



กองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม
รายงานผลสัมฤทธิ์สำหรับทุนสนับสนุนงานมูลฐาน (Fundamental Fund)
ปีงบประมาณ พ.ศ. 2565
หน่วยงาน กรมวิชาการเกษตร

รายงานโครงการวิจัย
นวัตกรรมการผลิตสารสำคัญในพืชที่มีฤทธิ์ทางเภสัชกรรม
เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม
Innovations in the production of active ingredients
pharmaceutical plants for added value

ลัดดาวัลย์ อินทร์สังข์
Laddawan Insung

ปี 2565

บทสรุปผู้บริหาร

1. ความสำคัญและที่มาของปัญหาวิจัย

ในปัจจุบันตลาดของสมุนไพรรวมทั้งพืชที่มีฤทธิ์ทางเภสัชกรรมมีการขยายตัวมากขึ้น ความต้องการใช้สมุนไพรในประเทศไทยเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ซึ่งสามารถสังเกตได้จากผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ที่ผลิตจากสมุนไพร ทั้งในสินค้าอุปโภค และบริโภค เพื่อการดูแลสุขภาพ ความงาม รวมถึงความต้องการบริโภคอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการและเภสัชที่ง่ายสะดวกต่อการบริโภค และซื้อหาได้ง่าย ส่งผลให้ตลาดสมุนไพรมีการเติบโตขึ้นอย่างรวดเร็ว การผลิตสมุนไพร ประสบปัญหาด้านการผลิตที่แตกต่างกัน คือ 1) การผลิตสารสำคัญในพืชสมุนไพร โดยเฉพาะพืชที่ใช้ประโยชน์จากราก เช่น โสม และตังกุย ต้องใช้ระยะเวลาการปลูก 3 - 5 ปี และสภาพพื้นที่ปลูกต้องอยู่ในพื้นที่สูงมีอากาศหนาวเย็นถึงจะให้ผลผลิตที่มีปริมาณสารสำคัญสูง 2) การผลิต ยังขาดการผลิตเพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพมาตรฐาน พบการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ สารเคมีตกค้าง รวมทั้งโลหะหนักที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภค จากปัญหาที่กล่าวมานั้น การผลิตสมุนไพรโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหรือการเลี้ยงชิ้นส่วนพืชในระบบปิด จึงเป็นแนวทางการศึกษาที่เหมาะสมสำหรับการผลิตและกระตุ้นให้มีการสร้างสารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางเภสัชของสมุนไพร เพื่อกระตุ้น/ผลิตสารทุติยภูมิจากพืชสมุนไพรในสภาพควบคุมของห้องปฏิบัติการหรือในสภาพปลอดเชื้อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่มีประสิทธิภาพ เนื่องจาก สารสำคัญที่ได้ไม่มีการปนเปื้อนจากสารเคมีและโลหะหนัก รวมทั้งสามารถที่จะเพาะเลี้ยงได้ตลอดทั้งปีไม่ต้องคำนึงถึงฤดูกาล หรือสภาพภูมิประเทศ นอกจากนี้ การศึกษาพัฒนาเทคโนโลยีการกระตุ้นการสร้างสารสำคัญหรือสารทุติยภูมิในสภาพปลอดเชื้อเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตสมุนไพรให้มีคุณภาพ สารสำคัญสูง และมีมาตรฐาน รวมทั้งการพัฒนาส่งเสริมการผลิตพืชสมุนไพรที่มีสารสำคัญโดยวิธีเขตกรรมแบบปลอดภัยในเชิงพาณิชย์โดยใช้นวัตกรรมการผลิตที่ตีควบคู่กันไป เพื่อสร้างมาตรฐานการผลิตพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ทางเภสัชกรรมให้เป็นที่ยอมรับและต้องการของตลาดสมุนไพรทั้งในประเทศ และต่างประเทศ และการศึกษาหาชนิดจากความหลากหลายทางชีวภาพของพืชสมุนไพรในพืชชนิดต่างๆ เพิ่มมากขึ้น เพื่อเป็นทางเลือกให้กับผู้บริโภคในการดูแลสุขภาพจากสมุนไพรอีกทางหนึ่ง

2. วัตถุประสงค์

โครงการวิจัยนวัตกรรมการผลิตสารสำคัญในพืชที่มีฤทธิ์ทางเภสัชกรรมเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม มีวัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาการผลิตและชักนำให้เกิดสารทุติยภูมิจากรากของพืชสมุนไพรที่ได้คุณภาพและปริมาณสารทุติยภูมิในระยะเวลาที่เร็วขึ้น ในระบบปิด
2. ได้ต้นแบบการผลิตสมุนไพรในระบบ Hairy Root Culture และ Cell Culture สามารถนำไปปรับหรือนำไปประยุกต์ ใช้ในการผลิตสารสำคัญจากราก และเซลล์พืชในพืชชนิดอื่นๆ
3. เพื่อศึกษาเทคโนโลยีการผลิตด้วยเขตกรรมแบบปลอดภัยเชิงการค้า
4. เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพและวิธีการขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อของกล้วยไม้สมุนไพรสกุลใหม่

3. ระเบียบวิธีวิจัย (โดยย่อ)

เป็นการศึกษากระบวนการผลิตและชักนำให้เกิดสารทุติยภูมิจากพืชที่มีฤทธิ์ทางเภสัชกรรมที่ได้คุณภาพและปริมาณสารทุติยภูมิในสภาพควบคุมของห้องปฏิบัติการในระบบปิดจากการเพาะชิ้นส่วนพืช และเลี้ยงรากลอย (hairy root) โดยใช้เทคนิคเพาะเลี้ยงร่วมกับการใช้สิ่งกระตุ้น (elicitor) เพื่อชักนำให้พืชในสภาพเพาะเลี้ยงสร้างสารทุติยภูมิที่ต้องการ และการหาเทคโนโลยีการผลิตโดยเขตกรรมแบบปลอดภัยเชิงพาณิชย์ของกล้วยไม้ชนิดที่ทราบสารสำคัญที่กรมวิชาการเกษตรได้ศึกษาแล้ว รวมทั้งรวบรวมกล้วยไม้ที่มีการใช้ประโยชน์ทางเภสัชกรรมเพื่อ

เพิ่มมูลค่าจากความหลากหลายทางชีวภาพ ได้แก่ 1) วิจัยพัฒนาการผลิตโสม และตั้งกฤษ โดยวิธีเพาะเลี้ยง ราก
ลอย 2) วิจัยเทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้ที่มีคุณสมบัติทางเภสัชกรรม

4. งบประมาณที่ใช้ (ปี 65) 2,523,520 บาท ระยะเวลาดำเนินการ ตุลาคม 2564–กันยายน 2565

5. ผลการวิจัย

5.1 วิจัยพัฒนาการผลิตโสม และตั้งกฤษ โดยวิธีเพาะเลี้ยงรากลอย

การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชของโสมพบว่า การฟอกด้วยคลอรีน 20% นาน 30 นาที ตามด้วยคลอรีน 10% นาน 20 นาที มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์น้อยที่สุด และการเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ MS ร่วมกับ BA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร และ NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ทำให้ส่วนของรากมีจำนวนรากเพิ่มขึ้นมากกว่ากรรมวิธีอื่น 10% ส่วนการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชตั้งกฤษการฟอกฆ่าเชื้อด้วยคอปเปอร์ ไฮดรอกไซด์ อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (หรือ 2 กรัม/ลิตร) นาน 30 นาที ตามด้วยคลอรีน 20% นาน 10 นาที และ คลอรีน 10% นาน 15 นาที มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับ Kinetin 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร และ NAA 0.02 มิลลิกรัม/ลิตร เกิดการปนเปื้อนน้อย และมีอัตราการเกิดรากมากที่สุด และชิ้นส่วนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตรากตั้งกฤษ คือ ส่วนของลำต้น

5.2 วิจัยเทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้ที่มีคุณสมบัติทางเภสัชกรรม

การศึกษาการกระตุ้นการสร้างสารสำคัญในสภาพปลอดเชื้อของหวายตะมอยและเห็ลียงจันทร์ พบ อัตราการรอดชีวิตของต้นอ่อนกล้วยไม้หวายตะมอยและหวายเห็ลียงจันทร์ในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม yeast extract 2 กรัม/ลิตร สูงที่สุด คือ 97.67 และ 99.54 % ตามลำดับ ส่วนการรวบรวมกล้วยไม้สกุลกุหลาบ (*Aerides* Lour.) และกล้วยไม้สกุลเอื้องเทียน (*Coelogyne* Lindl.) เพื่อวิเคราะห์สารสำคัญ สามารถรวบรวมกล้วยไม้สกุลกุหลาบ และสกุลเอื้องเทียน สกุลละ 4 ชนิด กล้วยไม้ทั้ง 2 สกุล เมื่อนำมาทำตัวอย่างแห้ง ชนิดละ 100–200 กรัม พบว่าสกุลกุหลาบมีอัตราส่วนน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งของตัวอย่างที่ 4–8 : 1 ส่วนเอื้องเทียนมีอัตราส่วนน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งใกล้เคียงกันที่ 7.5–8 : 1 และกล้วยไม้ทั้ง 2 ชนิดอยู่ระหว่างรอผลวิเคราะห์

6. ข้อเสนอแนะที่ได้จากงานวิจัย

6.1 ข้อเสนอแนะจากผลงานวิจัย

1) การเตรียมตัวอย่างในห้องปฏิบัติการต้องอาศัยเทคนิคการปลอดเชื้อทุกขั้นตอน เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ส่งผลให้เกิดความเสียหายได้

2) ควรศึกษาข้อมูลพื้นฐานของชนิดและปริมาณสารสำคัญในกล้วยไม้สกุลกุหลาบ และสกุลเอื้องเทียนที่ผลิตได้ เพื่อนำไปสู่การศึกษาในระดับคลินิก ในการนำไปใช้ประโยชน์

6.2 ข้อเสนอแนะจากผู้วิจัย

1) ตัวอย่างโสมที่นำมาศึกษาวิจัยมีปริมาณน้อยจึงต้องใช้ความระมัดระวัง และวางแผนการปฏิบัติงานให้รอบคอบ

2) ตัวอย่างของต้นตั้งกฤษที่นำมาศึกษาทดลองในห้องปฏิบัติการ มีการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ค่อนข้างมาก เนื่องจากเป็นพืชที่ปลูกอยู่ไม่สูงจากพื้นดิน ดังนั้นก่อนที่จะนำมาตัวอย่างมาทดลองในห้องปฏิบัติการควรมีการปลูกในวัสดุปลูกก่อน เพื่อลดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในดิน

3) การใช้ kinetin มีผลต่อการชักนำให้เกิดรากตั้งกึ่งเป็นปกติ แต่เมื่อต้นเนื้อเยื่ออายุประมาณ 2 เดือน ต้นมีอาการรากเปลี่ยนเป็นสีดำ คาดว่าจะเกิดจากปริมาณความเข้มข้นของสูตรอาหาร MS ดังนั้นจึงควรมีการศึกษา kinetin ร่วมกับปริมาณความเข้มข้นของสูตรอาหาร MS ต่อไป

4) กล้วยไม้สมุนไพรมีการศึกษาเกี่ยวกับการขยายพันธุ์และการปลูกเลี้ยงเพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีปริมาณมากโดยไม่ต้องเก็บจากธรรมชาติ

7. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

7.1 ประโยชน์ที่เกิดต่อผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องโดยตรง

นักวิชาการ สามารถนำผลวิจัยที่ได้ไปปรับใช้ในการดำเนินงาน ในแนวทางการวิจัยที่ใกล้เคียงกันได้ ส่วนเกษตรกร และผู้สนใจสามารถนำไปเป็นต้นแบบในการประยุกต์ใช้ในการผลิตพืชสมุนไพรมชนิดอื่น ๆ ได้

7.2 ประโยชน์ทางวิชาการ

เผยแพร่ผลงานวิจัยทางวิชาการในการประชุม สัมมนาต่าง ๆ ที่จัดขึ้น เพื่อเป็นการถ่ายทอดองค์ความรู้ทางวิชาการแก่นักวิจัย

7.3 หน่วยงานที่นำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ และเกิดประโยชน์ในด้านใด (เศรษฐกิจ สังคม สิ่งแวดล้อม)

สารสำคัญจากสมุนไพรมที่ผลิตได้สามารถใช้ทดแทนสมุนไพรมที่มีราคาแพงที่ให้คุณสมบัติเหมือนกันหรือใกล้เคียงกับสมุนไพรมที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ/สมุนไพรมที่มีฤทธิ์ทางเภสัชกรรมสามารถเป็นทางเลือกหรือใช้ทดแทนยาเคมีที่มีราคาแพง สามารถลดการนำเข้าสมุนไพรมและยาจากต่างประเทศลงได้ และสามารถนำวิธีการขั้นตอนต่างๆในการผลิตสมุนไพรมในระบบปิดไปเป็นต้นแบบสู่การผลิตเชิงพาณิชย์ได้ในอนาคต นอกจากนี้ สามารถควบคุมการผลิตให้ปลอดจากสารพิษที่เกิดจากการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชลดปัญหาการตกค้างของสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชในสภาพแวดล้อมลงได้ ซึ่งในปัจจุบันมีการใช้สารเคมีในระบบการผลิตภาคเกษตรกรรมกันอย่างสูง ส่งผลให้เกิดปัญหาสารเคมีปนเปื้อนตกค้างในแหล่งน้ำ แผลงปลูก รวมถึงบรรยากาศซึ่งส่งผลกระทบต่อสุขภาพของเกษตรกร และผู้บริโภคทั้งทางตรงและทางอ้อม

8. การเผยแพร่ผลงานวิจัย

ยังไม่มีผลการเผยแพร่ผลงานในปี 2565

บทคัดย่อ

โครงการวิจัยนวัตกรรมการผลิตสารสำคัญในพืชที่มีฤทธิ์ทางเภสัชกรรมเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม ประกอบด้วยโครงการวิจัยย่อย 2 โครงการ คือ วิจัยพัฒนาการผลิตโสม และตั้งกุก โดยวิธีเพาะเลี้ยงรากลอย และ วิจัยเทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้ที่มีคุณสมบัติทางเภสัชกรรม การดำเนินงานวิจัยปี 2565 มีเป้าหมายที่จะหาวิธีการที่เหมาะสมในการชักนำในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชโสม และตั้งกุก ให้เกิดราก และกระตุ้นการสร้างสารสำคัญของกล้วยไม้หวายตะมอยและหวายเหลืองจันทบูร ในสภาพปลอดเชื้อ รวมทั้งรวบรวมกล้วยไม้สกุลกุหลาบและสกุลเอื้องเทียน จากผลการดำเนินงาน พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชโสมด้วย คลอรีน 20% นาน 30 นาที ตามด้วย คลอรีน 10% นาน 20 นาที มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์น้อยที่สุด และการเลี้ยงในอาหาร MS ร่วมกับ BA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร และ NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ทำให้ส่วนของรากมีจำนวนรากเพิ่มขึ้นมากกว่ากรรมวิธีอื่น 10% ส่วนในตั้งกุกการฟอกฆ่าเชื้อด้วยคอปเปอร์ ไฮดรอกไซด์ อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (หรือ 2 กรัม/ลิตร) นาน 30 นาที ตามด้วย คลอรีน 20% นาน 10 นาที และ คลอรีน 10% นาน 15 นาที มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับ Kinetin 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร และ NAA 0.02 มิลลิกรัม/ลิตร มีการปนเปื้อนน้อย และมีอัตราการเกิดรากมากที่สุด และชิ้นส่วนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตรากตั้งกุก คือ ส่วนของลำต้น การศึกษาการกระตุ้นการสร้างสารสำคัญในสภาพปลอดเชื้อของหวายตะมอยและหวายเหลืองจันทบูร พบว่า อัตราการรอดชีวิตของต้นอ่อนกล้วยไม้หวายตะมอยและหวายเหลืองจันทบูรในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม yeast extract 2 กรัม/ลิตร สูงที่สุดคือ 97.67 และ 99.54% ตามลำดับ ส่วนการรวบรวมกล้วยไม้สกุลกุหลาบ (*Aerides* Lour.) และกล้วยไม้สกุลเอื้องเทียน (*Coelogyne* Lindl.) เพื่อวิเคราะห์สารสำคัญ สามารถรวบรวมกล้วยไม้สกุลกุหลาบ และสกุลเอื้องเทียน สกุลละ 4 ชนิด กล้วยไม้ทั้ง 2 สกุล เมื่อนำมาทำตัวอย่างแห้ง ชนิดละ 100–200 กรัม พบว่าสกุลกุหลาบมีอัตราส่วนน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งของตัวอย่างที่ 4–8 : 1 ส่วนเอื้องเทียนมีอัตราส่วนน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งใกล้เคียงกันที่ 7.5 – 8 : 1 และกล้วยไม้ทั้ง 2 ชนิดอยู่ระหว่างรอผลวิเคราะห์

Abstract

Innovations in the production of active ingredients pharmaceutical plants for added value consists of 2 sub-projects, namely, research and development on the production of ginseng and dong quai by hairy root and research on production technology for pharmaceutical orchids. The research work in 2022, aimed to find an appropriate method for inducing root formation of ginseng and dong quai plant parts and stimulating secondary metabolite form orchids, *Dendrobium crumenatum* and *D. friedericksianum* in sterile condition as well as collecting orchids, genus *Aerides* and *Coelogyne*. It was found that disinfection of ginseng plant parts with 20% Clorox for 30 min followed by 10% Clorox for 20 min had the least microbial contamination and cultured in MS medium with BA 0.5 mg/l and NAA 0.5 mg/l resulted in 10% more root growth than other treatments. In dong quai, disinfection by copper hydroxide 40 g/20 l for 30 min followed by chlorox 20% 10 min and followed by chlorox 10% 15 min were cultured on MS medium plus Kinetin 0.1 mg/ l and NAA 0.02 mg/l, low contamination and has the highest rooting rate. And the suitable parts for the production of dong quai roots are the stems. Studies on the stimulation of secondary metabolite sterile conditions of *D. crumenatum* and *D. friedericksianum* was found that both *D. crumenatum* and *D. friedericksianum* on MS with yeast extract 2 g/l had the highest survival rate at 97.67 and 99.54% respectively. Now is on the process of preparing samples for phytochemicals analysis. Orchids genus *Aerides* and *Coelogyne* were collected 4 species per genus for analytical studies. Both genera of orchids were sampled to make 100-200 g dry samples of each type. Genus *Aerides* had fresh weight to dry weight ratio of 4-8 : 1. While 4 species of genus *Coelogyne* had similar fresh weight to dry weight ratios of 7.5-8 : 1. All 8 dried samples waiting for analysis results.

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณคณะที่ปรึกษาโครงการวิจัย รศ.ภก.ดร. บุญชู ศรีตุลารักษ์ นางสุภัทรา เลิศวัฒนาเกียรติ นายวินัย สมประสงค์ นายทวีศักดิ์ แสงอุดม และนายอำนาจ อรรถลิ่งรอง ที่ได้ให้คำแนะนำและแก้ปัญหาในการดำเนินงานวิจัย คณะกรรมการบริหารงานวิจัยและพัฒนากรมวิชาการเกษตร คณะกรรมการที่ปรึกษาด้านวิชาการกรมวิชาการเกษตร และคณะกรรมการวิจัยและพัฒนาสถาบันวิจัยพืชสวน ในการพิจารณาแก้ไขการเสนอ โครงการวิจัย สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ในการสนับสนุนเงินทุนสำหรับวิจัย และขอขอบคุณผู้เกี่ยวข้องทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์ในการดำเนินการวิจัยจนสำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ ตลอดจนเจ้าหน้าที่ พนักงาน ผู้ปฏิบัติงานวิจัยทุกท่าน ซึ่งคณะผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่าผลการวิจัยนี้จะประโยชน์ต่อนักวิจัย นักวิชาการ เกษษกร และผู้สนใจ ได้ไม่มากนัก

คณะผู้วิจัย

มกราคม 2565

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทสรุปผู้บริหาร	2
บทคัดย่อ	5
Abstract	6
กิตติกรรมประกาศ	7
สารบัญ	8
สารบัญภาพ	9
สารบัญตาราง	10
บทที่ 1 บทนำ	11
บทที่ 2 วิธีการดำเนินงาน	13
บทที่ 3 ผลการศึกษา	18
บทที่ 4 สรุปผลและอภิปรายผล	25
เอกสารอ้างอิง	26
ภาคผนวก 1	27
ภาคผนวก 2	32

กรมวิชาการเกษตร

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1	HPLC chromatogram ของสารสกัดจากตัวอย่างต้นหวายตะมอยที่เลี้ยงด้วยอาหารเชิงสูตร MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัม/ลิตร	21
ภาพที่ 2	HPLC chromatogram ของสารสกัดจากตัวอย่างต้นเหลืองจันทร์ที่เลี้ยงด้วยอาหารเชิงสูตร MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัม/ลิตร	21
ภาพที่ 3	ต้นกล้วยไม้สกุลกุหลาบทั้ง 4 ชนิด ในสภาพที่ทำการปลูกทดสอบ	22
ภาพที่ 4	ต้นกล้วยไม้สกุลเอื้องเทียนทั้ง 4 ชนิด ในสภาพที่ทำการปลูกทดสอบ	22

กรมวิชาการเกษตร

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	อัตราการรอดชีวิตของกล้วยไม้หวายตะมอยที่ 60 90 และ 120 วัน หลังจากเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ	19
ตารางที่ 2	อัตราการรอดชีวิตของกล้วยไม้เหลืองจันทร์บุรีที่ 60 90 และ 120 วัน หลังจากเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ	20
ตารางที่ 3	แสดงการกระจายและปริมาณของสารประกอบฟีนอลในกล้วยไม้ หวายตะมอยและเหลืองจันทร์บุรี	21

กรมวิชาการเกษตร

บทที่ 1 บทนำ

1. วิสัยทัศน์ และพันธกิจของหน่วยงาน

วิสัยทัศน์

กรมวิชาการเกษตรเป็นองค์กรที่เป็นเลิศด้านการวิจัยและพัฒนาด้านพืช เครื่องจักรกลการเกษตร และเป็นศูนย์กลางรับรองมาตรฐานสินค้าเกษตรด้านพืชในระดับสากล บนพื้นฐานการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

พันธกิจ

1. สร้างและถ่ายทอดองค์ความรู้จากงานวิจัยด้านพืชและเครื่องจักรกลการเกษตรสู่กลุ่มเป้าหมาย
2. กำหนดและกำกับดูแลมาตรฐานระบบการผลิตและผลิตภัณฑ์พืชและปัจจัยการผลิต พัฒนาระบบตรวจรับรองสินค้าการเกษตรด้านพืชให้เป็นที่ยอมรับในระดับสากล
3. อนุรักษ์และพัฒนาการใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพด้านพืช แมลง และจุลินทรีย์
4. กำกับ ดูแล และพัฒนากฎหมายที่กรมวิชาการเกษตรรับผิดชอบ

2. ยุทธศาสตร์ชาติที่สอดคล้องกับแผนปฏิบัติงานด้าน ววน. ของหน่วยงาน (โปรดเลือกเฉพาะยุทธศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับหน่วยงานของท่าน)

ยุทธศาสตร์ที่ 1 ด้านความมั่นคง

เพื่อบริหารจัดการสภาวะแวดล้อมของประเทศให้มีความมั่นคง ปลอดภัย และมีความสงบเรียบร้อยในทุก
ระดับและทุกมิติ

ยุทธศาสตร์ที่ 2 ด้านการสร้างความสามารถในการแข่งขัน

เน้นการยกระดับศักยภาพในหลากหลายมิติควบคู่กับการขยายโอกาสของประเทศไทยในเวทีโลก

ยุทธศาสตร์ที่ 3 ด้านพัฒนาและเสริมสร้างศักยภาพทรัพยากรมนุษย์

คนไทยในอนาคต มีความพร้อมทั้งกาย ใจ สติปัญญา มีทักษะที่จำเป็นในศตวรรษที่ 21 มีทักษะสื่อสาร
ภาษาอังกฤษ

และภาษาที่ 3 และมีคุณธรรม

ยุทธศาสตร์ที่ 4 ด้านการสร้างโอกาสและความเสมอภาคทางสังคม

สร้างความเป็นธรรม และลดความเหลื่อมล้ำในทุกมิติ กระจายศูนย์กลางความเจริญทางเศรษฐกิจและ
สังคม เพิ่มโอกาส

ให้ทุกภาคส่วนเข้ามาเป็นกำลังของการพัฒนาประเทศในทุกระดับ

ยุทธศาสตร์ที่ 5 ด้านการสร้างการเติบโตบนคุณภาพชีวิตที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

คำนึงถึงความยั่งยืนของฐานทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ปรับเปลี่ยนพฤติกรรมของ
ประชาชนให้เป็นมิตร

ต่อสิ่งแวดล้อม ผ่านมาตรการต่างๆ ที่มุ่งเน้นให้เกิดผลลัพธ์ต่อความยั่งยืน

ยุทธศาสตร์ที่ 6 ด้านการปรับสมดุลและพัฒนาระบบการบริหารจัดการภาครัฐ

การปรับเปลี่ยนภาครัฐ ยึดหลัก “ภาครัฐของประชาชนเพื่อประชาชนและประโยชน์ส่วนรวม”

3. วงเงินงบประมาณกองทุน ววน. ที่ได้รับจัดสรรในปีงบประมาณ พ.ศ. 2565 จำนวน 2,523,520 บาท

4. รายละเอียดโครงการ

ที่มาและความสำคัญ/หลักการและเหตุผล

ปัจจุบันการผลิตสารทุติยภูมิจากพืชสมุนไพรในสภาพควบคุมของห้องปฏิบัติการหรือในสภาพปลอดเชื้อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่มีประสิทธิภาพ เนื่องจากสามารถผลิตได้อย่างต่อเนื่องให้คุณภาพสม่ำเสมอและใช้เวลาสั้นกว่าการปลูกพืชในแปลงปลูกหรือในสภาพตามธรรมชาติ สารสำคัญที่ได้ไม่มีการปนเปื้อนจากสารเคมีและโลหะหนัก รวมทั้งสามารถที่จะเพาะเลี้ยงได้ตลอดทั้งปีไม่ต้องคำนึงถึงฤดูกาล หรือสภาพภูมิประเทศ นอกจากนี้ การศึกษาพัฒนาเทคโนโลยีการกระตุ้นการสร้างสารสำคัญหรือสารทุติยภูมิในสภาพปลอดเชื้อเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตสมุนไพรให้มีคุณภาพ สารสำคัญสูง และมีมาตรฐาน รวมทั้งการพัฒนาส่งเสริมการผลิตพืชสมุนไพรที่มีสารสำคัญโดยวิธีเขตกรรมแบบปลอดภัยในเชิงพาณิชย์โดยใช้นวัตกรรมการผลิตที่ตีควบคู่กันไป เพื่อสร้างมาตรฐานการผลิตพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ทางเภสัชกรรมให้เป็นที่ยอมรับและต้องการของตลาดสมุนไพรทั้งในประเทศ และต่างประเทศ และการศึกษาหาชนิดจากความหลากหลายทางชีวภาพของพืชสมุนไพรในพืชชนิดต่างๆ เพิ่มมากขึ้น เพื่อเป็นทางเลือกให้กับผู้บริโภคในการดูแลรักษาสุขภาพจากสมุนไพรอีกทางหนึ่ง

และจากนโยบายประเทศไทย 4.0 (Thailand 4.0) ที่มีวัตถุประสงค์มุ่งเน้นพัฒนาทางการเกษตรให้มีคุณภาพสูงมากกว่ามุ่งเน้นด้านปริมาณ ประเทศไทย 4.0 จึงควรมีการเปลี่ยนจากการเกษตรแบบดั้งเดิมในปัจจุบันไปสู่การเกษตรสมัยใหม่ โดยการพัฒนานวัตกรรม ความคิดสร้างสรรค์ นวัตกรรม วิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และการวิจัยและพัฒนา สามารถนำผลผลิตหรือผลลัพธ์ที่ได้สู่การต่อยอดในกลุ่มเทคโนโลยีและอุตสาหกรรมเป้าหมายต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อศึกษาการผลิตและชักนำให้เกิดสารทุติยภูมิจากต้นและ ชิ้นส่วนของพืช เช่น ราก แคลลัส ของพืชสมุนไพรที่ได้คุณภาพและปริมาณสารทุติยภูมิในระยะเวลาที่เร็วขึ้น ในระบบปิด
2. ได้ต้นแบบการผลิตสมุนไพรในระบบ Hairy Root Culture และ Cell Culture สามารถนำไปปรับหรือนำไปประยุกต์ ใช้ในการผลิตสารสำคัญจากราก และเซลล์พืชในพืชชนิดอื่นๆ
3. เพื่อศึกษาเทคโนโลยีการผลิตด้วยเขตกรรมแบบปลอดภัยเชิงการค้า
4. เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพและวิธีการขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อของกล้วยไม้สมุนไพรสกุลใหม่

ขอบเขตการศึกษา

ศึกษากระบวนการผลิตและชักนำให้เกิดสารทุติยภูมิจากพืชที่มีฤทธิ์ทางเภสัชกรรมที่ได้คุณภาพและปริมาณสารทุติยภูมิในสภาพควบคุมของห้องปฏิบัติการในระบบปิดจากการเพาะชิ้นส่วนพืช และเลี้ยงรากลอย (hairy root) โดยใช้เทคนิคเพาะเลี้ยงร่วมกับการใช้สิ่งกระตุ้น (elicitor) เพื่อชักนำให้พืชในสภาพเพาะเลี้ยงสร้างสารทุติยภูมิที่ต้องการในระยะเวลาสั้น และมากกว่าพืชที่ปลูกในแปลงปลูกหรือในสภาพตามธรรมชาติ และการหาเทคโนโลยีการผลิตโดยเขตกรรมแบบปลอดภัยเชิงพาณิชย์ของกล้วยไม้ชนิดที่ทราบสารสำคัญที่กรมวิชาการเกษตร ได้ศึกษาแล้ว รวมทั้งรวบรวมกล้วยไม้ที่มีการใช้ประโยชน์ทางเภสัชกรรมเพื่อเพิ่มมูลค่าจากความหลากหลายทางชีวภาพ

บทที่ 2 วิธีการดำเนินงาน

1. วิธีการดำเนินการวิจัย

โครงการวิจัยย่อยที่ 1 วิจัยพัฒนาการผลิตโสม และตั้งกุย โดยวิธีเพาะเลี้ยงรากลอย

กิจกรรมที่ 1 การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตสารจินเซนโนไซด์ด้วยการเพาะเลี้ยง Hairy Root ของโสม (จินเซน)

การทดลองที่ 1.1 การศึกษาการผลิตรากโสมจินเซนที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิด Hairy Root

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. พันธุ์โสม
2. วัสดุในห้องปฏิบัติการ เช่นตู้เขี่ยเชื้อ (laminar flow) หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ อาหารสังเคราะห์ ตู้บ่มเชื้อ เป็นต้น
3. อุปกรณ์บันทึกข้อมูล เช่น สมุดบันทึก กล้องถ่ายภาพ เป็นต้น

แบบและวิธีการทดลอง

นำตัวอย่างของโสมมาเพาะเลี้ยงเยื่อเยื่อภายในห้องปฏิบัติการ โดยการนำชิ้นส่วนของราก เมล็ด มาฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยกรรมวิธีต่าง ๆ โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 4 กรรมวิธี 5 ซ้ำ ๆ ละ 20 หน่วยทดลอง ได้แก่

- กรรมวิธีที่ 1 ฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอโรกซ์ 20% นาน 20 นาที ตามด้วยคลอโรกซ์ 10% นาน 20 นาที
- กรรมวิธีที่ 2 ฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอโรกซ์ 20% นาน 30 นาที ตามด้วยคลอโรกซ์ 10% นาน 20 นาที
- กรรมวิธีที่ 3 ฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอโรกซ์ 25% นาน 20 นาที ตามด้วยคลอโรกซ์ 10% นาน 20 นาที
- กรรมวิธีที่ 4 ฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอโรกซ์ 25% นาน 30 นาที ตามด้วยคลอโรกซ์ 10% นาน 20 นาที

และนำมาเลี้ยงบนอาหาร MS เมื่ออายุ 1 เดือน จึงย้ายลงบนอาหารสูตรต่างๆ โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ

- กรรมวิธีที่ 1 MS + BA 0 มิลลิกรัม/ลิตร + NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร
- กรรมวิธีที่ 2 MS + BA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร + NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร
- กรรมวิธีที่ 3 MS + BA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร + NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร
- กรรมวิธีที่ 4 MS + BA 1.5 มิลลิกรัม/ลิตร + NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร
- กรรมวิธีที่ 5 MS + BA 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร + NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร

เมื่อได้กรรมวิธีที่ดีที่สุด จึงนำมาศึกษาปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส จากนั้นจึงนำมาชักนำให้เกิดราก Hairy root โดยนำชิ้นส่วนพืชมาทำให้เกิดบาดแผลโดยใช้ใบมีดกรีดไปที่ชิ้นส่วนพืช จากนั้นจึงนำไปแช่ในสารแขวนลอยที่มีเชื้อ *Agrobacterium rhizogenes* ในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม acetosyringone 100 ไมโครโมลาร์ นาน 60 นาที จากนั้นล้างด้วย cefotaxime 250 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 30 นาที นำมาวางบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS บ่มในที่มืดนาน 1 สัปดาห์ จากนั้นจึงเปลี่ยนอาหารใหม่ ทุก 2 วัน เป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์ เพื่อกำจัดเชื้อ *A. rhizogenes* และบันทึกข้อมูลการเจริญเติบโต

สถานที่ดำเนินงาน

ห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ห้องปฏิบัติการสถาบันวิจัยพืชสวน

ระยะเวลาการทดลอง

วันที่เริ่มต้น 1 ตุลาคม 2564 วันที่สิ้นสุด 30 กันยายน 2565

กิจกรรมที่ 2 การเพาะเลี้ยง Hairy Root ของตังกุย (Dong Quai) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตสารสำคัญ

การทดลองที่ 2.2 ศึกษาการผลิตรากตังกุยที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิด Hairy Root

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. พันธุ์ตังกุย
2. วัสดุในห้องปฏิบัติการ เช่นตู้เขี่ยเชื้อ (laminar flow) หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ อาหารสังเคราะห์ ตู้บ่มเชื้อ เป็นต้น
3. อุปกรณ์บันทึกข้อมูล เช่น สมุดบันทึก กล้องถ่ายภาพ เป็นต้น

แบบและวิธีการทดลอง

นำตัวอย่างของตังกุยมาเพาะเลี้ยงเยื่อเยื่อภายในห้องปฏิบัติการ โดยการนำชิ้นส่วนของต้นตังกุย ได้แก่ เมล็ด ยอด ใบ ลำต้น ตาข้าง มาฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยกรรมวิธีต่าง ๆ วางบนอาหาร MS ที่ผสมด้วย สารฆ่า/ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Plant Preservative Mixture (PPM)) 0.1% เมื่ออายุ 1 เดือน จึงย้ายลงบนอาหารสูตรต่างๆ โดยวางแผนการทดลองแบบ CBD ประกอบด้วย 4 กรรมวิธี 7 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 MS + Kinetin 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร + NAA 0.02 มิลลิกรัม/ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 MS

กรรมวิธีที่ 3 MS + BA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร + NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 MS + BA 2 มิลลิกรัม/ลิตร + NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร

เมื่อได้กรรมวิธีที่ดีที่สุด จึงนำมาศึกษาปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส เมื่อได้กรรมวิธีที่ดีที่สุดแล้ว จึงนำมาชักนำให้เกิดราก Hairy root โดยนำชิ้นส่วนพืชมาทำให้เกิดบาดแผลโดยใช้ใบมีดกรีดไปที่ชิ้นส่วนพืช จากนั้นจึงนำไปแช่ในสารแขวนลอยที่มีเชื้อ *A. rhizogenes* ในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม acetosyringone 100 ไมโครโมลาร์ นาน 60 นาที จากนั้นล้างด้วย cefotaxime 250 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 30 นาที นำมาวางบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS บ่มในที่มืดนาน 1 สัปดาห์ จากนั้นจึงเปลี่ยนอาหารใหม่ ทุก 2 วัน เป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์ เพื่อกำจัดเชื้อ *A. rhizogenes* และบันทึกข้อมูลการเจริญเติบโต

สถานที่ดำเนินงาน

ห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ห้องปฏิบัติการสถาบันวิจัยพืชสวน

ระยะเวลาการทดลอง

วันที่เริ่มต้น 1 ตุลาคม 2564 วันที่สิ้นสุด 30 กันยายน 2565

โครงการวิจัยย่อยที่ 2 วิจัยเทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้ที่มีคุณสมบัติทางเภสัชกรรม

กิจกรรมที่ 1 วิจัยและพัฒนาการผลิตเพื่อเพิ่มปริมาณสารสำคัญในสภาพปลอดเชื้อและสภาพโรงเรือน ของ

กล้วยไม้หวายตะมอยและหวายเหลืองจันทบูร

การทดลองที่ 1.1 ศึกษาการกระตุ้นการสร้างสารสำคัญในสภาพปลอดเชื้อของหวายตะมอยและเหลืองจันทบูร

ขั้นตอนการทดลองในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. กล้วยไม้หวายตะมอยและหวายเหลืองจันทบูร
2. อาหารวิทยาศาสตร์สูตร MS
3. สารกระตุ้นการสร้างสารสำคัญ ได้แก่ Jasmonic acid และ yeast extract

แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 สูตรอาหาร MS (กรรมวิธีควบคุม)

- กรรมวิธีที่ 2 สูตรอาหาร MS ร่วมกับ jasmonic acid ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์
- กรรมวิธีที่ 3 สูตรอาหาร MS ร่วมกับ jasmonic acid ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์
- กรรมวิธีที่ 4 สูตรอาหาร MS ร่วมกับ jasmonic acid ความเข้มข้น 150 ไมโครโมลาร์
- กรรมวิธีที่ 5 สูตรอาหาร MS ร่วมกับ yeast extract ความเข้มข้น 2 กรัม/ลิตร
- กรรมวิธีที่ 6 สูตรอาหาร MS ร่วมกับ yeast extract ความเข้มข้น 3 กรัม/ลิตร
- กรรมวิธีที่ 7 สูตรอาหาร MS ร่วมกับ yeast extract ความเข้มข้น 4 กรัม/ลิตร

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. ขยายพันธุ์ต้นอ่อนกล้วยไม้หวายตะมอยและเหลืองจันทบูรในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำหน่ออ่อนมาฟอกทำความสะอาดและเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรอาหารชักนำให้เกิดต้นของหวายเหลืองจันทบูรและหวายตะมอย คือ MS+5 มิลลิกรัม/ลิตร BA (สุภาภรณ์ และคณะ, 2563) เพื่อชักนำให้เกิดต้นและเพิ่มปริมาณต้นเพื่อนำมาใช้เป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นในการทดลอง
2. นำหน่ออ่อนของกล้วยไม้หวายตะมอยและหวายเหลืองจันทบูรในสภาพปลอดเชื้อจากข้อที่ 1 มาเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารตามกรรมวิธีต่าง ๆ เพื่อกระตุ้นให้สร้างสารสำคัญ เลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ ให้แสง 12 ชั่วโมง/วัน เก็บข้อมูลการเจริญเติบโตและปริมาณสารสำคัญ
3. เมื่อได้กรรมวิธีที่ดีที่สุดในการสร้างและเพิ่มปริมาณสารสำคัญ จึงนำไปสู่ขั้นตอนการทดสอบ protocol การผลิตเพื่อเพิ่มปริมาณสารสำคัญในสภาพปลอดเชื้อ วิเคราะห์ความคุ้มค่าในการผลิตเป็นการค้าในรอบ 1 ปี (ปี 2567)
4. การส่งตัวอย่างวิเคราะห์สาระสำคัญ ดำเนินการโดยการเตรียมตัวอย่างและนำตัวอย่างต้นอ่อนกล้วยไม้หวายตะมอยและหวายเหลืองจันทบูร ไปวิเคราะห์หองค์ประกอบและปริมาณของสารสำคัญ Gigantol, Crepidatin, Moscatirin, Eridictyol Homoeridictyol และ Chrysotoxine โดยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ที่คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การบันทึกข้อมูล

1. การเจริญเติบโต เช่น การเกิดต้น ความสูงต้น การเกิดหน่อใหม่ในต้นใหม่ น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง
2. ปริมาณสารสำคัญ

สถานที่ดำเนินการ

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สถาบันวิจัยพืชสวน ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร และคณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ระยะเวลาดำเนินการ

วันที่เริ่มต้น 1 ตุลาคม 2564 วันที่สิ้นสุด 30 กันยายน 2565

กิจกรรมที่ 2 ศึกษากล้วยไม้สกุลกุหลาบและเอื้องเทียนที่มีศักยภาพทางเภสัชกรรม

การทดลองที่ 2.1 รวบรวมกล้วยไม้สกุลกุหลาบ (*Aerides* Lour.) เพื่อทำการวิเคราะห์หาสารสำคัญ

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. สำรวจแหล่งที่ตั้งของพันธุ์กรรมกล้วยไม้สกุลกุหลาบ ในแต่ละภูมิภาคของไทย จากเอกสารทางวิชาการ และรวบรวมเชื้อพันธุ์ที่ไม่เสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ โดยดูมีลักษณะการเจริญเติบโต การแตกกอ ลักษณะภายนอกอื่นๆ พิจารณาร่วมกับสภาพแวดล้อมในแต่ละแหล่งกระจายพันธุ์ (ปี 2565)

2. รวบรวมตัวอย่างจากสถานที่ใกล้เคียงแหล่งกระจายพันธุ์ตามเอกสารวิชาการเพื่อเป็นตัวแทนของสภาพแวดล้อม/ภูมิภาคนั้นๆ โดยเก็บตัวอย่างเชื้อพันธุ์ในแต่ละแหล่ง จำนวน 100 ต้นต่อเชื้อพันธุ์ เพื่อวิเคราะห์หาชนิดของสารสำคัญ (ปี 2565)

3. นำเชื้อพันธุ์มาปลูกเปรียบเทียบ เก็บข้อมูลลักษณะการเจริญเติบโต การแตกกอ การเข้าทำลายของโรคแมลง และอื่นๆ ของเชื้อพันธุ์กล้วยไม้สกุลกุหลาบ จากแหล่งต่างๆ ในรอบ 1 ปี เป็นเวลา 2 ปี (ปี 2566-2567)

4. วิเคราะห์สารสำคัญเมื่อปลูกเลี้ยงต้นพันธุ์ในสภาพโรงเรือน เกิน 18 เดือน (ปี 2567)

ขั้นตอนศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพ

เก็บตัวอย่างต้นกล้วยไม้จากแหล่งกระจายพันธุ์ เตรียมสารสกัดหยาบด้วยเมทานอล นำสารสกัดหยาบที่ได้ไปทดสอบทางชีวภาพเบื้องต้น จากนั้นนำกล้วยไม้ที่มีฤทธิ์ดีมาศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่สกัดได้เพื่อหาสารออกฤทธิ์ในกล้วยไม้แต่ละชนิด

วิธีปฏิบัติ

1. เก็บตัวอย่างพืชและพืชจันเอกลักษณ์
2. เตรียมสิ่งสกัดหยาบจากตัวอย่างพืชและทำการคัดกรองพืชตัวอย่าง ที่สนใจ
3. การเตรียมสิ่งสกัดหยาบจากตัวอย่างพืชที่มีฤทธิ์ ทำความสะอาดตัวอย่างพืชให้สะอาด นำมาบดให้ละเอียด จากนั้นแช่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสม
4. การสกัดแยกสารให้บริสุทธิ์จากตัวอย่างกล้วยไม้ที่มีฤทธิ์ดี
5. นำสิ่งสกัดหยาบมาแยกเอาสารบริสุทธิ์ โดยอาศัยเทคนิคทาง Chromatography ได้แก่ High Performance Liquid Chromatography (HPLC), Column Chromatography (CC) และ Thin Layer Chromatography (TLC) เป็นต้น

ขั้นตอนการวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์

- นำสารบริสุทธิ์ที่แยกสกัดได้ไปวิเคราะห์หาโครงสร้างของสารโดยใช้เทคนิคทาง Spectroscopy ได้แก่ UV, IR, MS และ NMR

- การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส หรือฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆที่น่าสนใจ ของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้

การบันทึกข้อมูล

บันทึกลักษณะการเจริญเติบโต การแตกกอ การเข้าทำลายของโรค แมลง ปริมาณสารสำคัญ และอื่นๆ ของเชื้อพันธุ์กล้วยไม้สกุลกุหลาบ จากแหล่งต่างๆ

สถานที่ดำเนินการ

สถาบันวิจัยพืชสวนและหน่วยงานเครือข่าย แหล่งกระจายพันธุ์ของกล้วยไม้ สกุลกุหลาบในภูมิภาคต่างๆ ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ระยะเวลาดำเนินการ

วันที่เริ่มต้น 1 ตุลาคม 2564 วันที่สิ้นสุด 30 กันยายน 2565

การทดลองที่ 2. 2 รวบรวมกล้วยไม้สกุลเอื้องเทียน (*Coelogyne* Lindl.) เพื่อทำการวิเคราะห์หาสารสำคัญ

วิธีปฏิบัติทดลอง

1. สืบหาแหล่งที่ตั้งของพันธุ์กรรมกล้วยไม้สกุลเอื้องเทียน ในแต่ละภูมิภาคของไทย จากเอกสารทางวิชาการ และรวบรวมเชื้อพันธุ์ที่ไม่เสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ โดยดูมีลักษณะการเจริญเติบโต การแตกกอ ลักษณะภายนอกอื่นๆ พิจารณาร่วมกับสภาพแวดล้อมในแต่ละแหล่งกระจายพันธุ์ (ปี 2565)

2. รวบรวมตัวอย่างจากสถานที่ใกล้เคียงแหล่งกระจายพันธุ์ตามเอกสารวิชาการเพื่อเป็นตัวแทนของสภาพแวดล้อม/ภูมิภาคนั้นๆ โดยเก็บตัวอย่างเชื้อพันธุ์ในแต่ละแหล่ง จำนวน 100 ต้นต่อเชื้อพันธุ์ เพื่อวิเคราะห์หาชนิดของสารสำคัญ (ปี 2565)

3. นำเชื้อพันธุ์มาปลูกเปรียบเทียบ เก็บข้อมูลลักษณะการเจริญเติบโต การแตกกอ การเข้าทำลายของโรคแมลง และอื่นๆ ของเชื้อพันธุ์กล้วยไม้สกุลเอื้องเทียนจากแหล่งต่างๆ ในรอบ 1 ปี เป็นเวลา 2 ปี (ปี 2566-2567)

4. วิเคราะห์สารสำคัญเมื่อปลูกเลี้ยงต้นพันธุ์ในสภาพโรงเรือน เกิน 18 เดือน (ปี 2567)

ขั้นตอนศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพ

เก็บตัวอย่างต้นกล้วยไม้จากแหล่งกระจายพันธุ์ เตรียมสารสกัดหยาบด้วยเมทานอล นำสารสกัดหยาบที่ได้ไปทดสอบทางชีวภาพเบื้องต้น จากนั้นนำกล้วยไม้ที่มีฤทธิ์ดีมาศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่สกัดได้เพื่อหาสารออกฤทธิ์ในกล้วยไม้แต่ละชนิด

วิธีปฏิบัติ

1. เก็บตัวอย่างพืชและพืชจำแนกลักษณะ
2. เตรียมสิ่งสกัดหยาบจากตัวอย่างพืชและทำการคัดกรองพืชตัวอย่าง ที่สนใจ
3. การเตรียมสิ่งสกัดหยาบจากตัวอย่างพืชที่มีฤทธิ์ ทำความสะอาดตัวอย่างพืชให้สะอาด นำมาบดให้ละเอียด จากนั้นแช่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสม
4. การสกัดแยกสารให้บริสุทธิ์จากตัวอย่างกล้วยไม้ที่มีฤทธิ์ดี
5. นำสิ่งสกัดหยาบมาแยกเอาสารบริสุทธิ์ โดยอาศัยเทคนิคทาง Chromatography ได้แก่ High Performance Liquid Chromatography (HPLC), Column Chromatography (CC) และ Thin Layer Chromatography (TLC) เป็นต้น

ขั้นตอนการวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์

- นำสารบริสุทธิ์ที่แยกสกัดได้ไปวิเคราะห์หาโครงสร้างของสารโดยใช้เทคนิคทาง Spectroscopy ได้แก่ UV, IR, MS และ NMR

- การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส หรือฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆที่น่าสนใจ ของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้

การบันทึกข้อมูล

บันทึกลักษณะการเจริญเติบโต การแตกกอ การเข้าทำลายของโรค แมลง ปริมาณสารสำคัญ และอื่นๆ ของเชื้อพันธุ์กล้วยไม้สกุลเอื้องเทียนจากแหล่งต่างๆ

สถานที่ดำเนินการ

สถาบันวิจัยพืชสวนและหน่วยงานเครือข่าย แหล่งกระจายพันธุ์ของกล้วยไม้ สกุลเอื้องเทียนในภูมิภาคต่างๆ ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ระยะเวลาดำเนินการ

วันที่เริ่มต้น 1 ตุลาคม 2564 วันที่สิ้นสุด 30 กันยายน 2565

3. การปรับแผนงบประมาณระหว่างปี

- ไม่มี มี ได้รับอนุมัติเมื่อวันที่..... (โปรดแสดงหลักฐานในภาคผนวก)
- เปลี่ยนแปลงงบประมาณ โปรดอธิบายการเปลี่ยนแปลง.....
- เปลี่ยนแปลงวัตถุประสงค์/ผลผลิต โปรดอธิบายการเปลี่ยนแปลง.....

บทที่ 3 ผลการศึกษา

3.1 ผลการดำเนินงานของโครงการ

โครงการวิจัยย่อยที่ 1 วิจัยพัฒนาการผลิตโสม และตั้งก्यू โดยวิธีเพาะเลี้ยงรากลอย

จากการศึกษาส่วนต่างๆของพืชโสม ได้แก่ เมล็ด ราก มาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อภายในห้องปฏิบัติการโดยการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยกรรมวิธีต่างๆ ที่กำหนด นำมาวางบนอาหาร MS ที่ผสมด้วย PPM 0.1% พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อด้วย คลอโรอกซ์ 20% นาน 30 นาที ตามด้วย คลอโรอกซ์ 10% นาน 20 นาที มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์น้อยที่สุด 50% เมื่อนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่ต่างกัน พบว่า ต้นพืชที่เลี้ยงบนอาหาร MS ร่วมกับ BA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร และ NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ทำให้ส่วนของลำต้นและใบเลี้ยง พัฒนาเป็นแคลลัส มากกว่ากรรมวิธีอื่น 20% และส่วนอาหาร MS ร่วมกับ BA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร และ NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ทำให้ส่วนของรากมีอัตราการเพิ่มขึ้นมากกว่ากรรมวิธีอื่น 10%

ส่วนในตั้งกยุ่นำชิ้นส่วนต่างๆของพืช ได้แก่ เมล็ด ช่อดอก ใบ ลำต้น ตาข้าง มาฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยกรรมวิธีต่างๆ ตามกรรมวิธีที่กำหนด นำมาวางบนอาหาร MS ที่ผสมด้วย PPM 0.1% พบว่า ส่วนของช่อดอกเมื่อนำมาฟอกด้วยคลอโรอกซ์ 10% นาน 10 นาที พบปนเปื้อนเชื้อรา/แบคทีเรียที่น้อยที่สุด คือ 5% รองลงมาคือ ส่วนของลำต้นที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยคอปเปอร์ ไฮดรอกไซด์ อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร นาน 30 นาที ร่วมกับคลอโรอกซ์ 20% นาน 10 นาที และคลอโรอกซ์ 10% นาน 15 นาที มีการปนเปื้อน 15% สำหรับตาข้าง พบว่า การฟอกด้วย PPM 5% นาน 30 นาที มีการปนเปื้อนอยู่ที่ 70% ในส่วนของใบและเมล็ด พบว่า ทุกกรรมวิธีมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนค่อนข้างมาก และชิ้นส่วนพืชที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดราก บนอาหารสูตร MS ที่อายุ 1 เดือน พบว่า ตาข้าง มีการเกิดรากมากที่สุด 80% รองลงมาคือ ชิ้นส่วนของลำต้น ซึ่งที่มีการเกิดราก 50% แต่ในส่วนของตาข้างนั้นมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนสูงกว่าการใช้ชิ้นส่วนของลำต้น ทำให้ได้ตัวอย่างสำหรับนำมาศึกษาขั้นตอนต่อไปน้อย ส่วนของลำต้นจึงเป็นชิ้นส่วนที่เหมาะสมที่สุดสำหรับนำมาศึกษาสูตรอาหารต่างๆที่ชักนำให้เกิดราก

ดังนั้นจึงได้นำส่วนของลำต้นบนอาหาร MS เมื่ออายุ 1 เดือนย้ายลงในอาหารสูตรที่ต่างกัน พบว่า ต้นพืชที่เลี้ยงบน MS ร่วมกับ Kinetin 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร และ NAA 0.02 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นสูตรที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดราก โดยพืชเริ่มมีรากงอก หลังย้ายลงอาหารใหม่เพียง 1 สัปดาห์ และเมื่อ 2 สัปดาห์ พบปริมาณของรากจำนวน 5 ราก และมีความยาวรากเฉลี่ย 1.5 เซนติเมตร






(หมายเหตุ: เนื่องจากอยู่ในระหว่างการเก็บข้อมูลเพิ่มเติม และข้อมูลยังขาดความสมบูรณ์ จึงไม่สามารถวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติได้)

โครงการวิจัยย่อยที่ 2 วิจัยเทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้ที่มีคุณสมบัติทางเภสัชกรรม

การขยายพันธุ์ต้นอ่อนกล้วยไม้หวายตะมอยและเหลืองจันทร์ทบูรในสภาพปลอดเชื้อ และนำไปเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS และ MS ที่เติม jasmonic acid ความเข้มข้น 50 100 150 ไมโครโมลาร์ หรือ yeast extract ความเข้มข้น 2 3 และ 4 กรัม/ลิตร เป็นเวลา 120 วัน กล้วยไม้หวายตะมอย พบการตายของต้นอ่อนที่ 90 วัน ในอาหารแข็งสูตร jasmonic acid ความเข้มข้น 150 ไมโครโมลาร์ มีอัตราการรอดชีวิตเท่ากับ 66.79% และหลังจาก 120 วัน พบอัตราการรอดชีวิตของต้นอ่อนในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม yeast extract 2 กรัม/ลิตร สูงสุด คือ 97.67% รองลงมาคือ อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม yeast extract ความเข้มข้น 3 และ 4 กรัม/ลิตร และ อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม jasmonic acid ความเข้มข้น 50 100 และ 150 ไมโครโมลาร์ มีอัตราการรอดชีวิต เท่ากับ 92.68 88.89 78.64 70.73 และ 57.14% ตามลำดับ สำหรับกล้วยไม้หวายเหลืองจันทร์ทบูร การตายของต้นอ่อนที่ 90 วัน ในอาหารแข็งสูตร jasmonic acid ความเข้มข้น 150 ไมโครโมลาร์ มีอัตราการรอดชีวิตเท่ากับ 79.52% และหลังจาก 120 วัน พบอัตราการรอดชีวิตของต้นอ่อนในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม yeast extract 2 กรัม/ลิตร สูงที่สุด คือ 99.54% รองลงมาคือ อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม yeast extract ความเข้มข้น 3 และ 4 กรัม/ลิตร

และ อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม jasmonic acid ความเข้มข้น 50 100 และ 150 ไมโครโมลาร์ มีอัตราการรอดชีวิต เท่ากับ 99.41 98.64 93.35 90.91 และ 70.00% ตามลำดับ (ตารางที่ 1-2)

ตารางที่ 1 อัตราการรอดชีวิตของกล้วยไม้หวายตะมอยที่ 60 90 และ 120 วัน หลังจากเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ

อาหาร	อัตราการรอดชีวิต (%)		
	หลังจาก 60 วัน	หลังจาก 90 วัน	หลังจาก 120 วัน
MS (control)	 100	 100	 100
MS + jasmonic acid 50 ไมโครโมลาร์	 81.82	 81.09	 78.64
MS + jasmonic acid 100 ไมโครโมลาร์	 77.54	 75.44	 70.73
MS + jasmonic acid 150 ไมโครโมลาร์	 66.79	 64.29	 57.14
MS + yeast extract 2 กรัม/ลิตร	 97.67	 97.67	 97.67
MS + yeast extract 3 กรัม/ลิตร	 97.67	 93.33	 92.68
MS + yeast extract 4 กรัม/ลิตร	 98.22	 91.11	 88.89

หมายเหตุ: เนื่องจากดำเนินงานอยู่ในระหว่างการเก็บข้อมูล และการดำเนินงานยังไม่ได้อยู่ในช่วง/หรือขั้นตอนที่จะวิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติ จึงไม่สามารถวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติได้

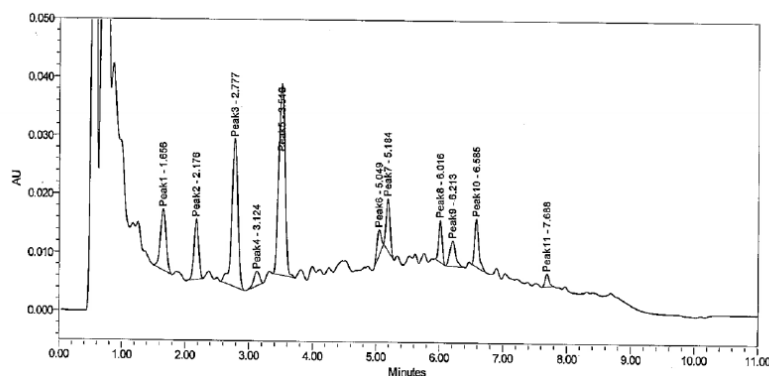
ตารางที่ 2 อัตราการรอดชีวิตของกล้วยไม้เหลืองจันทร์บุรุษที่ 60 90 และ 120 วัน หลังจากเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ

อาหาร	อัตราการรอดชีวิต (%)		
	หลังจาก 60 วัน	หลังจาก 90 วัน	หลังจาก 120 วัน
MS (control)	 100	 100	 100
MS + jasmonic acid 50 ไมโครโมลาร์	 100	 98.64	 93.35
MS + jasmonic acid 100 ไมโครโมลาร์	 100	 96.44	 90.91
MS + jasmonic acid 150 ไมโครโมลาร์	 100	 79.52	 70
MS + yeast extract 2 กรัม/ลิตร	 100	 100	 99.54
MS + yeast extract 3 กรัม/ลิตร	 100	 100	 99.41
MS + yeast extract 4 กรัม/ลิตร	 100	 100	 98.64

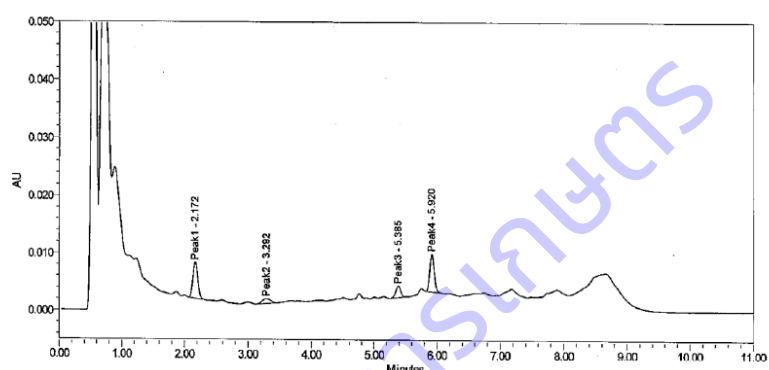
หมายเหตุ: เนื่องจากดำเนินการอยู่ในระหว่างการเก็บข้อมูล และการดำเนินงานยังไม่ได้อยู่ในช่วง/หรือขั้นตอนที่จะวิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติ จึงไม่สามารถวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติได้

จากการส่งตัวอย่างกล้วยไม้หวายตะมอยและเหลืองจันทร์บุรุษที่เลี้ยงด้วยอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัม/ลิตร ไปวิเคราะห์หองค์ประกอบและปริมาณสารสำคัญ Gigantol, Crepidatin, Moscatirin, Eridictyol, Homoeridictyol และ Chrysotoxine โดยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ที่คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จากการทำ system suitability test โดยการฉีดสารละลายผสมสารมาตรฐานของ (2S)-eriodictyol, (2S)-homoeriodictyol, moscatilin, gigantol, chrysotoxine และ

crepidatin พบว่าค่า %CV ของ peak area และ retention time ของสารแต่ละชนิดต่ำกว่า 3% (ภาพที่ 1-2 และตารางที่ 3)



ภาพที่ 1 HPLC chromatogram ของสารสกัดจากตัวอย่างต้นหวายตะมอยที่เลี้ยงด้วยอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัม/ลิตร



ภาพที่ 2 HPLC chromatogram ของสารสกัดจากตัวอย่างต้นเหืองจันทบูรที่เลี้ยงด้วยอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัม/ลิตร

ตารางที่ 3 แสดงการกระจายและปริมาณของสารประกอบฟีนอลในกล้วยไม้หวายตะมอยและเหืองจันทบูร

รหัสตัวอย่าง	ปริมาณสารในตัวอย่าง (%w/w)*					
	E	H	M	G	Ch	Cr
หวายตะมอย	-	-	0.0030	0.0660	-	0.0080
เหืองจันทบูร	-	-	-	-	-	-

E = (2S)-eriodictyol; H = (2S)-homoeriodictyol; M = moscatilin; G = gigantol; Ch = chrysotoxine; Cr = crepidatin;

- = Not detected

*ค่าเฉลี่ยจากการฉีดตัวอย่างสารสกัด 2 ชุด

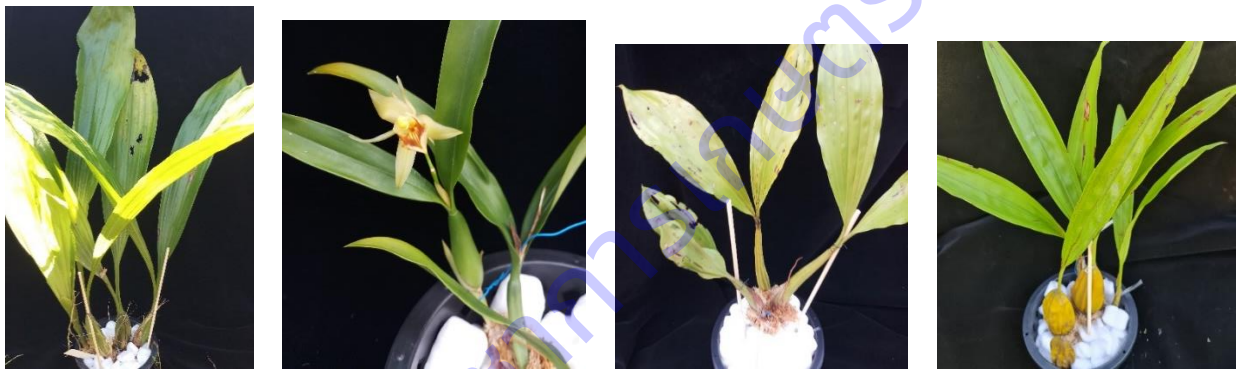
รวบรวมต้นกล้วยไม้สกุลกุหลาบ 4 ชนิด คือ กุหลาบเหืองโคราช (*Aerides houlletiana* Rchb.f.) จำนวน 50 ต้น กุหลาบกระบี่ (*A. krabiensis* Seidenf.) จำนวน 50 ต้น กุหลาบกระเป่าปัด (*A. odorata* Lour.) จำนวน 50 ต้น และ กุหลาบแม่เมย (*A. rosea* Lodd. ex Lindl. & Paxton (1850) จำนวน 50 ต้น (ภาพที่ 3) ตัวอย่างแห้งอย่างน้อยชนิดละ 50 กรัม โดยต้นกุหลาบแต่ละชนิดมีน้ำหนักต้นเฉลี่ย 66.52 28.96 82.32 และ 147.67 กรัม ตามลำดับ



กุหลาบเหลืองโคราช (*A. houlettiana* Rchb.f.) กุหลาบกระบี่ (*A. krabiensis* Seidenf.) กุหลาบกระเป่าปัด (*A. odorata* Lour.) กุหลาบแม่เมย (*A. rosea* Lodd. ex Lindl. & Paxton (1850))

ภาพที่ 3 ต้นกล้วยไม้สกุลกุหลาบทั้ง 4 ชนิด ในสภาพที่ทำการปลูกทดสอบ

รวบรวมต้นกล้วยไม้สกุลเอื้องเทียน 4 ชนิด ชนิดละ 50 ต้น คือ เอื้องเทียนแอสเพอร่า (*Coelogyne asperata* Lindl.) เอื้องเทียนใบบาง (*C. fimbriata* Lindl.) เอื้องเทียนสายเสริฐ (*C. rochussenii* de Vriese (1854)) และเอื้องเทียนใบหมาก (*C. trinervis* Lindl.) (ภาพที่ 4) ได้ตัวอย่างแห้งแต่ละชนิด ไม่น้อยกว่า 100 กรัม แต่ละชนิดมีน้ำหนักเฉลี่ย 213.62 98.29 และ 128.38 กรัม ตามลำดับ จำนวนลำลูกกล้วยเฉลี่ย 3 ลำ เมื่อเริ่มทำการปลูกทดสอบ



C. asperata Lindl. *C. fimbriata* Lindl. *C. ochussenii* de Vriese (1854) *C. trinervis* Lindl.

ภาพที่ 4 ต้นกล้วยไม้สกุลเอื้องเทียนทั้ง 4 ชนิด ในสภาพที่ทำการปลูกทดสอบ

3.2 ผลผลิตที่เกิดขึ้นจริง (Output)

ผลผลิตตามคำรับรอง	จำนวน	หน่วยนับ	ผลผลิตที่เกิดขึ้นจริง	จำนวน	หน่วยนับ	รายละเอียดผลผลิต (พร้อมแนบหลักฐาน)**	เชิงคุณภาพ
1 ต้นแบบผลิตภัณฑ์ (Prototype) ระดับห้องปฏิบัติการ	1	ต้นแบบ	วิธีการที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิด Hairy Root ในโสม	1	ต้นแบบ	การฟอกฆ่าเชื้อด้วย คลอโร็กซ์ 20% นาน 30 นาที ตามด้วย คลอโร็กซ์ 10% นาน 20 นาที มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ น้อยที่สุด 50% และอาหาร MS ร่วมกับ BA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร และ NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ทำให้ส่วนของลำต้นและใบเลี้ยง พัฒนาเป็นแคลลัส มากกว่ากรรมวิธีอื่น 20% และส่วนของอาหาร MS ร่วมกับ BA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร และ NAA 0.5	วิธีการฟอกชิ้นส่วนพืชที่มีประสิทธิภาพ สามารถช่วยลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ได้ถึง 50% และสูตรอาหารที่เหมาะสม สามารถช่วยชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด

ผลผลิตตามคำรับรอง	จำนวน	หน่วยนับ	ผลผลิตที่เกิดขึ้นจริง	จำนวน	หน่วยนับ	รายละเอียดผลผลิต (พร้อมแนบหลักฐาน)**	เชิงคุณภาพ
						มิลลิกรัม/ลิตร ทำให้ส่วนของรากมีจำนวนรากเพิ่มขึ้นมากกว่ากรรมวิธีอื่น 10%	
2. ต้นแบบผลิตภัณฑ์ (Prototype) ระดับห้องปฏิบัติการ	1	ต้นแบบ	วิธีการที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิด Hairy Root ในตั้งกุ่ม	1	ต้นแบบ	ชิ้นส่วนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตราก คือ ลำต้นโดยฟอกด้วยคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (หรือ 2 กรัม/ลิตร) นาน 30 นาที + คลอโรกซ์ 20% นาน 10 นาที + คลอโรกซ์ 10% นาน 15 นาที เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับ Kinetin 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร และ NAA 0.02 มิลลิกรัม/ลิตร จะให้เปอร์เซ็นต์การเกิดรากมากที่สุด	ชิ้นส่วนพืชและวิธีการฟอกที่เหมาะสมช่วยให้ได้ต้นอ่อนของตั้งกุ่มที่มีประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงราก
3. เทคโนโลยี/กระบวนการใหม่ ระดับภาคสนาม	1	กระบวนการใหม่	1. วิธีการเก็บรวบรวมและดูแลรักษาเชื้อพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลกุหลาบ	1	กระบวนการใหม่	1. วิธีการปลูกที่เหมาะสมเพื่อการเตรียมตัวอย่างในการสกัดสารสำคัญ และการเก็บรวบรวม ดูแลรักษาเชื้อพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลกุหลาบ	วิธีการปลูกที่เหมาะสมสำหรับกล้วยไม้สกุลกุหลาบ
4. เทคโนโลยี/กระบวนการใหม่ ระดับภาคสนาม	1	กระบวนการใหม่	2. วิธีการเก็บรวบรวมและดูแลรักษาเชื้อพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลเอื้องเทียน	1	กระบวนการใหม่	2. วิธีการปลูกที่เหมาะสมเพื่อการเตรียมตัวอย่างในการสกัดสารสำคัญ และการเก็บรวบรวม ดูแลรักษาเชื้อพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลเอื้องเทียน	วิธีการปลูกที่เหมาะสมสำหรับกล้วยไม้สกุลเอื้องเทียน

* ใส่ผลผลิตที่ได้ตามคำรับรอง

** หลักฐานเชิงประจักษ์ของผลผลิตให้แสดงรายละเอียดในภาคผนวก และแนบไฟล์ เรียงตามลำดับผลผลิต

3.3 ผลลัพธ์ที่เกิดขึ้นจริง (Outcome) (ถ้ามี)

ผลลัพธ์ที่เกิดขึ้นจริง	ปีที่เกิดผลลัพธ์
วิธีการที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิด Hairy Root ในโนสม และตั้งกุ่ม ทำให้สามารถดำเนินการต่อไปยังกิจกรรมที่ต่อเนื่องในขั้นตอนต่อไปได้	2565
ข้อมูลพื้นฐานของกล้วยไม้สกุลกุหลาบ และสกุลเอื้องเทียน สกุลละ 4 ชนิดที่ทำการศึกษา ที่พร้อมสำหรับการดำเนินงานในขั้นตอนต่อไป	2565

*ผลลัพธ์ : ผลสำเร็จที่เกิดจากการนำผลผลิต (Output) ไปต่อยอด การเปลี่ยนรูปของผลผลิตไปสู่รูปแบบที่ใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวาง หรือการเคลื่อนผลผลิตไปสู่กิจกรรมที่ต่อเนื่อง ซึ่งก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลง (Change) ที่ปรากฏชัด และมีคุณค่าทางเศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อม

3.4 ผลกระทบที่เกิดขึ้นจริง (Impact) (ถ้ามี)

ผลกระทบที่เกิดขึ้นจริง	ปีที่เกิดผลกระทบ
ด้านเศรษฐกิจ :	
ด้านสังคม :	
ด้านสิ่งแวดล้อม :	

* ผลกระทบ : ผลประโยชน์ที่เกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลงตามผลลัพธ์ (Results of the change) ซึ่งวัดได้อย่างชัดเจนและมีหลักฐานปรากฏชัด (Evidence-based) ทางด้านเศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อม ทั้งที่วัดในเชิงปริมาณได้และไม่ได้ ผลกระทบอาจเป็นได้ทั้งทางบวกและทางลบ

3.5 การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

วิธีการ/กระบวนการผลักดันงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ (โปรดแนบหลักฐานเชิงประจักษ์การนำผลงานไปใช้ประโยชน์ โดยชี้แจงรายละเอียดไว้ในภาคผนวก และแนบไฟล์หลักฐาน)

.....

 ด้านนโยบาย โดยใคร.....(ระบุใครเป็นผู้นำไปใช้).....
 อย่างไร..... (ระบุผลที่เกิดจากการนำไปใช้ประโยชน์ก่อให้เกิดผลอย่างไร).....
 ด้านสังคม โดยใคร.....(ระบุใครเป็นผู้นำไปใช้).....
 อย่างไร (ระบุผลที่เกิดจากการนำไปใช้ประโยชน์ก่อให้เกิดผลอย่างไร).....
 ด้านเศรษฐกิจ โดยใคร.....(ระบุใครเป็นผู้นำไปใช้).....
 อย่างไร..... (ระบุผลที่เกิดจากการนำไปใช้ประโยชน์ก่อให้เกิดผลอย่างไร).....
 ด้านวิชาการ โดยใคร.....(ระบุใครเป็นผู้นำไปใช้).....
 อย่างไร..... (ระบุผลที่เกิดจากการนำไปใช้ประโยชน์ก่อให้เกิดผลอย่างไร).....

* คำจำกัดความการนำไปใช้ประโยชน์ในแต่ละด้าน

- 1. ด้านนโยบายและสาธารณะ** การนำความรู้จากงานวิจัยไปใช้ในกระบวนการกำหนดนโยบาย อาจเป็นนโยบายระดับประเทศ ระดับภูมิภาค ระดับจังหวัด ระดับท้องถิ่นการใช้ประโยชน์ด้านนโยบายจะรวมทั้งการนำองค์ความรู้ไปสังเคราะห์เป็นนโยบายหรือทางเลือกเชิงนโยบาย (Policy options) แล้วนำนโยบายนั้นไปสู่ผู้ใช้ประโยชน์ในวงกว้างเพื่อประโยชน์ของสังคม และประชาชนทั่วไป เพื่อเพิ่มคุณภาพชีวิตของประชาชน สร้างสังคมคุณภาพ และส่งเสริมคุณภาพสิ่งแวดล้อม
- 2. ด้านพาณิชย์/เศรษฐกิจ** เป็นผลงานวิจัยที่เน้นสร้างนวัตกรรม เทคโนโลยี ผลิตภัณฑ์ใหม่ หรือการพัฒนาจากสิ่งที่มีอยู่เดิม โดยเป็นการนำไปใช้ประโยชน์ในการผลิตเชิงพาณิชย์หรือลดการนำเข้าเทคโนโลยีจากต่างประเทศ หรือนำไปสู่การพัฒนาในรูปแบบธุรกิจใหม่ โดยมีเป้าหมายเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม เพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการผลิตและบริการ
- 3. ด้านสังคมและชุมชน** การนำกระบวนการ วิธีการ องค์ความรู้ การเปลี่ยนแปลงการเสริมพลัง อันเป็นผลกระทบ ที่เกิดจากการวิจัยและพัฒนาชุมชน ท้องถิ่นพื้นที่ ไปใช้ให้เกิดประโยชน์การขยายผลต่อชุมชน ท้องถิ่น หรือรวมถึงสังคมอื่น
- 4. ด้านวิชาการ** เป็นผลงานตีพิมพ์ทางวิชาการ การนำองค์ความรู้จากผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในรูปแบบต่าง ๆ เช่น ผลงานตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติ ระดับชาติหนังสือ ตำรา บทเรียน ไปเป็นประโยชน์ด้านวิชาการ การเรียนรู้ การเรียนการสอนในวงนัวิชาการและผู้สนใจด้านวิชาการ รวมถึงการนำผลงานวิจัยไปวิจัยต่อยอดสื่อสารสาธารณะ การเผยแพร่ความรู้จากผลงานวิจัยที่ได้ต่อสาธารณะ ผ่านทางหนังสือพิมพ์ / วารสาร / โทรศัพท์ / วิทยุ / คู่มือ / แผ่นพับ การฝึกอบรม และสื่อสังคมออนไลน์ต่าง ๆ เป็นต้น

บทที่ 4 สรุปผลและอภิปรายผล

โครงการวิจัยย่อยที่ 1 วิจัยพัฒนาการผลิตโสม และตั้งกุย โดยวิธีเพาะเลี้ยงรากลอย

การพอกฆ่าเชื้อโสมด้วย คลอรีน 20% นาน 30 นาที ตามด้วย คลอรีน 10% นาน 20 นาที มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์น้อยที่สุด และอาหาร MS ร่วมกับ BA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร และ NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ทำให้ส่วนของรากมีจำนวนรากเพิ่มขึ้นมากกว่ากรรมวิธีอื่น 10% และขึ้นส่วนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตรากตั้งกุย คือ ลำต้น โดยพอกด้วยคอปเปอร์ ไฮดรอกไซด์ อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (หรือ 2 กรัม/ลิตร) นาน 30 นาที + คลอรีน 20% นาน 10 นาที + คลอรีน 10% นาน 15 นาที เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับ Kinetin 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร และ NAA 0.02 มิลลิกรัม/ลิตร เกิดการปนเปื้อนน้อย และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากมากที่สุด

โครงการวิจัยย่อยที่ 2 การวิจัยเทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้ที่มีคุณสมบัติทางเภสัชกรรม

จากขยายพันธุ์ต้นอ่อนกล้วยไม้หวายตะมอยและเหียงจันทบูรในสภาพปลอดเชื้อ เลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS และ MS ที่เติม jasmonic acid และ yeast extract ความเข้มข้นต่างๆ กัน เป็นเวลา 120 วัน พบว่าหลังจาก 120 วัน พบอัตราการรอดชีวิตของต้นอ่อนกล้วยไม้หวายตะมอยและหวายเหียงจันทบูรในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม yeast extract กรัม/ลิตร สูงที่สุด คือ 97.67 และ 99.54% ตามลำดับ และอัตราการรอดชีวิตของต้นอ่อนกล้วยไม้หวายตะมอยและหวายเหียงจันทบูรในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม jasmonic acid ความเข้มข้น 150 ไมโครโมลาร์ ต่ำที่สุด คือ 57.14 และ 70.00% ตามลำดับ

กล้วยไม้หวายตะมอยและเหียงจันทบูรที่เลี้ยงด้วยอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัม/ลิตร วิเคราะห์องค์ประกอบและปริมาณสารสำคัญ Gigantol, Crepidatin, Moscatirin, Eridictyol, Homoeridictyol และ Chrysotoxine โดยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ทำ system suitability test โดยการฉีดสารละลายผสมสารมาตรฐานของ (2S)-eriodictyol, (2S)-homoeriodictyol, moscatilin, gigantol, chrysotoxine และ crepidatin พบว่าค่า %CV ของ peak area และ retention time ของสารแต่ละชนิดต่ำกว่า 3%

การรวบรวม (*Aerides* Lour.) และกล้วยไม้สกุลเอื้องเทียน (*Coelogyne* Lindl.) สามารถรวบรวมต้นพันธุ์กล้วยไม้ทั้ง 2 สกุลได้สกุลละ 4 ชนิดปลูกเลี้ยงในสภาพโรงเรือนชนิดละ 50 ต้น มีข้อมูลทั่วไปและข้อมูลการเข้าทำลายของโรคและแมลงศัตรูในรอบ 12 เดือน เพื่อจัดทำเป็นฐานข้อมูลกล้วยไม้สมุนไพรและได้ตัวอย่างแห้งสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญกล้วยไม้สกุลกุหลาบชนิดละไม่น้อยกว่า 50 กรัม ตัวอย่างแห้งกล้วยไม้สกุลเอื้องเทียนชนิดละไม่น้อยกว่า 100 กรัม

ปัญหาและอุปสรรคในการทำงาน

1. ตัวอย่างโสมเกิดการเน่าเสียระหว่างขนส่ง
2. เมล็ดของโสมมีการปนเปื้อนของเชื้อรา และเมื่อนำมาตรวจเช็คความมีชีวิตของเมล็ด พบว่า มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตต่ำมาก
3. ต้นกล้วยไม้สกุลกุหลาบ และสกุลเอื้องเทียน มีการหยุดการเจริญเติบโตเล็กน้อย จากสภาพอากาศที่ร้อนจัด และแห้งแล้ง ทำให้ต้องมีการให้น้ำเพิ่ม จึงมีการตายเกิดขึ้นกับต้นที่มีสภาพไม่แข็งแรง

เอกสารอ้างอิง

กรมประมง . ม.ม.ป. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อรากดำยาว แหล่งที่มา

https://www.fisheries.go.th/aquaorna/web2/images/download/book_download/papermicrosorium3.pdf

คณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ. 2555. บัญชียาหลักแห่งชาติ (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2555 ประกาศ ณ วันที่ 21 สิงหาคม พ.ศ. 2555. แหล่งที่มา : <https://kpo.go.th/webkpo/tool/Thaimed2555.pdf>.

ฐานข้อมูลเครื่องยาสมุนไพร. ม.ม.ป. โภชเภสัช. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

แหล่งที่มา : <http://www.thaicrudedrug.com/main.php?action=viewpage&pid=30>

ไทยรัฐออนไลน์. 2562. 7 ประโยชน์สมุนไพร "โสมตังกุย" โสมสำหรับสตรี แก้อาการ "ผู้หญิง" มีรอบเดือน. ฉบับวันที่ 5 เมษายน 2562. แหล่งที่มา :

<https://www.thairath.co.th/women/beauty/health/1531858>

ธัญญา เตชศรีสัตตพิทักษ์ เถอมมาลย์ วงศ์ชาวจันทน์ บัณฑิตา เพ็ญสุริยะ และนุชรรัฐ บาลลา. 2559. ขึ้นส่วนที่เหมาะสมของต้นลินเดอเนียร์เตตราพลอยด์ที่ขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ. Thai Journal of Science and Technology ปีที่ 5 ฉบับที่ 3 • กันยายน - ธันวาคม 2559. หน้า 227-232.

พิพัฒน์ จินันทุยา, ศศิวิมล จันทรสุเทพ, พรศิริ เลี้ยงสกุล, สนธิชัย จันทรเปรม และเสริมศิริ จันทรเปรม. 2561. ผลของลักษณะทางสัณฐานของ hairy root เริ่มต้น อัตราการให้อากาศ และระยะเวลาการกวนอาหารต่อการเพาะเลี้ยง hairy root เจตมูลเพลิงแดงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ แบบ stirred tank. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 2561 : 36 (3) : 50-60.

วรวิมล เจริญศิริ. 2563. โสม. ศูนย์ข้อมูลสุขภาพกรุงเทพ ในเครือ บริษัท กรุงเทพดุสิตเวชการ จำกัด (มหาชน)

แหล่งที่มา: <https://www.bangkokhealth.com/โสม/>

เสริมศิริ จันทรเปรม. 2552. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ hairy root ของเจตมูลเพลิงแดง (*Plumbago indica* L.) เพื่อผลิตสารทุติยภูมิ. กรุงเทพมหานคร : สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

Anuradha V. and N. S. Prakasa Rao. 1998. Aeridin: A Phenanthropyran from *Aerides crispum*. Phytochemistry. 1998; 48(1): 185 – 186.

Cakova V., A. Urbain, C. Antheaume, N. Rimlinger, P. Wehrung, F. Bonté and A. Lobstein. 2014. Identification of Phenanthrene Derivatives in *Aerides rosea* (Orchidaceae) Using the Combined System HPLC-EI-HRMS/MS and HPLC-DAD-MS-SPE-UV-NMR. Phytochem. Anal. 2015; 26: 34 – 39.

Chun-Xiang Fu, Yan-jun Xu, De-Xiu Zhao and Feng Shan Ma. 2006. A comparison between hairy root cultures and wild plants of *Saussurea involucreta* in phenylpropanoids production.

Fu CX, Xu YJ, Zhao DX and Ma FS. 2006. A comparison between hairy root cultures and wild plants of *Saussurea involucreta* in phenylpropanoids production. Plant Cell Rep. 2006; 24(12): 750-754. doi:10.1007/s00299-005-0049-6

Jian Wen Wang and Jian Yong Wu. 2013. Effective Elicitors and Process Strategies for Enhancement of Secondary Metabolite Production in Hairy Root Cultures. Biotechnology of Hairy Root Systems.

Noemi G.V., S.T. Häkkinen, C. Lemasson, M. Guillet, K.M. O.Caldentey, A. Ritala and F. Cardon. 2020. Hairy Root Cultures—A Versatile Tool With Multiple Applications.

ภาคผนวก 1

ภาคผนวกที่ 1-1 เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของต้นโสมเมื่อพอกฆ่าเชื้อด้วยกรรมวิธีต่างๆกัน

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน (%)
1. คลอรีน 20 % นาน 20 นาที ตามด้วย คลอรีน 10% นาน 20 นาที	20
2. คลอรีน 20 % นาน 30 นาที ตามด้วย คลอรีน 10% นาน 20 นาที	50
3. คลอรีน 25 % นาน 20 นาที ตามด้วย คลอรีน 10% นาน 20 นาที	8
4. คลอรีน 25 % นาน 30 นาที ตามด้วย คลอรีน 10% นาน 20 นาที	5

ภาคผนวกที่ 1-2 การเจริญเติบโตของต้นโสม เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างกัน

กรรมวิธี	ข้อมูลการเจริญเติบโต	
	การพัฒนาเป็นแคลลัส (%)	จำนวนราก
1. MS + BA 0 มิลลิกรัม/ลิตร + NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร	5	5
2. MS + BA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร + NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร	35	15
3. MS + BA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร + NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร	55	35
4. MS + BA 1.5 มิลลิกรัม/ลิตร + NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร	0	0
5. MS + BA 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร + NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร	0	0

ภาคผนวกที่ 1-3 เปอร์เซ็นต์การรอดตายของตังกุยเมื่อพอกฆ่าเชื้อด้วยกรรมวิธีต่างๆกัน

ชิ้นส่วนของพืช	กรรมวิธี	การปนเปื้อน (%)	อายุ 1 เดือน	
			การรอดตาย (%)	การเกิดราก (%)
เมล็ด	1. คลอรีน 20% นาน 10 นาที + คลอรีน 10% นาน 15 นาที	95	0	0
	2. แคปแทน อัตรา 5 กรัม/น้ำ 100 มิลลิลิตร เขย่า 15 นาที + คลอรีน 20% นาน 10 นาที + คลอรีน 10% นาน 15 นาที	95	0	0
	3. คลอรีน 10% นาน 20 นาที + ผ่านความร้อน	100	0	0
	4. mercuric 0.1% นาน 10 นาที	95	0	0
ช่อดอก	1. คลอรีน 10% นาน 10 นาที	5	85	0
ใบ	1. คลอรีน 20% นาน 10 นาที + คลอรีน 10% นาน 15 นาที	100	-	-
	2. mercuric 0.04% นาน 30 นาที	95	0	0
ลำต้น	1. คลอรีน 20% นาน 10 นาที + คลอรีน 10% นาน 15 นาที	95	10	0
	2. แคปแทน อัตรา 5 กรัม/น้ำ 100 มิลลิลิตร เขย่า 15 นาที + คลอรีน 20% นาน 10 นาที + คลอรีน 10% นาน 15 นาที	75	15	0
	3. เมอคิวริกคลอไรด์ 0.1% นาน 10 นาที	85	5	0
	4. เมอคิวริกคลอไรด์ 0.04% นาน 30 นาที	95	20	0
	5. คอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร นาน 30 นาที + คลอรีน 20% นาน 10 นาที + คลอรีน 10% นาน 15 นาที	15	70	50
	6. คอปเปอร์ ไฮดรอกไซด์ อัตรา 0.75 กรัม/ลิตร นาน 2 ชม. + คลอรีน 20% นาน 10 นาที + คลอรีน 10% นาน 15 นาที	90	15	25
	7. PPM (Plant Preservative Mixture) 5% นาน 30 นาที	20	80	40
	8. PPM (Plant Preservative Mixture) 2% นาน 60 นาที	80	30	0

ชิ้นส่วนของพืช	กรรมวิธี	การปนเปื้อน (%)	อายุ 1 เดือน	
			การรอดตาย (%)	การเกิดราก (%)
ตาข้าง	1. คลอโรกซ์ 20 % นาน 10 นาที + คลอโรกซ์ 10% นาน 15 นาที	100	-	-
	2. แคมแพน อัตรา 5 กรัม/น้ำ 100 มิลลิลิตร เขย่า 15 นาที + คลอโรกซ์ 20% นาน 10 นาที + คลอโรกซ์ 10% นาน 15 นาที	100	-	-
	3. เมอคิวริกคลอไรด์ 0.1% นาน 10 นาที	100	-	-
	4. เมอคิวริกคลอไรด์ 0.04% นาน 30 นาที	100	-	-
	5. คอปเปอร์ ไฮดรอกไซด์ อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (หรือ 2 กรัม/ลิตร) นาน 30 นาที + คลอโรกซ์ 20% นาน 10 นาที + คลอโรกซ์ 10% นาน 15 นาที	75	20	50
	6. คอปเปอร์ ไฮดรอกไซด์ อัตรา 0.75 กรัม/ลิตร นาน 2 ชม. + คลอโรกซ์ 20% นาน 10 นาที + คลอโรกซ์ 10% นาน 15 นาที	90	10	50
	7. PPM (Plant Preservative Mixture) 5% นาน 30 นาที	70	20	80
	8. PPM (Plant Preservative Mixture) 2% นาน 60 นาที	95	15	0

ภาคผนวกที่ 1-4 การเจริญเติบโตของต้นตั้งกึ่ง เมื่อนำชิ้นส่วนของลำต้นมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างกัน

กรรมวิธี	ข้อมูลการเจริญเติบโต เมื่ออายุ 2 สัปดาห์		
	การพัฒนาเป็นแคลลัส (%)	จำนวนราก	ความยาวราก (เซนติเมตร)
1. MS + Kinetin 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร + NAA 0.02 มิลลิกรัม/ลิตร	90	5	1.5
2. MS	5	0	0
3. MS + BA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร + NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร	5	0	0
4. MS + BA 2 มิลลิกรัม/ลิตร + NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร	50	1	0.5

ภาคผนวกที่ 1-5 น้ำหนักของกล้วยไม้หวายตะมอยและเหียงจันทบูรที่เลี้ยงด้วยอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัม/ลิตร ในขั้นตอนต่างๆ

พันธุ์	จำนวนหน่ออ่อนกล้วยไม้ต่อกรรมวิธี	น้ำหนักสด (กรัม)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	น้ำหนักหลังดูดความชื้น(กรัม)	น้ำหนักหลังบด (กรัม)
หวายตะมอย	38 หน่อ	94.03	7.48	7.44	7.15
เหียงจันทบูร	35 หน่อ	123.49	9.12	9.10	8.9

ภาคผนวกที่ 1-6 อัตราส่วนน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งของตัวอย่างจากกล้วยไม้สกุลกุหลาบแต่ละชนิดแตกต่างกัน

ชนิด	น้ำหนักสด (กรัม)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)
กุหลาบเหลืองโคราช	8.05	1
กุหลาบกระบี่	6.41	1
กุหลาบกระเป่า	4.83	1
กุหลาบแม่เมย	5.26	1

ภาคผนวกที่ 1-7 อัตราส่วนน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งของตัวอย่างจากกล้วยไม้สกุลเอื้องเทียนแต่ละชนิดแตกต่างกัน

ชนิด	น้ำหนักสด (กรัม)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)
เอื้องเทียนแอสเพอรัด้า	7.19	1
เอื้องเทียนใบบาง	8.46	1
เอื้องเทียนสายเสริฐ	8.45	1
เอื้องเทียนใบหมาก	7.18	1

ภาคผนวกที่ 1-8 แสดงข้อมูลทั่วไป และการเข้าทำลายของโรคและแมลงของกล้วยไม้สกุลกุหลาบทั้ง 4 ชนิด ในโรงเรือนปลูกเลี้ยง

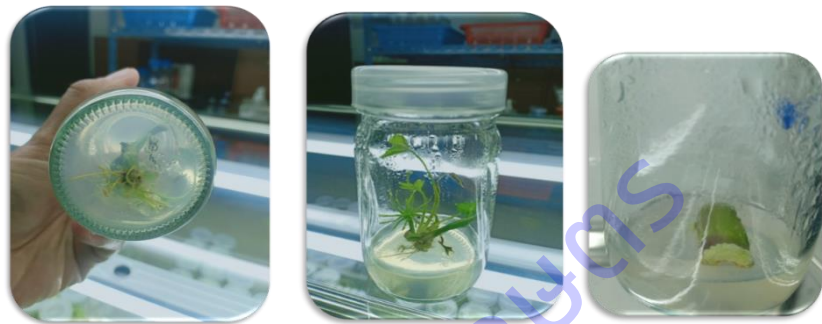
ชนิด	ลักษณะทั่วไป	การเข้าทำลายของโรคแมลง
กุหลาบเหลืองโคราช (<i>A. houlettiana</i> Rchb.f.)	เจริญเติบโตแบบยอดเดี่ยว (monopodial) ใบออก สลับซ้ายขวาของลำต้น ขนาดกว้าง 2.5–4 เซนติเมตร ยาว 8–12 เซนติเมตร ช่อดอกออกจากตาข้างของลำ ต้นที่ตำแหน่งซอกกาบใบ ช่อดอกแบบรวงข้าว (raceme) ดอกออกเวียนสลับ (alternate) มี 8–25 ดอก ขนาด 2.5–3.5 เซนติเมตร พื้นดอกสีเหลือง มี แต้มสีชมพูที่บริเวณปลายกลีบ กลิ่นหอมเหมือน ตะไคร้	ช่วงเดือน เมษายนมีการระบาดของโรคเน่า (blackrot) ก่อนใช้สารใช้ชีวภัณฑ์ ไตรโคเดอร์มา สลับกับ บาซิลลัสซับทีลิส ฉีดเป็นประจำทุก สัปดาห์ และมีการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อรา อะซอกซิสโตรบิน ฉีดพ่นในช่วงฤดูฝน จึงไม่พบ การระบาดของโรคจากเชื้อราอีก ไม่มีการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช มีการ เข้าทำลายของหนอนกัดกินใบ และหนอนเจาะลำ ต้นบางส่วน ใช้วิธีกลในการป้องกันกำจัด
กุหลาบกระปี่ (<i>A. krabiensis</i> Seidenf.)	เจริญเติบโตแบบยอดเดี่ยว (monopodial) ใบออก สลับซ้ายขวาของลำต้น ขนาดกว้าง 0.8–1 เซนติเมตร ยาว 6–18 เซนติเมตร ช่อดอกออกจากตาข้างลำต้นที่ ตำแหน่งซอกกาบใบ ช่อดอกแบบรวงข้าว (raceme) ตั้งขึ้นก่อนโค้งลงดอกออกเวียนสลับ (alternate) มี 8–20 ดอก ขนาด 1.5–2 เซนติเมตร พื้นดอกสีขาวถึง ชมพู มีจุดสีชมพูกระจายทั่วกลีบดอก กลิ่นหอมหวาน	มีการใช้การใช้ชีวภัณฑ์ ไตรโคเดอร์มา สลับกับ บาซิลลัสซับทีลิส ฉีดเป็นประจำทุกสัปดาห์ และมี การใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อรา อะซอกซิสโตรบิน ฉีดพ่นในช่วงฤดูฝน จึงไม่พบการระบาดของโรค จากเชื้อรา ไม่มีการเข้าทำลายของหนอนแมลง
กุหลาบกระเป่าปิด (<i>A. odorata</i> Lour.)	เจริญเติบโตแบบยอดเดี่ยว (monopodial) ใบออกสลับ ซ้ายขวาของลำต้น ขนาดกว้าง 1.5–2.5 เซนติเมตร ยาว 10–20 เซนติเมตร ช่อดอกออกจากตาข้างของลำต้นที่ ตำแหน่งซอกกาบใบ ช่อดอกแบบรวงข้าว (raceme) ดอกออกเวียนสลับ (alternate) มี 8–20 ดอก ขนาด 2–3 เซนติเมตร พื้นดอกสีขาว มีแต้มสีชมพูที่บริเวณ ปลายกลีบ กลิ่นหอมหวาน	มีการใช้การใช้ชีวภัณฑ์ ไตรโคเดอร์มา สลับกับ บาซิลลัสซับทีลิส ฉีดเป็นประจำทุกสัปดาห์ และมีการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อรา อะซอกซิสโตรบิน ฉีดพ่นในช่วงฤดูฝน จึงไม่พบ การระบาดของโรคจากเชื้อรา ไม่มีการเข้าทำลายของหนอนแมลง
กุหลาบแม่เมย (<i>A. rosea</i> Lodd. ex Lindl. & Paxton (1850))	เจริญเติบโตแบบยอดเดี่ยว (monopodial) ใบออกสลับ ซ้ายขวาของลำต้น ขนาดกว้าง 2–3 เซนติเมตร ยาว 15–30 เซนติเมตร ช่อดอกออกจากตาข้างของลำต้นที่ ตำแหน่งซอกของกาบใบ ช่อดอกเป็นช่อแบบรวงข้าว (raceme) ดอกออกเวียนสลับ (alternate) มี 30–80 ดอก ขนาด 1.5–2 เซนติเมตร พื้นดอกสีขาว จุดสีชมพู กระจายทั่วดอก กลิ่นหอมหวาน	ช่วงเดือนมีนาคม – เมษายน เกิดโรคยอดเน่า ในบางต้น จึงมีการใช้การใช้ชีวภัณฑ์ ไตรโค เดอร์มา สลับกับ บาซิลลัสซับทีลิส ฉีดเป็น ประจำทุกสัปดาห์ และมีการใช้สารป้องกัน กำจัดเชื้อรา อะซอกซิสโตรบิน ฉีดพ่นในช่วงฤดู ฝน จึงไม่พบการระบาดของโรคจากเชื้อราอีก ไม่มีการเข้าทำลายของหนอนแมลง

ภาคผนวกที่ 1-9 แสดงข้อมูลทั่วไป และการเข้าทำลายของโรคและแมลงของเอื้องเทียนทั้ง 4 ชนิด ในโรงเรือนปลูกเลี้ยง

ชนิด	ลักษณะทั่วไป	การเข้าทำลายของโรคแมลง
เอื้องเทียนแอสเพอราต้า (<i>C. asperata</i> Lindl.)	การเจริญเติบโตแบบฐานร่วม (sympodial) ลำต้นเทียมหรือลำลูกกล้วย (pseudobulb) รูประฆังคว่ำ (conical) ขนาดสูง 5-10 เซนติเมตร กว้าง 2.5-6 เซนติเมตร มีใบที่ปลายยอดของลำต้นเทียมรูปใบหอกกลับ (oblanceolate) 2 ใบ ขนาดกว้าง 8-15 เซนติเมตร ยาว 30-70 เซนติเมตร ดอกออกจากตาบริเวณโคนต้น ก่อนแตกหน่อ ช่อดอกแบบรวงข้าว (raceme) ดอกขนาด 5-6 เซนติเมตร 15-40 ดอก ออกเรียงขนาน 2 ด้านของช่อดอก สีขาวครีม แผ่นปากสีเหลืองอมน้ำตาลส้มขอบขาว มีกลิ่นหอม	มีการใช้การใช้ชีวภัณฑ์ ไตรโคเดอร์มา สลับกับบาซิลลัสซับทิลิส ฉีดเป็นประจำทุกสัปดาห์ และมีการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อรา อะซอกซีสโตรบิน ฉีดพ่นในช่วงฤดูฝน จึงไม่พบการระบาดของโรคจากเชื้อรา ไม่มีการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช มีการเข้าทำลายของหนอนกัดกินใบ และหนอนเจาะลำต้นบางส่วน ใช้วิธีการในการป้องกันกำจัด
เอื้องเทียนใบบาง (<i>C. fimbriata</i> Lindl.)	การเจริญเติบโตแบบฐานร่วม (sympodial) ลำต้นเทียมหรือลำลูกกล้วย (pseudobulb) รูปรีถึงรูปไข่กลับ (ovoid to ellipsoid) ขนาดสูง 2-6 เซนติเมตร กว้าง 0.5-1 เซนติเมตร มีใบที่ปลายยอดของลำต้นเทียมรูปรีขอบขนานปลายแหลม (oblong-elliptic) 2 ใบ ขนาดกว้าง 1-1.5 เซนติเมตร ยาว 5-10 เซนติเมตร ดอกออกจากตาบริเวณยอดของลำลูกกล้วย ช่อดอกแบบรวงข้าว (raceme) ดอกขนาด 2-3 เซนติเมตร ดอกบานทีละดอก ได้ 1-4 ดอก/ช่อ สีขาวครีม แผ่นปากสีขาวน้ำตาล ขอบเป็นครุย มีกลิ่นหอมฉุน	มีการใช้การใช้ชีวภัณฑ์ ไตรโคเดอร์มา สลับกับบาซิลลัสซับทิลิส ฉีดเป็นประจำทุกสัปดาห์ และมีการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อรา ชนิด อะซอกซีสโตรบิน ฉีดพ่นในช่วงฤดูฝน จึงไม่พบการระบาดของโรคจากเชื้อรา ไม่มีการเข้าทำลายของหนอนแมลง
เอื้องเทียนสายเสริฐ (<i>C. rochussenii</i> de Vriese (1854).)	การเจริญเติบโตแบบฐานร่วม (sympodial) ลำต้นเทียมหรือลำลูกกล้วย (pseudobulb) รูปทรงกระบอกปลายสอบ (cylindric) ขนาดสูง 10-20 เซนติเมตร กว้าง 2-4 เซนติเมตร มีใบที่ปลายยอดของลำต้นเทียมรูปใบหอกกลับ (oblanceolate) 2 ใบ ขนาดกว้าง 8-12 เซนติเมตร ยาว 15-25 เซนติเมตร ดอกออกจากตาบริเวณโคนต้น ก่อนแตกหน่อ ช่อดอกแบบรวงข้าว (raceme) ห้อยดอกขนาด 3-5 เซนติเมตร 35-80 ดอก ออกเรียงเวียนรอบช่อดอก สีขาวครีม แผ่นปากสีขาวแซมเหลืองน้ำตาลขอบขาว มีกลิ่นหอมหวานอมเปรี้ยว	มีการใช้การใช้ชีวภัณฑ์ ไตรโคเดอร์มา สลับกับบาซิลลัสซับทิลิส ฉีดเป็นประจำทุกสัปดาห์ และมีการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อรา อะซอกซีสโตรบิน ฉีดพ่นในช่วงฤดูฝน จึงไม่พบการระบาดของโรคจากเชื้อรา ไม่มีการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช มีการทำลายของหนอนกัดกินใบ และหนอนเจาะลำต้นบางส่วน ใช้วิธีการในการป้องกันกำจัด
เอื้องเทียนใบหมาก (<i>C. trinervis</i> Lindl.)	การเจริญเติบโตแบบฐานร่วม (sympodial) ลำต้นเทียมหรือลำลูกกล้วย (pseudobulb) รูปไข่ (ovoid) สีน้ำตาลสูง 5-8 เซนติเมตร กว้าง 5-7 เซนติเมตร มีใบที่ปลายยอดของลำต้นเทียมรูปใบหอกกลับ (oblanceolate) 2 ใบ ขนาดกว้าง 6-10 เซนติเมตร ยาว 20-50 เซนติเมตร ดอกออกจากตาบริเวณโคนต้น ก่อนแตกหน่อ ช่อดอกตั้งแบบรวงข้าว (raceme) ดอกขนาด 3-5 เซนติเมตร 10-20 ดอก ออกเวียนสลับบนช่อดอก สีขาวครีม แผ่นปากสีขาวแซมเหลืองน้ำตาล มีกลิ่นหอมฉุน	มีการใช้การใช้ชีวภัณฑ์ ไตรโคเดอร์มา สลับกับบาซิลลัสซับทิลิส ฉีดเป็นประจำทุกสัปดาห์ และมีการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราอะซอกซีสโตรบิน ฉีดพ่นในช่วงฤดูฝน จึงไม่พบการระบาดของโรคจากเชื้อรา ไม่มีการเข้าทำลายของหนอนแมลง



ภาพผนวกที่ 1-1 ตัวอย่างตังกุย และการแช่ด้วยสารป้องกันกำจัดโรคพืช



ภาพผนวกที่ 1-2 ลักษณะราก ตัน และแคลลัส

กรมวิชาการเกษตร

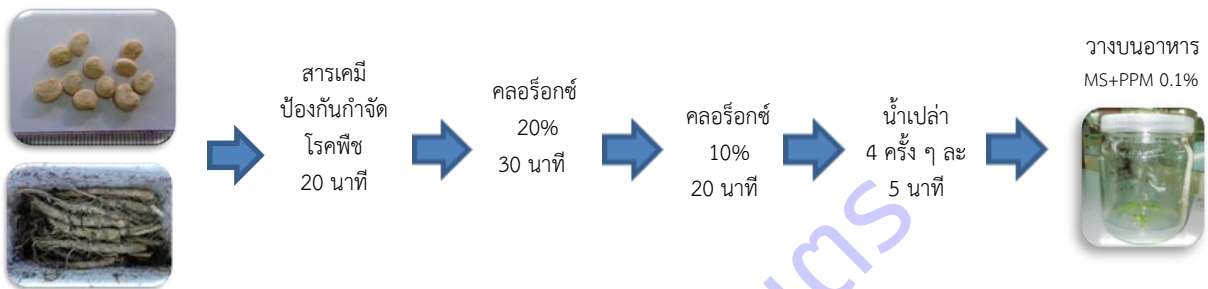
ภาคผนวก 2

ภาคผนวก 2-1 วิธีการฟอก และชิ้นส่วนของพืชที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิด รากในโนสโม

วิธีการฟอก และชิ้นส่วนของพืชที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากในโนสโม

ขั้นตอนการฟอกชิ้นส่วนพืช

นำเมล็ด ราก ลำต้น และใบเลี้ยงโนสโม ทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน็อกซ์ 20% นาน 30 นาที ตามด้วยคลอรีน็อกซ์ 10% นาน 20 นาที แล้วนำมาวาง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MS ที่ผสมด้วย Plant Preservative Mixture (PPM) 0.1% พบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์น้อยที่สุด



ชิ้นส่วนของพืชที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดราก

นำชิ้นส่วนพืชนำมาเลี้ยงบนอาหารอาหาร MS + PPM 0.1% ร่วมกับ BA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร และ NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ทำให้ส่วนของลำต้นและใบเลี้ยง พัฒนาเป็นแคลลัสมากขึ้น 20%

นำชิ้นส่วนพืชนำมาเลี้ยงบนอาหารอาหาร MS + PPM 0.1% ร่วมกับ BA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร และ NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ทำให้ส่วนของรากมีจำนวนรากเพิ่มขึ้นมากกว่ากรรมวิธีอื่น 10%



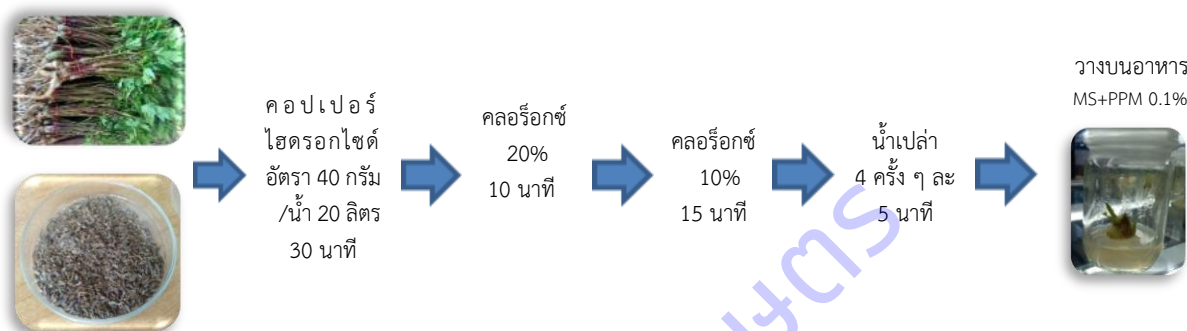
การนำไปใช้ประโยชน์

สามารถนำไปพัฒนา/องค์ความรู้ในการพัฒนาต่อยอด หรือดัดแปลงไปใช้ในการฟอกชิ้นส่วนพืชอื่นๆ ได้

วิธีการที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากของตังกุย

การฟอกชิ้นส่วนพืช

นำชิ้นส่วนพืชตังกุยเช่น เมล็ด ลำต้น ราก ใบเลี้ยง นำมาฟอกด้วยคอปเปอร์ ไฮดรอกไซด์ อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร นาน 30 นาที + คลอรีน 20% นาน 10 นาที + คลอรีน 10% นาน 15 นาที ล้างด้วยน้ำเปล่า 4 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที แล้วนำมาวาง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MS ที่ผสมด้วย Plant Preservative Mixture (PPM) 0.1% พบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์น้อยที่สุด



ชิ้นส่วนพืชตังกุยและสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดราก

ชิ้นส่วนพืชตังกุยที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดรากคือส่วนของลำต้น โดยหลังจากฟอกชิ้นส่วนลำต้นตามวิธีการข้างต้นแล้ว นำชิ้นส่วนลำต้นมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับ Kinetin 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร และ NAA 0.02 มิลลิกรัม/ลิตร จะให้อัตราการเกิดรากมากที่สุด



การนำไปใช้ประโยชน์

นักวิชาการ นักศึกษา ผู้สนใจ สามารถนำไปพัฒนา/องค์ความรู้ในการพัฒนาต่อยอด หรือดัดแปลงไปใช้ในการฟอกชิ้นส่วนพืชอื่นๆ ได้

ภาคผนวก 2-3 วิธีการปลูกที่เหมาะสมเพื่อการเตรียมตัวอย่างในการสกัดสารสำคัญ และการเก็บรวบรวม ดูแลรักษาเชื้อ
พันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลกุหลาบ

วิธีการปลูกต้นกล้วยไม้สกุลกุหลาบที่เหมาะสมเพื่อให้เตรียมตัวอย่างในที่

ขั้นตอนที่ 1 คัดเลือกต้นกล้วยไม้ที่มีจำนวนใบ 5 ใบขึ้นไป เพื่อให้มีความสมบูรณ์ ตัดแต่งรากและใบที่มีส่วนซ้ำ
ออก เพื่อลดการเข้าทำลายของโรค

ขั้นตอนที่ 2 นำต้นกล้วยไม้ที่คัดเลือก และทำการแช่สารป้องกันกำจัดโรคและแมลงนาน 15 นาที แล้วนำขึ้นมา
ผึ่งให้แห้ง เพื่อป้องกันการเข้าทำลายของโรคและแมลง

ขั้นตอนที่ 3 นำต้นกล้วยไม้ที่ไม่เปียกแล้วปลูกในภาชนะที่เตรียมไว้ (กระถางพลาสติกสำหรับปลูกกล้วยไม้ที่มี
ความโปร่ง และไม่ผุพังง่าย (กระถางพลาสติก หรือแผ่นพลาสติก สำหรับปลูกกล้วยไม้) ที่มีขนาด
ใหญ่กว่าต้นกล้วยไม้ เพื่อให้เป็นที่อยู่ของราก

ขั้นตอนที่ 4 แขนงต้นกล้วยไม้ที่ทำการปลูกเรียบร้อยแล้ว ในโรงเรือนที่มีการพรางแสง มีความเข้มแสงมากกว่า
7,500 ลักซ์ ความชื้นสัมพัทธ์ไม่น้อยกว่า 50 %RH อุณหภูมิระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียส

ขั้นตอนที่ 5 ดูแลรดน้ำทุกเช้า ในวันที่ฝนตก ไม่รดน้ำ ฉีดพ่นชีวภัณฑ์ป้องกันโรค แมลงศัตรู เมื่อพบการระบาด
ทุก 3-5 วัน จนกว่าการระบาดจะหยุด

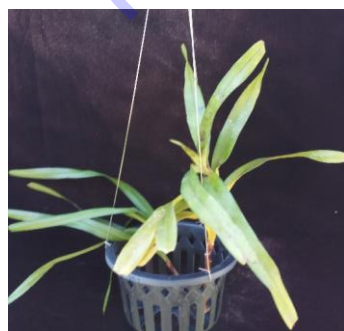
ขั้นตอนที่ 6 ตัดส่วนใบ เมื่อทำการปลูกจนมีอายุ 10 เดือน เพื่อให้ใบมีความแก่ และมีการสร้างสารทุติยภูมิ



กุหลาบเหลืองโคราช (*Aerides houlettiana* Rchb.f.)



กุหลาบกระบี่ (*Aerides krabiensis* Seidenf.)



กุหลาบกระเป่าปัด (*Aerides odorata* Lour.)



กุหลาบแม่เมย (*Aerides rosea* Lodd. ex Lindl. & Paxton (1850))

ภาพแสดงต้นกล้วยไม้ที่ปลูกในภาชนะที่เหมาะสม ในสภาพโรงเรือน

การนำไปใช้ประโยชน์

ใช้เป็นแนวทางในการปลูกเชิงพาณิชย์ให้แก่บุคคลทั่วไปและเกษตรกรผู้ปลูกกล้วยไม้

ภาคผนวก 2-4 วิธีการปลูกที่เหมาะสมเพื่อการเตรียมตัวอย่างในการสกัดสารสำคัญ และการเก็บรวบรวม ดูแลรักษาเชื้อ
พันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลเอื้องเทียน

วิธีการปลูกต้นกล้วยไม้สกุลเอื้องเทียนที่เหมาะสมเพื่อให้เตรียมตัวอย่างแห้งที่ดี

- ขั้นตอนที่ 1 คัดเลือกต้นกล้วยไม้ที่มีจำนวนลำลูกกล้วย 3 ลำขึ้นไป เพื่อให้มีความสมบูรณ์ ตัดแต่งรากและใบที่มีส่วนช้ำออก เพื่อลดการเข้าทำลายของโรค
- ขั้นตอนที่ 2 นำต้นกล้วยไม้ที่คัดเลือก และทำการแช่สารป้องกันกำจัดโรคและแมลงนาน 15 นาที แล้วนำขึ้นมาผึ่งให้แห้ง เพื่อป้องกันการเข้าทำลายของโรคและแมลง
- ขั้นตอนที่ 3 นำต้นกล้วยไม้ที่ไม่เปียกแล้วปลูกในภาชนะที่เตรียมไว้ กระจกพลาสติกสำหรับปลูกกล้วยไม้ที่มีความโปร่ง และไม่ผุพังง่าย (ใช้โฟมเป็นวัสดุปลูกในการศึกษาการเจริญเติบโตเพื่อไม่ให้เกิดการเก็บน้ำมากเกินไปผลกระทบบกกับการบันทึกน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น)
- ขั้นตอนที่ 4 วางต้นกล้วยไม้ที่ทำการปลูกเรียบร้อยแล้ว บนโต๊ะในโรงเรือนที่มีการพรางแสง มีความเข้มแสงมากกว่า 7,500 ลักซ์ ความชื้นสัมพัทธ์ไม่น้อยกว่า 50 %RH อุณหภูมิระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียส
- ขั้นตอนที่ 5 ดูแลรดน้ำทุกเช้า ในวันที่ฝนตก ไม่รดน้ำ ฉีดพ่นชีวภัณฑ์ป้องกันโรค แมลงศัตรู เมื่อพบการระบาดของทุก3-5 วัน จนกว่าการระบาดจะหยุด
- ขั้นตอนที่ 6 ตัดส่วนลำลูกกล้วยหลังสุด 1-2 ลำ เมื่อทำการปลูกจนมีอายุ 10 เดือน เพื่อให้มีความแก่ และมีการสร้างสารทุติยภูมิ



Coelogyne asperata Lindl.



Coelogyne fimbriata Lindl.



Coelogyne rochussenii de Vriese (1854).



Coelogyne trinervis Lindl.

ภาพแสดงต้นกล้วยไม้ที่ปลูกในภาชนะที่เหมาะสม ในสภาพโรงเรือน

การนำไปใช้ประโยชน์

ใช้เป็นแนวทางในการปลูกเชิงพาณิชย์ให้แก่บุคคลทั่วไปและเกษตรกรผู้ปลูกกล้วยไม้

กรมวิชาการเกษตร