

ผลของปริมาณธาตุอาหารและระดับฟอสฟอรัสในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและ
ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในสารละลายธาตุอาหาร ในระบบปลูกไร้ดิน
ต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรหมมิ

EFFECTS OF MEDIUM STRENGTH AND PHOSPHORUS ON
MICROPROPAGATION AND PHOSPHORUS CONCENTRATIONS
IN NUTRIENT SOLUTION ON GROWTH AND ANTIOXIDANT IN

Bacopa monnieri

ศศิธร พินภิรมย์

SASITHORN PINPIROM

วิทยานิพนธ์นี้สำหรับการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2563

KMITL-2020-AG-M-081-327

ผลของปริมาณธาตุอาหารและระดับฟอสฟอรัสในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและ
ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในสารละลายธาตุอาหารในระบบปลูกไร้ดิน
ต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรหมมิ

EFFECTS OF MEDIUM STRENGTH AND PHOSPHORUS ON
MICROPROPAGATION AND PHOSPHORUS CONCENTRATIONS
IN NUTRIENT SOLUTION ON GROWTH AND ANTIOXIDANT IN
Bacopa monnieri

ศศิธร พินภิรมย์

SASITHORN PINPIROM

วิทยานิพนธ์นี้สำหรับการศึกษิตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2563

KMITL-2020-AG-M-081-327

**EFFECTS OF MEDIUM STRENGTH AND PHOSPHORUS ON
MICROPROPAGATION AND PHOSPHORUS CONCENTRATIONS
IN NUTRIENT SOLUTION ON GROWTH AND ANTIOXIDANT IN**

Bacopa monnieri

SASITHORN PINPIROM

**A THESIS SUBMITTED IN FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN FISHERIES SCIENCE
FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

2020

KMITL-2020-AG-M-081-327

COPYRIGHT 2020

FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของปริมาณธาตุอาหารและระดับฟอสฟอรัสในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในสารละลายธาตุอาหารในระบบปลูกไร้ดินต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรหมมิ
นักศึกษา	นางสาวศศิธร พินภิรมย์
รหัสประจำตัว	61604060
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การประมง
พ.ศ.	2563
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์ ดร. นงนุช เลาหะวิสุทธิ

บทคัดย่อ

พรหมมิ ใ้มน้ำพรหมมิ (*Bacopa monnieri* (L.) Wettst.) เป็นพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณทางยาช่วยในเรื่องการบำรุงสมอง ความจำ และช่วยป้องกันโรคอัลไซเมอร์ สารสกัดจากต้นพรหมมิจึงได้รับความนิยมเพิ่มมากขึ้น การศึกษาผลของปริมาณธาตุอาหาร และระดับฟอสฟอรัสต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรหมมิต่อการเพิ่มผลผลิต และปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรหมมิ แบ่งออกเป็น 3 การทดลอง การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของอาหารกึ่งแข็งสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่ปริมาณธาตุอาหารแตกต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ ¼ MS, ½ MS, MS และ 2 MS พบว่า สูตรอาหาร ¼ MS มีการเจริญเติบโตของชิ้นเนื้อเยื่อดีที่สุด โดยมีความสูงของชิ้นเนื้อเยื่อ จำนวนใบ จำนวนข้อ จำนวนราก และมีน้ำหนักสด-แห้งมากที่สุด ($P < 0.05$) แต่จำนวนยอดของชิ้นเนื้อเยื่อไม่มีความแตกต่างกันระหว่างสูตรอาหาร ($P > 0.05$) ผลจากการศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระในชิ้นเนื้อเยื่อพรหมมิ แสดงให้เห็นว่าในสูตรอาหาร ¼ MS ส่งผลให้มีปริมาณของ TPC, TFC และ ABTS มีค่ามากที่สุด (19.32 mg gallic/g, 43.89 mg luteolin/g และ 88.28% ตามลำดับ) ส่วนปริมาณของซาโปนินพบว่า สูตรอาหารในชุดควบคุม (MS) มีปริมาณของซาโปนินสูงที่สุดเท่ากับ 24,666.81 µg saponin/g ส่วนการยับยั้งด้วยวิธี DPPH พบว่าความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระไม่มีความแตกต่างกันระหว่างสูตรอาหาร ($P > 0.05$) การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีความเข้มข้นของปริมาณฟอสฟอรัส (P) แตกต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ ¼ P, ½ P, P และ 2 P พบว่า ความสูงของเนื้อเยื่อในสูตรอาหาร ¼ P มีความสูงมากที่สุด ($P < 0.05$) และสูตรอาหาร P มีค่าของจำนวนใบ และจำนวนข้อมากที่สุด ส่วนจำนวนรากและจำนวนยอดไม่พบ

มีความแตกต่างกันระหว่างสูตรอาหาร ($P>0.05$) ผลจากการศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระในชั้นเนื้อเยื่อพรหมิ แสดงให้เห็นว่าการเลี้ยงเนื้อเยื่อในสูตรอาหาร 2 P ส่งผลให้มีปริมาณของ TPC และ TFC มากที่สุด (8.48 mg gallic/g, 16.44 mg luteolin/g ตามลำดับ) ในสูตรอาหาร ½ P พบว่ามีปริมาณซาโปนิน และ ABTS มากที่สุด (4,921.14 µg saponin/g และ 79.66% ตามลำดับ) ส่วน DPPH ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างสูตรอาหาร ($P>0.05$) และการทดลองที่ 3 การศึกษาปริมาณธาตุ P ในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีอัตราส่วนแตกต่างกัน 3 ระดับ ได้แก่ ½ P, P (ชุดควบคุม) และ 2 P ในระบบปลูกไร้ดินแบบ deep flow technique (DFT) ด้วยสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 พบว่า ดินพรหมิในชุดควบคุม มีจำนวนกิ่งมากที่สุด และมีน้ำหนักสด - น้ำหนักแห้งมากที่สุด ($P<0.05$) แต่ผลความสูงของต้น ความกว้างใบ ความยาวใบ ความหนาใบ และจำนวนข้อไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกันทางสถิติระหว่างสูตรอาหาร ($P>0.05$) ผลจากการศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระในดินพรหมิพบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างสูตรอาหาร ($P>0.05$)

Thesis	Effects of Medium Strength and Phosphorus on Micropropagation and Phosphorus Concentrations in Nutrient Solution on Growth and Antioxidant in <i>Bacopa monnieri</i>
Student	Ms. Sasithorn Pinpirom
Student ID.	61604060
Degree	Master of Science
Program	Fisheries Science
Year	2020
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Nongnuch Laohavisuti

ABSTRACT

Brahmi (*Bacopa monnieri* (L.) Wettst.) is a well-known aquatic medicinal plant which is traditionally used to treat various nervous disorders as well as for enhancing human memory and brain function. Studying the effects of nutrient and phosphorus concentrations can benefit an increase of yield and antioxidant activity of *B. monnieri* (L.) Wettst. The study provided three experiments. The first experiment focused on the effect of Murashige and Skoog (MS) medium on growth and antioxidant activity in *B. monnieri* (L.) Wettst. grown *in vitro*. The MS medium treatment contained four different nutrition concentrations, namely $\frac{1}{4}$ MS, $\frac{1}{2}$ MS, MS and 2 MS. The $\frac{1}{4}$ MS treatment was marked as the most appropriated treatment for growth and development of the explants and also presented the highest number of leave, node, root as well as the highest value of dry and fresh weight. But all above-mentioned treatments did not make any statistically significant differences in the number of shoot ($P>0.05$). The first study also demonstrated that the $\frac{1}{4}$ MS treatment leads to the maximum concentration of TPC, TFC as well as the highest capacity of antioxidant activity investigated by ABTS assay, 19.32 mg gallic/g, 43.89 mg luteolin/g and 88.28 % respectively. Comparing to other treatments, the control treatment (MS) was marked as the most proper treatment for the highest saponin concentration of 24,666.81 μ g saponin/g. In addition, the said treatments did not present any statistically significant differences in the DPPH assay ($P>0.05$). The second experiment aims to determine the effect of MS medium with different phosphorus concentrations $\frac{1}{4}$ P, $\frac{1}{2}$ P, P and 2 P on growth and antioxidant activities in the explants. The $\frac{1}{4}$ P treatment demonstrated the maximum height. The highest number of leaves

and nodes were found in the explants grown in the control treatment (P). And there was no significant difference in the number of roots and shoots among the treatments ($P>0.05$). As for the antioxidant activity, the double P treatment (2 P) causes the maximum concentration of TPC and TFC as of 8.48 $\mu\text{g gallic/g}$, and 16.44 mg luteolin/g respectively. The half P treatment ($\frac{1}{2}$ P) was marked as the most appropriate treatment for the highest saponin concentration of 4,921.14 $\mu\text{g saponin/g}$ as well as for the highest content of antioxidant activities by ABTS assay, namely at 79.66%. And the said treatments do not present any statistically significant differences in the DPPH assay ($P>0.05$). The last experiment emphasized on the effect of phosphorus concentration on growth and antioxidant properties in *B. monnieri* (L.) Wettst growing in a deep flow technique (DFT) system with the nutrition solutions, KMITL 2 containing different proportions of phosphorus concentration. The control (P) and the highest P (2P) treatments caused the maximum leaf thickness. When compared to the other treatments, the control treatment (P) was marked as the best treatment for the maximum branches and for the highest value of dry and fresh weight. The control treatment (P), the lower P treatment ($\frac{1}{2}$ P) and the highest P treatment (2 P), did not make any statistically significant differences in plant height, leaf width, leaf length and number of nodes ($P>0.05$). Besides, antioxidant activities evaluated in the said treatments did not demonstrated any statistically significant differences ($P>0.05$).

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี โดยได้รับความกรุณาจาก รศ.ดร.นงนุช เลาหะวิสุทธิ เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาที่ให้ความช่วยเหลือ คอยให้คำชี้แนะ ช่วยแก้ปัญหา เป็นแรงผลักดันตลอดจนให้ความรู้ โอกาส และการอบรมสั่งสอนที่ดี แก่ข้าพเจ้า

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.อัจฉรี เรืองเดช รศ.ดร.สมชาย หวังวิบูลย์กิจ ดร.มณีนรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ และผศ.ดร. ภัทรารัตน์ เทียมเก่า กรรมการสอบหัวข้อและโครงร่างวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำตลอดจนข้อชี้แนะ จนในที่สุดทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.สมเกียรติ สีสนอง ที่คอยให้คำปรึกษาและชี้แนะแนวทางเตรียมสารและทำการทดลอง

ขอขอบพระคุณ คุณบุปผา จงพัฒน์ ที่คอยช่วยเหลือการวิเคราะห์ทางเคมี ให้ยืมอุปกรณ์การทดลองในห้องปฏิบัติการแก่ข้าพเจ้าตลอดมา

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่คอยสนับสนุน ผลักดัน ให้กำลังใจข้าพเจ้าตลอดมา

ขอขอบคุณ คุณปัทสรา ขุนสวัสดิ์ ที่คอยช่วยเหลือ คอยเป็นแรงผลักดัน และเป็นกำลังใจให้แก่ข้าพเจ้าเสมอมา

สุดท้ายต้องขอขอบคุณ น้องอ้อ น้องนิว น้องกี้ น้องมา และน้องพีท ที่คอยเป็นกำลังใจ และช่วยเหลือด้านการทดลองในห้องปฏิบัติการ

ศศิธร พินภิรมย์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	V
สารบัญ.....	VI
สารบัญตาราง.....	IX
สารบัญภาพ.....	XIII
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา.....	2
1.3 สมมุติฐานของการศึกษา.....	2
1.4 ทฤษฎีหรือแนวความคิดที่ใช้ในการวิจัย.....	3
1.5 ขอบเขตการวิจัย.....	3
1.6 ขั้นตอนการศึกษา.....	3
บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.1 พรรณ ไม้ น้ำพรมมิ.....	5
2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.....	6
2.2.1 ประเภทการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.....	7
2.2.2 ธาตุอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.....	8
2.3 ระบบปลูกพรรณ ไม้ น้ำแบบ ไร่ดิน.....	9
2.3.1 ประเภทของระบบปลูกพรรณ ไม้ น้ำ.....	10
2.3.2 ธาตุอาหารที่ใช้ในระบบปลูกแบบ ไร่ดิน.....	12
2.4 ธาตุอาหารต่อการเจริญเติบโตของพืช.....	16
2.4.1 ธาตุอาหารต่อการเจริญเติบโตของพืชที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ....	17
2.4.2 ธาตุอาหารต่อการเจริญเติบโตของพืชที่ปลูกในระบบปลูกแบบ ไร่ดิน...	18
2.5 ธาตุอาหารต่อสารต้านอนุมูลอิสระของพืช.....	20

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.5.1 ธาตุอาหารต่อสารต้านอนุมูลอิสระของพืชที่เพาะเลี้ยงในสภาพ ปลอดเชื้อ.....	21
2.5.2 ธาตุอาหารต่อสารต้านอนุมูลอิสระของพืชที่ปลูกในระบบปลูก แบบไร้ดิน.....	21
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	24
3.1 พรรณ ไม้ น้ำ ทดลอง.....	24
3.2 อุปกรณ์และสารเคมีในการทดลอง.....	24
3.2.1 การทดลองในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.....	24
3.2.2 การทดลองในระบบปลูกแบบไร้ดิน.....	24
3.3 วิธีดำเนินการ.....	25
3.3.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาผลของปริมาณธาตุอาหารในอาหารกึ่งแข็ง สูตร MS ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระของ ต้นพรมมิที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ.....	25
3.3.2 การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของปริมาณฟอสฟอรัสในอาหารกึ่งแข็ง สูตร MS ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระของ ต้นพรมมิที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ.....	29
3.3.3 การทดลองที่ 3 การศึกษาปริมาณฟอสฟอรัสในสารละลายธาตุอาหาร สูตร KMITL 2 ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและสารต้าน อนุมูลอิสระของต้นพรมมิที่เลี้ยงในระบบปลูกพืชไร้ดิน แบบ DFT.....	30
3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล.....	32
3.5 สถานที่ทำการวิจัย.....	32
3.6 ระยะเวลาในการทำวิจัย.....	33
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	34

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.1. การทดลองที่ 1 การศึกษาปริมาณธาตุอาหารในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรหมิที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ.....	34
4.1.1 ผลของปริมาณธาตุอาหารที่แตกต่างกันต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อต้นพรหมิในสภาพปลอดเชื้อ.....	34
4.1.2 ผลของปริมาณธาตุอาหารที่แตกต่างกันต่อความสามารถในการยับยั้งและต้านสารอนุมูลอิสระของเนื้อเยื่อต้นพรหมิในสภาพปลอดเชื้อ.....	40
4.2. การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของปริมาณฟอสฟอรัสต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรหมิที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ.....	42
4.2.1 ผลของปริมาณฟอสฟอรัสที่แตกต่างกันต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อต้นพรหมิในสภาพปลอดเชื้อ.....	42
4.2.2 ผลของปริมาณธาตุอาหารที่แตกต่างกันต่อความสามารถในการยับยั้งและต้านสารอนุมูลอิสระของเนื้อเยื่อต้นพรหมิในสภาพปลอดเชื้อ.....	47
4.3. การทดลองที่ 3 การศึกษาผลของปริมาณฟอสฟอรัสในสารละลายธาตุอาหารต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรหมิที่เลี้ยงในระบบปลูกพืชไร้ดินแบบ DFT.....	50
4.3.1 ผลของปริมาณฟอสฟอรัสในสารละลายธาตุอาหารที่มีปริมาณแตกต่างกันต่อการเจริญเติบโตของต้นพรหมิในระบบปลูกพืชไร้ดิน.....	50
4.3.2 ผลของปริมาณฟอสฟอรัสในสารละลายธาตุอาหารที่มีปริมาณแตกต่างกันต่อความสามารถในการยับยั้งและต้านสารอนุมูลอิสระของต้นพรหมิในระบบปลูกพืชไร้ดิน.....	55
บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง.....	58
บทที่ 6 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	64
บรรณานุกรม.....	65
ภาคผนวก.....	72
ประวัติผู้เขียน.....	79

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ผลของการขาดฟอสฟอรัสต่อน้ำหนักแห้ง และอัตราส่วนของยอดกับราก ในต้นมันฝรั่ง.....	20
2.2	ผลของฟอสฟอรัสต่อสารต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพรชนิดต่าง ๆ.....	22
3.1	ปริมาณธาตุอาหารของอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่างกัน 4 ระดับ.....	26
3.2	อาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีความเข้มข้นของปริมาณฟอสฟอรัส (P) แตกต่างกัน 4 ระดับ.....	30
3.3	สารละลายธาตุอาหารพืชสูตร KMITL 2 ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสในรูป KH_2PO_4 แตกต่างกัน (เตรียมสารละลายธาตุอาหารพืชที่ความเข้มข้น 100 เท่า ปริมาตร 10 ลิตร ในการทดลอง).....	32
4.1	ผลของอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณธาตุอาหารแตกต่างกันต่อความสูง (มิลลิเมตร) ของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิ (<i>B. monnieri</i> (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงใน สภาพปลอดเชื้อ.....	35
4.2	ผลของอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณธาตุอาหารแตกต่างกันต่อจำนวนใบ (จำนวน/ชิ้นเนื้อเยื่อ) ของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิ (<i>B. monnieri</i> (L.) Wettst.) ที่ เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ.....	35
4.3	ผลของอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณธาตุอาหารแตกต่างกันต่อจำนวนข้อ (จำนวน/ชิ้นเนื้อเยื่อ) ของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิ (<i>B. monnieri</i> (L.) Wettst.) ที่ เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ.....	36
4.4	ผลของอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณธาตุอาหารแตกต่างกันต่อจำนวนราก (จำนวน/ชิ้นเนื้อเยื่อ) ของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิ (<i>B. monnieri</i> (L.) Wettst.) ที่ เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ.....	37
4.5	ผลของอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณธาตุอาหารแตกต่างกันต่อจำนวนยอด (จำนวน/ชิ้นเนื้อเยื่อ) ของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิ (<i>B. monnieri</i> (L.) Wettst.) ที่ เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ.....	38

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4.6	ผลของอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณธาตุอาหารแตกต่างกันต่อน้ำหนักสด-แห้ง (มิลลิกรัม/ชิ้นเนื้อเยื่อ) ของชิ้นเนื้อเยื่อดันพรมมิ (<i>B. monnieri</i> (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ.....	39
4.7	ผลการเจริญเติบโตของชิ้นเนื้อเยื่อดันพรมมิ (<i>B. monnieri</i> (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงด้วยอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณธาตุอาหารแตกต่างกันในสภาพปลอดเชื้อ ที่ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์.....	39
4.8	ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของชิ้นเนื้อเยื่อดันพรมมิ (<i>B. monnieri</i> (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงด้วยอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณธาตุอาหารแตกต่างกันในสภาพปลอดเชื้อ ที่ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์.....	41
4.9	ผลการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณธาตุอาหารและสารต้านอนุมูลอิสระของชิ้นเนื้อเยื่อดันพรมมิ (<i>B. monnieri</i> (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงด้วยอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณธาตุอาหารแตกต่างกันในสภาพปลอดเชื้อ เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 6.....	41
4.10	ผลของอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันต่อความสูง (มิลลิเมตร/ชิ้นเนื้อเยื่อ) ของชิ้นเนื้อเยื่อดันพรมมิ (<i>B. monnieri</i> (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ.....	42
4.11	ผลของอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันต่อจำนวนใบ (จำนวน/ชิ้นเนื้อเยื่อ) ของชิ้นเนื้อเยื่อดันพรมมิ (<i>B. monnieri</i> (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ.....	43
4.12	ผลของอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันต่อจำนวนข้อ (จำนวน/ชิ้นเนื้อเยื่อ) ของชิ้นเนื้อเยื่อดันพรมมิ (<i>B. monnieri</i> (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ.....	44
4.13	ผลของอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันต่อจำนวนราก (จำนวน/ชิ้นเนื้อเยื่อ) ของชิ้นเนื้อเยื่อดันพรมมิ (<i>B. monnieri</i> (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ.....	45

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4.14	ผลของอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันต่อจำนวนยอด (จำนวน/ชิ้นเนื้อเยื่อ) ของชิ้นเนื้อเยื่อดัชนีพรมมิ (<i>B. monnieri</i> (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ.....	46
4.15	ผลของอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันต่อปริมาณน้ำหนักราก-แห้ง (มิลลิกรัม/ชิ้นเนื้อเยื่อ) ของชิ้นเนื้อเยื่อดัชนีพรมมิ (<i>B. monnieri</i> (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ.....	46
4.16	ผลการเจริญเติบโตของชิ้นเนื้อเยื่อดัชนีพรมมิ (<i>B. monnieri</i> (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงด้วยอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันในสภาพปลอดเชื้อ ที่ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์.....	47
4.17	ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของชิ้นเนื้อเยื่อดัชนีพรมมิ (<i>B. monnieri</i> (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงด้วยอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันในสภาพปลอดเชื้อ ที่ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์.....	49
4.18	ผลการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณธาตุอาหารและสารต้านอนุมูลอิสระของชิ้นเนื้อเยื่อดัชนีพรมมิ (<i>B. monnieri</i> (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงด้วยอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันในสภาพปลอดเชื้อ เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 6.....	49
4.19	ผลของสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันต่อความสูง (เซนติเมตร) ของต้นพรมมิ (<i>B. monnieri</i> (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในระบบปลูกพืชไร้ดิน.....	50
4.20	ผลของสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันต่อความกว้างใบ (เซนติเมตร) ของต้นพรมมิ (<i>B. monnieri</i> (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในระบบปลูกพืชไร้ดิน.....	51
4.21	ผลของสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันต่อความยาวใบ (เซนติเมตร) ของต้นพรมมิ (<i>B. monnieri</i> (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในระบบปลูกพืชไร้ดิน.....	52

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4.22	ผลของสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันต่อความหนาใบ (มิลลิเมตร) ของต้นพรหมมิ (<i>B. monnieri</i> (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในระบบปลูกพืชไร้ดิน.....	52
4.23	ผลของสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันต่อจำนวนกิ่ง (จำนวน/ต้น) ของต้นพรหมมิ (<i>B. monnieri</i> (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในระบบปลูกพืชไร้ดิน.....	53
4.24	ผลของสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันต่อจำนวนข้อ (จำนวน/ต้น) ของต้นพรหมมิ (<i>B. monnieri</i> (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในระบบปลูกพืชไร้ดิน.....	53
4.25	ผลของสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันต่อปริมาณน้ำหนักสด-แห้ง (กรัม/ต้น) ของต้นพรหมมิ (<i>B. monnieri</i> (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในระบบปลูกพืชไร้ดิน.....	54
4.26	ผลการเจริญเติบโตของต้นพรหมมิ (<i>B. monnieri</i> (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงด้วยสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันในระบบปลูกพืชไร้ดินที่ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์.....	55
4.27	ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรหมมิ (<i>B. monnieri</i> (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงด้วยสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันในระบบปลูกพืชไร้ดินที่ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์.....	56
4.28	ผลการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณธาตุอาหารและสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรหมมิ (<i>B. monnieri</i> (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงด้วยสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันในระบบปลูกพืชไร้ดินที่ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์.....	57

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ต้นพรหมมิ (<i>Bacopa monnieri</i> (L.) Wettst.).....	5
2.2	ระบบ nutrient film technique (NFT).....	11
2.3	ระบบ deep flow techniques (DFT).....	11
2.4	ระบบ floating system.....	12
2.5	ผลของการขาดธาตุฟอสฟอรัส (-P) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (control)..	19

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

พรรณไม้น้ำพรมมิหรือต้นพรมมิ (brahmi) สามารถพบได้ในพื้นที่เขตร้อนชื้นเติบโตได้ดีในพื้นที่ชุ่มน้ำและในแหล่งน้ำตื้น ๆ ทั่วไป (Gohil and Patel, 2010) เป็นพรรณไม้น้ำที่นิยมนำมาตกแต่งตู้ปลาให้เกิดความสวยงาม อีกทั้งยังถือเป็นผักพื้นบ้านสามารถนำมารับประทานเป็นอาหารได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพื้นที่เขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย (ยงศักดิ์ และ อัญชลี, 2557) ในทางการแพทย์พรมมียังเป็นที่รู้จักในฐานะเป็นยาอายุวัฒนะและเป็นพืชสมุนไพรซึ่งมีสรรพคุณในการรักษาอาการผิดปกติทางสมอง บำรุงสมองและความจำ ช่วยปกป้องระบบประสาทไม่ให้ถูกทำลายโดยง่าย และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น ต้นพรมมิสามารถผลิตสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolites) ที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ได้หลายกลุ่ม เช่น อัลคาลอยด์ (alkaloid) ไกลโคไซด์ (glycoside) ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) และซาโปนิน (saponin) (Mathew et al., 2010) โดยซาโปนินเป็นสารประกอบหลักที่พบได้มากในต้นพรมมิ ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีหน้าที่เกี่ยวกับการช่วยส่งกระแสประสาท และช่วยบำรุงสมอง ส่งเสริมความจำ การรับรู้ และช่วยรักษาอาการผิดปกติทางจิต (Devendra et al., 2018) ต้นพรมมิจึงเป็นพืชสมุนไพรที่ให้สรรพคุณทางยามากมาย ในปัจจุบันนี้พืชสมุนไพรและอาหารที่ส่งเสริมสุขภาพเป็นที่นิยมมากขึ้น สารสกัดจากต้นพรมมิจึงได้รับความนิยมอย่างสูงในเชิงพาณิชย์

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของพืชหรือการเพาะเลี้ยงแบบปลอดเชื้อเป็นการนำส่วนต่าง ๆ ของพืชภายใต้การควบคุมธาตุอาหาร และสภาพแวดล้อมในห้องทดลอง (Thorpe, 2007) ด้วยเหตุนี้พืชที่เติบโตในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงเป็นพืชที่ปลอดเชื้อและยังสามารถเพิ่มผลผลิตสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิได้อีกด้วย ชิ้นเนื้อเยื่อเพียงหนึ่งชิ้นจากต้นแม่พันธุ์สามารถเพิ่มปริมาณผลผลิตได้อีกเป็นจำนวนมากในระยะเวลาอันสั้น และยังใช้พื้นที่เพื่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพียงเล็กน้อยเท่านั้น จึงส่งผลทำให้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกลายเป็นกระบวนการที่สำคัญในอุตสาหกรรมการขยายพันธุ์พืชเพื่อการพาณิชย์ (Hussain et al., 2012) หลังจากนั้นสามารถนำต้นพันธุ์ที่ได้มาจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อย้ายลงปลูกในระบบปลูกแบบไร้ดินภายในโรงเรือนแบบปิดที่สามารถควบคุมอุณหภูมิ สภาพแวดล้อม และสามารถควบคุมปริมาณของสารละลายธาตุอาหารได้ดี จึงส่งผลให้พืชมีการเจริญเติบโตที่ดี และได้ผลผลิตที่มีคุณภาพสูงอีกด้วย (กาญจนริ และคณะ, 2020) พืชสมุนไพรได้รับ

ความสนใจมากขึ้นจากทั้งทางการแพทย์ อุตสาหกรรม และประชาชนทั่วไป ทำให้มีความต้องการเพิ่มมากขึ้น จึงทำให้มีการศึกษาเพื่อทำให้มีผลผลิตเพิ่มมากขึ้น และมีปริมาณผลผลิตเพียงพอต่อความต้องการของตลาด ปัจจัยหนึ่งที่สำคัญต่อการเพิ่มผลผลิตของพืชสมุนไพรมือคือธาตุอาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งธาตุฟอสฟอรัสซึ่งเป็นธาตุอาหารสำคัญที่มีผลต่อการเจริญเติบโต พัฒนาการ และการสืบพันธุ์ของพืช ทำให้มีความสนใจที่จะศึกษาผลของปริมาณฟอสฟอรัสที่พืชได้รับต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารสำคัญของพืช

ดังนั้นการศึกษาผลของปริมาณธาตุอาหาร และระดับฟอสฟอรัสในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นพรหมมิ และความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ในระบบปลูกไร้ดินต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรหมมิ จึงเป็นประโยชน์ต่อการเพิ่มผลผลิตที่มีปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระมากในต้นพรหมมิให้เพียงพอต่อความต้องการของตลาด และยังสามารถนำไปสกัดเป็นยาเพื่อใช้ในทางการแพทย์ได้อีกด้วย

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาผลของปริมาณธาตุอาหารในอาหารกึ่งแข็งสูตร Murashige and Skoog (MS) ต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรหมมิที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของปริมาณฟอสฟอรัสในอาหารกึ่งแข็งสูตร Murashige and Skoog (MS) ต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรหมมิที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

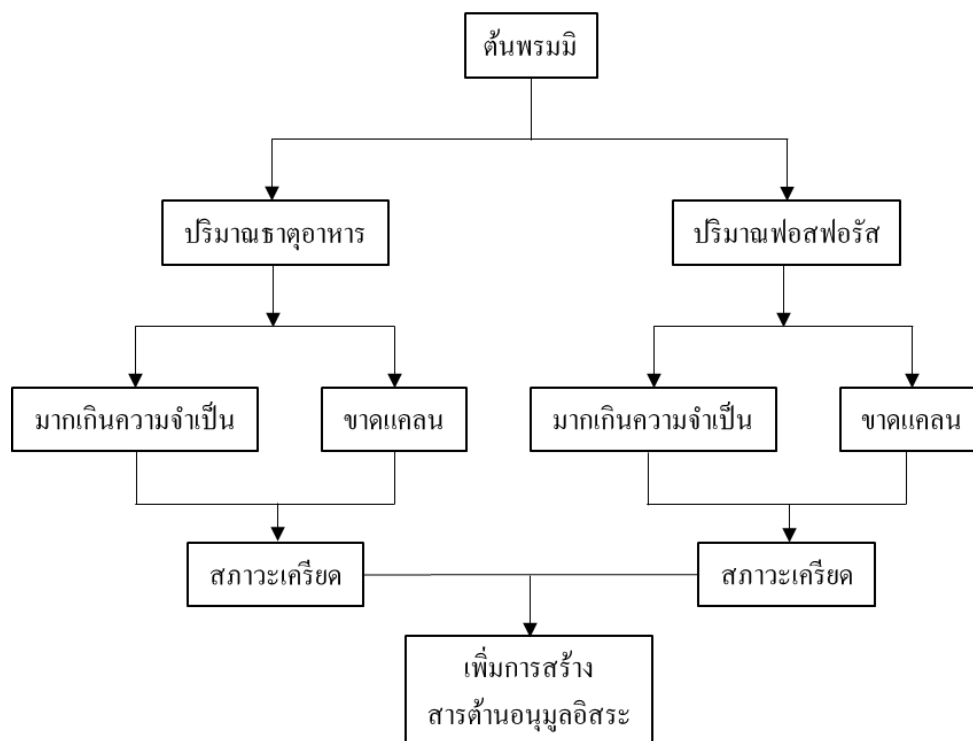
1.2.3 เพื่อศึกษาผลของปริมาณฟอสฟอรัสในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรหมมิที่เลี้ยงในระบบปลูกพืชไร้ดินแบบ deep flow techniques (DFT)

1.3 สมมุติฐานของการศึกษา

เมื่อพืชได้รับปริมาณธาตุอาหารและปริมาณฟอสฟอรัสมากหรือน้อยเกินไป ส่งผลให้พืชเกิดความเครียด พืชจึงสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณที่มากขึ้นเพื่อใช้ในการป้องกันตนเองจากความเครียด

1.4 ทฤษฎีหรือแนวความคิดที่ใช้ในการวิจัย

การเพิ่มความเครียดให้กับต้นพรมมิจะเป็นการกระตุ้นให้ต้นพรมมิมีการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น



1.5 ขอบเขตการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้ มุ่งเน้นวิธีการกระตุ้นให้ต้นพรมมิอยู่ในสถานะเครียด จากการเพิ่มหรือลดปริมาณธาตุอาหารและปริมาณฟอสฟอรัส เพื่อให้ต้นพรมมิมีการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระที่เพิ่มมากขึ้น

1.6 ขั้นตอนการศึกษา

แบ่งการศึกษาออกเป็น 3 การทดลอง

1.6.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาผลของปริมาณธาตุอาหารในอาหารกึ่งแข็ง MS ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรมมิที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

1.6.2 การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของปริมาณฟอสฟอรัสในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรมมิที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

1.6.3 การทดลองที่ 3 การศึกษาปริมาณฟอสฟอรัสในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรมมิที่เลี้ยงในระบบปลูกพืชไร้ดินแบบ DFT

โดยในระหว่างการทดลองจะทำการเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ และต้นพรมมิเลี้ยงในระบบปลูกพืชไร้ดินทุกสัปดาห์ ตั้งแต่สัปดาห์แรกจนถึงสัปดาห์สิ้นสุดการทดลอง เมื่อสิ้นสุดการทดลองแล้วจะนำเอาชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ และต้นพรมมิเลี้ยงในระบบปลูกพืชไร้ดินมาอบแห้ง แล้วนำไปสกัดจนได้เป็นสารสกัดออกมา หลังจากนั้นนำเอาสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และปฏิกิริยาในการยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระ แล้วนำข้อมูลผลการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระของชิ้นเนื้อเยื่อ และต้นพรมมิมาวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลองด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป

บทที่ 2

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 พรรณไม้น้ำพรหมมิ



ภาพที่ 2.1 ต้นพรหมมิ *Bacopa monnieri* (L.) Wettst.

พรรณไม้น้ำพรหมมิ หรือต้นพรหมมิ (brahmi) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. อยู่ในวงศ์ Plantaginaceae (Sosa et al., 2018) พรหมมิเป็นพืชล้มลุก ลำต้นตั้งตรง ถ้ามีขนาดยาวขึ้นลำต้นจะเลื้อยไปตามพื้น มีความยาว 10-40 เซนติเมตร ลำต้นอวบน้ำไม่มีขน ผิวลำต้นเรียบ แตกกิ่งก้านมาก มีรากออกตามข้อ มีใบเดี่ยวออกแบบตรงข้าม ไม่มีก้านใบ ใบอวบน้ำเป็นรูปไข่กลับ (obovate) ขอบใบเรียบหรือหยักเล็กน้อย ปลายใบมน กว้าง 1-5 มิลลิเมตร ยาว 6-20 มิลลิเมตร ดอกเป็นดอกเดี่ยวออกจากซอกใบ ก้านดอกยาว 6-15 มิลลิเมตร ไม่มีขนปกคลุม ใบประดับ 2 ใบ กงทน วงกลีบเลี้ยง 5 กลีบ ขนาดไม่เท่ากัน วงกลีบดอกเชื่อมติดกันที่ฐาน หยักเป็น 5 กลีบ ดอกรูปปากเปิด (bilabiate) สมมาตรด้านข้าง (bilateral symmetry) ยาว 8-10 มิลลิเมตร สีขาวหรือม่วงอ่อน มีเกสรตัวผู้ 4 อัน อยู่บนกลีบดอก ผลแห้งแตกได้ รูปไข่ ขนาดประมาณ 5×3 มิลลิเมตร และมีเมล็ด ขนาดประมาณ 0.5×0.3 มิลลิเมตร (ภาพที่ 2.1) ในประเทศไทยมีพืชตระกูลเดียวกันอีก 2 ชนิด คือ ลานไพลิน และผักสามหลั่น แต่มีเพียงต้นพรหมมิเท่านั้นที่มีการนำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์

ในทางการแพทย์อายุรเวท และการแพทย์แผนไทย (กรกนก, 2561) เนื่องจากในต้นพรมมีมีสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ที่มาจากสารประกอบของสารพฤกษเคมี (phytochemical) หลายกลุ่ม ได้แก่ อัลคาลอยด์ (alkaloid) ไกลโคไซด์ (glycoside) ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) และซาโปนิน (saponin) (Mathew et al., 2010) ซึ่งเป็นสารประกอบหลักที่พบได้มากในต้นพรมมี ซาโปนินเป็นสารประกอบที่มีหน้าที่ในการช่วยส่งกระแสประสาท และช่วยบำรุงสมอง ส่งเสริมความจำ การรับรู้ และช่วยรักษาอาการผิดปกติทางจิต (Devendra et al., 2018)

ในทางการแพทย์ไทยต้นพรมมีมีสรรพคุณบำรุงประสาท แก้โรคลมบ้าหมู แก้ปวดประสาท ดับพิษไข้ฝีดาษ แก้ไข้ แก้ร้อนใน กระหายน้ำ ขับปัสสาวะ ขับพยาธิ ขับเสมหะ แก้หืด และบำรุงหัวใจ ในทางการแพทย์อายุรเวทสารสกัดที่ได้จากต้นพรมมีสรรพคุณทางยา มีฤทธิ์ทำให้สงบ (ชาญชัย, 2556) ช่วยป้องกันโรคอัลไซเมอร์หรือโรคความจำเสื่อม โรคเกี่ยวกับระบบประสาท โรค विकฤติที่มีอาการจิตเสื่อม เป็นต้น (Robertson and Prasad, 2010 ; Chaudhari et al., 2017) อีกทั้งยังสามารถช่วยลดอาการปวด การอักเสบ โรคลมชัก และช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดได้อีกด้วย (Stough et al., 2015 ; Ghosh et al., 2008) เนื่องจากในต้นพรมมีจะมีสารประกอบไตรเทอพินอยด์ซาโปนิน (triterpenoid saponins) ที่เรียกว่าบาโคไซด์ (bacoside) โดยเฉพาะอย่างยิ่งบาโคไซด์ เอ (bacoside A) (Gohil and Patel, 2010 ; Pushkar et al., 2015) สารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมีจะไปช่วยเพิ่มปริมาณของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (superoxide dismutase) คตะตาลเลส (catalase) และกลูตาไทโอนเพอรอกซิเดส (glutathione peroxidase) ในสมองเพื่อไปยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น (Bhattacharya et al., 2000)

2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (tissue culture)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของพืชหรือการเพาะเลี้ยงแบบปลอดเชื้อเป็นการนำส่วนต่าง ๆ ของพืชที่ได้มาจากต้นแม่พันธุ์ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (artificial media) ภายใต้การควบคุมธาตุอาหาร และสภาพแวดล้อมในห้องทดลอง (Edwin et al., 2008 ; Thorpe, 2007) ในปัจจุบันเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีการพัฒนาไปอย่างกว้างขวางโดยมีการนำเอาเทคโนโลยีชีวภาพ เช่น การแยก เลี้ยง ตัดต่อ และถ่ายยีนส์เข้ามารวมด้วย ทำให้เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงพืชก้าวหน้าไปอย่างมาก และมีบทบาทสำคัญต่อวิทยาการแขนงอื่น ๆ เช่น ชีวเคมี พันธุศาสตร์ การปรับปรุงพันธุ์พืช โรคพืช พฤกษศาสตร์ เกษศาสตร์ และอุตสาหกรรม เป็นต้น ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นมีอยู่หลายประการ เช่น สามารถขยายพันธุ์พืชปริมาณมากได้ ในระยะเวลาอันสั้น ได้พืชแข็งแรงและปราศจากโรค รวมทั้งช่วยเพิ่มปริมาณผลผลิตสารทุติยภูมิ

ในพืชได้อีกด้วย (รังสฤษดิ์, 2541) ก่อนที่จะเริ่มการขยายพันธุ์พืชด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ Edwin et al. (2008) อธิบายไว้ว่าจำเป็นจะต้องเข้าใจถึงวิธีการนำเอาส่วนประกอบต่าง ๆ ของพืช (อวัยวะ) และการนำมาปรับเปลี่ยนให้เหมาะสมเพื่อให้สามารถเจริญเติบโตในหลอดทดลองได้ (test tubes) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท ได้แก่

2.2.1 ประเภทการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

2.2.1.1 การใช้อวัยวะต่าง ๆ ของพืชมาใช้ในการเพาะเลี้ยง (organized tissue culture) เป็นวิธีการที่ใช้การแยกส่วนต่าง ๆ ของพืชมาจากต้นแม่พันธุ์ด้วยวิธีการปลอดเชื้อ เช่น ส่วนของใบอ่อน (leaf primordia) ดอกหรือผลที่ยังโตไม่เต็มที่ (immature flowers and fruits) และนำไปเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง (*in vitro*) วัตถุประสงค์ของการแพร่พันธุ์พืช สิ่งสำคัญคือใช้อวัยวะของพืช (organ) เพียงเล็กน้อย ได้แก่

(1) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญ (meristem cultures) คือการตัดเนื้อเยื่อเจริญส่วนปลายยอดที่มีขนาดเล็กมาก ๆ โดยจะอยู่บริเวณปลายยอดโดม (apical meristematic dome) ที่จะมีใบเริ่มเกิด 1 หรือ 2 ใบ หรือไม่มีเลย โดยปกติแล้วปลายยอดจะเจริญเติบโตเป็น 1 ยอด (one single shoot)

(2) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญส่วนปลาย (shoot tip/shoot cultures) คือ การนำเอาส่วนของปลายยอด (shoot tip) ตา (bud) มาเพาะเลี้ยงเพื่อให้เกิดใบอ่อน (leaf primordia) โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญส่วนปลายจะทำให้เกิดยอดอ่อนจำนวนมาก (multiple shoots)

(3) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากส่วนข้อ (node cultures) คือ การนำส่วนของเนื้อเยื่อลำต้นที่มีตาข้างอยู่ (lateral bud) มาเพาะเลี้ยง โดยจะนำมาเพาะเลี้ยงแค่ 1 ข้อ หรือมากกว่าก็ได้ ซึ่ง 1 ตาจะเจริญเติบโตเป็น 1 ยอด (shoot)

(4) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนราก (isolated root culture) คือ การทำให้รากเจริญเติบโต เกิดระบบรากแขนง (branched root)

(5) การเพาะเลี้ยงคัพภะ (embryo cultures) คือ การนำเอาเซลล์คัพภะที่ได้มาจากการปฏิสนธิของไข่กับสเปิร์ม หรือไม่ได้ปฏิสนธิ มาเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจนเซลล์คัพภะพัฒนากลายเป็นเมล็ด

2.2.1.2 การใช้ส่วนที่ไม่ใช้อวัยวะของพืชมาใช้ในการเพาะเลี้ยง (unorganized tissue culture)

(1) การเพาะเลี้ยงแคลลัส (callus cultures) คือ การนำเอาส่วนของชิ้นเนื้อเยื่อชิ้นเล็ก ๆ หรือชิ้นส่วนอวัยวะจากพืชมาเพาะเลี้ยงจนกลายเป็นกลุ่มเซลล์ขนาดใหญ่ที่ยังไม่กำหนดว่าจะพัฒนาไปเป็นอวัยวะใด

(2) การเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอย (suspension cultures) คือ การนำเซลล์เดี่ยว ๆ หรือกลุ่มเซลล์ขนาดเล็กที่มาทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในอาหารเหลว แล้วมีการเติมอากาศเข้าไปเพื่อให้เซลล์เกิดการกระจายตัว

(3) การเพาะเลี้ยงเซลล์ไร้ผนัง (protoplast cultures) คือ การเพาะเลี้ยงเซลล์ที่ไม่มีผนังเซลล์ (cell wall) โดยการย่อยผนังเซลล์ด้วยเอนไซม์ (enzymatic method) หรือการตัดแยกผนังเซลล์ออกจากเซลล์ มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืช (รังสฤษฎ์, 2541 ; Edwin et al., 2008)

(4) การเพาะเลี้ยงอับเรณู (anther cultures) คือ การแยกเอาอับเรณูตัวผู้ที่ยังอ่อนอยู่ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อออกจากดอกที่กลีบดอกเพิ่ง โผล่พ้นวงกลีบเลี้ยง แล้วจึงนำมาเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (รังสฤษฎ์, 2541 ; Edwin et al., 2008)

2.2.2 ธาตุอาหาร (nutrients) ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะอยู่ในรูปของเกลือที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ จะประกอบไปด้วยเกลือแร่หลายชนิดที่อยู่ในรูปแตกต่างกัน (สิวพงศ์, 2546) รังสฤษฎ์ (2541) ได้กล่าวไว้ว่า อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีอยู่หลากหลายชนิด การเลือกใช้อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะต้องคำนึงถึงชนิดของพืช พันธุ์พืช และส่วนของชิ้นเนื้อเยื่อพืชที่นำมาเลี้ยง การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในอาหารสังเคราะห์นั้น เนื้อเยื่อพืชมีความต้องการธาตุอาหาร และสารบางอย่าง นอกเหนือจาก มหธาตุ และจุลธาตุที่ใช้ตามปกติในสารละลายธาตุอาหารที่ใช้ในระบบปลูกไร้ดิน โดยสามารถจำแนกสารเหล่านี้ออกมาได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ ดังนี้

2.2.2.1 ธาตุอาหารพวกอนินทรีย์ (inorganic substances) ประกอบด้วย

(1) ธาตุอาหารที่ต้องการในปริมาณมาก (macro-elements) ได้แก่ คาร์บอน (C) ไฮโดรเจน (H) ออกซิเจน (O) ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) และกำมะถัน (S)

(1.2) ธาตุอาหารที่ต้องการในปริมาณน้อย (micro-elements) ได้แก่ เหล็ก (Fe) แมงกานีส (Mn) ทองแดง (Cu) สังกะสี (Zn) โบรอน (B) คลอรีน (Cl) และ โมลิบดีนัม (Mo)

2.2.2.2 ธาตุอาหารพวกอินทรีย์ (organic substances) ประกอบด้วย

(1) วิตามิน (vitamins) ได้แก่ thiamine, nicotinic acid, pyridoxine, inositol, biotin, riboflavin และ ascorbic acid เป็นต้น

(2) ฮอโมน และสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (plant hormones and plant growth regulators) ได้แก่ สารในกลุ่มออกซิน (auxins) สารในกลุ่ม (cytokinins) สารควบคุมการเจริญเติบโตอื่นๆ เช่น gibberellic acid (GA)

(3) สารที่เป็นแหล่งคาร์บอน (carbon sources) ได้แก่ สารประกอบพวกน้ำตาลต่างๆ เช่น glucose, sucrose, fructose, saccharose และ mannitol

(4) กรดอะมิโน (amino acids) ได้แก่ glutamine, asparagine, adenine, glycine และ casein hydrolysate

(5) สารประกอบอินทรีย์อื่นๆ ส่วนใหญ่ได้จากธรรมชาติ เช่น น้ำมะพร้าว ก๋วยหอมบด สารสกัดจากยีสต์ และจากมอลต์สกัด เป็นต้น

โดยอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะต้องประกอบไปด้วยธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง วิตามิน กรดอะมิโน แหล่งคาร์บอน แหล่งออร์แกนิก สารควบคุมการเจริญเติบโต และสารที่ทำให้อาหารแข็งตัว ซึ่งอาหารที่นิยมนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือ อาหารกึ่งแข็ง สูตร Murashige and Skoog (1962) (MS) เนื่องจากเป็นอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ใช้ได้กับพืชหลายชนิด (Hussain et al., 2012 ; Saad and Elshahed, 2012)

2.3 ระบบปลูกพรรณไม้น้ำแบบไร้ดิน (hydroponics)

ระบบปลูกพรรณไม้น้ำแบบไร้ดิน เป็นเทคนิคการปลูกพรรณไม้น้ำในสารละลายธาตุอาหารที่มีหรือไม่มีวัสดุปลูกก็ได้ (Sharma et al., 2018) วัสดุปลูกจะเป็นอนินทรีย์ อินทรีย์สาร หรือวัสดุสังเคราะห์ก็ได้ (ดิเรก, 2547) เช่น กรวดทราย (gravel) เวอร์มิคิวไลท์ (vermiculite) โยหิน (rockwool) พีสมอส (peat moss) ขี้เลื่อย (saw dust) และขุยมะพร้าว (coir dust) เป็นต้น ในปัจจุบันการปลูกพรรณไม้น้ำแบบไร้ดินเป็นที่นิยมอย่างมากเนื่องจากเป็นวิธีการปลูกที่สะอาดและไม่ก่อให้เกิดโรคจากแมลงและศัตรูพืช อีกทั้งยังสามารถลดปริมาณการใช้น้ำรวมไปถึงลดการใช้ยาฆ่าแมลงซึ่งเป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดสารพิษค้างในพืช (Sharma et al., 2018) พรรณไม้น้ำที่ปลูกในระบบไร้ดินสามารถเจริญเติบโตได้เร็วกว่าพรรณไม้น้ำที่ปลูกในสภาพแวดล้อมปกติเนื่องจากรากสามารถรับสารอาหารได้อย่างเต็มที่โดยพืชสามารถดูดซึมธาตุอาหารจากน้ำผ่านทางรากได้โดยตรงและอยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ทันที (นงนุช และคณะ, 2556) การเพาะเลี้ยงนิยมเพาะเลี้ยงในระบบโรงเรือนแบบปิดซึ่งสามารถควบคุมอุณหภูมิและความชื้นได้ทำให้สามารถเพาะปลูกได้ในทุกฤดูกาลตลอดทั้งปี อายุการเก็บเกี่ยวผลผลิตจะเร็วกว่าการปลูกพืชบนดิน ผู้เพาะเลี้ยงจึงสามารถได้ผลผลิตจากการเพาะปลูกในระบบไร้ดินได้มากกว่าการเพาะเลี้ยงแบบเดิม (ดิเรก, 2547)

2.3.1 ประเภทของระบบปลูกพรรณไม้น้ำ

การปลูกพรรณไม้น้ำในระบบปลูกไร้ดินสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท ตามที่ นงนุช และคณะ (2556) กล่าว คือ

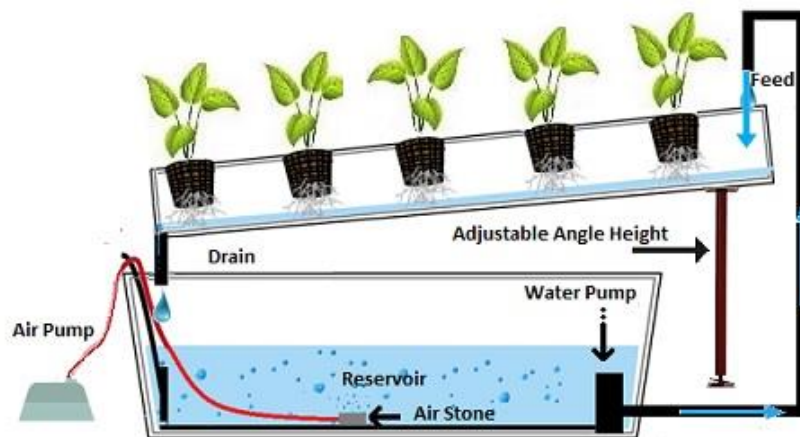
2.3.1.1 ระบบปลูกพรรณไม้น้ำในทรายหยาบ (coarse sand culture)

เป็นระบบปลูกที่ใช้ทรายหยาบหรือกรวดเป็นวัสดุปลูก มีความพรุนระหว่างก้อนมาก ส่งผลให้อุ้มน้ำได้น้อย ทรายหยาบและกรวดถือเป็นสารเฉื่อยไม่ทำปฏิกิริยาเคมี สามารถใช้งานได้นาน วัสดุปลูกมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1-3 มิลลิเมตร ระบบปลูกประกอบด้วยบ่อซีเมนต์ขนาดใหญ่ 2x4 เมตร มีความหนาประมาณ 15-20 เซนติเมตร และมีการให้สารละลายธาตุอาหารพืชไหลผ่านทราย

2.3.2.2 การปลูกพรรณไม้น้ำแบบในสารละลาย (water culture)

เป็นการปลูกพรรณไม้น้ำแบบที่รากพรรณไม้น้ำจะเจริญอยู่ในสารละลายธาตุอาหารพืช โดยไม่มีวัสดุปลูก สามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ระบบ ดังนี้

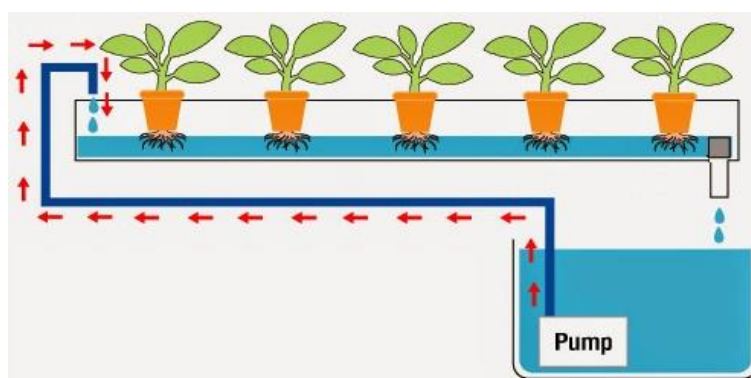
(1) ระบบ nutrient film technique (NFT) เป็นการปลูกพรรณไม้น้ำโดยให้สารละลายธาตุอาหารพืชไหลผ่านรากพรรณไม้น้ำอย่างต่อเนื่องตลอดเวลาคล้ายแผ่นฟิล์มบาง ๆ โดยมีความสูงของสารละลายธาตุอาหารประมาณ 3-5 มิลลิเมตร ระบบนี้ประกอบด้วยรางปลูกพรรณไม้น้ำขนาดกว้าง 5-35 เซนติเมตร สูง 5-10 เซนติเมตร และยาว 5-20 เมตร อัตราไหลอยู่ในช่วง 1-2 ลิตร/นาที่/ราง รางปลูกสามารถทำจากแผ่นพลาสติก 2 หน้า ขาวและดำมีความหนาประมาณ 80 – 200 ไมครอน ทำจาก PVC ขึ้นรูปเป็นรางสำเร็จรูป หรือทำจากโฟมขึ้นรูปเป็นรางติดกัน 3-5 ราง และต่อกันตามแนวยาว แล้วจึงบุภายในด้วยแผ่นพลาสติกกันน้ำรั่ว หรือสามารถทำรางปลูกจากโลหะ เช่น สังกะสี หรือ อะลูมิเนียม จากนั้นจึงบุภายในด้วยพลาสติกเพื่อป้องกันการกัดกร่อนของสารละลาย โดยจะมีปั๊มดูดสารละลายให้ไหลผ่านรางและรากพืชและเวียนกลับมายังถังเก็บสารละลาย (ภาพที่ 2.2)



ภาพที่ 2.2 ระบบ nutrient film technique (NFT)

ที่มา : https://luv2garden.com/hydroponic_nutrient_film.html

(2) ระบบ deep flow techniques (DFT) แบบท่อ เป็นการปลูกพรรณไม้น้ำที่โดยรากของพรรณไม้น้ำแช่อยู่ในน้ำซึ่งมีความสูงประมาณ 3 เซนติเมตร โดยให้สารละลายธาตุอาหารพืชไหลผ่านช่องว่างภายในท่อตลอดเวลา ระบบปลูกประกอบด้วยท่อปลูกซึ่งทำมาจากท่อ PVC สีขาวหรือสีฟ้า ความหนาท่อชั้น 8.5 ขึ้นไป ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของท่อขนาด 2 นิ้ว ยาว 4-18 เมตร และมีการเจาะรูด้านบนของท่อเพื่อปลูกพรรณไม้น้ำ (ภาพที่ 2.3)



ภาพที่ 2.3 ระบบ deep flow techniques (DFT)

ที่มา : ดัดแปลงจาก <https://kasetvilize.blogspot.com/2017/03/drft.html>

(3) ระบบ deep flow techniques (DFT) แบบถาด เป็นระบบปลูกที่รากพืชแช่อยู่ในน้ำซึ่งมีความสูงประมาณ 3 เซนติเมตร โดยให้น้ำไหลผ่านตลอดเวลา โดยที่ถาดปลูกพรรณไม้น้ำทำจากสแตนเลส มีความกว้าง 65 เซนติเมตร ยาว 65 เซนติเมตร สูง 20 เซนติเมตร หรือสามารถปรับขนาดของถาดปลูกได้ตามความต้องการ

(4) ระบบ floating system เป็นระบบการปลูกพรรณไม้น้ำที่รากของพรรณไม้น้ำแช่อยู่ในน้ำ มีแผ่นโฟมเจาะรูเพื่อปลูกพรรณไม้น้ำโดยที่แผ่นโฟมดังกล่าวนี้จะลอยอยู่ในถาดที่ใส่สารละลายธาตุอาหารพืช (ภาพที่ 2.4)



ภาพที่ 2.4 ระบบ floating system

ที่มา : <http://hydroponicscool.blogspot.com/2012/05/hydroponics.html>

2.3.2 ธาตุอาหารที่ใช้ในระบบปลูกแบบไร้ดิน

ธาตุอาหาร คือ ปุ๋ยที่พืชและพรรณไม้น้ำต้องการนำไปใช้ประโยชน์ มีทั้งในรูปของสารบริสุทธิ์และสารประกอบ ซึ่งโดยทั่วไปแล้วในธรรมชาติจะมีสารละลายธาตุอาหารอย่างเพียงพอสังเกตได้จากพรรณไม้น้ำบางชนิดสามารถเจริญงอกงามอยู่ได้บนก้อนหินในลำธารที่มีน้ำไหลผ่าน ทั้งนี้เนื่องจากมีธาตุอาหารละลายอยู่ในน้ำและพรรณไม้น้ำสามารถดูดซึมเอาไปใช้ประโยชน์ได้ (วันเพ็ญ และคณะ, 2535) ส่วนในกรณีที่มีการเลี้ยงพรรณไม้น้ำในปริมาณมากเพื่อการค้า หรือวัตถุประสงค์อื่น ๆ จำเป็นต้องมีการเติมธาตุอาหารหรือปุ๋ยลงไปเพื่อป้องกันไม่ให้พรรณไม้น้ำเกิดการขาดธาตุอาหาร ซึ่งธาตุอาหารดังกล่าวสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ มหาธาตุและจุลธาตุ (ยงยุทธ, 2558)

2.3.2.1 มหธาตุ (macronutrients)

เป็นธาตุอาหารที่พืชต้องการเป็นปริมาณมาก คือธาตุที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารโดยน้ำหนักแห้งเมื่อพืชเจริญเติบโตเต็มวัยสูงกว่า 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ธาตุอาหารประเภทนี้มี 6 ธาตุ สามารถจำแนกออกได้เป็น 2 กลุ่มย่อย คือ ธาตุอาหารหลัก (primary elements) และ ธาตุอาหารรอง (secondary elements) พืชต้องการธาตุอาหารหลักในปริมาณมากในการเติบโต ธาตุอาหารหลักที่มีความสำคัญต่อพรรณไม้น้ำ คือ ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) และโพแทสเซียม (K) ธาตุอาหารรอง คือ แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) และกำมะถัน (S) โดยดิเรก (2547) ได้อธิบายถึงหน้าที่ของธาตุอาหารต่าง ๆ และอาการของพืชเมื่อได้รับธาตุอาหารเหล่านี้มากหรือน้อยเกินไป

(1) ไนโตรเจน (nitrogen, N) เป็นธาตุอาหารที่มีความสำคัญต่อการเติบโตของพืช ถ้าพืชได้รับเพียงพอจะทำให้พืชเจริญเติบโตได้ดี มีความแข็งแรง ใบมีสีเขียวเข้ม ซึ่งโดยปกติแล้วพืชมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของของกรดอะมิโน (amino acid) โปรตีน (protein) กรดนิวคลีอิก (nucleic acid) คลอโรฟิลล์ (chlorophyll) โพรไพลีน (propylene) และฮอร์โมนบางชนิด (ดิเรก, 2547) สารประกอบเหล่านี้มีความสำคัญมากต่อกระบวนการเมตาบอลิซึม (metabolism) ของพืช (ดิเรก และ อธิวิสุนทร, 2544) ในกรณีที่พืชได้รับไนโตรเจนไม่เพียงพอจะส่งผลให้พืชแสดงอาการผิดปกติเกิดสภาวะพร่องคลอโรฟิลล์หรืออาการคลอโรซิส (chlorosis) คือใบพืชจะมีสีเหลือง โดยเกิดจากใบล่างก่อน ทำให้ใบมีสีเขียวเข้มกว่าปกติ ใบแก่มีสีเหลือง ร่วงก่อนกำหนด การแตกใบอ่อนไม่ดี แต่ถ้าหากพืชได้รับไนโตรเจนมากเกินไป จะทำให้พืชมีการเจริญเติบโตทางใบมาก ใบมีการขยายเพิ่มขนาด ใบมีสีเขียวเข้ม ออกดอกยากและช้า คุณภาพผลผลิตไม่ดี พืชไม่ต้านทานต่อโรคหรือแมลง

(2) ฟอสฟอรัส (phosphorus, P) เป็นส่วนประกอบสารอินทรีย์ของพืช เช่น นิวคลีโอโปรตีน (nucleoprotein) ไฟติน (phytin) และฟอสโฟไลปิด (phospholipids) รวมทั้งมีบทบาทมากในกระบวนการเมตาบอลิซึมของพลังงาน โดยเป็นองค์ประกอบของ adenosine diphosphate (ADP), adenosine triphosphate (ATP) และ nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP) ฟอสฟอรัสมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืช คือ ช่วยทำให้การแบ่งเซลล์และการพัฒนาการของส่วนประกอบที่เติบโตของพืช (ยอดและราก) เป็นไปได้ดี ฟอสฟอรัสช่วยให้พืชออกดอกและแก่เร็ว ทำให้พืชมีความแข็งแรง ต้านทานต่อโรคและแมลงได้ดี เมื่อพืชได้รับฟอสฟอรัสไม่เพียงพอจะส่งผลให้พืชมีขนาดของต้นเล็ก ลำต้นและใบแคระแกรน การแตกกิ่งก้านไม่ดี การเติบโตของระบบรากน้อย ใบแก่ของพืชจะมีสีเขียวเข้มหรือสีม่วง เนื่องจากมีการสะสมคาร์โบไฮเดรตมาก

เกินไป แต่ถ้าพืชได้รับฟอสฟอรัสมากเกินไปจะส่งผลต่อการดูดซึมธาตุตัวอื่นได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสังกะสีและเหล็ก จึงทำให้พืชขาดธาตุอาหารทั้งสองชนิดนี้ได้

(3) โพแทสเซียม (potassium, K) เป็นธาตุที่มีผลต่อการทำงานของกระบวนการทางสรีระวิทยา เช่น การสังเคราะห์แสง การทำงานของคลอโรฟิลล์ การกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ นอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องกับการเคลื่อนย้ายแป้งและน้ำตาลในพืช และควบคุมการปิดเปิดของปากใบ ช่วยให้พืชทนทานต่อโรคและแมลงมากขึ้น ถ้าพืชขาดธาตุโพแทสเซียมจะส่งผลทำให้ใบแก่ของพืชมีสีเหลืองซีด โดยจะเริ่มจากขอบใบและปลายใบ ในพืชบางชนิดจะพบจุดสีน้ำตาลไหม้กระจายทั่วทั้งใบ หรือพบจุดสีแดงหรือเหลืองระหว่างเส้นใบในใบอ่อน ถ้าอาการรุนแรงใบจะแห้งและร่วงก่อนกำหนด แต่ถ้าพืชได้รับปริมาณโพแทสเซียมมากเกินไป จะส่งผลทำให้การดูดใช้ธาตุแมกนีเซียมและแคลเซียมของพืชลดลง

(4) แคลเซียม (calcium, Ca) เป็นธาตุอาหารที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับความแข็งแรงของเนื้อเยื่อและเซลล์พืช แคลเซียมจำเป็นต่อการแบ่งเซลล์และการเติบโตของเซลล์ เป็นธาตุที่กระตุ้นให้เอนไซม์หลายชนิดทำงาน มีบทบาทต่อการงอกและการเจริญเติบโตของละอองเกสรตัวผู้ หากพืชขาดแคลเซียมจะมีผลต่อใบอ่อนหรือส่วนที่กำลังเจริญเติบโต เช่น ปลายยอดและปลายราก นอกจากนี้แล้วใบจะผิดปกติ บิดเบี้ยว ม้วนงอ และลำต้นแคระแกรน แต่ถ้าได้รับปริมาณธาตุแคลเซียมมากเกินไปจะไปส่งผลต่อการดูดใช้โพแทสเซียมและแมกนีเซียม

(5) แมกนีเซียม (magnesium, Mg) มีบทบาทสำคัญอย่างยิ่งต่อพืชสีเขียวเนื่องจากเป็นองค์ประกอบของโมเลกุลคลอโรฟิลล์ สัดส่วนของแมกนีเซียมในคลอโรฟิลล์ขึ้นอยู่กับปริมาณธาตุแมกนีเซียมที่พืชได้รับ (ยงยุทธ, 2558) ดังที่กล่าวมาข้างต้นแมกนีเซียมเป็นองค์ประกอบของคลอโรฟิลล์ซึ่งเป็นส่วนสำคัญของการสังเคราะห์แสง นอกจากนี้ยังเป็นตัวกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์แสงมีส่วนช่วยในการเคลื่อนย้ายน้ำตาลภายในพืช และการสร้างน้ำมันในพืช การขาดแมกนีเซียมอาการที่เกิดขึ้นคือ ใบแก่จะมีสีเหลือง โดยที่ขอบใบและบริเวณระหว่างเส้นใบจะมีสีเหลืองที่เห็นได้ชัดแต่เส้นใบยังเขียวอยู่อาการจะเกิดจากปลายและขอบใบก่อนแล้วจะลุกลามไปยังกลางใบและโคนใบ เพราะง่าย ใบจะหักใบร่วงก่อนกำหนด แต่ถ้ามีแมกนีเซียมมากเกินไปจะมีผลต่อการดูดใช้ธาตุโพแทสเซียมและแคลเซียม

(6) กำมะถัน (sulfur, S) เป็นส่วนประกอบของกรดอะมิโนบางชนิด เช่น โปรตีน และโคเอนไซม์ เอ (co-enzyme A) วิตามินบี 1 และองค์ประกอบของสารระเหย (ดิเรก, 2547) ธาตุกำมะถันพบในพืช ประมาณ 0.15-0.5% นักวิชาการหลายท่านมองว่า ความสัมพันธ์ระหว่างธาตุกำมะถันและธาตุไนโตรเจนมีความสำคัญกับพืชมากกว่าธาตุกำมะถันเพียงธาตุเดียว ดังนั้นสัดส่วน

ระหว่างไนโตรเจนต่อกำมะถัน (N/S) จึงสามารถเป็นตัวบ่งบอกถึงความเพียงพอหรือการขาดได้ดีกว่าปริมาณธาตุกำมะถันทั้งหมด (ดิเรก และ อธิวิสุนทร, 2544) ในกรณีที่พืชขาดธาตุกำมะถันจะส่งผลกระทบต่อใบอ่อนหรือส่วนที่กำลังเจริญเติบโต เช่น บริเวณยอดหรือใบอ่อน เกิดอาการเหลืองทั้งต้น ใบอ่อนจะมีสีเหลืองบริเวณระหว่างเส้นกลางใบ อาการผิดปกตินี้คล้ายกับการขาดไนโตรเจนแต่อาการขาดไนโตรเจนจะเกิดที่ใบแก่ (ดิเรก, 2547) การขาดธาตุกำมะถันจะทำให้พืชโตช้า แคระแกรน ลำต้นพอมสูง (ดิเรก และ อธิวิสุนทร, 2544)

2.3.2.2 จุลธาตุ (micronutrients)

เป็นธาตุอาหารที่พืชต้องการแต่ต้องการในปริมาณที่น้อย กล่าวคือธาตุมีความเข้มข้นของธาตุอาหารโดยน้ำหนักแห้งเมื่อพืชเจริญเติบโตเต็มวัยต่ำกว่า 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นปริมาณที่เพียงพอต่อความต้องการของพืชเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต มีด้วยกันอยู่ 8 ธาตุ คือ ธาตุเหล็ก (Fe) แมงกานีส (Mn) ทองแดง (Cu) สังกะสี (Zn) โบรอน (B) โมลิบดีนัม (Mo) คลอรีน (Cl) และนิกเกิล (Ni)

(1) เหล็ก (iron, Fe) เป็นองค์ประกอบของคลอโรฟิลล์ซึ่งสำคัญในการสังเคราะห์แสงของพืชรวม และสำคัญต่อการทำงานของเอนไซม์หลายชนิด รวมทั้งเกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์แสงและการหายใจ อีกทั้งยังมีผลต่อการดูดซึมธาตุอาหารอื่น ๆ อีกด้วย อาการของการขาดธาตุเหล็ก คือ พืชจะเกิดเหลืองซีดระหว่างเส้นใบ (interveinal chlorosis) ใบจะมีสีเหลืองซีดโดยที่เส้นใบยังเขียวอยู่ ในขณะที่พื้นที่ระหว่างเส้นใบมีสีเหลือง ซึ่งจะเกิดที่ใบอ่อนก่อนลุกลามไปยังใบแก่

(2) แมงกานีส (manganese, Mn) มีบทบาทสำคัญในการสังเคราะห์แสง เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน (oxidation-reduction) ในกระบวนการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน รวมทั้งเป็นตัวกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์และเกี่ยวข้องกับการสร้างโปรตีน การขาดธาตุแมงกานีส พืชจะเกิดอาการคลอโรซิส คือ ใบอ่อนจะมีสีเหลืองระหว่างเส้นใบ แต่เส้นใบยังเขียวอยู่ ในบางครั้งใบอาจเกิดการแห้งตายเป็นจุดขนาดเล็กที่มีสีเหลืองบนใบนั้น

(3) สังกะสี (zinc, Zn) เป็นธาตุที่มีความสำคัญต่อการทำงานของเอนไซม์หลายชนิด ธาตุชนิดนี้มีความจำเป็นในกระบวนการสังเคราะห์สาร IAA (indole acetic acid) ซึ่งเป็นสารที่มีผลต่อการขยายตัวของเซลล์พืช นอกจากนั้นธาตุสังกะสียังมีบทบาทที่สำคัญต่อการสร้างแป้งในพืชขึ้น (ดิเรก และ อธิวิสุนทร, 2544) อาการการขาดธาตุสังกะสี คือ ใบจะมีสีเหลืองระหว่างเส้นใบ และมีขนาดเรียวยาวเล็ก ปล้องของลำต้น และกิ่งก้านอ่อนจะสั้นกว่าปกติ ในกรณีที่ขาดธาตุสังกะสีอย่างรุนแรง ใบจะมีจุดสีเหลืองอยู่ทั่วไป

(4) ทองแดง (copper, Cu) เป็นองค์ประกอบของคลอโรพลาสต์ (chloroplast) ซึ่งมีผลเกี่ยวข้องต่อการสังเคราะห์แสงของพืช และมีบทบาทในการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนในกระบวนการหายใจ และยังมีบทบาทในการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ในพืชอีกด้วย อาการขาดธาตุทองแดงจะแตกต่างกันออกไปตามแต่ละชนิดของพืช แต่ที่พบในทั่วไป คือ จะทำให้พืชมีการเจริญเติบโตลดลง ปล้องสั้น เมล็ดลีบ และบริเวณปลายใบอ่อนมีสีซีดหรือขาว

(5) โบรอน (boron, B) เป็นธาตุที่มีความสำคัญต่อการสังเคราะห์และการเคลื่อนย้ายคาร์โบไฮเดรต แป้ง และน้ำตาลในพืช รวมไปถึงการสร้างกรดอะมิโนและโปรตีน การงอก และการเติบโตของละอองเกสรตัวผู้ (pollen) และกิจกรรมต่าง ๆ ของเซลล์พืช เช่น การแบ่งเซลล์ การขยายตัวของเซลล์ การเจริญเติบโตของเซลล์ (ดิเรก, 2547) การดูดน้ำแคลเซียมจะเกิดได้ดีขึ้นเมื่อมีโบรอนอยู่ในปริมาณที่เพียงพอหรือในทางกลับกันอาจกล่าวได้ว่าการดูดน้ำโบรอนจะดีขึ้นเมื่อมีปริมาณแคลเซียมที่เพียงพอ (ดิเรก และ อิทธิสุนทร, 2544) อาการขาดธาตุโบรอนเกิดได้หลายอย่าง แต่ถ้าขาดน้อยจะพบอาการที่ผลก่อน ทำให้การติดผลไม่ดี รูปร่างของผลผิดปกติ

(6) โมลิบดีนัม (molybdenum, Mo) เป็นธาตุที่เป็นองค์ประกอบที่สำคัญของเอนไซม์ 2 ชนิด คือ ไนโตรจีเนส (nitrogenase) ซึ่งมีความสำคัญในการตรึงไนโตรเจนจากอากาศและไนเตรทรีดักเตส (nitrate reductase) โมลิบดีนัมมีบทบาทต่อการเจริญเติบโตของพืชโดยเฉพาะอย่างยิ่งพืชตระกูลถั่ว (ดิเรก และ อิทธิสุนทร, 2544) ช่วยสร้างผนังเซลล์ และคลอโรพลาสต์ รวมทั้งกระบวนการในการสร้างโปรตีน อาการขาดธาตุโมลิบดีนัม พืชจะเกิด intervein chlorosis คือ ใบจะมีสีเหลืองลักษณะเป็นจุดเหลือง ๆ กระจายทั่วไป เส้นใบมีสีเขียว ขอบใบไหม้ งอและแห้งเหี่ยวตายในที่สุด

(7) คลอรีน (chlorine, Cl) ช่วยในการสังเคราะห์แสง ทำให้พืชแก่เร็ว ช่วยในการเจริญเติบโตของยอดและราก อาการขาดหรือเป็นพิษของธาตุคลอรีนลักษณะที่คลอรีนเป็นพิษ คือ ปลายใบหรือขอบใบจะไหม้ ใบเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและร่วงก่อนกำหนด

2.4 ธาตุอาหารต่อการเจริญเติบโตของพืช

พืชต้องการธาตุอาหารที่จำเป็นเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต สร้างระบบสืบพันธุ์และใช้ในการทำหน้าที่ต่าง ๆ พืชที่ได้รับปริมาณธาตุอาหารอย่างเพียงพอต่อความต้องการจะทำให้พืชมีการเจริญเติบโตที่ดี ซึ่งจะขึ้นอยู่กับธาตุอาหารที่เฉพาะเจาะจงและชนิดของพืชด้วย ถ้าพืชได้รับปริมาณธาตุอาหารมากหรือน้อยเกินไปจะส่งผลให้การเจริญเติบโตหรือสุขภาพของพืชแย่ลง (DalCorso et al., 2014 ; McCauley et al., 2011 ; Saad and Elshahed, 2012 ; Thorpe, 2007)

2.4.1 ธาตุอาหารต่อการเจริญเติบโตของพืชที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสิ่งสำคัญคือ อาหารที่ใช้เพื่อการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งพืชแต่ละชนิดก็มีความต้องการธาตุอาหารที่แตกต่างกัน ดังนั้นการหาสูตรอาหารที่เหมาะสมกับพืชจึงเป็นสิ่งสำคัญ (อารีย์, 2541) จากการศึกษาของ Assis et al. (2012) ที่ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นมะม่วงหิมพานต์ (*Anacardium othonianum* Rizz) ในอาหารกึ่งแข็ง MS ที่มีปริมาณธาตุอาหารแตกต่างกัน พบว่า เนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร ¼ และ ½ MS มีความสูงของชิ้นเนื้อเยื่อ และความยาวใบดีกว่าในสูตรอาหาร MS ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Baque et al. (2010) ที่ศึกษาผลของปริมาณธาตุอาหารในอาหารกึ่งแข็ง MS ในต้นยอ (*Morinda citrifolia* L.) พบว่าสูตรอาหาร ¼ MS มีอัตราการเจริญเติบโตของชิ้นเนื้อเยื่อ ราก น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของรากดีกว่าในสูตรอาหารที่มีปริมาณธาตุอาหารสูง 1.5 และ 2.0 เท่า (1.5 MS และ 2.0 MS ตามลำดับ) และจากการศึกษาของ Monfort et al. (2018) พบว่าการลดปริมาณธาตุอาหารลงครึ่งหนึ่ง (½ MS) ส่งผลให้พืชมีการเจริญเติบโตดีไม่แตกต่างกับพืชที่ให้อาหารปกติ (MS) ในทางกลับกันพืชที่ได้รับธาตุอาหารมากเกินไปส่งผลทำให้มีการเจริญเติบโตลดลงไม่แตกต่างกับพืชที่ได้รับธาตุอาหารไม่เพียงพอ และเป็นอันตรายต่อรากด้วย

2.4.1.1 ฟอสฟอรัสต่อการเจริญเติบโตของพืชที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารที่สำคัญที่มีผลต่อการเจริญเติบโต พัฒนาการ และการสืบพันธุ์ของพืช มีส่วนสำคัญในการสร้างกรดนิวคลีอิก (nucleic acids) อีกทั้งยังเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) และมีหน้าที่ในการควบคุมการทำงานทางชีวภาพของพืชด้วย โดยปกติแล้วพืชจะสามารถดูดซึมฟอสฟอรัสในรูปของออร์โธฟอสเฟต (orthophosphate) $H_2PO_4^-$ และ HPO_4^{2-} (Pandey et al., 2014) ฟอสฟอรัสสามารถเคลื่อนผ่านเข้าไปในพืชผ่านทางขนราก (root hairs) ปลายราก (root tips) และบริเวณพินนอกสุดของเซลล์ราก (root cells) (Schachtman et al., 1998) จากการศึกษาของ Figas et al. (2016) ที่ศึกษาผลของฟอสฟอรัสที่แตกต่างกัน 3 ระดับ ต่อการเจริญเติบโตและปริมาณเม็ดสี (pigment) ในการสังเคราะห์แสงของต้นเฮลิคริซัมในสภาพปลอดเชื้อพบว่า ฟอสฟอรัสมีผลต่อการเจริญเติบโต ความยาวราก ปริมาณของคลอโรฟิลล์ a และ b ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Ramezani et al. (2009) ที่ศึกษาผลของฟอสฟอรัสต่อการเจริญเติบโตและปริมาณผลผลิต ในต้นโหระพาพบว่าฟอสฟอรัสมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชโดยจะส่งผลต่อความสูงต้น ความสูงของช่อดอก และปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบเช่นกัน

2.4.2 ธาตุอาหารต่อการเจริญเติบโตของพืชที่ปลูกในระบบปลูกแบบไร้ดิน

การปลูกพืชในระบบปลูกไร้ดิน ปัจจัยที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืชก็คือธาตุอาหาร เพื่อการนำไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสง ปริมาณธาตุอาหารที่พืชต้องการก็จะแตกต่างกันไปตามแต่ละชนิดของพืช (ถวิล, 2546) จากการศึกษาของ Chrysargyris (2016) ที่ศึกษาผลของความเข้มข้นของไนโตรเจน และฟอสฟอรัสต่อลักษณะการเจริญเติบโต การสะสมธาตุอาหาร ในต้นลาเวนเดอร์ พบว่าปริมาณของไนโตรเจนมีผลต่อปริมาณของธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองในใบและราก ส่วนปริมาณของฟอสฟอรัสส่งผลต่อการเจริญเติบโตของราก รวมทั้งส่งผลต่อการดูดซึมแร่ธาตุอาหารและการนำไปใช้ได้ ส่วนการที่พืชได้รับธาตุอาหารไม่เพียงพอต่อความต้องการพืชจะแสดงอาการของการขาดธาตุอาหารออกมาให้เห็น (McCaughey et al., 2011) จากการศึกษาของ Tewari et al. (2007) พบว่าพืชที่มีการขาดไนโตรเจนหรือฟอสฟอรัสส่งผลให้ใบแก่เร็วขึ้น ใบมีสีเขียวซีด ยอดดอกมีขนาดพอมและสั้นรวมทั้งยังไปยับยั้งการเติบโตของราก ความสูงของต้น และผลผลิตมวลแห้งลดลง หรือถ้าพืชได้รับสารอาหารมากเกินไปก็ส่งผลเสียต่อพืชได้เช่นกัน

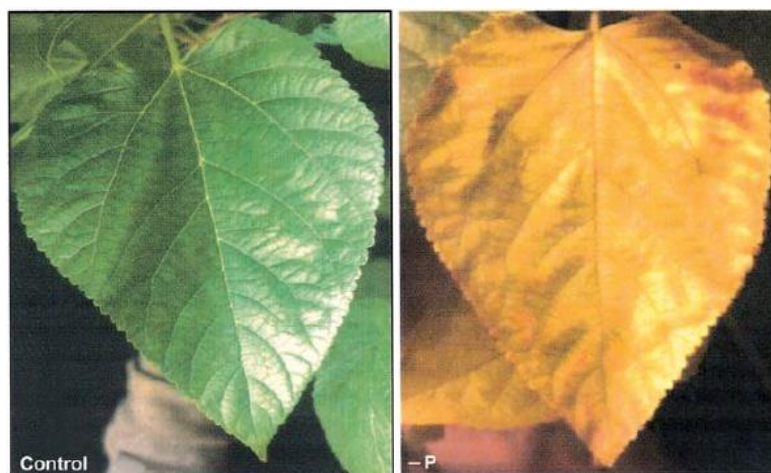
2.4.2.1 ฟอสฟอรัสต่อการเจริญเติบโตของพืชที่ปลูกในระบบปลูกแบบไร้ดิน

ฟอสฟอรัสที่สะสมอยู่ในพืชจะเป็นส่วนหนึ่งของสารประกอบอินทรีย์ที่สำคัญต่าง ๆ เช่น กรดนิวคลีอิกทั้ง 2 ชนิด ซึ่งได้แก่ กรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิก (deoxyribonucleic acid; DNA) และ กรดไรโบนิวคลีอิก (ribonucleic acid; RNA) ฟอสโฟโปรตีน (phosphoproteins) ฟอสโฟลิปิด (phospholipids) น้ำตาลฟอสเฟต (sugar phosphates) เอนไซม์ (enzymes) และอะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (adenosine triphosphate; ATP) (Armstrong, 1999) โดยมี ATP ซึ่งก็คือสารประกอบฟอสเฟตพลังงานสูง (high phosphate energy compound) เป็นตัวควบคุมการทำงานต่าง ๆ ของพืช ได้แก่ ขบวนการสังเคราะห์แสง (photosynthesis) การขนส่งธาตุอาหาร (nutrient transport) การหายใจ (respiration) การสังเคราะห์โปรตีนและสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก (Khan and Zaidi, 2009)

จากการศึกษาของ Chrysargyris et al. (2019) ที่ศึกษาผลของฟอสฟอรัสที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน 5 ระดับ (30-70 มิลลิกรัม/ลิตร) ต่อผลผลิตทางการเกษตรในต้นสเปียร์มินต์ (*Mentha spicata* L.) ที่ปลูกในระบบปลูกไร้ดินแบบ DFT พบว่า ฟอสฟอรัสมีผลต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาในต้นสเปียร์มินต์ โดยปริมาณของฟอสฟอรัสที่ 70 มิลลิกรัม/ลิตร ส่งผลให้มีปริมาณมวลน้ำหนักแห้งของต้นเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากปริมาณของฟอสฟอรัสจะเกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง และปฏิกิริยาการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Nell et al. (2009) ที่ศึกษาผลของปริมาณฟอสฟอรัสที่เพิ่มขึ้นในต้นเสจ (*Salvia officinalis* L.) พบว่า การให้ฟอสฟอรัสอย่างเพียงพอจะช่วยเพิ่มผลผลิตทางชีวมวลในต้นเสจ เพราะปริมาณของฟอสฟอรัสที่

เพิ่มขึ้นมีผลทำให้อัตราการสังเคราะห์แสงเพิ่มขึ้นซึ่งพืชแต่ละชนิดก็จะมีความต้องการปริมาณของฟอสฟอรัสที่แตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมในการเพาะปลูก สภาพอากาศ ระยะการเติบโตของพืช ชนิดของพืช รวมถึงการตัดแปลงสายพันธุ์ และอัตราส่วนของธาตุอาหาร (Erbas et al., 2017 ; Chrysargyris et al., 2016 ; Chrysargyris et al., 2019)

ในกรณีที่พืชมีปริมาณธาตุฟอสฟอรัสไม่เพียงพอจะทำให้การเติบโตและผลผลิตของพืชลดลง (Pandey et al., 2014) การต้านทานต่อโรคของพืชจะลดลงเช่นกัน อาการของพืชที่พบเมื่อขาดฟอสฟอรัส เช่น มีขนาดของต้นเล็ก ลำต้นและใบแคระแกรน จำนวนใบจะมีปริมาณลดลง ความกว้างและพื้นที่ผิวของใบลดลง ในพืชบางชนิด ใบจะมีสีเขียวเข้มผิดปกติซึ่งเป็นผลจากการสะสมน้ำตาลและการสะสมของแอนโทไซยานิน (anthocyanin) นอกจากนี้การขาดธาตุฟอสฟอรัสในพืชอาจส่งผลให้พืชมีการแตกกิ่งก้านไม่ดี การเติบโตของระบบรากน้อย แดกหน่อและออกดอกช้าด้วย (Pandey et al., 2014 ; Erbas et al., 2017 ; Armstrong, 1999 ; Khan and Zaidi, 2009) จากการศึกษาของ Tewari et al. (2007) ที่ศึกษาผลของการขาดธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัสหรือโพแทสเซียมในต้นมัลเบอร์รี่ (ต้นหม่อน) พบว่าอาการที่สามารถเห็นได้ชัดเมื่อพืชเกิดอาการขาดฟอสฟอรัส คือ ส่งผลให้ใบแก่เร็วมากขึ้น ทำให้ใบมีสีเหลืองซีด (ภาพที่ 2.5) นอกจากนี้ยังส่งผลให้ยอดของพืชมีขนาดเล็กบาง และสั้น ทั้งยังส่งผลให้รากมีการเติบโตช้าลง นอกจากนี้ยังส่งผลให้พืชมีความสูงของต้นลดลง และมีมวลน้ำหนักแห้งลดลงด้วย (ตารางที่ 2.1)



ภาพที่ 2.5 ผลของการขาดธาตุฟอสฟอรัส (-P) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (control)

ที่มา : Tewari et al. (2007)

ตารางที่ 2.1 ผลของการขาดฟอสฟอรัสต่อน้ำหนักแห้ง และอัตราส่วนของยอดกับรากในต้นมันเบอรรี่

กลุ่มการทดลอง	ผลผลิตมวลแห้ง (กรัม/ต้น)			อัตราส่วน ยอด/ราก
	ยอด	ราก	รวม	
ควบคุม	142.27 ± 4.48 ^a	26.51 ± 0.72 ^a	168.77 ± 5.20 ^a	5.35 ± 0.03 ^a
ขาดฟอสฟอรัส	34.13 ± 0.54 ^b	8.25 ± 0.04 ^b	42.38 ± 0.58 ^b	4.19 ± 0.02 ^b

ที่มา : ดัดแปลงจาก Tewari et al. (2007)

การขาดฟอสฟอรัสทำให้การเจริญเติบโตของพืช ผลผลิตทางมวลชีวภาพลดลง และมีอาการให้เห็นว่าพืชเกิดการขาดธาตุอาหาร เนื่องการสะสมสารอนุมูลอิสระ (reactive oxygen species, ROS) ในรูปของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, H₂O₂) ในใบเพิ่มมากขึ้น ส่งผลทำให้ใบให้มีการสูญเสียตรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์แสงจึงทำให้พืชมีอาการใบเหลืองหรือเกิดการตายเฉพาะส่วนทำให้ความสามารถในการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ (carbon dioxide, CO₂) และการสะสมพลังงานลดลง (Tewari et al., 2007 ; Chrysargyris et al., 2016 ; Chrysargyris et al., 2019) ในทางกลับกันถ้าพืชได้รับปริมาณธาตุอาหารมากเกินไปก็ส่งผลเสียต่อพืชได้เช่นกัน (Erbaş et al., 2017)

2.5 ธาตุอาหารต่อสารต้านอนุมูลอิสระของพืช

โดยทั่วไปแล้วไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม เป็นธาตุอาหารที่พืชต้องการในปริมาณที่มากและมีส่วนสำคัญต่อการเติบโตของพืช รวมทั้งมีส่วนสำคัญต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมปฐมภูมิ (primary metabolite) ซึ่งเป็นกระบวนการที่จำเป็นต่อการเติบโตของพืชเป็นหลัก และกระบวนการเมตาบอลิซึมทุติยภูมิ (secondary metabolite) ซึ่งเป็นกระบวนการที่มีผลมาจากกระบวนการเมตาบอลิซึมปฐมภูมิ ทำหน้าที่ในการสร้างสารต่าง ๆ ซึ่งมีประโยชน์หลาย ๆ ด้านต่อพืช สารเมตาบอลิซึมทุติยภูมิเป็นสารที่พืชสร้างขึ้นมาสะสมเอาไว้ภายในเซลล์ เพื่อตอบสนองต่อสิ่งเร้าที่มารบกวนทั้งจากสิ่งมีชีวิต (เชื้อโรค หรือแมลง) สภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ความเค็ม น้ำ ภัยแล้ง สารพิษ โลหะหนัก และธาตุอาหาร รวมทั้งความเครียดต่าง ๆ ซึ่งเป็นกลไกของพืชเพื่อใช้ในการต่อต้านกับเชื้อโรคและความเครียดที่เกิดขึ้น การที่พืชได้รับการกระตุ้นจากสิ่งเร้าเหล่านี้ส่งผลให้พืชมีการสร้างสารเมตาบอลิซึมทุติยภูมิเพิ่มมากขึ้น (Murthy et al., 2014 ; Rao and Ravishankar, 2002) เมตาบอลิซึมทุติยภูมิสามารถแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มหลัก ๆ ได้แก่ เทอร์พีนอยด์ (terpenoids) สารประกอบฟีนอลิก (phenolics compounds) อัลคาลอยด์ (alkaloids) และกลุ่มสารประกอบกำมะถัน (sulphur-containing compounds) (Guerriero et al., 2018)

2.5.1 ธาตุอาหารต่อสารต้านอนุมูลอิสระของพืชที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

จากการศึกษาของ Monfort et al. (2018) ที่ศึกษาผลของอาหารกึ่งแข็ง MS ที่มีปริมาณธาตุอาหารแตกต่างกันต่อผลผลิตขององค์ประกอบ volatile fraction ที่พบในต้นโหระพา พบว่า ในสูตรอาหารที่มีการลดปริมาณธาตุอาหารลงส่งผลให้มีผลผลิตขององค์ประกอบในต้นโหระพาที่มีปริมาณมากกว่าสูตรอาหารที่เพิ่มปริมาณธาตุอาหารเป็น 2 เท่า จากการศึกษานี้ของ Wu et al. (2006) ที่ศึกษาสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงต้นเอ็กโคไคนาต่อปริมาณฟีนอลิกในราก พบว่าสูตรที่มีการลดปริมาณธาตุอาหารลงจะมีปริมาณผลผลิตของฟีนอล และฟลโวนอยด์สูงกว่าในสูตรอาหารที่มีปริมาณอาหารมากกว่า และจากการศึกษาของ Baque et al. (2010) พบว่า ปริมาณของสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิในต้นขมิ้นที่ปลูกในสูตรอาหาร ¼ MS และ 2 MS มีปริมาณสูงที่สุดเมื่อเทียบกับสูตรอาหารอื่น และจากการศึกษาของ Muller et al. (2013) ที่ได้ศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) และโพแทสเซียม (K) ต่อการให้ผลผลิตและใบ รวมถึงปริมาณสารเซนเทลโลไซด์ (centelloside) ที่เป็นสารทุติยภูมิในใบบวบ โดยใส่สารละลายที่มีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมอยู่ที่ 0, 30, 60, 100 หรือ 150% ซึ่งจากการศึกษาพบว่าปริมาณของธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมมีความสำคัญต่อปริมาณของการให้ผลผลิตของพืชสมุนไพรและใบ รวมถึงปริมาณสารเซนเทลโลไซด์ ถ้ามีปริมาณสารอาหารเหล่านี้ไม่เพียงพอจะส่งผลกระทบต่อพืชอย่างมาก

2.5.1.1 ฟอสฟอรัสต่อสารต้านอนุมูลอิสระของพืชที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

จากการศึกษาของ Nagella and Murthy (2011) พบว่า การเพิ่มปริมาณของระดับฟอสเฟตเป็น 2 เท่าในสูตรอาหาร MS สามารถทำให้มีการสะสมของ withanolide-A ในโสมอินเดียเพิ่มมากขึ้นอย่างเห็นได้ชัด แต่ในทางกลับกันมีงานวิจัยที่ชี้ให้เห็นว่าการจำกัดปริมาณฟอสเฟตก็สามารถช่วยเพิ่มปริมาณการสร้างสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิได้จากการศึกษาของ Bramble and Graves (1991) ที่ศึกษาผลของฟอสฟอรัสต่อการผลิตสารอัลคาลอยด์ในต้นกาแฟอาราบิก้า พบว่าสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลงส่งผลทำให้การผลิตสารอัลคาลอยด์ในต้นกาแฟอาราบิก้าเพิ่มมากขึ้น

2.5.2 ธาตุอาหารต่อสารต้านอนุมูลอิสระของพืชที่ปลูกในระบบปลูกแบบไร้ดิน

พืชสมุนไพรได้รับความสนใจมากขึ้นจากทั้งทางการแพทย์ อุตสาหกรรม และประชาชนทั่วไป ทำให้มีความต้องการเพิ่มมากขึ้น จึงทำให้มีการศึกษาเพื่อทำให้มีผลผลิตเพิ่มมากขึ้น และมีปริมาณให้เพียงพอต่อความต้องการของตลาด ปัจจัยหนึ่งที่สำคัญต่อการเพิ่มผลผลิตของพืชสมุนไพรก็คือธาตุอาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งธาตุฟอสฟอรัสซึ่งเป็นธาตุอาหารที่สำคัญที่มีผลต่อการ

เจริญเติบโต พัฒนาการ และการสืบพันธุ์ของพืช ทำให้มีความสนใจที่จะศึกษาผลของปริมาณฟอสฟอรัสที่พืชได้รับต่อการเติบโตของพืช

2.5.2.1 ฟอสฟอรัสต่อสารต้านอนุมูลอิสระของพืชที่ปลูกในระบบปลูกแบบไร้ดิน

พืชสมุนไพรมีคุณสมบัติในการต้านจุลชีพ และต้านอนุมูลอิสระที่มีคุณภาพสูง ซึ่งการเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของสารต้านอนุมูลอิสระจะสัมพันธ์กับธาตุอาหารที่พืชได้รับ โดยเฉพาะฟอสฟอรัสที่มีหน้าที่เกี่ยวกับการถ่ายเทพลังงานซึ่งเป็นขบวนการทางสรีรวิทยาที่สำคัญ พลังงานที่ได้จากการสังเคราะห์แสงและเมตาโบลิซึมของสารประกอบฟอสเฟต (อะดีโนซีน-ไตรฟอสเฟต, ATP) สำหรับใช้ในการเติบโตและการสืบพันธุ์ของพืช นอกจากนี้ฟอสฟอรัสยังเป็นส่วนประกอบของนิวคลีโอไทด์ ฟอสโฟไลปิด (phospholipids) โคเอนไซม์ (coenzymes) โดยเป็นตัวกระตุ้นกรดอะมิโนให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีน DNA และ RNA ด้วย จากการศึกษาในพืชชนิดต่าง ๆ พบว่าปริมาณของฟอสฟอรัสส่งผลต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระอย่างเห็นได้ชัด (ตารางที่ 2.2) โดยเฉพาะปริมาณของ total polyphenols, flavonoids รวมทั้งประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) และ ferric reducing antioxidant power (FRAP)

ตารางที่ 2.2 ผลของฟอสฟอรัสต่อสารต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพรชนิดต่าง ๆ

ผลของฟอสฟอรัส	ชนิด			
	ต้นเสจ (<i>Salvia officinalis</i> L.)	ต้นสเปียร์มินต์ (<i>Mentha spicata</i> L.)	ต้นชาเขียว (<i>Camellia sinensis</i>)	ต้นลาเวนเดอร์ (<i>Lavandula angustifolia</i> Mill.)
สารต้านอนุมูลอิสระที่พบ	rosmarinic acid	rosmarinic acid	polyphenols	polyphenols
Total polyphenols	✓	✓	✓	✓
Flavonoids	ND	ND	✓	✓
DPPH	ND	✓	ND	✓
FRAP	ND	✓	ND	✓
ปริมาณที่เหมาะสม	136 มก./ล	70 มก./ล	≥ 160 ไมโครโมล	60 มก./ล
ส่วนที่นำมาใช้	ใบ	ใบ, ดอก, ต้น	ยอดอ่อน, ช่อดอก	ทุกส่วน
อ้างอิง	Nell et al. (2009)	Chrysargyris et al. (2019)	Lin et al. (2012)	Chrysargyris et al. (2016)

* เมื่อ ✓ = ส่งผล, X = ไม่ส่งผล และ ND = ไม่มีข้อมูล

จากการศึกษาของ Tewari et al. (2007) พบว่าเมื่อพืชได้รับฟอสฟอรัสไม่เพียงพอส่งผลทำให้มีปริมาณของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพิ่มขึ้นทำให้พืชมีการสะสมสารอนุมูลอิสระในใบเพิ่มมากขึ้น มีอาการใบเหลืองส่งผลต่อการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ และทำให้การสะสมพลังงาน

ลดลงเนื่องมาจากฟอสฟอรัสเกี่ยวข้องกับกระบวนการขนส่งประจุไฟฟ้า เมื่อพืชเกิดการขาดฟอสฟอรัสจะทำให้การขนส่งประจุไฟฟ้าลดลงอย่างมากและเกิดอนุมูลอิสระขึ้น ส่งผลให้พืชสูญเสียรงควัตถุเพื่อใช้ในการสังเคราะห์แสง ทำให้การสังเคราะห์แสงในพืชลดลง (Tewari et al., 2007) โดยฟอสฟอรัสทำให้เกิดโคเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการขนส่งพลังงานซึ่งเป็นพลังงานที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง เช่น adenosine triphosphate (ATP) และ nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP) ที่เป็นพลังงานเพื่อใช้ในการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ รวมทั้งเป็นองค์ประกอบต่าง ๆ ที่สำคัญในธรรมชาติ (Ramezani et al., 2009)

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 พรรณไม้ที่ทดลอง

ต้นพรณมิ (*Bacopa monnieri*) ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรณมิไม้

3.1.1 การทดลองที่ 1 และ 2 ใช้เนื้อเยื่อต้นพรณมิอายุ 6 สัปดาห์ ที่เลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS สำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในห้องปฏิบัติการ

3.1.2 การทดลองที่ 3 ใช้เนื้อเยื่อต้นพรณมิอายุ 6 สัปดาห์ ที่เลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS สำหรับการปลูกในระบบปลูกแบบไร้ดิน

3.2 อุปกรณ์และสารเคมีในการทดลอง

3.2.1 การทดลองในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

- (1) อาหารกึ่งแข็งสูตร MS
- (2) กรดไฮโดรคลอริก (HCl) 1 N และ โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) 1 N
- (3) เจลไรต์ (gelrite) ซึ่งเป็นสารที่ทำให้อาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ใช้เพาะเลี้ยงต้นพรณมิแข็งตัว
- (4) ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 6 ออนซ์
- (5) หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave)

3.2.2 การทดลองในระบบปลูกแบบไร้ดิน

(1) ชุดรางระบบปลูกไร้ดินแบบ DFT เป็นราง PVC ขนาด 2 นิ้ว ความยาว 1.7 เมตร จำนวน 12 ราง ด้านบนเจาะช่องปลูกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 45 มิลลิเมตร จำนวน 13 ช่อง โดยมีถังใส่สารละลายธาตุอาหารและมีปั้มน้ำเพื่อใช้ในการดูดสารละลายให้ไหลเข้าสู่รางและไหลผ่านรากพืช แล้วหมุนเวียนกลับมายังถังเก็บสารละลาย

- (2) ถังใส่สารละลายธาตุอาหารขนาด 15 ลิตร จำนวน 12 ถัง
- (3) ปั้มน้ำขนาด 1,600 ลิตรต่อชั่วโมง
- (4) เครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า (electrical conductivity meter)
- (5) เครื่องวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH meter) รุ่น HI 98150

(6) กรดไนตริก (HNO₃) 10% และ โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) 10%

(7) สารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2

3.3 วิธีดำเนินการ

3.3.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาผลของปริมาณธาตุอาหารในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรมมิที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

3.3.1.1 แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (complete randomized design; CRD) มีความเข้มข้นของปริมาณธาตุอาหาร แตกต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ ¼ MS, ½ MS, MS (ชุดควบคุม) และ 2 MS ชุดทดลองละ 20 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ต้น ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ปลุกขึ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีการลดปริมาณธาตุอาหารลง ¼ เท่า (¼ MS)

ชุดการทดลองที่ 2 ปลุกขึ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีการลดปริมาณธาตุอาหารลง ½ เท่า (½ MS)

ชุดการทดลองที่ 3 ปลุกขึ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลองที่ 4 ปลุกขึ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีการเพิ่มปริมาณธาตุอาหารขึ้น 2 เท่า (2 MS)

3.3.1.2 วิธีการทดลอง

(1) เตรียมอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณธาตุอาหารแตกต่างกัน 4 ระดับ (ตารางที่ 3.1) ทำการปรับ pH ให้ได้ 5.62 โดยใช้ HCl 1 N และ KOH 1 N หลังจากนั้นเติมเจลไรต์ (gelrite) 1.6 กรัม ต้มจนเจลไรต์ละลายแล้วจึงบรรจุใส่ลงขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 6 ออนซ์ จากนั้นจึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้ออาหารด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

(2) เตรียมชิ้นเนื้อเยื่อที่ใช้ในการศึกษาโดยการนำชิ้นเนื้อเยื่อของต้นพรมมิส่วนที่เป็นข้อมาตัดเป็นชิ้นเนื้อเยื่อขนาด 1 เซนติเมตร ย้ายชิ้นเนื้อเยื่อดังกล่าวมาเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณธาตุอาหารแตกต่างกัน จากนั้นนำไปเลี้ยงไว้บนชั้นเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยมีการให้แสงเป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

ตารางที่ 3.1 ปริมาณธาตุอาหารของอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่างกัน 4 ระดับ

ปริมาณธาตุอาหาร (มิลลิกรัม/ลิตร)		ปริมาณธาตุอาหาร			
		¼ MS	½ MS	MS (Control)	2 MS
1. มหธาตุ	NH ₄ NO ₃	412.5	825	1,650	3,300
	KNO ₃	475	950	1,900	3,800
	CaCl ₂ ·2H ₂ O	110	220	440	880
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	92.5	185	370	740
	KH ₂ PO ₄	42.5	85	170	340
2. จุลธาตุ	H ₃ BO ₃	1.55	3.10	6.2	12.4
	MnSO ₄ ·H ₂ O	5.575	11.15	22.3	44.6
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	2.15	4.3	8.6	17.2
	KI	0.2075	0.415	0.83	1.66
	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.0625	0.125	0.25	0.5
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.0063	0.0125	0.025	0.05
	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.0063	0.0125	0.025	0.05
	Na ₂ EDTA	9.3125	18.625	37.25	74.5
3. เหล็ก	FeSO ₄ ·7H ₂ O	6.9625	13.925	27.85	55.7
4. วิตามิน	Glycine	0.5	1	2	4
	Nicotinic acid	0.125	0.25	0.5	1
	Pyridoxine	0.125	0.25	0.5	1
	Thiamine	0.025	0.05	0.1	0.2
	Inositol	25	50	100	200
5. น้ำตาลซูโครส		7,500	15,000	30,000	60,000

ที่มา : Murashige and Skoog (1962)

3.3.1.3 การเก็บข้อมูลการเจริญเติบโต

(1) วัดความสูงของชิ้นเนื้อเยื่อใช้เวอร์เนียคาลิเปอร์ (vernier caliper) วัดจากส่วนของชิ้นเนื้อเยื่อที่โผล่พ้นจากอาหารกึ่งแข็ง MS ไปจนถึงยอดที่สูงที่สุดของชิ้นเนื้อเยื่อ

- (2) นับจำนวนใบที่เพิ่มขึ้น
- (3) นับจำนวนข้อที่เพิ่มขึ้น
- (4) นับจำนวนรากเพิ่มขึ้น
- (5) นับจำนวนยอดที่เพิ่มขึ้น

โดยบันทึกข้อมูลทั้งก่อนการทดลองและระหว่างการทดลองทุก ๆ สัปดาห์เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ จากนั้นนำแต่ละชุดการทดลองมาชั่งปริมาณน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

3.3.1.4 การศึกษาการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในชั้นเนื้อเยื่อต้นพรหมมิ (antioxidant)

(1) ขั้นตอนการสกัด นำชั้นเนื้อเยื่อต้นพรหมมิมาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำเอาเนื้อเยื่อต้นพรหมมิไปปั่นละเอียด จากนั้นนำตัวอย่างแห้งปริมาณ 0.20 กรัม มาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% ปริมาตร 20 มิลลิลิตร แช่เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ต่อมาใช้กระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman No.1) กรองสารสกัดที่ได้โดยเอาส่วนที่เป็นสารละลายแยกเก็บรักษาไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

(2) การหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

(2.1) ปริมาณฟีนอลทั้งหมด (total phenolic compounds; TPC) ด้วยวิธีโฟลินซิโอแคลตดู (Folin-ciocalteu reagent) (ดัดแปลงจาก Lim and Mutijaya, 2007) ใช้ตัวอย่างสารสกัดจากต้นพรหมมิปริมาตร 1 มิลลิลิตรผสมกับน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน เติม 10% Folin - Ciocalteu reagent ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มีคานาน 5 นาที จากนั้นเติมโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มีคานาน 1 ชั่วโมง นำสารละลายที่ได้มาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง spectrophotometer ในการวัดค่า จากนั้นจึงบันทึกผลการวิเคราะห์และนำค่าดูดกลืนแสงที่ได้เทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก มีหน่วยเป็น ไมโครกรัม/กรัม

(2.2) ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (total flavonoid content, TFC) (ดัดแปลงจาก Shirazi et al., 2014) ใช้ตัวอย่างสารสกัดจากต้นพรหมมิปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันในหลอดทดลอง เติม 5% NaNO_2 ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ 5 นาที หลังจากนั้นเติม 10% AlCl_3 ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ 6 นาที เติม 1 M โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่น 2.4 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ 30 นาที นำสารละลายที่ได้มาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง spectrophotometer ในการวัด จากนั้นจึงบันทึกผลการวิเคราะห์และนำค่าดูดกลืนแสงที่ได้เทียบกับสารละลายมาตรฐานลูทีโอลิน (luteolin; LE) มีหน่วย มิลลิกรัม/กรัม

(2.3) ปริมาณซาโปนินรวม (total saponin content, TSC) (ดัดแปลงจาก Vador et al., 2012) ใช้ตัวอย่างสารสกัดจากต้นพรหมมิปริมาตร 500 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงไปในสารสกัดตัวอย่าง เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้ง

ทิ้งไว้นาน 10 นาที จากนั้นเติมกรดซัลฟิวริก (sulphuric acid reagent) 50% ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงไปในหลอดทดลอง นำหลอดทดลองไปต้มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) โดยควบคุมอุณหภูมิของน้ำไว้ที่ 60 องศาเซลเซียส ต้มทิ้งไว้นาน 10 นาที จากนั้นตั้งสารทิ้งไว้ให้เย็นตามอุณหภูมิห้อง นำสารละลายที่ได้มาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 435 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง spectrophotometer ในการวัด จากนั้นจึงบันทึกผลการวิเคราะห์และนำค่าดูดกลืนแสงที่ได้เทียบกับสารละลายมาตรฐานสารซาโปนิน

(3) การวิเคราะห์ปฏิกิริยาในการต้านอนุมูลอิสระ

(3.1) การวิเคราะห์ด้วยวิธี 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (ดัดแปลงจาก Lim and Mutijaya, 2007) ใช้ตัวอย่างสารสกัดจากต้นพรมมีปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ผสมกับเอทานอล 95% ปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร หลังจากนั้นจึงเติมสาร DPPH ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงไปในสารสกัดและเขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มืดนาน 30 นาที ต่อมาจึงนำสารละลายที่ได้มาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 516 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง spectrophotometer ในการวัดค่า จากนั้นจึงบันทึกผลการวิเคราะห์และนำเอาค่าที่ได้มาคำนวณตามสูตร

$$\text{การกำจัดอนุมูล DPPH (\%)} = \frac{\text{ค่าดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม} - \text{ค่าดูดกลืนแสงของหลอดตัวอย่าง}}{\text{ค่าดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม}} \times 100$$

(3.2) การวิเคราะห์ด้วยวิธี 2, 2'-azinobis-[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid] (ABTS) radical scavenging assay (ดัดแปลงจาก Nilsson et al., 2005) ใช้ตัวอย่างสารสกัดจากต้นพรมมีเข้มข้น 10% ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง จากนั้นจึงเติมสาร ABTS ที่เจือจางแล้ว 50 เท่าปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงไปในหลอดทดลอง เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้นาน 6 นาที นำสารละลายที่ได้มาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง spectrophotometer ในการวัดค่า จากนั้นจึงบันทึกผลการวิเคราะห์และนำเอาค่าที่ได้มาคำนวณตามสูตร

$$\text{การกำจัดอนุมูล ABTS (\%)} = \frac{\text{ค่าดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม} - \text{ค่าดูดกลืนแสงของหลอดตัวอย่าง}}{\text{ค่าดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม}} \times 100$$

3.3.2 การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของปริมาณฟอสฟอรัสในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรมมิที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

3.3.2.1 แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) โดยเฉพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรมมิในอาหาร MS ที่มีความเข้มข้นของปริมาณฟอสฟอรัส (P) ในรูป KH_2PO_4 แตกต่างกัน 4 ระดับ (ตารางที่ 3.2) ได้แก่ $\frac{1}{4}$ P, $\frac{1}{2}$ P, P (ชุดควบคุม) และ 2 P ชุดการทดลองละ 20 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ต้น

ชุดการทดลองที่ 1 ปลูกชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีการลดปริมาณ

ฟอสฟอรัสลง $\frac{1}{4}$ เท่า ($\frac{1}{4}$ P)

ชุดการทดลองที่ 2 ปลูกชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีการลดปริมาณ

ฟอสฟอรัสลง $\frac{1}{2}$ เท่า ($\frac{1}{2}$ P)

ชุดการทดลองที่ 3 ปลูกชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS (ชุดควบคุม) (P)

ชุดการทดลองที่ 4 ปลูกชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีการเพิ่มปริมาณ

ฟอสฟอรัสขึ้น 2 เท่า (2 P)

3.3.2.2 วิธีการทดลอง

(1) เตรียมอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกัน 4 ระดับ (ตารางที่ 3.2) ทำการปรับ pH ให้ได้ 5.62 โดยใช้ HCl 1 N และ KOH 1 N หลังจากนั้นเติมเจลไรต์ (gelrite) 1.6 กรัม ต้มจนเจลไรต์ละลายแล้วบรรจุลงใส่ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 6 ออนซ์ จากนั้นจึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

(2) เตรียมชิ้นเนื้อเยื่อที่ใช้ในการศึกษา โดยการนำต้นอ่อนของต้นพรมมิมาตัดเป็นชิ้นเนื้อเยื่อขนาด 1 เซนติเมตร ย้ายมาเลี้ยงลงในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณของฟอสฟอรัสแตกต่างกันตามแผนการทดลอง แล้วนำไปเลี้ยงไว้บนชั้นเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยมีการให้แสงเป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

3.3.2.3 การเก็บข้อมูลการเจริญเติบโต

วิธีการเก็บข้อมูลดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 ข้อ 7.3.1 (3)

3.3.2.4 การศึกษาการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิ (antioxidant)

วิธีการเก็บข้อมูลดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 ข้อ 7.3.1 (4)

ตารางที่ 3.2 อาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีความเข้มข้นของปริมาณฟอสฟอรัส (P) แตกต่างกัน 4 ระดับ

ปริมาณธาตุอาหาร (มิลลิกรัม/ลิตร)		ชุดการทดลอง			
		¼ P	½ P	P (Control)	2 P
1. มหาธาตุ	NH ₄ NO ₃	1,612	1,625	1,650	1,700
	KNO ₃	1,995	1,963	1,900	1,774
	CaCl ₂ ·2H ₂ O	440	440	440	440
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	370	370	370	370
	KH ₂ PO ₄	42.5	85	170	340
2. จุลธาตุ	H ₃ BO ₃	6.2	6.2	6.2	6.2
	MnSO ₄ ·H ₂ O	22.3	22.3	22.3	22.3
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8.6	8.6	8.6	8.6
	KI	0.83	0.83	0.83	0.83
	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.25	0.25	0.25	0.25
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.025	0.025	0.025	0.025
	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.025	0.025	0.025	0.025
	Na ₂ EDTA	37.25	37.25	37.25	37.25
3. เหล็ก	FeSO ₄ ·7H ₂ O	27.85	27.85	27.85	27.85
4. วิตามิน	Glycine	2	2	2	2
	Nicotinic acid	0.5	0.5	0.5	0.5
	Pyridoxine	0.5	0.5	0.5	0.5
	Thiamine	0.1	0.1	0.1	0.1
	Inositol	100	100	100	100
5. น้ำตาลซูโครส		30,000	30,000	30,000	30,000

ที่มา : ดัดแปลงจาก Murashige and Skoog (1962)

3.3.3 การทดลองที่ 3 การศึกษาปริมาณฟอสฟอรัสในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรหมที่เลี้ยงในระบบปลูกพืชไร้ดินแบบ DFT

3.3.3.1 แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบกลุ่มสมบูรณ์ (CRD) เพื่อศึกษาผลของปริมาณฟอสฟอรัสต่อการเจริญเติบโต และสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรหมในระบบปลูกไร้ดิน ซึ่งมีความเข้มข้นของ

ปริมาณฟอสฟอรัส (P) ในรูป KH_2PO_4 แตกต่างกัน 3 ระดับ (ตารางที่ 3.3) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ชุดการทดลอง ชุดละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ต้น ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ปลูกลงในดินพรหมมิในอาหารสูตร KMITL 2 ชุดควบคุม (P)

ชุดการทดลองที่ 2 ปลูกลงในดินพรหมมิในอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง $\frac{1}{2}$ เท่า ($\frac{1}{2}$ P)

ชุดการทดลองที่ 3 ปลูกลงในดินพรหมมิในอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสขึ้น 2 เท่า (2 P)

3.3.3.2 วิธีการทดลอง

(1) ใช้พรรณไม้ต้นพรหมมิที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนำมาตัดรากและใบออกบางส่วน จากนั้นปลูกลงในดินพรหมมิลงในถ้วยปลูกและนำไปอนุบาลประมาณ 6 วัน

(2) หลังจากนั้นนำต้นพรหมมิมาใช้ในการทดลองเลี้ยงในระบบ DFT ปรับสารละลายธาตุอาหารให้มีค่า pH อยู่ที่ 6.5 – 7.0 โดยใช้กรดไนตริก 10 เปอร์เซ็นต์และโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์ ปรับค่าการนำไฟฟ้า (EC) ให้อยู่ที่ 1.50 mS/cm โดยมีการปรับค่าการนำไฟฟ้าทุก ๆ สัปดาห์ เริ่มจาก 0.75 ไปจนถึง 1.50 mS/cm ก่อนการทดลองนำเอาต้นพรหมมิมาทำการชั่งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง

3.3.3.3 บันทึกผลการทดลอง

- (1) บันทึกปริมาณน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งทั้งก่อนและหลังการทดลอง
- (2) วัดความสูงของต้นโดยใช้ไม้บรรทัดวัดจากส่วนของลำต้นที่เหนือจากวัสดุปลูกไปจนถึงยอดที่สูงที่สุดของต้น
- (3) วัดความกว้างใบโดยการใช้อย่างน้อยไม้บรรทัด
- (4) วัดความยาวของใบโดยการใช้อย่างน้อยไม้บรรทัด
- (5) วัดความหนาใบโดยใช้เวอร์เนียคาลิเปอร์ (vernier caliper) วัดกึ่งกลางของใบ
- (6) นับจำนวนกิ่งที่เพิ่มขึ้น
- (7) นับจำนวนข้อที่เพิ่มขึ้น

ซึ่งความกว้าง ความยาวใบ และความหนาของใบ วัดผลจากใบที่เจริญเต็มที่ (mature leaf) โดยสังเกตได้จากใบที่ 3 หรือ 4 จากปลายยอด ทำการบันทึกข้อมูลก่อนการทดลองและระหว่างการทดลองทุกสัปดาห์เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

3.3.3.4 การศึกษาการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในชั้นเนื้อเยื่อต้นพรหมมิ (antioxidant)

วิธีการเก็บข้อมูลดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 ข้อ 7.3.1 (4)

ตารางที่ 3.3 สารละลายธาตุอาหารพืชสูตร KMITL 2 ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสในรูป KH_2PO_4 แตกต่างกัน (เตรียมสารละลายธาตุอาหารพืชที่ความเข้มข้น 100 เท่า ปริมาตร 10 ลิตร ในการทดลอง)

สารเคมี	ชุดการทดลองที่ 1	ชุดการทดลองที่ 2	ชุดการทดลองที่ 3
	สูตร KMITL 2 ($\frac{1}{2}$ P)	สูตร KMITL 2 (P)	สูตร KMITL 2 (2 P)
สารละลาย A			
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (กก.)	0.900	0.942	0.960
Fe-EDDHA (กก.)	0.051	0.051	0.051
สารละลาย B			
KNO_3 (กก.)	0.485	0.449	0.338
KH_2PO_4 (กก.)	0.082	0.163	0.326
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (กก.)	0.248	0.259	0.148
$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (กก.)	-	-	118
ZnSO_4 (ก.)	0.654	0.654	0.654
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (ก.)	0.159	0.159	0.159
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (ก.)	4.583	4.583	4.583
H_3BO_3 (ก.)	3.436	3.436	3.436
$(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ (ก.)	0.098	0.098	0.098

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลผลการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรมมิมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design: CRD) โดยวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลองตามวิธีของ Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ (correlation) ตามวิธีของ Pearson correlation (two-tailed) test ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป

3.5 สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ และ โรงเรือนเพาะเลี้ยงพรรณไม้น้ำ
หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิตการประมง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.6 ระยะเวลาในการทำวิจัย

เดือนมกราคม 2562 – เดือนมิถุนายน 2563

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาปริมาณธาตุอาหารในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรมมิที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

4.1.1 ผลของปริมาณธาตุอาหารที่แตกต่างกันต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อต้นพรมมิในสภาพปลอดเชื้อ

ผลของปริมาณธาตุอาหารต่อความสูงของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิพบว่า ความสูงของชิ้นเนื้อเยื่อเริ่มมีความแตกต่างกันระหว่างสูตรอาหารตั้งแต่ในสัปดาห์ที่ 1 โดยในสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณธาตุอาหารลง ¼ เท่า และในสูตรอาหารที่มีการเพิ่มปริมาณธาตุอาหารขึ้น 2 เท่า มีความสูงของชิ้นเนื้อเยื่อมากกว่าสูตรอาหารอื่น มีค่าเท่ากับ 10.42 และ 10.43 มิลลิเมตร/ชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ ($P < 0.05$) ในสัปดาห์ที่ 2 จนถึงสัปดาห์ที่ 5 พบว่า ชิ้นเนื้อเยื่อในสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณธาตุอาหารลง ¼ และ ½ เท่า มีความสูงมากกว่าอาหารสูตรอื่น ($P < 0.05$) โดยมีความสูงอยู่ในช่วง 17.7 - 37.74 และ 17.88 - 35.73 มิลลิเมตร/ชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ ในสัปดาห์ที่ 6 พบว่า สูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณธาตุอาหารลง ¼ เท่า และ ½ เท่า ชุดควบคุมและสูตรอาหารที่มีการเพิ่มปริมาณธาตุอาหารขึ้น 2 เท่า มีความสูงของชิ้นเนื้อเยื่อเท่ากับ 45.50, 41.03, 33.98 และ 30.74 มิลลิเมตร/ชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ โดยค่าที่สูงที่สุด ($P < 0.05$) อยู่ในสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณธาตุอาหารลง ¼ เท่าและน้อยที่สุดในสูตรอาหารชุดควบคุม และในสูตรอาหาร MS ที่มีการเพิ่มปริมาณธาตุอาหารเป็น 2 เท่า (ตารางที่ 4.1)

ผลของปริมาณธาตุอาหารต่อจำนวนใบของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิพบว่า ในสัปดาห์ที่ 0-2 จำนวนใบของชิ้นเนื้อเยื่อไม่มีความแตกต่างกันระหว่างสูตรอาหาร ($P > 0.05$) ในสัปดาห์ที่ 3-6 พบว่าจำนวนใบของชิ้นเนื้อเยื่อในสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณธาตุอาหารลง ¼ เท่า มีจำนวนใบมากที่สุด และในสัปดาห์ที่ 6 จำนวนใบของชิ้นเนื้อเยื่อในสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณธาตุอาหารลง ¼ เท่า ½ เท่า ชุดควบคุม และสูตรอาหารที่มีการเพิ่มปริมาณธาตุอาหารขึ้น 2 เท่า มีค่าเท่ากับ 18.15, 12.50, 13.53 และ 13.40 ใบ/ชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2)

ตารางที่ 4.1 ผลของอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณธาตุอาหารแตกต่างกันต่อความสูง (มิลลิเมตร) ของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรหมมิ (*B. monnieri* (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ชุดการทดลอง				P-value
	¼ MS	½ MS	MS	2 MS	
0	10.00 ± 0.00	10.00 ± 0.00	10.00 ± 0.00	10.00 ± 0.00	-
1	10.42 ± 0.15 ^a	9.92 ± 0.09 ^b	9.96 ± 0.13 ^b	10.43 ± 0.14 ^a	0.005
2	17.17 ± 0.56 ^a	17.88 ± 0.37 ^a	15.59 ± 0.48 ^b	16.47 ± 0.52 ^{ab}	0.010
3	22.25 ± 1.02 ^{ab}	22.99 ± 0.51 ^a	19.85 ± 0.73 ^c	20.37 ± 0.81 ^{bc}	0.018
4	29.19 ± 1.41 ^a	29.51 ± 0.63 ^a	24.77 ± 0.76 ^b	23.75 ± 0.84 ^b	0.000
5	37.74 ± 2.04 ^a	35.73 ± 0.73 ^a	29.80 ± 0.74 ^b	26.82 ± 1.07 ^b	0.000
6	45.50 ± 2.51 ^a	41.03 ± 0.77 ^b	33.98 ± 1.14 ^c	30.74 ± 1.27 ^c	0.000

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย (Mean±SE) ที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ

P – value < 0.05 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.2 ผลของอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณธาตุอาหารแตกต่างกันต่อจำนวนใบ (จำนวน/ชิ้นเนื้อเยื่อ) ของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรหมมิ (*B. monnieri* (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ชุดการทดลอง				P-value
	¼ MS	½ MS	MS	2 MS	
0	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	-
1	2.83 ± 0.20	2.65 ± 0.20	2.35 ± 0.19	2.90 ± 0.22	0.231
2	5.60 ± 0.29	5.20 ± 0.29	4.65 ± 0.22	5.10 ± 0.27	0.106
3	7.90 ± 0.35 ^a	6.70 ± 0.30 ^b	6.23 ± 0.20 ^b	6.83 ± 0.33 ^b	0.002
4	11.00 ± 0.56 ^a	8.20 ± 0.36 ^b	8.83 ± 0.37 ^b	8.65 ± 0.44 ^b	0.000
5	14.80 ± 0.80 ^a	10.50 ± 0.45 ^b	11.33 ± 0.50 ^b	11.25 ± 0.59 ^b	0.000
6	18.15 ± 0.90 ^a	12.50 ± 0.53 ^b	13.53 ± 0.59 ^b	13.40 ± 0.63 ^b	0.000

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย (Mean±SE) ที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ

P – value < 0.05 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลของปริมาณธาตุอาหารต่อจำนวนข้อของเนื้อเยื่อต้นพรมมิพบว่า เริ่มมีความแตกต่างกันในสัปดาห์ที่ 3 โดยในสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณธาตุอาหารลง ½ เท่า มีจำนวนข้อมากที่สุด ($P>0.05$) มีค่าเท่ากับ 3.28 ข้อ/ชิ้นเนื้อเยื่อ และในสัปดาห์ที่ 4-6 พบว่า จำนวนข้อของชิ้นเนื้อเยื่อในสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณธาตุอาหารลง ¼ เท่า มีจำนวนข้อมากที่สุด ($P>0.05$) โดยในสัปดาห์ที่ 6 จำนวนข้อของชิ้นเนื้อเยื่อในสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณธาตุอาหารลง ¼ เท่า ½ เท่า ชุดควบคุม และสูตรอาหารที่มีการเพิ่มปริมาณธาตุอาหารขึ้น 2 เท่า มีค่าเท่ากับ 8.73, 6.10, 6.68 และ 6.25 ข้อ/ชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.3)

ตารางที่ 4.3 ผลของอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณธาตุอาหารแตกต่างกันต่อจำนวนข้อ (จำนวน/ชิ้นเนื้อเยื่อ) ของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิ (*B. monnieri* (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ชุดการทดลอง				P-value
	¼ MS	½ MS	MS	2 MS	
0	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	-
1	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	-
2	1.13 ± 0.06	1.15 ± 0.05	1.05 ± 0.03	1.05 ± 0.03	0.319
3	2.88 ± 0.14 ^b	3.28 ± 0.12 ^a	2.15 ± 0.11 ^c	2.10 ± 0.07 ^c	0.000
4	4.33 ± 0.14 ^a	3.75 ± 0.09 ^{bc}	3.95 ± 0.08 ^b	3.48 ± 0.12 ^c	0.000
5	6.85 ± 0.37 ^a	4.78 ± 0.24 ^b	5.55 ± 0.23 ^b	4.88 ± 0.25 ^b	0.000
6	8.73 ± 0.39 ^a	6.10 ± 0.46 ^b	6.68 ± 0.25 ^b	6.25 ± 0.28 ^b	0.000

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย (Mean±SE) ที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ

P – value < 0.05 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลของปริมาณธาตุอาหารต่อจำนวนรากของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิ จำนวนรากเริ่มมีความแตกต่างกันระหว่างสูตรอาหารในสัปดาห์ที่ 1 โดยพบว่าจำนวนรากของชิ้นเนื้อเยื่อในสูตรอาหาร MS ที่มีการเพิ่มปริมาณธาตุอาหารขึ้น 2 เท่า มีจำนวนรากมากที่สุด ($P<0.05$) มีค่าเท่ากับ 0.98 ราก/ชิ้นเนื้อเยื่อ ต่อมาในสัปดาห์ที่ 2 พบว่า จำนวนรากในสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณธาตุอาหารลง ¼ เท่า มีจำนวนรากมากที่สุด มีค่าเท่ากับ 2.48 ราก/ชิ้นเนื้อเยื่อ ต่อเนื่องไปจนถึงสิ้นสุดการทดลอง โดยในสัปดาห์ที่ 6 จำนวนรากของชิ้นเนื้อเยื่อในสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณธาตุอาหารลง

¼ เท่า ½ เท่า ชุดควบคุม และสูตรอาหารที่มีการเพิ่มปริมาณธาตุอาหารขึ้น 2 เท่า มีค่าเท่ากับ 6.53, 4.58, 4.53 และ 3.70 ราก/ชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4)

ตารางที่ 4.4 ผลของอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณธาตุอาหารแตกต่างกันต่อจำนวนราก (จำนวน/ชิ้นเนื้อเยื่อ) ของชิ้นเนื้อเยื่อดันพรอมมิ (*B. monnieri* (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ชุดการทดลอง				P-value
	¼ MS	½ MS	MS	2 MS	
0	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	-
1	0.45 ± 0.09 ^b	0.50 ± 0.13 ^b	0.45 ± 0.10 ^b	0.98 ± 0.12 ^a	0.003
2	2.48 ± 0.27 ^a	1.95 ± 0.17 ^{ab}	1.33 ± 0.18 ^b	1.73 ± 0.22 ^b	0.003
3	3.55 ± 0.31 ^a	2.85 ± 0.18 ^b	2.65 ± 0.14 ^b	2.45 ± 0.15 ^b	0.002
4	4.68 ± 0.35 ^a	3.43 ± 0.21 ^b	3.28 ± 0.21 ^b	2.75 ± 0.13 ^b	0.000
5	5.78 ± 0.47 ^a	4.13 ± 0.18 ^b	4.08 ± 0.28 ^b	3.25 ± 0.16 ^b	0.000
6	6.53 ± 0.46 ^a	4.58 ± 0.19 ^b	4.53 ± 0.41 ^b	3.70 ± 0.16 ^b	0.000

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย (Mean±SE) ที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ

P – value < 0.05 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลของปริมาณธาตุอาหารต่อจำนวนยอดของชิ้นเนื้อเยื่อดันพรอมมิพบว่า มีความแตกต่างกันในสัปดาห์ที่ 3 และ 5 สูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณธาตุอาหารลง ¼ เท่า มีจำนวนยอดของชิ้นเนื้อเยื่อมากที่สุด มีค่าเท่ากับ 1.38 และ 1.53 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ แต่ในสัปดาห์ที่ 0-2, 4 และ 6 ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างสูตรอาหาร ($P > 0.05$) โดยในสัปดาห์ที่ 6 ในสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณธาตุอาหารลง ¼ เท่า ½ เท่า ชุดควบคุม และสูตรอาหารที่มีการเพิ่มปริมาณธาตุอาหารขึ้น 2 เท่า มีจำนวนยอดเท่ากับ 1.58, 1.35, 1.53 และ 1.58 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.5)

ตารางที่ 4.5 ผลของอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณธาตุอาหารแตกต่างกันต่อจำนวนยอด (จำนวน/ชิ้นเนื้อเยื่อ) ของชิ้นเนื้อเยื่อดัชนีพรมมิ (*B. monnieri* (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ชุดการทดลอง				P-value
	¼ MS	½ MS	MS	2 MS	
0	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	-
1	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	-
2	1.33 ± 0.08	1.15 ± 0.05	1.15 ± 0.05	1.25 ± 0.08	0.202
3	1.38 ± 0.08 ^a	1.15 ± 0.05 ^b	1.15 ± 0.05 ^b	1.33 ± 0.08 ^{ab}	0.040
4	1.38 ± 0.08	1.18 ± 0.07	1.15 ± 0.05	1.35 ± 0.08	0.053
5	1.53 ± 0.10 ^a	1.25 ± 0.08 ^b	1.28 ± 0.09 ^{ab}	1.50 ± 0.08 ^{ab}	0.050
6	1.58 ± 0.10	1.35 ± 0.12	1.53 ± 0.11	1.58 ± 0.09	0.363

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย (Mean±SE) ที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวอนเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ

P – value < 0.05 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลของปริมาณธาตุอาหารต่อปริมาณน้ำนักสด-น้ำนักแห้งของชิ้นเนื้อเยื่อดัชนีพรมมิ ตอนเริ่มต้นการทดลองและเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า น้ำนักสด-แห้งแรกเริ่มของทุกสูตรอาหาร ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า น้ำนักสดในสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณธาตุอาหารลง ¼ เท่า และ ½ เท่า น้ำนักสด มีค่าเท่ากับ 0.1837 และ 0.1904 มิลลิกรัม/น้ำนักสด/ชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ ($P<0.05$) และน้ำนักแห้งในสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณธาตุอาหารลง ¼ เท่า มีน้ำนักแห้งมากที่สุด ($P<0.05$) มีค่าเท่ากับ 0.0358 มิลลิกรัม/น้ำนักแห้ง/ชิ้นเนื้อเยื่อ (ตารางที่ 4.6)

จากการศึกษาผลของปริมาณธาตุอาหารในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อดัชนีพรมมิในสภาพปลอดเชื้อเมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 6 พบว่า สูตรอาหารชุดควบคุมไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อดัชนีพรมมิ เมื่อเทียบกับสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณธาตุอาหารลง ¼ เท่า ส่งผลทำให้ชิ้นเนื้อเยื่อมีการเจริญเติบโตดีที่สุด ($P<0.05$) โดยผลของความสูงของชิ้นเนื้อเยื่อ มีค่าเท่ากับ 45.50 มิลลิเมตร/ชิ้นเนื้อเยื่อ จำนวนใบเท่ากับ 18.15 ใบ/ชิ้นเนื้อเยื่อ จำนวนข้อเท่ากับ 8.73 ข้อ/ชิ้นเนื้อเยื่อ และจำนวนรากเท่ากับ 6.53 ราก/ชิ้นเนื้อเยื่อ แต่จำนวนยอดของชิ้นเนื้อเยื่อไม่มีความแตกต่างกันระหว่างสูตรอาหาร ($P>0.05$) (ตารางที่ 4.7) และมีน้ำนักสด-แห้งของเนื้อเยื่อดัชนีพรมมิดีที่สุด ($P>0.05$)

ตารางที่ 4.6 ผลของอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณธาตุอาหารแตกต่างกันต่อน้ำหนักสด-แห้ง (มิลลิกรัม/ชิ้นเนื้อเยื่อ) ของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรหมิ (*B. monnieri* (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

ชุดการทดลอง	น้ำหนักเริ่มต้น		น้ำหนักสิ้นสุด	
	น้ำหนักสด	น้ำหนักแห้ง	น้ำหนักสด	น้ำหนักแห้ง
¼ MS	12.30 ± 0.20	1.40 ± 0.00	183.70 ± 3.80 ^a	35.80 ± 1.40 ^a
½ MS	12.30 ± 0.20	1.40 ± 0.00	190.40 ± 3.00 ^a	28.40 ± 0.40 ^b
MS	12.30 ± 0.20	1.40 ± 0.00	165.80 ± 2.60 ^b	27.30 ± 0.40 ^b
2 MS	12.30 ± 0.20	1.40 ± 0.00	76.10 ± 2.20 ^c	22.40 ± 0.60 ^c
<i>P</i> -value	1.0000	1.0000	0.0000	0.0000

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย (Mean±SE) ที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ

P - value < 0.05 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.7 ผลการเจริญเติบโตของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรหมิ (*B. monnieri* (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงด้วยอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณธาตุอาหารแตกต่างกันในสภาพปลอดเชื้อ ที่ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

การเจริญเติบโต ของชิ้นเนื้อเยื่อ	ชุดการทดลอง				<i>P</i> -value
	¼ MS	½ MS	MS	2 MS	
ความสูง (มม./ชิ้นเนื้อเยื่อ)	45.50 ± 2.51 ^a	41.03 ± 0.77 ^b	33.98 ± 1.14 ^c	30.74 ± 1.27 ^c	0.000
จำนวนใบ (จำนวน/ชิ้นเนื้อเยื่อ)	18.15 ± 0.90 ^a	12.50 ± 0.53 ^b	13.53 ± 0.59 ^b	13.40 ± 0.63 ^b	0.000
จำนวนข้อ (จำนวน/ชิ้นเนื้อเยื่อ)	8.73 ± 0.39 ^a	6.10 ± 0.46 ^b	6.68 ± 0.25 ^b	6.25 ± 0.28 ^b	0.000
จำนวนราก (จำนวน/ชิ้นเนื้อเยื่อ)	6.53 ± 0.46 ^a	4.58 ± 0.19 ^b	4.53 ± 0.41 ^b	3.70 ± 0.16 ^b	0.000
จำนวนยอด (จำนวน/ชิ้นเนื้อเยื่อ)	1.58 ± 0.10	1.35 ± 0.12	1.53 ± 0.11	1.58 ± 0.09	0.363

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย (Mean±SE) ที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวอนเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ

P - value < 0.05 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

4.1.2 ผลของปริมาณธาตุอาหารที่แตกต่างกันต่อความสามารถในการยับยั้งและต้านสารอนุมูลอิสระของเนื้อเยื่อต้นพรหมมิในสภาพปลอดเชื้อ

ปริมาณฟีนอลทั้งหมด (TPC) เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ปริมาณ TPC ในแต่ละสูตรอาหารมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยสูตรอาหารที่มีปริมาณ TPC มากที่สุด คือ สูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณธาตุอาหารลง ¼ เท่า มีค่าเท่ากับ 19.32 mg gallic/g (ตารางที่ 4.8)

ปริมาณฟลาโวนอยด์ (TFC) เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ปริมาณ TFC ในแต่ละสูตรอาหารมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยสูตรอาหารที่มีปริมาณ TFC มากที่สุด คือ สูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณธาตุอาหารลง ¼ เท่า มีค่าเท่ากับ 43.89 mg luteolin/g (ตารางที่ 4.8)

ปริมาณซาโปนิน (TSC) เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ปริมาณซาโปนินในแต่ละสูตรอาหารมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยสูตรอาหารที่มีปริมาณซาโปนินมากที่สุด คือ สูตรอาหารชุดคววม MS มีค่าเท่ากับ 24,666.81 μ g saponin/g (ตารางที่ 4.8)

การยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ระหว่างสูตรอาหาร โดยในสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณธาตุอาหารลง ¼ เท่า ½ เท่า ชุดคววม และสูตรอาหารที่มีการเพิ่มปริมาณธาตุอาหารขึ้น 2 เท่า มีค่าเท่ากับ 88.93, 88.51, 88.62 และ 89.12% ตามลำดับ (ตารางที่ 4.8)

การยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระในแต่ละสูตรอาหารมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยสูตรอาหารที่มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ สูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณธาตุอาหารลง ¼ เท่า มีค่าเท่ากับ 88.28% (ตารางที่ 4.8)

การวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ (correlation analysis) ผลจากการวิเคราะห์ค่า correlation พบว่าปริมาณของธาตุอาหารมีความสัมพันธ์กันในเชิงลบกับปริมาณของ TFC และ TPC โดยปริมาณของ TFC มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวกกับปริมาณของ TPC ส่วนปริมาณของ TPC มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวกกับความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของ ABTS และความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของ ABTS มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวกกับปริมาณของ TFC (ตารางที่ 4.9)

ตารางที่ 4.8 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรหมมิ (*B. monnieri* (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงด้วยอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณธาตุอาหารแตกต่างกันในสภาพปลอดเชื้อ ที่ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	TPC (mg gallic/g)	TFC (mg luteolin/g)	TSC (μ g saponin/g)	DPPH (%inhibition)	ABTS (%inhibition)
1/4 MS	19.32 \pm 0.32 ^a	43.89 \pm 0.53 ^a	6,859.12 \pm 459.85 ^b	88.93 \pm 0.77	88.28 \pm 2.21 ^a
1/2 MS	8.52 \pm 0.04 ^c	18.45 \pm 0.09 ^b	5,702.26 \pm 88.99 ^b	88.51 \pm 0.17	60.89 \pm 1.53 ^c
MS	11.08 \pm 0.29 ^b	20.55 \pm 2.33 ^b	24,666.81 \pm 720.99 ^a	88.62 \pm 0.20	74.81 \pm 5.98 ^b
2 MS	10.98 \pm 0.23 ^b	20.98 \pm 0.73 ^b	6,117.55 \pm 231.68 ^b	89.12 \pm 0.04	69.40 \pm 3.96 ^{bc}
P-value	0.000	0.000	0.000	0.712	0.006

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย (Mean \pm SE) ที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ

P – value < 0.05 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.9 ผลการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณธาตุอาหารและสารต้านอนุมูลอิสระของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรหมมิ (*B. monnieri* (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงด้วยอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณธาตุอาหารแตกต่างกันในสภาพปลอดเชื้อ เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 6

ปัจจัย	ปริมาณธาตุอาหาร	TPC	TFC	TSC	DPPH	ABTS
ปริมาณธาตุอาหาร	1					
TPC	-0.612 [*]	1				
TFC	-0.707 [*]	0.974 ^{**}	1			
TSC	0.233	-0.145	-0.240	1		
DPPH	0.122	0.138	0.186	-0.111	1	
ABTS	-0.422	0.870 ^{**}	0.811 ^{**}	0.133	0.132	1

* หมายถึง ค่าสหสัมพันธ์มีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05

** หมายถึง ค่าสหสัมพันธ์มีนัยสำคัญที่ระดับ 0.01

ผลจากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าความสามารถในการยับยั้งและต้านสารอนุมูลอิสระในชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรหมมิ สูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณธาตุอาหารลง ¼ เท่า ส่งผลให้มีปริมาณของ TPC, TFC และความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS มีค่ามากที่สุด ส่วนปริมาณของซาโปนินพบว่า สูตรอาหารในชุดควบคุม มีปริมาณของซาโปนินสูงที่สุด รวมทั้งผลการศึกษา

แสดงให้เห็นว่าขึ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมีที่เลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณธาตุอาหารลง ส่งผลให้ขึ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมีปริมาณของ TFC และ TPC เพิ่มมากขึ้น

4.2 การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของปริมาณฟอสฟอรัสต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรมมีที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

4.2.1 ผลของปริมาณฟอสฟอรัสที่ต่างกันต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อต้นพรมมีในสภาพปลอดเชื้อ

ผลของปริมาณฟอสฟอรัสต่อความสูงของขึ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมีพบว่า ความสูงของขึ้นเนื้อเยื่อในสัปดาห์ที่ 0 – 5 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างสูตรอาหาร และในสัปดาห์ที่ 6 พบว่า สูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ¼ เท่า, ½ เท่า ชุดควบคุม และสูตรอาหารที่มีการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสขึ้น 2 เท่า มีความสูงของขึ้นเนื้อเยื่อเท่ากับ 39.39, 34.88, 35.23 และ 39.14 มิลลิเมตร/ขึ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ โดยค่าที่สูงที่สุด ($P<0.05$) อยู่ในสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ¼ เท่า (ตารางที่ 4.10)

ตารางที่ 4.10 ผลของอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันต่อความสูง (มิลลิเมตร/ขึ้นเนื้อเยื่อ) ของขึ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมี (*B. monnieri* (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ชุดการทดลอง				P-value
	¼ P	½ P	P	2 P	
0	10.00 ± 0.00	10.00 ± 0.00	10.00 ± 0.00	10.00 ± 0.00	-
1	10.09 ± 0.10	10.43 ± 0.13	10.25 ± 0.10	10.16 ± 0.06	0.106
2	19.67 ± 0.71	20.03 ± 0.45	18.01 ± 0.61	19.08 ± 0.59	0.098
3	24.65 ± 0.87	24.36 ± 0.58	22.33 ± 0.73	23.93 ± 0.90	0.163
4	30.15 ± 1.10	28.23 ± 0.66	27.14 ± 0.89	28.08 ± 1.12	0.167
5	34.83 ± 1.25	32.07 ± 0.64	30.78 ± 0.81	33.56 ± 1.45	0.057
6	39.39 ± 1.59 ^a	34.88 ± 0.80 ^c	35.23 ± 0.97 ^{bc}	39.14 ± 1.91 ^{ab}	0.033

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย (Mean±SE) ที่มีตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ

P – value < 0.05 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลของปริมาณฟอสฟอรัสต่อจำนวนใบของขึ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิพบว่า ในสัปดาห์ที่ 0 และ 5 ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างสูตรอาหาร ($P>0.05$) แต่ในสัปดาห์ที่ 1 – 4 พบว่าจำนวนใบในสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ½ เท่า มีจำนวนใบมากที่สุด มีค่าเท่ากับ 4.00, 6.28, 7.83 และ 10.35 ใบ/ขึ้นเนื้อเยื่อตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกับสูตรอาหารอื่น ($P<0.05$) และในสัปดาห์ที่ 6 พบว่า สูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ¼ เท่า, ½ เท่า ชุดควบคุม และสูตรอาหารที่มีการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสขึ้น 2 เท่า มีจำนวนใบ เท่ากับ 14.25, 14.05, 16.05 และ 12.75 ใบ/ขึ้นเนื้อเยื่อ โดยสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ¼ เท่า, ½ เท่า และชุดควบคุม มีจำนวนใบมากที่สุด แต่จะดีที่สุดในสูตรอาหารชุดควบคุม ($P<0.05$) (ตารางที่ 4.11)

ตารางที่ 4.11 ผลของอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันต่อจำนวนใบ (จำนวน/ขึ้นเนื้อเยื่อ) ของขึ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิ (*B. monnieri* (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ชุดการทดลอง				P-value
	¼ P	½ P	P	2 P	
0	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	-
1	3.43 ± 0.33 ^{ab}	4.00 ± 0.28 ^a	2.65 ± 0.19 ^c	3.20 ± 0.16 ^{bc}	0.003
2	4.95 ± 0.23 ^b	6.28 ± 0.28 ^a	5.28 ± 0.28 ^b	4.95 ± 0.18 ^b	0.001
3	7.08 ± 0.37 ^{ab}	7.83 ± 0.25 ^a	6.63 ± 0.22 ^b	6.65 ± 0.22 ^b	0.008
4	9.40 ± 0.54 ^{ab}	10.35 ± 0.41 ^a	8.95 ± 0.39 ^{bc}	8.10 ± 0.25 ^c	0.003
5	11.30 ± 0.66	11.73 ± 0.43	12.48 ± 0.63	10.83 ± 0.43	0.188
6	14.25 ± 0.88 ^{ab}	14.05 ± 0.52 ^{ab}	16.05 ± 0.83 ^a	12.75 ± 0.51 ^b	0.015

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย (Mean±SE) ที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ

P – value < 0.05 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลของปริมาณฟอสฟอรัสต่อจำนวนข้อของขึ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิพบว่า ในสัปดาห์ที่ 0 – 3 และ 5 ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างสูตรอาหาร ($P>0.05$) แต่ในสัปดาห์ที่ 4 และ 6 พบว่าจำนวนข้อในสูตรอาหารชุดควบคุม มีจำนวนข้อมากกว่าสูตรอาหารอื่น ($P<0.05$) ในสัปดาห์ที่ 6 จำนวนข้อของขึ้นเนื้อเยื่อในสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ¼ เท่า, ½ เท่า ชุดควบคุม และสูตรอาหารที่มีการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสขึ้น 2 เท่า มีจำนวนข้อ เท่ากับ 6.70, 6.65, 7.50 และ 6.13

ข้อ/ชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ โดยจำนวนข้อของชิ้นเนื้อเยื่อในสูตรอาหารชุดควบคุม มีจำนวนข้อมากที่สุด ($P<0.05$) (ตารางที่ 4.12)

ตารางที่ 4.12 ผลของอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันต่อจำนวนข้อ (จำนวน/ชิ้นเนื้อเยื่อ) ของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิ (*B. monnieri* (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ชุดการทดลอง				P-value
	¼ P	½ P	P	2 P	
0	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	-
1	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	-
2	1.48 ± 0.11	1.58 ± 0.11	1.40 ± 0.10	1.38 ± 0.09	0.519
3	3.15 ± 0.09	3.28 ± 0.09	3.28 ± 0.11	3.08 ± 0.07	0.327
4	3.48 ± 0.12 ^b	3.58 ± 0.08 ^b	4.03 ± 0.09 ^a	3.63 ± 0.10 ^b	0.001
5	5.53 ± 0.33	5.70 ± 0.21	6.10 ± 0.26	5.28 ± 0.22	0.154
6	6.70 ± 0.37 ^{ab}	6.65 ± 0.20 ^{ab}	7.50 ± 0.39 ^a	6.13 ± 0.26 ^b	0.025

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย (Mean±SE) ที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ

P – value < 0.05 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลของปริมาณฟอสฟอรัสต่อจำนวนรากของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิพบว่า ในสัปดาห์ที่ 3 จำนวนรากในสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ½ เท่า มีจำนวนรากมากกว่าสูตรอาหารอื่น ($P<0.05$) ซึ่งมีจำนวนรากเท่ากับ 3.05 ราก/ชิ้นเนื้อเยื่อ แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างสูตรอาหาร ($P>0.05$) ในสัปดาห์อื่น โดยในสัปดาห์ที่ 6 จำนวนรากของชิ้นเนื้อเยื่อในสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ¼ เท่า, ½ เท่า ชุดควบคุม และสูตรอาหารที่มีการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสขึ้น 2 เท่า มีค่าเท่ากับ 4.28, 4.60, 4.40 และ 4.10 ราก/ชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.13)

ตารางที่ 4.13 ผลของอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันต่อจำนวนราก (จำนวน/ชิ้นเนื้อเยื่อ) ของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิ (*B. monnieri* (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ชุดการทดลอง				P-value
	¼ P	½ P	P	2 P	
0	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	-
1	0.95 ± 0.13	0.93 ± 0.15	0.48 ± 0.11	1.10 ± 0.19	0.070
2	1.78 ± 0.19	1.95 ± 0.19	1.25 ± 0.16	1.68 ± 0.21	0.149
3	2.73 ± 0.20 ^{ab}	3.05 ± 0.17 ^a	2.15 ± 0.16 ^b	2.45 ± 0.18 ^b	0.016
4	3.28 ± 0.22	3.65 ± 0.16	2.93 ± 0.19	3.03 ± 0.21	0.051
5	3.73 ± 0.22	4.03 ± 0.20	3.75 ± 0.16	3.55 ± 0.32	0.547
6	4.28 ± 0.26	4.60 ± 0.24	4.40 ± 0.15	4.10 ± 0.32	0.539

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย (Mean±SE) ที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวอนเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ

P – value < 0.05 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลของปริมาณฟอสฟอรัสต่อจำนวนยอดของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิพบว่า ในสัปดาห์ที่ 2 จำนวนยอดในสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ¼ เท่า, ½ เท่า และสูตรอาหารที่มีการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสขึ้น 2 เท่า มีจำนวนยอดมากกว่าสูตรควบคุม ($P < 0.05$) แต่จะดีที่สุด ในสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ½ เท่า ซึ่งมีจำนวนยอดเท่ากับ 1.40 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างสูตรอาหาร ($P > 0.05$) ในสัปดาห์อื่น โดยในสัปดาห์ที่ 6 จำนวนยอดของชิ้นเนื้อเยื่อในสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ¼ เท่า, ½ เท่า ชุดควบคุม และสูตรอาหารที่มีการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสขึ้น 2 เท่า มีค่าเท่ากับ 1.63, 1.88, 1.83 และ 1.68 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.14)

ผลของปริมาณฟอสฟอรัสต่อปริมาณน้ำหนักสด-แห้งของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิ เมื่อเริ่มต้นการทดลองและสิ้นสุดการทดลองพบว่า น้ำหนักสด-แห้งเริ่มต้นของทุกสูตรอาหารไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างสูตรอาหาร ($P > 0.05$) แต่เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า สูตรอาหาร MS ที่มีการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสขึ้น 2 เท่า มีน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งมากที่สุด ($P < 0.05$) มีค่าเท่ากับ 0.2428 มิลลิกรัมน้ำหนักสด/ชิ้นเนื้อเยื่อ และ 0.0366 มิลลิกรัมน้ำหนักแห้ง/ชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 4.15)

ตารางที่ 4.14 ผลของอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันต่อจำนวนยอด (จำนวน/ชิ้นเนื้อเยื่อ) ของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิ (*B. monnieri* (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ชุดการทดลอง				P-value
	¼ P	½ P	P	2 P	
0	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	-
1	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	-
2	1.20 ± 0.08 ^{ab}	1.40 ± 0.09 ^a	1.10 ± 0.05 ^b	1.20 ± 0.08 ^{ab}	0.035
3	1.25 ± 0.08	1.43 ± 0.08	1.20 ± 0.07	1.23 ± 0.08	0.155
4	1.33 ± 0.09	1.53 ± 0.09	1.20 ± 0.07	1.35 ± 0.08	0.061
5	1.53 ± 0.09	1.58 ± 0.08	1.58 ± 0.10	1.48 ± 0.11	0.852
6	1.63 ± 0.11	1.88 ± 0.09	1.83 ± 0.10	1.68 ± 0.11	0.257

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย (Mean±SE) ที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวอนเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ

P – value < 0.05 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.15 ผลของอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันต่อปริมาณน้ำหนักรด-แห้ง (มิลลิกรัม/ชิ้นเนื้อเยื่อ) ของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิ (*B. monnieri* (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

ชุดการทดลอง	น้ำหนักเริ่มต้น		น้ำหนักสิ้นสุด	
	น้ำหนักสด	น้ำหนักแห้ง	น้ำหนักสด	น้ำหนักแห้ง
¼ P	12.30 ± 0.20	14.00 ± 0.00	109.40 ± 3.50 ^c	27.50 ± 0.60 ^b
½ P	12.30 ± 0.20	1.40 ± 0.00	137.20 ± 1.30 ^b	27.20 ± 0.30 ^b
P	12.30 ± 0.20	1.40 ± 0.00	92.60 ± 2.00 ^d	24.70 ± 1.20 ^c
2 P	12.30 ± 0.20	1.40 ± 0.00	242.80 ± 1.90 ^a	36.60 ± 4.00 ^a
P-value	1.000	1.000	0.000	0.000

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย (Mean±SE) ที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ

P – value < 0.05 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

การศึกษาผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อต้นพรมมิที่ปลูกในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกัน 4 ระดับ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าความสูงของเนื้อเยื่อในสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ¼ เท่า มีความสูงมากที่สุด คือ 39.39 มิลลิเมตร ส่วนของจำนวนใบ และจำนวนข้อพบว่า สูตรอาหารชุดควบคุม มีค่ามากที่สุด คือ 16.05 ใบ/ชิ้นเนื้อเยื่อ และ 7.50 ข้อ/ชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ แต่ผลของจำนวนราก และจำนวนยอดไม่พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างสูตรอาหาร โดยมีจำนวนราก อยู่ที่ 4.10– 4.60 ราก/ชิ้นเนื้อเยื่อ ระหว่างสูตรอาหาร และจำนวนยอดอยู่ที่ 1.63– 1.88 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ (ตารางที่ 4.16)

ตารางที่ 4.16 ผลการเจริญเติบโตของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิ (*B. monnieri* (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงด้วยอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันในสภาพปลอดเชื้อ ที่ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

การเจริญเติบโต ของชิ้นเนื้อเยื่อ	ชุดการทดลอง				P-value
	¼ P	½ P	P	2 P	
ความสูง (มม./ชิ้นเนื้อเยื่อ)	39.39 ± 1.59 ^a	34.88 ± 0.80 ^c	35.23 ± 0.97 ^{bc}	39.14 ± 1.91 ^{ab}	0.033
จำนวนใบ (จำนวน/ชิ้นเนื้อเยื่อ)	14.25 ± 0.88 ^{ab}	14.05 ± 0.52 ^{ab}	16.05 ± 0.83 ^a	12.75 ± 0.51 ^b	0.015
จำนวนข้อ (จำนวน/ชิ้นเนื้อเยื่อ)	6.70 ± 0.37 ^{ab}	6.65 ± 0.20 ^{ab}	7.50 ± 0.39 ^a	6.13 ± 0.26 ^b	0.025
จำนวนราก (จำนวน/ชิ้นเนื้อเยื่อ)	4.28 ± 0.26	4.60 ± 0.24	4.40 ± 0.15	4.10 ± 0.32	0.539
จำนวนยอด (จำนวน/ชิ้นเนื้อเยื่อ)	1.63 ± 0.11	1.88 ± 0.09	1.83 ± 0.10	1.68 ± 0.11	0.257

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย (Mean±SE) ที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวอนเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ

P - value < 0.05 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

4.2.2 ผลของปริมาณฟอสฟอรัสที่แตกต่างกันต่อความสามารถในการยับยั้งและต้านสารอนุมูลอิสระของเนื้อเยื่อต้นพรมมิในสภาพปลอดเชื้อ

ปริมาณฟีนอลทั้งหมด (TPC) เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ปริมาณ TPC ในแต่ละสูตรอาหารมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยสูตรอาหารที่มีปริมาณ TPC มากที่สุด คือ สูตรอาหาร MS ที่มีการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสขึ้น 2 เท่า มีค่าเท่ากับ 8.48 mg gallic/g ชิ้นเนื้อเยื่อ (ตารางที่ 4.17)

ปริมาณฟลาโวนอยด์ (TFC) เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ปริมาณ TFC ในแต่ละสูตรอาหารมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยสูตรอาหารที่มีปริมาณ TFC มากที่สุด คือ สูตรอาหาร MS ที่มีการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสขึ้น 2 เท่า มีค่าเท่ากับ 16.44 mg luteolin/g

ชั้นเนื้อเยื่อ และมีค่าไม่แตกต่างกันมากกับสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ½ เท่า ที่มีค่าเท่ากับ 15.07 mg luteolin/g ชั้นเนื้อเยื่อ (ตารางที่ 4.17)

ปริมาณซาโปนิน (TSC) เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ปริมาณซาโปนินในแต่ละสูตรอาหารมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยสูตรอาหารที่มีปริมาณซาโปนินมากที่สุด คือ สูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ½ เท่า มีค่าเท่ากับ 4,921.14 μg saponin/g ชั้นเนื้อเยื่อ แต่ไม่มีความแตกต่างกันมากกับสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ¼ เท่า ซึ่งมีค่าเท่ากับ 4,634.40 μg saponin/g ชั้นเนื้อเยื่อ (ตารางที่ 4.17)

การยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระในทุกสูตรอาหารไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยในสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ¼ เท่า, ½ เท่า ชุดควบคุม และสูตรอาหารที่มีการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสขึ้น 2 เท่า มีค่าเท่ากับ 88.96, 89.27, 86.65 และ 88.70% ตามลำดับ (ตารางที่ 4.17)

การยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระในแต่ละสูตรอาหารมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยสูตรอาหารที่มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ สูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ½ เท่า มีค่าเท่ากับ 79.66% แต่ไม่มีความแตกต่างกันมากกับสูตรอาหารที่มีการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสขึ้น 2 เท่า ซึ่งมีค่าเท่ากับ 68.33% (ตารางที่ 4.17)

การวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ (correlation analysis) ผลจากการวิเคราะห์ค่า correlation พบว่าปริมาณของฟอสฟอรัสมีความสัมพันธ์กันในเชิงบวกกับปริมาณของ TPC และ TFC ส่วนปริมาณของ TPC มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวกกับปริมาณของ TFC และความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของ ABTS มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวกกับปริมาณของ TPC (ตารางที่ 4.18)

ผลการทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระในเนื้อเยื่อดันพรมมิที่ปลูกในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกัน 4 ระดับ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า สูตรอาหารที่มีปริมาณ TPC มากที่สุด คือ สูตรอาหาร MS ที่มีการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสขึ้น 2 เท่า อาหารที่มีปริมาณ TFC มากที่สุด คือ สูตรอาหาร MS ที่มีการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสขึ้น 2 เท่า และมีค่าไม่แตกต่างกันมากกับสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ½ เท่า สูตรอาหารที่มีปริมาณซาโปนินมากที่สุด คือ สูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ½ เท่า และมีค่าไม่แตกต่างกันมากกับสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ¼ เท่า การยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS พบว่า สูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ½ เท่า มีความสามารถในการ

ยับยั้งอนุมูลอิสระมากที่สุด และมีค่าไม่แตกต่างกันมากกับสูตรอาหาร MS ที่มีการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสขึ้น 2 เท่า ส่วนการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่า ในทุกสูตรอาหารมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 4.17)

ตารางที่ 4.17 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของขึ้นเนื้อเห็ดต้นพรมมิ (*B. monnieri* (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงด้วยอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันในสภาพปลอดเชื้อ ที่ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	TPC (mg gallic/g)	TFC (mg luteolin/g)	TSC (μ g saponin/g)	DPPH (%inhibition)	ABTS (%inhibition)
¼ P	6.18 ± 0.05 ^d	12.68 ± 0.40 ^c	4,634.40 ± 61.75 ^{ab}	88.96 ± 0.80	52.83 ± 5.25 ^c
½ P	7.85 ± 0.04 ^b	15.07 ± 0.73 ^{ab}	4,921.14 ± 77.23 ^a	89.27 ± 0.08	79.66 ± 0.16 ^a
P	6.49 ± 0.13 ^c	13.93 ± 0.60 ^{bc}	4,179.56 ± 147.65 ^c	86.65 ± 2.37	57.85 ± 4.96 ^{bc}
2 P	8.48 ± 0.08 ^a	16.44 ± 0.35 ^a	4,367.43 ± 61.75 ^{bc}	88.70 ± 0.15	68.33 ± 5.24 ^{ab}
<i>P</i> -value	0.000	0.007	0.003	0.484	0.012

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย (Mean±SE) ที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ

P - value < 0.05 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.18 ผลการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณธาตุอาหารและสารต้านอนุมูลอิสระของขึ้นเนื้อเห็ดต้นพรมมิ (*B. monnieri* (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงด้วยอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันในสภาพปลอดเชื้อ เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 6

ปัจจัย	ปริมาณฟอสฟอรัส	TPC	TFC	TSC	DPPH	ABTS
ปริมาณฟอสฟอรัส	1					
TPC	0.647 [*]	1				
TFC	0.715 ^{**}	0.864 ^{**}	1			
TSC	-0.557	0.180	-0.056	1		
DPPH	-0.186	0.184	0.173	0.153	1	
ABTS	0.228	0.659 [*]	0.501	0.501	0.065	1

* หมายถึง ค่าสหสัมพันธ์มีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05

** หมายถึง ค่าสหสัมพันธ์มีนัยสำคัญที่ระดับ 0.01

4.3 การทดลองที่ 3 การศึกษาผลของปริมาณฟอสฟอรัสในสารละลายธาตุอาหารต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรมมิที่เลี้ยงในระบบปลูกพืชไร้ดินแบบ DFT

4.3.1 ผลของปริมาณฟอสฟอรัสในสารละลายธาตุอาหารที่มีปริมาณแตกต่างกันต่อการเจริญเติบโตของต้นพรมมิในระบบปลูกพืชไร้ดิน

ผลของปริมาณฟอสฟอรัสต่อความสูงของต้นพรมมิพบว่า ความสูงของต้นพรมมิสัปดาห์ที่ 0-4 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างสูตรอาหาร โดยในสัปดาห์ที่ 4 พบว่า สูตรอาหาร KMITL 2 ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ½ เท่า ชุดควบคุม และสูตรอาหารที่มีการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสขึ้น 2 เท่า มีความสูงของต้นพรมมิเท่ากับ 44.62, 43.98 และ 43.84 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.19)

ตารางที่ 4.19 ผลของสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันต่อความสูง (เซนติเมตร) ของต้นพรมมิ (*B. monnieri* (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในระบบปลูกพืชไร้ดิน

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ชุดการทดลอง			P-value
	½ P	P	2 P	
0	11.93 ± 0.21	12.06 ± 0.33	12.01 ± 0.28	0.945
1	17.98 ± 0.26	18.17 ± 0.42	18.36 ± 0.37	0.752
2	26.33 ± 0.37	26.35 ± 0.55	25.86 ± 0.41	0.685
3	35.47 ± 0.57	36.01 ± 0.79	35.83 ± 0.42	0.814
4	44.62 ± 0.67	43.98 ± 0.95	43.84 ± 0.63	0.746

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย (Mean±SE) ที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ

$P - value < 0.05$ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลของปริมาณฟอสฟอรัสต่อความกว้างใบของต้นพรมมิพบว่า ความกว้างใบของต้นพรมมิสัปดาห์ที่ 0-4 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างสูตรอาหาร โดยในสัปดาห์ที่ 4 พบว่า สูตรอาหาร KMITL 2 ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ½ เท่า ชุดควบคุม และสูตรอาหารที่มีการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสขึ้น 2 เท่า มีความกว้างใบของต้นพรมมิเท่ากับ 0.89 เซนติเมตร เท่ากันในทุกสูตรอาหาร (ตารางที่ 4.20)

ตารางที่ 4.20 ผลของสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันต่อความกว้างใบ (เซนติเมตร) ของต้นพรหมิ (*B. monnieri* (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในระบบปลูกพืชไร้ดิน

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ชุดการทดลอง			P-value
	½ P	P	2 P	
0	0.75 ± 0.01	0.74 ± 0.01	0.76 ± 0.01	0.265
1	0.84 ± 0.01	0.85 ± 0.01	0.84 ± 0.01	0.596
2	0.88 ± 0.02	0.87 ± 0.01	0.87 ± 0.01	0.683
3	0.88 ± 0.01	0.89 ± 0.01	0.87 ± 0.01	0.636
4	0.89 ± 0.01	0.89 ± 0.01	0.89 ± 0.01	0.898

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย (Mean±SE) ที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ

P – value < 0.05 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลของปริมาณฟอสฟอรัสต่อความยาวใบของต้นพรหมิพบว่า ความยาวใบของต้นพรหมิ สัปดาห์ที่ 0-4 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างสูตรอาหาร โดยใน สัปดาห์ที่ 4 พบว่า สูตรอาหาร KMITL 2 ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ½ เท่า ชุดควบคุม และ สูตรอาหารที่มีการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสขึ้น 2 เท่า มีความยาวใบของต้นพรหมิเท่ากับ 2.25 ,2.26 และ 2.20 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.21)

ผลของปริมาณฟอสฟอรัสต่อความหนาใบของต้นพรหมิพบว่า ความหนาใบของต้นพรหมิ สัปดาห์ที่ 0-4 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างสูตรอาหาร โดยในสัปดาห์ที่ 4 พบว่า สูตรอาหาร KMITL 2 ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ½ เท่า ชุดควบคุม และสูตรอาหารที่มีการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสขึ้น 2 เท่า มีความหนาใบของต้นพรหมิเท่ากับ 0.36, 0.37 และ 0.37 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.22)

ผลของปริมาณฟอสฟอรัสต่อจำนวนกิ่งของต้นพรหมิพบว่า ในสัปดาห์ที่ 0 - 1 ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างสูตรอาหาร ($P>0.05$) แต่ในสัปดาห์ที่ 2 – 4 พบว่า จำนวนกิ่งในสูตรอาหาร KMITL 2 ชุดควบคุม มีจำนวนกิ่งมากที่สุด คือ 16.53, 24.83 และ 29.40 กิ่ง/ต้น ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกับสูตรอาหารอื่น ($P<0.05$) (ตารางที่ 4.23)

ตารางที่ 4.21 ผลของสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันต่อความยาวใบ (เซนติเมตร) ของต้นพรหมมิ (*B. monnieri* (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในระบบปลูกพืชไร้ดิน

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ชุดการทดลอง			P-value
	½ P	P	2 P	
0	1.65 ± 0.03	1.65 ± 0.02	1.67 ± 0.02	0.803
1	1.99 ± 0.02	2.02 ± 0.01	2.04 ± 0.02	0.086
2	2.08 ± 0.01	2.11 ± 0.02	2.11 ± 0.02	0.160
3	2.19 ± 0.01	2.20 ± 0.02	2.16 ± 0.01	0.119
4	2.25 ± 0.01	2.26 ± 0.02	2.20 ± 0.01	0.034

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย (Mean±SE) ที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ

P – value < 0.05 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.22 ผลของสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันต่อความหนาใบ (มิลลิเมตร) ของต้นพรหมมิ (*B. monnieri* (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในระบบปลูกพืชไร้ดิน

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ชุดการทดลอง			P-value
	½ P	P	2 P	
0	0.29 ± 0.01	0.29 ± 0.01	0.30 ± 0.01	0.533
1	0.31 ± 0.01	0.31 ± 0.01	0.31 ± 0.01	0.788
2	0.35 ± 0.01	0.35 ± 0.01	0.33 ± 0.01	0.276
3	0.36 ± 0.01	0.35 ± 0.01	0.35 ± 0.01	0.623
4	0.36 ± 0.01	0.37 ± 0.01	0.37 ± 0.01	0.609

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย (Mean±SE) ที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ

P – value < 0.05 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.23 ผลของสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันต่อจำนวนกิ่ง (จำนวน/ต้น) ของต้นพรหมมิ (*B. monnieri* (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในระบบปลูกพืชไร้ดิน

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ชุดการทดลอง			P-value
	½ P	P	2 P	
0	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	-
1	1.40 ± 0.10	1.33 ± 0.08	1.60 ± 0.13	0.167
2	14.88 ± 0.35 ^b	16.53 ± 0.45 ^a	15.20 ± 0.38 ^b	0.010
3	19.05 ± 0.61 ^b	24.83 ± 0.88 ^a	20.43 ± 0.45 ^b	0.000
4	23.98 ± 0.61 ^b	29.40 ± 0.78 ^a	23.85 ± 0.56 ^b	0.000

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย (Mean±SE) ที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ

P – value < 0.05 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลของปริมาณฟอสฟอรัสต่อจำนวนข้อของต้นพรหมมิ พบว่า จำนวนข้อของต้นพรหมมิ สัปดาห์ที่ 0-4 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ระหว่างสูตรอาหาร โดยใน สัปดาห์ที่ 4 พบว่า สูตรอาหาร KMITL 2 ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ½ เท่า ชุดควบคุม และ สูตรอาหารที่มีการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสขึ้น 2 เท่า มีจำนวนข้อของต้นพรหมมิเท่ากับ 21.35, 21.15 และ 21.53 ข้อ/ต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 4.24)

ตารางที่ 4.24 ผลของสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันต่อจำนวนข้อ (จำนวน/ต้น) ของต้นพรหมมิ (*B. monnieri* (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในระบบปลูกพืชไร้ดิน

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ชุดการทดลอง			P-value
	½ P	P	2 P	
0	9.20 ± 0.17	9.28 ± 0.18	9.48 ± 0.17	0.507
1	11.73 ± 0.19	11.43 ± 0.22	11.60 ± 0.21	0.597
2	14.50 ± 0.21	14.40 ± 0.22	14.58 ± 0.23	0.856
3	18.70 ± 0.24	18.68 ± 0.28	18.88 ± 0.21	0.816
4	21.35 ± 0.23	21.15 ± 0.28	21.53 ± 0.23	0.573

*เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย (Mean±SE) ในแต่ละแถว ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ

**มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P < 0.05$

ผลของปริมาณฟอสฟอรัสต่อน้ำหนักสด-น้ำหนักแห้งของต้นพรหมมิเมื่อเริ่มต้นการทดลองและสิ้นสุดการทดลองพบว่า น้ำหนักสด-แห้งเริ่มต้นของทุกสูตรอาหารไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างสูตรอาหาร ($P>0.05$) แต่เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า สูตรอาหาร KMITL 2 ชุดควบคุม มีน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งมากที่สุด ($P<0.05$) มีค่าเท่ากับ 10.4010 มิลลิกรัมน้ำหนักสด/ต้น และ 0.7100 มิลลิกรัมน้ำหนักแห้ง/ต้น ตามลำดับ ($P<0.05$) (ตารางที่ 4.25)

ตารางที่ 4.25 ผลของสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันต่อปริมาณน้ำหนักสด-แห้ง (มิลลิกรัม/ต้น) ของต้นพรหมมิ (*B. monnieri* (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงในระบบปลูกพืชไร้ดิน

ชุดการทดลอง	น้ำหนักเริ่มต้น		น้ำหนักสิ้นสุด	
	น้ำหนักสด	น้ำหนักแห้ง	น้ำหนักสด	น้ำหนักแห้ง
½ P	691.90 ± 16.10	50.30 ± 1.20	9,675.0. ± 13.40 ^b	633.00 ± 6.50 ^b
P	702.00 ± 23.30	51.00 ± 1.70	10,401.00 ± 95.40 ^a	710.00 ± 7.50 ^a
2 P	697.60 ± 20.00	50.70 ± 1.50	9,608.00 ± 10.00 ^b	614.00 ± 9.80 ^b
<i>P</i> -value	0.937	0.941	0.000	0.000

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย (Mean±SE) ที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ

P - value < 0.05 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

จากการศึกษาผลของการเจริญเติบโตของต้นพรหมมิที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกัน 3 ระดับ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ต้นพรหมมิที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ชุดควบคุม มีจำนวนกิ่งของต้นพรหมมิมีค่าสูงที่สุด รวมทั้งมีน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งมากที่สุด ($P<0.05$) แต่ผลความสูงของต้น ความกว้างใบ ความยาวใบ ความหนาใบ และจำนวนข้อไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกันทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างสูตรอาหาร (ตารางที่ 4.26)

ตารางที่ 4.26 ผลการเจริญเติบโตของต้นพรหมมิ (*B. monnieri* (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงด้วยสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันในระบบปลูกพืชไร้ดินที่ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

การเจริญเติบโต ของชิ้นเนื้อเยื่อ	ชุดการทดลอง			P-value
	½ P	P	2 P	
ความสูง (ซม.)	44.62 ± 0.67	43.98 ± 0.95	43.84 ± 0.63	0.746
ความกว้างใบ (ซม.)	0.89 ± 0.01	0.89 ± 0.01	0.89 ± 0.01	0.898
ความยาวใบ (ซม.)	2.25 ± 0.01	2.26 ± 0.02	2.20 ± 0.01	0.034
ความหนาใบ (มม.)	0.36 ± 0.01	0.37 ± 0.01	0.37 ± 0.01	0.609
จำนวนกิ่ง (จำนวน/ต้น)	23.98 ± 0.61 ^b	29.40 ± 0.78 ^a	23.85 ± 0.56 ^b	0.000
จำนวนข้อ (จำนวน/ต้น)	21.35 ± 0.23	21.15 ± 0.28	21.53 ± 0.23	0.573

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย (Mean±SE) ที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ

P – value < 0.05 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

4.3.2 ผลของปริมาณฟอสฟอรัสในสารละลายธาตุอาหารที่มีปริมาณแตกต่างกันต่อความสามารถในการยับยั้งและต้านสารอนุมูลอิสระของต้นพรหมมิในระบบปลูกพืชไร้ดิน

ปริมาณฟีนอลทั้งหมด (TPC) เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ปริมาณ TPC ในแต่ละสูตรอาหารไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยในสูตรอาหาร KMITL 2 ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ½ เท่า ชุดควบคุม และสูตรอาหารที่มีการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสขึ้น 2 เท่า มีปริมาณ TPC เท่ากับ 5.89, 5.40 และ 5.65 mg gallic/g ต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 4.27)

ปริมาณฟลาโวนอยด์ (TFC) เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ปริมาณ TFC ในแต่ละสูตรอาหารไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยในสูตรอาหาร KMITL 2 ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ½ เท่า ชุดควบคุม และสูตรอาหารที่มีการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสขึ้น 2 เท่า มีปริมาณ TFC เท่ากับ 13.57, 13.65 และ 13.54 mg gallic/g ต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 4.27)

ปริมาณซาโปนิน (TSC) เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ปริมาณซาโปนินในแต่ละสูตรอาหารไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยในสูตรอาหาร KMITL 2 ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ½ เท่า ชุดควบคุม และสูตรอาหารที่มีการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสขึ้น 2 เท่า มีปริมาณซาโปนิน เท่ากับ 2,939.56, 2,801.63 และ 2,748.23 µg saponin/g ต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 4.27)

การยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระในทุกสูตรอาหารไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยในสูตรอาหาร KMITL 2 ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ½ เท่า ชุดควบคุม และสูตรอาหารที่มีการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสขึ้น 2 เท่า มีปริมาณ DPPH เท่ากับ 49.06, 49.46 และ 48.63% ตามลำดับ (ตารางที่ 4.27)

การยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระในทุกสูตรอาหารไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยในสูตรอาหาร KMITL 2 ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ½ เท่า ชุดควบคุม และสูตรอาหารที่มีการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสขึ้น 2 เท่า มีปริมาณ ABTS เท่ากับ 34.90, 37.99 และ 39.19% ตามลำดับ (ตารางที่ 4.27)

การวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ (correlation analysis) ผลจากการวิเคราะห์ค่า correlation พบว่าปริมาณของ TFC มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวกกับปริมาณของ TPC และความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของ ABTS มีความสัมพันธ์กันในเชิงลบกับปริมาณของ TSC (ตารางที่ 4.28)

ผลการทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกัน 3 ระดับ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ในแต่ละสูตรอาหารไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 4.27)

ตารางที่ 4.27 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรมมิ (*B. monnieri* (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงด้วยสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันในระบบปลูกพืชไร้ดินที่ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	TPC (mg gallic/g)	TFC (mg luteolin/g)	TSC (μ g saponin/g)	DPPH (%inhibition)	ABTS (%inhibition)
½ P	5.89 ± 0.24	13.57 ± 0.83	2,939.56 ± 172.27	49.06 ± 0.93	34.90 ± 3.86
P	5.40 ± 0.21	13.65 ± 0.62	2,801.63 ± 130.91	49.46 ± 0.96	37.99 ± 2.93
2 P	5.65 ± 0.08	13.54 ± 0.25	2,748.23 ± 79.72	48.63 ± 2.30	39.19 ± 1.79
<i>P</i> -value	0.229	0.991	0.595	0.930	0.596

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย (Mean±SE) ที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ

P - value < 0.05 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.28 ผลการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณธาตุอาหารและสารต้านอนุมูลอิสระของของต้นพรหมมิ (*B. monnieri* (L.) Wettst.) ที่เลี้ยงด้วยสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันในระบบปลูกพืชไร้ดินที่ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

ปัจจัย	ปริมาณฟอสฟอรัส	TPC	TFC	TSC	DPPH	ABTS
ปริมาณฟอสฟอรัส	1					
TPC	-0.254	1				
TFC	-0.011	0.607*	1			
TSC	-0.320	-0.089	-0.523	1		
DPPH	-0.065	0.388	0.423	-0.325	1	
ABTS	0.319	0.089	0.523	-1.000**	0.325	1

* หมายถึง ค่าสหสัมพันธ์มีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05

** หมายถึง ค่าสหสัมพันธ์มีนัยสำคัญที่ระดับ 0.01

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาปริมาณธาตุอาหารในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรมมิที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

5.1.1 ผลของปริมาณธาตุอาหารที่ต่างกันต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อต้นพรมมิในสภาพปลอดเชื้อ

การศึกษาผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อต้นพรมมิในสภาพปลอดเชื้อเมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 6 พบว่า สูตรอาหารที่ลดปริมาณธาตุอาหารลง ¼ เท่า (¼ MS) ส่งผลทำให้ชั้นเนื้อเยื่อมีการเจริญเติบโตดีที่สุด (ตารางที่ 4.7) และมีน้ำหนักสด น้ำหนักแห้งของเนื้อเยื่อต้นพรมมิดีที่สุด ($P>0.05$) (ตารางที่ 4.6) ผลจากการศึกษา แสดงให้เห็นว่าการลดปริมาณธาตุอาหารลงส่งผลให้เนื้อเยื่อต้นพรมมิมีการเจริญเติบโตที่ดีกว่า ผลที่ได้มีความสอดคล้องกันกับการศึกษาการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชไม้ล้มลุกที่มีลักษณะลำต้นอ่อนนุ่ม ไม่มีเนื้อไม้ เช่นเดียวกับต้นพรมมิในสภาพปลอดเชื้อ จากรายงานของ Monfort et al. (2018) ที่ศึกษาปริมาณธาตุอาหารที่ต่างกันในอาหารกึ่งแข็ง MS ต่อการเจริญเติบโตในต้นโหระพา (*Ocimum basilicum* L.) ได้แก่ ¼ MS, ½ MS, MS และ 2 MS พบว่า ในสูตรอาหาร ½ MS และ MS มีการเจริญเติบโตดีที่สุด และมีความสอดคล้องกันกับการศึกษาการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชไม้ยืนต้นขนาดเล็ก ที่ลักษณะของลำต้นแตกต่างจากต้นพรมมิ คือ ลำต้นมีเนื้อไม้ จากการศึกษาของ Assis et al. (2012) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นมะม่วงหิมพานต์ (*Anacardium othonianum* Rizz) ในอาหารกึ่งแข็ง MS ที่มีปริมาณธาตุอาหารแตกต่างกัน ได้แก่ ¼ MS, ½ MS และ MS พบว่า เนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร ¼ และ ½ MS มีความสูงของชั้นเนื้อเยื่อ และความยาวใบดีกว่าในสูตรอาหาร MS รวมทั้งยังสอดคล้องกับการรายงานของ Baque et al. (2010) ที่ศึกษาปริมาณธาตุอาหารในอาหารกึ่งแข็ง MS ของต้นข่อย (*Morinda citrifolia* L.) พบว่าสูตรอาหาร ¼ MS มีอัตราการเจริญเติบโตของชั้นเนื้อเยื่อ ราก น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของรากดีกว่าในสูตรอาหารที่มีปริมาณธาตุอาหารสูง 1.5 และ 2.0 เท่า (1.5 MS และ 2.0 MS ตามลำดับ) สาเหตุที่เมื่อมีการลดปริมาณธาตุอาหารลงแต่กลับส่งผลทำให้การเจริญเติบโตของชั้นเนื้อเยื่อดีขึ้น เนื่องจาก อาหารกึ่งแข็ง MS เป็นอาหารที่มีส่วนประกอบของธาตุอาหารหลัก และธาตุอาหารรองอยู่ค่อนข้างสูง เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตรอื่น เช่น Knop's และ Uspenski and Uspenskia ที่มีปริมาณของธาตุอาหารน้อยกว่า 200 มิลลิกรัม/ลิตร

แต่ในขณะที่อาหารกึ่งแข็ง MS มีปริมาณธาตุอาหารมากกว่าถึง 25 เท่า (Thorpe, 2007) รวมทั้งมีปริมาณของวิตามินและกรดอะมิโนอย่างเพียงพอต่อความต้องการของพืช (Saad and Elshahed, 2012) การที่พืชได้รับธาตุอาหารอย่างเพียงพอจึงเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต โครงสร้างของพืช การพัฒนาอวัยวะต่าง ๆ การสร้างระบบสืบพันธุ์ และการสะสมของสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิ ซึ่งความต้องการธาตุอาหารของพืชอาจแตกต่างกันตามแต่ละชนิดของพืช (DalCorso et al., 2014; Monfort et al., 2018; Sivakumar et al., 2005)

5.1.2 ผลของปริมาณธาตุอาหารที่แตกต่างกันต่อความสามารถในการยับยั้งและต้านสารอนุมูลอิสระของเนื้อเยื่อต้นพรหมมิในสภาพปลอดเชื้อ

ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าความสามารถในการยับยั้งและต้านสารอนุมูลอิสระในชั้นเนื้อเยื่อพรหมมิ ในสูตรอาหาร $\frac{1}{4}$ MS ส่งผลให้มีปริมาณของ TPC, TFC และความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS มีค่ามากที่สุด ส่วนปริมาณของซาโปนินพบว่า สูตรอาหารในชุดควบคุม (MS) มีปริมาณของซาโปนินสูงที่สุด ผลที่ได้มีความสอดคล้องกันกับการศึกษาสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิของเนื้อเยื่อพืชไม้ล้มลุกในสภาพปลอดเชื้อของ Monfort et al. (2018) ที่ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต ชนิดของอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อ และอาหารกึ่งแข็ง MS ต่อผลผลิตขององค์ประกอบ volatile fraction ซึ่งเป็นสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิที่พบในต้นโหระพา เมื่อเพาะเลี้ยงต้นโหระพาในอาหารกึ่งแข็ง MS ที่มีปริมาณธาตุอาหารแตกต่างกัน ได้แก่ $\frac{1}{4}$ MS, $\frac{1}{2}$ MS, MS และ 2 MS พบว่า ในสูตรอาหาร $\frac{1}{4}$ MS, $\frac{1}{2}$ MS และ MS มีผลผลิตขององค์ประกอบ volatile fraction อยู่ 21-23 ชนิด แต่ต้นโหระพาที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่เพิ่มปริมาณธาตุอาหารเป็น 2 เท่า (2 MS) มีผลผลิตขององค์ประกอบ volatile fraction อยู่เพียง 15 ชนิด ซึ่งแตกต่างกับสูตรอาหารอื่น ๆ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Wu et al. (2006) ที่ศึกษาสภาวะแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงต้นเอ็กโคไนาเซีย ให้เหมาะสมเพื่อเพิ่มผลผลิตทางมวลชีวภาพและปริมาณฟีนอลิกในราก พบว่า สูตรอาหาร $\frac{1}{4}$ MS และ $\frac{1}{2}$ MS มีปริมาณผลผลิตของฟีนอลและฟลโวนอยด์สูงกว่าในสูตรอาหารที่มีปริมาณมากกว่า และมีความสอดคล้องกันกับการศึกษาปริมาณของสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิของเนื้อเยื่อพืชไม้ยืนต้นขนาดเล็ก จากการศึกษาของ Baque et al. (2010) พบว่า ปริมาณของสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิในต้นขมิ้นที่ปลูกในสูตรอาหาร $\frac{1}{4}$ MS และ 2 MS มีปริมาณสูงที่สุดเมื่อเทียบกับสูตรอาหารอื่น จากการศึกษาในข้างต้นจึงให้เห็นว่าการเพิ่มปริมาณธาตุอาหารมากเกินไปไม่ได้ส่งผลดีต่อพืชเสมอไป และพืชแต่ละชนิดก็มีความต้องการธาตุอาหารในปริมาณที่แตกต่างกัน (Sivakumar et al., 2005) นอกจากนี้ปริมาณของธาตุอาหารที่พืชได้รับเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อปริมาณสารเมตาบอไลต์

ทุติยภูมิแล้ว ยังมีปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างพืชกับสถานะแวดล้อมในการเพาะปลูกเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อปริมาณสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิอีกด้วย (Monfort et al., 2018)

5.2 การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของปริมาณฟอสฟอรัสต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรมมิที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

5.2.1 ผลของปริมาณฟอสฟอรัสที่ต่างกันต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อต้นพรมมิในสภาพปลอดเชื้อ

ผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อต้นพรมมิที่ปลูกในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกัน 4 ระดับ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าความสูงของเนื้อเยื่อในสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง $\frac{1}{4}$ เท่า ($\frac{1}{4}$ P) มีความสูงมากที่สุด ส่วนของจำนวนใบ และจำนวนข้อพบว่า สูตรอาหาร ในชุดควบคุม มีค่ามากที่สุด แต่ผลของจำนวนรากและจำนวนยอดไม่พบว่ามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ระหว่างสูตรอาหาร (ตารางที่ 4.16) ในทางกลับกันการศึกษากการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชไม้ล้มลุกในสภาพปลอดเชื้อของ Figas et al. (2016) ที่ศึกษาผลของฟอสฟอรัสที่ต่างกัน 3 ระดับ (MS, MS+P และ MS-P) ต่อการเจริญเติบโตและปริมาณเม็ดสี (pigment) ในการสังเคราะห์แสงของต้นเฮลิคริซึม (*Helichrysum arenarium* (L.) Moench) ในสภาพปลอดเชื้อพบว่า ปริมาณของฟอสฟอรัสที่เพิ่มขึ้นส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโต ความยาวของราก และปริมาณของคลอโรฟิลล์ a และ b ในต้นเฮลิคริซึมให้เพิ่มขึ้นด้วย โดยปกติแล้วฟอสฟอรัสมีความเกี่ยวข้องกับการพัฒนาการในส่วนของยอดและรากรวมทั้งช่วยให้พืชออกดอกและแก่เร็ว ทำให้พืชมีความแข็งแรง ด้านทานต่อโรคและแมลงได้ดี จากการศึกษาของ Ramezani et al. (2009) แสดงให้เห็นว่าฟอสฟอรัสมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชโดยจะส่งผลกระทบต่อความสูงต้น ความสูงของช่อดอก และปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบ เนื่องจากฟอสฟอรัสทำให้เกิดโคเอนไซม์ (coenzyme) ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการขนส่งพลังงานซึ่งเป็นพลังงานที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง ซึ่งได้แก่ adenosine triphosphate (ATP) และ nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP) เป็นพลังงานที่ใช้สำหรับกระบวนการในการสังเคราะห์แสงของพืชเพื่อไปใช้ตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ อีกทั้งใช้ในการสังเคราะห์ไขมัน และเป็นองค์ประกอบต่างๆที่สำคัญในธรรมชาติ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Salehi and Hajiboland (2008) ที่พบว่าฟอสฟอรัสมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์แสงของพืชถ้าพืชได้รับฟอสฟอรัสไม่เพียงพอต่อความต้องการ จะส่งผลทำให้พืชมีอัตราการสังเคราะห์แสงลดลงเนื่องจากการเปิด-ปิด

ของปากใบลดลง ไปยับยั้งกระบวนการทางเคมีแสง (photochemistry) และส่งผลต่ออัตราการดูดซึมธาตุอาหารของรากลดลงถึง 94%

5.2.2 ผลของปริมาณฟอสฟอรัสที่แตกต่างกันต่อความสามารถในการยับยั้งและต้านสารอนุมูลอิสระของเนื้อเยื่อต้นพรมมิในสภาพปลอดเชื้อ

ผลการทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระในเนื้อเยื่อต้นพรมมิที่ปลูกในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกัน 4 ระดับ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า สูตรอาหาร MS ที่มีการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสขึ้น 2 เท่า มีปริมาณ TPC และ TFC มากที่สุด สูตรอาหารที่มีปริมาณซาโปนินมากที่สุด คือ สูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ½ เท่า การยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS พบว่า สูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ½ เท่า มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระมากที่สุด ส่วนการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่า ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกสูตรอาหาร ($P > 0.05$) (ตารางที่ 4.17) ผลที่ได้มีความสอดคล้องกันกับการศึกษาสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิของเนื้อเยื่อพืชไม้ล้มลุกในสภาพปลอดเชื้อของ Nagella and Murthy (2011) ที่ศึกษาผลของมหาตุ และ แห้งไนโตรเจนต่อการสร้างสาร withanolide-A ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในโสมอินเดีย (*Withania somnifera*) พบว่า การเพิ่มปริมาณของระดับฟอสฟอรัสเป็น 2 เท่าในสูตรอาหาร MS สามารถทำให้โสมอินเดียมีการผลิตสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้นอย่างเห็นได้ชัด แต่ในทางกลับกันมีงานวิจัยที่ชี้ให้เห็นว่าการจำกัดปริมาณฟอสฟอรัสก็สามารถช่วยเพิ่มปริมาณการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระได้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิของเนื้อเยื่อพืชไม้พุ่มในสภาพปลอดเชื้อของ Bramble and Graves (1991) พบว่า สูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ส่งผลให้การผลิตสารอัลคาลอยด์ในต้นกาแฟอาราบิก้า (*Coffea arabica*) มีปริมาณเพิ่มมากขึ้น ส่วนผลของซาโปนินในการศึกษาแสดงให้เห็นว่า สูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง ½ เท่า มีปริมาณซาโปนินดีที่สุด ผลที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาของ Wu and Zhong (1999) จากการศึกษาพบว่า ปริมาณฟอสฟอรัสที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ต้นโสมมีการผลิตซาโปนินลดลง โดยปริมาณซาโปนินจะเกี่ยวข้องกับอัตราส่วนระหว่าง $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ถ้าอัตราส่วนระหว่าง $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ ลดลงจะส่งผลทำให้ปริมาณซาโปนินเพิ่มมากขึ้น และอีกหนึ่งสาเหตุ คือ ปริมาณของแอมโมเนียในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูงขึ้น จะส่งผลเสียต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ทำให้มีการผลิตซาโปนินลดลง โดยปริมาณซาโปนินในชีวมวลจะผันแปรเล็กน้อยกับระยะเวลาในการเลี้ยง และไม่มีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโต สาเหตุที่ผลการศึกษามีความแตกต่างกัน เนื่องจากความต้องการธาตุอาหารของพืชแต่ละชนิดมีความต้องการแตกต่างกัน

5.3 การทดลองที่ 3 การศึกษาผลของปริมาณฟอสฟอรัสในสารละลายธาตุอาหารต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรมมิที่เลี้ยงในระบบปลูกพืชไร้ดินแบบ DFT

5.3.1 ผลของปริมาณฟอสฟอรัสในสารละลายธาตุอาหารที่มีปริมาณแตกต่างกันต่อการเจริญเติบโตของต้นพรมมิในระบบปลูกพืชไร้ดิน

ผลการศึกษากการเจริญเติบโตของต้นพรมมิที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกัน 3 ระดับ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ผลความสูงของต้น ความกว้างใบ ความยาวใบ ความหนาใบ และจำนวนข้อไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างสูตรอาหาร แต่ต้นพรมมิที่ปลูกในชุดควบคุม มีจำนวนกิ่งของต้นพรมมิมีค่าสูงที่สุด รวมทั้งมีน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งมากที่สุด ($P<0.05$) (ตารางที่ 4.26) ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าปริมาณฟอสฟอรัสไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตในต้นพรมมิ ผลที่ได้มีความสอดคล้องกันกับการศึกษากการเจริญเติบโตของพืชไม้ล้มลุกของ Stewart and Lovett-Doust (2003) ซึ่งทำการศึกษากผลของปริมาณฟอสฟอรัสที่มีต่อผลผลิตของจำนวนดอก จำนวนใบ และความสูงของต้นดาวเรือง (*Calendula officinalis* L.) พบว่า ปริมาณของฟอสฟอรัสที่มากขึ้นไม่ส่งผลทำให้ผลผลิตและการเจริญเติบโตดีขึ้น และผลของการศึกษาดังกล่าวมีความสอดคล้องกันกับการศึกษาของ Chrysargyris et al. (2016) ที่ศึกษาผลของปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสต่อลักษณะการเจริญเติบโตในต้นลาเวนเดอร์ (*Lavandula angustifolia* Mill.) พบว่า ปริมาณของฟอสฟอรัสที่เพิ่มขึ้นในสารละลายธาตุอาหารไม่มีผลต่อความสูงต้น ความยาวใบ และความหนาของก้าน รวมทั้งผลจากการศึกษายังแสดงให้เห็นว่าอัตราส่วน และปริมาณของแร่ธาตุในสารละลายธาตุอาหารมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชด้วยเช่นกัน Chrysargyris et al. (2019) ได้กล่าวว่าฟอสฟอรัสเป็นธาตุประกอบที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยฟอสฟอรัสจะเกี่ยวข้องกับการทำงานของกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง และปฏิกิริยาการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ในพืช

5.3.2 ผลของปริมาณฟอสฟอรัสในสารละลายธาตุอาหารที่มีปริมาณแตกต่างกันต่อความสามารถในการยับยั้งและต้านสารอนุมูลอิสระของต้นพรมมิในระบบปลูกพืชไร้ดิน

ผลการทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกัน 3 ระดับ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ในแต่ละสูตรอาหารไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 4.27) จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าปริมาณฟอสฟอรัสไม่มีผลต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิ ผลที่ได้มีความสอดคล้องกันกับการศึกษาสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิของพืชไม้ล้มลุกของ Chrysargyris et al.

(2016) พบว่า อัตราส่วนระหว่างไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัสมีผลต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระในพืช สาเหตุหนึ่งอาจจะเป็นผลมาจากอัตราส่วนของไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัส โดยสอดคล้องกับการศึกษาของ Maahmoud and Younis (2009) ที่ศึกษาผลของธาตุอาหารไนโตรเจนและฟอสฟอรัสต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของน้ำมันในต้นมินต์ พบว่าอัตราส่วนระหว่างไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัสมีผลต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระในต้นมินต์ ดังนั้นอัตราส่วนของธาตุอาหารที่เหมาะสมมีผลต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระในพืช ความเหมาะสมของอัตราส่วนธาตุอาหารก็จะแตกต่างกันไปตามแต่ละชนิดและช่วงอายุของพืช

บทที่ 6

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

- 6.1 สูตรอาหารที่มีการลดปริมาณธาตุอาหารลง $\frac{1}{4}$ เท่า ของสูตรอาหาร MS เป็นสูตรอาหารที่ทำให้การเจริญเติบโต ปริมาณของ TPC, TFC และความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรหมมีติที่สุด และในขณะที่ปริมาณของซาโปนินในชิ้นเนื้อเยื่อซึ่งเป็นสารประกอบหลักในต้นพรหมมีติในสูตรอาหารในชุดควบคุม (MS) พบว่ามีปริมาณของซาโปนินสูงที่สุด
- 6.2 สูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง $\frac{1}{4}$ เท่า มีค่าความสูงของเนื้อเยื่อต้นพรหมมีติที่สุด ผลของจำนวนใบและจำนวนข้อพบว่าในสูตรอาหารชุดควบคุม มีจำนวนมากที่สุด และผลของสารต้านอนุมูลอิสระในเนื้อเยื่อต้นพรหมมีติพบว่า ปริมาณฟีนอลทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมมีค่าสูงที่สุดในสูตรอาหาร MS ที่มีการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสขึ้น 2 เท่า ผลของซาโปนินรวมและ ABTS มีค่าสูงที่สุดในสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลง $\frac{1}{2}$ เท่า
- 6.3 ต้นพรหมมีติปลูกในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ชุดควบคุม มีจำนวนกิ่งของต้นพรหมมีติค่าสูงที่สุด รวมทั้งมีน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งมากที่สุด

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาปริมาณฟอสฟอรัสต่อการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระของเนื้อเยื่อต้นพรหมมีติเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ควรมีการศึกษาและหาอัตราส่วนของธาตุอาหารที่ทำให้พืชเกิดความเครียดแล้วส่งผลต่อการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระเพื่อเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลในเนื้อเยื่อต้นพรหมมีติให้มากขึ้น

บรรณานุกรม

- กรกนก อิงคนินันท์. 2561. *พรมมิ สมุนไพรบำรุงความจำ*. พิมพ์ครั้งที่ 1. พิษณุโลก : มหาวิทยาลัยนเรศวร.
- กาญจนรี พงษ์ฉวี, รัฐภัทร์ ประดิษฐ์สรรพ์ และวรรณดา พิพัฒน์เจริญชัย. 2020. การศึกษาความต้องการธาตุอาหารของอเมซอน *Echinodorus horemanii* Rataj โดยการวิเคราะห์เนื้อเยื่อ. https://www.fisheries.go.th/aquaorna/research52_7.html. (4 เมษายน 2563)
- เจิมอรุณ อุทัยแจ่มศรีผล เขียวพา จิระเกียรติกุล และภาณุมาศ ฤทธิไชย. 2560. ผลของระยะเวลาเพาะเลี้ยงต่อปริมาณสารทุติยภูมิและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของยอดพรมมิในสภาพปลอดเชื้อ. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*. 25(3): 443-452.
- ชาญชัย สาดแสงจันทร์. 2556. พรมมิสมุนไพรเพื่อสุขภาพสมอง. *ธรรมศาสตร์เวชสาร*. 13(4): 554-560.
- ดิเรก ทองอร่าม และอิทธิสุนทร นันทกิจ. 2544. *เอกสารประกอบคำบรรยายในการอบรมการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินเชิงธุรกิจในประเทศไทย*. กรุงเทพฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ดิเรก ทองอร่าม. 2547. *การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน : หลักการจัดการการผลิตและเทคโนโลยีการผลิตเชิงธุรกิจในประเทศไทย*. พิมพ์ครั้งที่ 2. ราชบุรี : ชรรมรักษ์การพิมพ์.
- ถวิล สุขวงษ์. 2546. *การปลูกพืชไม่ใช้ดิน*. กรุงเทพฯ. แม็ค.
- นงนุช เลหาะวิสุทธิ อธิสุนทร นันทกิจ สมเกียรติ สีสนอง มณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ และวรางคณา กาซั่ม. 2556. *การผลิตพรมมิไม่น้ำสกุลอานูเบียส (Anubias sp.)*. กรุงเทพฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ขงยุทธ โอสถสภา. 2558. *ชาตอาหารพืช*. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ขงศักดิ์ ขจรผดุงกิตติ และอัญชลี จาละ. 2557. อิทธิพลของ BA และ NAA ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนยอดต้นพรมมิโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. *Thai Journal of Science and Technology*. 3(1): 7-14.
- รังสฤษดิ์ กาวิตะ. 2541. *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช : หลักการและเทคนิค*. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วันเพ็ญ มินกาญจน์ นงนุช เลหาะวิสุทธิ และสุภาพ พรหมยศ. 2535. *พรมมิไม่น้ำประดับตู้ปลา*. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 44 หน้า.

- ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์. 2546. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. สถาบันราชภัฏอุดรธานี.
- อารีย์ วรรณภูววัฒน์. 2541. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช. กรุงเทพฯ : อติสรศักดิ์.
- Armstrong, D. L. 1999. *Better Crops With Plant Food*. Vol. 83. No.1. Georgia : Potash & Phosphate Institute.
- Assis, K. C. D., Pereira, F. D., Cabral, J. S. R., Silva, F. G., Silva, J. W., and Santos, S. C. D. 2012. *In vitro* cultivation of *Anacardium othonianum* Rizz.: effects of salt concentration and culture medium volume. *Acta Scientiarum Agronomy*. 34: 77-83.
- Baque, M. A., Lee, E. J., and Paek, K. Y. 2010. Medium salt strength induced changes in growth, physiology and secondary metabolite content in adventitious roots of *Morinda citrifolia*: the role of antioxidant enzymes and phenylalanine ammonia lyase. *Plant Cell Reports*. 29: 685-694.
- Bhattacharya, S. K., Bhattacharya, A., Kumar, A., and Ghosal, S. 2000. Antioxidant activity of *Bacopa monniera* in rat frontal cortex, striatum and hippocampus. *Phytotherapy Research*. 14(3): 174–179.
- Bramble, J. L., and Graves, D. J. 1991. Calcium and phosphate effects on growth and alkaloid production in *Coffea arabica*: experimental results and mathematical model. *Biotechnology and Bioengineering*. 37: 859-868.
- Chaudhari, K. S., Tiwari, N. R., Tiwari, R. R., and Sharma, R. S. 2017. Neurocognitive effect of nootropic drug Brahmi (*Bacopa monnieri*) in Alzheimer's disease. *Annals of Neurosciences*. 24: 111-122.
- Chrysargyris, A., Panayiotou, C., and Tzortzakis, N. 2016. Nitrogen and phosphorus levels affected plant growth, essential oil composition and antioxidant status of lavender plant (*Lavandula angustifolia* Mill.). *Industrial Crops and Products*. 83: 577-586.
- Chrysargyris, A., Petropoulos, S. A., Fernandes, A., Barros, L., Tzortzakis, N., and Ferreira, I. C. F. R. 2019. Effect of phosphorus application rate on *Mentha spicata* L. grown in deep flow technique (DFT). *Food Chemistry*. 276: 84-92.
- DalCorso, G., Manara, A., Piasentin, S., and Furini, A. 2014. Nutrient metal elements in plants. *Metallomics* 10(6): 1770-1788.

- Devendra, Shankar, P. S., Preeti, B., Santanu, B., Gajanan, D., and Rupesh, D. 2018. Brahmi (*Bacopa monnieri*) as functional food ingredient in food processing industry. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 7(3): 189-194.
- Edwin, F. G., Michael, A. H., and Geert-Jan, D. K. editor. 2008. *Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition*. Netherlands : Springer.
- Erbas, S., Kucukyumuk, Z., Baydar, H. Erdal, I., and Sanli, A. 2017. Effects of different phosphorus doses on nutrient concentrations as well as yield and quality characteristics of lavandin (*Lavandula × intermedia* Emeric ex Loisel. var. Super). *Turkish Journal of Field Crops*. 22(1): 32-38.
- Figas, A., Sowa, M. T., Sawilska, A., Bocian, K., and Figas, A. 2016. Effect of phosphorus on the growth and photosynthetic pigments content of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench plantlets in *in vitro* cultures. *Polska Akademia Nauk, Oddział w Krakowie*. 3(1): 697–704.
- Ghosh, T., Maity, T. K., Sengupta, P., Dash, D. K., and Bose, A. 2008. Antidiabetic and *In Vivo* antioxidant activity of ethanolic extract of *Bacopa monnieri* Linn. aerial parts: A possible mechanism of action. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 7(1): 61-68.
- Gohil, K. J., and Patel, J. A. 2010. A review on *Bacopa monniera*: Current research and future prospects. *International Journal of Green Pharmacy*. 4(1): 1-9.
- Guerriero, G., Berni, R., Muñoz-Sanchez, J. A., Apone, F., Abdel-Salam, E. M., Qahtan, A. A., Alatar, A. A., Cantini, C., Cai, G., Hausman, J. F., Siddiqui, K. S., Hernández-Sotomayor, S. M. T., and Faisal, M. 2018. Production of Plant Secondary Metabolites: Examples, Tips and Suggestions for Biotechnologists. *Genes*. 9 (6): 1-22.
- Hussain, A., Qarshi, I. A., Nazir, H., and Ullah, I. 2012. Plant tissue culture: Current status and opportunities. In Leva, A., and L., Rinaldi. *Recent Advances in Plant in vitro Culture*. Croatia : InTech. pp. 1-28.
- Jain, P., Sharma, HP., Basri, F., Priya, K., and Singh, P. 2017. Phytochemical analysis of *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. and their anti-fungal activities. *Indian Journal of Traditional Knowledge*. 16(2): 310-318.

- Khan, M. S., and Zaidi, M. editor. 2009. *Phosphate Solubilising Microbes for Crop Improvement*. New York : Nova Science Publishers.
- Lim, Y. Y., and Murtijaya, Y. 2007. Antioxidant properties of *Phyllanthus amarus* extracts as affected by different drying methods. *LWT - Food Science and Technology*. 40: 1664-1669.
- Lin, Z. H., Qi, Y. P., Chen, R. B., Zhang, F. Z., and Chen, L. S. 2012. Effects of phosphorus supply on the quality of green tea. *Food Chemistry*, 130(4): 908-914.
- Maahmoud, S. A., and Younis, M. A. H. 2009. Effect of nitrogen and phosphorus fertilizers on growth and oil yield of indigenous Mint (*Mentha longifolia* L.). *Biotechnology*. 8(3): 380-384.
- Mathew, J., Paul, J., Nandhu, M. S., and Paulose, C. S. 2010. *Bacopa monnieri* and Bacoside-A for ameliorating epilepsy associated behavioral deficits. *Fitoterapia*. 81: 315-322.
- McCauley, A., Jones, C., and Jacobsen, J. 2011. Plant nutrient functions and deficiency and toxicity symptoms. *Nutrient Management Module*. 9: 1-16.
- Monfort, L. E. F., Bertolucci, S. K. V., Lima, A. F., Carvalho, A. A., Mohammed, A., Blank, A. F., and Pinto, J. E. B. P. 2018. Effects of plant growth regulators, different culture media and strength MS on production of volatile fraction composition in shoot cultures of *Ocimum basilicum*. *Industrial Crops and Products*. 116: 231–239.
- Muller, V., Lankes, C., Zimmermann, B. F., Noga, G., and Hunsche, M. 2013. Centelloside accumulation in leaves of *Centella asiatica* is determined by resource partitioning between primary and secondary metabolism while influenced by supply levels of either nitrogen, phosphorus or potassium. *Journal of Plant Physiology*. 170: 1165 – 1175.
- Murashige, T., and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 15: 473-497.
- Murthy, H. N., Lee, E. J., and Paek, K. Y. 2014. Production of secondary metabolites from cell and organ cultures: strategies and approaches for biomass improvement and metabolite accumulation. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 118: 1–16.

- Nagella, P., and Murthy, H. N. 2011. Effects of macroelements and nitrogen source on biomass accumulation and withanolide-A production from cell suspension cultures of *Withania somnifera* (L.) Dunal. *Plant Cell Tissue Organ Culture*. 104: 119-124.
- Naik, P. M., Manohar, S. H., Praveen, N., and Murthy, H. N. 2010. Effects of sucrose and pH levels on *in vitro* shoot regeneration from leaf explants of *Bacopa monnieri* and accumulation of bacoside A in regenerated shoots. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 100: 235–239.
- Nell, M., Voetsch, M., Vierheilig, H., Steinkellner, S., Zitterl-Eglseer, K., Franz, C., and Novak, J. 2009. Effect of phosphorus uptake on growth and secondary metabolites of garden sage (*Salvia officinalis* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(6): 1090-1096.
- Nilsson, J., Pillai, D., Onning, G., Persson, C., Nilsson, A., and Akesson, B. 2005. Comparison of the 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) methods to assess the total antioxidant capacity in extracts of fruit and vegetables. *Molecular Nutrition & Food Research*. 49: 239-246.
- Pandey, B. K., Mehra, P. and Giri, J. 2014. Phosphorus starvation response in plants and opportunities for crop improvement. In Tuteja, N. and S. S., Gill. *Climate Change and Plant Abiotic Stress Tolerance 1st*. German : Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. pp. 991-1012.
- Pushkar, G., Pushkar, B., and Sivabalan, R. 2015. A review on major bioactivities of *Bacopa monnieri*. *Annals of Applied Bio-Sciences*. 2(2): 1-11.
- Ramezani, S., Rezaei, M. R., and Sotoudehnia, P. 2009. Improved growth, yield and essential oil content of basil grown under different levels of phosphorus sprays in the field. *Journal of Applied Biological Sciences*. 3(2): 96–101.
- Rao, S. R., and Ravishankar, G. A. 2002. Plant cell cultures: Chemical factories of secondary metabolites. *Biotechnology Advances*. 20: 101–153.
- Robertson, C., and R., Prasad. 2010. Brahmi *Bacopa monniera*. https://www.enlightenedevents.com.au/_literature_57586/Brahmi_~_Bacopa_monniera_by_Caroline_Robertson (25 พฤษภาคม 2563)

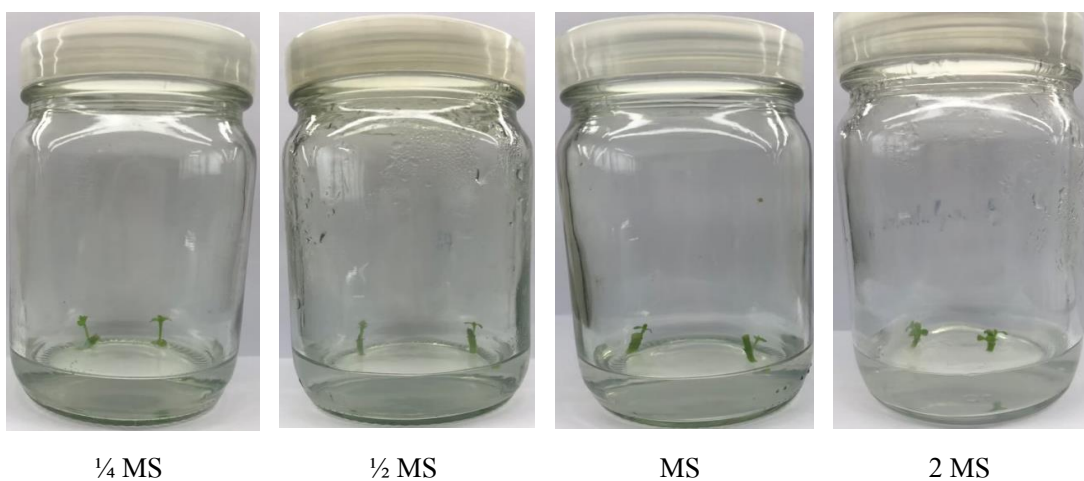
- Saad, A. I. M., and Elshahed, A. M. 2012. Plant tissue culture media. In Leva, A., and L., Rinaldi. eds. *Recent Advances in Plant in vitro Culture*. Croatia : InTech. pp. 29-40.
- Salehi, S.Y., and Hajiboland, R. 2008. A high internal phosphorus use efficiency in tea (*Camellia sinensis* L.plants. *Asian Journal of Plant Sciences*. 7(1): 30-36.
- Schachtman, D. P., Reid, R. J., and Ayling, S. M. 1998. Phosphorus uptake by plants: From soil to cell. *Plant Physiology*. 116: 447-453.
- Sharma, N., Acharya, S., Kumar, K., Singh, N., and Chaurasia, O. P. 2018. Hydroponics as an advanced technique for vegetable production: An overview. *Journal of Soil and Water Conservation*. 17(4): 364-371.
- Shirazi, O. U., Khattak, M. M. A. K., Shukri, N. A. M., and Anuar, M. N. N. 2014. Determination of total Phenolic, flavonoid content and free radical scavenging activities of common herbs and spices. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 3(3): 104-108.
- Sivakumar, G., Yu, K. W., and Paek, K. Y. 2005. Production of Biomass and Ginsenisides from Adventitious Roots of *Panax ginseng* in Bioreactor Cultures. *Engineering in Life Sciences*. 5(4): 333-342.
- Sosa, M. D. L. M., Moroni, P., and Leary, N. O. 2018. A taxonomic revision of the genus *Bacopa* (Gratiolaeae, Plantaginaceae) in Argentina. *Phytotaxa*. 336(1): 1-27.
- Stewart, C. L., and Lovett-Doust, L. 2003. Effect of phosphorus treatment on growth and yield in the medicinal herb *Calendula officinalis* L. (Standard Pacific) under hydroponic cultivation. *Canadian Journal of Plant Science*. 83(3): 611-617.
- Stough, C., Singh, H., and Zangara, A. 2015. Mechanisms, Efficacy, and Safety of *Bacopa monnieri* (Brahmi) for Cognitive and Brain Enhancement. *Hindawi Publishing Corporation.Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Volume 2015, Article ID717605, 2 pages.
- Tewari, R. K., Kumar, P., and Sharma, P. N. 2007. Oxidative stress and antioxidant responses in young leaves of mulberry plants grown under nitrogen, phosphorus or potassium deficiency. *Journal of Integrative Plant Biology*. 49(3): 313-322.
- Thorpe, T. A. 2007. History of plant tissue culture. *Molecular Biotechnology*. 37: 169–180.

- Vador, N., Vador, B., and Hole, R. 2012. Simple Spectrophotometric Methods for Standardizing Ayurvedic Formulation. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 74(2): 161-163.
- Wu, C. H., Dewir, Y. H., Hahn, E. J., and Paek, K. Y. 2006. Optimization of culturing conditions for the production of biomass and phenolics from adventitious roots of *Echinacea angustifolia*. *Journal of Plant Biology*. 49(3): 193-199.
- Wu, J., and Zhong, J. J. 1999. Production of ginseng and its bioactive components in plant cell culture: Current technological and applied aspects. *Journal of Biotechnology*. 67: 89-99.
- Zhang, Y. H., and Zhong, J. J. 1997. Hyperproduction of ginseng saponin and polysaccharide by high density cultivation of *Panax notoginseng* cells. *Enzyme and microbial technology*. 21(1): 59-63.

ภาคผนวก



ภาพผนวกที่ 1 ภาพของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณธาตุอาหารแตกต่างกัน ($\frac{1}{4}$ MS, $\frac{1}{2}$ MS, MS และ 2 MS) ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเมื่อเริ่มต้นการทดลอง



$\frac{1}{4}$ MS

$\frac{1}{2}$ MS

MS

2 MS

ภาพผนวกที่ 2 ภาพการเจริญเติบโตของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณธาตุอาหารแตกต่างกันที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อในสัปดาห์ที่ 2



$\frac{1}{4}$ MS

$\frac{1}{2}$ MS

MS

2 MS

ภาพผนวกที่ 3 ภาพการเจริญเติบโตของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณธาตุอาหารแตกต่างกันที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อในสัปดาห์ที่ 4



$\frac{1}{4}$ MS

$\frac{1}{2}$ MS

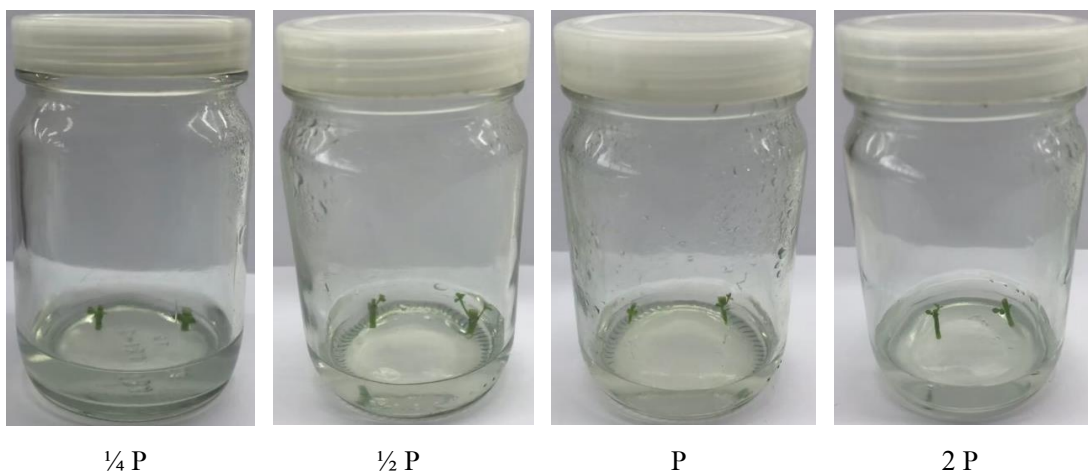
MS

2 MS

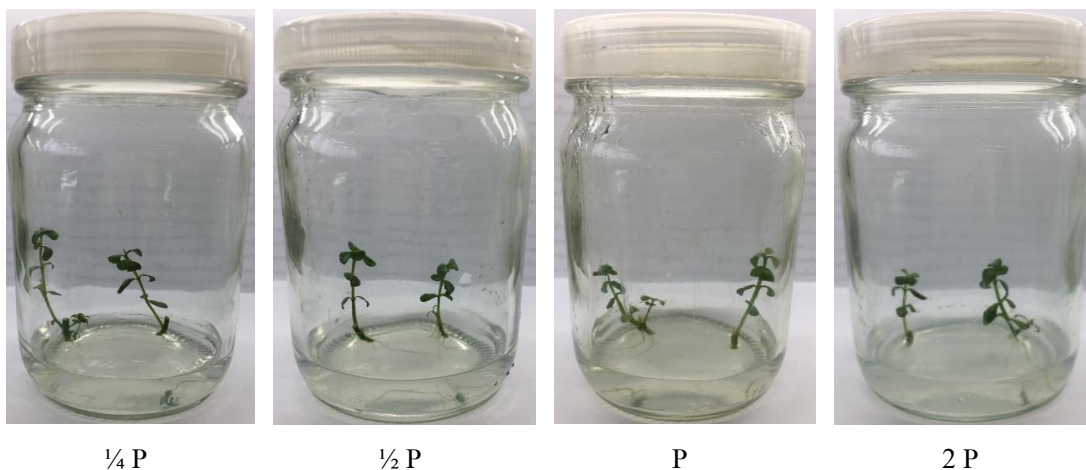
ภาพผนวกที่ 4 ภาพการเจริญเติบโตของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณธาตุอาหารแตกต่างกันที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อในสัปดาห์ที่ 6



ภาพผนวกที่ 5 ภาพการเจริญเติบโตของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกัน ($\frac{1}{4}$ P, $\frac{1}{2}$ P, P และ 2 P) ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเมื่อเริ่มต้นการทดลอง



ภาพผนวกที่ 6 ภาพการเจริญเติบโตของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกัน ($\frac{1}{4}$ P, $\frac{1}{2}$ P, P และ 2 P) ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อในสัปดาห์ที่ 2



ภาพผนวกที่ 7 ภาพการเจริญเติบโตของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกัน ($\frac{1}{4}$ P, $\frac{1}{2}$ P, P และ 2 P) ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อในสัปดาห์ที่ 4



ภาพผนวกที่ 8 ภาพการเจริญเติบโตของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกัน ($\frac{1}{4}$ P, $\frac{1}{2}$ P, P และ 2 P) ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อในสัปดาห์ที่ 6



ภาพผนวกที่ 9 ภาพของต้นพรหมมิในการศึกษาปริมาณของฟอสฟอรัสในสารละลายธาตุอาหารต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพของสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรหมมิในระบบปลูกพืชไร้ดินแบบ DFT เมื่อเริ่มต้นการทดลอง



ภาพผนวกที่ 10 ภาพการเจริญเติบโตของต้นพรหมมิ ที่เลี้ยงด้วยสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันในระบบปลูกพืชไร้ดินที่ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

ตารางผนวกที่ 1 น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งของต้นพรมมิจากธรรมชาติ (มิลลิกรัม/ต้น)

น้ำหนักสด	น้ำหนักแห้ง
263.90 ± 12.50	16.80 ± 5.00

*ค่าเฉลี่ย (Mean±SE)

ตารางผนวกที่ 2 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรมมิจากธรรมชาติ

TPC (mg gallic/g)	TFC (mg luteolin/g)	TSC (mg luteolin/g)	DPPH (%inhibition)	ABTS (%inhibition)
3.51 ± 0.45	0.29 ± 0.10	1,252.15 ± 18.78	9.62 ± 0.40	83.40 ± 0.50

*ค่าเฉลี่ย (Mean±SE)

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ - นามสกุล	นางสาวศศิธร พินภิรมย์
วัน เดือน ปีเกิด	4 พฤษภาคม 2528
ที่อยู่	23 ซอยพัฒนาเวศม์ 13 (ปรีดีพนมยงค์ 26) แขวงคลองตันเหนือ เขตวัฒนา กรุงเทพมหานคร 10110
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2550 วิทยาศาสตรบัณฑิต หลักสูตรวิทยาศาสตรการ ประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระ จอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประสบการณ์ทำงานและผลงานวิจัย	
พ.ศ.2555	การศึกษาคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงปลาน้ำจืด เพื่อนำไปใช้ ในการจัดการบ่อ (การประชุมทางวิชาการของ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 50)
พ.ศ.2563	ผลของปริมาณฟอสฟอรัสต่อการเจริญเติบโตและสารต้าน อนุมูลอิสระของต้นพรมมิในสภาพปลอดเชื้อ (วารสารเกษตร พระจอมเกล้าปีที่ 38 ฉบับที่ 4 เดือนตุลาคม - ธันวาคม)
พ.ศ.2563	ผลของปริมาณธาตุอาหารในสูตรอาหารกึ่งแข็ง MS ต่อ การเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรมมิใน สภาพปลอดเชื้อ (วารสารเกษตรพระจอมเกล้าปีที่ 38 ฉบับที่ 4 เดือนตุลาคม - ธันวาคม)