ผลของปริมาณฟอสฟอรัสต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรมมิในสภาพปลอดเชื้อ

Effect of Phosphorus Concentration on Growth and Antioxidant Properties in *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. Growing in *In Vitro* Cultures

ศศิธร พินภิรมย์[1] นงนุช เลาหะวิสุทธิ์[1*] และอัจฉรี เรืองเดช[1]
Sasithorn Pinpirom[1], Nongnuch Laohavisuti[1*] and Uscharee Ruangdej[1]

บทคัดย่อ

พรรณไม้น้ำพรมมิ (*Bacopa monnieri* (L.) Wettst.) เป็นสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และมีสรรพคุณทางยาช่วยป้องกันโรคอัลไซเมอร์ จากการศึกษาผลของอาหารกึ่งแข็งสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่มีความเข้มข้นของปริมาณฟอสฟอรัส (P) แตกต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ ¼ P, ½ P, P และ 2 P ต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระในชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ความสูงของเนื้อเยื่อในสูตรอาหาร ¼ P มีความสูงมากที่สุด ($P<0.05$) คือ 39.39 มิลลิเมตร ผลของจำนวนใบ และจำนวนข้อพบว่า สูตรอาหาร P มีค่ามากที่สุด ($P<0.05$) คือ 16.05 ใบ/ชิ้นเนื้อเยื่อ และ 7.50 ข้อ/ชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ ผลของจำนวนรากไม่พบว่ามีความแตกต่างกันระหว่างสูตรอาหาร ($P>0.05$) โดยมีจำนวนราก 4.10-4.60 ราก/ชิ้นเนื้อเยื่อ และผลของจำนวนยอดไม่พบว่ามีความแตกต่างกันระหว่างสูตรอาหาร ($P>0.05$) โดยมีจำนวนยอด 1.63-1.88 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ ผลจากการศึกษาความสามารถในการยับยั้งและสารต้านอนุมูลอิสระในชิ้นเนื้อเยื่อพรมมิ แสดงให้เห็นว่าการเลี้ยงเนื้อเยื่อในสูตรอาหาร 2 P ส่งผลให้มีปริมาณของ TPC และ TFC มากที่สุด (8.48 µg gallic/g, 16.44 mg luteolin/g ตามลำดับ) และพบว่าในสูตรอาหาร ½ P พบปริมาณ saponin สูงที่สุด เท่ากับ 4,921 mg saponin/g ส่วนสูตรอาหารที่มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS มากที่สุด คือ สูตรอาหาร ½ P มีค่าเท่ากับ 79.66% และพบว่า ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างสูตรอาหาร ($P>0.05$)

คำสำคัญ: พรมมิ ฟอสฟอรัส สารต้านอนุมูลอิสระ สภาพปลอดเชื้อ การเจริญเติบโต

Abstract

Bacopa monnieri (L.) Wettst. is known as a medical plant that can be used to improve human memory. Furthermore, its plant tissues contain a range of compounds that display antioxidant activities. In this study, the growth and antioxidant activity of explants of *B. monnieri* (L.) Wettst. cultivated in Murashige and Skoog (MS) medium with different phosphorus concentrations, ¼ P, ½ P, P and 2 P, were investigated. Explants on the ¼ P treatment demonstrated the maximum plant height, which was 39.39 mm. The highest number of leaves and nodes were found on the explants grown in the control treatment (P), and these were 16.05 leaves/explant and 7.50 nodes/explant. Furthermore, there were no significant differences in the number of roots and shoots among the treatments ($P>0.05$), which ranged over the values of 4.10-4.60 roots/explant and 1.63-1.88 shoots/explant respectively. As for the antioxidant activity, the double P treatment (2 P) produced the highest concentrations of TPC and TFC, expressed as 8.48 µg gallic/g and 16.44 mg luteolin/g, respectively. Compared to other treatments, the half P treatment (½ P) was observed to have produced explants with the highest saponin concentration (4,921 mg saponin/g) and the highest content of antioxidant activity as measured by ABTS assay, which was 79.66%. Finally, the said treatments did not produce any statistically significant differences in the DPPH assay results ($P>0.05$).

Keywords: *Bacopa monnieri* (L.) Wettst., phosphorus, antioxidant, *in vitro*, growth

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[1] คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520
[1] Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Ladkrabang, Bangkok 10520
*Corresponding author, Email: nongnuch.la@kmitl.ac.th

คำนำ

พรรณไม้น้ำพรมมิ (Brahmi) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. อยู่ในวงศ์ Plantaginaceae (Sosa et al., 2018) จัดเป็นสมุนไพรพื้นบ้านและยาอายุวัฒนะที่มีต้นกำเนิดมาจากประเทศเนปาลและอินเดียโดยสามารถพบได้ทั่วประเทศไทย ต้นพรมมิเป็นพืชล้มลุกขนาดเล็ก ลำต้นอวบน้ำ ไม่มีขน มีใบเป็นใบเลี้ยงเดี่ยวออกตรงกันข้าม ใบเป็นรูปไข่ค่อนข้างยาว ปลายใบกว้าง กลมและมน ส่วนของโคนใบแคบ มีขอบใบเรียบสีเขียวสด ดอกมีสีขาวหรือสีม่วงอ่อน สามารถเติบโตในพื้นที่ชื้นแฉะชุ่มน้ำ และสามารถเติบโตได้ในดินหรือทรายที่อยู่บริเวณใกล้แหล่งน้ำ (ชาญชัย สาดแสงจันทร์, 2556; Jain et al., 2017) ต้นพรมมิมีสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ที่มาจากสารประกอบของสารพฤกษเคมี (phytochemical) หลายกลุ่ม เช่น อัลคาลอยด์ (alkaloid) ไกลโคไซด์ (glycoside) ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) และซาโปนิน (saponin) (Mathew et al., 2010) ซึ่งสารสกัดที่ได้จากต้นพรมมิมีสรรพคุณทางยาช่วยป้องกันโรคอัลไซเมอร์หรือโรคความจำเสื่อม (Chaudhari et al., 2017) อีกทั้งสารสกัดที่ได้จากต้นพรมมิยังสามารถช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดได้อีกด้วย (Ghosh et al., 2008) โดยสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิจะไปช่วยทำให้ปริมาณของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (superoxide dismutase) คะตะเลส (catalase) และกลูตาไทโอนเพอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) ในสมองมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นเพื่อไปยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น (Bhattacharya et al., 2000)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ คือการนำเอาเซลล์ เนื้อเยื่อ หรือส่วนต่าง ๆ ของพืชมาเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีการควบคุมสภาพแวดล้อมและสารอาหาร โดยเป็นเทคนิคที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายเพื่อการเพิ่มจำนวนของพืชในปริมาณมาก ๆ รวมทั้งยังสามารถกำจัดโรคในพืช และยังสามารถเพิ่มผลผลิตของสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิได้อีกด้วย อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะต้องประกอบไปด้วยธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง วิตามิน กรดอะมิโน แหล่งคาร์บอน แหล่งออร์แกนิก สารควบคุมการเจริญเติบโต และสารที่ทำให้อาหารแข็งตัว ซึ่งอาหารที่นิยมนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือ อาหารกึ่งแข็งสูตร Murashige and Skoog (1962) (MS) เนื่องจากเป็นอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ใช้ได้กับพืชหลายชนิด (Hussain et al., 2012; Saad and Elshahed, 2012)

ธาตุอาหารนับเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพรรณไม้น้ำ เช่น ธาตุไนโตรเจน (nitrogen) ธาตุฟอสฟอรัส (phosphorus) และธาตุโพแทสเซียม (potassium) (ดิเรก ทองอร่าม, 2546) โดยเฉพาะอย่างยิ่งธาตุฟอสฟอรัสซึ่งมีหน้าที่เกี่ยวกับการถ่ายเทพลังงานที่เป็นกระบวนการทางสรีรวิทยาที่สำคัญที่มีความเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์แสงของพืช และยังเกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมของสารประกอบฟอสเฟตหรืออะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (adenosine triphosphate - ATP) สำหรับใช้ในการเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์ของพืช นอกจากนี้ธาตุฟอสฟอรัสยังเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของกรดนิวคลีอิก (nucleic acid) และฟอสโฟลิพิด (phospholipids) มีงานวิจัยพบว่าฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืช ช่วยทำให้การแบ่งเซลล์และการพัฒนาของส่วนประกอบต่าง ๆ ของพืชเป็นไปได้ดี อีกทั้งยังเป็นธาตุอาหารที่มีผลต่อการออกดอก การพัฒนาระบบสืบพันธุ์ของพืช (Nell et al., 2009) รวมทั้งเกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอไลต์ปฐมภูมิ (primary metabolites) และกระบวนการเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolites) ของพืชอีกด้วย (Chrysargyris et al., 2019) สารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ เป็นสารที่พืชสร้างขึ้นมาเพื่อการปรับตัวและป้องกันตัวเองจากสภาพแวดล้อม และสามารถนำมาผลิตเป็นยา สารเติมแต่งในอาหารเพื่อเพิ่มรสชาติได้อีกด้วย (Akula and Ravishankar, 2011) สารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิที่พืชสังเคราะห์ขึ้นมาสามารถแบ่งออกได้หลายกลุ่ม เช่น เทอร์ปีน (terpenes) ฟีนอลิก (phenolics) และอัลคาลอยด์ (alkaloids) เป็นต้น (Murthy et al., 2014) ซึ่งสารเหล่านี้มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นการศึกษาปริมาณของธาตุอาหารฟอสฟอรัสที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิ จึงมีประโยชน์อย่างมากเพื่อใช้ในการเพิ่มผลผลิตและปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิให้เพียงพอต่อความต้องการของตลาด และสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ได้

วิธีการศึกษา

พรรณไม้น้ำที่ใช้ในการทดลอง

พรรณไม้น้ำพรมมิที่ได้มาจากห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ หลักสูตรวิทยาศาสตร์การประมง ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Complete Randomized Design, CRD) โดยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรมมิในอาหาร MS ที่มีความเข้มข้นของปริมาณฟอสฟอรัส (P) แตกต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ ¼ P, ½ P, P (ชุดควบคุม) และ 2 P ชุดการทดลองละ 20 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ต้น (Table 1)

Table 1 Nutrient solution in the experiment.

Ingredients (mg/L)		Treatment			
		¼ P	½ P	P (Control)	2 P
1. Macroelements	NH_4NO_3	1,612	1,625	1,650	1,700
	KNO_3	1,995	1,963	1,900	1,774
	$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	440	440	440	440
	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	370	370	370	370
	KH_2PO_4	42.5	85	170	340
2. Microelements	H_3BO_3	6.2	6.2	6.2	6.2
	$MnSO_4 \cdot H_2O$	22.3	22.3	22.3	22.3
	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	8.6	8.6	8.6	8.6
	KI	0.83	0.83	0.83	0.83
	$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.25	0.25	0.25	0.25
	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.025	0.025	0.025	0.025
	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0.025	0.025	0.025	0.025
3. Irons	Na_2EDTA	37.25	37.25	37.25	37.25
	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	27.85	27.85	27.85	27.85
4. Vitamins	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. Sucrose		30,000	30,000	30,000	30,000

ขั้นตอนการทดลอง

เตรียมอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกัน 4 ระดับ 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

เตรียมชิ้นเนื้อเยื่อที่ใช้ในการศึกษา โดยการนำต้นอ่อนของต้นพรมมิมาตัดเป็นชิ้นเนื้อเยื่อขนาด 1 เซนติเมตร ย้ายมาเลี้ยงลงอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณของฟอสฟอรัสแตกต่างกันตามแผนการทดลอง แล้วนำไปเลี้ยงไว้บนชั้นเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยมีการให้แสงเป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

การเก็บข้อมูล

การเก็บผลการเจริญเติบโตของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิ จะทำการบันทึกข้อมูลผลการเจริญเติบโตของความสูงของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิด้วยการวัดความสูงของชิ้นเนื้อเยื่อด้วยเวอร์เนียคาลิปเปอร์ (vernier caliper) ทำการวัดจากส่วนของชิ้นเนื้อเยื่อที่โผล่พ้นจากอาหารกึ่งแข็ง MS ไปจนถึงยอดที่สูงที่สุดของชิ้นเนื้อเยื่อ จากนั้นบันทึกจำนวนใบ จำนวนข้อ จำนวนราก และจำนวนกิ่งที่เพิ่มขึ้น โดยบันทึกข้อมูลทั้งก่อนการทดลองและระหว่างการทดลองทุก ๆ สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ จากนั้นนำแต่ละชุดการทดลองมาชั่งปริมาณน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

การศึกษาการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิ เมื่อสิ้นสุดการทดลองจะนำเอาชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิมาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แล้วนำไปปั่นละเอียด จากนั้นนำตัวอย่างแห้งปริมาณ 0.20 กรัม มาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ต่อมาใช้กระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman No.1)

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรองสารสกัดที่ได้โดยเอาส่วนที่เป็นสารละลายแยกเก็บรักษาไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และนำเอาสารสกัดที่ได้ไปใช้ในการหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ ปริมาณฟีนอลทั้งหมด (total phenolic compounds, TPC) ด้วยวิธีโฟลินซิโอแคลตู (Folin-ciocalteu reagent) (ดัดแปลงจาก Lim and Mutijaya, 2007) ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (total flavonoid content, TFC) (ดัดแปลงจาก Shirazi et al., 2014) และปริมาณซาโปนินรวม (total saponin content, TSC) (ดัดแปลงจาก Vador et al., 2012) รวมทั้งนำไปใช้ในการวิเคราะห์ปฏิกิริยาในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ดัดแปลงจาก Lim and Mutijaya (2007) และการวิเคราะห์ 2, 2'-azinobis-[3-ethylbenzothiazoline- 6-sulfonic acid] (ABTS) radical scavenging assay ดัดแปลงจาก Nilsson et al. (2005)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลผลการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรมมิที่ปลูกในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (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

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลของปริมาณฟอสฟอรัสที่แตกต่างกันต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อต้นพรมมิในสภาพปลอดเชื้อ

ผลของปริมาณธาตุอาหารต่อความสูงของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิพบว่า ความสูงของชิ้นเนื้อเยื่อในสัปดาห์ที่ 0-5 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ระหว่างสูตรอาหาร และในสัปดาห์ที่ 6 พบว่า สูตรอาหาร ¼ P, ½ P, P และ 2 P มีความสูงของชิ้นเนื้อเยื่อเท่ากับ 39.39, 34.88, 35.23 และ 39.14 มิลลิเมตร/ชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ โดยค่าที่สูงที่สุด (P<0.05) อยู่ในสูตรอาหาร ¼ P (Table 2)

Table 2 Effect of phosphorus on height (mm/explant) of *Bacopa monnieri monnieri* (L.) Wettst. grown in *in vitro* cultures.

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

Mean±SE values within a column followed by the different letters were significantly at P<0.05, ns is for non-significant.

ผลของปริมาณฟอสฟอรัสต่อจำนวนใบของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิพบว่า ในสัปดาห์ที่ 0 และ 5 ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างสูตรอาหาร (P>0.05) แต่ในสัปดาห์ที่ 1-4 พบว่า จำนวนใบในสูตรอาหาร ½ P มีจำนวนใบมากที่สุด มีค่าเท่ากับ 4.00, 6.28, 7.83 และ 10.35 ใบ/ชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกับสูตรอาหารอื่น (P<0.05) และในสัปดาห์ที่ 6 พบว่า สูตรอาหาร ¼ P, ½ P, P และ 2 P มีจำนวนใบ เท่ากับ 14.25, 14.05, 16.05 และ 12.75 ใบ/ชิ้นเนื้อเยื่อ โดยสูตรอาหาร ¼ P, ½ P และ P มีจำนวนใบมากที่สุด แต่จะดีที่สุดในสูตรอาหาร P (P<0.05) (Table 3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 3 Effect of phosphorus on leaf number (number/explant) of *Bacopa monnieri monnieri* (L.) Wettst. grown in *in vitro* cultures.

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

Mean±SE values within a column followed by the different letters were significantly at P<0.05, ns is for non-significant.

ผลของปริมาณฟอสฟอรัสต่อจำนวนข้อของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิพบว่า ในสัปดาห์ที่ 0-3 และ 5 ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างสูตรอาหาร (P>0.05) แต่ในสัปดาห์ที่ 4 และ 6 พบว่าจำนวนข้อในสูตรอาหาร P มีจำนวนข้อมากกว่าสูตรอาหารอื่น (P<0.05) ในสัปดาห์ที่ 6 จำนวนข้อของชิ้นเนื้อเยื่อในสูตรอาหาร ¼ P, ½ P, P และ 2 P มีจำนวนข้อ เท่ากับ 6.70, 6.65, 7.50 และ 6.13 ข้อ/ชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ โดยจำนวนข้อของชิ้นเนื้อเยื่อในสูตรอาหาร P มีจำนวนข้อมากที่สุด (P<0.05) (Table 4)

Table 4 Effect of phosphorus on node number (number/explant) of *Bacopa monnieri monnieri* (L.) Wettst. grown in *in vitro* cultures.

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

Mean±SE values within a column followed by the different letters were significantly at P<0.05, ns is for non-significant.

ผลของปริมาณฟอสฟอรัสต่อจำนวนรากของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิพบว่า ในสัปดาห์ที่ 3 จำนวนรากในสูตรอาหาร ½ P มีจำนวนรากมากกว่าสูตรอาหารอื่น (P<0.05) ซึ่งมีจำนวนรากเท่ากับ 3.05 ราก/ชิ้นเนื้อเยื่อ แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างสูตรอาหาร (P>0.05) ในสัปดาห์อื่น โดยในสัปดาห์ที่ 6 จำนวนรากของชิ้นเนื้อเยื่อในสูตรอาหาร ¼ P, ½ P, P และ 2 P มีค่าเท่ากับ 4.28, 4.60, 4.40 และ 4.10 ราก/ชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ (Table 5)

Table 5 Effect of phosphorus on root number (number/explant) of *Bacopa monnieri monnieri* (L.) Wettst. grown in *in vitro* cultures.

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

Mean±SE values within a column followed by the different letters were significantly at P<0.05, ns is for non-significant.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของปริมาณฟอสฟอรัสต่อจำนวนยอดของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิพบว่า ในสัปดาห์ที่ 2 จำนวนยอดในสูตรอาหาร ¼ P, ½ P และ 2 P มีจำนวนยอดมากที่สุด (P<0.05) แต่จะดีที่สุดในสูตรอาหาร ½ P ซึ่งมีจำนวนยอดเท่ากับ 1.40 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างสูตรอาหาร (P>0.05) ในสัปดาห์อื่น โดยในสัปดาห์ที่ 6 จำนวนยอดของชิ้นเนื้อเยื่อในสูตรอาหาร ¼ P, ½ P, P และ 2 P มีค่าเท่ากับ 1.63, 1.88, 1.83 และ 1.68 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ (Table 6)

Table 6 Effect of phosphorus on shoot number (numbers/explant) of *Bacopa monnieri monnieri* (L.) Wettst. grown in *in vitro* cultures.

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

Mean±SE values within a column followed by the different letters were significantly at P<0.05, ns is for non-significant.

ผลของปริมาณฟอสฟอรัสต่อปริมาณน้ำหนักสด-แห้งของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิ เมื่อเริ่มต้นการทดลองและสิ้นสุดการทดลองพบว่า น้ำหนักสด-แห้งเริ่มต้นของทุกสูตรอาหารไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างสูตรอาหาร (P>0.05) แต่เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า สูตรอาหาร 2 P มีน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งมากที่สุด (P<0.05) มีค่าเท่ากับ 0.2428 กรัมน้ำหนักสด/ชิ้นเนื้อเยื่อ และ 0=0.0366 กรัมน้ำหนักแห้ง/ชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ (P<0.05) (Table 7)

Table 7 Effect of phosphorus on weight (g) of *Bacopa monnieri monnieri* (L.) Wettst. grown in *in vitro* cultures.

Treatments	Initial weight		Final weight	
	Fresh weight	Dry weight	Fresh weight	Dry weight
¼ P	0.0123 ± 0.0002	0.0014 ± 0.0000	0.1094 ± 0.0035^{c}	0.0275 ± 0.0006^{b}
½ P	0.0123 ± 0.0002	0.0014 ± 0.0000	0.1372 ± 0.0013^{b}	0.0272 ± 0.0003^{b}
P	0.0123 ± 0.0002	0.0014 ± 0.0000	0.0926 ± 0.0020^{d}	0.0247 ± 0.0012^{c}
2 P	0.0123 ± 0.0002	0.0014 ± 0.0000	0.2428 ± 0.0019^{a}	0.0366 ± 0.004^{a}
P-value	1.000	1.000	<0.001	<0.001

Mean±SE values within a column followed by the different letters were significantly at P<0.05, ns is for non-significant.

จากการศึกษาผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อต้นพรมมิที่ปลูกในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกัน 4 ระดับ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าความสูงของเนื้อเยื่อในสูตรอาหาร ¼ P มีความสูงมากที่สุด คือ 39.39 มิลลิเมตร ส่วนของจำนวนใบ และจำนวนข้อพบว่า สูตรอาหาร P มีค่ามากที่สุด คือ 16.05 ใบ/ชิ้นเนื้อเยื่อ และ 7.50 ข้อ/ชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ แต่ผลของจำนวนราก และจำนวนยอดไม่พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ระหว่างสูตรอาหาร โดยมีจำนวนรากอยู่ที่ 4.10-4.60 ราก/ชิ้นเนื้อเยื่อ ระหว่างสูตรอาหาร และจำนวนยอดอยู่ที่ 1.63-1.88 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ (Table 8) จากการศึกษาของ Figas et al. (2016) ที่ศึกษาผลของฟอสฟอรัสที่แตกต่างกัน 3 ระดับ (MS, MS+P และ MS-P) ต่อการเจริญเติบโตและปริมาณเม็ดสี (pigment) ในการสังเคราะห์แสงของต้นเฮลิคริซัม (*Helichrysum arenarium* (L.) Moench) ในสภาพปลอดเชื้อพบว่า ต้นเฮลิคริซัมที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ไม่ได้เติมฟอสฟอรัสมีอัตราการเจริญเติบโตและความยาวของรากน้อยกว่าสูตรอาหารที่มีการเติมฟอสฟอรัสลงไป และปริมาณของฟอสฟอรัสที่เพิ่มขึ้นยังส่งผลต่อปริมาณของคลอโรฟิลล์ a และ b ให้เพิ่มขึ้นด้วย จากการศึกษาของ Ramezani et al. (2009) ที่ศึกษาผลของฟอสฟอรัสต่อการเจริญเติบโต ปริมาณผลผลิต และปริมาณน้ำมันหอมระเหยในต้นโหระพา พบว่า ฟอสฟอรัสมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชโดยจะส่งผลต่อความสูงต้น ความสูงของช่อดอก และปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบ เนื่องจากฟอสฟอรัสทำให้เกิดโคเอนไซม์ (coenzyme) ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการขนส่งพลังงานซึ่งเป็นพลังงานที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง ซึ่งได้แก่

adenosine triphosphate (ATP) และ nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP) เป็นพลังงานที่ใช้สำหรับกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืชเพื่อไปใช้ตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ อีกทั้งใช้ในการสังเคราะห์ไขมัน และเป็นองค์ประกอบต่าง ๆ ที่สำคัญในธรรมชาติ นอกจากนี้จากการศึกษาของ Stewart and Lovett-Doust (2003) ซึ่งทำการศึกษาผลของปริมาณฟอสฟอรัสที่มีต่อผลผลิตของจำนวนดอก จำนวนใบ และความสูงของต้นดาวเรือง *Calendula officinalis* L. (Standard Pacific) พบว่า ปริมาณของฟอสฟอรัสที่มากขึ้นไม่ส่งผลทำให้ผลผลิตและการเจริญเติบโตของต้นดาวเรืองดีขึ้น โดยผลของการศึกษาดังกล่าวมีความสอดคล้องกันกับการศึกษาของ Chrysargyris et al. (2016) ที่ศึกษาผลของปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสต่อลักษณะการเจริญเติบโต การสะสมธาตุอาหาร และปฏิกิริยาของสารต้านอนุมูลอิสระ รวมถึงปริมาณและคุณภาพของน้ำมันหอมระเหยในต้นลาเวนเดอร์พบว่า ปริมาณของฟอสฟอรัสที่เพิ่มขึ้นในสารละลายธาตุอาหารไม่มีผลต่อความสูงต้น ความยาวใบ และความหนาของก้านในต้นลาเวนเดอร์ รวมทั้งผลจากการศึกษายังแสดงให้เห็นว่าอัตราส่วน และปริมาณของแร่ธาตุในสารละลายธาตุอาหารมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชด้วยเช่นกัน

Table 8 Effect of phosphorus on growth of six- week -old *Bacopa monnieri monnieri* (L.) Wettst. grown in *in vitro* cultures.

Treatments	Height (mm/explant)	Leaf number (numbers/explant)	Node number (numbers/explant)	Root number (numbers/explant)	Shoot number (numbers/explant)
¼ P	39.39 ± 1.59^{a}	14.25 ± 0.88^{ab}	6.70 ± 0.37^{ab}	4.28 ± 0.26	1.63 ± 0.11
½ P	34.88 ± 0.80^{c}	14.05 ± 0.52^{ab}	6.65 ± 0.20^{ab}	4.60 ± 0.24	1.88 ± 0.09
P	35.23 ± 0.97^{bc}	16.05 ± 0.83^{a}	7.50 ± 0.39^{a}	4.40 ± 0.15	1.83 ± 0.10
2 P	39.14 ± 1.91^{ab}	12.75 ± 0.51^{b}	6.13 ± 0.26^{b}	4.10 ± 0.32	1.68 ± 0.11
P-value	0.033	0.015	0.025	0.539	0.257

Mean±SE values within a column followed by the different letters were significantly at P<0.05, ns is for non-significant.

ผลของปริมาณฟอสฟอรัสที่แตกต่างกันต่อความสามารถในการยับยั้งและต้านสารอนุมูลอิสระของเนื้อเยื่อต้นพรมมิในสภาพปลอดเชื้อ

ความสามารถในการยับยั้งและต้านสารต้านอนุมูลอิสระของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (Table 9) พบว่าปริมาณ TPC ในแต่ละสูตรอาหารมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยสูตรอาหารที่มีปริมาณ TPC มากที่สุด คือ สูตรอาหาร 2 P มีค่าเท่ากับ 8.48 µgGallic/g ชิ้นเนื้อเยื่อ ปริมาณ TFC พบว่าในแต่ละสูตรอาหารมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยสูตรอาหารที่มีปริมาณ TFC มากที่สุด คือ สูตรอาหาร 2 P มีค่าเท่ากับ 16.44 mg luteolin/g ชิ้นเนื้อเยื่อ และมีค่าไม่แตกต่างกันมากกับสูตรอาหาร ½ P ที่มีค่าเท่ากับ 15.07 mg luteolin/g ชิ้นเนื้อเยื่อ ปริมาณ saponin พบว่าในแต่ละสูตรอาหารมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยสูตรอาหารที่มีปริมาณ saponin มากที่สุด คือ สูตรอาหาร ½ P มีค่าเท่ากับ 4,921.14 mg saponin/g ชิ้นเนื้อเยื่อ แต่ไม่มีความแตกต่างกันมากกับสูตรอาหาร ¼ P ซึ่งมีค่าเท่ากับ 4,634.40 mg saponin/g ชิ้นเนื้อเยื่อ

ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระในทุกสูตรอาหารไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) โดยในสูตรอาหาร ¼ P สูตร ½ P สูตร P และสูตร 2 P มีค่าเท่ากับ 88.96, 89.27, 86.65 และ 88.70% ตามลำดับ และการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS พบว่า ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระในแต่ละสูตรอาหารมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยสูตรอาหารที่มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ สูตรอาหาร ½ P มีค่าเท่ากับ 79.66% แต่ไม่มีความแตกต่างกันมากกับสูตรอาหาร 2 P ซึ่งมีค่าเท่ากับ 68.33% (Table 9)

การวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ (correlation analysis) ของสารต้านอนุมูลอิสระในชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิ

ผลจากการวิเคราะห์ค่า correlation พบว่าปริมาณของ TFC มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวกกับปริมาณของ TPC และความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของ ABTS มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวกกับปริมาณของ TPC (Table 10)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 9 Effect of phosphorus on antioxidant activities of *Bacopa monnieri monnieri* (L.) Wettst. grown in *in vitro* cultures after 6 weeks.

Treatments	TPC (µg gallic/g)	TFC (mg luteolin/g)	Saponin (mg saponin/g)	DPPH (%)	ABTS (%)
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}
P-value	<0.001	0.007	0.003	0.484	0.012

Mean±SE values within a column followed by the different letters were significantly at P<0.05, ns is for non-significant.

Table 10 Correlation between different antioxidant parameters of *Bacopa monnieri monnieri* (L.) Wettst. grown in *in vitro* cultures after 6 weeks.

Parameters	TPC	TFC	Saponin	DPPH	ABTS
TPC	1				
TFC	0.864*	1			
Saponin	0.180	-0.056	1		
DPPH	0.184	0.173	0.153	1	
ABTS	0.659**	0.501	0.501	0.065	1

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed) and * correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed) (Pearson correlation).

ผลการทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระในเนื้อเยื่อต้นพรมมิที่ปลูกในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกัน 4 ระดับ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า สูตรอาหารที่มีปริมาณ TPC มากที่สุด คือ สูตรอาหาร 2 P สูตรอาหารที่มีปริมาณ TFC มากที่สุด คือ สูตรอาหาร 2 P และมีค่าไม่แตกต่างกันมากกับสูตรอาหาร ½ P สูตรอาหารที่มีปริมาณ saponin มากที่สุด คือ สูตรอาหาร ½ P และมีค่าไม่แตกต่างกันมากกับสูตรอาหาร ¼ P การยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS พบว่า สูตรอาหาร ½ P มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระมากที่สุด และมีค่าไม่แตกต่างกันมากกับสูตรอาหาร 2 P ส่วนการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่า ในทุกสูตรอาหารมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) (Table 9) โดยปกติแล้วฟอสฟอรัสเป็นธาตุประกอบที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืชและเกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอไลต์ทุติยภูมิของพืช (Murthy et al., 2014) จากการศึกษาของ Nagella and Murthy (2011) ที่ศึกษาผลของธาตุอาหารหลักและแหล่งไนโตรเจนต่อการสะสมมวลชีวภาพ และผลผลิตของ withanolide-A ในโสมอินเดีย (*Withania somnifera*) พบว่า การเพิ่มปริมาณของระดับฟอสเฟตเป็น 2 เท่าในสูตรอาหาร MS สามารถทำให้มีการสะสมของ withanolide-A ในโสมอินเดียเพิ่มมากขึ้นอย่างเห็นได้ชัด แต่ในทางกลับกันมีงานวิจัยที่ชี้ให้เห็นว่าการจำกัดปริมาณฟอสเฟตก็สามารถช่วยเพิ่มปริมาณการสร้างสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิได้จากการศึกษาของ Bramble and Graves (1990) ที่ศึกษาผลของฟอสฟอรัสต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารอัลคาลอยด์ในต้นกาแฟอาราบิก้า (*Coffea arabica*) พบว่าสูตรอาหาร MS ที่มีการลดปริมาณฟอสฟอรัสลงส่งผลทำให้การผลิตสารอัลคาลอยด์ในต้นกาแฟอาราบิก้าสูงขึ้น ปริมาณของธาตุอาหารหลักจึงเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการสะสมของมวลชีวภาพและการผลิตสารทุติยภูมิในพืชที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ (Wu and Zhong, 1999) และความต้องการธาตุอาหารของพืชแต่ละชนิดก็แตกต่างกัน

สรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาปริมาณของฟอสฟอรัสที่มีต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระของชิ้นเนื้อเยื่อต้นพรมมิในสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าในสูตรอาหาร ¼ P มีค่าความสูงของเนื้อเยื่อต้นพรมมิมากที่สุด มีค่าเท่ากับ 39.39 มิลลิเมตร ผลของจำนวนใบและจำนวนข้อพบว่าในสูตรอาหาร P มีจำนวนมากที่สุด มีค่าเท่ากับ 16.05 ใบ/ชิ้นเนื้อเยื่อ และ 7.50 ข้อ/ชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ และผลของสารต้านอนุมูลอิสระในเนื้อเยื่อต้นพรมมิที่พบว่า ปริมาณฟีนอลทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมมีค่าสูงที่สุดในสูตรอาหาร 2 P มีค่าเท่ากับ 8.48 µg gallic/g และ 16.44 mg luteolin/g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตามลำดับ ผลของซาโปนินรวมและ ABTS มีค่าสูงที่สุดในสูตรอาหาร ½ P มีค่าเท่ากับ 4,921.14 mg saponin/g และ 79.66% ตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

ชาญชัย สาดแสงจันทร์. 2556. พรมมิสมุนไพรเพื่อสุขภาพสมอง. *ธรรมศาสตร์เวชสาร* 13(4): 554-560.

ดิเรก ทองอร่าม. 2546. *การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน*. ราชบุรี: ธรรมรักษ์การพิมพ์.

Akula, R., and Ravishankar, G. A. 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling and Behavior* 6(11): 1720-1731.

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: 174-179.

Bramble, J. L., and Graves, D. J. 1990. 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.

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. *Infrastructure and Ecology of Rural Areas* 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.

Hussain, A., Qarshi, I. A., Nazir, H., and Ullah, I. 2012. Plant tissue culture: Current status and opportunities. In *Recent Advances in Plant in vitro Culture*, A. Leva, and L. Rinaldi, eds. pp. 1-28. ISBN: 978-953-51-0787-3, DOI: 10.5772/52760.

Jain, P., Sharma, H., 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.

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.

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.

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.

Nell, M., Voetsch, M., Vierheilig, H., Steinkellner, S., ZitterlEglseer, 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 2,29-azinobis-3-ethylbenzotiazoline-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.

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.

Saad, A. I. M., and Elshahed, A. M. 2012. Plant tissue culture media. In *Recent Advances in Plant in vitro Culture*, A. Leva, and L. Rinaldi, eds. pp. 29-40. ISBN: 978-953-51-0787-3, DOI: 10.5772/52760.

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.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sosa, M. D. L. M., Moroni, P., and Leary, N. O. 2018. A taxonomic revision of the genus *Bacopa* (Gratioleae, 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.

Vador, N., Vador, B., and Hole, R. 2012. Simple spectrophotometric methods for standardizing Ayurvedic formulation. *Indian Journal of Phamaceutical Sciences* 74(2): 161-163.

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.

วันรับบทความ (Received date) : 16 พ.ย. 62

วันแก้ไขบทความ (Revised date) : 15 ม.ค. 63

วันตอบรับบทความ (Accepted date) : 17 ก.ค. 63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้