โครงการ
การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การเปรียบเทียบน้ำมะพร้าวยูเอชที กับน้ำมะพร้าวสดต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสของแคร์รอต *Daucus carota* L. ในหลอดทดลอง

Comparison of UHT coconut water and fresh coconut water on *in vitro* callus induction of *Daucus carota* L.

ชื่อนิสิต นายภูริพชร มหาพรม **เลขประจำตัว** 5832135523

ภาควิชา พฤกษศาสตร์

ปีการศึกษา 2561

คณะ วิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานทางวิชาการที่ให้บริการในจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานทางวิชาการที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of senior projects in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the senior project authors' files submitted through the faculty.

การเปรียบเทียบน้ำมะพร้าวยูเอชที กับน้ำมะพร้าวสดต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสของแคร์รอต *Daucus carota* L. ในหลอดทดลอง

นายภูริพชร มหาพรม

โครงงานวิทยาศาสตร์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาพฤกษศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2561

Comparison of UHT coconut water and fresh coconut water on *in vitro* callus induction of *Daucus carota* L.

Mr. Puriphot Mahaprom

A Senior Project in Partial Fulfillment of the Requirements
For the Degree of Bachelor of Science in Botany
Department of Botany
Faculty of Science, Chulalongkorn University
Academic Year 2018

ชื่อเรื่อง	การเปรียบเทียบน้ำมะพร้าวยูเอชที กับน้ำมะพร้าวสดต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสของแคร์รอต *Doucus carota* L. ในหลอดทดลอง
ชื่อนิสิต	ภูริพชร มหาพรม
ภาควิชา	พฤกษศาสตร์
สาขาวิชา	พฤกษศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงาน	อาจารย์ ดร.ยุพิน จินตภากร
ปีการศึกษา	2561

ภาควิชาพฤกษศาสตร์ อนุมัติให้โครงงานวิทยาศาสตร์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาพฤกษศาสตร์

คณะกรรมการสอบโครงงานวิทยาศาสตร์

.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(อาจารย์ ดร.ยุพิน จินตภากร)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัญชลี ใจดี)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จุฑามาศ ชัยวนนท์)

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชื่อเรื่อง	การเปรียบเทียบน้ำมะพร้าวยูเอชที กับน้ำมะพร้าวสดต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสของแคร์รอต *Daucus carota* L. ในหลอดทดลอง
ชื่อนิสิต	ภูริพชร มหาพรม
ภาควิชา	พฤกษศาสตร์
สาขาวิชา	พฤกษศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงาน	อาจารย์ ดร.ยุพิน จินตภากร
ปีการศึกษา	2561

บทคัดย่อ

น้ำมะพร้าวคือ คัพภาหารเหลวที่มีการนำมาใช้ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอยู่บ่อยครั้ง เนื่องจากภายในน้ำมะพร้าวมีสารประกอบหลายชนิดรวมไปถึงฮอร์โมนพืชอีกหลายชนิดที่จะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืช และในปัจจุบันได้มีผลิตภัณฑ์น้ำมะพร้าวยูเอชทีจำหน่ายอยู่ทั่วไปในร้านสดวกซื้อ จึงหาซื้อได้ง่าย และเก็บรักษาได้นาน โครงงานนี้จึงศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำมะพร้าวสดกับผลิตภัณฑ์น้ำมะพร้าวยูเอชทีจำนวน 3 ยี่ห้อ และได้เปรียบเทียบกันจำนวน 4 ครั้งโดยแต่ละครั้งจะใช้น้ำมะพร้าวยูเอชทีที่มีรอบการผลิตแตกต่างกัน เพื่อตรวจสอบความแตกต่างจากการใช้ผลิตภัณฑ์น้ำมะพร้าวยูเอชทีที่มีรอบผลิตแตกต่างกัน โดยใช้ชิ้นตัวอย่างที่ตัดจากรากแคร์รอตรูปทรงกระบอก (เส้นผ่าศูนย์กลาง 1.00 cm และหนา 1.00±0.2 cm) ในการชักนำให้เกิดแคลลัส พบว่าการทดลองทุกครั้งอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าวสด (MS_3) และอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าวยูเอชทียี่ห้อที่ 1 (MS_4) สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้เกินกว่าร้อยละ 75 การศึกษานี้จะเป็นข้อมูล และแนวทางในการเลือกใช้ผลิตภัณฑ์น้ำมะพร้าวยูเอชทีในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชให้เกิดความสะดวกมากยิ่งขึ้น

คำสำคัญ: น้ำมะพร้าว, น้ำมะพร้าวยูเอชที, แคร์รอต, แคลลัส

Title	Comparison of UHT coconut water and fresh coconut water on *in vitro* callus induction of *Daucus carota* L.
Student name	Puriphot Mahaprom
Program	Botany
Department	Botany
Advisor	Dr. Yupyn Chintapakorn
Academic year	2018

Abstract

Coconut water is liquid endosperm often used in plant tissue culture because within the coconut water there are many compounds, including many plant hormones that promote plant growth and development. At present, there are many brands of UHT coconut water for sale in convenience stores. It is easily purchased and can be stored for long time. This project, therefore, has compared the efficiency of fresh coconut water with 3 available brands of UHT coconut water. The experiment was repeated for 4 times with different batches of the UHT coconut water to check the consistency of the products. Carrot roots were cut into cylindrical shape (diameter of 1.00 cm and thickness of 1.00±0.2 cm) for inducing calli. The results from all batches showed that MS culture media with fresh coconut water (MS_3) and MS with UHT coconut water brand 1 (MS_4) could induce calli to exceed more than 75 percent. This study provides information and guideline for convenient usage of UHT coconut water in plant tissue culture.

Keywords: Coconut water; UHT coconut water; carrot; callus

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานวิทยาศาสตร์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องด้วยความกรุณาของผู้เกี่ยวข้องทุกท่าน ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.ยุพิน จินตภากร อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานวิทยาศาสตร์ที่กรุณาให้คำแนะนำ สั่งสอน ความช่วยเหลือ ตลอดการให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการดำเนินงานโครงงานวิทยาศาสตร์นี้เป็นอย่างดี

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัญชลี ใจดี และ อาจารย์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จุฑามาศ ชัยวนนท์ ที่กรุณาเสียสละเวลาเป็นกรรมการสอบโครงงานวิทยาศาสตร์ พร้อมทั้งให้คำแนะนำ ช่วยตรวจสอบแก้ไขให้โครงงานวิทยาศาสตร์ฉบับนี้มีความถูกต้องและสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณโครงการการเรียนการสอนเพื่อประสบการณ์ของคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่กรุณาสนับสนุนทุนโครงงานวิทยาศาสตร์นี้

ขอขอบพระคุณห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่กรุณาให้ใช้อุปกรณ์ สารเคมี และสถานที่สำหรับการศึกษาโครงงานวิทยาศาสตร์นี้

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ และผู้มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่านที่กรุณาให้ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจให้มาโดยตลอด

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และญาติพี่น้องที่กรุณาให้ความช่วยเหลือในทุกด้านอย่างเต็มที่

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญภาพ	ซ
สารบัญตาราง	ญ
บทที่	
1 บทนำ	1
2 การตรวจเอกสาร	3
3 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการทดลอง	19
4 ผลการทดลอง	25
5 อภิปราย และสรุปผลการทดลอง	39
เอกสารอ้างอิง	42
ภาคผนวก	46
ภาคผนวก ก	47
ภาคผนวก ข	49
ภาคผนวก ค	52

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	รากแคร์รอตตัดขวางที่สามารถเห็นแนวของแคมเบียมเป็นวงคั่นแบ่งเนื้อเยื่อลำเลียงน้ำกับเนื้อเยื่อลำเลียงอาหารไว้ ซึ่งจะมีเซลล์เจริญที่มี totipotency สูงอยู่ในแนวแคมเบียมนี้	8
4.1	ชิ้นตัวอย่างรากแคร์รอตเริ่มต้น ก่อนเพาะเลี้ยง โดยแถบสีน้ำเงินมีขนาด 1 cm	25
4.2	ร้อยละชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแต่ละสูตรในการทดลองครั้งที่ 1	27
4.3	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของชิ้นตัวอย่างแคร์รอตและแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแต่ละสูตรในการทดลองครั้งที่ 1	27
4.4	ร้อยละชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแต่ละสูตรในการทดลองครั้งที่ 2	29
4.5	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของชิ้นตัวอย่างแคร์รอตและแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแต่ละสูตรในการทดลองครั้งที่ 2	30
4.6	ร้อยละชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแต่ละสูตรในการทดลองครั้งที่ 3	32
4.7	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของชิ้นตัวอย่างแคร์รอตและแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแต่ละสูตรในการทดลองครั้งที่ 3	32
4.8	ร้อยละชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแต่ละสูตรในการทดลองครั้งที่ 4	34
4.9	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของชิ้นตัวอย่างแคร์รอตและแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแต่ละสูตรในการทดลองครั้งที่ 4	35
4.10	การเปรียบเทียบร้อยละชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัสในการทดลองแต่ละครั้ง	36

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.11	การเปรียบเทียบน้ำหนักสดของการทดลองแต่ละครั้ง	37
4.12	การเปรียบเทียบน้ำหนักแห้งของการทดลองแต่ละครั้ง	38
5.1	ความแตกต่างกันของน้ำมะพร้าวยูเอชทียี่ห้อที่ 3 ที่รอบผลิตต่างกัน ซึ่งสามารถสังเกตได้จากสีที่แตกต่างกัน โดยขวดด้านซ้ายมีสีเข้มที่สุด รองลงมาคือขวดทางขวา และขวดตรงกลางมีสีที่อ่อนที่สุด	41

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมะพร้าว ดัดแปลงจาก Yong และคณะ (2009)	9
2.2	ฮอร์โมนพืชที่พบและสามารถระบุชนิดได้ในน้ำมะพร้าว ดัดแปลงจาก Yong และคณะ (2009)	17
4.1	การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแต่ละสูตร ในการทดลองครั้งที่ 1	26
4.2	การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแต่ละสูตร ในการทดลองครั้งที่ 2	29
4.3	การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแต่ละสูตร ในการทดลองครั้งที่ 3	31
4.4	การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแต่ละสูตร ในการทดลองครั้งที่ 4	34
ข.1	ภาพชิ้นตัวอย่างก่อน และหลังการเพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงในแต่ละสัปดาห์	50
ค.1	ข้อมูลดิบจากการทดลองครั้งที่ 1	53
ค.2	ข้อมูลดิบจากการทดลองครั้งที่ 2	58
ค.3	ข้อมูลดิบจากการทดลองครั้งที่ 3	62
ค.4	ข้อมูลดิบจากการทดลองครั้งที่ 4	65

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจ

น้ำมะพร้าว (coconut liquid endosperm) เป็นเครื่องดื่มที่ให้ความสดชื่นแก่ร่างกาย เนื่องจากในน้ำมะพร้าวมีสารอาหารมากมาย และยังมีคุณสมบัติช่วยบำรุงร่างกายให้มีความสมบูรณ์มากขึ้น จึงทำให้น้ำมะพร้าวกลายเป็นเครื่องดื่มธรรมชาติที่ได้รับความนิยมทั้งในประเทศ และแพร่กระจายไปทั่วโลก (Lazim et al., 2015) ทำให้ความต้องการบริโภคน้ำมะพร้าวมีมากขึ้น และเพื่อตอบโจทย์ความต้องการทางตลาดที่มีมากขึ้น ทางภาคอุตสาหกรรมจึงผลิตน้ำมะพร้าวบรรจุภัณฑ์ยูเอชทีออกวางจำหน่ายในท้องตลาดมากมายหลายยี่ห้อส่งผลให้ในปัจจุบันการหาซื้อน้ำมะพร้าวบรรจุภัณฑ์ยูเอชทีทำได้ง่ายและเก็บรักษาได้นานกว่าน้ำมะพร้าวสด (จิตพนธ์ ชุมเกตุ, กัญชลิกา จารุวัฒนะ และอัจฉราวรรณ รอดพ้น, 2560)

นอกจากนี้น้ำมะพร้าวยังมีความสำคัญและถูกใช้ในกระบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอยู่บ่อยครั้ง เพราะน้ำมะพร้าวเป็นทั้งแหล่งวิตามิน แร่ธาตุ กรดอะมิโน และฮอร์โมนพืชที่หาได้ง่ายและมีราคาถูก ซึ่งในน้ำมะพร้าวนั้นมีฮอร์โมนพืชที่สำคัญอย่างกลุ่มไซโตไคนิน (cytokinins) โดยเฉพาะ *trans*-zeatin riboside ที่มีมากกว่าไซโตไคนินชนิดอื่น ๆ โดยฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนินนี้มีคุณสมบัติช่วยเร่งการแบ่งตัวของเซลล์พืชให้เกิดได้เร็วขึ้น จึงทำให้เซลล์ของชิ้นเนื้อเยื่อพืชแบ่งตัวได้เร็วขึ้นจนเกิดเป็นกลุ่มเซลล์ขึ้นมา นอกจากนี้แล้วน้ำมะพร้าวยังมีสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิดอื่นอีก ได้แก่ ออกซิน (auxins) จิบเบอเรลลิน (gibberellins) กรดแอบไซซิก (abscisic acid) และกรดซาลิไซลิก (salicylic acid) เป็นต้น ทำให้น้ำมะพร้าวที่เติมลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีหน้าที่เป็นสารช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของชิ้นเนื้อเยื่อพืชได้ โดยจุดประสงค์ในการใช้น้ำมะพร้าวผสมลงในอาหารเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำให้ชิ้นเนื้อเยื่อพืชสร้างยอดใหม่จากชิ้นเนื้อเยื่อเดิม หรือเพื่อชักนำให้เกิดกลุ่มเซลล์ที่ยังไม่ทำหน้าที่เฉพาะ (callus) หรือชักนำให้พืชสร้างดอกภายในหลอดทดทดลอง (Yong et al., 2009) ซึ่งการตอบสนองเหล่านี้จะแตกต่างกันไปตามชนิดหรือกลุ่มของพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และมักพบการใช้น้ำมะพร้าวผสมลงในอาหารเพาะเลี้ยงเมล็ดของกล้วยไม้เพื่อกระตุ้นให้เกิดราก (นายิกา สันทารุนัย, 2559) และการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ (วันฟิรฮาน บินยามะ, รอยฮัน หะมะ และสุภาวดี รามสูตร, 2557) นอกจากนี้ยังสามารถใช้น้ำมะพร้าวผสมลงในอาหารเพาะเลี้ยงพืชกลุ่มอื่นได้เหมือนกัน เช่น กล้วยน้ำว้ามะลิอ่อง (นิดาพร สุธัญญรัตน์, สุพรรนี อะโอกิ และขวัญเดือน รัตนา , 2559) กล้วยเล็บมือนาง (วัชรินทร์ รัตนพันธ์ และนุจรินทร์ หญีตจันทร์, 2559) ต้นแก่นตะวัน (สุมนา นีระ และคณะ, 2557) กล้วยหอมพันธุ์คาเวนดิชต้นเตี้ย (Mondal et al., 2012) และแคร์รอต (Caplin and Steward, 1948; Steward, Caplin and Millar, 1952) เป็นต้น

แคร์รอต (*Daucus carota* L.) ในอดีตเป็นพืชที่นิยมใช้ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช หาซื้อได้ง่าย และสามารถตอบสนองต่อน้ำมะพร้าวได้เป็นอย่างดี จึงมีงานทดลองเกี่ยวกับการชักนำให้เกิดแคลลัสมากมาย ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทั้งบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) และอาหารสูตร White (White, 1934) ที่มีการดัดแปลง โดยแปรผันความเข้มข้นของฮอร์โมนพืช และปัจจัยอื่น ๆ เช่น แสง ปริมาณอากาศ และสารอินทรีย์อย่างเช่นน้ำมะพร้าว เป็นต้น (Caplin and Steward , 1948; Steward et al., 1952)

จากเหตุผลและงานวิจัยข้างต้น ทำให้ผู้วิจัยเกิดความสนใจในการนำน้ำมะพร้าวยูเอชทีที่มีวางขายอยู่ทั่วไปจำนวน 3 ยี่ห้อที่มีรอบการผลิตแตกต่างกันมาเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับน้ำมะพร้าวสดในการชักนำให้เกิดแคลลัสของแคร์รอตบนอาหารสังเคราะห์กึ่งแข็งสูตร MS

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

เพื่อเปรียบเทียบผลของน้ำมะพร้าวยูเอชทียี่ห้อต่าง ๆ กับน้ำมะพร้าวสดต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสของแคร์รอตภายในหลอดทดลอง

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

โครงงานวิทยาศาสตร์นี้ทำให้ทราบถึงข้อมูลของความสามารถในการชักนำให้เกิดแคลลัสของน้ำมะพร้าวยูเอชทีบางยี่ห้อ หากผลการตอบสนองของแคร์รอตต่อน้ำมะพร้าวยูเอชทีและน้ำมะพร้าวสดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแล้ว จะบ่งบอกได้ว่าสามารถนำน้ำมะพร้าวยูเอชทีมาใช้ทดแทนน้ำมะพร้าวสดได้ ซึ่งจะก่อให้เกิดความสะดวกในการเลือกใช้น้ำมะพร้าวในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมากยิ่งขึ้น เพราะน้ำมะพร้าวยูเอชทีหาซื้อได้ง่ายกว่าและมีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนานกว่าน้ำมะพร้าวสดเป็นอย่างมาก

บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

1. น้ำมะพร้าว

น้ำมะพร้าว (coconut liquid endosperm) เป็นเครื่องดื่มที่ชาวเอเชียใต้รู้จักกันเป็นอย่างดี ซึ่งผลมะพร้าวที่มีอายุระหว่าง 11-12 เดือน จะเป็นช่วงที่ผลมะพร้าวแก่เต็มที่ ซึ่งจะมีน้ำมะพร้าวอยู่ 15%-30% ของน้ำหนักผล และผลมะพร้าวหนึ่งผลจะให้น้ำมะพร้าวประมาณ 300 มิลลิลิตร แต่อย่างไรก็ตามปริมาณน้ำมะพร้าวยังขึ้นอยู่กับการขยายตัวของขนาดผล และสายพันธุ์ของมะพร้าวอีกด้วย (Prades et al., 2012)

น้ำมะพร้าวถูกห่อหุ้มด้วยเอ็นโดคาร์ป (endocarp) หรือที่เรียกว่า “กะลา” โดยน้ำมะพร้าวนี้มีทั้งสารประกอบอินทรีย์ และอนินทรีย์ผสมอยู่ โดยมีน้ำเป็นองค์ประกอบประมาณ 94% ของน้ำมะพร้าวทั้งหมด ส่วนที่เหลือเป็นสารอื่น ๆ เช่น สารกลุ่มโปรตีน ไขมัน น้ำตาล น้ำตาลแอลกอฮอล์ ไอออนอนินทรีย์ วิตามิน กรดไขมันอิ่มตัว กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน กรดอะมิโน สารประกอบไนโตรเจน กรดอินทรีย์ เอนไซม์ และฮอร์โมนพืช เป็นต้น ซึ่งสารแต่ละกลุ่มที่พบในน้ำมะพร้าวนั้นยังสามารถแยกย่อยได้อีกหลากลายชนิด และปริมาณของสารแต่ละชนิดที่พบยังมีความแตกต่างกันตามระยะความแก่-อ่อนของผลมะพร้าวที่นำมาตรวจสอบอีกด้วย (ตารางที่ 2.1) (Arditti, 2018; Santoso et al., 1996; Tulecke et al., 1961; United States Department of Agriculture, 2008: online) ซึ่งในบทการตรวจเอกสารนี้จะกล่าวถึงกลุ่มของสารที่มีความสำคัญดังนี้

1. ไอออนอนินทรีย์ (inorganic ions) ที่พบในน้ำมะพร้าวนั้นมีอยู่ประมาณ 14 ชนิด ได้แก่ แคลเซียม (Ca) เหล็ก (Fe) แมกนีเซียม (Mg) ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) โซเดียม (Na) สังกะสี (Zn) ทองแดง (Cu) แมงกานีส (Mn) ซีลีเนียม (Se) คลอรีน (Cl) กำมะถัน (S) อะลูมิเนียม (Al) และโบรอน (B) โดยเฉพาะโพแทสเซียมที่สามารถพบได้มากที่สุดคือ 203.70-312.00 mg/100g โดยไอออนอนินทรีย์เหล่านี้เป็นส่วนประกอบของเอนไซม์ (enzyme) และโคแฟกเตอร์ (cofactor) รวมทั้งเป็นแหล่งแร่ธาตุให้แก่ต้นอ่อนมะพร้าว

2. น้ำตาล และน้ำตาลแอลกอฮอล์ (sugars and sugar alcohols) จะถูกใช้เป็นแหล่งพลังงาน (carbon source) เพื่อให้ต้นอ่อนมะพร้าวที่ยังไม่สามารถสร้างอาหารได้เอง ใช้ในกระบวนการหายใจและการเจริญเติบโต ซึ่งน้ำตาลที่พบมี 3 ชนิดคือ ซูโครส (sucrose) กลูโคส (glucose) และฟรุกโตส (fructose) ส่วนน้ำตาลแอลกอฮอล์ที่พบมี 4 ชนิดคือ แมนนิทอล (mannitol) ซอร์บิทอล (sorbitol) ไมโอ-อิโนซิทอล (myo-inositol) และ ซิลโล-อิโนซิทอล (scyllo-inositol) โดยน้ำตาลแอลกอฮอล์ที่พบมากที่สุดคือ ซอร์บิทอล ส่วนน้ำตาลอย่างซูโครส กลูโคส และฟรุกโตสนั้นมีมากรองลงมา แต่การที่น้ำตาลชนิดใดชนิดหนึ่งจะมีมากกว่าน้ำตาลชนิดอื่น ๆ จะขึ้นอยู่กับระยะความแก่-อ่อนของผลมะพร้าวด้วย

3. ฮอร์โมนพืช (phytohormones) ที่พบในน้ำมะพร้าวมีอยู่ 5 กลุ่ม คือ ออกซิน (auxins) ไซโตไคนิน (cytokinins) จิบเบอเรลลิน (gibberellins; GAs) กรดแอบไซซิก (abscisic acid; ABA) และกรดซาลิไซลิก (salicylic acid) (ตารางที่ 2.2) (Ge et al., 2007; Ge et al., 2006; Ma et al., 2008; Wu and Hu, 2009)

3.1 ออกซิน ที่พบในน้ำมะพร้าวมีเพียงชนิดเดียว คือ indole-3-acetic acid (IAA) โดยในพืชทั่ว ๆ ไป IAA จะถูกสังเคราะห์ขึ้นที่บริเวณเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด โดยมีทริปโตเฟน (tryptophan) เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ แล้วจะถูกลำเลียงไปยังส่วนต่าง ๆ ของพืช โดยเฉพาะที่ปลายราก (Taiz and Zeiger, 2010) ซึ่ง IAA ที่ตรวจพบในเนื้อเยื่อพืชทั่วไปนั้นจะจับอยู่กับกรดอะมิโน เปปไทด์ หรือคาร์โบไฮเดรตเสมอ จึงทำให้ IAA ไม่สามารถออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ เพื่อให้ IAA อยู่ในรูปที่สามารถเก็บสะสมไว้ใส่ส่วนต่าง ๆ ของพืชได้ และเป็นการรักษาสมดุลของฮอร์โมนไว้อีกด้วย (Jakubowska and Kowalczyk, 2005) นอกจากนี้ออกซินยังถูกนำมาใช้ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอีกด้วย เพราะออกซินเป็นสารที่ทำหน้าที่ถ่ายทอดสัญญาณจากธรรมชาติได้แก่ แสงและแรงดึงดูดของโลกเพื่อให้พืชตอบสนองได้อย่างเหมาะสม (Berleth, Krogan and Scarpella, 2004) สามารถใช้ร่วมกับฮอร์โมนไซโตไคนินเพื่อควบคุมการแตกแขนงของยอดและรากได้ และสามารถใช้ควบคุมพัฒนาการของเนื้อเยื่อ เซลล์ และอวัยวะที่ยังไม่สมบูรณ์ได้ให้สมบูรณ์ขึ้นมาได้ เช่น การเจริญเนื้อเยื่อ เซลล์ หรืออวัยวะไปเป็นเอ็มบริโอ ไปเป็นเนื้อเยื่อท่อลำเลียง หรือไปเป็นอวัยวะที่สมบูรณ์เป็นต้น แต่ทั้งนี้การควบคุมพัฒนาการของเนื้อเยื่อ เซลล์ และอวัยวะพืชให้ไปในทิศทางใดนั้นจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นที่เหมาะสมของฮอร์โมนออกซินภายในเนื้อเยื่อ เซลล์ และอวัยวะนั้นด้วย (Robert and Friml, 2009)

3.2 ไซโตไคนิน ที่พบในน้ำมะพร้าวมากที่สุดอยู่ในรูปของ *trans*-zeatin riboside (76.2 nM) ซึ่งเป็นไซโตไคนินที่พบได้ในธรรมชาติและเป็นรูปที่ไม่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยเริ่มแรกพืชจะสังเคราะห์ขึ้นในรูปของ *trans*-zeatin ซึ่งสามารถออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ แต่จะเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของ *trans*-zeatin riboside เพื่อให้สามารถสะสมหรือขนส่งไปยังส่วนต่าง ๆ ของต้นพืชได้ เมื่อขนส่งถึงบริเวณเนื้อเยื่อที่เป็นเป้าหมายแล้ว *trans*-zeatin riboside จะเปลี่ยนกลับมาอยู่ในรูปของ *trans*-zeatin อีกครั้งเพื่อให้สามารถออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ (Taiz and Zeiger, 2010) จึงจะพบไซโตไคนินในน้ำมะพร้าวอยู่ในรูปของ *trans*-zeatin riboside ได้มากที่สุด โดย *trans*-zeatin นั้นมีบทบาททางด้านงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นอย่างมาก เพราะสามารถชักนำให้แคลลัสเกิดเป็นยอดได้ นอกจากนี้ยังพบว่าหากมีการใส่สารโลวาสแตติน (lovastatin) ซึ่งเป็นสารยับยั้งการสังเคราะห์ *trans*-zeatin ลงไปในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช จะทำให้การแบ่งเซลล์ถูกยับยั้งด้วยเช่นกัน แสดงว่า *trans*-zeatin มีบทบาทสำคัญในการควบคุมวัฏจักรเซลล์พืช โดย *trans*-zeatin จะเข้าไปควบคุม วัฏจักรเซลล์ช่วงที่เปลี่ยนจาก gap 2 phase (G_2 phase) ไปสู่ระยะ mitotic phase (M phase) กล่าวคือ *trans*-zeatin จะควบคุมการแบ่งเซลล์โดยควบคุมการเข้าสู่ระยะ M phase (Laureys et al., 1998) นอกจากนี้ออร์โมนกลุ่มไซโตไคนินยังมีบทบาทอื่น ๆ อีก เช่น ควบคุมการแตกแขนงของยอดและกิ่ง

การชักนำการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ด้วยแสง การร่วงของใบ การเคลื่อนย้ายธาตุอาหาร การงอกของเมล็ด การเจริญของราก และการตอบสนองต่อความเครียดของพืช (Amasino, 2005)

3.3 จิบเบอเรลลิน เป็นกลุ่มฮอร์โมนพืชที่มีมากถึง 136 ชนิด แต่ที่พบในน้ำมะพร้าวมีเพียง 2 ชนิด คือ GA_1 และ GA_3 ซึ่งบทบาทของฮอร์โมนในกลุ่มจิบเบอเรลลินที่มีต่อพืชนั้นมีหลายด้าน เช่น การงอกของเมล็ด การยืดตัวของเซลล์ผิว การแผ่ขยายตัวของใบ พัฒนาการของดอก การกระตุ้นการทำงานของเนื้อเยื่อแคมเบียม การทำให้เนื้อเยื่อท่อลำเลียงน้ำ (xylem) และเนื้อเยื่อท่อลำเลียงอาหาร (phloem) ขยายขนาดขึ้น การยืดตัวของยอดและลำต้น นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ทางชีวภาพต่อต้านการเกิดเนื้องอก (anti-tumor bioactivities) ที่เกิดในพืชได้อีกด้วย (Chen et al., 2009)

4. วิตามิน (vitamins) ที่พบในน้ำมะพร้าวได้แก่ thiamine (B_1) riboflavin (B_2) niacin (B_3) pantothenic acid (B_5) pyridoxine (B_6) biotin หรือ วิตามินเอช (vitamin H หรือ B_7) และ folate หรือ folic acid (B_9) ซึ่งวิตามินบีทั้งหมดเป็นวิตามินที่สามารถละลายในน้ำได้ (Depeint et al., 2006) และเป็นองค์ประกอบที่จำเป็นของโคเอนไซม์ (coenzyme) เพื่อให้เอนไซม์สามารถเร่งปฏิกิริยาได้ โดยเฉพาะวิตามิน B_6 มีความสำคัญต่อเซลล์พืชในการทำงานของวัฏจักรกรดไตรคาร์บอกซิลิก (tricarboxylic acid cycle; TCA cycle) (Lieberman, Marks and Smith, 2007) วิตามิน B_9 นั้นมีความสำคัญต่อเซลล์พืชโดยการป้องกันความเป็นพิษจากเมทิลแอลกอฮอล์ (methanol) ให้กับไมโตคอนเดรีย (mitochondria) และเชื่อว่า 5-methyltetrahydrofolate ซึ่งเป็นโฟเลตที่อยู่ในรูปทำงานได้ (active form) เป็นหนึ่งในสารที่ให้หมู่เมทิลสำหรับการสังเคราะห์โปรตีนและกรดนิวคลีอิกในไมโทคอนเดรีย นอกจากนี้ในน้ำมะพร้าวยังมี ascorbic acid (vitamin C) (ตารางที่ 2.1) ซึ่งเป็นเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) อยู่อีกด้วย (Shenkin, 2006)

ปัจจุบันเครื่องดื่มน้ำผักผลไม้เป็นที่นิยมมากขึ้น เนื่องด้วยจากมีความนิยมในการดูแลและเอาใจใส่สุขภาพผ่านการกินและการดื่มมากขึ้น ผู้บริโภคจึงมีความต้องการซื้อน้ำผักผลไม้สูงขึ้น จากการสำรวจพบว่า น้ำผักผลไม้สูตรที่นิยมมากที่สุด 3 อันดับแรก คือสูตรเพื่อสุขภาพ คิดเป็น 40.14% รองลงมาคือสูตรล้างพิษ คิดเป็น 21.88% และสูตรลดน้ำหนัก คิดเป็น 16.96% ส่วนสถานที่ที่กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่เลือกซื้อผลิตภัณฑ์น้ำผักและผลไม้อินทรีย์แบบสกัดเย็นคือ ร้านขายของเพื่อสุขภาพ คิดเป็น 37.74% รองลงมาคือ delivery ส่งตรงถึงที่ทำงานหรือบ้าน คิดเป็น 35.82% และห้างสรรพสินค้า คิดเป็น 18.12% (อรุณโรจน์ เอกพณิชย์, 2558) ทำให้ตลาดในปัจจุบันมีการแข่งขันทางการค้าเกี่ยวกับน้ำผักผลไม้สูงขึ้นกว่าเดิม ทางด้านธุรกิจจึงต้องหาแนวทางเพื่อตอบสนองผู้บริโภคโดยการมีบริการหลังการขาย การเพิ่มช่องทางในการซื้อสินค้า หรือใช้ความคิดสร้างสรรค์สร้างความแปลกใหม่ให้กับผลิตภัณฑ์ เพราะในโลกของธุรกิจนั้นดำเนินไปอย่างรวดเร็ว บริษัทใดสามารถผลิตและจำหน่ายได้ก่อนจะเป็นที่รู้จักและจดจำของผู้บริโภค แล้วผลิตภัณฑ์นั้นจะได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก ทั้งยังอาจเปลี่ยนแปลงทิศทางของตลาด และอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์นั้นให้มี

มูลค่าสูงขึ้นได้ และเนื่องด้วยประเทศไทยเป็นประเทศที่มีทรัพยากรค่อนข้างอุดมสมบูรณ์ มีพืชผักและผลไม้หลากหลายชนิดที่เป็นที่รู้จักของชาวต่างชาติ เช่น มะม่วง ทุเรียน ลิ้นจี่ และมะพร้าว จึงทำให้มีผลิตภัณฑ์น้ำมะพร้าววางขายในท้องตลาดอยู่มากมาย ซึ่งน้ำมะพร้าวพร้อมดื่มบรรจุขวด ถือว่าเป็นการเปลี่ยนแปลงของอุตสาหกรรมน้ำมะพร้าว เพราะเป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถตอบโจทย์ความสะดวกสบายของผู้ที่ต้องการบริโภคน้ำมะพร้าวได้เป็นอย่างดี และผลิตภัณฑ์น้ำมะพร้าวพร้อมดื่มบรรจุขวดเหล่านี้ยังได้รับการตอบรับจากผู้บริโภคเป็นอย่างดีอีกด้วย (จิตพนธ์ ชุมเกตุ, กัญชลิกา จารุวัฒนะ และอัจฉราวรรณ รอดพ้น, 2560)

2. การใช้น้ำมะพร้าวในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การใช้น้ำมะพร้าวในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้นมีมานานแล้ว โดยเฉพาะการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและเมล็ดของกล้วยไม้ ซึ่งพบว่าน้ำมะพร้าวสามารถช่วยให้การงอกของเมล็ดกล้วยไม้หลายชนิดดีขึ้น ส่งเสริมการเกิดและเจริญเติบโตของโปรโตคอร์ม (protocorm) ได้ นอกจากนี้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปลายยอด (shoot meristem culture) ของกล้วยไม้หลายชนิด น้ำมะพร้าวมีส่วนช่วยลดอาการตาย (necrotic) ให้น้อยลงได้ (Withner, 1974) และนอกจากนี้การใช้น้ำมะพร้าวที่ความเข้มข้นต่างกันส่งผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ในแต่ละชนิดที่ต่างกันด้วย ดังเช่น การใช้น้ำมะพร้าว 5-10% (v/v) จะทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้ดิน *Habenaria dentata* (Sw.) Schltr มีความสูงมากที่สุด (สัจจพร จันทะวงษ์, 2545) การใช้น้ำมะพร้าว 10% จะช่วยส่งเสริมเมล็ดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีให้พัฒนาได้ดีขึ้น (Hegarty, 1955) การใช้น้ำมะพร้าวความเข้มข้น 15% ทำให้ตายอดและตาข้างของ Vanda Miss Jouim สามารถพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ดีมากยิ่งขึ้น (Kunisaki, Kim and Sagawa, 1972) ช่วยส่งเสริมการเกิดรากในกล้วยไม้เหลืองจันทรบูร (นายิกา สันทารุนัย, 2559) และช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและการงอกของเมล็ดกล้วยไม้เอื้องไอยเรศ (วันฟิรฮาน บินยามะ, รอยฮันหะมะ และสุภาวดี รามสูตร, 2557) และการใช้น้ำมะพร้าว 20% ช่วยให้ต้นอ่อนของกล้วยไม้ดิน *H. dentata* (Sw.) Schltr มีน้ำหนักสดมากที่สุด (สัจจพร จันทะวงษ์, 2545) แม้ว่าน้ำมะพร้าวจะสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ได้กลับมีรายงานพบว่าการใช้น้ำมะพร้าว 0-45% ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลหวายจะไปยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นอ่อนแต่ไม่มีผลต่อการงอก และหากนำน้ำมะพร้าวมาใช้กับกล้วยไม้หวายที่มีอายุ 1 ปี น้ำมะพร้าวจะสามารถช่วยเร่งการเจริญเติบโตของกล้วยไม้หวายให้เร็วขึ้นได้ (Kotomori and Murashige, 1965)

นอกจากการใช้น้ำมะพร้าวในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้แล้วยังมีพืชชนิดอื่นที่น้ำมะพร้าวสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตได้อีก เช่น การเติม 6-benzylaminopurine (BA) ความเข้มข้น 5 mg/l ร่วมกับน้ำมะพร้าวความเข้มข้น 100 ml/l หรือ วิตามินซีความเข้มข้น 50 mg/l ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS สามารถทำให้เนื้อเยื่อปลายยอดของกล้วยหอมสายพันธุ์คาเวนดิชต้นเตี้ยพัฒนาเป็นยอดใหม่ได้มากที่สุด (Mondal et al., 2012) การเติมน้ำมะพร้าวความเข้มข้น 15% ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.5 mg/l ลงในอาหารเพาะเลี้ยงสามารถชักนำให้กล้วยเล็บมือนางสายพันธุ์ที่ลำต้นมีสี

เขียวปนม่วงและผลไม่มีขนเกิดหน่อได้ (วัชรินทร์ รัตนพันธ์ และ นุจรินทร์ หญีตจันทร์, 2559) การเติมน้ำมะพร้าวความเข้มข้น 15% ลงในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS สามารถชักนำเนื้อเยื่อปลายยอดของกล้วยน้ำว้าพันธุ์มะลิอ่องให้เกิดยอดใหม่ได้ (นิดาพร สุธัญญรัตน์, สุพรรนี อะโอกิ และขวัญเดือน รัตนา, 2559) และการเติมที่เติมน้ำมะพร้าวความเข้มข้น 15% ลงในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS สามารถชักนำตาจากหัวของต้นแก่นตะวันให้เกิดเป็นต้นและรากได้ (สุมนา นีระ และคณะ, 2557)

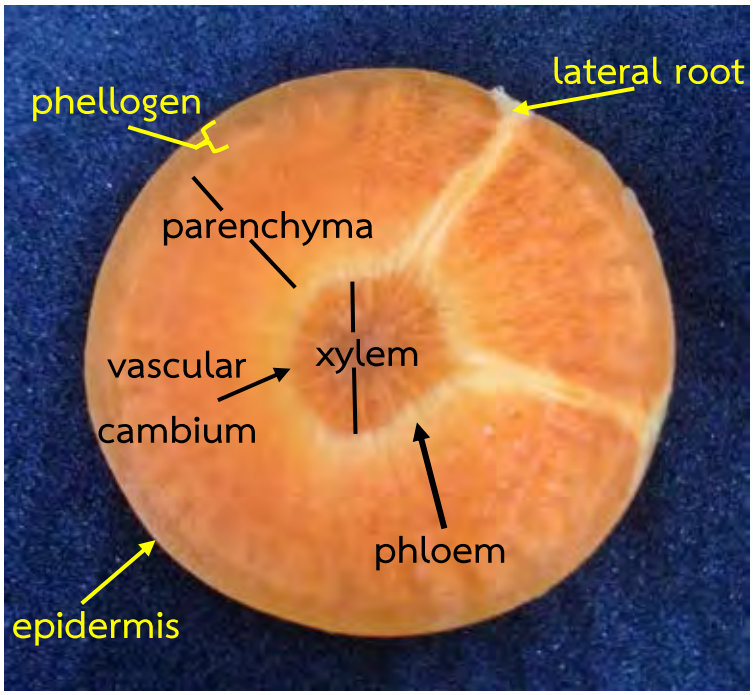
การทดลองของ Caplin และ Stewart ในปี ค.ศ. 1948 พบว่าการเพาะเลี้ยงแคลลัสโดยใช้น้ำมะพร้าวที่ความเข้มข้นประมาณ 15-20% (v/v) ผสมลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีธาตุอาหารอื่น ๆ อยู่ด้วย จะช่วยให้ชิ้นส่วนจากรากแคร์รอตที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุด แต่หากใช้ความเข้มข้นของน้ำมะพร้าวสูงกว่า 15-20% (v/v) พบว่าการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนจากรากแคร์รอตจะลดลง และจะไม่มีการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนจากรากแคร์รอตถ้าในอาหารเพาะเลี้ยงมีน้ำมะพร้าวเพียงอย่างเดียว นอกจากนี้เมื่อนำชิ้นเนื้อเยื่อลำเลียงอาหารทุติยภูมิ (secondary phloem) ที่ห่างจากแนวแคมเบียม 1 mm ในรากแคร์รอตมาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตรของ White (1934) ที่แบ่งออกเป็น 3 ชุด ได้แก่ ชุดที่ 1 อาหารเพาะเลี้ยงไม่เติม IAA และน้ำมะพร้าว ชุดที่ 2 อาหารเพาะเลี้ยงที่เติม IAA ความเข้มข้น 0.01 0.1 1.0 และ 10.0 mg/l ชุดที่ 3 อาหารเพาะเลี้ยงที่เติม IAA ความเข้มข้น 0.01 0.1 1.0 และ 10.0 mg/l ร่วมกับน้ำมะพร้าวความเข้มข้น 15% (v/v) รวมทั้งสิ้น 9 สูตร หลังเพาะเลี้ยงนาน 21 วันพบว่าชิ้นแคร์รอตที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงชุดที่ 1 และชุดที่ 2 ไม่มีการเจริญเติบโตโดยการสร้างแคลลัส แต่ในอาหารชุดที่ 3 กลับมีการเจริญเติบโตโดยการเกิดแคลลัสบนชิ้นส่วนเดิมอย่างเห็นได้ชัด แสดงว่าน้ำมะพร้าวมีผลต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสบนชิ้นเนื้อเยื่อลำเลียงอาหารทุติยภูมิที่ตัดมาจากรากแคร์รอตได้

3. แคร์รอต

วงศ์ผักชี (Apiaceae) เป็นวงศ์พืชดอกที่มีจำนวนสกุลมากถึง 300 สกุล และมีจำนวนชนิดมากถึง 2500-3000 ชนิด โดยส่วนใหญ่จะเป็นพืชล้มลุกที่อยู่ในเขตอบอุ่น มีลักษณะเด่นคือช่อดอกจะคล้ายรูปร่ม (umbrella-like inflorescence) ซึ่งแคร์รอต (*Daucus carota* L.) เป็นหนึ่งในสมาชิกที่สำคัญของพืชวงศ์นี้ มีลักษณะที่เด่นชัดคือมีรากแก้วที่เป็นรากสะสมอาหารขนาดใหญ่ เพื่อใช้สำหรับการเจริญเติบโตเป็นต้นและใบใหม่ในฤดูถัดไป ด้วยเหตุนี้มนุษย์จึงเพาะปลูกแคร์รอตเพื่อนำส่วนของรากแก้วมาบริโภคเป็นอาหาร อีกทั้งในสมัยกรีกและโรมันแคร์รอตยังถูกใช้เป็นยารักษาโรคอีกด้วย (Kochhar, 1998) เพราะในรากสะสมอาหารของแคร์รอตมีสาร β-carotene สูง ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) และเป็นสารตั้งต้นในการเปลี่ยนเป็นวิตามิน A (provitamin A)

แคร์รอตเป็นหนึ่งในพืชที่ถูกใช้ในการศึกษา และการทดลองทางด้านเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอีกชนิดหนึ่ง เนื่องจากแทบทุกส่วนของต้นแคร์รอตสามารถนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแล้วมีชีวิตรอดได้ เพราะว่าเซลล์ในอวัยวะ (organs) หลายส่วนของต้นแคร์รอตมีความสามารถในการเจริญใหม่ได้ (totipotency) (Pant and Manandhar, 2007) เช่น ใบ เมล็ด ลำต้น ข้อ ตายอด และรากสะสม

อาหาร เป็นต้น โดยเฉพาะรากสะสมอาหารที่มีเนื้อเยื่อเจริญแคมเบียมอยู่เป็นวงรอบคั่นระหว่างเนื้อเยื่อลำเลียงน้ำและเนื้อเยื่อลำเลียงอาหาร (ภาพที่ 2.1) ซึ่งสามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า จึงสามารถตัดส่วนที่มีเนื้อเยื่อเจริญมาใช้ศึกษาได้ง่าย อีกทั้งสามารถฆ่าเชื้อที่ผิวนอกได้ง่าย แต่การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากรากแคร์รอตนั้นมักจะให้ผลผลิตเป็นแคลลัสซึ่งเป็นกลุ่มของเซลล์ที่ยังไม่พัฒนาไปทำหน้าที่เฉพาะ และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากชิ้นส่วนแคร์รอตนั้นเป็นที่ทราบกันดีว่าให้ผลตอบสนองที่ดีและรวดเร็วกว่าพืชชนิดอื่น ๆ อีกหลายชนิด ด้วยเหตุนี้แคร์รอตจึงเป็นพืชที่สะดวกต่อการใช้ศึกษาในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชตั้งแต่สมัยยุคแรก ๆ ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เช่นในปี ค.ศ. 1939 Gautheret ได้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแคมเบียมจากรากแคร์รอตและสามารถเพิ่มจำนวนเซลล์ผ่านการเกิดแคลลัสได้เป็นครั้งแรก ต่อมาในปี ค.ศ. 1952 Steward, Caplin และ Millar พบว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากรากแคร์รอตเป็นระยะเวลา 20 วัน ในอาหารเหลวสูตรของ White ที่เติมน้ำมะพร้าว ให้ผลการเจริญเติบโตที่ดีกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง และการเพาะเลี้ยงในที่มืดและที่สว่างส่งผลต่อการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกัน และในปัจจุบันอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากชิ้นส่วนของรากแคร์รอตส่วนใหญ่จะถูกปรับจากสูตรของ White เป็นอาหารสูตร MS แทบทั้งสิ้น ดังเช่นการศึกษาปฏิบัติการเบื้องต้นในการเพาะเลี้ยงแคลลัสจากเมล็ดและรากแคร์รอตในหนังสือ Plant tissue culture techniques and experiments (Smith, 2013) และการศึกษาหาความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (plant growth regulators) ที่เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากส่วนต่าง ๆ ของต้นแคร์รอต (Pant and Manandhar, 2007) เป็นต้น



ภาพที่ 2.1 รากแคร์รอตตัดขวางที่สามารถเห็นแนวของแคมเบียมเป็นวงคั่นแบ่งเนื้อเยื่อลำเลียงน้ำกับเนื้อเยื่อลำเลียงอาหารไว้ ซึ่งจะมีเซลล์เจริญที่มี totipotency สูงอยู่ในแนวแคมเบียมนี้

ตารางที่ 2.1 สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมะพร้าว ดัดแปลงจาก Yong และคณะ (2009)

Source of information	Arditti (2008)	United States Department of Agriculture (USDA) (2018)	Tulecke et al. (1961)				Santoso et al. (1996)	
Coconut type		**young**	**young green**	**mature green**	**mature**	**mature (autoclaved)**	**young**	**mature**
Average weight of coconut (g)	-	206 (water)	-	-	-	-	565	393
Age of coconut	-	-	-	-	-	-	6 months	12 months
Source of coconut	-	-	Deerfield Beach, FL		Dominican Republic		-	-
Proximates		*(g/100 g)*					*(g/100 g)*	
Water	-	94.99	-	-	-	-	94.18	94.45
Dry	-	5.01	-	-	-	-	5.82	5.55
Energy value	-	19 kcal (79 kJ)	-	-	-	-	-	-
Protein	-	0.72	-	-	-	-	0.12	0.52
Total lipid (fat)	-	0.2	-	-	-	-	0.07	0.15
Ash	-	0.39	-	-	-	-	0.87	0.47
Carbohydrate, by difference	-	3.71	-	-	-	-	4.76	4.41
Fiber, total dietary	-	1.1	-	-	-	-	ND*	ND*
Sugars	*(mg/mL)*	*(g/100 g)*	*(mg/mL)*				*(g/100 g)*	
Total	-	2.61	9.16	21.68	13.87	15.20	5.23	3.42
Sucrose	9.18	-	0.93	9.18	8.90	10.70	0.06	0.51
Glucose	7.25	-	3.93	7.25	2.46	2.02	2.61	1.48
Fructose	5.25	-	4.30	5.25	2.51	2.48	2.55	1.43

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

Source of information	Arditti (2008)	USDA (2018)	Tulecke et al. (1961)				Santoso et al. (1996)	
Coconut type		young	young green	mature green	mature	mature (autoclaved)	young	mature
Sugar alcohols	Present[a]	-	-	*(mg/L)*	-	-	-	-
Mannitol	0.8	-	-	0.80	-	-	-	-
Sorbitol	15[c]	-	-	15.00	-	-	-	-
Myo-inositol	0.01	-	-	0.01	-	-	-	-
Scyllo-inositol	0.05	-	-	0.05	-	-	-	-
Inorganic ions	*(mg/100 g)*	*(mg/100 g)*		*(mg/100 g)*			*(mg/100 g)*	
Calcium (Ca)	-	24	-	-	-	-	27.35	31.64
Iron (Fe)	0.01	0.29	-	0.01	-	-	0.02	0.02
Magnesium (Mg)	30	25	-	30	-	-	6.40	9.44
Phosphorus (P)	37	20	-	37	-	-	4.66	12.77
Potassium (K)	312	250	-	312	-	-	203.70	257.52
Sodium (Na)	105	105	-	105	-	-	1.75	16.10
Zinc (Zn)		0.1	-	-	-	-	0.07	0.02
Copper (Cu)	0.04	0.04	-	0.04	-	-	0.01	0.03
Manganese (Mn)	-	0.142	-	-	-	-	0.12	0.08
Selenium (Se)	-	0.001	-	-	-	-	-	-
Chlorine (Cl)	183	-	-	183	-	-	-	-
Sulfur (S)	24	-	-	24	-	-	0.58	-
Aluminium (Al)	-	-	-	-	-	-	0.07	0.06
Boron (B)	-	-	-	-	-	-	0.05	0.08

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

Source of information	Arditti (2008)	USDA (2018)	Tulecke et al. (1961)				Santoso et al. (1996)	
Coconut type		young	young green	mature green	mature	mature (autoclaved)	young	mature
Vitamins	*(mg/mL)*	*(mg/100 g)*		*(mg/mL)*			*(mg/100 dm^3)*	
Vitamin C, total ascorbic acid	-	2.4	-	-	-	-	7.41	7.08
Thiamine (B_1)	-	0.03	-	Trace	-	-	Trace	0.01
Riboflavin (B_2)	-	0.057	-	0.01	-	-	0.01	0.01
Niacin (B_3)	-	0.08	-	0.64	-	-	ND*	ND*
Pantothenic acid (B_5)	0.52	0.043	-	0.52	-	-	-	-
Pyridoxine (B_6)	-	0.032	-	Trace	-	-	ND*	ND*
Folate, total	-	0.03	-	-	-	-	-	-
Folic acid	0.003	0	-	0.003	-	-	-	-
Folate, food	-	0.003	-	-	-	-	-	-
Folate, dietary folate equivalent (DFE)	-	3 (µg DFE)	-	-	-	-	-	-
Biotin	0.02	-	-	0.02	-	-	-	-
Nicotinic acid (niacin)	0.64	-	-	0.64	-	-	-	-

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

Source of information	Arditti (2008)	USDA (2018)	Tulecke et al. (1961)				Santoso et al. (1996)	
Coconut type		young	young green	mature green	mature	mature (autoclaved)	young	mature
Lipids		*(g/100 g)*					*(g/100 g)*	
Total	-	0.2	-	-	-	-	0.0733	0.1482
Fatty acids, total saturated	-	0.176	-	-	-	-	0.03	0.1
6:00	-	0.001	-	-	-	-	-	-
8:00	-	0.014	-	-	-	-	ND*	ND*
10:00	-	0.011	-	-	-	-	0.0007	0.0028
12:00	-	0.088	-	-	-	-	0.0020	0.0274
14:00	-	0.035	-	-	-	-	0.0023	0.0190
16:00	-	0.017	-	-	-	-	0.0219	0.032
17:00	-	-	-	-	-	-	0.0009	0.0016
18:00	-	0.01	-	-	-	-	0.0039	0.0108
20:00	-	-	-	-	-	-	0.0016	0.0033
Fatty acids, total monounsaturated	-	0.008	-	-	-	-	0.03	0.02
16:1 Undifferentiated	-	0	-	-	-	-	0.0011	0.0007
18:1 Undifferentiated	-	0.008	-	-	-	-	0.0194	0.015
20:1 Undifferentiated	-	-	-	-	-	-	0.0049	0.0019
22:1 Undifferentiated	-	-	-	-	-	-	0.0011	0.0023
Fatty acids, total polyunsaturated	-	0.002	-	-	-	-	0.0128	0.0054
18:2 *n-6* Undifferentiated	-	0.002	-	-	-	-	0.0114	0.0032
20:4 *n-6*	-	-	-	-	-	-	0.0014	0.0022

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

Source of information	Arditti (2008)	USDA (2018)	Tulecke et al. (1961)				Santoso et al. (1996)	
Coconut type		young	young green	mature green	mature	mature (autoclaved)	young	mature
Amino acids	*(μg/mL)*	*(g/100 g)*	*(μg/mL)*				*(mg/g defatted sample)*	
Alanine	312	0.037	16.40	127.30	177.10	198.00	1.13	3.88
β-Alanine	12	-	-	-	-	-	-	-
γ-Aminobutyric	820	-	1.90	34.60	168.80	173.20	-	-
Arginine	133	0.118	14.70	25.60	16.80	20.70	0.13	0.81
Asparagine and glutamine	*ca.* 60	-	-	-	-	-	-	-
Aspartic acid	65	0.07	11.30	35.90	5.40	11.40	1.60	0.76
Asparagine	-	-	17.10	10.10	10.40	25.30	-	-
Cysteine	0.97-1.17[b]	0.014	-	-	-	-	0	0
Glutamic acid	240	0.165	9.40	70.80	78.70	104.90	3.44	3.75
Glutamine	-	-	80.00	45.40	13.40	2.00	-	-
Glycine	13.9	0.034	1.30	9.70	13.90	18.00	0.43	0.11
Homoserine	5.2	-	ND*	ND*	5.20	8.80	-	-
Histidine	Trace[a]	0.017	3.50	6.30	Trace[a]	Trace[a]	0.39	0.67
Isoleucine	18	0.028	-	-	-	-	0.26	0.27
Leucine	22	0.053	6.20	37.30	31.70	33.00	0.66	0.58
Lysine	150	0.032	4.40	21.40	22.50	13.00	4.72	3.41
Methionine	8	0.013	3.50	16.90	Trace[a]	Trace[a]	0.22	0.21
Ornithine	22	-	-	-	-	-	-	-
Phenylalanine	12	0.037	ND*	ND*	10.20	Trace[a]	0.26	0

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

Source of information	Arditti (2008)	USDA (2018)	Tulecke et al. (1961)				Santoso et al. (1996)	
Coconut type		young	young green	mature green	mature	mature (autoclaved)	young	mature
Amino acids	*(µg/mL)*	*(g/100 g)*	*(µg/mL)*				*(mg/g defatted sample)*	
Pipecolic acid	Present[a]	Trace[a]	-	-	-	-	-	-
Proline	97	0.03	4.10	31.90	21.60	12.90	0.52	0.95
Serine	111	0.037	7.30	45.30	65.80	85.00	0.64	1.06
Tyrosine	16	0.022	0.90	6.40	3.10	Trace[a]	0	0
Tryptophan	39	0.008	-	-	-	-	0	0
Threonine	44	0.026	2.90	16.20	26.30	27.40	0.20	0.33
Valine	27	0.044	5.60	20.60	15.10	15.50	0.91	082
Dihydroxyphenylaline	Present[a]	-	-	-	-	-	-	-
Hydroxyproline	Trace[a]	-	Trace[a]	4.10	Trace[a]	8.20	-	-
Nitrogenous compounds	*(µmol/mL)*	-	-	-	-	-	-	-
Ethanolamine	0.01	-	-	-	-	-	-	-
Ammonia	Present[a]	-	-	-	-	-	-	-

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

Source of information	Arditti (2008)	USDA (2018)	Tulecke et al. (1961)				Santoso et al. (1996)	
Coconut type		young	young green	mature green	mature	mature (autoclaved)	young	mature
Organic acids	*(meq/mL)*				*(meq/mL)*		*(meq/mL)*	
Tartaric	-	-	-	-	-	-	1.6	2.4
Malic	34.31	-	9.36	34.31	11.98	14.08	317	307
Citric	0.37	-		0.37	0.31	0.38	ND*	24.8
Acetic	-	-	-	-	-	-	ND*	1.3
Pyridoline	0.39 (mg/mL)	-	0.43	0.39	0.18	0.27	-	-
Succinic	-	-	-	-	0.28	0.18	-	-
Shikimic and quinic acids, etc.	0.57	-	-	-	-	-	-	-
Enzymes								
Acid phosphatase	Present[a]	-	-	-	-	-	-	-
Catalase	Present[a]	-	-	-	-	-	-	-
Dehydrogenase	Present[a]	-	-	-	-	-	-	-
Diastase	Present[a]	-	-	-	-	-	-	-
Peroxidase	Present[a]	-	-	-	-	-	-	-
RNA polymerase	Present[a]	-	-	-	-	-	-	-

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

Source of information	Arditti (2008)	USDA (2018)	Tulecke et al. (1961)				Santoso et al. (1996)	
Coconut type		young	young green	mature green	mature	mature (autoclaved)	young	mature
Miscellaneous								
Leucoanthocyanin	Present[a]	-	-	-	-	-	-	-
Phyllococosine	Present[a]	-	-	-	-	-	-	-
Chemical properties	-	-	-	-	-	-	-	-
pH	-	-	4.6 to 5.6	-	-	-	4.7±0.1	5.2±0.1

* ND = ไม่สามารถตรวจพบได้ [a] = ไม่ได้กำหนดหน่วย [b] = หน่วยเป็น g/100 g ของโปรตีนแห้ง [c] = หน่วยเป็น mg/mL

ตารางที่ 2.2 ฮอร์โมนพืชที่พบและสามารถระบุชนิดได้ในน้ำมะพร้าว
ดัดแปลงจาก Yong และคณะ (2009)

Source of information	Ge et al. (2006), Ge et al. (2007) and Ma et al. (2008)	Wu and Hu (2009)
Coconut type	**young green** *(nM)*	**mature*** *(μg/mL)*
Auxin		
Indole-3-acetic acid	150.6	0.25±0.03 0.75±0.04 1.46±0.13 0.71±0.12 0.78±0.10
Cytokinins		
N^6-Isopentenyladenine	0.26	-
Dihydrozeatin	0.14	-
trans-Zeatin	0.09	-
Kinetin	0.31	-
ortho-Toponin	3.29	-
Dihydrozeatin *O*-glucoside	46.6	-
trans-Zeatin *O*-glucoside	48.7	-
trans-Zeatin riboside	76.2	-
Kinetin riboside	0.33	-
trans-Zeatin riboside-5'-Monophosphate	10.2	-
Gibberellins		
Gibberellin 1	16.7	-
Gibberellin 3	37.8	-
Abscisic acid	65.5	0.010±0.002 ND* 0.023±0.002 0.061±0.019 0.071±0.018

ตารางที่ 2.2 (ต่อ)

Source of information	Ge et al. (2006) Ge et al. (2007) and Ma et al. (2008)	Wu and Hu (2009)
Coconut type	young green *(nM)*	mature* *(μg/mL)*
Salicylic acid	-	1.01±0.10
	-	0.67±0.04
	-	1.03±0.12
	-	1.79±0.21
	-	1.22±0.07

* วิเคราะห์ข้อมูลจากตัวอย่างน้ำมะพร้าว 5 ตัวอย่าง, ND = ไม่สามารถตรวจพบได้

บทที่ 3
วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการทดลอง

1. วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี

1.1 พืชทดลอง รากแคร์รอต (*Daucus. carota* L.)

1.2 สารที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตร MS

ธาตุอาหารหลัก (macronutrients; stock solution I) ได้แก่

- NH_4NO_3
- $MgSO_4 \cdot 7H_2O$
- KNO_3
- $CaCl_2 \cdot 2H_2O$
- KH_2PO_4

ธาตุอาหารรอง (micronutrients; stock solution II) ได้แก่

- $MnSO_4 \cdot 4H_2O$
- KI
- H_3BO_3
- $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$
- $CuSO_4 \cdot 5H_2O$
- $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$
- $CoCl_2 \cdot 6H_2O$

ธาตุเหล็ก (Fe-EDTA; stock solution III) ได้แก่

- $FeSO_4 \cdot 7H_2O$
- Na_2EDTA

กรดอะมิโน และวิตามิน (amino acids and vitamins; stock solution IV) ได้แก่

- nicotinic acid
- pyridoxin-HCl
- thiamine-HCl
- *myo*-inositol
- glycine

แหล่งพลังงาน (carbon source) คือ น้ำตาลทราย (sucrose)

สารปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ได้แก่

- 1 N sodium hydroxide (NaOH)
- 1 N hydrochloric acid (HCl)

สารอินทรีย์อื่นที่เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยง ได้แก่

- indole-3-acetic acid (IAA)
- น้ำมะพร้าวสด (CW) ที่เก็บเกี่ยวผลมะพร้าวต่างกัน 4 รอบ
- น้ำมะพร้าวยูเอชทียี่ห้อที่ 1 (UHT_1) ที่มีรอบการผลิตแตกต่างกัน 4 รอบการผลิต
- น้ำมะพร้าวยูเอชทียี่ห้อที่ 2 (UHT_2) ที่มีรอบการผลิตแตกต่างกัน 4 รอบการผลิต
- น้ำมะพร้าวยูเอชทียี่ห้อที่ 3 (UHT_3) ที่มีรอบการผลิตแตกต่างกัน 4 รอบการผลิต
- ผงวุ้น agar-agar

1.3 สารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ ได้แก่

- sodium hypochlorite (Haiter®) บริษัท คาโอ อินดัสเตรียล จำกัด ประเทศไทย
- tween-20

1.4 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมฮอร์โมน IAA คือ 95% ethyl alcohol

1.5 วัสดุ อุปกรณ์ในห้องเตรียมอาหาร (preparation room) ได้แก่

- เครื่องชั่งละเอียด (analytical balance) แบบทศนิยมสองและสี่ตำแหน่ง
- ช้อนตักสาร (spatula)
- เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (Mettler-Toledo; SevenCompact pH/lon meter S220)
- เครื่องกวนสารละลาย (magnetic stirrer)
- เตาไมโครเวฟ (microwave oven)
- ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
- ตู้เย็น (refrigerator)
- หม้อนึ่งความดัน (autoclave)
- มีด (knife)
- เขียง (chopping board)
- ไมโครปิเปตต์ (micropipette)
- หลอดไมโครเซ็นตริฟิวก์ (microcentrifuge tube)
- กระบอกฉีดยา (syringe) ขนาด 20 ml
- อะลูมินัมฟอยล์ (aluminum foil)
- เครื่องแก้วต่าง ๆ เช่น ขวดบรรจุสารละลายแบบฝาเกลียว (laboratory bottle) ปิเปตต์แก้ว (glass pipette) หลอดหยด (dropper) บีกเกอร์ (beaker) กระบอกตวง (cylinder) ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) แท่งแก้วคนสาร (stirring rod) และขวดแก้วฝาเกลียวขนาด 2 และ 8 ออนซ์ พร้อมฝาปิด

1.6 วัสดุ อุปกรณ์ในห้องย้ายเนื้อเยื่อ (transfer room) ได้แก่

- ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air-flow cabinet)
- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
- มีดผ่าตัด (scalpel)
- ปากคีบ (forceps)
- ไฟแช็ค (lighter)
- ตะแกรงใส่หลอดทดลอง (rack)
- ที่เจาะจุกคอร์ก (cork borer) ขนาด 10 mm
- บีกเกอร์สำหรับเทน้ำฟอกฆ่าเชื้อทิ้ง
- กระบอกฉีดน้ำ (spray bottle)
- ขวดสำหรับบรรจุ 95% ethyl alcohol
- ผ้าที่นึ่งฆ่าเชื้อ

1.7 วัสดุ อุปกรณ์ในห้องเพาะเลี้ยง (culture room) ได้แก่

- ชั้นวางสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช
- กระดาษแข็งแบบทึบแสง
- เทปกาว
- เครื่องปรับอากาศ
- เครื่องตั้งเวลา (timer)
- เครื่องเขย่าแบบแนวราบ (orbital shaker)

1.8 วัสดุ อุปกรณ์ในการวิเคราะห์ผล

- เครื่องชั่งละเอียด แบบทศนิยมสี่ตำแหน่ง
- กระดาษ เครื่องเขียน และอุปกรณ์สำนักงานต่าง ๆ
- เครื่องพิมพ์เอกสาร (printer)
- กล่องสำหรับถ่ายรูปสินค้า (studio box)
- เครื่องคอมพิวเตอร์พร้อมโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ (SPSS Statistics 23) และโปรแกรม Microsoft Office 365

2. วิธีการทดลอง

ตอนที่ 1 ความสม่ำเสมอในการตัดชิ้นตัวอย่างแคร์รอต

รากแคร์รอตที่ใช้ศึกษาในโครงงานนี้ซื้อมาจากห้างสรรพสินค้าทั่วไปจึงต้องคัดเลือกรากแคร์รอตที่สมบูรณ์ไม่มีลักษณะของการเป็นโรค ไม่มีบาดแผล มา 3 หัว

ล้างรากแคร์รอตทั้ง 3 หัว ด้วยน้ำยาล้างจานกระทั่งสะอาด ปอกเปลือกออกให้หมดแล้วล้างด้วยน้ำประปาอีกครั้ง จากนั้นหั่นให้ได้หัวละ 3 ท่อน (ส่วนบน กลาง และปลายของรากแคร์รอต) ท่อนละ 3-4 นิ้ว แล้ววางลงบนจานเพาะเชื้อ ใช้มีดเฉือนให้ท่อนของรากแคร์รอตมีความหนาพอเหมาะแล้วใช้ที่เจาะจุกคอร์กกดลงบนท่อนของรากแคร์รอตให้คร่อมแนวเนื้อเยื่อแคมเบียมของรากแคร์รอต จากนั้นใช้แท่งแก้วคนสารดันชิ้นตัวอย่าง (explant) ให้ออกจากที่เจาะจุกคอร์ก ตัดแต่งชิ้นตัวอย่างให้มีความหนา 1.0±0.2 cm ซึ่งดัดแปลงมาจาก Caplin และ Steward (1948) โดยตัดชิ้นตัวอย่างแคร์รอตให้ได้ 15 ชิ้น/หัว (ซ้ำ) แล้วนำชิ้นตัวอย่างแคร์รอตทั้งหมดไปชั่งน้ำหนักสด

ตอนที่ 2 การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS (MS media)

การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเริ่มจากการคำนวณหาปริมาณสารที่ต้องตวงใส่ในอาหารเพาะเลี้ยงก่อน โดยในหนึ่งการทดลองนั้นจะมีอยู่ 10 ชุดการทดลอง (treatments) ที่มีอาหารสูตร MS เป็นอาหารสูตรพื้นฐาน มีน้ำตาลซูโครส 3.0% (w/v) และมีผงวุ้น 0.7% (w/v) เหมือนกัน แต่แตกต่างกันที่แต่ละชุดการทดลองจะมีสารอินทรีย์อื่นที่เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงไม่เท่ากัน ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 (MS_1): อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต

ชุดการทดลองที่ 2 (MS_2): อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติม IAA 1.00 ppm (Caplin and Steward, 1948)

ชุดการทดลองที่ 3 (MS_3): อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติม CW 15% (v/v)

ชุดการทดลองที่ 4 (MS_4): อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติม UHT_1 15% (v/v)

ชุดการทดลองที่ 5 (MS_5): อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติม UHT_2 15% (v/v)

ชุดการทดลองที่ 6 (MS_6): อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติม UHT_3 15% (v/v)

ชุดการทดลองที่ 7 (MS_7): อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติม CW 15% (v/v) และ IAA 1.00 ppm

ชุดการทดลองที่ 8 (MS_8): อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติม UHT_1 15% (v/v) และ IAA 1.00 ppm

ชุดการทดลองที่ 9 (MS_9): อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติม UHT_2 15% (v/v) และ IAA 1.00 ppm

ชุดการทดลองที่ 10 (MS_{10}): อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติม UHT_3 15% (v/v) และ IAA 1.00 ppm

องค์ประกอบต่าง ๆ ของอาหารเพาะเลี้ยงแต่ละสูตรจะแสดงดังตารางที่ 3.1 และปรับค่า pH อาหารเพาะเลี้ยงให้เป็น 5.80±0.02 ด้วย 1 N NaOH และ 1 N HCl แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 lb/in^2 นาน 15 นาที ซึ่งการทดลองทุกชุดจะมีจำนวนซ้ำ (replicate) อยู่ไม่น้อยกว่า 6 ซ้ำ

ตอนที่ 3 การเตรียมตัวอย่างรากแคร์รอตเพื่อศึกษาการตอบสนองของแคร์รอตต่ออาหารแต่ละสูตร

ตอนที่ 3 ได้คัดเลือกรากแคร์รอตเช่นเดียวกับ ตอนที่ 1

รากแคร์รอตจะถูกล้างด้วยน้ำยาล้างจานกระทั่งสะอาด ปอกเปลือกออกให้หมดแล้วล้างด้วยน้ำประปาอีกครั้งหนึ่ง จากนั้นหั่นให้เป็นท่อนขนาดประมาณ 3-4 นิ้ว ใส่ลงไปในขวดแก้วฝาเกลียวขนาด 8 ออนซ์ เทสารละลาย 30% Haiter® ที่เติม tween-20 2-3 หยด/100 ml ลงในขวดจนท่วมท่อนของรากแคร์รอต ปิดฝาขวด แล้วย้ายขวดทั้งหมดมาไว้ในตู้ปลอดเชื้อ เขย่าขวดเป็นครั้งคราวจนครบ 20 นาที จากนั้นใช้วิธีปลอดเชื้อ (aseptic technique) รินสารละลายในขวดทิ้ง เทน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วลงไปให้ท่วมท่อนของรากแคร์รอตแทน ปิดฝาขวด แล้วเขย่าด้วยมือเป็นระยะ ๆ รินน้ำกลั่นในขวดทิ้ง แล้วเทน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วลงไปใหม่อีกครั้ง ทำเช่นนี้จนครบ 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที จากนั้นนำท่อนของรากแคร์รอตออกจากขวดมาวางลงบนจานเพาะเชื้อ ใช้มีดเฉือนเนื้อเยื่อที่ตายแล้วออกไป หั่นให้ท่อนของรากแคร์รอตมีความหนาพอเหมาะแล้วใช้ที่เจาะจุกคอร์ก กดลงบนท่อนของรากแคร์รอตให้คร่อมแนวเนื้อเยื่อแคมเบียมของรากแคร์รอต จากนั้นใช้แท่งแก้วคนสารดันชิ้นตัวอย่าง (explant) ออกมาจากที่เจาะจุกคอร์ก ตัดแต่งชิ้นตัวอย่างมีความหนา 1.0±0.2 cm โดยดัดแปลงจาก Caplin และ Steward (1948) ให้นำชิ้นตัวอย่างแคร์รอตวางลงบนอาหารเพาะเลี้ยงที่เตรียมไว้ในตอนที่ 2 ขวดละ 1 ชิ้น จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยง ที่มีอุณหภูมิ 25±2 °C ในที่มืดตลอด 24 ชั่วโมง โดยใช้กระดาษแข็งแบบทึบแสงปิดรอบชั้นเพาะเลี้ยง

ตอนที่ 4 การออกแบบการทดลอง และการบันทึกผล และการวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ทางสถิติตอนที่ 1 ใช้วิธีการทางสถิติคือ Analysis of Variance (ANOVA) โดยเปรียบเทียบน้ำหนักสดของชิ้นตัวอย่างแคร์รอต 3 หัว หัวละ 15 ซ้ำ เพื่อหาความสม่ำเสมอในการตัดชิ้นตัวอย่างแคร์รอต

ตอนที่ 2 เป็นต้นมา ตำแหน่งการวางขวดที่มีชิ้นตัวอย่างแคร์รอตอยู่ภายในจะหยิบวางอย่างสุ่มโดยใช้แผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ไว้บนชั้นวางชั้นเดียวกันทุกขวด แล้วเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 7 สัปดาห์ (49 วัน) โดยระหว่างนี้ให้สังเกตการเปลี่ยนแปลงของชิ้นตัวอย่างแคร์รอต และบันทึกระยะเวลาที่ชิ้นตัวอย่างแคร์รอตเริ่มเกิดแคลลัส กระทั่งวันที่ 50 ให้บันทึกผลทั้ง 10 ชุดการทดลอง โดยจะนับชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัสในแต่ละชุดการทดลองเพื่อหาร้อยละชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัส (สมการที่ 1)

$$\text{ชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัส (\%)} = \frac{\text{จำนวนชิ้นตัวอย่างที่เกิดแคลลัส } \mathbf{x\ 100}}{\text{จำนวนชิ้นตัวอย่างที่เพาะเลี้ยงทั้งหมด}} \quad \text{.....สมการที่ 1}$$

จากนั้นชั่งน้ำหนักสดของชิ้นตัวอย่างแคร์รอตและแคลลัสด้วยเครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยมสี่ตำแหน่ง แล้วนำไปอบให้แห้งในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 60 °C นาน 5 วัน แล้วชั่งน้ำหนักอีกครั้งหนึ่ง โดยจะนำเฉพาะข้อมูลที่เกิดแคลลัสมาหาค่าเฉลี่ย (สมการที่ 2) ยกเว้นกรณีชุดการทดลองที่ทุกชิ้นตัวอย่างแคร์รอตไม่เกิดแคลลัสจะรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของชิ้นตัวอย่างเพียงอย่างเดียว ทำการทดลองดังเดิมตั้งแต่ตอนที่ 2 เป็นต้นมาอีก 3 ครั้ง รวมทั้งหมด 4 ครั้ง โดยแต่ละครั้งจะใช้น้ำมะพร้าวยูเอชทีที่มีรอบการผลิตแตกต่างกัน

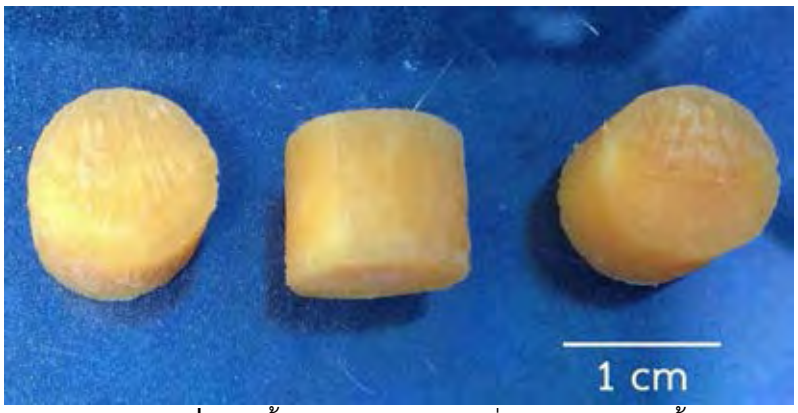
$$\text{ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด หรือน้ำหนักแห้ง (g)} = \frac{\text{ผลรวมน้ำหนักสด หรือน้ำหนักแห้งของชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัส}}{\text{จำนวนชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัส}} \quad \text{.....สมการที่ 2}$$

นำเฉพาะค่าน้ำหนักที่เกิดแคลลัสในการทดลองแต่ละครั้งมาคำนวณด้วยโปรแกรม SPSS 23 และ Microsoft Office Excel 365 โดยใช้วิธีการทางสถิติคือ ANOVA เพื่อเปรียบเทียบผลจากอาหารเพาะเลี้ยงทั้ง 10 สูตร หากมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเกิดขึ้น จึงจะใช้วิธีทางสถิติ Post-Hoc test แบบ Duncan's new multiple range test (DMRT) หรือ Dunnett C คำนวณต่อ และใช้วิธีทางสถิติเช่นเดิมคำนวณหาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของการทดลองทั้ง 4 ครั้ง เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของร้อยละชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัส น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง ที่มีการใช้น้ำมะพร้าวยูเอชทีคนละรอบการผลิต โดยการคำนวณทางสถิติดังกล่าวจะใช้ระดับความเชื่อมั่นที่ 95%

บทที่ 4
ผลการทดลอง

ความสม่ำเสมอในการตัดชิ้นตัวอย่างแคร์รอต

ผลการตัดชิ้นตัวอย่างแคร์รอตเริ่มต้น (ภาพที่ 4.1) พบว่าชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่ตัดจากรากแคร์รอตทั้ง 3 หัว มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดคือ 0.83±0.013 0.80±0.013 และ 0.81±0.009 ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 4.1 ชิ้นตัวอย่างแคร์รอตเริ่มต้นก่อนเพาะเลี้ยง

การทดลองครั้งที่ 1

เมื่อนำชิ้นตัวอย่างแคร์รอตเพาะเลี้ยงบนอาหารแต่ละสูตร พบว่าในสัปดาห์ที่ 1 ชิ้นตัวอย่างแคร์รอตเกิดการขยายขนาด (enlargement) มากขึ้น จนสัปดาห์ที่ 2 มีชิ้นตัวอย่างแคร์รอตบางชิ้นเริ่มเกิดแคลลัสเล็กน้อยบริเวณเนื้อเยื่อแคมเบียม สัปดาห์ที่ 3 แคลลัสที่บริเวณเนื้อเยื่อแคมเบียมมีปริมาณมากขึ้น และมีแคลลัสเกิดขึ้นบริเวณอื่น ๆ ที่ไม่ใช่เนื้อเยื่อแคมเบียม และเกิดแคลลัสเพิ่มมากขึ้นในสัปดาห์ต่อ ๆ มา การปนเปื้อนในการทดลองครั้งแรกพบว่ามีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์เป็นวงสีขาวบนผิววุ้นอาหารรอบชิ้นตัวอย่าง โดยการอยู่รอด การปนเปื้อนและการตายของชิ้นตัวอย่างแคร์รอตคิดเป็นร้อยละ 98.00 2.00 และ 0.00 ตามลำดับ

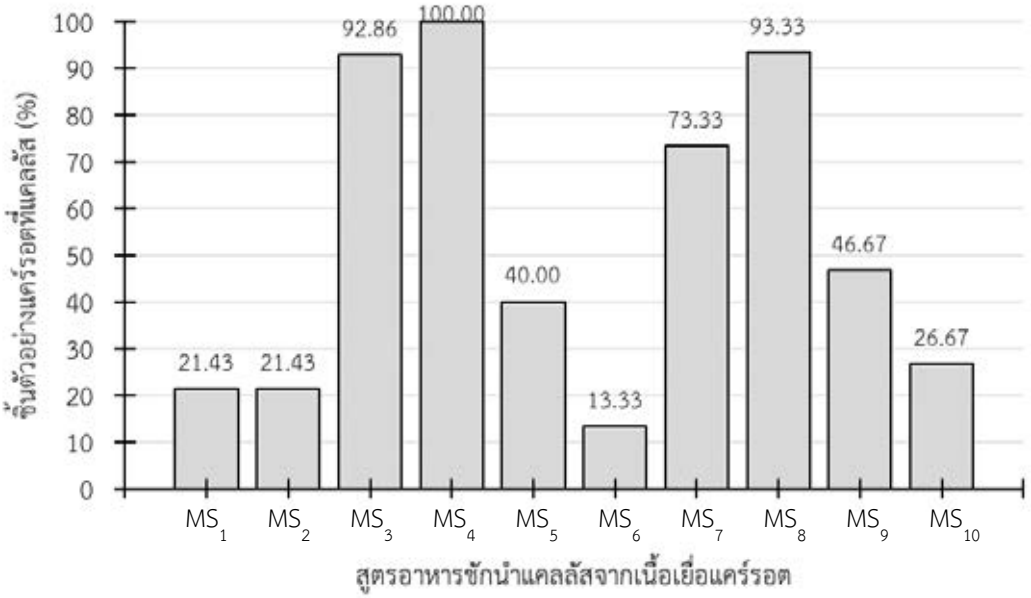
เมื่อครบกำหนด 7 สัปดาห์ พบว่าอาหารเพาะเลี้ยงแต่ละสูตรสามารถชักนำชิ้นตัวอย่างแคร์รอตให้เกิดแคลลัสได้แตกต่างกัน โดยอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS_4 สามารถชักนำชิ้นตัวอย่างแคร์รอตให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 100.00 ส่วนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS_6 สามารถชักนำชิ้นตัวอย่างแคร์รอตให้เกิดแคลลัสได้น้อยที่สุดคิดเป็นร้อยละ 13.33 (ภาพที่ 4.2) ซึ่งไม่สอดคล้องกับผลจากการชั่งน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง ส่วนชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS_2 และ MS_8 มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของชิ้นตัวอย่างแคร์รอตและแคลลัสมากที่สุดและน้อยที่สุด คือ 2.35±0.092 g และ 1.43±0.083 g ตามลำดับ ส่วนชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS_1 และ MS_8 ให้ผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งมากที่สุดและน้อยที่สุด คือ 0.27±0.002 g และ

0.15±0.010 g ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.3) แม้ว่าชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS_2 จะให้ผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดมากที่สุด แต่เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดกลับพบว่าอาหารสูตร MS_2 ให้ผลไม่แตกต่างกับอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS_1 MS_4 MS_5 MS_6 MS_7 และ MS_{10} อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งพบว่าอาหารสูตร MS_1 ให้ผลไม่แตกต่างกับอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS_2 MS_4 MS_6 MS_7 และ MS_{10} อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.1)

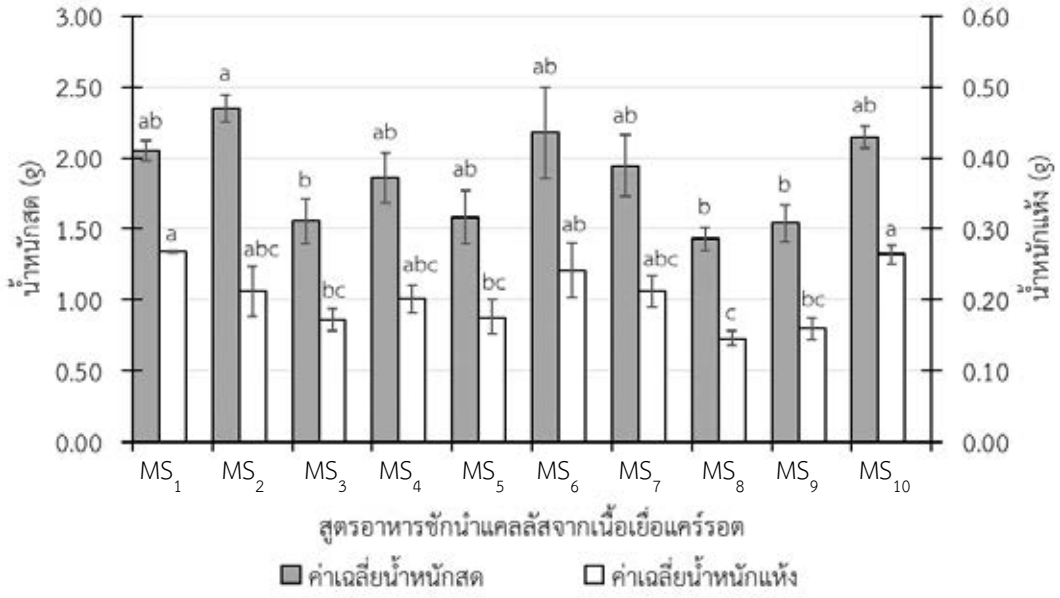
ตารางที่ 4.1 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแต่ละสูตร ในการทดลองครั้งที่ 1

สูตรอาหาร	น้ำหนักสด (g)	น้ำหนักแห้ง (g)	ชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัส (%)
MS_1	2.05 ± 0.068^{ab}	0.27 ± 0.002^{a}	21.43
MS_2	2.35 ± 0.092^{a}	0.21 ± 0.035^{abc}	21.43
MS_3	1.55 ± 0.158^{b}	0.17 ± 0.016^{bc}	92.86
MS_4	1.86 ± 0.179^{ab}	0.20 ± 0.020^{abc}	100.00
MS_5	1.58 ± 0.188^{ab}	0.18 ± 0.025^{bc}	40.00
MS_6	2.18 ± 0.323^{ab}	0.24 ± 0.038^{ab}	13.33
MS_7	1.94 ± 0.215^{ab}	0.21 ± 0.022^{abc}	73.33
MS_8	1.43 ± 0.083^{b}	0.15 ± 0.010^{c}	93.33
MS_9	1.54 ± 0.128^{b}	0.16 ± 0.016^{bc}	46.67
MS_{10}	2.15 ± 0.080^{ab}	0.26 ± 0.014^{a}	26.67

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของค่าเฉลี่ยในแนวตั้ง เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ($P \leq 0.05$) และทุกชุดการทดลองมีจำนวนซ้ำไม่น้อยกว่า 6 ซ้ำ



ภาพที่ 4.2 ร้อยละชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแต่ละสูตรในการทดลองครั้งที่ 1



ภาพที่ 4.3 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของชิ้นตัวอย่างแคร์รอตและแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแต่ละสูตรในการทดลองครั้งที่ 1

หมายเหตุ แผนภูมิแท่งแสดงค่าเฉลี่ย±S.E. ของตัวอย่างจำนวนไม่น้อยกว่า 6 ซ้ำ และตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กบนแท่งกราฟแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของแต่ละชุดข้อมูล (ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด และค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้ง) เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ($P \leq 0.05$)

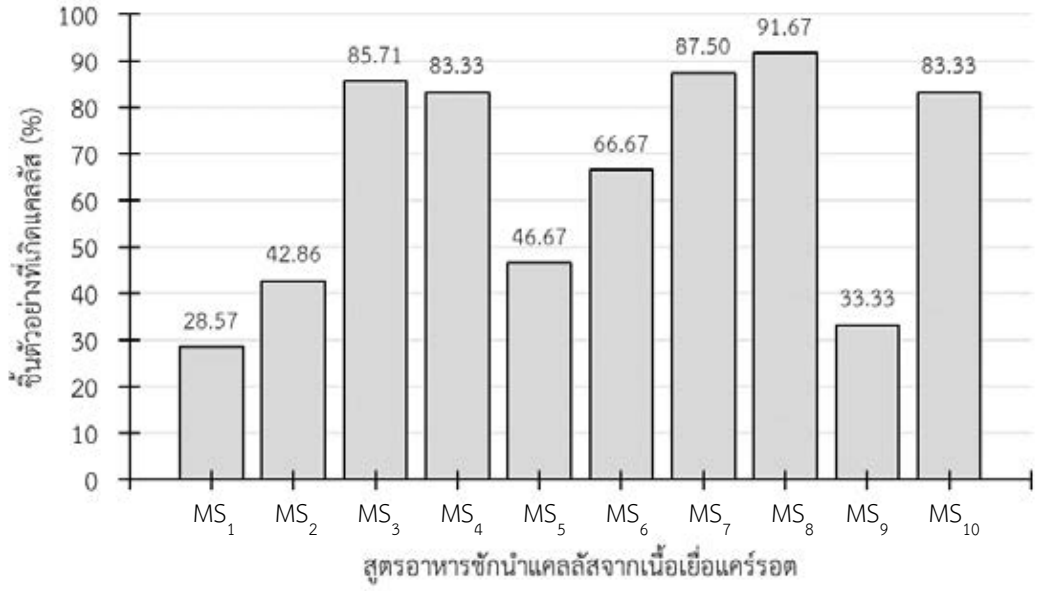
การทดลองครั้งที่ 2

เมื่อนำชิ้นตัวอย่างแคร์รอตเพาะเลี้ยงบนอาหารแต่ละสูตร พบว่าในสัปดาห์ที่ 1 ชิ้นตัวอย่างแคร์รอตเกิดการขยายขนาดมากขึ้น จนสัปดาห์ที่ 2 มีชิ้นตัวอย่างแคร์รอตบางชิ้นเริ่มเกิดแคลลัสเป็นกระจุกเล็ก ๆ กระจายอยู่ด้านบนชิ้นตัวอย่าง สัปดาห์ที่ 3 มีจำนวนชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัสเพิ่มมากขึ้น และหลังจากสัปดาห์ที่ 3 มีแคลลัสเกิดขึ้นบริเวณอื่น ๆ ของชิ้นตัวอย่างแคร์รอต และมีปริมาณเพิ่มขึ้นบ้างเพียงเล็กน้อยเท่านั้น เมื่อเปรียบเทียบกับสัปดาห์ที่ 3 จะสังเกตเห็นถึงความแตกต่างได้ยากมาก การปนเปื้อนในการทดลองครั้งที่ 2 พบว่ามีการปนเปื้อนของจุลินทรย์เป็นวงสีขาวบนผิววุ้นอาหารรอบชิ้นตัวอย่าง หรือกระจายแผ่เคลือบอยู่บนผิววุ้นอาหาร โดยการอยู่รอดการปนเปื้อนและการตายของชิ้นตัวอย่างแคร์รอตคิดเป็นร้อยละ 85.33 8.67 และ 6.00 ตามลำดับ

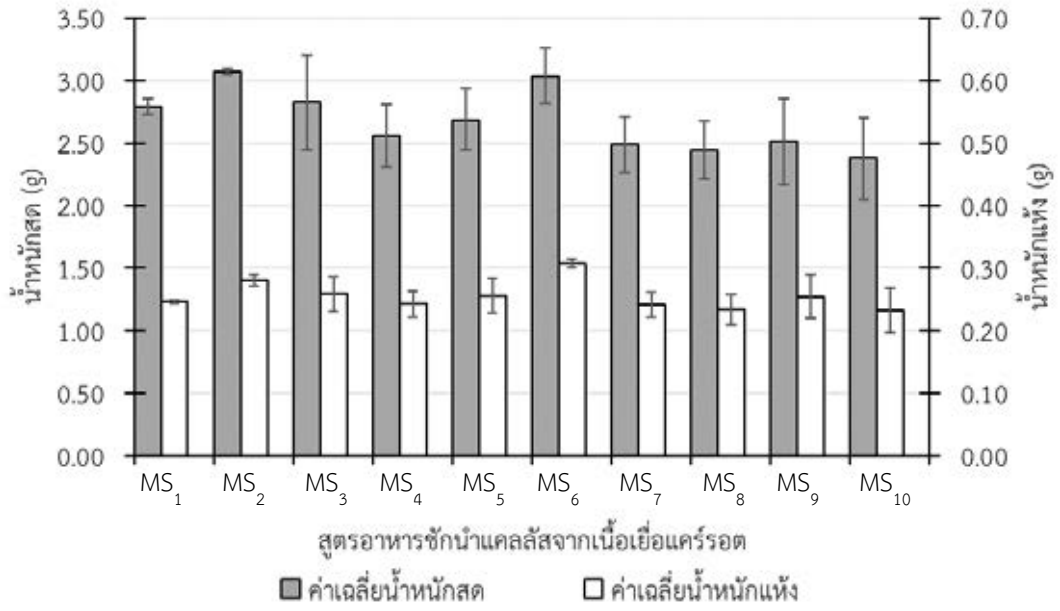
เมื่อครบกำหนด 7 สัปดาห์ พบว่าอาหารเพาะเลี้ยงแต่ละสูตรสามารถชักนำชิ้นตัวอย่างแคร์รอตให้เกิดแคลลัสได้แตกต่างกัน โดยอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS_8 สามารถชักนำชิ้นตัวอย่างแคร์รอตให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 91.67 ส่วนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS_1 สามารถชักนำชิ้นตัวอย่างแคร์รอตให้เกิดแคลลัสได้น้อยที่สุดคิดเป็นร้อยละ 28.57 (ภาพที่ 4.4) ซึ่งไม่สอดคล้องกับผลจากการชั่งน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง โดยชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS_2 และ MS_{10} มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของชิ้นตัวอย่างแคร์รอตและแคลลัสมากที่สุดและน้อยที่สุด คือ 3.07±0.027 g และ 2.38±0.324 g ตามลำดับ ส่วนชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS_2 ให้ผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งมากที่สุด คือ 0.28±0.009 g และ ชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS_8 และ MS_{10} ให้ผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งน้อยที่สุด คือ 0.23±0.024 g และ 0.23±0.036 g ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2 และภาพที่ 4.5) แม้ว่าชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS_2 จะให้ผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดมากที่สุด แต่เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งแล้วกลับพบว่าอาหารสูตร MS_2 ทุกสูตรอาหารให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 4.2)

ตารางที่ 4.2 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแต่ละสูตร ในการทดลองครั้งที่ 2

สูตรอาหาร	น้ำหนักสด (g)	น้ำหนักแห้ง (g)	ชิ้นตัวอย่างแคร์รอตอย่างที่เกิดแคลลัส (%)
MS_1	2.79±0.064	0.25±0.003	28.57
MS_2	3.07±0.027	0.28±0.009	42.86
MS_3	2.83±0.381	0.26±0.028	85.71
MS_4	2.56±0.251	0.24±0.021	83.33
MS_5	2.69±0.246	0.26±0.028	46.67
MS_6	3.04±0.219	0.31±0.008	66.67
MS_7	2.49±0.225	0.24±0.020	87.50
MS_8	2.44±0.234	0.23±0.024	91.67
MS_9	2.51±0.348	0.25±0.035	33.33
MS_{10}	2.38±0.324	0.23±0.036	83.33



ภาพที่ 4.4 ร้อยละชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแต่ละสูตร ในการทดลองครั้งที่ 2



ภาพที่ 4.5 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของชิ้นตัวอย่างแคร์รอตและแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแต่ละสูตรในการทดลองครั้งที่ 2

การทดลองครั้งที่ 3

การทดลองครั้งที่ 3 หลังนำชิ้นตัวอย่างแคร์รอตเพาะเลี้ยงบนอาหารแต่ละสูตร พบว่าในสัปดาห์ที่ 1 จนกระทั่งสัปดาห์ที่ 7 ชิ้นตัวอย่างแคร์รอตมีการขยายขนาดและการเกิดแคลลัสเหมือนกับการทดลองครั้งที่ 1 การปนเปื้อนในการทดลองครั้งที่ 3 พบว่ามีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์เป็นวงสีขาวบนผิววุ้นอาหารรอบชิ้นตัวอย่าง หรือกระจายแผ่เคลือบอยู่บนผิววุ้นอาหาร เหมือนในการทดลองครั้งที่ 2 โดยการอยู่รอด การปนเปื้อนและการตายของชิ้นตัวอย่างแคร์รอตคิดเป็นร้อยละ 76.67 16.67 และ 6.66 ตามลำดับ

เมื่อครบกำหนด 7 สัปดาห์ พบว่าอาหารเพาะเลี้ยงแต่ละสูตรสามารถชักนำชิ้นตัวอย่างแคร์รอตให้เกิดแคลลัสได้แตกต่างกัน โดยอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS_3 สามารถชักนำชิ้นตัวอย่างแคร์รอตให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 85.71 ส่วนอาหารเพาะเลี้ยงทั้งสูตร MS_1 และ MS_{10} ไม่สามารถชักนำชิ้นตัวอย่างแคร์รอตให้เกิดแคลลัสได้ (ภาพที่ 4.6) ซึ่งไม่สอดคล้องกับผลจากการชั่งน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง โดยชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS_5 มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของชิ้นตัวอย่างแคร์รอตและแคลลัสมากที่สุดคือ 3.31±1.037 g และชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS_3 ให้ผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งมากที่สุด คือ 0.27±0.029 g ส่วนชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS_{10} ให้ผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งน้อยที่สุดคือ 1.84±0.148 g และ 0.15±0.016 g ตามลำดับ (ตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.7) ซึ่งน้ำหนัก 1.84±0.148 g และ 0.15±0.016 g เป็นค่าน้ำหนักของชิ้นตัวอย่างแคร์รอตเพียงอย่างเดียว ไม่มีน้ำหนักของแคลลัส

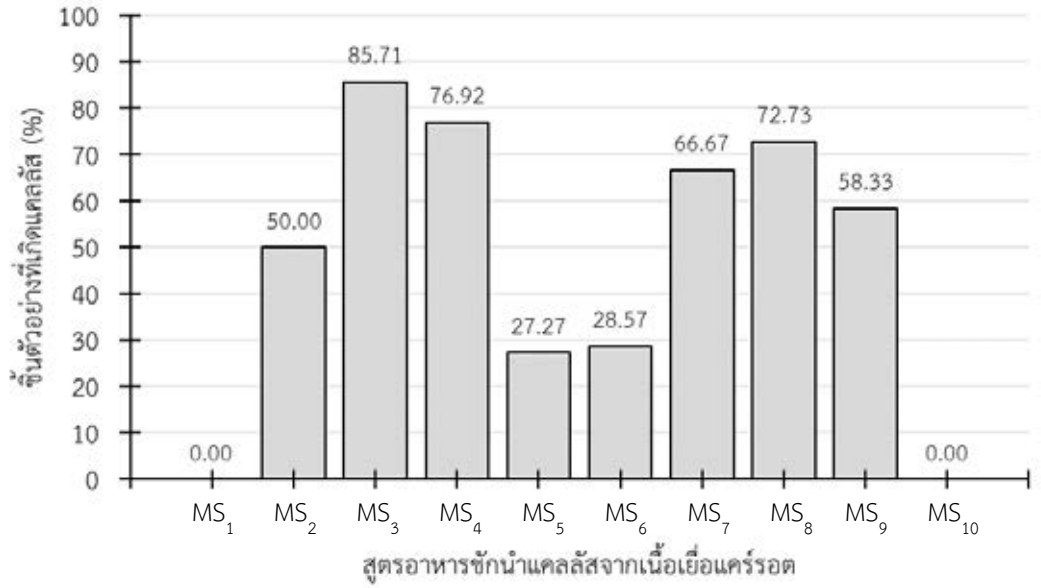
ร่วมด้วย เพราะชิ้นตัวอย่างแคร์รอตทุกชิ้นที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS_1 และ MS_{10} ไม่สามารถเกิดแคลลัสได้ แม้ว่าการเพาะเลี้ยงชิ้นตัวอย่างแคร์รอตบนอาหารเพาะเลี้ยงแต่ละสูตรจะให้ผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ที่มากที่สุดและน้อยที่สุดดังข้างต้น แต่เมื่อนำค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดจากอาหารทุกสูตร มาเปรียบเทียบกัน พบว่าทุกสูตรอาหารให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกับค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งที่ทุกสูตรอาหารให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางทางสถิติ (ตารางที่ 4.3)

ตารางที่ 4.3 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัส

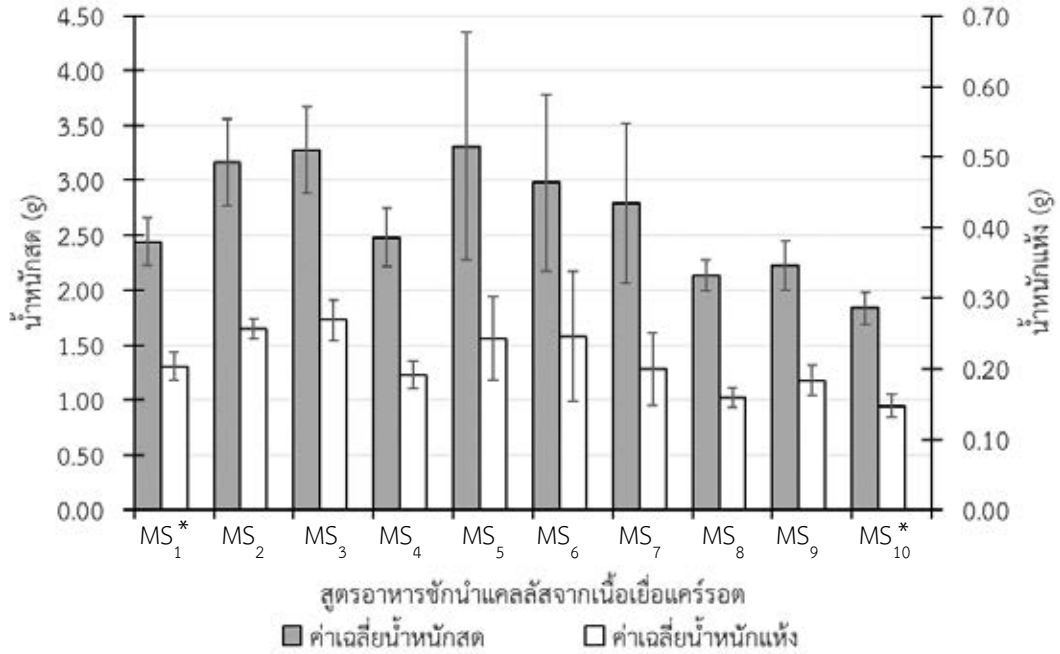
สูตรอาหาร	น้ำหนักสด (g)	น้ำหนักแห้ง (g)	ชิ้นตัวอย่าแคร์รอตที่เกิดแคลลัส (%)
MS_1*	2.44±0.215	0.20±0.020	0.00
MS_2	3.17±0.393	0.26±0.014	50.00
MS_3	3.28±0.397	0.27±0.029	85.71
MS_4	2.48±0.268	0.19±0.020	76.92
MS_5	3.31±1.037	0.24±0.059	27.27
MS_6	2.98±0.804	0.25±0.092	28.57
MS_7	2.79±0.725	0.20±0.051	66.67
MS_8	2.13±0.140	0.16±0.014	72.73
MS_9	2.23±0.225	0.18±0.021	58.33
MS_{10}*	1.84±0.148	0.15±0.016	0.00

ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแต่ละสูตร ในการทดลองครั้งที่ 3

หมายเหตุ * หมายถึงชุดการทดลองที่ทุกชิ้นตัวอย่างแคร์รอตไม่เกิดแคลลัส จึงมีเฉพาะน้ำหนักของชิ้นตัวอย่างแคร์รอตเพียงอย่างเดียวเท่านั้น



ภาพที่ 4.6 ร้อยละชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแต่ละสูตร ในการทดลองครั้งที่ 3



ภาพที่ 4.7 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของชิ้นตัวอย่างแคร์รอตและแคลลัสที่เพาะเลี้ยง บนอาหารแต่ละสูตรในการทดลองครั้งที่ 3

หมายเหตุ * หมายถึงชุดการทดลองที่ทุกชิ้นตัวอย่างแคร์รอตไม่เกิดแคลลัส จึงมีเฉพาะน้ำหนักของชิ้นตัวอย่างแคร์รอตเพียงอย่างเดียวเท่านั้น

การทดลองครั้งที่ 4

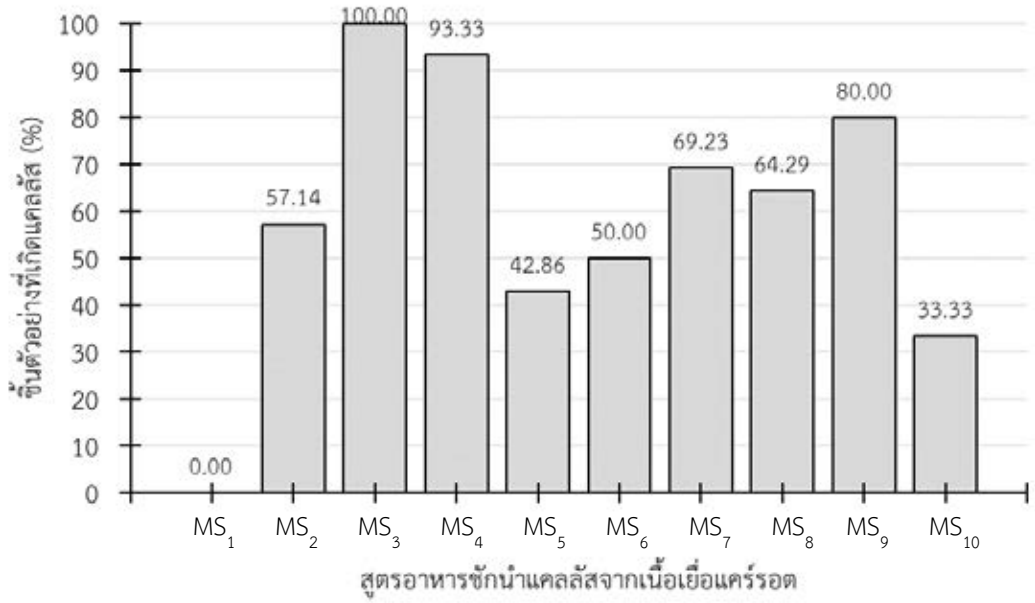
เมื่อนำชิ้นตัวอย่างแคร์รอตเพาะเลี้ยงบนอาหารแต่ละสูตร พบว่าในสัปดาห์ที่ 1 จนกระทั่งสัปดาห์ที่ 7 ชิ้นตัวอย่างแคร์รอตมีการขยายขนาดและการเกิดแคลลัสเหมือนกับการทดลองครั้งที่ 1 และ 3 การปนเปื้อนในการทดลองครั้งที่ 4 พบว่ามีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์เป็นวงสีขาวบนผิววุ้นอาหารรอบชิ้นตัวอย่าง หรือกระจายแผ่เคลือบอยู่บนผิววุ้นอาหาร เหมือนในการทดลองครั้งที่ 2 และ 3 โดยการอยู่รอด การปนเปื้อนและการตายของชิ้นตัวอย่างแคร์รอตคิดเป็นร้อยละ 88.67 2.67 และ 8.66 ตามลำดับ

เมื่อครบกำหนด 7 สัปดาห์ ผลพบว่าอาหารเพาะเลี้ยงแต่ละสูตรสามารถชักนำชิ้นตัวอย่างแคร์รอตให้เกิดแคลลัสได้แตกต่างกัน โดยอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS_3 สามารถชักนำชิ้นตัวอย่างแคร์รอตให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 100.00 รองลงมาคืออาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS_4 ที่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสร้อยละ 93.33 ส่วนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS_1 ไม่สามารถชักนำชิ้นตัวอย่างแคร์รอตให้เกิดแคลลัสได้ (ภาพที่ 4.8) ซึ่งไม่สอดคล้องกับผลจากการชั่งน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง โดยชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS_4 และ MS_1 มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของชิ้นตัวอย่างแคร์รอตและแคลลัสมากที่สุดและน้อยที่สุด คือ 4.05±0.375 g และ 2.95±0.178 g ตามลำดับ ซึ่งน้ำหนัก 2.95±0.178 g เป็นเพียงน้ำหนักของชิ้นตัวอย่างแคร์รอตเพียงอย่างเดียว ไม่มีน้ำหนักของแคลลัสร่วมด้วยเพราะไม่มีชิ้นตัวอย่างแคร์รอตใดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS_1 แล้วเกิดแคลลัสได้ ในด้านของค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้ง ชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS_6 ให้ผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งมากที่สุดคือ 0.35±0.047 g และอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS_7 และ MS_9 ให้ผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งน้อยที่สุดคือ 0.24±0.051 g และ 0.24±0.034 g ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.9) แม้ว่าชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรแต่ละสูตรจะให้ผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง มากที่สุดและน้อยที่สุดดังข้างต้น แต่เมื่อนำค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดจากอาหารทุกสูตรมาเปรียบเทียบกัน พบว่าทุกสูตรอาหารให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกับค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งที่ทุกสูตรอาหารให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.4)

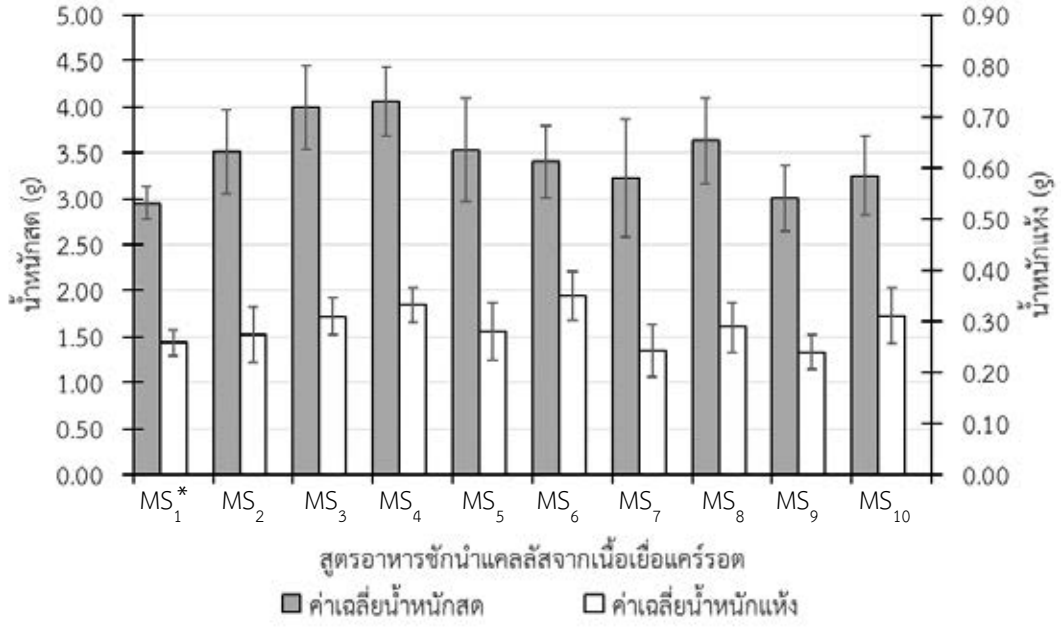
ตารางที่ 4.4 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแต่ละสูตร ในการทดลองครั้งที่ 4

สูตรอาหาร	น้ำหนักสด (g)	น้ำหนักแห้ง (g)	ชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัส (%)
MS_1*	2.95±0.178	0.28±0.026	0.00
MS_2	3.51±0.450	0.27±0.054	57.14
MS_3	3.99±0.457	0.31±0.036	100.00
MS_4	4.05±0.375	0.33±0.033	93.33
MS_5	3.53±0.559	0.28±0.056	42.86
MS_6	3.40±0.393	0.35±0.047	50.00
MS_7	3.22±0.639	0.24±0.051	69.23
MS_8	3.63±0.469	0.29±0.049	64.29
MS_9	3.00±0.356	0.24±0.034	80.00
MS_{10}	3.25±0.427	0.31±0.055	33.33

หมายเหตุ * หมายถึงชุดการทดลองที่ทุกชิ้นตัวอย่างแคร์รอตไม่เกิดแคลลัส จึงมีเฉพาะน้ำหนักของชิ้นตัวอย่างแคร์รอตเพียงอย่างเดียวเท่านั้น



ภาพที่ 4.8 ร้อยละชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแต่ละสูตร ในการทดลองครั้งที่ 4

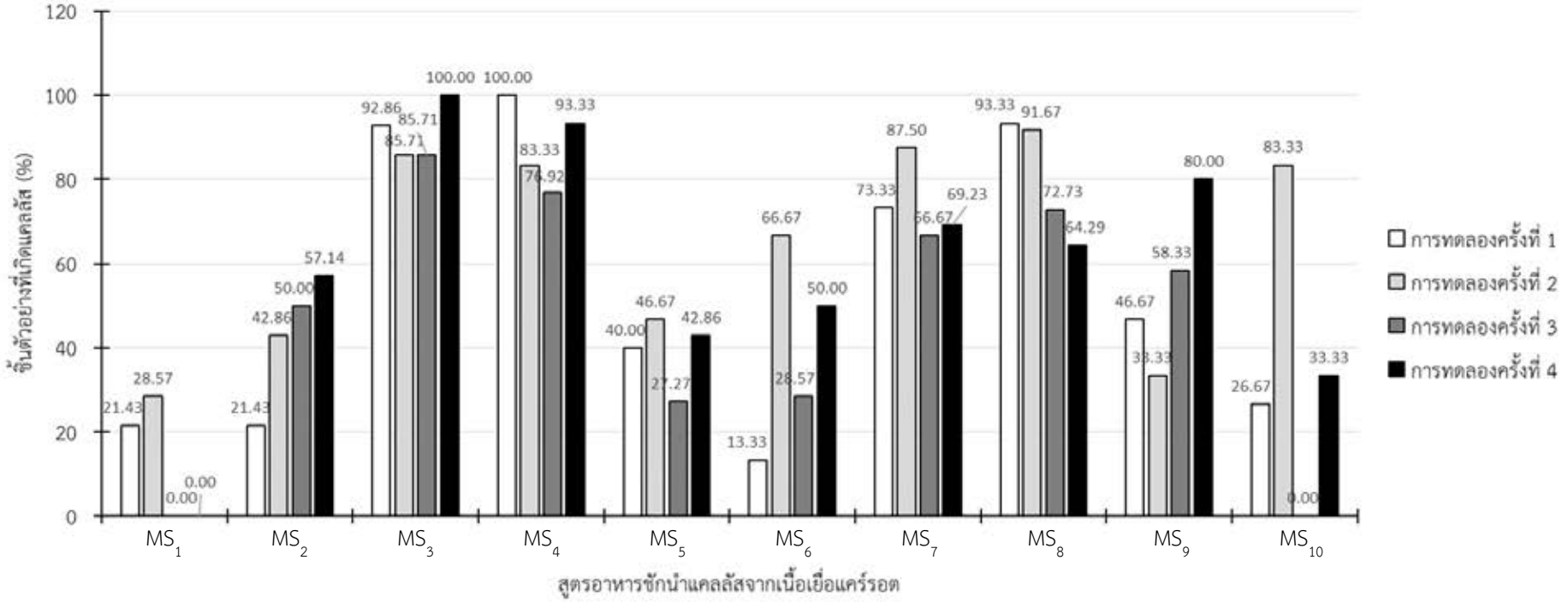


ภาพที่ 4.9 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของชิ้นตัวอย่างแคร์รอตและแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแต่ละสูตรในการทดลองครั้งที่ 4

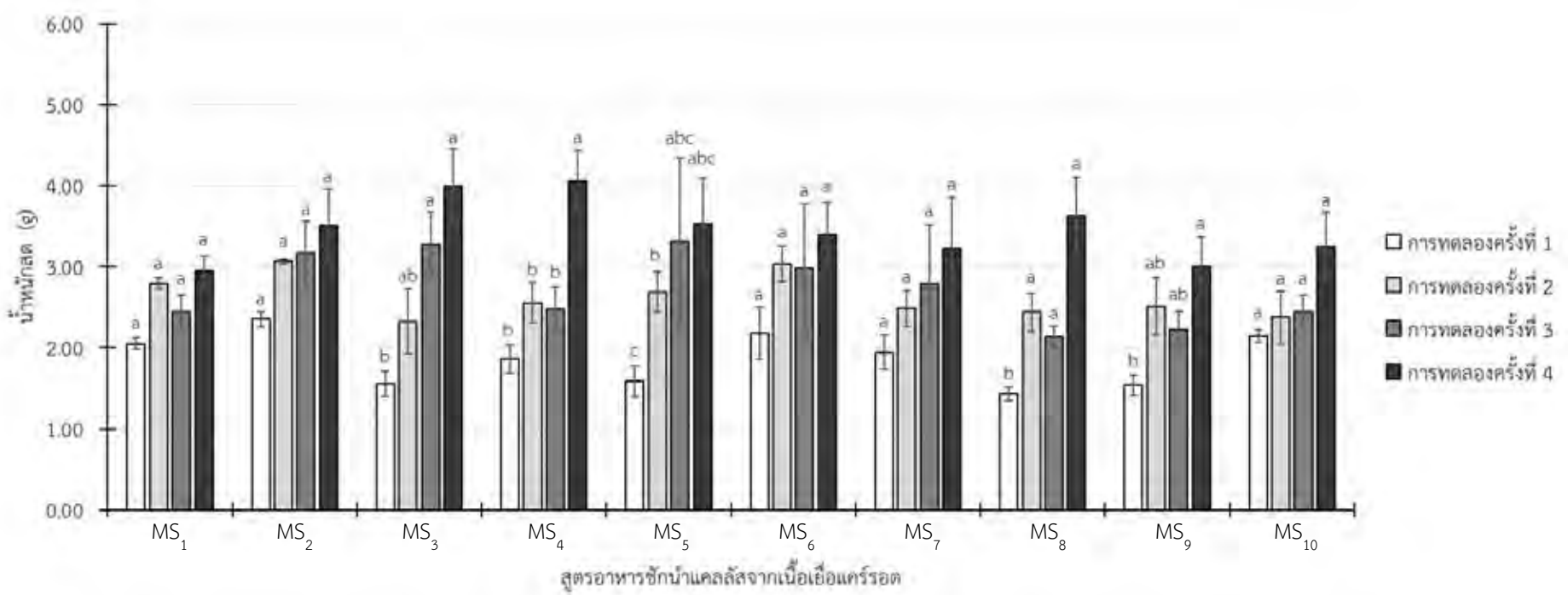
หมายเหตุ * หมายถึงชุดการทดลองที่ทุกชิ้นตัวอย่างแคร์รอตไม่เกิดแคลลัส จึงมีเฉพาะน้ำหนักของชิ้นตัวอย่างแคร์รอตเพียงอย่างเดียวเท่านั้น

ความแตกต่างของน้ำมะพร้าวยูเอชทีที่มีรอบผลิตแตกต่างกัน

เมื่อนำผลการทดลองทั้ง 4 ครั้ง มาเปรียบเทียบกัน พบว่าในด้านร้อยละชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัสในการทดลองแต่ละครั้งของอาหารสูตร MS_3 MS_4 MS_5 และ MS_7 ค่อนข้างใกล้เคียงกัน โดยอาหารสูตร MS_4 จะมีร้อยละชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัสใกล้เคียงกับร้อยละชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัสของอาหารสูตร MS_3 ที่มีค่าโดยรวมมากที่สุด กลับกันอาหารสูตร MS_1 MS_2 MS_6 MS_8 MS_9 และ MS_{10} จะมีความแตกต่างของร้อยละชิ้นตัวอย่างรากแคร์รอตที่เกิดแคลลัส (ภาพที่ 4.10) ส่วนในด้านความแตกต่างของน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งในการทดลองแต่ละครั้ง พบว่าการทดลองทั้ง 4 ครั้ง ค่อนข้างไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 4.11 และภาพที่ 4.12)

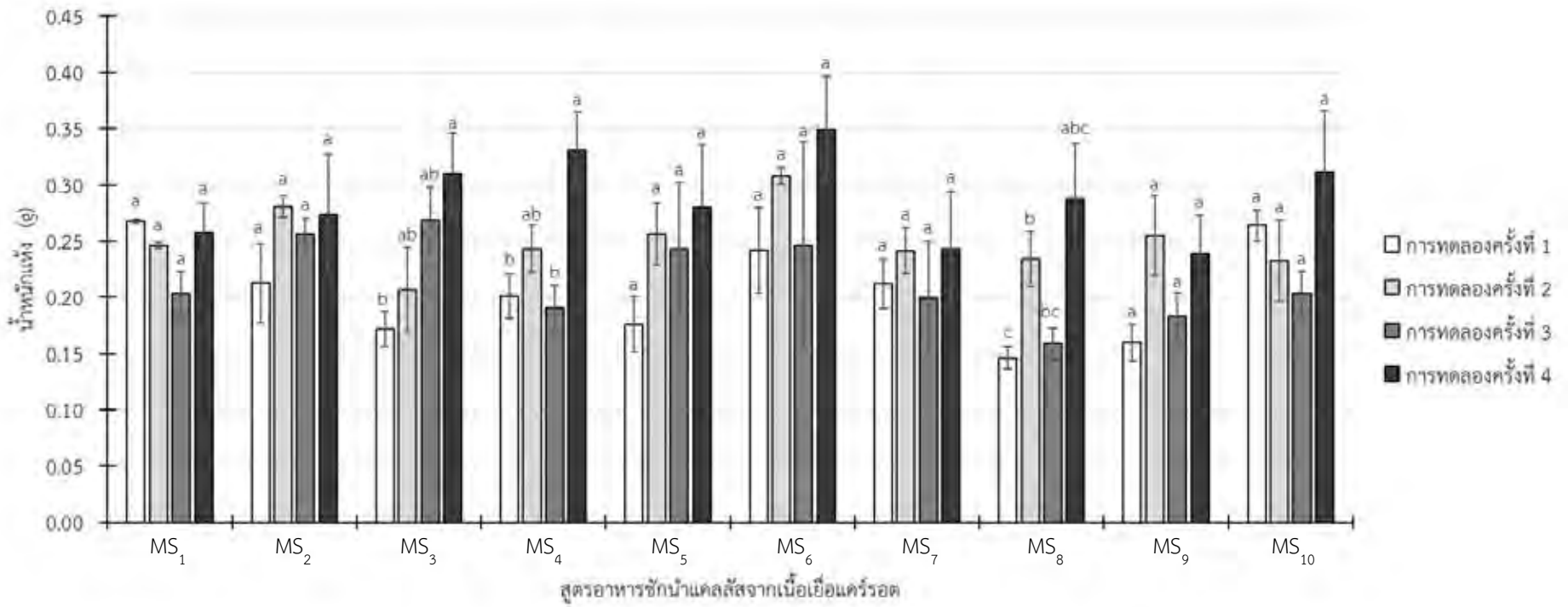


ภาพที่ 4.10 การเปรียบเทียบร้อยละชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัสในการทดลองแต่ละครั้ง



ภาพที่ 4.11 การเปรียบเทียบน้ำหนักสดของการทดลองแต่ละครั้ง

หมายเหตุ แผนภูมิแท่งแสดงค่าเฉลี่ย±S.E. ของตัวอย่างจำนวนไม่น้อยกว่า 6 ซ้ำ และตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กบนแท่งกราฟแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ยในแต่ละสูตรอาหาร เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT หรือ Dunnett's C ($P \leq 0.05$)



ภาพที่ 4.12 การเปรียบเทียบน้ำหนักแห้งของการทดลองแต่ละครั้ง

หมายเหตุ แผนภูมิแท่งแสดงค่าเฉลี่ย±S.E. ของตัวอย่างจำนวนไม่น้อยกว่า 6 ซ้ำ และตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กบนแท่งกราฟแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ยในแต่ละสูตรอาหาร เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT หรือ Dunnett's C ($P \leq 0.05$)

บทที่ 5
อภิปราย และสรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองหลังนำชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่ตัดได้ ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ชิ้นตัวอย่างแคร์รอตจะขยายขนาดใหญ่ขึ้น คาดว่าเนื่องจากเซลล์ที่ยังมีชีวิตแต่ละเซลล์จะขยายขนาดเพิ่มขึ้นเพื่อเป็นการเตรียมความพร้อมของเซลล์ก่อนจะเปลี่ยนสภาพเซลล์กลับ (dedifferentiation) ไปเป็นเซลล์ที่ไม่ทำหน้าที่จำเพาะซึ่งเรียกว่าแคลลัส ในสัปดาห์ต่อ ๆ มาแคลลัสจะมีจำนวนมากขึ้นจนเป็นกลุ่มก้อนที่สังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า ส่วนชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่ตายระหว่างการทดลองอาจมีสาเหตุมาจากอุปกรณ์ตัดชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่ร้อนเกินไปจนทำให้เนื้อเยื่อภายนอกของชิ้นตัวอย่างแคร์รอตตาย เมื่อเนื้อเยื่อภายนอกตายทำให้สารอาหารไม่สามารถส่งผ่านไปยังเนื้อเยื่อภายในได้อย่างเพียงพอ เนื้อเยื่อด้านในจึงขาดอาหารและตายลงไป

เมื่อพิจารณาจากร้อยละชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัส การเพาะเลี้ยงชิ้นตัวอย่างแคร์รอตบนอาหารเพาะเลี้ยงที่มีการเติมน้ำมะพร้าวสดความเข้มข้น 15% (v/v) (MS_3) และอาหารเพาะเลี้ยงที่เติมมะพร้าวสดความเข้มข้น 15% (v/v) ร่วมกับฮอร์โมน IAA 1.00 ppm (MS_7) สามารถชักนำให้ชิ้นตัวอย่างแคร์รอตเกิดแคลลัสได้ดีกว่าอาหารที่เติมเฉพาะ IAA ความเข้มข้น 1.00 ppm (MS_2) เพียงอย่างเดียว ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Caplin และ Steward ในปี ค.ศ. 1948 เพราะว่าการเกิดแคลลัสนั้นจะถูกควบคุมด้วยสมดุลของฮอร์โมนหลัก ๆ 2 กลุ่ม คือ ออกซิน และไซโตไคนิน ดังนั้นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชบนอาหารเพาะเลี้ยงที่มีฮอร์โมนทั้งสองกลุ่มนี้จะสามารถกระตุ้นให้ชิ้นเนื้อเยื่อพืชเกิดการพัฒนาเป็น ยอด ราก หรือแคลลัสได้ดีกว่าอาหารเพาะเลี้ยงที่มีออกซิน หรือไซโตไคนินเพียงอย่างเดียว (Skoog and Miller, 1957) เนื่องจากไซโตไคนินมีบทบาทสำคัญในการควบคุมวัฏจักรเซลล์พืชช่วงที่เปลี่ยนจาก gap 2 phase ไปสู่ระยะ mitotic phase กล่าวคือไซโคไคนินจะควบคุมการแบ่งเซลล์โดยควบคุมการเข้าสู่ระยะ mitotic phase (Laureys et al., 1998) เพราะฉะนั้นการเติมน้ำมะพร้าวสดที่มีฮอร์โมนทั้งสองกลุ่มลงในอาหารเพาะเลี้ยง แล้วนำไปเพาะเลี้ยงชิ้นตัวอย่างแคร์รอตจึงให้ผลที่ดีกว่าอาหารเพาะเลี้ยงที่เติม IAA เพียงอย่างเดียว

อัตราส่วนของความเข้มข้นออกซินต่อไซโตไคนินที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสนั้นจะขึ้นอยู่กับชนิด ความแก่อ่อนของตัวอย่าง ระยะการเจริญเติบโต และอวัยวะ (organ) ของพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง (Smith, 2013) ซึ่งการทดลองในโครงงานนี้เลือกใช้เนื้อเยื่อที่ตัดมาจากรากแคร์รอตในการทดสอบ พบว่าอาหารสูตรที่เติมน้ำมะพร้าวสด จะให้ผลดีที่สุดทั้งในด้านของร้อยละการเกิด เพราะน้ำมะพร้าวสดมีอัตราส่วนของความเข้มข้นออกซินต่อไซโตไคนินอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสของเนื้อเยื่อรากแคร์รอตมากที่สุด คือ 150.60 : 186.12 nM (Ge et al., 2006; Ge et al., 2007; Ma et al., 2008) แต่ในอาหารสูตร MS_2 มี IAA สูงถึง 1.00 ppm หรือ 5708.28 nM ซึ่งเป็นค่าที่สูงมาก ทำให้สมดุลของออกซินต่อไซโตไคนินสูงขึ้นตามจนลดประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดแคลลัส จึงเป็นอีกหนึ่งเหตุผลที่อาหารสูตร MS_2 ให้ผลการทดลองด้อยกว่าอาหารสูตร MS_3

อย่างไรก็ตามอาหารสูตร MS_7 ที่มีการเติม IAA เหมือนกันกลับให้ผลร้อยละชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัสดีกว่าอาหารสูตร MS_2 แต่น้อยกว่าอาหารสูตร MS_3 ทั้งนี้เป็นเพราะว่านอกจากฮอร์โมพืชแล้วในน้ำมะพร้าวมีสารอาหารอื่น ๆ อีกมากมาย เช่น แร่ธาตุ วิตามิน กรดอะมิโน และสารประกอบอินทรีย์ต่าง ๆ อีกหลายชนิด ซึ่งสารเหล่านี้จะช่วยส่งเสริมให้เกิดการชักนำเป็นแคลลัสได้ดีขึ้น การเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS_7 จึงให้ผลดีกว่าอาหารสูตร MS_2 ส่วนในอาหารสูตร MS_3 ที่ให้ผลดีกว่าอาหารสูตร MS_7 เป็นเพราะว่าอาหารสูตร MS_7 มีการเติมฮอร์โมน IAA 1.00 ppm ร่วมด้วยทำให้สมดุลของออกซินต่อไซโตไคนินในอาหารเพาะเลี้ยงเปลี่ยนไปจนกระทั่งประสิทธิภาพในการชักนำให้ชิ้นตัวอย่างแคร์รอตเกิดแคลลัสลดลง จึงมีร้อยละชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัสน้อยกว่า

ด้านการตรวจสอบความแตกต่างของน้ำมะพร้าวที่ใช้ในการทดลองทั้ง 4 ครั้ง จะเห็นได้ว่าอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS_3 MS_4 MS_5 และ MS_7 ให้ผลร้อยละชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัสค่อนข้างใกล้เคียงกัน แต่อาหารเพาะเลี้ยง MS_6 MS_9 และ MS_{10} ให้ผลร้อยละชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัสค่อนข้างแตกต่างกัน เป็นเพราะน้ำมะพร้าวที่ใช้เป็นวัตถุดิบในผลิตน้ำมะพร้าวยูเอชทียี่ห้อที่ 2 และ 3 ของแต่ละรอบการผลิตมีความแตกต่างกัน โดยหากน้ำมะพร้าวยูเอชทีในแต่ละรอบการผลิตนั้นมีความแตกต่างกันมาก จะสามารถสังเกตจากลักษณะทางกายภาพเช่นสีของน้ำมะพร้าวได้ (ภาพที่ 5.1) ซึ่งน้ำมะพร้าวที่ถูกนำมาผลิตเป็นน้ำมะพร้าวยูเอชทีในแต่ละรอบการผลิตนั้นจะมีปริมาณสารแต่ละชนิดที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับ ฤดูกาลเก็บเกี่ยว และความแก่-อ่อนของผล (Yong et al., 2009) นอกจากยังมีปัจจัยอื่นอีกเช่น สถานที่เพาะปลูก การจัดการและการดูแลของเกษตรการผู้ปลูกมะพร้าว (ธนากร เที่ยงน้อย, 2544) ดังนั้นน้ำมะพร้าวสดที่นำมาใช้ในการทดลองแต่ละครั้งจึงอาจมีคามแตกต่างกัน ซึ่งเป็นเรื่องปกติที่หลีกเลี่ยงไม่ได้ในการใช้สารประกอบจากธรรมชาติในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

ส่วนในด้านของค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งจะไม่ถูกนำมาพิจารณา เนื่องจากเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของการทดลองครั้งที่ 1 พบว่าชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS_2 จะให้ผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดมากทีสุด แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับอาหารเพาะเลี้ยงอีก 6 สูตร (MS_1 MS_4 MS_5 MS_6 MS_7 และ MS_{10}) จากทั้งหมด 10 สูตร และชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เพาะลี้ยงบนอาหารสูตร MS_1 จะให้ผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งมากทีสุด แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับอาหารเพาะเลี้ยงอีก 5 สูตร (MS_2 MS_4 MS_6 MS_7 และ MS_{10}) จากทั้งหมด 10 สูตร และในการทดลองครั้งที่ 2 3 และ 4 เมื่อเปรียบเทียบผลจากการเพาะเลี้ยงชิ้นตัวอย่างแคร์รอตบนอาหารแต่ละสูตรแล้วทั้งค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดและค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของทุกสูตรอาหารไม่แตกต่างอย่ามีนัยสำคัญทางสถิติ อีกทั้งยังไม่สอดคล้องกับค่าร้อยละชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัส ซึ่งค่าร้อยละชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัสนี้สอดคล้อง และตรงกับความเป็นจริงที่สังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่ามากกว่า ทั้งนี้เป็นเพราะว่าชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เพาะเลี้ยงในอาหารแต่ละสูตรมีการเกิดแคลลัสที่ต่างกันไปคือ บางชุดการทดลองมีหลายชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัสได้โดยชิ้นตัวอย่างแคร์รอตจะใช้เวลาในการขยายขนาดไม่นานแล้วจึงเกิดแคลลัส จึงมีระยะเวลาในการ

เกิดแคลลัสมาก แต่บางชุดการทดลองชิ้นตัวอย่างแคร์รอตใช้ระยะเวลาในการขยายขนาดนานแล้วค่อยเกิดแคลลัส จึงมีระยะเวลาในการเกิดแคลลัสน้อยกว่า ซึ่งชุดการทดลองนี้จะมีน้ำหนักของชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่ขยายขนาดมากกว่า ทำให้เมื่อชั่งน้ำหนักชิ้นตัวอย่างแคร์รอตและแคลลัสพร้อมกันแล้วนำค่าเฉลี่ยที่ได้มาเปรียบเทียบกัน ผลการเปรียบเทียบจึงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ภาพที่ 5.1 ความแตกต่างกันของน้ำมะพร้าวยูเอชทียี่ห้อที่ 3 ที่รอบการผลิตต่างกัน ซึ่งสามารถสังเกตได้จากสีที่แตกต่างกัน โดยขวดด้านซ้ายมีสีเข้มที่สุด รองลงมาคือขวดทางขวา และขวดตรงกลางมีสีที่อ่อนที่สุด

จากผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลองจึงสามารถสรุปได้ว่า

น้ำมะพร้าวยูเอชทีแต่ละยี่ห้อให้ร้อยละชิ้นตัวอย่างที่เกิดแคลลัสแตกต่างกัน ถึงแม้ว่าบนฉลากผลิตภัณฑ์ทั้ง 3 ยี่ห้อจะระบุไว้ว่าเป็นผลิตภัณฑ์จากน้ำมะพร้าว 100%

น้ำมะพร้าวยูเอชทียี่ห้อที่ดีที่สุดในการทดลองครั้งนี้คือน้ำมะพร้าวยูเอชทียี่ห้อที่ 1 เนื่องจากให้ผลร้อยละชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัสใกล้เคียงกับน้ำมะพร้าวสดที่สุด

การใช้น้ำมะพร้าวยูเอชทียี่ห้อที่ 1 เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช จะให้ผลร้อยละชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัสไม่แตกต่างกับการใช้น้ำมะพร้าวสดในการชักนำชิ้นตัวอย่างจากรากแคร์รอตให้เกิดแคลลัส

วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถใช้ทดสอบความใกล้เคียงของคุณภาพผลิตภัณฑ์น้ำมะพร้าวยูเอชที และน้ำมะพร้าวสดได้ โดยดูจากค่าร้อยละชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัส

เอกสารอ้างอิง

จิตพนธ์ ชุมเกตุ, กัญชลิกา จารุวัฒนะ และอัจฉราวรรณ รอดพ้น. 2560. รูปแบบแห่งความสำเร็จในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ด้วยนวัตกรรมของผลิตภัณฑ์น้ำมะพร้าวพร้อมดื่ม Coco Easy. ใน **การประชุมสังคมศาสตร์วิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 13**, หน้า 369-375. 20 มกราคม 2560 มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย.

ธนากร เที่ยงน้อย. 2544. **การศึกษาเปรียบเทียบคุณภาพของผลมะพร้าวที่ผลิตขายเป็นมะพร้าวอ่อนในเขตที่ราบลุ่มภาคกลางและภาคตะวันตกของประเทศไทย**. ปัญหาพิเศษปริญญามหาบัณฑิต, ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นายิกา สันทารุนัย. 2559. **การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เหลืองจันทบูร (*Dendrobium friedericksianum* Rchb. f.) ในหลอดทดลอง**. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, สาขาวิชาชีววิทยาศึกษา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

นิดาพร สุธัญญรัตน์, สุพรรนี อะโอกิ และขวัญเดือน รัตนา. 2559. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และการวิเคราะห์ความคงตัวของระดับพลอยด์ดีของกล้วยน้ำว้ามะลิอ่อง. **วารสารวิจัย มสด สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี** 9: 1-14.

วัชรินทร์ รัตนพันธ์ และนุจรินทร์ หญีตจันทร์. 2559. ผลของน้ำมะพร้าวและสาร BA ต่อการชักนำหน่อของกล้วยเล็บมือนาง 4 สายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ. **วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์** 3: 65-69.

วันฟิรฮาน บินยามะ, รอยฮัน หะมะ และสุภาวดี รามสูตร. 2557. ผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องไอยเรศ. **วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์** 1: 20-24.

สัจจพร จันทะวงษ์. 2545. **ปัจจัยบางประการที่มีผลต่อการงอกและพัฒนาของกล้วยไม้ดิน *Geodorum siamense* Rolfe ex Downie และ *Habenaria dentata* (Sw.) Schltr. ในสภาพปลอดเชื้อ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาดุษฎีบัณฑิต, ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สุมนา นีระ, วสุวี สุนทร, พรพิมล มงคลพันธ์ และภาณุพล หงษ์ภักดี. 2557. ผลของไซโตไคนินและน้ำมะพร้าวต่อการชักนำให้เกิด ต้นแก่นตะวันในสภาพปลอดเชื้อ. **แก่นเกษตร** 42: 328-334.

อรุณโรจน์ เอกพณิชย์. 2558. **ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเลือกซื้อน้ำผักและผลไม้อินทรีย์แบบสกัดเย็นของผู้บริโภคในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล**. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, คณะพาณิชยศาสตร์และการบัญชี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

Amasino, R.M. 2005. 1955: Kinetin arrives. The 50th anniversary of a new plant hormone. **Plant Physiology** 138: 1177-1184.

Arditti, J. 2008. **Micropropagation of Orchids**. 2nd. Oxford, UK: Blackwell Publishing.

Berleth, T., Krogan, N.T. and Scarpella, E. 2004. Auxin signals-turning genes on and turning cells around. **Current Opinion in Plant Biology** 7: 553-563.

Caplin, S.M. and Steward, F.C. 1948. Effect of coconut milk on the growth of explants from carrot root. **Science** 108: 655-657.

Chen, J. et al. 2009. Synthesis of gibberellin derivatives with anti-tumor bioactivities. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters** 19: 5496-5499.

Depeint, F., Bruce, W.R., Shangari, N., Mehta, R. and O'Brien, P.J. 2006. Mitochondrial function and toxicity: Role of B vitamins on the one-carbon transfer pathways. **Chemico-Biological Interaction** 163: 113-132.

Gautheret, R. J. 1939. Sur la possibilité de réaliser la culture indéfinie des tissus de tubercules de carotte. **Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l' Académie des Sciences** 208: 118-120.

Ge, L., Peh, C.Y.C., Yong, J.W.H., Tan, S.N., Hua, L. and Ong, E.S. 2007. Analyses of gibberellins by capillary electrophoresis-mass spectrometry combined with solid-phase extraction. **Journal of Chromatography A** 1159: 242-249.

Ge, L., Tan, S., Yong, J.W.H. and Tan, S.N. 2006. Capillary electrophoresis for cytokinin analyses: A review. **Electrophoresis** 27: 4779-4791.

Hegarty, C. 1955. Observations on the germination of orchid seed. **American Orchid Society Bulletin** 24: 457-464.

Jakubowska, A. and Kowalczyk, S.A. 2005. Specific enzyme hydrolyzing 6-O(4-O)-indole-3-ylacetyl-ß-dglucose in immature kernels of *Zea mays*. **Journal of Plant Physiology** 162: 207-213.

Kochhar, S.L. 1998. **Economic Botany in the Tropics**. second edition. Delhi: Macmillian Publisher India Ltd.

Kotomori, S. and Murashige, T. 1965. Some aspects of aseptic propagation of orchids. **American Orchid Society Bulletin** 34: 484-489.

Kunisaki, J.T., Kim, K.K. and Sagawa, Y. 1972. Shoot-tip culture of Vanda. **American Orchid Society Bulletin** 41: 435-439.

Laureys, F., Dewitte, W., Witters, E., Van Montagu, M., Inzé, D. and Van Onckelen, H. 1998. Zeatin is indispensable for the G2-M transition in tobacco BY-2 cells. **FEBS Letters** 426: 29-32.

Lazim, M.I.M., Badruzaman, N.A., Peng, K.S. and Long, K. 2015. Quantification of cytokinins in coconut water from different maturation stages of Malaysia's coconut *(Cocos nucifera* L.) varieties. **Journal of Food Processing and Technology** 6: 1-5.

Lieberman, M., Marks, A.D. and Smith, C. 2007. **Mark's Essentials of Medical Biochemistry. A Clinical Approach**. second edition. Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business.

Ma, Z., Ge, L., Lee, A.S.Y., Yong, J.W.H., Tan, S.N. and Ong, E.S. 2008. Simultaneous analysis of different classes of phytohormones in coconut (*Cocos nucifera* L.) water using high-performance liquid chromatography and liquid chromatography-tandem mass spectrometry after solid-phase extraction. **Analytica Chimica Acta** 610: 274-281.

Mondal, S., Ahirwar, M.K., Singh, M.K., Singh, P. and Singh, R.P. 2012. Effect of coconut water and ascorbic acid on shoot regeneration in banana variety Dwarf Cavendish. **The Asian Journal of Horticulture** 7: 416-419.

Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum** 15: 473-497.

Pant, B. and Manandhar, S. 2007. *In vitro* propagation of carrot (*Daucus carota* L.). **Scientific World** 5: 51-53.

Prades, A., Dornier, M., Diop, N. and Pain, J.P. 2012. Coconut water use, composition and properties. **Fruits** 67: 87-107.

Robert, H.S. and Friml, J. 2009. Auxin and other signals on the move in plants. **Nature Chemical Biology** 5: 325-332.

Santoso, U., Kubo, K., Ota, T., Tadokoro, T. and Maekawa, A. 1996. Nutrient composition of kopyor coconut (*Cocos nucifera* L.). **Food Chemistry** 57: 299-304.

Shenkin, A. 2006. The key role of micronutrients. **Clinical Nutrition** 25: 1-13.

Skoog, F. and Miller, C.O. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. **Symposia of the Society for Experimental Biology** 11:118-30.

Smith, R.H. 2013. **Plant Tissue Culture Techniques and Experiments**. 3rd edition. Waltham, MA: Academic Press Publications.

Steward, F.C., Caplin, S.M. and Millar, F.K. 1952. Investigations on growth and metabolism of plant cells (New techniques for the investigation of metabolism, nutrition and growth in undifferentlated cells). **Annals of Botany** 16: 57-77.

Taiz, L. and Zeiger, E. 2010. **Plant Physiology**. 5th edition. Sunderland, MA: Sinauer Associates Publishers.

Tulecke, W., Weinstein, L., Rutner, A. and Laurencot, H. 1961. The biochemical composition of coconut water (coconut milk) as related to its use in plant tissue culture. **Contribution from Boyce Thompson Institute** 21: 115-128.

United States Department of Agriculture (USDA). 2018. **National nutrient database for standard reference ıegacy release, nut, coconut water (liquid from coconuts)** [Online]. Available: https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/12119?fgcd=&manu=&format=&count=&max=25&offset=&sort=default&order=asc&qlookup=Nuts%2C+coconut+water+%28liquid+from+coconuts%29&ds=&qt=&qp=&qa=&qn=&q=&ing= [2018, Sep 15]

White, P.R. 1934. Potentially unlimited growth of excised tomato root tips in a liquid media. **Plant Physiology** 9: 585-600

Withner, C.L. 1974. **The Orchids Scientific Studies**. NY: Wiley Publishers.

Wu, Y. and Hu, B. 2009. Simultaneous determination of several phytohormones in natural coconut juice by hollow fiber-based liquid-liquid-liquid microextraction-high performance liquid chromatography**. Journal Chromatography A** 1216: 7657-7663.

Yong, J.W.H., Ge, L., Ng, Y.F. and Tan, S.N. 2009. The chemical composition and biological properties of coconut (*Cocos nucifera* L.) water. **Molecules** 14: 5144-5164.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
สูตรอาหาร

ภาคผนวก ก
สูตรอาหารของ Murashige and Skoog (1962)

Stock solution I: macronutrient elements (x10) ประกอบด้วย

NH_4NO_3	16.5 g/L
KNO_3	19.0 g/L
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	4.4 g/L
$MgSO_4 \cdot 7H2O$	3.7 g/L
KH_2PO_4	1.7 g/L

Stock solution II: micronutrient elements (x100) ประกอบด้วย

H_3BO_3	0.6200 g/L
$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	2.2300 g/L
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0.8600 g/L
KI	0.0830 g/L
$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.0250 g/L
$CuSO_4 \cdot H_2O$	0.0025 g/L
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0.0025 g/L

Stock solution III: FeEDTA (x100) ประกอบด้วย

$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	3.73 g/L
Na_2EDTA	2.70 g/L

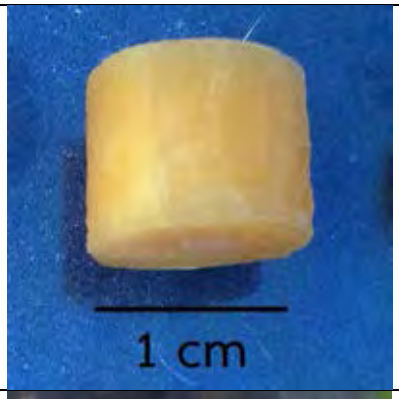
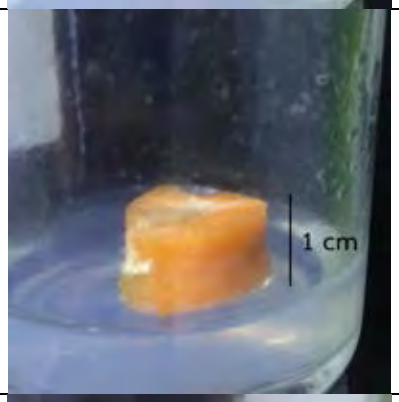
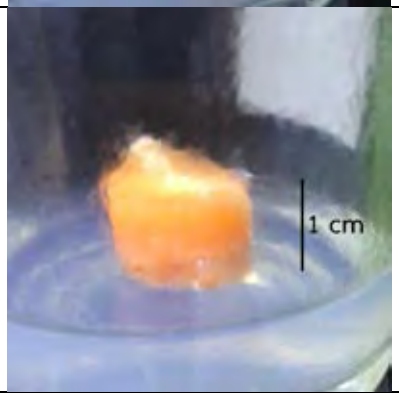
Stock solution IV: vitamins and amino acids (x100) ประกอบด้วย

glycine	0.20 g/L
nicotinic acid	0.05 g/L
pyridoxine-HCl	0.05 g/L
thiamine-HCl	0.01 g/L
myo-Inositol	10.00 g/L

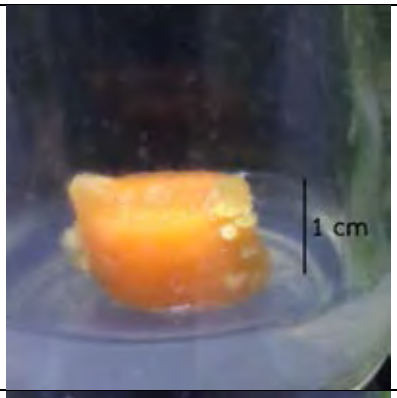
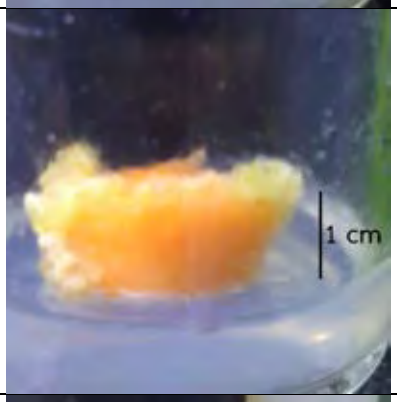
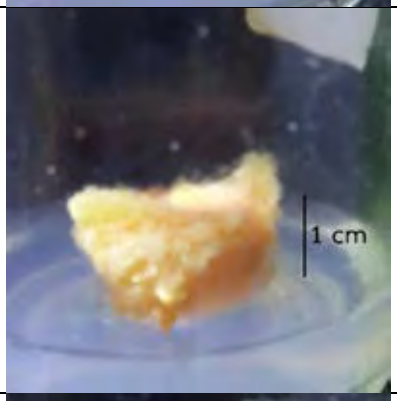
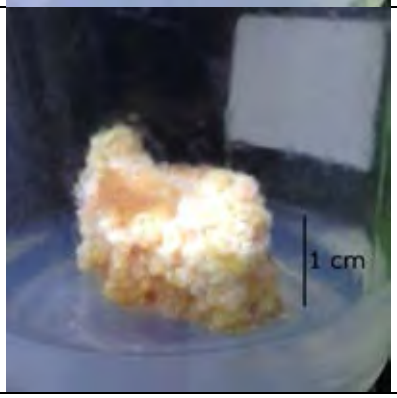
ภาคผนวก ข
ภาพชิ้นตัวอย่างแคร์รอต
ที่เกิดแคลลัสในแต่ละสัปดาห์

ภาคผนวก ข
ภาพชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัสในแต่ละสัปดาห์

ตารางที่ ข.1 ภาพชิ้นตัวอย่างแคร์รอตก่อนและหลังเพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงในแต่ละสัปดาห์

ชิ้นตัวอย่างแคร์รอตก่อนเพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยง (สัปดาห์ที่ 0)		
สัปดาห์ที่ 1		
สัปดาห์ที่ 2		
สัปดาห์ที่ 3		

ตารางที่ ข.1 (ต่อ)

สัปดาห์ที่ 4			
สัปดาห์ที่ 5			
สัปดาห์ที่ 6			
สัปดาห์ที่ 7			

ภาคผนวก ค
ข้อมูลดิบ

ภาคผนวก ค
ข้อมูลดิบ

การทดลองครั้งที่ 1

ตารางที่ ค.1 ข้อมูลดิบจากการทดลองครั้งที่ 1

สูตรอาหาร	ลำดับที่	น้ำหนักสด (g)	น้ำหนักแห้ง (g)	จำนวนชิ้นที่เกิดแคลลัส (ชิ้น)
MS 1	1	1.3474	0.1111	3
	2	1.9863	0.2225	
	3	1.6443	0.2119	
	4	1.9142	0.1442	
	5	2.0859	0.1767	
	6	1.5108	0.1373	
	7	1.5299	0.1355	
	8	1.4823	0.1506	
	9	1.1707	0.1197	
	10	1.9379	0.1828	
	11	1.4360	0.1128	
	12	2.1853*	0.2708*	
	13	2.0080*	0.2654*	
	14	1.9621*	0.2669*	
MS 2	1	2.3362*	0.2776*	3
	2	2.2004*	0.1568*	
	3	2.5191*	0.2035*	
	4	1.5299	0.1455	
	5	1.6583	0.1344	
	6	2.1626	0.2188	
	7	1.6467	0.2192	
	8	1.4441	0.1458	
	9	1.7782	0.1310	
	10	1.3070	0.2046	
	11	1.3128	0.1117	
	12	1.4744	0.1286	
	13	1.0948	0.1123	
	14	1.3132	0.1069	

ตารางที่ ค.1 (ต่อ)

สูตรอาหาร	ลำดับที่	น้ำหนักสด (g)	น้ำหนักแห้ง (g)	จำนวนชิ้นที่เกิดแคลลัส (ชิ้น)
MS 3	1	3.1881*	0.3189*	13
	2	1.8501*	0.2109*	
	3	1.4266*	0.1573*	
	4	1.2422*	0.1565*	
	5	1.8522*	0.2313*	
	6	1.5533*	0.1736*	
	7	1.3664*	0.1342*	
	8	1.0703*	0.1258*	
	9	0.9901*	0.1158*	
	10	1.2668*	0.1279*	
	11	1.8460*	0.2045*	
	12	1.4060*	0.1647*	
	13	1.1485*	0.1119*	
	14	1.3687	0.1588	
MS 4	1	3.6815*	0.3790*	15
	2	2.4023*	0.2665*	
	3	2.1113*	0.2518*	
	4	1.7951*	0.2015*	
	5	1.6587*	0.1616*	
	6	2.7436*	0.3272*	
	7	1.5865*	0.1746*	
	8	1.7747*	0.1951*	
	9	2.0787*	0.2019*	
	10	1.9005*	0.2046*	
	11	1.5468*	0.1697*	
	12	1.1780*	0.1196*	
	13	1.1149*	0.1252*	
	14	1.0577*	0.1199*	
	15	1.2725*	0.1192*	

ตารางที่ ค.1 (ต่อ)

สูตรอาหาร	ลำดับที่	น้ำหนักสด (g)	น้ำหนักแห้ง (g)	จำนวนชิ้นที่เกิดแคลลัส (ชิ้น)
MS 5	1	2.3206*	0.2620*	6
	2	1.9538*	0.2344*	
	3	1.5379*	0.1757*	
	4	1.2669*	0.1316*	
	5	1.1927*	0.1303*	
	6	1.0682	0.1075	
	7	1.1359	0.1263	
	8	1.8547	0.1808	
	9	1.4584	0.1315	
	10	1.2228*	0.1197*	
	11	1.3110	0.1233	
	12	1.5557	0.1691	
	13	1.0474	0.1215	
	14	1.5693	0.1657	
	15	1.4907	0.1503	
MS 6	1	1.8552*	0.2037*	2
	2	2.5009*	0.2800*	
	3	1.3933	0.1569	
	4	1.4633	0.1912	
	5	1.7560	0.1713	
	6	1.7652	0.1710	
	7	1.6815	0.2139	
	8	1.3734	0.1493	
	9	1.7687	0.1886	
	10	1.2205	0.1326	
	11	1.1088	0.0909	
	12	1.3800	0.1447	
	13	1.3857	0.1289	
	14	1.1761	0.1352	
	15	0.9853	0.1128	

ตารางที่ ค.1 (ต่อ)

สูตรอาหาร	ลำดับที่	น้ำหนักสด (g)	น้ำหนักแห้ง (g)	จำนวนชิ้นที่เกิดแคลลัส (ชิ้น)
MS 7	1	1.7904*	0.2394*	11
	2	1.5216*	0.1688*	
	3	2.8759*	0.3267*	
	4	2.8712*	0.2751*	
	5	3.1077*	0.3209*	
	6	2.0117*	0.2345*	
	7	1.5428*	0.1845*	
	8	1.0669*	0.1259*	
	9	1.0494*	0.1132*	
	10	1.6564*	0.1519*	
	11	1.8736*	0.1928*	
	12	1.4260	0.1535	
	13	1.0554	0.1091	
	14	1.0935	0.1042	
	15	1.0829	0.0993	
MS 8	1	2.3966*	0.2548*	14
	2	1.7538*	0.1993*	
	3	1.3902*	0.1421*	
	4	1.3004*	0.1281*	
	5	1.2909*	0.1393*	
	6	1.3219*	0.1336*	
	7	1.2343*	0.1301*	
	8	1.2592*	0.1252*	
	9	1.2792*	0.1186*	
	10	1.4134*	0.1333*	
	11	1.4965*	0.1341*	
	12	1.3921*	0.1543*	
	13	1.1790*	0.1234*	
	14	1.3240*	0.1259*	
	15	0.8993	0.1000	

ตารางที่ ค.1 (ต่อ)

สูตรอาหาร	ลำดับที่	น้ำหนักสด (g)	น้ำหนักแห้ง (g)	จำนวนชิ้นที่เกิดแคลลัส (ชิ้น)
MS 9	1	1.6850*	0.1968*	7
	2	1.2043*	0.1354*	
	3	1.3441*	0.1285*	
	4	2.2356*	0.2381*	
	5	1.4763*	0.1237*	
	6	1.4215*	0.1519*	
	7	1.4106*	0.1431*	
	8	1.1073	0.1097	
	9	1.1167	0.1127	
	10	1.6284	0.1622	
	11	1.1206	0.0974	
	12	1.4425	0.1476	
	13	1.0871	0.1194	
	14	1.1185	0.1244	
	15	1.0901	0.1086	
MS 10	1	2.0844*	0.2526*	4
	2	2.3853*	0.2987*	
	3	2.0391*	0.2699*	
	4	2.0743*	0.2344*	
	5	1.2598	0.1298	
	6	1.9575	0.1711	
	7	1.7860	0.1828	
	8	1.8459	0.1938	
	9	1.0742	0.1255	
	10	1.7547	0.1407	
	11	1.2070	0.1653	
	12	1.3314	0.1098	
	13	1.0220	0.1581	
	14	1.6046	0.1010	
	15	1.4787	0.1878	

หมายเหตุ * คือข้อมูลชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัส

การทดลองครั้งที่ 2

ตารางที่ ค.2 ข้อมูลดิบจากการทดลองครั้งที่ 2

สูตรอาหาร	ลำดับที่	น้ำหนักสด (g)	น้ำหนักแห้ง (g)	จำนวนชิ้นที่เกิดแคลลัส (ชิ้น)
MS 1	1	2.1906	0.2643	2
	2	2.2682	0.2375	
	3	2.7288*	0.2434*	
	4	2.8576*	0.2492*	
	5	1.5240	0.0822	
	6	2.5567	0.2562	
	7	2.6785	0.2155	
MS 2	1	3.0188*	0.2871*	3
	2	3.0689*	0.2927*	
	3	3.1138*	0.2625*	
	4	2.4878	0.2670	
	5	2.3091	0.1435	
	6	2.0034	0.1278	
	7	2.3611	0.1936	
MS 3	1	3.7948*	0.3167*	6
	2	3.0775*	0.2930*	
	3	2.1936*	0.1983*	
	4	2.2439*	0.2276*	
	5	1.7363	0.1551	
	6	1.5161*	0.1024*	
	7	1.1275*	0.1024*	

ตารางที่ ค.2 (ต่อ)

สูตรอาหาร	ลำดับที่	น้ำหนักสด (g)	น้ำหนักแห้ง (g)	จำนวนชิ้นที่เกิดแคลลัส (ชิ้น)
MS 4	1	3.8079*	0.3016*	10
	2	2.2987*	0.2430*	
	3	1.7701*	0.1576*	
	4	1.4369	0.1158	
	5	1.5537*	0.1489*	
	6	2.4044*	0.2510*	
	7	3.5590*	0.3046*	
	8	1.7525*	0.1570*	
	9	1.9601	0.1539	
	10	2.3889*	0.3049*	
	11	2.6679*	0.2601*	
	12	3.3803*	0.3030*	
MS 5	1	1.6114*	0.1276*	7
	2	3.4015*	0.3208*	
	3	1.9688*	0.1806*	
	4	0.7274	0.0452	
	5	3.0479*	0.2902*	
	6	3.0139*	0.2845*	
	7	3.0373*	0.3186*	
	8	2.7300*	0.2712*	
	9	1.9454	0.1761	
	10	1.8018	0.1550	
	11	1.7490	0.1673	
	12	1.5111	0.1534	
	13	1.8053	0.1931	
	14	1.7328	0.1391	
	15	1.2722	0.1039	

ตารางที่ ค.2 (ต่อ)

สูตรอาหาร	ลำดับที่	น้ำหนักสด (g)	น้ำหนักแห้ง (g)	จำนวนชิ้นที่เกิดแคลลัส (ชิ้น)
MS 6	1	2.5860*	0.2913*	4
	2	3.1438*	0.3260*	
	3	3.5992*	0.3004*	
	4	2.8259*	0.3129*	
	5	1.9226	0.1440	
	6	1.7849	0.1736	
MS 7	1	2.2604*	0.2231*	7
	2	2.6290*	0.2453*	
	3	2.6285*	0.2986*	
	4	2.1008*	0.2306*	
	5	2.1524*	0.2002*	
	6	3.6960*	0.3215*	
	7	1.6806	0.1392	
	8	1.9342*	0.1711*	
MS 8	1	3.1219*	0.2905*	11
	2	1.5933*	0.1393*	
	3	2.2066*	0.2765*	
	4	1.4692*	0.1314*	
	5	1.9413*	0.1826*	
	6	2.7636*	0.3026*	
	7	3.5634*	0.3133*	
	8	3.6878*	0.3343*	
	9	1.9658*	0.1648*	
	10	1.8252*	0.1406*	
	11	1.2735	0.1005	
	12	1.6386	0.1404	
	13	2.7097*	0.2967*	

ตารางที่ ค.2 (ต่อ)

สูตรอาหาร	ลำดับที่	น้ำหนักสด (g)	น้ำหนักแห้ง (g)	จำนวนชิ้นที่เกิดแคลลัส (ชิ้น)
MS 9	1	3.3719*	0.3147*	4
	2	2.5728*	0.2650*	
	3	2.4276*	0.2861*	
	4	1.6715*	0.1533*	
	5	2.4270	0.2232	
	6	1.6650	0.1516	
	7	2.5666	0.3224	
	8	1.7524	0.1311	
	9	1.8118	0.1407	
	10	1.4503	0.1103	
	11	1.2645	0.0800	
	12	1.2967	0.0785	
MS 10	1	3.1985*	0.3226*	5
	2	3.0819*	0.3189*	
	3	1.8191*	0.1646*	
	4	2.1575*	0.1929*	
	5	1.6249*	0.1645*	
	6	2.4251	0.2733	

หมายเหตุ * คือข้อมูลชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัส

การทดลองครั้งที่ 3

ตารางที่ ค.3 ข้อมูลดิบจากการทดลองครั้งที่ 3

สูตรอาหาร	ลำดับที่	น้ำหนักสด (g)	น้ำหนักแห้ง (g)	จำนวนชิ้นที่เกิดแคลลัส (ชิ้น)
MS 1	1	2.9774	0.2682	0
	2	2.3364	0.2101	
	3	3.3919	0.2657	
	4	2.3708	0.1961	
	5	2.2472	0.2074	
	6	1.6845	0.1429	
MS 2	1	2.9616*	0.2387*	3
	2	3.9266*	0.2838*	
	3	2.6940	0.2561	
	4	2.6130*	0.2471*	
	5	1.9731	0.1297	
	6	0.9055	0.0553	
MS 3	1	4.6125*	0.3182*	6
	2	2.6271*	0.1732*	
	3	1.9455*	0.1811*	
	4	1.4682	0.1079	
	5	3.0784*	0.3215*	
	6	3.2779*	0.3129*	
	7	4.1207*	0.3050*	
MS 4	1	1.8904*	0.1379*	10
	2	0.8894	0.0622	
	3	1.4229	0.1234	
	4	2.5661*	0.1903*	
	5	1.9654	0.1751	
	6	1.9420*	0.1431*	
	7	4.2623*	0.2848*	
	8	1.9429*	0.1618*	
	9	3.7222*	0.2938*	
	10	2.4942*	0.2536*	
	11	1.8079*	0.1297*	
	12	2.2345*	0.1539*	
	13	1.9310*	0.1620*	

ตารางที่ ค.3 (ต่อ)

สูตรอาหาร	ลำดับที่	น้ำหนักสด (g)	น้ำหนักแห้ง (g)	จำนวนชิ้นที่เกิดแคลลัส (ชิ้น)
MS 5	1	5.3650*	0.3578*	3
	2	2.0352*	0.1615*	
	3	2.0725	0.1674	
	4	2.5298*	0.2092*	
	5	3.3572	0.2514	
	6	2.5847	0.2554	
	7	3.1183	0.3228	
	8	0.9656	0.0612	
	9	1.9413	0.1416	
	10	1.8532	0.1343	
	11	1.8880	0.1384	
MS 6	1	3.7855*	0.3379*	2
	2	2.3270	0.2231	
	3	1.8789	0.1440	
	4	2.6450	0.2437	
	5	2.1778*	0.1544*	
	6	3.3385	0.3078	
	7	2.0700	0.1630	
MS 7	1	1.4091*	0.0836*	4
	2	2.9873*	0.2744*	
	3	4.7369*	0.2937*	
	4	1.6704	0.1554	
	5	1.7161	0.1332	
	6	2.0299*	0.1456*	

ตารางที่ ค.3 (ต่อ)

สูตรอาหาร	ลำดับที่	น้ำหนักสด (g)	น้ำหนักแห้ง (g)	จำนวนชิ้นที่เกิดแคลลัส (ชิ้น)
MS 8	1	1.8231*	0.1171*	8
	2	2.9480*	0.2185*	
	3	1.9279	0.1673	
	4	1.7909*	0.1271*	
	5	2.2459*	0.1636*	
	6	2.3239	0.2133	
	7	2.0693*	0.1400*	
	8	2.3979*	0.2119*	
	9	1.7860*	0.1296*	
	10	1.9952*	0.1641*	
MS 9	1	1.8216*	0.1343*	7
	2	1.6500	0.1322	
	3	1.5764*	0.1375*	
	4	1.8116	0.1327	
	5	1.5404	0.1131	
	6	2.2912*	0.1673*	
	7	2.8330*	0.2743*	
	8	3.1181*	0.2433*	
	9	2.3232*	0.1866*	
	10	0.8871	0.0551	
	11	1.7448	0.1257	
	12	1.6168*	0.1358*	
MS 10	1	2.5462	0.2192	0
	2	1.5508	0.1014	
	3	1.7478	0.1410	
	4	1.6827	0.1260	
	5	1.6446	0.1352	
	6	1.8674	0.1572	

หมายเหตุ * คือข้อมูลชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัส

การทดลองครั้งที่ 4

ตารางที่ ค.4 ข้อมูลดิบจากการทดลองครั้งที่ 4

สูตรอาหาร	ลำดับที่	น้ำหนักสด (g)	น้ำหนักแห้ง (g)	จำนวนชิ้นที่เกิดแคลลัส (ชิ้น)
MS 1	1	3.4961	0.3654	0
	2	2.9179	0.2226	
	3	2.7416	0.2210	
	4	4.0508	0.4018	
	5	3.6098	0.2874	
	6	3.0240	0.2723	
	7	2.5177	0.1598	
	8	1.9433	0.1233	
	9	3.3961	0.3320	
	10	2.8316	0.3036	
MS 2	1	3.7140	0.3374	8
	2	2.9329	0.1329	
	3	4.2521*	0.3530*	
	4	4.5117*	0.3688*	
	5	2.9081*	0.1739*	
	6	2.3048*	0.1400*	
	7	2.0471*	0.1321*	
	8	2.1809*	0.1032*	
	9	2.0269	0.1310	
	10	4.9384*	0.4631*	
	11	2.6958	0.1736	
	12	2.1719	0.1262	
	13	1.9941	0.1170	
	14	4.9384*	0.4545*	

ตารางที่ ค.4 (ต่อ)

สูตรอาหาร	ลำดับที่	น้ำหนักสด (g)	น้ำหนักแห้ง (g)	จำนวนชิ้นที่เกิดแคลลัส (ชิ้น)
MS 3	1	2.4669*	0.2232*	14
	2	6.1932*	0.3120*	
	3	3.1636*	0.2175*	
	4	5.2201*	0.4294*	
	5	2.9569*	0.1537*	
	6	3.7773*	0.4836*	
	7	5.7928*	0.4205*	
	8	6.1837*	0.4954*	
	9	2.8855*	0.1920*	
	10	2.0164*	0.1775*	
	11	1.7317*	0.1373*	
	12	2.1767*	0.2116*	
	13	5.2568*	0.3970*	
	14	6.0824*	0.4826*	
MS 4	1	4.4428*	0.4193*	14
	2	3.7569*	0.2405*	
	3	4.4090*	0.4335*	
	4	4.0750*	0.3270*	
	5	3.5438*	0.3464*	
	6	7.6279*	0.5339*	
	7	5.3890*	0.4807*	
	8	1.4177*	0.1009*	
	9	3.3564*	0.1987*	
	10	4.6727*	0.4044*	
	11	2.9989*	0.1831*	
	12	2.8809*	0.2614*	
	13	3.8537*	0.3024*	
	14	4.3425*	0.4097*	
	15	1.9303	0.1508	

ตารางที่ ค.4 (ต่อ)

สูตรอาหาร	ลำดับที่	น้ำหนักสด (g)	น้ำหนักแห้ง (g)	จำนวนชิ้นที่เกิดแคลลัส (ชิ้น)
MS 5	1	2.0968	0.1441	6
	2	2.2364	0.1434	
	3	1.8628	0.1242	
	4	2.4165*	0.1467*	
	5	2.2275*	0.1439*	
	6	3.1583	0.2685	
	7	1.8919	0.1130	
	8	2.2678	0.1366	
	9	1.5506	0.0941	
	10	2.4324*	0.1829*	
	11	3.8745*	0.3687*	
	12	4.9580*	0.4243*	
	13	5.2804*	0.4147*	
	14	1.3298	0.0923	
MS 6	1	1.7838	0.1205	6
	2	3.9586*	0.3733*	
	3	4.6734*	0.4840*	
	4	2.2617	0.1507	
	5	3.0946*	0.3382*	
	6	2.2440	0.1690	
	7	3.2148	0.3630	
	8	3.1578	0.2886	
	9	2.6622	0.2389	
	10	3.4183*	0.3915*	
	11	3.4828*	0.3740*	
	12	1.7891*	0.1356*	

ตารางที่ ค.4 (ต่อ)

สูตรอาหาร	ลำดับที่	น้ำหนักสด (g)	น้ำหนักแห้ง (g)	จำนวนชิ้นที่เกิดแคลลัส (ชิ้น)
MS 7	1	1.8764	0.1426	9
	2	2.1809*	0.1408*	
	3	1.7620*	0.1501*	
	4	4.1574*	0.3357*	
	5	1.3114*	0.0890*	
	6	2.0177	0.1384	
	7	5.3991*	0.4601*	
	8	6.7661*	0.4800*	
	9	2.1099*	0.1387*	
	10	1.5415*	0.1003*	
	11	1.6123	0.1073	
	12	2.4813	0.1646	
	13	3.7568*	0.2922*	
MS 8	1	5.7189*	0.4774*	9
	2	4.5443*	0.4629*	
	3	4.5835*	0.3386*	
	4	4.8030*	0.3696*	
	5	4.0822*	0.3766*	
	6	2.7472*	0.1737*	
	7	2.0650	0.1292	
	8	2.0556*	0.1402*	
	9	2.6525	0.1572	
	10	1.9261*	0.1174*	
	11	2.2140*	0.1360*	
	12	1.4100	0.0942	
	13	1.2854	0.0822	
	14	1.5814	0.1179	

ตารางที่ ค.4 (ต่อ)

สูตรอาหาร	ลำดับที่	น้ำหนักสด (g)	น้ำหนักแห้ง (g)	จำนวนชิ้นที่เกิดแคลลัส (ชิ้น)
MS 9	1	4.1810*	0.3853*	12
	2	5.3925*	0.4428*	
	3	4.4886*	0.4036*	
	4	3.3816*	0.2290*	
	5	3.2084*	0.2432*	
	6	2.9865*	0.2373*	
	7	1.8676*	0.1216*	
	8	3.2688*	0.2634*	
	9	3.1011	0.1927	
	10	2.1228*	0.1679*	
	11	2.0942	0.1565	
	12	1.5109*	0.0959*	
	13	1.9921*	0.1551*	
	14	1.8120	0.1092	
	15	1.6575*	0.1240*	
MS 10	1	2.0330	0.1419	4
	2	4.0208*	0.3939*	
	3	3.7876*	0.3988*	
	4	3.0729*	0.2857*	
	5	2.1195*	0.1660*	
	6	2.1070	0.1334	
	7	1.7300	0.1163	
	8	1.4367	0.0958	
	9	1.9984	0.1606	
	10	1.8334	0.1258	
	11	1.7564	0.1109	
	12	1.8128	0.1336	

หมายเหตุ * คือข้อมูลชิ้นตัวอย่างแคร์รอตที่เกิดแคลลัส