ประสิทธิภาพของแสง LEDs ต่อการเจริญเติบโต สารต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของเอื้องใบไผ่ในสภาพปลอดเชื้อ

The Efficiency of LEDs Light on *In Vitro* Growth, Antioxidant Activity and Phenolic Compound Content of *Arundina graminifolia* (D. Don) Hochr.

สุภัคนันท์ บุญญะ[1] ดวงพร บุญชัย[2] เบญญา มะโนชัย[1] และ พัชรียา บุญกอแก้ว[1,*]

Supakkanan Boonya[1], Duangporn Boonchai[2], Benya Manochai[1] and Patchareeya Boonkorkaew[1,*]

[1] ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[2] สวนกล้วยไม้ระพี สาคริก ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1] Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900

[2] Rapee Sagarik Orchid Garden, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900

รับเรื่อง: 14 สิงหาคม 2564 Received: 14 August 2021

ปรับแก้ไข: 16 กันยายน 2564 Revised: 16 September 2021

รับตีพิมพ์: 21 กันยายน 2564 Accepted: 21 September 2021

* Corresponding author: agrpyb@ku.ac.th

ABSTRACT: Bamboo orchid (*Arundina graminifolia* (D. Don) Hochr.) is a terrestrial orchid which has medicinal properties. This plant species growing in nature is widely used as the herbal plant in other countries. Thus, the objective of this study aims to compare the efficiency of different light qualities *in vitro* culture on growth, antioxidant activity, and total phenolic compounds content of bamboo orchid seedlings. Seedlings were cultured on semi-solid modified Vacin and Went medium (VW) supplemented with 10 g L^{-1} sucrose, 150 mL L^{-1} coconut water, 2 g L^{-1} activated charcoal, 100 g L^{-1} mashed banana, and 100 g L^{-1} boiled potato water under different light quality. The experimental design was a completely randomized design (CRD) with 5 treatments that included white, red, blue, and a mixture of red and blue LEDs (1:1) compared with fluorescent light (Control) under 40 µmol $m^{-2}s^{-1}$ in light intensity for 10 weeks. The results exhibited that light quality statistically affected growth, antioxidant activity, and total phenolic content, except plant height, leaf number, leaf length, and root length. White LEDs induced the highest fresh weight and total chlorophyll content (1.30 g and 38.38 mg cm^{-2}, respectively) of bamboo orchid seedlings. Furthermore, white LEDs also promoted and maximized antioxidant activity and total phenolic compound content (EC_{50} 72.17 g_{FW}/L and 1.39 mg_{GAE}/g_{FW}, respectively) while a mixture of red and blue LEDs (1:1) showed the greatest stem diameter and leaf width (0.36 and 0.45 cm, respectively). Therefore, white LEDs provide a guideline for the increase of secondary metabolite compounds of pharmaceuticals from bamboo orchid seedlings.

Keywords: Orchid, light quality, medicinal plant, secondary metabolites

Agricultural Sci. J. (2021) Vol. 52(3): 225–239 ว. วิทย. กษ. (2564) 52(3): 225–239

บทคัดย่อ

เอื้องใบไผ่เป็นกล้วยไม้ดินที่มีสรรพคุณทางยาในต่างประเทศมีการนำต้นที่ขึ้นในธรรมชาติมาใช้เป็นพืชสมุนไพร ดังนั้น การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของคุณภาพแสงในสภาพปลอดเชื้อที่แตกต่างกันต่อการเจริญเติบโต ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของต้นกล้าเอื้องใบไผ่ โดยเลี้ยงต้นกล้าบนอาหารกึ่งแข็งสูตร Vacin and Went ดัดแปลง ร่วมกับการเติมน้ำตาล 10 กรัมต่อลิตร น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร ผงถ่านกัมมันต์ 2 กรัมต่อลิตร กล้วยหอมบด 100 กรัมต่อลิตร และน้ำต้มมันฝรั่ง 100 กรัมต่อลิตร ภายใต้คุณภาพแสงต่างกัน วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ มี 5 ทรีตเมนต์ ได้แก่ แสง LEDs สีขาว สีแดง สีน้ำเงิน และสีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน (1:1) และแสงฟลูออเรสเซนต์ (ชุดควบคุม) ทุกทรีตเมนต์ให้ความเข้มแสง 40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 10 สัปดาห์ ผลการศึกษา พบว่า คุณภาพแสงส่งผลให้การเจริญเติบโต ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของต้นกล้าเอื้องใบไผ่แตกต่างกันทางสถิติ ยกเว้นความสูงต้น จำนวนใบ ความยาวใบ และความยาวราก โดยแสง LEDs สีขาวทำให้ต้นกล้าเอื้องใบไผ่มีน้ำหนักสด และปริมาณคลอโรฟิลล์รวมสูงที่สุด (1.30 กรัม และ 38.38 มิลลิกรัมต่อตารางเซนติเมตร ตามลำดับ) นอกจากนี้ แสง LEDs สีขาวยังช่วยกระตุ้นการสร้างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงที่สุด (EC_{50} 72.17 g_{FW}/L และ 1.39 mg_{GAE}/g_{FW} ตามลำดับ) ในขณะที่แสง LEDs สีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน (1:1) ทำให้ต้นมีเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นและความกว้างใบมากที่สุด (0.36 และ 0.45 เซนติเมตร ตามลำดับ) ดังนั้น แสง LEDs สีขาวจึงเป็นแนวทางในการเพิ่มสารประกอบเมตาโบไลต์ทุติยภูมิของต้นกล้าเอื้องใบไผ่ที่มีประโยชน์ทางเภสัชกรรม

คำสำคัญ: กล้วยไม้, คุณภาพแสง, พืชสมุนไพร, สารทุติยภูมิ

บทนำ

เอื้องใบไผ่ (*Arundina graminifolia* (D. Don) Hochr.) มีชื่อสามัญว่า bamboo orchid อยู่ในวงศ์ Orchidaceae เป็นกล้วยไม้ดินที่มีลักษณะการเจริญเติบโตทางด้านข้าง แตกเป็นกอแน่นคล้ายหญ้า ดอกมีความสวยงาม และสามารถออกดอกได้ตลอดทั้งปี นิยมใช้เป็นไม้กระถางและปลูกตกแต่งภูมิทัศน์ ทั้งนี้ มีรายงานวิจัยในต่างประเทศ เช่น จีน อินเดีย และฝรั่งเศส พบสารออกฤทธิ์ทางเคมีหลากหลายกลุ่มในต้นเอื้องใบไผ่ ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds; เช่น gramniphenols) (Hu *et al*., 2013) สติลบินอยด์ (Stilbenoid; เช่น bibenzyls benzofurans และ benzopyrans) (Hu *et al*., 2013) ฟีแนนทรีน (Phenanthrenes) (Yan *et al*., 2018) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoid; เช่น gramflavoniod) (Hu *et al*., 2013) และสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) (Auberon *et al*., 2016) ซึ่งสามารถนำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์สำหรับการรักษาโรคไวรัสตับอักเสบดีซ่าน อาการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ โรคไขข้ออักเสบ ควบคุมโรคเบาหวาน และเนื้องอก (Debnath *et al*., 2016) ซึ่งโดยทั่วไปเอื้องใบไผ่ขยายพันธุ์ด้วยวิธีแยกกอ แต่เพิ่มจำนวนได้ช้าและใช้เวลาค่อนข้างนาน (Idris and Zain, 2020) ดังนั้น การเพาะเมล็ดและเลี้ยงต้นกล้าในสภาพปลอดเชื้อร่วมกับการใช้แสง light emitting diodes (LEDs) จึงเป็นอีกวิธีหนึ่งที่ช่วยเพิ่มจำนวนต้นให้ได้ปริมาณมากและใช้ระยะเวลาสั้น เนื่องจากสามารถปรับองค์ประกอบสเปกตรัมของแสงให้เหมาะสมต่อความต้องการทางสรีรวิทยาและสัณฐานวิทยาของพืช และช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต อีกทั้งการใช้แสง LEDs สีต่าง ๆ สามารถเพิ่มปริมาณสารทุติยภูมิ (Secondary metabolite) เช่น สารประกอบฟีนอลิก สารต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณคลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ได้อีกด้วย (Loi *et al*., 2021)

Wang *et al*. (2018) รายงานว่า การให้แสง LEDs สีน้ำเงินเพิ่มในช่วงเวลา 18:00 ถึง 02:00 น. กับต้นกล้ากล้วยไม้ *Anoectochilus roxburghii* ทำให้ต้น

กล้ามีจำนวนใบ เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ปริมาณคลอโรฟิลล์ และสารทุติยภูมิ (Total flavonoid และ total polyphenols) สูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับแสง LEDs สีแดง สีเหลือง และสีขาว ส่วน Yeow *et al.* (2020) ศึกษาผลของแสง LEDs สีต่าง ๆ ต่อการสร้างสารทุติยภูมิของโปรโตคอร์มกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวาย (*Dendrobium* Enopi × *Dendrobium* Pink Lady) โดยพบว่าแสง LEDs สีเขียวที่ความเข้มแสงสูง (16.9 ไมโครโมลต่อวินาที) สามารถเพิ่มการสะสมสารประกอบฟีนอลิกได้สูงที่สุด ส่วนแสง LEDs สีน้ำเงินร่วมกับสีแดงช่วยเพิ่มปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ได้สูงที่สุด ขณะที่ การใช้แสง LEDs สีขาว และ far red ช่วยเพิ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด จะเห็นได้ว่ากล้วยไม้แต่ละชนิดตอบสนองต่อแสงสีต่าง ๆ แตกต่างกัน ทั้งในเรื่องการเจริญเติบโตและปริมาณสารสำคัญ อีกทั้งในประเทศไทยยังไม่พบงานวิจัยที่เกี่ยวกับสารสำคัญในเอื้องใบไผ่ ซึ่งเป็นกล้วยไม้ดินที่มีจำนวนมากและพบได้ทั่วไปในทุกภูมิภาคของประเทศ (Rojchana-umpawan, 2016)

ดังนั้น งานทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบคุณภาพแสงจากหลอด LEDs กับแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ต่อการเจริญเติบโตและปริมาณสารออกฤทธิ์ของต้นกล้าเอื้องใบไผ่ในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อเป็นแนวทางในการผลิตกล้วยไม้ที่มีสรรพคุณทางยาให้ได้ต้นปริมาณมาก ย่นระยะเวลาในการผลิต และสามารถควบคุมปริมาณสารออกฤทธิ์ให้ได้ปริมาณที่มีความสม่ำเสมอ ซึ่งจะมีประสิทธิภาพสูงกว่าการปลูกเลี้ยงในแปลงหรือการเก็บจากธรรมชาติที่อาจจะทำให้ได้ต้นและสารออกฤทธิ์ที่มีปริมาณไม่สม่ำเสมอ เนื่องจากปริมาณสารออกฤทธิ์ขึ้นอยู่กับอายุต้นหรือสภาพแวดล้อม นอกจากนี้ การเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นการผลิตที่ได้ต้นสะอาดปราศจากการปนเปื้อนของดินหรือวัสดุปลูก สามารถล้างทำความสะอาดได้ง่าย และปลอดภัยจากสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชอีกด้วย

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมพืชทดลอง

นำฝักเอื้องใบไผ่อายุ 1 เดือน หลังจากการผสมเกสร มาล้างทำความสะอาดด้วยสารลดแรงตึงผิว (Detergent) และน้ำสะอาด จากนั้น ใช้มีดผ่าตัดตัดบริเวณปลายฝักที่มีสิ่งสกปรกติดอยู่ออกให้หมด ฆ่าเชื้อที่ผิวของฝักโดยจุ่มในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ แล้วเผาผ่านเปลวไฟ 2 ครั้ง ฝ่าฝักกล้วยไม้ออกตามแนวยาว แล้วเขี่ยเมล็ดลงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร Vacin and Went (1949) (VW) ดัดแปลง ร่วมกับการเติมน้ำตาล 10 กรัมต่อลิตร น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร ผงถ่านกัมมันต์ 2 กรัมต่อลิตร กล้วยหอมบด 100 กรัมต่อลิตร และน้ำต้มมันฝรั่ง 100 กรัมต่อลิตร วางในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ชนิด cool day light ความเข้มแสง 40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน รอจนเมล็ดงอกและเจริญเป็นต้นกล้า จึงนำไปใช้ในการทดลอง

การศึกษาคุณภาพแสงและการวางแผนการทดลอง

เลือกต้นกล้าอายุ 1 เดือน หลังจากเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ ที่มีขนาดใกล้เคียงกัน โดยเลือกต้นกล้าที่เป็นต้นเดี่ยว มีใบ 1–2 ใบ ความสูงประมาณ 2 เซนติเมตร ย้ายต้นกล้าลงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ดัดแปลง ร่วมกับการเติมน้ำตาล 10 กรัมต่อลิตร น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร ผงถ่านกัมมันต์ 2 กรัมต่อลิตร กล้วยหอมบด 100 กรัมต่อลิตร และน้ำต้มมันฝรั่ง 100 กรัมต่อลิตร วางบนชั้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อภายใต้แสง LEDs สีต่าง ๆ (Figure 1) ได้แก่ สีขาว (400–780 นาโนเมตร) สีแดง (580–780 นาโนเมตร) สีน้ำเงิน (420–530 นาโนเมตร) สีน้ำเงินร่วมกับสีแดง (1:1) (สีน้ำเงิน 420–530 นาโนเมตร และสีแดง 570–670 นาโนเมตร) และแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ (ชุดควบคุม; 400–780 นาโนเมตร) ทุกทรีตเมนต์มีความเข้มแสง 40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ได้รับแสงเป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน ควบคุมอุณหภูมิที่

25 ± 2 องศาเซลเซียส ณ สวนกล้วยไม้ระพี สาคริก คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design; CRD) มี 5 ทรีตเมนต์ ทรีตเมนต์ละ 5 ซ้ำ ซ้ำละ 20 ต้นต่อขวด หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ สังเกตการเปลี่ยนแปลง และบันทึกผลการเจริญเติบโต

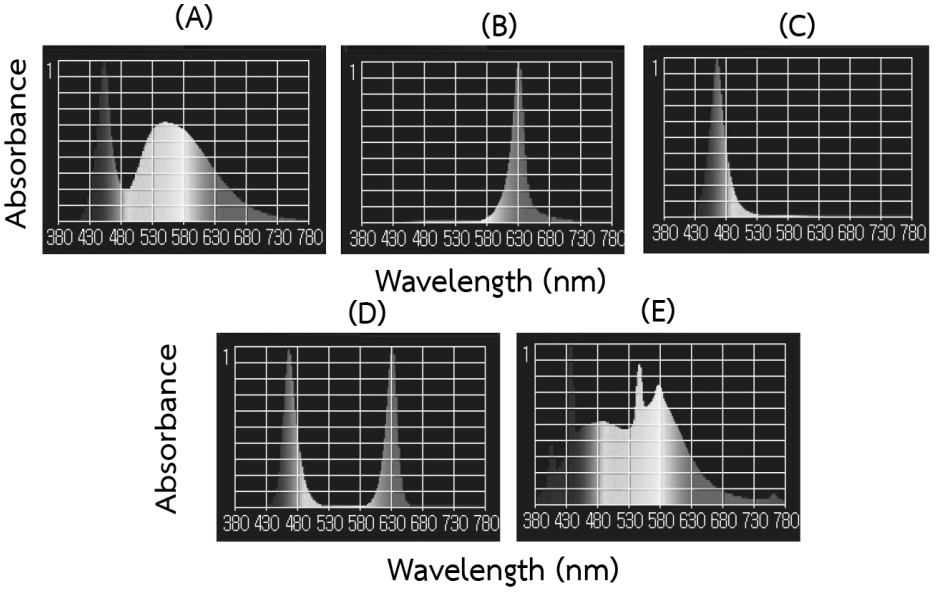

Figure 1 Spectral distributions in relative energy of (A) white LEDs: peak wavelength at 450 and 530–580 nm, (B) red LEDs: peak wavelength at 630 nm, (C) blue LEDs: peak wavelength at 460 nm, (D) mixture of red and blue LEDs (1:1): peak wavelength at 460 and 630 nm, and (E) fluorescent light: peak wavelength at 405, 435, 550, and 580 nm measured by LI–180 spectrometer, LI-COR, USA

ข้อมูลการเจริญเติบโต

บันทึกการเจริญเติบโตหลังจากเลี้ยงต้นกล้าภายใต้แสงสีต่าง ๆ เป็นเวลา 10 สัปดาห์ ทรีตเมนต์ละ 5 ซ้ำ ซ้ำละ 20 ต้น (รวม 100 ต้นต่อทรีตเมนต์) โดยนำต้นมาชั่งน้ำหนักสด (กรัม) วัดความสูงต้น เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น จำนวนใบ ความกว้างใบ และความยาวใบ (วัดจากใบตำแหน่งที่ 3 นับจากปลายยอด) จำนวนราก ความยาวราก (เซนติเมตร) และค่าความเขียวใบด้วยเครื่อง chlorophyll meter (SPAD 502, Minolta, Japan) โดยวัด 3 ครั้ง ต่อ 1 พื้นที่ใบ (หน่วย SPAD unit)

ปริมาณรงควัตถุในใบ

วิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุในใบ ทรีตเมนต์ละ 5 ซ้ำ (ซ้ำละ 5 ต้น) โดยตัดใบให้มีขนาด 1 ตารางเซนติเมตร ใส่ลงในสารละลาย N,N-dimethylformamide (DMF) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วดูดสารสกัดที่ได้ไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 480 (A_{480}) 647 (A_{647}) และ 664 (A_{664}) นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV/Visible spectrophotometer (BioDrop DUO, Denville Scientific Inc., USA) เพื่อคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ [Chl a = 12 (A_{664}) – 3.11 (A_{647})] คลอโรฟิลล์ บี [Chl b = 20.78 (A_{647}) – 4.88

(A_{647})] คลอโรฟิลล์รวม (Total Chl = Chl a + Chl b) และแคโรทีนอยด์ [CX + C = (1,000 (A_{480}) – 1.12 (Chl a) – 34.07 (Chl b)) / 245] (Porra *et al.*, 1989; Wellburn, 1994)

การวิเคราะห์สารทุติยภูมิ

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity)

ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี ABTS radical scavenging activity assay ดัดแปลงจากวิธีของ Re *et al*. (1999) เตรียมโดยใช้ 2,2'-azinobis-(3 ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) 7 มิลลิโมลาร์ ผสมกับสารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ($K_2S_2O_8$) 2.45 มิลลิโมลาร์ ทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 16 ชั่วโมง เจือจางด้วยน้ำ DI และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 735 นาโนเมตร ให้มีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.70 ± 0.02 การวิเคราะห์ตัวอย่างดัดแปลงจาก Ingkasupart *et al.* (2015) โดยชั่งต้นกล้าเอื้องใบไผ่ 4 กรัมน้ำหนักสด บดและสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดูดเฉพาะส่วนใส ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย ABTS ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 4 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 735 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader (SPECTRO star Nano, Germany) และคำนวณ %ABTS radical scavenging activity ดังสมการ

$$\%\text{ABTS radical scavenging activity} = \frac{\text{ค่าดูดกลืนแสงของตัวทำละลาย} - \text{ค่าดูดกลืนแสงของสารสกัด}}{\text{ค่าดูดกลืนแสงของตัวทำละลาย}} \times 100$$

จากนั้น สร้างกราฟ %ABTS radical scavenging activity ต่อความเข้มข้นของสารละลาย เพื่อหาค่า half maximal effective concentration (EC_{50}) โดยแทนค่า y = 50 ในสมการเส้นตรงเพื่อหาค่า x ซึ่งเป็นค่าแสดงความเข้มข้นของสารละลายที่ทำให้ค่า %ABTS radical scavenging activity ลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ และรายงานผลในหน่วย EC_{50} g_{FW}/L

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total phenolic content)

ทดสอบปริมาณสารฟีนอลิกรวมตามวิธีของ Müller *et al.* (2010) โดยชั่งต้นกล้าเอื้องใบไผ่ 1 กรัมน้ำหนักสด บดและสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดูดเฉพาะส่วนใสปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมกับ Folin-ciocalteu phenol reagent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที เติมสารโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ปริมาตร 75 ไมโครลิตร ทิ้งไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้น วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader (SPECTRO star Nano, Germany) ที่ความยาวคลื่น 740 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานของกรดแกลลิก และรายงานผลในหน่วย mg_{GAE}/g_{FW}

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยสำหรับการเจริญเติบโต ปริมาณรงควัตถุในใบ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของต้นกล้าเอื้องใบไผ่ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อภายใต้แสงสีต่าง ๆ โดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ 99 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชั่น 22

ผลการทดลองและวิจารณ์

การเจริญเติบโตของต้นกล้าเอื้องใบไผ่

การเลี้ยงต้นกล้าเอื้องใบไผ่ในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ดัดแปลง ภายใต้แสงทั้ง 5 ชนิด เป็นเวลา 10 สัปดาห์ ส่งผลให้น้ำหนักสด ($P < 0.001$) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น ($P = 0.04$) ความกว้างใบ ($P < 0.01$) และจำนวนราก ($P < 0.001$) มีค่าแตกต่างกันทางสถิติ แต่ไม่มีผลต่อความสูงต้น จำนวนใบ ความยาวใบ และความยาวราก (Table 1) โดยต้นที่ได้รับแสง LEDs สีขาว สีแดง สีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน และฟลูออเรสเซนต์ (ชุดควบคุม) มีน้ำหนักสดและจำนวนรากใกล้เคียงกัน เฉลี่ย 1.22–1.30 กรัม และ 7.80–8.40 ราก ตามลำดับ และมีค่าสูงกว่าต้นที่ได้แสงสีน้ำเงิน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 0.96 กรัม และ 5.68 ราก ($P < 0.001$) สำหรับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นและความกว้างใบ พบว่า ให้ผลทิศทางเดียวกัน โดยต้นที่ได้รับแสง LEDs สีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน มีค่าเฉลี่ยสำหรับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น (0.36 เซนติเมตร) และความกว้างใบ (0.45 เซนติเมตร) สูงที่สุด รองลงมาคือต้นที่ได้รับแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ ส่วนต้นที่ได้รับแสง LEDs สีขาว สีแดง และสีน้ำเงินมีค่าเฉลี่ยน้อยกว่า ($P < 0.05$) ทั้งนี้ เมื่อพิจารณาภาพรวมของการเจริญเติบโต จะเห็นได้ว่า LEDs สีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน มีแนวโน้มทำให้ต้นกล้าเจริญเติบโตได้ดีที่สุด ในขณะที่ แสง LEDs สีน้ำเงินทำให้ต้นกล้าเจริญเติบโตได้น้อยที่สุด (Figure 2)

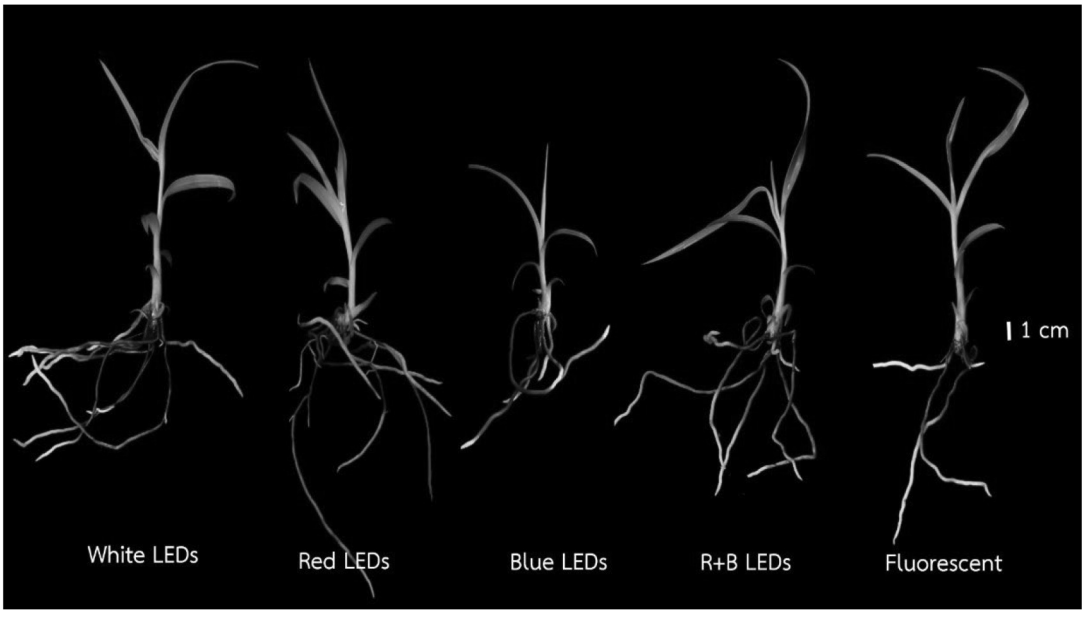

Figure 2 Effect of different light quality in *Arundina graminifolia* seedling after *in vitro* cultured for 10 weeks

ผลการศึกษาสอดคล้องกับรายงานของ Suttasatain (2019) ที่พบว่า แสง LEDs สีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน (1:1) ทำให้ต้นเอื้องใบไผ่มีการเจริญเติบโตทางด้านลำต้น ใบ ราก และน้ำหนักสดสูงที่สุด และ Mengxi *et al.* (2011) ที่รายงานว่า แสง LEDs สีขาว สีแดง สีน้ำเงิน สีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน และฟลูออเรสเซนต์ ส่งผลให้ต้นกล้ากล้วยไม้ *Oncidium* มีความสูงต้น อัตราการเกิดราก และน้ำหนักแห้งสูงกว่าแสง LEDs สีน้ำเงิน เนื่องจาก LEDs สีขาว สีแดง และสีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน มีช่วงความยาวคลื่นในช่วง 400–700 นาโนเมตร ที่พืชนำไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงทั้งระบบแสง I และ ระบบแสง II รวมถึงเป็นช่วงความยาวคลื่นของแสงที่พืชสามารถดูดซับรงควัตถุทั้งคลอโรฟิลล์ (คลอโรฟิลล์ เอ ดูดแสงได้มากที่ 670 นาโนเมตร และคลอโรฟิลล์ บี ดูดแสงได้มากที่ 650 นาโนเมตร) และแคโรทีนอยด์ ซึ่งเป็นตัวดูดซับแสงส่วนเกินได้ดี และเป็นรงควัตถุที่สำคัญในการดูดซับพลังงานแสงเพื่อนำไปใช้สร้างอาหาร และพลังงานในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง และกระบวนการต่าง ๆ เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต (Kasemsap, 2020) จึงทำให้พืชมีการเจริญเติบโตที่ดี ขณะที่ แสง LEDs สีน้ำเงินส่งผลให้ต้นกล้าเอื้องใบไผ่มีขนาดเล็กกว่าแสงสีอื่น ๆ (Table 1; Figure 2) เนื่องจากแสงสีน้ำเงินมีสารสีที่ทำหน้าที่รับสัญญาณแสงโดยเฉพาะที่ไม่ใช่คลอโรฟิลล์ มีการตอบสนองต่อความความยาวคลื่นที่จำเพาะในช่วงความยาวคลื่น 400–500 นาโนเมตร ซึ่งเป็นช่วงคลื่นที่ไม่ได้ใช้ในการดูดซับคลอโรฟิลล์ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง โดยปฏิกิริยาใช้แสงในระบบแสง I และ II มีการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 700 และ 680 นาโนเมตร ตามลำดับ (Kasemsap, 2020) และในช่วงแสงสีน้ำเงินอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงภายในโมเลกุลของคลอโรฟิลล์ ซึ่งพลังงานส่วนเกินในโฟตอนในช่วงแสงสีน้ำเงินจะสูญเสียไปในรูปของความร้อนมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับช่วงแสงสีแดง ทำให้ช่วงแสงสีน้ำเงินมีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชบางชนิดน้อยกว่าช่วงแสงสีแดง (Harbinson and Rosenqvist, 2003)

ความเขียวใบและปริมาณรงควัตถุในใบ

การเลี้ยงต้นกล้าเอื้องใบไผ่ภายใต้แสงสีต่าง ๆ ส่งผลให้ความเขียวใบและปริมาณรงควัตถุมีค่าแตกต่างกันทางสถิติ โดยแสง LEDs สีแดง ทำให้ใบมีความเขียวน้อยที่สุด เฉลี่ย 29.31 SPAD unit ($P < 0.01$; Figure 3A) เช่นเดียวกับปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี และคลอโรฟิลล์รวมที่มีค่าน้อยที่สุดเช่นกัน ($P < 0.01$) เฉลี่ย 20.88 9.46 และ 30.43 มิลลิกรัมต่อตารางเซนติเมตร ตามลำดับ (Figure 3B) แต่ในทางตรงกันข้ามแสง LEDs สีแดง ทำให้ต้นกล้ามีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงที่สุด เฉลี่ย 1.41 มิลลิกรัมต่อตารางเซนติเมตร ($P < 0.01$; Figure 3C) ส่วนแสงสีอื่น ๆ (LEDs สีขาว สีน้ำเงิน สีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน และฟลูออเรสเซนต์) มีความเขียวใบและปริมาณรงควัตถุทั้ง 4 ชนิด ใกล้เคียงกัน (Figure 3) ทั้งนี้ เนื่องจากแสงสีแดงมีผลทำให้ 5-aminolevulinic acid (ALA), protoporphyrin IX (Proto IX), Mg-proto IX และ proto chlorophyll ลดลง ซึ่งเป็นสารที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ จึงทำให้คลอโรฟิลล์ลดลงด้วย (Xu and Harvey, 2019) นอกจากนี้ ยังพบว่าแสงสีแดงส่งผลให้มีการสะสมของแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นในสาหร่าย *Dunaliella salina* (Fan *et al.*, 2013) ซึ่งแตกต่างจากผลการศึกษาของ Lin *et al*. (2011) ที่พบว่า แสง LEDs สีน้ำเงินทำให้โปรโตคอร์มของ *Dendrobium officinale* มีปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์สูงที่สุด ทั้งนี้ การตอบสนองต่อแสงที่แตกต่างกันอาจขึ้นอยู่กับชนิดของพืชและส่วนที่นำมาใช้ในการวิเคราะห์

Table 1 Effect of different light quality on fresh weight, plant height, stem diameter, leaf number, leaf width, leaf length, root number and root length in *Arundina graminifolia* seedlings after *in vitro* cultured for 10 weeks

Light quality	Fresh weight (g)	Stem		Leaf			Root	
		Height (cm)	Diameter (cm)	Number/plant	Width (cm)	Length (cm)	Number/plant	Length (cm)
White LEDs	1.30 ± 0.02[a]	4.48 ± 0.35	0.29 ± 0.09[b]	7.73 ± 0.13	0.39 ± 0.01[bc]	7.17 ± 0.17	7.97 ± 0.30[a]	9.67 ± 0.65
Red LEDs	1.23 ± 0.04[a]	3.94 ± 0.23	0.30 ± 0.11[b]	7.67 ± 0.17	0.40 ± 0.16[bc]	6.78 ± 0.24	8.23 ± 0.61[a]	9.97 ± 1.07
Blue LEDs	0.96 ± 0.07[b]	3.40 ± 0.22	0.31 ± 0.13[b]	7.45 ± 0.25	0.36 ± 0.19[c]	6.75 ± 0.39	5.68 ± 0.12[b]	7.06 ± 0.40
R + B LEDs	1.23 ± 0.05[a]	3.91 ± 0.23	0.36 ± 0.07[a]	7.97 ± 0.25	0.45 ± 0.15[a]	6.82 ± 0.22	7.80 ± 0.26[a]	9.14 ± 1.47
Fluorescence	1.22 ± 0.05[a]	4.35 ± 0.26	0.34 ± 0.34[ab]	7.55 ± 034	0.42 ± 0.01[ab]	7.23 ± 0.22	8.40 ± 0.30[a]	8.43 ± 0.53
P-value	< 0.001	0.07	0.04	0.62	< 0.01	0.54	< 0.001	0.21
CV (%)	7.63	16.68	14.00	6.79	10.17	8.18	16.33	24.24

R + B LEDs = mixture of red LEDs and blue LEDs (1:1), CV = coefficient of variation

Means in each column followed by a different letters are significantly different by Duncan's new multiple range test

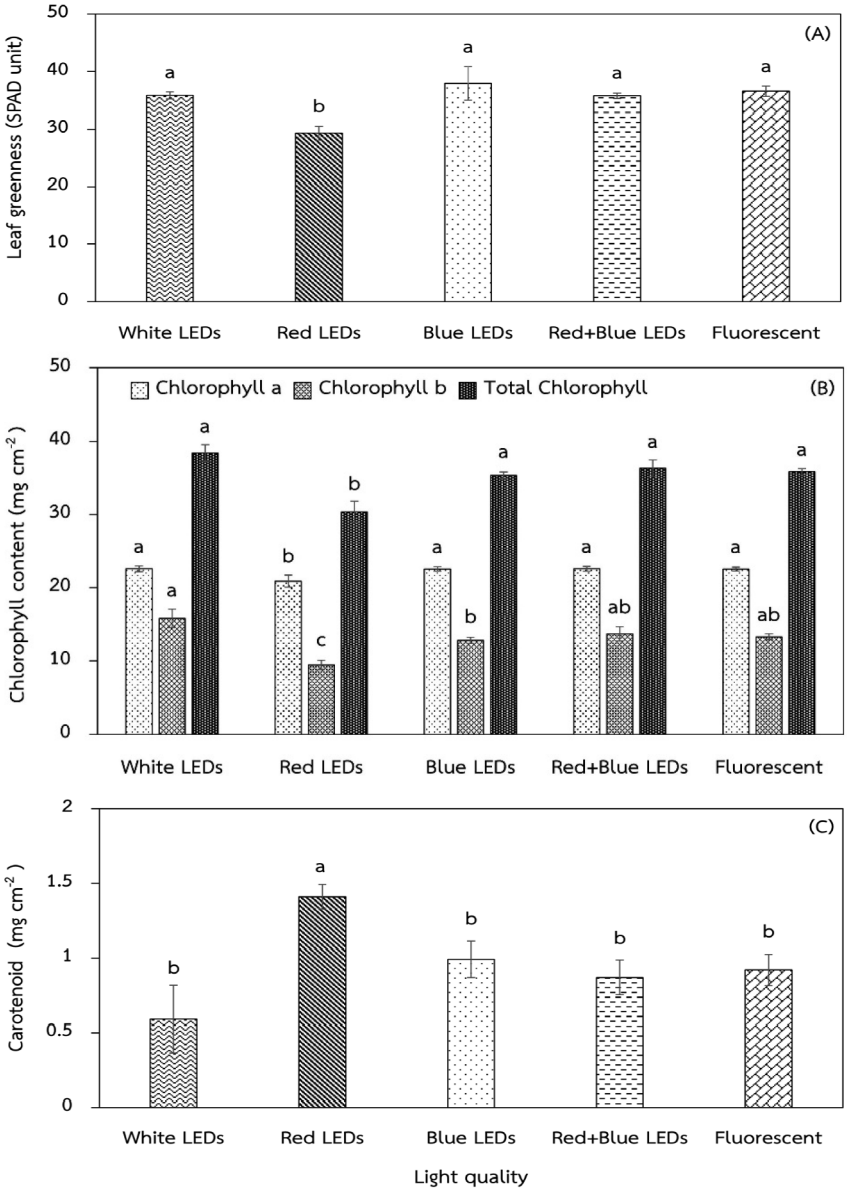

Figure 3 Effect of different light quality on (A) leaf greenness, (B) chlorophyll and (C) carotenoid contents in *Arundina graminifolia* seedling after *in vitro* cultured for 10 weeks. The different lowercase letters on the bar indicated statistically significant difference according to Duncan's new multiple range test at $P < 0.01$

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity)

การประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแสดงผลเป็นค่าความเข้มข้นที่ทำให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระลดลงครึ่งหนึ่ง (EC_{50}) ซึ่งจากผลการศึกษา พบว่า ต้นที่ได้รับแสง LEDs สีขาวและสีแดงมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระได้มากที่สุด (72.17 และ 74.40 EC_{50} g_{FW}/L ตามลำดับ) รองลงมาคือ แสง LEDs สีน้ำเงิน และสีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน (74.40 79.41 และ 78.52 EC_{50} g_{FW}/L) ในขณะที่ แสงฟลูออเรสเซนต์ (ชุดควบคุม) มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระได้น้อยที่สุด (94.2 EC_{50} g_{FW}/L) ดังแสดงใน Figure 4 จะเห็นได้ว่า แสง LEDs ทั้ง 4 สี สามารถเพิ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในต้นเอื้องใบไผ่ได้ดี เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้หลอดฟลูออเรสเซนต์ ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากแสงสีขาว สีน้ำเงิน และสีแดง มีบทบาทสำคัญใน shikimate pathway โดยไปกระตุ้นการทำงานของกรดชิคิมิก (Shikimic acid) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในกระบวนการสร้างสารทุติยภูมิที่มีโครงสร้างเป็นอะโรมาติก เช่น สารกลุ่ม phenylpropanoid lignin และ coumarin เป็นต้น (Loi *et al.*, 2021) สอดคล้องกับ Yeow *et al*. (2020) ซึ่งรายงานว่า การใช้ความเข้มแสงต่ำจาก LEDs สีขาว และ far red ช่วยเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระใน protocorm–like bodies (PLBs) ของกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมในสภาพปลอดเชื้อได้ และสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Qian *et al*. (2016) ที่รายงานในคะน้า (Chinese kale) เนื่องจากแสงสีขาวมีความยาวคลื่นที่เหมาะสมต่อความต้องการของพืช และไม่มีการปลดปล่อยความร้อนเหมือนหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่อาจส่งผลให้พืชเกิดความเครียด (Hanus-Fajerska and Wojciechowska, 2017)

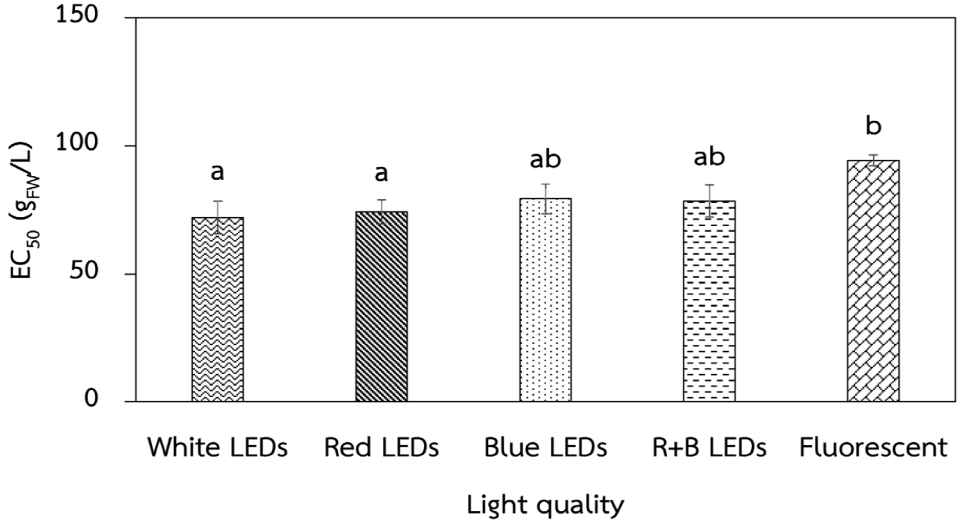

Figure 4 Effect of different light quality on antioxidant activity (Half maximal effective concentration; EC_{50}) in *Arundina graminifolia* seedling after *in vitro* cultured for 10 weeks. R + B LEDs = mixture of red LEDs and blue LEDs (1:1). The different lowercase letters on the bar indicated statistically significant difference according to Duncan's new multiple range test at $P < 0.05$

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total phenolic content)

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดต้นกล้าเอื้องใบไผ่ที่คำนวณจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ($y = 5.329x + 0.0332$; $R^2 = 0.9973$) (Figure 5A) พบว่า ต้นกล้าที่เลี้ยงภายใต้แสงสีต่าง ๆ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมแตกต่างกัน ($P < 0.01$) โดยต้นกล้าที่เลี้ยงภายใต้แสง LEDs สีขาว มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงที่สุด คือ 1.39 mg_{GAE}/g_{FW} รองลงมา คือ แสงฟลูออเรสเซนต์ (ชุดควบคุม) และสีน้ำเงิน ส่วนต้นกล้าที่เลี้ยงภายใต้แสง LEDs สีแดง และสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมน้อยที่สุด คือ 0.45 และ 0.38 mg_{GAE}/g_{FW} ตามลำดับ (Figure 5B) จากการทดลองจะเห็นได้ว่า การใช้แสง LEDs สีขาวสำหรับเลี้ยงต้นกล้าเอื้องใบไผ่ในสภาพปลอดเชื้อมีส่วนช่วยในการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด และสามารถเพิ่มสารประกอบฟีนอลิกรวมได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับหลอดฟลูออเรสเซนต์ ทั้งนี้ อาจเป็นเพราะแสงสีดังกล่าวไปกระตุ้นหรือเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการสร้างสาร secondary metabolite (Ghosh *et al*., 2012) หรือทำหน้าที่ควบคุมการแสดงออกของยีนในการสังเคราะห์โปรตีนหรือเอนไซม์ ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนเมแทบอลิซึมทางสรีรวิทยาของพืช จึงทำให้พืชมีการเจริญเติบโตและพัฒนาเปลี่ยนแปลงไป (Hebda *et al*., 2010) ในขณะที่ แสงบางชนิดทำให้ปริมาณสารลดลง ซึ่งเกิดจากหลายปัจจัย เช่น ชนิดพืช อายุ คุณภาพแสง และความเข้มแสง ที่มีผลต่อการสร้างสาร secondary metabolite ภายในต้นพืช (Ouzounis *et al*., 2015) และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของต้นกล้าเอื้องใบไผ่ในสภาพปลอดเชื้อกับกล้วยไม้ป่าชนิดอื่น ๆ พบว่า ต้นกล้าเอื้องใบไผ่ที่เลี้ยงภายใต้แสง LEDs ในสภาพปลอดเชื้อมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมน้อยกว่ากล้วยไม้ป่า *Pinalia graminifolia* (30.04 mg_{GAE}/g), *Gastrochilus acutifolius* (11.89 mg_{GAE}/g) และ *Papilionanthe uniflora* (40.29 mg_{GAE}/g) ซึ่งใช้ตัวอย่างแห้งของกล้วยไม้ป่าที่รวบรวมจากพื้นที่ต่าง ๆ ในป่าธรรมชาติของประเทศเนปาล (Chand *et al*., 2016) โดยกล้วยไม้ดังกล่าวเป็นกล้วยไม้ที่น่าจะใช้เวลาในการเจริญเติบโตหลายปี (ขณะที่ การทดลองนี้เลี้ยงต้นกล้าเอื้องใบไผ่เพียง 2.5 เดือน) และอยู่ในสภาพแวดล้อมแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ รวมทั้งการเก็บกล้วยไม้จากป่าธรรมชาติมาใช้อย่างต่อเนื่อง อาจส่งผลต่อการลดจำนวนลงของกล้วยไม้ป่าได้

ดังนั้น การเลี้ยงต้นกล้าเอื้องใบไผ่ในสภาพปลอดเชื้อร่วมกับการใช้แสง LEDs สีขาว จึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งสำหรับนำมาใช้ในการผลิตกล้วยไม้ดินที่มีคุณสมบัติทางยา เพื่อลดระยะเวลาการปลูกเลี้ยง ได้ปริมาณและคุณภาพของสารสกัดที่สม่ำเสมอ สามารถกำหนดระยะเวลาและจำนวนการผลิตให้สอดคล้องกับความต้องการของตลาด มีความปลอดภัย และสะดวกต่อการนำไปใช้สกัดทำยา ทั้งนี้ ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับระยะเวลาในการปลูกเลี้ยงและการทำให้เกิดความเครียด ซึ่งอาจทำให้ได้ปริมาณสารเพิ่มมากขึ้น

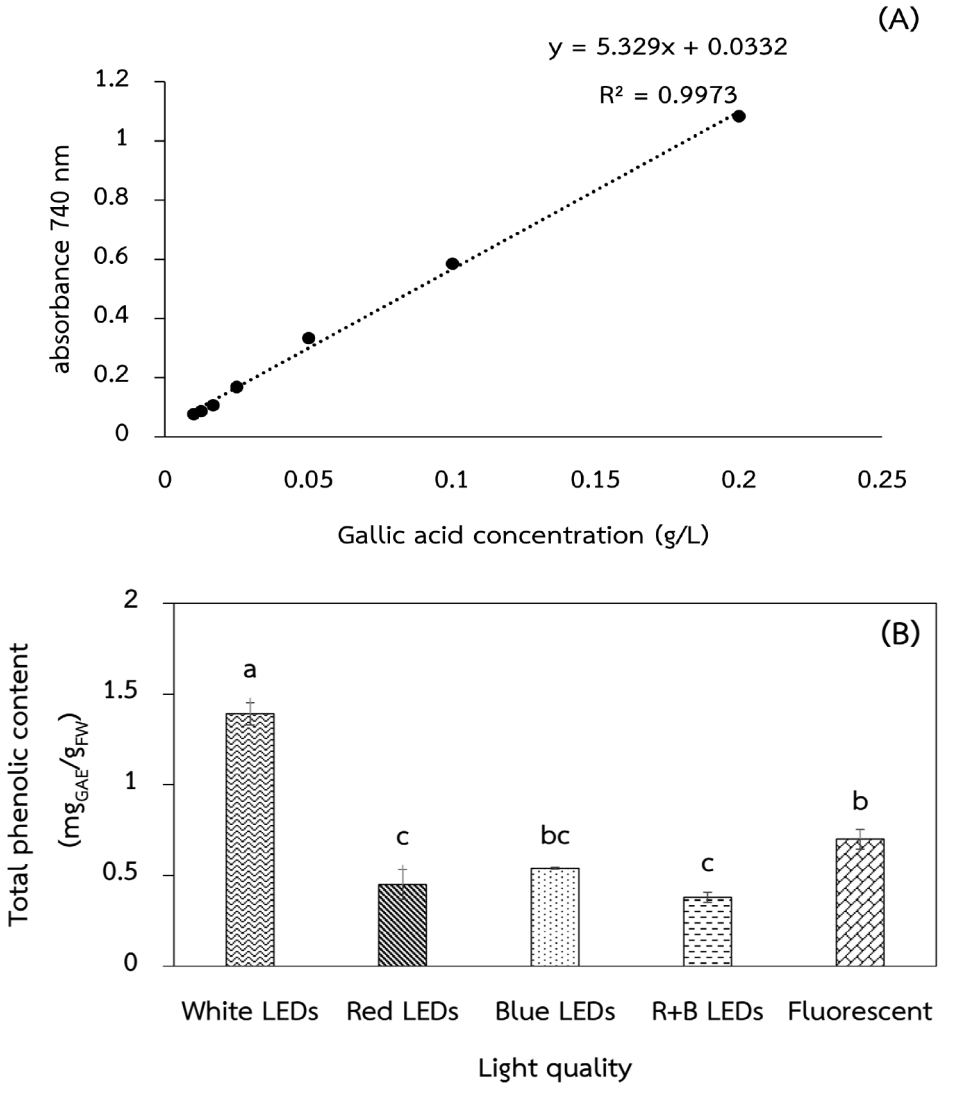

Figure 5 Standard curve of gallic acid (A) and total phenolic content in *Arundina graminifolia* seedling after *in vitro* cultured on different light quality for 10 weeks (B). R + B LEDs = mixture of red LEDs and blue LEDs (1:1). The different lowercase letters on the bar indicated statistically significant difference according to Duncan's new multiple range test at $P < 0.01$

สรุป

การศึกษาคุณภาพแสงต่อการเจริญเติบโต ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ของต้นกล้าเอื้องใบไผ่ในสภาพปลอดเชื้อภายใต้แสง LEDs สีขาว สีแดง สีน้ำเงิน และสีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน (1:1) และแสงฟลูออเรสเซนต์ พบว่า แสง LEDs สีขาวเหมาะสมต่อการเจริญเติบโต การเพิ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของต้นกล้าเอื้องใบไผ่มากที่สุด ดังนั้น การใช้แสง LEDs สีขาวเลี้ยงต้นกล้าในสภาพปลอดเชื้อจึงสามารถผลิตต้นกล้วยไม้ที่มีสรรพคุณทางยาให้ได้ต้นจำนวนมากในระยะเวลาอันสั้น รวมถึงได้ต้นเอื้องใบไผ่ที่ปลอดเชื้อและปลอดภัยจากสารเคมีเหมือนต้นที่ปลูกเลี้ยงในธรรมชาติ

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับการสนับสนุนการวิจัยทุนพัฒนาบัณฑิตศึกษา จากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ 2563

เอกสารอ้างอิง

Auberon, F., O.J. Olatunji, S. Krisa, C. Antheaume, G. Herbette, F. Bonté, J.M. Mérillon and A. Lobstein. 2016. Two new stilbenoids from the aerial parts of *Arundina graminifolia* (Orchidaceae). Molecules. 21(11): 1430.

Chand, M.B., M.R. Paudel and B. Pant. 2016. The antioxidant activity of selected wild orchids of Nepal. J. Coast. Life Med. 4(9): 731–736.

Debnath, B., D. Sarma, C. Paul and A. Debnath. 2016. *Arundina graminifolia* (D. Don) Hochr (Orchidaceae) a new addition to the flora of Tripura. Asian J. Plant Sci. Res. 6(3): 28–31.

Fan, X., J. Zang, Z. Xu, S. Gua, X. Jiao, X. Liu and Y. Gao. 2013. Effects of different light quality on growth, chlorophyll concentration and chlorophyll biosynthesis precursors of non–heading Chinese cabbage (*Brassica campestris* L.). Acta Physiol. Plant. 35: 2721–2726.

Ghosh, S., Y. Chisti and U.C. Banerjee. 2012. Production of shikimic acid. Biotechnol. Adv. 30(6): 1425–1431.

Hanus-Fajerska, E. and R. Wojciechowska. 2017. Impact of light–emitting diodes (LEDs) on propagation of orchids in tissue culture, pp. 305–320. *In* S. Dutta Gupta, ed. Light Emitting Diodes for Agriculture. Springer, Singapore.

Harbinson, J. and E. Rosenqvist. 2003. An introduction to chlorophyll fluorescence, pp. 1–29. *In* J.R. DeEll and P.M.A. Toivonen, eds. Practical Applications of Chlorophyll Fluorescence in Plant Biology. Springer, Boston, MA, USA.

Hebda, M.S., J. Kruk, M. Gorecka, B. Karpinska and S. Karpinski. 2010. Evidence for light wavelength–specific systemic photoelectron physiological signaling and cellular light memory of excess light episode in *Arabidopsis*. Plant Cell. 22: 2201–2218.

Hu, Q.F., B. Zhou, J.M. Huang, X.M. Gao, L.D. Shu, G.Y. Yang and C.T. Che. 2013. Antiviral phenolic compounds from *Arundina gramnifolia*. J. Nat. Prod. 76: 292–296.

Idris, S. and C.R.C.M. Zain. 2020. Modification of closed permanent immerse system to mass produce of *Arundinar graminifolia* by stem cutting. Int. J. Agric. For. Plant. 10: 13–17.

Ingkasupart, P., B. Manochai, W.T. Song and J.H. Hong. 2015. Antioxidant activities and lutein content of 11 marigold cultivars (*Tagetes* spp.) grown in Thailand. Food Sci. Technol., Campinas. 35(2): 380–385.

Kasemsap, P. 2020. Biology 2. Textbook of Science and Mathematics, The Promotion of Academic Olympiad and Development of Science Education Foundation under the Patronage of Her Royal Highness Princess Galyani Vadhana Krom Luang Naradhiwas Rajanagarindra. 7th edition. Darnsutha Press Co., Ltd., Bangkok, Thailand. (in Thai)

Lin, Y., J. Lie, B. Li, T. He and Z. Chun. 2011. Effects of light quality on growth and development of protocorm-like bodies of *Dendrobium officinale in vitro*. Plant Cell Tiss. Organ Cult. 105(3): 329–335.

Loi, M., A. Villani, F. Paciolla, G. Mulè and C. Paciolla. 2021. Challenges and opportunities of light-emitting diode (LED) as key to modulate antioxidant compounds in plants. Antioxidants. 10: 42.

Mengxi, L., X. Zhigang, Y. Yang and F. Yijie. 2011. Effects of different spectral lights on *Oncidium* PLBs induction, proliferation, and plant regeneration. Plant Cell Tiss. Organ Cult. 106: 1–10.

Müller, L., S. Gnoyke, A.M. Popken and V. Böhm. 2010. Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. LWT-Food Sci. Technol. 43(6): 992–999.

Ouzounis, T., E. Rosenqvist and C.O. Ottosen. 2015. Spectral effects of artificial light on plant physiology and secondary metabolism: a review. HortScience. 50(8): 1128–1135.

Porra, R.J., W.A. Thompson and P.E. Kriedemann. 1989. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. Biochim. Biophys. Acta. 975(3): 384–394.

Qian, H., T. Liu, M. Deng, H. Miao, C. Cai, W. Shen and Q. Wang. 2016. Effects of light quality on main health-promoting compounds and antioxidant capacity of Chinese kale sprouts. Food Chem. 196: 1232–1238.

Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang and C.R. Evans. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic. Biol. Med. 26(9–10): 1231–1237.

Rojchana-umpawan, P. 2016. Species Diversity of Orchids in Ton Nga Chang Wildlife Sanctuary. MS Thesis, Prince of Songkla University, Songkla. (in Thai)

Suttasatain, N. 2019. Light Quality Affects *In Vitro* Growth of *Arundina graminifolia* (D. Don) Hochr. Plantlet. BS Special Problem, Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)

Vacin, E.F. and F. Went. 1949. Some pH changes in nutrient solutions. Bot. Gaz. 110: 605–613.

Wang, W., M. Su, H. Li, B. Zeng, Q. Chang and Z. Lai. 2018. Effects of supplemental lighting with different light qualities on growth and secondary metabolite content of *Anoectochilus roxburghii*. Peer J. 6: e5274.

Wellburn, A.R. 1994. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. Plant Physiol. 144: 307–313.

Xu, Y. and P.J. Harvey. 2019. Carotenoid production by *Dunaliella salina* under red light. Antioxidants. 8(5): 123.

Yan, X., B. Tang and M. Liu. 2018. Phenanthrenes from *Arundina graminifolia* and *in vitro* evaluation of their antibacterial and anti-haemolytic properties. Nat. Prod. Res. 32(6): 707–710.

Yeow, L.C., B.L. Chew and S. Sreeramanan. 2020. Elevation of secondary metabolites production through light-emitting diodes (LEDs) illumination in protocorm-like bodies (PLBs) of *Dendrobium* hybrid orchid rich in phytochemicals with therapeutic effects. Biotechnol. Rep. 27: e00497.