

ผลของแอมโมเนียมไนเตรท โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต และโพแทสเซียมซัลเฟต ต่อการเจริญเติบโตและปริมาณสาร 1' - Acetoxychavicol Acetate (ACA) ภายในข่า

คงเอก ศิริงาม^{1*} ธรรมศักดิ์ ทองเกตุ² สรัญญา วัชรโรทัย³ และ เฉลิมพล เกติมณี⁴

บทคัดย่อ

ข่าเป็นพืชล้มลุกหลายฤดูที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพภายในเหง้าได้หลายชนิด สาร 1' - Acetoxychavicol Acetate (ACA) เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดหนึ่งที่พบในข่า สารชนิดนี้มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Mycobacterium tuberculosis* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุของวัณโรค อย่างไรก็ตาม ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมีความสัมพันธ์กับการผันแปรของปัจจัยทางสภาพแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งธาตุอาหารพืช ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการทดลองนี้ คือ ศึกษาผลของแอมโมเนียมไนเตรท โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต และโพแทสเซียมซัลเฟต ต่อการเจริญเติบโตและปริมาณสาร ACA ภายในข่า ที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ โดยทำการเพาะเลี้ยงต้นข่าบนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Murashige and Skoog (1962) ดัดแปลง ที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนเตรท 21 และ 31 มิลลิโมลาร์ โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 1 และ 2 มิลลิโมลาร์ และโพแทสเซียมซัลเฟต 11 และ 16 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 5 สัปดาห์ จากการศึกษพบว่า ต้นข่าที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนเตรท 31 มิลลิโมลาร์ โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 1 มิลลิโมลาร์ และโพแทสเซียมซัลเฟต 11 มิลลิโมลาร์ มีอัตราการเจริญเติบโตของรากสูงสุด ในขณะที่อัตราการเจริญเติบโตของต้นข่าสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนเตรท 21 มิลลิโมลาร์ โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 2 มิลลิโมลาร์ และโพแทสเซียมซัลเฟต 16 มิลลิโมลาร์ และต้นข่าที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนเตรท 21 มิลลิโมลาร์ โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 2 มิลลิโมลาร์ และโพแทสเซียมซัลเฟต 11 มิลลิโมลาร์ มีอัตราการเจริญเติบโตของเหง้าและปริมาณสาร ACA สูงสุด (25.9 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งเหง้า) นอกจากนี้จากผลการทดลองยังแสดงให้เห็นว่าการเจริญเติบโตของเหง้าข่ามีความสัมพันธ์กับปริมาณสาร ACA ในเหง้าข่า

คำสำคัญ : ธาตุอาหารพืช สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ข่า การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

¹ อาจารย์ประจำสาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

E-mail: siringam@yahoo.com

² ผู้ช่วยศาสตราจารย์ประจำภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

³ รองศาสตราจารย์ประจำภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

⁴ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนานวัตกรรมการเกษตรและเทคโนโลยีแห่งชาติ



Effect of NH_4NO_3 , NaH_2PO_4 and K_2SO_4 on growth and 1' - Acetoxychavicol Acetate (ACA) in galangal (*Alpinia galanga* (Linn.) Swartz)

Kongake Siringam^{1*} Thammasak Thongket² Srunya Vajrodaya³
and Chalermopol Kirdmanee⁴

Abstract

Galangal is an herbaceous perennial plant which produces various bioactive compounds in rhizome. The 1' - Acetoxychavicol Acetate (ACA) was a bioactive compound found in galangal, this compound inhibited the growth of *Mycobacterium tuberculosis* that caused the tuberculosis (TB). However, the bioactive compound content in plant depended on variation of the environmental factors particularly plant nutrition. Therefore, the aim of this research was to evaluate the effect of NH_4NO_3 , NaH_2PO_4 and K_2SO_4 on growth and ACA content under *in vitro* condition. Galangal plantlets were cultured *in vitro* on modified Murashige and Skoog (1962) medium supplemented with 21 or 31 mM NH_4NO_3 , 1 or 2 mM NaH_2PO_4 and 11 or 16 mM K_2SO_4 for 5 weeks. The result showed that the rate of root growth of galangal plantlets was highest when cultured on the medium supplemented with 31 mM NH_4NO_3 , 1 mM NaH_2PO_4 and 11 mM K_2SO_4 . In addition, the culture medium applied with 21 mM NH_4NO_3 , 2 mM NaH_2PO_4 and 16 mM K_2SO_4 promoted shoot growth. The galangal plantlets cultured on the medium supplemented with 21 mM NH_4NO_3 , 2 mM NaH_2PO_4 and 11 mM K_2SO_4 showed the greatest rhizome growth and highest ACA content (25.9 $\mu\text{g/g}$ dry-weight rhizome). Furthermore, these results showed that the growth of galangal rhizome was closely related to the ACA content.

Keywords : Plant nutrition, Bioactive compound, Galangal, Tissue culture

^{1*} Lecturer, Department of Agriculture Faculty of Science and Technology, Phranakhon Rajabhat University
E-mail: siringam@yahoo.com

² Assistant Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Kasetsart University

³ Associate Professor, Department of Botany, Faculty of Science, Kasetsart University

⁴ National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (BIOTEC)

บทนำ

วัณโรคเป็นโรคติดต่อที่มีผลต่อระบบทางเดินหายใจโดยมีเชื้อแบคทีเรีย *Mycobacterium tuberculosis* เป็นเชื้อสาเหตุของโรค โดยเชื้อสาเหตุชนิดนี้มีผลต่อการทำงานของปอด ระบบประสาท ระบบภูมิคุ้มกัน และระบบไหลเวียนภายในสิ่งมีชีวิต ในปัจจุบัน วัณโรคเป็นโรคติดต่อที่มีจำนวนผู้ป่วยและผู้ติดเชื้อเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากผู้ป่วยไม่ได้รับการรักษาตามแผนการรักษา จึงเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เชื้อวัณโรคเกิดการดื้อต่อยาที่ใช้ในการรักษา ในปัจจุบันมีการศึกษาการใช้ประโยชน์จากสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากพืชมาบำบัดรักษาโรคติดต่อที่เกิดกับมนุษย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อวัณโรค โดยงานวิจัยของ Palittapongarnpim, et al. (2002) พบว่า สาร 1- Acetoxychavicol Acetate (ACA) ที่สกัดได้จากเหง้าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุวัณโรคที่ดื้อยาได้ อย่างไรก็ตามความสามารถในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชมีความสัมพันธ์กับปัจจัยทางด้านพันธุกรรม สภาพแวดล้อม และอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุกรรม และสภาพแวดล้อม (คงเอก และคณะ, 2554; Brown et al., 2002; Kirakosyan et al., 2004) ความผันแปรของสภาพแวดล้อม ประกอบด้วย ภูมิอากาศ อุณหภูมิ แสง ความชื้น และความอุดมสมบูรณ์ของดิน ที่มีผลต่อความสามารถในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพภายในพืช (Jeffery et al., 2003) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มธาตุอาหารหลัก ประกอบด้วย ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ที่ส่งเสริมการผลิต Essential oil ใน Peppermint และ Citric sorghum คือ 48:20:32 และ 20:35:15 โดยเปอร์เซ็นต์อะตอมทั้งหมด (Mairapetyan et al.,

1999)

ในปัจจุบันมีการศึกษากระบวนการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพภายในพืชโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์และเนื้อเยื่อพืชกันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากเทคนิคนี้สามารถควบคุมความผันแปรที่เกิดขึ้นจากปัจจัยทางสภาพแวดล้อม ป้องกันการปนเปื้อนและการเข้าทำลายของโรคและแมลง และสามารถควบคุมการเจริญเติบโตและกระบวนการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Mulabagal & Tsay, 2004) งานวิจัยของ Pereira et al. (1999) รายงานว่า อาหารสูตร Murashige & Skoog (1962) ที่เติม 6-Benzyladenine (BA) 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Naphthalene acetic acid (NAA) 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำการผลิตสาร Coumarin ใน *Mikania glomerata* ในขณะที่ปริมาณสาร Triterpenes และ Phenolics ในแคลลัสและเซลล์แขวนลอยของ *Maytenus aquifolium* Mart. เพิ่มขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (Frana et al., 1999) นอกจากนี้แคลลัสที่ได้จากราก ใบ และผลของ *Solanum eleagnifolium* Cav. ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS สามารถชักนำการผลิตสาร Solasidine ในทุกส่วนของพืช (Nigra et al., 1987) และการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยของ *Mirabilis jalapa* บนอาหารสูตร Gamborg's B5 ที่เติมเกลือแร่ วิตามิน และน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 5% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ภายใต้สภาพความเข้มแสงต่ำ ส่งเสริมการผลิตสารประกอบในกลุ่ม Phenolic 3 ชนิด คือ Isoavone Dehydrorotenoid และ Rotenoid (Yang et al., 2001)



วัตถุประสงค์ในการวิจัย

เพื่อศึกษาความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนเตรท โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต และโพแทสเซียมซัลเฟต ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและปริมาณสาร ACA ภายในเหง้าชำภายใต้สภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

วิธีดำเนินการวิจัย

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมชิ้นส่วนพืชและการดำเนินการวิจัยภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ

นำตาข้างจากเหง้าชำ (*Alpinia galanga* (Linn.) Swartz.) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3.00.2 เซนติเมตร หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำไหลนาน 15 นาที และแช่ในแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 70% โดยปริมาตร นาน 30 วินาที หลังจากนั้นนำตาข้างมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอรีน (5.25% w/v Sodium Hypochlorite, Clorox Co., Ltd., USA) ความเข้มข้น 20% โดยปริมาตร และ Tween 20[®] (Merck, Germany) ความเข้มข้น 0.1% โดยปริมาตร เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ และนำตาข้างที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร Murashige & Skoog (MS) (1962) ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ที่เติม Phytigel[®] (Sigma, USA) 0.25% โดยปริมาตร และมีค่าความเป็นกรด-เบส (pH) ของอาหารเพาะเลี้ยงในช่วง 5.6-5.8 และนำไปเพาะเลี้ยงภายในห้องเพาะเลี้ยงที่มีอุณหภูมิ 252 °C ความชื้นสัมพัทธ์ (RH) 605 % ความเข้มแสง (PPFD) 605 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที โดยความเข้มแสงดังกล่าวได้จากหลอดฟลูออเรสเซนต์

(TLD 36 W/84 Cool White 3350 Im, Philips, Thailand) ระยะเวลาการได้รับแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน หลังจากนั้นทำการเพิ่มปริมาณต้นชำทุกๆ 5 สัปดาห์

นำต้นชำที่มีความยาวยอดประมาณ 2.00.25 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ดัดแปลง ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนเตรท (NH_4NO_3) ความเข้มข้น 21 และ 31 มิลลิโมลาร์ โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (NaH_2PO_4) ความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิโมลาร์ และโพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) ความเข้มข้น 11 และ 16 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1) หลังจากนั้นนำต้นชำไปเพาะเลี้ยงภายในห้องเพาะเลี้ยงที่มีอุณหภูมิ 252 °C ความชื้นสัมพัทธ์ (RH) 605 % ความเข้มแสง (PPFD) 605 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที โดยความเข้มแสงดังกล่าวได้จากหลอดฟลูออเรสเซนต์ (TLD 36 W/84 Cool White 3350 Im, Philips, Thailand) ระยะเวลาการได้รับแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์



ตารางที่ 1 องค์ประกอบของอาหารสูตร MS (1962) ดัดแปลง ที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนเตรท (NH_4NO_3) โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (NaH_2PO_4) และโพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) แตกต่างกันในแต่ละสิ่งทดลอง

สิ่งทดลอง	NH_4NO_3 (มิลลิโมลาร์)	NaH_2PO_4 (มิลลิโมลาร์)	K_2SO_4 (มิลลิโมลาร์)
$\text{N}_L\text{P}_L\text{K}_L$	21	1	11
$\text{N}_L\text{P}_L\text{K}_H$	21	1	16
$\text{N}_L\text{P}_H\text{K}_L$	21	2	11
$\text{N}_L\text{P}_H\text{K}_H$	21	2	16
$\text{N}_H\text{P}_L\text{K}_L$	31	1	11
$\text{N}_H\text{P}_L\text{K}_H$	31	1	16
$\text{N}_H\text{P}_H\text{K}_L$	31	2	11
$\text{N}_H\text{P}_H\text{K}_H$	31	2	16

2. การสกัดและวิเคราะห์ปริมาณสาร

I'- Acetoxychavicol Acetate (ACA)

นำเหง้าชาที่ผ่านการชั่งน้ำหนักสดไปอบที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง และนำมาชั่งน้ำหนักแห้ง หลังจากนั้นนำมาสกัดด้วยสารละลาย Hexane จำนวน 20 มิลลิลิตร นำไปเขย่าบนเครื่องเขย่า (Innova™ 2100/2150 Platform shaker, USA) ที่ความเร็วรอบ 90 ต่อนาที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมามบปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น Homogenizer (IKA; Model T-25 basic, IKA Works Sdn. Bhn., Malaysia) และกรองสารสกัดผ่านกระดาษกรอง Whatman® (110 mm Whatman International Ltd., England) เส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 110 มิลลิเมตร นำสารสกัดที่ผ่านการกรองมาระเหยaporation ในตู้ดูดควัน เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำสารสกัดที่ได้ไปชั่งน้ำหนัก หลังจากนั้นนำสารสกัดมาทำละลายด้วย Dimethylsulphoxide

(DMSO) (Assay 99.5%; CARLO ERBA REAGENTI, Thailand) ที่ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และนำไปตรวจหาปริมาณสาร ACA โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยเครื่อง Spectrophotometer DR/4000 (HACH, USA) ที่ความยาวคลื่น 234 นาโนเมตร หลังจากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงไปเปรียบเทียบกับเพื่อหาปริมาณสาร ACA จากกราฟมาตรฐานของค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย ACA มาตรฐาน

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ 2^3 Factorial in Completely Randomize Design (CRD) ทำการทดลองทั้งหมด 5 ซ้ำๆ ละ 5 ต้น โดยใช้หน่วยทดลอง (ต้นชา) ทั้งหมด 200 ต้น โดยนำข้อมูลการเจริญเติบโตและปริมาณสาร ACA มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA)



โดยใช้โปรแกรม SPSS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างสิ่งทดลองโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และ 0.01

ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

1. น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งส่วนราก

จากการศึกษา พบว่า อิทธิพลร่วมระหว่างแอมโมเนียมไนเตรท (NH_4NO_3) โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (NaH_2PO_4) และโพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) มีผลต่อการเจริญเติบโตของส่วนราก โดยน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของรากมีค่าสูงสุด เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ดัดแปลง ที่มีความเข้มข้นของไนโตรเจน (NH_4NO_3) 31 มิลลิโมลาร์ ฟอสฟอรัส (NaH_2PO_4) 1 มิลลิโมลาร์ และโพแทสเซียม (K_2SO_4) 11 มิลลิโมลาร์ ($\text{N}_{31}\text{P}_1\text{K}_{11}$) (ตารางที่ 2)

เมื่อพิจารณาอิทธิพลของธาตุอาหารแต่ละชนิด พบว่า ฟอสฟอรัส (NaH_2PO_4) และโพแทสเซียม (K_2SO_4) มีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของราก ในขณะที่ไนโตรเจน (NH_4NO_3) ไม่มีอิทธิพลต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของราก นอกจากนี้ยังพบว่าต้นชำที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่มีฟอสฟอรัส (NaH_2PO_4) 2 มิลลิโมลาร์ มีการเจริญเติบโตของรากที่สูงกว่าต้นชำที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่มีฟอสฟอรัส (NaH_2PO_4) 1 มิลลิโมลาร์ รวมทั้งต้นชำที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่มีโพแทสเซียม (K_2SO_4) 11 มิลลิโมลาร์ มีการเจริญเติบโตของรากที่สูงกว่าต้นชำที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่มีโพแทสเซียม (K_2SO_4) 16 มิลลิโมลาร์ (ตารางที่ 2)

จากการทดลอง พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของฟอสฟอรัส (NaH_2PO_4) ในอาหารเพาะเลี้ยงมีผลทำให้การเจริญเติบโตของรากเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 2) ทั้งนี้เนื่องจากฟอสฟอรัสจัดเป็นธาตุ

อาหารที่ช่วยในการส่งเสริมการเจริญและพัฒนาของราก โดยฟอสฟอรัสมีบทบาทในการเพิ่มความแข็งแรงและความสมบูรณ์ของราก รวมทั้งการที่รากพืชได้รับฟอสฟอรัสในระดับที่เหมาะสมจะทำให้รากมีการเจริญและพัฒนาที่ดี (นพดล 2538; Anghinoni & Barber, 1980) การที่รากพืชมีการเจริญและพัฒนาที่ดีแสดงถึงประสิทธิภาพการทำหน้าที่ของราก มีผลทำให้น้ำหนักสดรากและน้ำหนักแห้งรากเพิ่มขึ้นตามการเจริญเติบโตและการพัฒนาของพืช ซึ่งสอดคล้องกับคำกล่าวของ Marschner et al. (1986) ที่รายงานว่าการเจริญของรากพืชมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ที่พืชได้รับ

ในส่วนของการเพิ่มความเข้มข้นของโพแทสเซียม (K_2SO_4) ในอาหารเพาะเลี้ยงมีผลทำให้การเจริญเติบโตของรากลดลง (ตารางที่ 2) เนื่องจากภายในเซลล์พืชมีปริมาณโพแทสเซียมมากกว่าธาตุอื่น ๆ โดยเมื่อพืชได้รับปริมาณโพแทสเซียมที่มากเกินไปความต้องการของพืช มีผลทำให้เซลล์พืชได้รับโพแทสเซียมมากขึ้นแต่ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ (ยงยุทธ, 2543) โดยงานทดลองของ Arvidsson (1999) พบว่า เมื่อพืชได้รับธาตุฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมในปริมาณที่ไม่เหมาะสม ทำให้การทำหน้าที่ของรากพืชลดลง มีผลทำให้รากพืชมีการเจริญและพัฒนาลดลง

นอกจากนี้อิทธิพลของฟอสฟอรัส (NaH_2PO_4) และโพแทสเซียม (K_2SO_4) ต่อการเจริญเติบโตของรากมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของไนโตรเจน (NH_4NO_3) จากผลการทดลอง พบว่า ต้นชำที่ได้รับไนโตรเจน (NH_4NO_3) 31 มิลลิโมลาร์ ฟอสฟอรัส (NaH_2PO_4) 1 มิลลิโมลาร์ และโพแทสเซียม (K_2SO_4) 16 มิลลิโมลาร์ มีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของรากต่ำที่สุด ในขณะที่ต้นชำที่ได้รับไนโตรเจน (NH_4NO_3) 31 มิลลิโมลาร์ ฟอสฟอรัส



(NaH_2PO_4) 1 มิลลิโมลาร์ และโพแทสเซียม (K_2SO_4) 11 มิลลิโมลาร์ มีน้ำหนักสตรากและน้ำหนักแห้งของรากสูงที่สุด (ตารางที่ 2) ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Grime (1979) ที่รายงานว่าการที่พืชได้รับปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในระดับที่เหมาะสมจะช่วยส่งเสริมให้รากพืชมีการเจริญเติบโตและมีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของรากเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 2 น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของรากข้าว (มิลลิกรัมต่อต้น) ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ดัดแปลง ที่มีความเข้มข้นของ NH_4NO_3 , NaH_2PO_4 และ K_2SO_4 ที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 5 สัปดาห์ (ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

สิ่งทดลอง	น้ำหนักสตราก (มิลลิกรัมต่อต้น)	น้ำหนักแห้งราก (มิลลิกรัมต่อต้น)
$\text{N}_L \text{P}_L \text{K}_L$	$24 \pm 3 \text{ c}$	$7 \pm 1 \text{ c}$
$\text{N}_L \text{P}_L \text{K}_H$	$21 \pm 3 \text{ cd}$	$6 \pm 1 \text{ cd}$
$\text{N}_L \text{P}_H \text{K}_L$	$62 \pm 4 \text{ b}$	$19 \pm 1 \text{ b}$
$\text{N}_L \text{P}_H \text{K}_H$	$55 \pm 7 \text{ b}$	$17 \pm 2 \text{ b}$
$\text{N}_H \text{P}_L \text{K}_L$	$80 \pm 5 \text{ a}$	$24 \pm 1 \text{ a}$
$\text{N}_H \text{P}_L \text{K}_H$	$9 \pm 2 \text{ d}$	$3 \pm 1 \text{ d}$
$\text{N}_H \text{P}_H \text{K}_L$	$60 \pm 6 \text{ b}$	$18 \pm 2 \text{ b}$
$\text{N}_H \text{P}_H \text{K}_H$	$26 \pm 4 \text{ c}$	$8 \pm 1 \text{ c}$
Significant level		
N	ns	ns
P	**	**
K	**	**
$\text{N} \times \text{P}$	**	**
$\text{N} \times \text{K}$	**	**
$\text{P} \times \text{K}$	*	*
$\text{N} \times \text{P} \times \text{K}$	**	**

**, * แตกต่างทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และ 0.01 ตามลำดับ

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ค่าเฉลี่ยตามแนวตั้งที่ตามด้วยอักษรร่วม ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และ 0.01 จากการวิเคราะห์โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test.



2. น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งส่วนต้น

จากการศึกษา พบว่า อิทธิพลร่วมระหว่าง แอมโมเนียมไนเตรท (NH_4NO_3) โซเดียมไดไฮโดรเจน ฟอสเฟต (NaH_2PO_4) และโพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) ไม่มีผลต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งส่วน ต้น ในขณะที่อาหารสูตร MS (1962) ดัดแปลง ที่มีความเข้มข้นของไนโตรเจน (NH_4NO_3) 21 มิลลิโมลาร์ และ ฟอสฟอรัส (NaH_2PO_4) 2 มิลลิโมลาร์ และ โพแทสเซียม (K_2SO_4) 16 มิลลิโมลาร์ ($\text{N}_{21}\text{P}_2\text{K}_{16}$) มีผล ทำให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นมีค่าสูงสุด (ตารางที่ 3)

เมื่อพิจารณาอิทธิพลของธาตุอาหาร แต่ละชนิด พบว่า ฟอสฟอรัส (NaH_2PO_4) และ โพแทสเซียม (K_2SO_4) มีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลง ของน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้น ในขณะที่ ไนโตรเจน (NH_4NO_3) ไม่มีอิทธิพลต่อการเจริญ เติบโตของต้น รวมทั้งยังพบว่าต้นข้าวที่เพาะเลี้ยงบน อาหารที่มีฟอสฟอรัส (NaH_2PO_4) 2 มิลลิโมลาร์ มีการเจริญเติบโตของต้นที่สูงกว่าต้นข้าวที่เพาะเลี้ยง บนอาหารที่มีฟอสฟอรัส (NaH_2PO_4) 1 มิลลิโมลาร์ รวมทั้งต้นข้าวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่มีโพแทสเซียม (K_2SO_4) 16 มิลลิโมลาร์ มีการเจริญเติบโตของต้นที่ดี กว่าต้นข้าวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่มีโพแทสเซียม (K_2SO_4) 11 มิลลิโมลาร์ (ตารางที่ 3)

เมื่อพืชได้รับฟอสฟอรัสในปริมาณที่ไม่ เหมาะสม มีผลทำให้การสะสมน้ำหนักแห้งของพืชลดลง ในทางตรงกันข้ามหากการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัส ในปริมาณที่เหมาะสมและเป็นประโยชน์ต่อพืช มีผล ทำให้น้ำหนักแห้งของต้นเพิ่มมากขึ้น (Anghinoni & Barber, 1980; Nguluu et al., 1996) อย่างไรก็ตาม อิทธิพลของฟอสฟอรัสต่อการเจริญเติบโตของต้น มีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของไนโตรเจน โดยจาก การทดลอง พบว่า ต้นข้าวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่มี

ไนโตรเจน (NH_4NO_3) 21 มิลลิโมลาร์ และฟอสฟอรัส (NaH_2PO_4) 2 มิลลิโมลาร์ มีน้ำหนักสดและน้ำหนัก แห้งของต้นสูงกว่าต้นข้าวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่มี ไนโตรเจน (NH_4NO_3) 31 มิลลิโมลาร์ และฟอสฟอรัส (NaH_2PO_4) 1 มิลลิโมลาร์ (ตารางที่ 3)

เนื่องจากไนโตรเจนที่ใช้ในการทดลองคือ แอมโมเนียมไนเตรท (NH_4NO_3) ซึ่งแตกตัวเป็น แอมโมเนียม (NH_4^+) และไนเตรท (NO_3^-) ซึ่งเป็น ไอออนที่มีผลต่อการคายน้ำ การดูดซึมธาตุอาหาร และการกักเก็บน้ำในพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่ง แอมโมเนียม (NH_4^+) ที่มีผลในการลดการดูดซึมน้ำ และการคายน้ำ รวมทั้งลดอัตราการดูดซึมธาตุ โพแทสเซียมของพืช โดยเมื่อมีปริมาณ NH_4^+ มากจะ ส่งผลทำให้คาร์โบไฮเดรตภายในพืชถูกนำไปใช้ใน กระบวนการเมแทบอลิซึมอื่น ๆ ทำให้องค์ประกอบ ทางเคมีของพืชเปลี่ยนแปลง (ยงยุทธ, 2543) ส่งผล ทำให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นพืชลดลง (Wang et al., 2003)

ในส่วนของโพแทสเซียมซึ่งเป็นธาตุที่ สามารถพบได้ในเนื้อเยื่อเจริญ และสามารถเคลื่อน ย้ายได้ภายในพืช (นพดล, 2538) โดยภายในเซลล์พืช มีปริมาณโพแทสเซียมมากกว่าธาตุอื่น ๆ ซึ่งมีหน้าที่ที่ สำคัญในการลดศักย์ออสโมติกภายในเซลล์ของ เนื้อเยื่อพืช และหากมีปริมาณโพแทสเซียมมากเซลล์ พืชสามารถเก็บสะสมโพแทสเซียมส่วนเกินไว้ใน แวคิวโอล โดยโพแทสเซียมในส่วนนี้มีบทบาทเกี่ยวข้อง กับการขยายขนาดของเซลล์ และการปรับความเต่ง ภายในเซลล์ (ยงยุทธ, 2543) ทั้งนี้การขยายขนาด ของเซลล์ และการปรับความเต่งภายในเซลล์มีความ สัมพันธ์กับการเจริญเติบโตและการพัฒนาการของพืช โดยการสะสมน้ำหนักแห้งในพืชมีค่าสูงสุดเมื่อพืชได้ รับโพแทสเซียมในระดับที่เหมาะสม (Scibor-Marchocka, 1970; Gremigni et al., 2001)



ตารางที่ 3 น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นข้าว (มิลลิกรัมต่อต้น) ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ดัดแปลง ที่มีความเข้มข้นของ NH_4NO_3 , NaH_2PO_4 และ K_2SO_4 ที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 5 สัปดาห์ (ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

สิ่งทดลอง	น้ำหนักสดต้น (มิลลิกรัมต่อต้น)	น้ำหนักแห้งต้น (มิลลิกรัมต่อต้น)
$\text{N}_L \text{P}_L \text{K}_L$	$295 \pm 18 \text{ d}$	$95 \pm 8 \text{ d}$
$\text{N}_L \text{P}_L \text{K}_H$	$416 \pm 57 \text{ c}$	$138 \pm 11 \text{ bc}$
$\text{N}_L \text{P}_H \text{K}_L$	$453 \pm 22 \text{ bc}$	$151 \pm 16 \text{ abc}$
$\text{N}_L \text{P}_H \text{K}_H$	$625 \pm 61 \text{ a}$	$188 \pm 18 \text{ a}$
$\text{N}_H \text{P}_L \text{K}_L$	$426 \pm 38 \text{ c}$	$119 \pm 15 \text{ cd}$
$\text{N}_H \text{P}_L \text{K}_H$	$520 \pm 21 \text{ abc}$	$156 \pm 6 \text{ abc}$
$\text{N}_H \text{P}_H \text{K}_L$	$483 \pm 47 \text{ bc}$	$145 \pm 14 \text{ abc}$
$\text{N}_H \text{P}_H \text{K}_H$	$579 \pm 41 \text{ ab}$	$167 \pm 14 \text{ ab}$
Significant level		
N	ns	ns
P	**	**
K	**	**
N $\times$ P	*	*
N $\times$ K	ns	ns
P $\times$ K	ns	ns
N $\times$ P $\times$ K	ns	ns

**, * แตกต่างทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และ 0.01 ตามลำดับ

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ค่าเฉลี่ยตามแนวตั้งที่ตามด้วยอักษรร่วม ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และ 0.01 จากการวิเคราะห์โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test.



3. น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของเหง้า

จากการศึกษา พบว่า อิทธิพลร่วมระหว่างแอมโมเนียมไนเตรท (NH_4NO_3) โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (NaH_2PO_4) และโพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) มีผลต่อการเจริญเติบโตของเหง้า (ตารางที่ 4) โดยต้นข้าที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ดัดแปลง ที่มีความเข้มข้นของไนโตรเจน (NH_4NO_3) 21 มิลลิโมลาร์ ฟอสฟอรัส (NaH_2PO_4) 2 มิลลิโมลาร์ และโพแทสเซียม (K_2SO_4) 11 มิลลิโมลาร์ ($\text{N}_{21}\text{P}_2\text{K}_{11}$) มีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของเหง้าสูงสุด (ตารางที่ 4)

เมื่อพิจารณาอิทธิพลของธาตุอาหารแต่ละชนิด พบว่า ไนโตรเจน (NH_4NO_3) มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของเหง้า ในขณะที่ฟอสฟอรัส (NaH_2PO_4) และโพแทสเซียม (K_2SO_4) ไม่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของเหง้า รวมทั้งยังพบว่า ต้นข้าที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่มีไนโตรเจน (NH_4NO_3) 21 มิลลิโมลาร์ มีการเจริญเติบโตของเหง้าที่สูงกว่าต้นข้าที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่มีไนโตรเจน (NH_4NO_3) 31 มิลลิโมลาร์ (ตารางที่ 4)

เนื่องจากอัตราการเจริญเติบโตและน้ำหนักแห้งของพืชมีความสัมพันธ์กับการได้รับไนโตรเจนในแต่ละช่วงการเจริญเติบโต (Mc Cown et al., 1992; Nguluu et al., 1996; Andrews et al., 1999) โดยการเพิ่มน้ำหนักแห้งของพืชมีความสัมพันธ์กับอัตราการสะสมลิแกิน และสารประกอบโพลีฟีนอล (Fox et al., 1990; Palm & Sanchez, 1991) ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Mc Cown et al. (1992); Nguluu et al. (1996); Andrew et al. (1999) และ Romero et al. (1999) ที่รายงานว่า การที่พืชได้รับไนโตรเจนในระดับที่เหมาะสม มีผล

ทำให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของเหง้าเพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้อิทธิพลของไนโตรเจนมีความสัมพันธ์กับระดับความเข้มข้นของฟอสฟอรัสและโพแทสเซียม (ตารางที่ 4) โดยหากต้นข้าที่ได้รับไนโตรเจน (NH_4NO_3) 31 มิลลิโมลาร์ และได้รับฟอสฟอรัส (NaH_2PO_4) และโพแทสเซียม (K_2SO_4) ในทิศทางตรงกันข้ามกัน กล่าวคือ ฟอสฟอรัส (NaH_2PO_4) 1 มิลลิโมลาร์ และ โพแทสเซียม (K_2SO_4) 16 มิลลิโมลาร์ หรือ ฟอสฟอรัส (NaH_2PO_4) 2 มิลลิโมลาร์ และ โพแทสเซียม (K_2SO_4) 11 มิลลิโมลาร์ มีผลทำให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของเหง้าลดลง

จากการทดลอง พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของ ไนโตรเจน (NH_4NO_3) ทำให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของเหง้าลดลง อาจเป็นเพราะความเข้มข้นของไนโตรเจนที่เพิ่มขึ้นถูกนำไปใช้ในการสังเคราะห์สารประกอบไนโตรเจน ทำให้ต้องมีการนำเอาคาร์โบไฮเดรตที่นำไปใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึมอื่นๆ มาทดแทน ทำให้องค์ประกอบทางเคมีของพืชเปลี่ยนแปลง (ยงยุทธ, 2543) มีผลทำให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของเหง้าลดลง



ตารางที่ 4 น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเหง้าของข้าว (มิลลิกรัมต่อดัน) ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ดัดแปลง ที่มีความเข้มข้นของ NH_4NO_3 , NaH_2PO_4 และ K_2SO_4 เป็นเวลา 5 สัปดาห์ (ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

สิ่งทดลอง	น้ำหนักสดเหง้า (มิลลิกรัมต่อดัน)	น้ำหนักแห้งเหง้า (มิลลิกรัมต่อดัน)
$\text{N}_{\text{L}} \text{P}_{\text{L}} \text{K}_{\text{L}}$	$1579 \pm 73 \text{ ab}$	$474 \pm 22 \text{ abc}$
$\text{N}_{\text{L}} \text{P}_{\text{L}} \text{K}_{\text{H}}$	$1678 \pm 56 \text{ a}$	$503 \pm 17 \text{ ab}$
$\text{N}_{\text{L}} \text{P}_{\text{H}} \text{K}_{\text{L}}$	$1683 \pm 156 \text{ a}$	$538 \pm 33 \text{ a}$
$\text{N}_{\text{L}} \text{P}_{\text{H}} \text{K}_{\text{H}}$	$1383 \pm 119 \text{ b}$	$415 \pm 36 \text{ c}$
$\text{N}_{\text{H}} \text{P}_{\text{L}} \text{K}_{\text{L}}$	$1558 \pm 60 \text{ ab}$	$438 \pm 34 \text{ bc}$
$\text{N}_{\text{H}} \text{P}_{\text{L}} \text{K}_{\text{H}}$	$1337 \pm 40 \text{ b}$	$401 \pm 12 \text{ c}$
$\text{N}_{\text{H}} \text{P}_{\text{H}} \text{K}_{\text{L}}$	$1375 \pm 66 \text{ b}$	$412 \pm 20 \text{ c}$
$\text{N}_{\text{H}} \text{P}_{\text{H}} \text{K}_{\text{H}}$	$1427 \pm 32 \text{ ab}$	$428 \pm 9 \text{ bc}$
Significant level		
N	*	**
P	ns	ns
K	ns	ns
$\text{N} \times \text{P}$	ns	ns
$\text{N} \times \text{K}$	ns	ns
$\text{P} \times \text{K}$	ns	ns
$\text{N} \times \text{P} \times \text{K}$	**	**

**, * แตกต่างทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และ 0.01 ตามลำดับ

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ค่าเฉลี่ยตามแนวตั้งที่ตามด้วยอักษรรวม ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และ 0.01 จากการวิเคราะห์โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test.



4. ปริมาณสาร ACA

จากการศึกษา พบว่า อิทธิพลร่วมระหว่างแอมโมเนียมไนเตรท (NH_4NO_3) โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (NaH_2PO_4) และโพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) มีผลต่อปริมาณสาร ACA (ตารางที่ 5)

สาร 1'- Acetoxychavicol Acetate (ACA) ที่สกัดได้จากเหง้าข้าที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MS (1962) ดัดแปลง ที่มีความเข้มข้นของ NH_4NO_3 , NaH_2PO_4 และ K_2SO_4 แตกต่างกัน 8 สูตร มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเนื้อเยื่อข้าที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของไนโตรเจน (NH_4NO_3) 21 มิลลิโมลาร์ ฟอสฟอรัส (NaH_2PO_4) 2 มิลลิโมลาร์ และโพแทสเซียม (K_2SO_4) 11 มิลลิโมลาร์ มีปริมาณสาร ACA สูงสุด คือ 25.9 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งเหง้า และเมื่อพิจารณาอิทธิพลของธาตุอาหารแต่ละชนิด พบว่าไนโตรเจน (NH_4NO_3) และฟอสฟอรัส (NaH_2PO_4) มีอิทธิพลต่อปริมาณสาร ACA ในขณะที่โพแทสเซียมไม่มีผลต่อปริมาณสาร ACA (ตารางที่ 5)

โดยสาร ACA อาจเป็นสารที่ได้จากวิธีการสังเคราะห์ของสารในกลุ่ม Phenylpropanoid ซึ่งสารในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่ถูกนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านสมุนไพรและเครื่องเทศ รวมทั้งมีบทบาทสำคัญในการเป็นโครงสร้างที่ช่วยในการป้องกันอันตรายและเป็นตัวส่งสัญญาณภายในพืช (Gang et al., 2002; Dixon & Paiva, 1995) ซึ่งการสังเคราะห์สารในกลุ่ม Phenylpropanoid เริ่มจากสารตั้งต้นที่เป็นกรดอะมิโนที่มีลักษณะโครงสร้างเป็นวงแหวน และสังเคราะห์ผ่านทางวิถี Shikimate ในพลาสติก (Henkes et al., 2001) กรด อะมิโนที่เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สาร ACA และมีลักษณะโครงสร้างเป็นวงแหวน คือ Phenylalanine (Manitto et al., 1974; Klischies et al., 1975; Manitto et al., 1975; Senanayake et al., 1977)

ตารางที่ 5 ปริมาณสาร ACA ภายในเหง้าเนื้อเยื่อข้าที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ดัดแปลง ที่มีความเข้มข้นของ NH_4NO_3 , NaH_2PO_4 และ K_2SO_4 เป็นเวลา 5 สัปดาห์ (ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

สิ่งทดลอง	ACA (ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)
$\text{N}_L \text{P}_L \text{K}_L$	$6.0 \pm 1 \text{ d}$
$\text{N}_L \text{P}_L \text{K}_H$	$14.5 \pm 2 \text{ bc}$
$\text{N}_L \text{P}_H \text{K}_L$	$25.9 \pm 1 \text{ a}$
$\text{N}_L \text{P}_H \text{K}_H$	$20.2 \pm 2 \text{ b}$
$\text{N}_H \text{P}_L \text{K}_L$	$14.0 \pm 1 \text{ c}$
$\text{N}_H \text{P}_L \text{K}_H$	$5.6 \pm 2 \text{ d}$
$\text{N}_H \text{P}_H \text{K}_L$	$18.0 \pm 2 \text{ bc}$
$\text{N}_H \text{P}_H \text{K}_H$	$14.9 \pm 1 \text{ bc}$
Signicant level	
N	**
P	**
K	ns
$\text{N} \times \text{P}$	*
$\text{N} \times \text{K}$	**
$\text{P} \times \text{K}$	ns
$\text{N} \times \text{P} \times \text{K}$	**

**, * แตกต่างทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และ 0.01 ตามลำดับ

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ค่าเฉลี่ยตามแนวตั้งที่ตามด้วยอักษรร่วม ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และ 0.01 จากการวิเคราะห์โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test.

กรดอะมิโนชนิดนี้ มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบอยู่ในโครงสร้าง ในการทดลองนี้ไนโตรเจนที่พืชได้รับอยู่ในรูปของแอมโมเนียม (NH_4^+) และไนเตรท (NO_3^-) ที่สามารถถูกนำไปใช้ในการสังเคราะห์กรดอะมิโน และสารประกอบที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ ในการทดลองนี้ใช้ NH_4NO_3 เป็นแหล่งไนโตรเจนในอาหารเพาะเลี้ยงที่มีความเข้มข้น 2 ระดับ คือ 21 และ 31 มิลลิโมลาร์ พบว่า เมื่อมีการเพิ่มความเข้มข้นของไนโตรเจนในอาหารเพาะเลี้ยงมีผลทำให้ปริมาณสาร ACA ลดลง

เนื่องจากการที่พืชได้รับไนโตรเจนในรูป NH_4NO_3 ที่มีระดับความเข้มข้นเพิ่มมากขึ้นจากระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต อาจมีการสะสมของไอออนของไนโตรเจนทั้งสองชนิด คือ แอมโมเนียม (NH_4^+) และไนเตรท (NO_3^-) โดยเฉพาะอย่างยิ่งแอมโมเนียม (NH_4^+) ที่เมื่อมีการสะสมมากในพืชมีผลทำให้พืชต้องมีการดึงโมเลกุลของคาร์โบไฮเดรตที่เป็นโครงสร้างมาใช้เพื่อช่วยป้องกันพิษของแอมโมเนียม (ยงยุทธ, 2543) ส่งผลทำให้พืชเกิดการสูญเสียโมเลกุลของสารที่เป็นประโยชน์และพลังงานในการสังเคราะห์สารประกอบต่าง ๆ ภายในพืช ทำให้พืชมีปริมาณสาร ACA ลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Zhang et al. (1996) ซึ่งรายงานว่าการลดระดับความเข้มข้นของไนโตรเจนมีผลทำให้มีปริมาณการผลิตสาร Saponin ใน *Panax Notoginseng* เพิ่มสูงขึ้น

ในขณะที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของฟอสฟอรัส (NaH_2PO_4) ในอาหารเพาะเลี้ยง พบว่ามีผลทำให้ปริมาณสาร ACA เพิ่มขึ้น อาจเป็นไปได้ว่าฟอสฟอรัสเป็นส่วนประกอบของ ATP และ NADPH ที่เป็นสารสำคัญในการผลิตสาร ACA โดยในการสังเคราะห์สาร ACA เริ่มจากกรดอะมิโน

Phenylalanine ถูกเปลี่ยนไปเป็น Cinnamic acid และสารธรรมชาติอื่น ๆ มากมายภายในพืช (วิไล, 2542; Gang et al., 2001) โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ Phenylalanine Ammonialyase (PAL) หลังจากนั้น Cinnamic acid จะเปลี่ยนเป็น *p*-coumaric acid และ Ferulic acid โดยในการเปลี่ยนแปลงจะมีเอนไซม์ของ โคเอนไซม์ เอ (Co. A) เข้าร่วมในปฏิกิริยา โดยทำหน้าที่เป็นพาหะของการเคลื่อนย้ายหมู่ Acetyl และ Acyl ในปฏิกิริยาเกี่ยวกับการสลายและการสังเคราะห์ไขมันในสิ่งมีชีวิต (Gang et al., 2001) โดยโคเอนไซม์ เอ ที่เข้าร่วมในปฏิกิริยา จะมีไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และกำมะถันเป็นองค์ประกอบภายในโครงสร้าง ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจะต้องอาศัยพลังงานและเอนไซม์ในการเกิดปฏิกิริยา โดยพลังงานที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาได้มาจาก ATP และ NADPH ซึ่งสารประกอบทั้งสองชนิดนี้เป็นสารประกอบพลังงานสูงซึ่งมีบทบาทสำคัญในระดับชีวเคมีของเซลล์สิ่งมีชีวิต ซึ่งสอดคล้องกับ Zhang & Zhong (1997) ซึ่งรายงานว่าการเพิ่มความเข้มข้นของฟอสฟอรัสมีผลในการส่งเสริมการเจริญและการสังเคราะห์สาร Saponin ใน *Panax Notoginseng* โดยสารประกอบทั้งสองชนิดมีฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบ

ทั้งนี้ผลของไนโตรเจน (NH_4NO_3) และฟอสฟอรัส (NaH_2PO_4) มีความสัมพันธ์กับระดับของโพแทสเซียม (K_2SO_4) โดยในการทดลองนี้ พบว่า ต้นข้าที่เจริญบนอาหารเพาะเลี้ยงที่มีความเข้มข้นของไนโตรเจน (NH_4NO_3) 21 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับฟอสฟอรัส (NaH_2PO_4) 2 มิลลิโมลาร์ และโพแทสเซียม (K_2SO_4) 11 มิลลิโมลาร์ มีปริมาณสาร ACA สูงกว่าต้นข้าที่เจริญบนอาหารเพาะเลี้ยงที่มี



ความเข้มข้นของไนโตรเจน (NH_4NO_3) ร่วมกับ ฟอสฟอรัส (NaH_2PO_4) และโพแทสเซียม (K_2SO_4) ที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ (ตารางที่ 5)

เนื่องจากรูปของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และ โพแทสเซียมที่ใช้ในการทดลองนี้สามารถแตกตัวออกมาอยู่ในรูปของแอมโมเนียม (NH_4^+) และไนเตรท (NO_3^-) โซเดียม (Na^+) ไฮโดรเจนฟอสเฟต (H_2PO_4^-) โพแทสเซียม (K^+) และซัลเฟต (SO_4^{2-}) ซึ่งจากรูปของธาตุอาหารที่แตกตัวออกมาจะพบว่าไนโตรเจน และ โพแทสเซียมที่แตกตัวออกมาจะมีรูปของไอออนที่อาจส่งผลเสียต่อพืชได้ คือ แอมโมเนียม (NH_4^+) และซัลเฟต (SO_4^{2-}) ซึ่งหากมีในปริมาณที่มากเกินไปอาจมีผลในการรบกวนกระบวนการสังเคราะห์สาร ACA ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งแอมโมเนียม (NH_4^+) ที่มีผลในการลดอัตราการดูดซึมธาตุโพแทสเซียมซึ่งเป็นธาตุที่มีความสำคัญต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมภายในพืช (Wang, et al., 2003) ส่วนซัลเฟต (SO_4^{2-}) จะเกี่ยวข้องกับการทำหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์โดยหากมีซัลเฟตในปริมาณที่มากเกินไปมีผลทำให้การทำหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์ผิดปกติและก่อให้เกิดผลเสียต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมภายในพืช (สัมฤทธิ์, 2544) ซึ่งอาจเป็นสาเหตุทำให้การเพิ่มความเข้มข้นของทั้งไนโตรเจน และโพแทสเซียมมีผลทำให้ปริมาณสาร ACA ลดลง

สรุปผลการวิจัย

การเจริญเติบโตและปริมาณสาร ACA ภายในเหง้าขาได้รับอิทธิพลจากการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนเตรท โซเดียม ไดไฮโดรเจนฟอสเฟต และโพแทสเซียมซัลเฟต ดังนี้

1. อาหารเพาะเลี้ยงที่มีการเพิ่มความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนเตรท แต่ไม่มีการเพิ่มขึ้นของ

โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต และโพแทสเซียมซัลเฟต มีผลทำให้การเจริญเติบโตของราก ต้น และปริมาณสาร ACA ในเหง้าขาเพิ่มขึ้น แต่ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเหง้าขา

2. อาหารเพาะเลี้ยงที่มีการเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต แต่ไม่มีการเพิ่มขึ้นของแอมโมเนียมไนเตรท และโพแทสเซียมซัลเฟต มีผลทำให้การเจริญเติบโตของราก ต้น และปริมาณสาร ACA ในเหง้าขาเพิ่มขึ้น แต่ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเหง้าขา

3. อาหารเพาะเลี้ยงที่มีการเพิ่มความเข้มข้นของโพแทสเซียมซัลเฟต แต่ไม่มีการเพิ่มขึ้นของแอมโมเนียมไนเตรท และโพแทสเซียมซัลเฟต มีผลทำให้การเจริญเติบโตของของต้น และปริมาณสาร ACA ในเหง้าขาเพิ่มขึ้น แต่ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของรากและเหง้าขา

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนเงินทุนในการทำวิจัยจากศูนย์พันธกิจวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ



เอกสารอ้างอิง

- คงเอก ศิริงาม ธรรมศักดิ์ ทองเกตุ สรัญญา วัชรโรทัย และเฉลิมพล เกิดมณี. (2554). อิทธิพลของพื้นที่ปลูกและอายุของไรโซม ต่อความผันแปรของปริมาณสาร 1- Acetoxychavicol Acetate (ACA) ภายในไรโซมข้าว. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร** 1: 1-15.
- นพดล เรียบเลิศศิริ. (2538). **การปลูกพืชไร่นา**. สำนักพิมพ์รั้วเขียว. กรุงเทพฯ. 100 หน้า.
- ยงยุทธ โอสภสส. (2543). **ธาตุอาหารพืช**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 424 หน้า.
- วิไล สันติโสภาส. (2542). **ชีวเคมี**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 173 หน้า.
- ลัสมฤทธิ เพ็ญจันทร์. (2544). **สรีรวิทยาการพัฒนากาการพืช**. โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา. กรุงเทพฯ. 665 หน้า.
- Andrews, M., Sprent, J.I., Raven, J.A. and Eady, P.E. (1999). Relationships between shoot root ratio, growth and leaf soluble protein concentration of *Pisum sativum*, *Phaseolus vulgaris* and *Triticum aestivum* under different nutrient deficiencies. **Plant Cell Environ.** 22: 949-958.
- Anghinoni, I. and Barber, S.A. (1980). Phosphorus influx and growth characteristics of corn roots as influenced by P supply. **Agron. J.** 72: 685-688.
- Arvidsson, J. (1999). Nutrient uptake and growth of barley as affected by soil compaction. **Plant Soil** 208: 9-19.
- Brown, A.F., Yousef, G.G., Jeffery, E.H., Klein, B.P., Wallig, M.A., Kushad, M.M. and Juvik, J.A. (2002). Glucosinolate profiles in broccoli: Variation in levels and implications in breeding for cancer chemoprotection. **J. Amer. Hort. Sci.** 127: 807-813.
- Dixon, R.A. and Paiva, N.L. (1995). Stress-induced phenylpropanoid metabolism. **Plant Cell** 7: 1085-1097.
- Fox R.H., Myers, R.J.K. and Valis, I. (1990). The nitrogen mineralisation rate of legume residues in soil as influenced by their polyphenol, lignin, and nitrogen contents. **Plant Soil** 129: 251-259.
- França, S.C., Duarte, I.B., Pereira, A.M.S., Carvalho, D. and Queiroz, M.E.C. (1999). Triterpenes and phenolics in callus of *Maytenus aquifolium* MART. **Acta Hort.** 502: 363-368.
- Gang, D.R., Wang, J., Dudareva, N., Nam, K.H., Simon, J.E., Lewinsohn, E. and Pichersky, E. (2001). An investigation of the storage and biosynthesis of phenylpropenes in sweet basil. **Plant Physiol.** 125: 539-555.
- Gang, D.R., Lavid, N., Zubietta, C., Chen, F., Beuerle, T., Lewinsohn, E., Noel, J.P. and Pichersky, E. (2002). Characterization of phenylpropene O-Methyltransferase from sweet basil: Facile change of substrate specificity and convergent evolution within a plant O-methyltransferase family. **Plant Cell.** 14: 505-519.



- Gremigni, P., Wong, M.T.F., Edwards, N.K., Harris, D.J. and Hamblin, J. (2001). Potassium nutrition effects on seed alkaloid concentrations, yield and mineral content of lupins (*L. angustifolius*). **Plant Soil** 237: 131-142.
- Grime, J.P. (1979). Plant Strategies and Vegetation Processes. John Wiley and Sons, Chichester. 186
- Henkes, P., S., Sonnewald, U., Badur, R., Flachmann, R. and Stitt, M. (2001). A small decrease of plastid transketolase activity in antisense tobacco transformants has dramatic effects on photosynthesis and phenylpropanoid metabolism. **Plant Cell** 13: 535-551.
- Jeffery, E.H., Brown, A.F., Kurilich, A.C., Keck, A.S., Matusheski, N., Klein, B.P., Juvik, J.A. (2003). Variation in content of bioactive components in broccoli. **J. Food Comp. Anal.** 16: 323-330.
- Kirakosyan, A., Servent, T.M., Gibson, D.M. and Kaufman, P.B. (2004). The Production of Hypericin by in vitro culture of St. John's wort (*Hypericum perforatum*). **Biotechnol. Appl. Biochem.** 39: 71-81.
- Klischies, M., Stockigt, J. and Zenk, M.H. (1975). Biosynthesis of the allylphenols eugenol and methyleugenol in *Ocimum basilicum* L. **Chem. Commun.** 21: 879-880.
- Mairapetyan, S.K., Tadevosyan, A.H., Alexanyan, S.S. and Stepanyan, B.T. (1999). Optimization of the N:P:K ratio in the nutrient medium of some aromatic and medicinal plants. **Acta Hort.** 502: 29-32.
- Manitto, P., Monti, D. and Gramatica, P. (1974). Biosynthesis of phenylpropanoid compounds: I. Biosynthesis of eugenol in *Ocimum basilicum* L. **J. Chem. Soc. Perkin Trans I.** 14: 1727-1731.
- Manitto, P., Gramatica, P. and Monti, D. (1975). Biosynthesis of phenylpropanoid compounds: II. Incorporation of specifically labeled cinnamic acids into eugenol(*Ocimum basilicum*). **J. Chem. Soc. Perkin. Trans I.** 14: 1549-1551.
- Marschner, H., Horst, W.J., Martin, P. and Romheld, V. (1986). Root induced changes in the rhizosphere: Importance for the mineral nutrition of plants. **Z. Pflanz. Boden.** 149: 441-456.
- Mc Cown, R.L., Keating, B.A., Probert, M.E. and Jones, R.K. (1992). Strategies for sustainable crop production in semi-arid Africa. **Outlook Agr.** 21: 21-31.
- Mulabagal, V. and Tsay, H.S. (2004). Plant Cell Cultures - An Alternative and Efficient Source for the Production of Biologically Important Secondary Metabolites. **Int. J. Appl. Sci. Engineer.** 2(1): 29-48.
- Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiol. Plant** 15: 437-497.



- Nguluu, S.N., Probert, M.E., Myers, R.J.K. and Waring, S.A. (1996). Effect of tissue phosphorus concentration on the mineralisation of nitrogen from stylo and cowpea residues. **Plant Soil** 191: 139-146.
- Nigra, H.M., Caso, O. and Giulietti, A.M. (1987). Production of solasodine by calli from different part of *Solanum eleagnifolium* Cav. **Plant Cell Rep.** 6: 135-137.
- Palittapongarnpim, P., Kirdmanee, C., Kittakoop, P. and Rukseree, K. (2002). 1'-Acetoxychavicol Acetate for Tuberculosis Treatment. US Patent Application no. 2002192262.
- Palm, C.A. and Sanchez, P.A. (1991). Nitrogen release from the leaves of some tropical legumes as affected by their lignin and polyphenolic contents. **Soil Biol. Biochem.** 23: 83-88.
- Pereira, A.M.S., França, S.C. and Câmara, F.L.A.. (1999). Coumarin production in *Mikania glomerata* callus. **Acta Hort.** 502: 357-361.
- Romero, J.A., Brix, H. and Comin, F.A.. (1999). Interactive effects of N and P on growth, nutrient allocation and NH₄ uptake kinetics by *Phragmites australis*. **Aquat. Bot.** 64: 369-380.
- Scibor-Marchocka A. (1970). Comparative studies on the homologous types of bitter and fodder white lupine. **Acta Agrobot.** 23(1): 23-38.
- Senanayake, U.M., Wills, R.B.H. and Lee, T.H. (1977). Biosynthesis of eugenol and cinnamic aldehyde in *Cinnamomum zeylanicum*. **Phytochemistry** 16: 2032-2033.
- Wang, G., Li, C. and Zhang, F. (2003). Effect of different nitrogen forms and combination with foliar spraying with 6-benzylaminopurine on growth, transpiration, and water and potassium uptake and flow in tobacco. **Plant Soil** 256: 169-178.
- Yang, S.W., Ubillas, R., McAlpine, J., Stafford, A., Ecker, D.M., Talbot, M.K. and Rogers, B. (2001). Three new phenolic compounds from a manipulated plant cell culture, *Mirabilis jalapa*. **J. Nat. Prod.** 64: 133-137.
- Zhang, Y.H. and Zhong, J.J. (1997). Hyperproduction of ginseng saponin and polysaccharide by high density cultivation of *Panax notoginseng*. **Enzyme Microb. Technol.** 21: 59-63.
- Zhang, Y.H., Zhong, J.J. and Yu, J.T. (1996). Effect of nitrogen source on cell growth and production of ginseng saponin and polysaccharide in suspension cultures *Panaxnotoginseng*. **Biotechnol. Prog.** 12: 567-571.