthosiphon aristatus. Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences vol. 15, 2021*, p. 1-8 https://doi.org/10.5219/1508.

[13] Ipsita Pujari, Abitha Thomas, Padmalatha S. Rai,Kapaettu Satyamoorthy and Vidhu Sankar Babu. (2021). In vitro bioproduction and enhancement of moscatilin from a threatened tropical epiphytic orchid, *Dendrobium ovatum* (Willd.) Kraenzl. 3 Biotech (2021) 11:507 https://doi.org/10.1007/s13205-021-03059-1

[14] Waraporn Putalun. (2008). Medicinal plant tissue and cell culture: A study approach for the production of active Secondary Metabolites Pharmacological. Khonkaen Pimpattana, Khonkaen (In Thai)